



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique**



**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMEN**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers**  
**Département de biologie**

**Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition**

**THESE**

Présentée par

**M<sup>elle</sup> Nacer Wassila**

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

En

**Physiologie et Biochimie de la Nutrition**

**Thème**

**Effets de la biomasse des microalgues vertes sur le  
métabolisme énergétique chez le rat Wistar diabétique**

Soutenue le : / /2020

*Devant le jury composé de :*

Présidente :	<b>Pr. MERZOUK Hafida</b>	Professeur, Université de Tlemcen
Examineurs :	<b>Pr. KADDOURI Hanane</b>	Professeur, Université d'Oran 1
	<b>Dr. CHENNI Fatima Zohra</b>	MCA, Université de Sidi Bel Abbas
	<b>Pr. BOUANANE Samira</b>	Professeur, Université de Tlemcen
Directrice de thèse :	<b>Pr. BABA AHMED Fatima Zohra</b>	Professeur, Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2019-2020**

# Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail, je dis « **Alhamdoulillah** ».*

*Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements à ma directrice de thèse **Mme BABA AHMED Fatima Zohra**, professeur au département de biologie, Faculté SNVTU, Université de Tlemcen, de m'avoir encadré et suivi durant la réalisation de ce travail, qu'elle trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance et mon profond respect pour la confiance qu'elle m'a accordée en me proposant ce thème de recherche, merci pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail, merci pour ses précieux conseils. Merci encore une fois pour ses qualités scientifiques et humaines que je lui témoigne durant toute ma vie. Merci pour votre disponibilité malgré vos multiples responsabilités. Que Dieu le tout puissant la protège, et la garde pour nous tous inchaallah.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude et mon respect aux membres du jury.*

*Je commence d'abord par Mme **MERZOUK Hafida**, Professeur à l'université de Tlemcen et directrice du laboratoire physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition, qui a accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme présidente de jury. Je la remercie également pour son implication pour la réalisation d'un travail de grande qualité le long de ce projet de recherche. Qu'elle soit assurée de ma respectueuse considération.*

*Je remercie infiniment Mme **KADDOURI Hanane**, Professeur à l'université d'Oran, pour avoir accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme Examinatrice.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mme **CHENNI Fatima Zohra**, Maître de conférences de l'université de Sidi Bel Abbes, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de juger et examiner ce travail.*

*Je tiens également à exprimer toute ma gratitude à Mme **BOUANANE Samira**, Professeur à l'université de Tlemcen qui a bien voulu accepter d'examiner ma thèse de doctorat.*

*Tous mes meilleurs remerciements à Melle **Karaouzene Nesrine Samira**, Maître de conférences de l'université de Tlemcen pour son encouragement et ces précieux conseils.*

*Enfin, il m'est agréable d'exprimer mes sincères remerciements à tous les enseignants qui ont participé à ma formation, et à tous les membres du laboratoire « **PPABIONUT** » pour leur présence et leur encouragement tout le long de ce travail de thèse.*

# Dédicace

*Je dédie cette thèse et tout mon travail,*

*A mes parents, qui m'ont toujours soutenu et entouré de leur amour.*

*A mes chères sœurs.*

*A toute ma famille et mes collègues.*

*A mes vraies amies.*

*A toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Qu'Allah leur accorde santé et prospérité.*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.*

## **Résumé**

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques qui constituent une source naturelle très intéressante et précieuse de composés bioactifs de grande valeur qui pouvant être bénéfiques dans la prévention du diabète et ses complications. Dans ce contexte le but de cette étude est de mettre en évidence l'impact d'une supplémentation en microalgues *Nannochloropsis gaditana* comme complément alimentaire sur le métabolisme des lipides et des protéines et sur le statut redox chez les rats rendus diabétiques par l'injection de streptozotocine, dont l'objectif est de développer des stratégies préventives ou thérapeutiques efficaces pour réduire l'incidence de diabète et ses complications à long terme. Le diabète a été induit chez les rats mâles Wistar par injection intrapéritonéale de la streptozotocine (45 mg/kg). Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en quatre groupes, nourris avec un régime standard supplémenté ou non en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10% pendant deux mois. À la fin de l'expérimentation, les rats sont sacrifiés. Le sang et les organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun) sont prélevés, ainsi que les mitochondries isolées du foie des rats en vu des différents dosages. Nos résultats soulignent que les rats diabétiques affichent des troubles hématologiques, minéraux et métaboliques. De même une altération de la balance oxydante/antioxydante est observée chez ces rats. En revanche, la supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* corrige les troubles hématologiques et minéraux chez les rats diabétiques. Ainsi, cette microalgue est capable de réduire les altérations métaboliques liées au diabète par diminution de la glycémie et par amélioration du profil lipidique. De plus, elle induit une modulation des activités des lipases tissulaires (LPL et LHS) et entraîne aussi une amélioration du statut redox au niveau du plasma, des érythrocytes, des organes et des mitochondries chez les rats diabétiques. En conclusion, la microalgue *Nannochloropsis gaditana* prouve leur effet antidiabétique et antioxydant. Son intégration comme complément alimentaire peut constituer une stratégie de lutte contre le diabète et de ses complications.

**Mots clés :** microalgues *Nannochloropsis gaditana*, métabolisme, diabète, streptozotocine, statut redox, mitochondries

## ***Abstract***

Microalgae are photosynthetic microorganisms which constitute a very interesting and precious natural source of valuable bioactive compounds which can be beneficial in the prevention of diabetes and its complications. In this context, the aim of this study is to highlight the impact of *Nannochloropsis gaditana* microalgae supplementation as a dietary supplement on lipid and protein metabolism and on redox status in rats made diabetic by the injection of streptozotocin, the objective of which is to develop effective preventive or therapeutic strategies to reduce the incidence of diabetes and its complications in the long term. Diabetes was induced in male Wistar rats by intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). After the induction of diabetes, all the rats, diabetic and non-diabetic, were divided into four groups, fed on a standard diet supplemented or not with *Nannochloropsis gaditana* microalga at 10% for two months. At the end of the experiment, the rats are sacrificed. The blood and the organs (liver, pancreas, white adipose tissue and brown adipose tissue) are taken, as well as the mitochondria isolated from the liver of rats in view of the different assays. Our results emphasize that diabetic rats display hematological, mineral and metabolic disorders. Similarly, an alteration in the oxidant /antioxidant balance is observed in these rats. In contrast, supplementation with *Nannochloropsis gaditana* corrects hematological and mineral disorders in diabetic rats. Thus, this microalga is capable of reducing the metabolic alterations linked to diabetes by reducing blood sugar and by improving the lipid profile. In addition, it induces a modulation of tissue lipase activities (LPL and LHS) and also leads to an improvement in the redox status in plasma, erythrocytes, organs and mitochondria in diabetic rats. In conclusion, the microalga *Nannochloropsis gaditana* proves their anti-diabetic and antioxidant effect. Its integration as a dietary supplement can constitute a strategy for combating diabetes and its complications.

**Key words:** *Nannochloropsis gaditana* microalgae, metabolism, diabetes, streptozotocin, redox status, mitochondria

## ملخص

الطحالب الدقيقة هي كائنات دقيقة ضوئية والتي تشكل مصدرا طبيعيا ثمينا جدا للمركبات النشطة بيولوجيا والتي يمكن أن تكون مفيدة في الوقاية من مرض السكري ومضاعفاته. في هذا السياق ، تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على تأثير الطحالب الدقيقة نانوكلوروبسيس غاديتانا كمكمل غذائي على التمثيل الغذائي للدهون والبروتين وعلى حالة الأكسدة في الفئران المصابة بداء السكري عن طريق حقن الستربتوزوتوسين، وهذا يهدف إلى تطوير استراتيجيات وقائية أو علاجية فعالة للحد من الإصابة بمرض السكري ومضاعفاته على المدى الطويل. تم إحداث مرض السكري في ذكور فئران ويستار عن طريق حقن الستربتوزوتوسين (٤٥ مغ/كغ). بعد تحريض مرض السكري، تم تقسيم جميع الفئران، السكري وغير السكري، إلى أربع مجموعات، تتغذى على نظام غذائي قياسي مكمل أو لا مع الطحالب الدقيقة نانوكلوروبسيس غاديتانا بنسبة ١٠٪ لمدة شهرين. في نهاية التجربة، يتم التضحية بالفئران. يتم أخذ الدم والأعضاء (الكبد، البنكرياس، الأنسجة الدهنية البيضاء والأنسجة الدهنية البنية)، وكذلك الميتوكوندريا المعزولة من كبد الفئران في ضوء المقاييس المختلفة. تؤكد النتائج التي توصلنا إليها على أن الفئران المصابة بداء السكري تعاني من اضطرابات في الدم والمعدن والتمثيل الغذائي. وبالمثل، لوحظ تغيير في توازن الأكسدة/مضادات الأكسدة في هذه الفئران. في المقابل، المكملات مع نانوكلوروبسيس غاديتانا تصحح الاضطرابات الدموية والمعدنية في الجرذان المصابة بداء السكري. ومن ناحية أخرى، فإن هذه الطحالب الدقيقة قادرة على تقليل التغيرات الأيضية المرتبطة بمرض السكري عن طريق تقليل نسبة السكر في الدم وتحسين ملف الدهون. بالإضافة إلى ذلك ، فإنها تحفز تعديل أنشطة الليباز في الأنسجة (LPL و LHS) وتؤدي أيضًا إلى تحسن حالة الأكسدة في البلازما والخلايا الحمراء والأعضاء والميتوكوندريا في الفئران المصابة بداء السكري. من خلال هذا نستنتج ان الطحالب الخضراء نانوكلوروبسيس غاديتانا يمكن ان تكون علاج فعال ضد مرض السكري ومضاعفاته.

**الكلمات الرئيسية :** الطحالب الدقيقة نانوكلوروبسيس غاديتانا، التمثيل الغذائي، السكري، الستربتوزوتوسين، حالة الأكسدة، الميتوكوندريا

# Avant-propos

*Le diabète est un problème de santé mondial majeur qui menace gravement la santé humaine. Le milieu naturel a toujours été une source très importante de molécules à activités biologiques utilisées à l'heure actuelle ont pour origine « un produit naturel ». Le monde marin est l'écosystème qui présente la plus grande diversité, avec de nombreux organismes sans équivalent terrestre. Par conséquent, chercher de nouveaux traitements dans le milieu naturel et en particulier dans le monde marin laisse entrevoir de nombreuses perspectives de réussite.*

*Mon travail de recherche s'inscrit dans le cadre de projets nationaux (CNEPRU, responsable du projet : Pr BABA AHMED), qui rentre dans le cadre d'une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'altération métabolique causé par le diabète expérimental induit par la streptozotocine. De plus, le travail est orienté vers la recherche d'un traitement nutritionnel pour empêcher le développement, et même prévenir les conséquences physiopathologiques de cette maladie. L'objectif de ce projet est de mettre en évidence l'impact d'une supplémentation en microalgues « *Nannochloropsis gaditana* » comme complément alimentaire sur les altérations du métabolisme et la balance oxydante/antioxydante chez les rats rendus diabétiques par l'injection de streptozotocine, dont l'objectif est de développer des stratégies préventives ou thérapeutiques efficaces pour réduire l'incidence de diabète et ses complications à long terme.*

*Les microalgues, l'or vert de demain*

## Valorisation des travaux de recherche

Le travail réalisé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet de trois publications scientifiques et a été présenté par communications lors des congrès scientifiques nationaux et internationaux.

### *Publications scientifiques*

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Ouahiba, Bouanane Samira (2019). Antihyperlipidemic and antioxidant effects of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Revue Agrobiologia*. 9(2): 1474-1483.

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Ouahiba, Bouanane Samira (2020). Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant effects of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. *In press*.

### *Proceeding*

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyaoub Wahiba, Bouanane Samira, Mebarek Khayra (2019). Metabolic and antioxidant effects of micro algae in diabetic rats: Implications for the prevention of human pathologies. *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*. 11: e360.

### *Communications nationales et internationales*

- **The 1st International Congress on Biotechnologies for Sustainable Development «CIBSDD» Boumerdes, Algérie, 2017.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Bouanane Samira, Mebarek Khayra, Gomis Catalac. Effets des microalgues vertes sur le statut métabolique chez le rat rendu diabétique par injection de la streptozotocine.



- **The First congress on Biotechnologies for Sustainable Development, 24-25 Octobre. Boumerdes, Algérie, 2017.**

Mebarek K, Bouanane S, **Nacer W**, Merzouk H, Baba Ahmed FZ. Analyse de l'effet d'un régime riche en cellulose sur le contenu lipidique et protéique de certains organes chez les rats Wistar âgés.

- **Congres International « Biosciences 2017 ». Oran-Algérie, 2017.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Bouanane Samira, Mebarek Khayra, Gomis Catalac. Effets de la biomasse des microalgues vertes sur les minéraux et quelques paramètres hématologiques chez les rats diabétiques.

- **2ème Séminaire National de Biologie et Santé « SNBS ». Sidi Bel-Abbés-Algérie, 2017.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Charif Naima, Bouanane Samira, Gomis Catalac. Evaluation de quelques paramètres biochimiques chez des rats diabétiques recevant un régime riche en microalgues vertes.

- **3ème congrès International de la Société Africaine de Physiologie et Physiopathologie. Constantine, Algérie, 2018.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Charif Naima, Bouanane Samira, Gomis Catalac. Contribution a l'étude des lipides plasmatiques et l'activité des lipases chez le rat diabétique recevant un régime riche en microalgues vertes.

- **7ème congrès de biologie médicale et de médecine de laboratoire. Alger, Algérie, 2018.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Mebarek Khayra, Bouanane Samira, Gomis Catalac. Effets des microalgues vertes sur la fonction hépatique chez les rats wistar diabétiques.

- **38es Journées de l'Hypertension Artérielle, Cité Universitaire (CIUP), Paris, France, 2018**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyaoub Wahiba, Bouanane Samira, Mebarek Khayra. Metabolic and antioxidant effects of micro algae in diabetic rats: Implications for the prevention of human pathologies.

- **38es Journées de l'Hypertension Artérielle, Cité Universitaire (CIUP), Paris, France, 2018**

Khayra Mebarek, Samira Bouanane, Hafida Merzouk, Fatima Zohra Baba Ahmed, Meryem Bensalah, Nesrine Samira Karaouzene, **Wassila Nacer**, Selma Bereksi Reguig. Effet des fibres alimentaires sur le statut oxydant et le profil lipidique chez le rat âgé diabétique.

- **Séminaire National de Biochimie et Doctoriales de Biologie et Santé. Blida, Algérie, 2018.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Bouanane Samira. Gomis Catalac. Analyses de quelques paramètres biochimiques plasmatiques et tissulaires chez les rats diabétiques supplémentés par les micro-algues vertes.

- **Premier séminaire du laboratoire de recherche sur le diabète. Tlemcen, Algérie, 2019.**

**Nacer Wassila**, Baba Ahmed Fatima Zohra, Merzouk Hafida, Benyagoub Wahiba, Bouanane Samira, Gomis Catalac. Effet préventif d'un régime alimentaire enrichi en microalgues vertes sur les troubles métaboliques associés au diabète chez le rat wistar. Premier séminaire du laboratoire de recherche sur le diabète. Tlemcen, Algérie, 2019.

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AGL :</b>	Acide gras libre
<b>AGPI :</b>	Acides gras polyinsaturés
<b>ALAT :</b>	Alanine aminotransferase
<b>ASAT :</b>	Aspartate aminotransferase
<b>ATP :</b>	Adénosine triphosphate
<b>Cu :</b>	Cuivre
<b>DAG :</b>	Diacylglycérol
<b>DHAP :</b>	Dihydroxyacétone phosphate
<b>DTNB :</b>	Acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque
<b>DTPA :</b>	Diethylenetriamine pentaacetic acid
<b>EDTA :</b>	Acide éthylène diamine tétracétique
<b>EPA :</b>	Acide eicosapentaénoïque
<b>ERO :</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>Fe :</b>	Fer
<b>FID :</b>	Fédération Internationale du Diabète
<b>GAPDH :</b>	Glycéraldéhyde-3-Phosphate Deshydrogénase
<b>GLUT :</b>	Transporteur du glucose
<b>GPx :</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH :</b>	Glutathion réduit
<b>GST :</b>	Glutathion S-transférase

<b>HbA1c :</b>	Hémoglobine glyquée
<b>HDL :</b>	High-density lipoprotein
<b>HLA :</b>	Human leukocyte antigen
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>LCAT :</b>	Lécithine cholestérol acyle transférase
<b>LDH :</b>	Lactate déshydrogénase
<b>LDL :</b>	Low density lipoprotein
<b>LHS :</b>	Lipase hormonosensible
<b>LPL :</b>	Lipoprotéine lipase
<b>MDA :</b>	Malondialdéhyde
<b>MgCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de magnésium
<b>Mn :</b>	Manganèse
<b>MODY :</b>	Maturity onset diabetes of the young
<b>NADPH :</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
<b>NaOH :</b>	Hydroxyde de sodium
<b>NBT :</b>	Nitrobluetetrazolium
<b>NF-κB :</b>	Nuclear factor kappa-B
<b>NO :</b>	Monoxyde d'azote
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup> :</b>	Anion superoxyde
<b>OH<sup>•</sup> :</b>	Radical hydroxyle
<b>8-OH-dg :</b>	8-hydroxy-2'-déoxyguanosine
<b>ONAB :</b>	Office National d'Aliment de Bétail

<b>PAL :</b>	Phosphatase alcaline
<b>PKC :</b>	Protéine kinase C
<b>RAGE :</b>	Receptor for advanced glycation end product
<b>RO<sup>•</sup> :</b>	Radical alkoxyde
<b>RO<sub>2</sub><sup>•</sup> :</b>	Radical peroxyde
<b>RO<sub>2</sub>H :</b>	Hydroperoxydes
<b>ROS :</b>	Reactive oxygen species
<b>SOD :</b>	Superoxyde dismutase
<b>STZ :</b>	Streptozotocine
<b>TBA :</b>	Acide Thiobarbiturique
<b>TCA :</b>	Acide Trichloroacétique
<b>TiOSO<sub>4</sub> :</b>	Titanium oxyde sulfate
<b>TNB :</b>	Acide thionitrobenzoïque
<b>VLDL :</b>	Very low density lipoprotein

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b>	Composition des régimes consommés par les rats	<b>28</b>
<b>Tableau 2:</b>	Composition de la biomasse de la microalgue <i>Nannochloropsis gaditana</i>	<b>29</b>
<b>Tableau 3 :</b>	Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots de rats	<b>44</b>

## LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXES

<b>Tableau A1:</b>	Le poids corporel, nourriture ingérée et l'apport énergétique chez les différents lots de rats	<b>102</b>
<b>Tableau A2:</b>	Teneurs sériques en minéraux chez les différents lots de rats	<b>103</b>
<b>Tableau A3:</b>	Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots de rats	<b>104</b>
<b>Tableau A4:</b>	Valeurs des paramètres biochimiques chez les différents lots de rats	<b>105</b>
<b>Tableau A5:</b>	Teneurs en lipides sériques et en lipoprotéines chez les différents lots de rats	<b>106</b>
<b>Tableau A6:</b>	Poids absolu des organes et teneurs en protéines totales aux niveaux des organes chez les différents lots de rats	<b>107</b>
<b>Tableau A7:</b>	Teneurs en lipides (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats	<b>108</b>
<b>Tableau A8:</b>	Activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) et l'activité des lipases (LPL et LHS) au niveau des organes chez les différents lots de rats	<b>109</b>
<b>Tableau A9:</b>	Marqueurs du statut antioxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats	<b>110</b>

<b>Tableau A10:</b>	Marqueurs du statut oxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats	<b>111</b>
<b>Tableau A11:</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les différents lots de rats	<b>112</b>
<b>Tableau A12:</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant mitochondrial chez les différents lots de rats	<b>113</b>
<b>Tableau A13:</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du pancréas chez les différents lots de rats	<b>114</b>
<b>Tableau A14:</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux blanc chez les différents lots de rats	<b>115</b>
<b>Tableau A15:</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux brun chez les différents lots de rats	<b>116</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b>	Facteurs contribuant à la destruction des cellules $\beta$ et les complications liées au diabète	<b>8</b>
<b>Figure 2 :</b>	Origine des espèces réactives de l'oxygène	<b>10</b>
<b>Figure 3 :</b>	Production mitochondriale de l'anion superoxide	<b>10</b>
<b>Figure 4 :</b>	L'impact global de la charge d'hyperglycémie dans le diabète sur le fonctionnement des mitochondries	<b>12</b>
<b>Figure 5 :</b>	Sources et voies spécifiques de la génération des ROS	<b>13</b>
<b>Figure 6 :</b>	Effets délétères des radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants	<b>16</b>
<b>Figure 7 :</b>	Stress oxydant et diabète	<b>18</b>
<b>Figure 8 :</b>	Relations entre l'hyperglycémie et le stress oxydant	<b>19</b>
<b>Figure 9 :</b>	Image microscopique de <i>Nannochloropsis gaditana</i>	<b>25</b>
<b>Figure 10 :</b>	Schéma représentatif des principales caractéristiques ultra-structurales de <i>Nannochloropsis gaditana</i>	<b>25</b>
<b>Figure 11 :</b>	Le poids corporel, nourriture ingérée et l'apport énergétique chez les différents lots de rats	<b>41</b>
<b>Figure 12 :</b>	Teneurs sériques en minéraux chez les différents lots de rats	<b>42</b>
<b>Figure 13 :</b>	Teneurs sériques en glucose, hémoglobine glyquée et en protéines totales chez les différents lots de rats	<b>45</b>
<b>Figure 14 :</b>	Teneurs sériques en acide urique, urée et en créatinine chez les différents lots de rats	<b>46</b>
<b>Figure 15 :</b>	Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la PAL et de la LDH chez les différents lots de rats	<b>48</b>
<b>Figure 16 :</b>	Teneurs en lipides sériques et en lipoprotéines chez les différents lots	<b>49</b>



de rats

<b>Figure 17 :</b>	Poids absolu des organes chez les différents lots de rats	<b>51</b>
<b>Figure 18 :</b>	Teneurs en protéines totales aux niveaux des organes chez les différents lots de rats	<b>52</b>
<b>Figure 19 :</b>	Teneurs en cholestérol total (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats	<b>53</b>
<b>Figure 20 :</b>	Teneurs en triglycérides (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats	<b>54</b>
<b>Figure 21 :</b>	Teneurs en lipides totaux (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats	<b>55</b>
<b>Figure 22 :</b>	Activité de la LCAT sérique et des lipases tissulaires chez les différents lots de rats	<b>57</b>
<b>Figure 23 :</b>	Marqueurs du statut antioxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats	<b>59</b>
<b>Figure 24 :</b>	Marqueurs du statut oxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats	<b>60</b>
<b>Figure 25 :</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les différents lots de rats	<b>61</b>
<b>Figure 26 :</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant mitochondrial chez les différents lots de rats	<b>63</b>
<b>Figure 27 :</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du pancréas chez les différents lots de rats	<b>64</b>
<b>Figure 28 :</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux blanc chez les différents lots de rats	<b>65</b>
<b>Figure 29 :</b>	Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux brun chez les différents lots de rats	<b>67</b>

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>ETAT ACTUEL DU SUJET</b>	<b>5</b>
<b>I. Le diabète sucré</b>	<b>5</b>
<b>II. Diabète et stress oxydatif</b>	<b>9</b>
<b>III. Diabète induit par la streptozotocine</b>	<b>21</b>
<b>IV. Les microalgues et effets bénéfiques sur le stress oxydatif et le diabète</b>	<b>22</b>
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>26</b>
<b>I. Protocole expérimental</b>	<b>26</b>
<b>I.1. Choix de l'animal</b>	<b>26</b>
<b>I.2. Induction du diabète expérimental</b>	<b>26</b>
<b>I.3. Régimes et différents lots de rats</b>	<b>26</b>
<b>I.4. Sacrifices et prélèvements de sang et d'organes</b>	<b>27</b>
<b>II. Dosage des minéraux</b>	<b>30</b>
<b>II.1. Dosage du phosphore</b>	<b>30</b>
<b>II.2. Dosage du calcium</b>	<b>30</b>
<b>II.3. Dosage du magnésium</b>	<b>30</b>
<b>III. Analyse des paramètres hématologiques</b>	<b>30</b>
<b>III.1. Numération des globules rouges et blancs</b>	<b>30</b>
<b>III.2. Dosage de l'hémoglobine: Méthode de Drabkin</b>	<b>30</b>
<b>IV. Analyse des paramètres biochimiques</b>	<b>31</b>
<b>IV.1. Détermination des teneurs en glucose sérique</b>	<b>31</b>

<b>IV.2.</b> Dosage d'hémoglobine glyquée	<b>31</b>
<b>IV.3.</b> Détermination des teneurs en protéines totales sérique	<b>31</b>
<b>IV.4.</b> Détermination des teneurs en acide urique sérique	<b>31</b>
<b>IV.5.</b> Détermination des teneurs en créatinine sérique	<b>31</b>
<b>IV.6.</b> Détermination des teneurs en urée sérique	<b>32</b>
<b>IV.7.</b> Détermination de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT, ALAT)	<b>32</b>
<b>IV.8.</b> Détermination cinétique des phosphatases alcalines	<b>32</b>
<b>IV.9.</b> Dosage du lactate déshydrogénase (LDH)	<b>33</b>
<b>IV.10.</b> Détermination des paramètres lipidiques au niveau du sérum, des lipoprotéines et des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et le tissu adipeux brun)	<b>33</b>
<b>IV.10.1.</b> Séparation des lipoprotéines	<b>33</b>
<b>IV.10.2.</b> Détermination des teneurs en triglycéride et en cholestérol	<b>33</b>
<b>IV.10.3.</b> Détermination des lipides totaux des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun)	<b>34</b>
<b>IV.11.</b> Détermination des teneurs en protéines totales des organes	<b>34</b>
<b>IV.12.</b> Détermination de l'activité des lipases	<b>34</b>
<b>IV.12.1.</b> Détermination de l'activité de l'enzyme LPL tissulaire (LPL, EC 3.1.1.34)	<b>34</b>
<b>IV.12.2.</b> Détermination de l'activité de l'enzyme lipase hormono-sensible tissulaire (LHS; EC 3.1.1.3)	<b>34</b>
<b>IV.13.</b> Détermination de l'activité de la lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT)	<b>35</b>
<b>V.</b> Détermination du statut oxydant/antioxydant	<b>35</b>
<b>V.1.</b> Détermination des teneurs en anion superoxyde	<b>35</b>

V.2. Détermination des teneurs en oxyde nitrique (NO)	35
V.3. Dosage de la vitamine C	35
V.4. Dosage de l'activité de la catalase	36
V.5. Dosage du glutathion réduit (GSH)	36
V.6. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)	37
V.7. Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD)	37
V.8. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	37
V.9. Détermination des protéines carbonylées	37
VI. Extraction de la fraction mitochondriale hépatique	38
VI.1. Détermination des marqueurs du stress oxydatif au niveau mitochondrial	38
VI.1.1. Détermination du glutathion réduit (GSH) mitochondrial	38
VI.1.2. Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD) mitochondriale	38
VI.1.3. Détermination de l'activité de la catalase mitochondriale	38
VI.1.4. Teneurs en protéines carbonylées mitochondrial	38
VI.1.5. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) mitochondrial	39
VII. Analyse statistique	39
<b>RESULTATS ET INTERPRETATIONS</b>	<b>40</b>
I. Evolution du poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique chez les différents lots de rats (Figure 11 et Tableau A1 en annexes)	40
II. Teneurs sériques en minéraux chez les différents lots de rats (Figure 12 et Tableau A2 en annexes)	40
III. Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots de rats	43

<b>IV. Paramètres biochimiques</b>	<b>43</b>
<b>IV.1.</b> Teneurs sériques en glucose, hémoglobine glyquée et en protéines totales chez les différents lots de rats (Figure 13 ; Tableau A4 en annexes)	<b>43</b>
<b>IV.2.</b> Teneurs sériques en acide urique, urée et en créatinine chez les différents lots de rats (Figure 14 ; Tableau A4 en annexes)	<b>43</b>
<b>IV.3.</b> Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la PAL et de la LDH chez les différents lots de rats (Figure 15 ; Tableau A4 en annexes)	<b>47</b>
<b>IV.4.</b> Teneurs en lipides sériques et en lipoprotéines chez les différents lots de rats (Figure 16 ; Tableau A5 en annexes)	<b>47</b>
<b>V. Paramètres tissulaires</b>	<b>47</b>
<b>V.1.</b> Poids absolu des organes et teneurs en protéines totales aux niveaux des organes chez les différents lots de rats (Figure 17 et 18 ; Tableau A6 en annexes)	<b>47</b>
<b>V.2.</b> Teneurs en lipides aux niveaux des organes chez les différents lots de rats (Figure 19, 20 et 21 ; Tableau A7 en annexes)	<b>50</b>
<b>V.3.</b> Activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) et l'activité des lipases (LPL et LHS) au niveau des organes chez les différents lots de rats (Figure 22 ; Tableau A8 en annexes)	<b>56</b>
<b>VI. Statut oxydant/antioxydant</b>	<b>56</b>
<b>VI.1.</b> Marqueurs du statut antioxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats (Figure 23; Tableau A9 en annexes)	<b>56</b>
<b>VI.2.</b> Marqueurs du statut oxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats (Figure 24 ; Tableau A10 en annexes)	<b>58</b>
<b>VI.3.</b> Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des organes	<b>58</b>
<b>VI.3.1.</b> Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les différents lots de rats (Figure 25 ; Tableau A11 en annexes)	<b>58</b>
<b>VI.3.2.</b> Marqueurs du statut oxydant/antioxydant mitochondrial chez les différents	<b>62</b>

lots de rats (Figure 26 ; Tableau A12 en annexes)	
<b>VI.3.3.</b> Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du pancréas chez les différents lots de rats (Figure 27 ; Tableau A13 en annexes)	<b>62</b>
<b>VI.3.4.</b> Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux blanc chez les différents lots de rats (Figure 28 ; Tableau A14 en annexes)	<b>62</b>
<b>VI.3.5.</b> Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux brun chez les différents lots de rats (Figure 29 ; Tableau A15 en annexes)	<b>66</b>
<b>DISCUSSION</b>	<b>68</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>82</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>84</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>102</b>
<b>ARTICLE</b>	<b>117</b>



# **INTRODUCTION**

Le diabète est un problème de santé mondial majeur qui menace gravement la santé humaine et constitue la troisième cause de mortalité chez l'homme après le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies vasculaires cérébrales (Li et al., 2004).

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque l'organisme est incapable de produire suffisamment d'insuline ou d'utiliser l'insuline de manière efficace (Fatoumata et al., 2020). L'insuline est en effet la principale hormone qui régule l'absorption du glucose dans la plupart des cellules. En l'absence d'insuline, le corps ne peut pas métaboliser le glucose et par conséquent, ne peut pas être utilisé pour des fonctions de l'organisme ce qui entraîne un état d'hyperglycémie chronique (Todkar, 2016).

Le diabète est la plus grande maladie endocrinienne dans le monde à prévalence croissante. Le nombre de diabétiques dans le monde a atteint une proportion alarmante au cours des trois dernières décennies, les dernières estimations suggèrent une prévalence mondiale de 382 millions de personnes avec le diabète en 2013 et qui devrait atteindre 592 millions d'ici 2035 (Forouhi et Wareham, 2014), dans les pays industrialisés par exemple la prévalence du diabète augmente d'environ 6% / an (Delattre et al., 2005). En plus de ces chiffres alarmants, il faut tenir compte les personnes qui ignorent qu'elles sont diabétiques car le développement de la maladie est silencieux.

Il existe plusieurs formes de diabète. La majorité des cas de diabète sont représentés par les diabètes de type 1 et de type 2. Le diabète de type 1 est la plupart du temps diagnostiqué chez les enfants ou les adolescents. Il est dû à la destruction des cellules bêta du pancréas attribuable à un processus à médiation immunitaire qui est probablement déclenché par des facteurs environnementaux chez les personnes génétiquement prédisposées (Ali et al., 2017). Le diabète de type 2 est la forme la plus courante de la maladie, environ 95% des patients souffrent de ce type de diabète qui est dû à une résistance à l'insuline et à une réduction de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta (Paoli et al., 2013). L'obésité, les habitudes alimentaires, le style de vie sédentaire, l'inactivité physique et les facteurs génétiques sont considérés comme des facteurs de risque importants dans le développement de ce type de diabète (Fareed et al., 2017).

Le diabète fait peser un lourd fardeau non seulement sur les personnes atteintes cette maladie et leurs familles, mais aussi sur les communautés et les économies. Aux Etats-Unis et en Europe, le coût humain et financier de la maladie en fait un problème de santé public majeur (Sinisterra-Loaiza et al., 2019). Elle est responsable à l'initiation et à la progression des complications dangereuses et coûteuses qui peuvent entraîner des lésions des yeux, des reins, des nerfs, des pieds et du cœur. Ces complications représentent une cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients diabétiques (Chawla et al., 2016 ; Pourhanifeh et al., 2020).



Cette pathologie est le plus souvent accompagnée à des anomalies du métabolisme lipidiques, caractérisées par des concentrations élevées en triglycérides, cholestérol total, LDL-C et réduite en HDL-C. Ces anomalies lipidiques jouent un rôle central dans le développement de l'athérosclérose et représentent un important facteur de risque des maladies cardiovasculaires (Chen et Tseng, 2013).

Les complications associées au diabète sont dues à des facteurs multiples, l'un des facteurs qui est responsable de ces complications et le stress oxydatif par la génération de radicaux libres (Ali et al., 2017). La production excessive de ces radicaux libres au cours de diabète est étroitement liée à la peroxydation lipidique, à la glycation non enzymatique des protéines et à l'oxydation du glucose, conduisant à des altérations indésirables et une résistance à l'insuline (Khan et al., 2015).

De manière générale, le stress oxydatif se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la balance des oxydants et des antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles, ainsi lorsque l'organisme n'est plus capable de contrôler la production excessive de radicaux libres et que les systèmes de défense antioxydants sont dépassés, on parle de stress oxydatif (Sireesha et Rao, 2015). Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (vieillesse), d'une activation de systèmes enzymatiques (NADPH oxydase, xanthine oxydase, glucose oxydase), d'une libération de fer de ses protéines de transport (ferritine, lactoferrine) dans le sang sous forme libre ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines). Aussi, un régime pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition du stress oxydatif. Ce phénomène est impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies (le cancer, l'asthme, l'athérosclérose, l'obésité, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le diabète) (Pincemail et al., 2002; Pitocco et al., 2013; Sireesha et Rao, 2015).

De nombreux travaux rapportent une augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) avec une diminution des capacités de défenses antioxydantes chez les personnes diabétiques (Jebur et al., 2016). Par conséquent, il semble raisonnable que l'organisme dispose un ensemble complexe de défenses antioxydantes très efficace pour se protéger des effets délétères des ERO. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, sélénium, zinc, flavonoïdes, et l'autre est de source endogène et se compose d'enzymes tels que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. Ces antioxydants possèdent la capacité de piéger les radicaux libres et des avantages thérapeutiques puissants pour le

traitement et la prévention des maladies liés au stress oxydatif (Pincemail et al., 2002 ; Adwas et al., 2019).

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant à chercher des antioxydants nouveaux provenant de sources naturelles afin de prévenir et minimiser les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres. Les milieux marins fournissent des sources très importantes d'antioxydants, notamment les caroténoïdes et les polyphénols, qui pourraient être utilisés dans le traitement du diabète et ces complications associées.

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques qui attirent l'attention des scientifiques et des industriels en raison de leurs nombreuses potentialités (Gómez-Zorita et al., 2020). La première utilisation de ces microorganismes par l'homme remonte à 2000 ans pour les Chinois, qui ont utilisé *Nostoc* pour survivre pendant la famine (Priyadarshani et Rath, 2012). Il y a environ 110 producteurs commerciaux de microalgues qui sont présents dans la région Asie-Pacifique, avec une capacité de production allant jusqu'à 500 tonnes / an. Environ les neuf dixièmes de la culture d'algues se trouvent en Asie. Parmi lesquels, un grand nombre de producteurs commerciaux de microalgues se trouvent en Taiwan, Chine et en Inde (Sathasivam et al., 2019).

*Spiruline, Chlorella, Haematococcus, Dunaliella, Phaeodactylum, Porphyridium, Chaetoceros, Cryptocodinium, Isochrysis, Nannochloropsis, Nitzschia, Schizochytrium, Tetraselmis* et *Skeletonema* sont parmi les espèces qui ont une importance commerciale et qui constitue un exemple du potentiel des microalgues (Sathasivam et al., 2019).

Ces microorganismes sont devenues l'une des sources les plus prometteuses et innovantes pour les nouveaux produits alimentaires et fonctionnels. De plus, les microalgues peuvent être utilisées comme ingrédients fonctionnels pour améliorer la valeur nutritionnelle des aliments et, ainsi, avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine en améliorant le bien-être et la qualité de la vie, mais aussi en réduisant les risques de certaines maladies (Matos et al., 2017). Les effets bénéfiques des microalgues sur la santé humaine sont nombreux: anticancéreux, antiviral, anti-inflammatoire et antioxydant (Kherraf et al., 2017). Cependant, un grand nombre d'études in vitro et in vivo ont souligné les bienfaits de ces microalgues sur l'obésité, l'athérosclérose, l'Alzheimer, le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies inflammatoires (de Morais et al., 2015 ; Talero et al., 2015; Bule et al., 2018).

Les microalgues constituent une source naturelle très intéressante et précieuse de composés bioactifs de grande valeur, tels que les vitamines, les acides aminés, les acides gras polyinsaturés, les minéraux, les enzymes et les fibres. En plus de ces composés, on peut également trouver des polysaccharides, d'astaxanthine et d'autres caroténoïdes à activité

antioxydante (de Morais et al., 2015). En raison de leurs propriétés antioxydantes les caroténoïdes de microalgues en particulier, l'astaxanthine et la lutéine ont été proposés pour la prévention et le traitement de nombreuses maladies chroniques. Ces caroténoïdes pourraient avoir aussi un potentiel élevé pour traiter les pathologies liées aux stress oxydatif en raison de leur action protectrice (Zuluaga et al., 2017).

Le genre *Nannochloropsis* (également appelé *Chlorella* marine) est une excellente microalgue verte fait partie de la classe *Eustigmatophyceae*, bien connu en aquaculture en raison de sa valeur nutritive et de sa capacité à produire de fortes concentrations d'antioxydants importants comme la zéaxanthine et la canthaxanthine. Cette microalgue constitue également une bonne source alternative d'acide eicosapentaénoïque (EPA), qui est un acide gras polyinsaturé précieux pour la prévention de plusieurs maladies humaines (Kafaie et al., 2012; Zainoddin et al., 2018).

*Nannochloropsis* a été depuis longtemps utilisé dans l'alimentation humaine et les produits diététiques. Ainsi, il existe plusieurs études sur l'enrichissement d'aliments avec cette biomasse pour améliorer le profil nutritionnel (Schwartz et al., 1991).

Malgré sa richesse en antioxydants et en composés bioactifs de grande valeur qui pouvant être bénéfiques dans la prévention du diabète et ses complications à long terme, les effets *in vivo* de *Nannochloropsis gaditana* n'ont jamais été étudiés chez le rat diabétique, ce qui confère à ce travail une certaine originalité.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de thèse de doctorat qui vise à évaluer les effets des microalgues vertes « *Nannochloropsis gaditana* » sur le métabolisme énergétique chez le rat Wistar diabétique. Nous avons utilisé le rat Wistar qui est rendu diabétique par l'injection du streptozotocine comme modèle de diabète expérimental. Les rats diabétiques ont été nourris avec un régime standard enrichi ou non en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10% pendant 2 mois d'expérimentation.

Nous nous sommes donc fixés plusieurs objectifs :

- Etude *in vivo* l'effet de la supplémentation en microalgue *Nannochloropsis gaditana* sur le statut métabolique.
- Déterminer l'effet préventif de *Nannochloropsis gaditana* contre le stress oxydatif et l'inflammation chez rat Wistar diabétique.
- Tester l'effet de *Nannochloropsis gaditana* sur l'état antioxydant des mitochondries.



# **ETAT ACTUEL DU SUJET**

## **I. Le diabète sucré**

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologie diverse, généralement caractérisées par une hyperglycémie chronique, accompagnées d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline, de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Ozougwu et al., 2013).

Le diabète est actuellement défini par une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (7 mmol/l) ou une glycémie supérieure à 2 g/l (11,1 mmol/l) à n'importe quel moment ou lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale. Cette hyperglycémie est s'accompagne par une polyurie, polydipsie, perte de poids, et parfois par une polyphagie et des troubles de la vision. Un retard de croissance et une sensibilité à certaines infections peuvent également accompagner l'hyperglycémie chronique (ADA, 2007 ; ADA, 2014).

L'insuline est en effet la principale hormone hypoglycémisante de l'organisme, elle est synthétisée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas. L'insuline est stockée dans des vacuoles et libérée une fois déclenchée par une élévation de la glycémie. Elle stimule l'absorption du glucose dans la plupart des cellules, y compris les cellules musculaires et les adipocytes. L'insuline est également le principal signal de conversion du glucose en glycogène pour le stockage interne dans les cellules musculaires et le foie (Lin et Sun, 2010).

Dans les conditions physiologiques normales, les cellules  $\beta$  pancréatiques synthétisent constamment de l'insuline, indépendamment des concentrations de glucose dans le sang. Cependant dans le cas de diabète sucré, le pancréas ne produit pas suffisamment l'insuline ou l'organisme ne peut utiliser de manière efficace l'insuline qui est produite (Lin et Sun, 2010; Gupta et al., 2015).

Le diabète sucré est un problème de santé majeur, sa prévalence augmente dans le monde entier au cours des dernières décennies. La Fédération Internationale du Diabète (FID) estime qu'il y a 366 millions de personnes atteintes de diabète en 2011 avec une augmentation prévue près de 552 millions d'ici 2030 (Baynest, 2015).

En Algérie, la prévalence du diabète est passée de 1 million de personnes en 1993, à plus de 2,5 millions en 2007, soit 10% de la population en 2010 (Dali-Sahi et al., 2012).

Quatre types de diabète sont définis: le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gestationnel et autres types spécifiques de diabète (parmi lesquels des déficiences génétiques conduisant à un déficit en insuline, des altérations génétiques des cellules bêta pancréatiques et plusieurs endocrinopathies ou maladies du pancréas) (Baynest, 2015).

**-Le diabète de type 1 ou le diabète insulino-dépendant (IDDM):** est l'une des maladies chroniques les plus courantes chez les enfants et les jeunes adultes, c'est pourquoi il est aussi appelé «diabète juvénile». Ce type de diabète ne représente que 5 à 10% des personnes diabétiques, son incidence augmente, en particulier chez les enfants de moins de 5 ans (ADA, 2014; Simmons et Michels, 2015).

Le diabète insulino-dépendant est une maladie auto-immune causée par une destruction sélective et progressive des cellules  $\beta$  du pancréas. Ce processus de destruction entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique. Le diabète de type 1 est généralement caractérisé par la présence des anticorps anti-îlots, des anticorps antidécarboxylase de l'acide glutamique (GAD), des anticorps anti-insuline qui sont impliquées dans les processus auto-immunes conduisant à la destruction des cellules  $\beta$ . Cette destruction peut se produire sur plusieurs années, mais les symptômes de la maladie se développent généralement sur une courte période de temps (Baynest, 2015 ; Gupta et al., 2015).

Il est clair que les facteurs génétiques et environnementaux jouent un rôle central dans le développement de la maladie, mais les causes précises restent inconnues (Saberzadeh-Ardestani et al., 2018). Chez les sujets génétiquement prédisposés, c'est-à-dire possédant des gènes de susceptibilité liés au système HLA, la réaction auto-immune contre les cellules  $\beta$  pourrait être déclenchée par des facteurs environnementaux (Eringsmark Regnéll et Lernmark, 2013). Les personnes atteintes ce type de diabète nécessiteront une insulinothérapie quotidienne pour maintenir une glycémie normale (Baynest, 2015).

**-Le diabète de type 2 ou le diabète non insulino-dépendant:** c'est la forme du diabète la plus fréquente puisqu'elle représente plus de 90% des cas diagnostiqués dans le monde. Le diabète de type 2 est aussi appelé «diabète de la maturité» car il survient le plus souvent chez les adultes que chez les enfants, sa prévalence augmente avec l'âge en particulier après 40 ans (Harikumar et al., 2014 ; Fareed et al., 2017). Il se caractérise par une insulino-résistance et souvent un déficit relative de la sécrétion de l'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatique. Cela entraîne une diminution de la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline, qui se traduit par une diminution de l'utilisation du glucose au niveau du foie, le muscle et le tissu adipeux, une augmentation de la production hépatique du glucose, et la libération des acides gras par le tissu adipeux (Olokoba et al., 2012).

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle dont les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux concourent à son développement et à son évolution (Gupta et al., 2015). De nombreuses études ont confirmé que l'obésité est le facteur de risque principal de cette maladie. Les patients atteints le diabète de type 2 sont généralement en surcharge pondérale et présentent

un excès de tissus adipeux intra-abdominal (obésité androïde), qui est étroitement liée à l'insulinorésistance. De plus, l'hypertension et la dyslipidémie sont souvent présentes chez ces personnes (Baynest, 2015).

**-Le diabète gestationnel:** La grossesse est à la fois un état d'insulinorésistance et d'hyperinsulinisme, qui peuvent prédisposer certaines femmes enceintes à développer un diabète gestationnel (Gilmartin et al., 2008). Il survient lorsque les cellules bêta du pancréas sont incapables de faire face à une demande accrue d'insuline pendant la grossesse (Baz et al., 2016). Le diabète gestationnel affecte environ 4% des femmes enceintes n'ayant jamais souffert de diabète auparavant, mais ayant une glycémie élevée pendant la grossesse (Mohareri et al., 2016). Ce trouble métabolique peut avoir des conséquences graves à la fois pour la mère et le fœtus. Donc il est essentiel de traiter rapidement ce type de diabète, afin de réduire ou d'éviter les complications pour la mère et la progéniture (Akhalya et al., 2019).

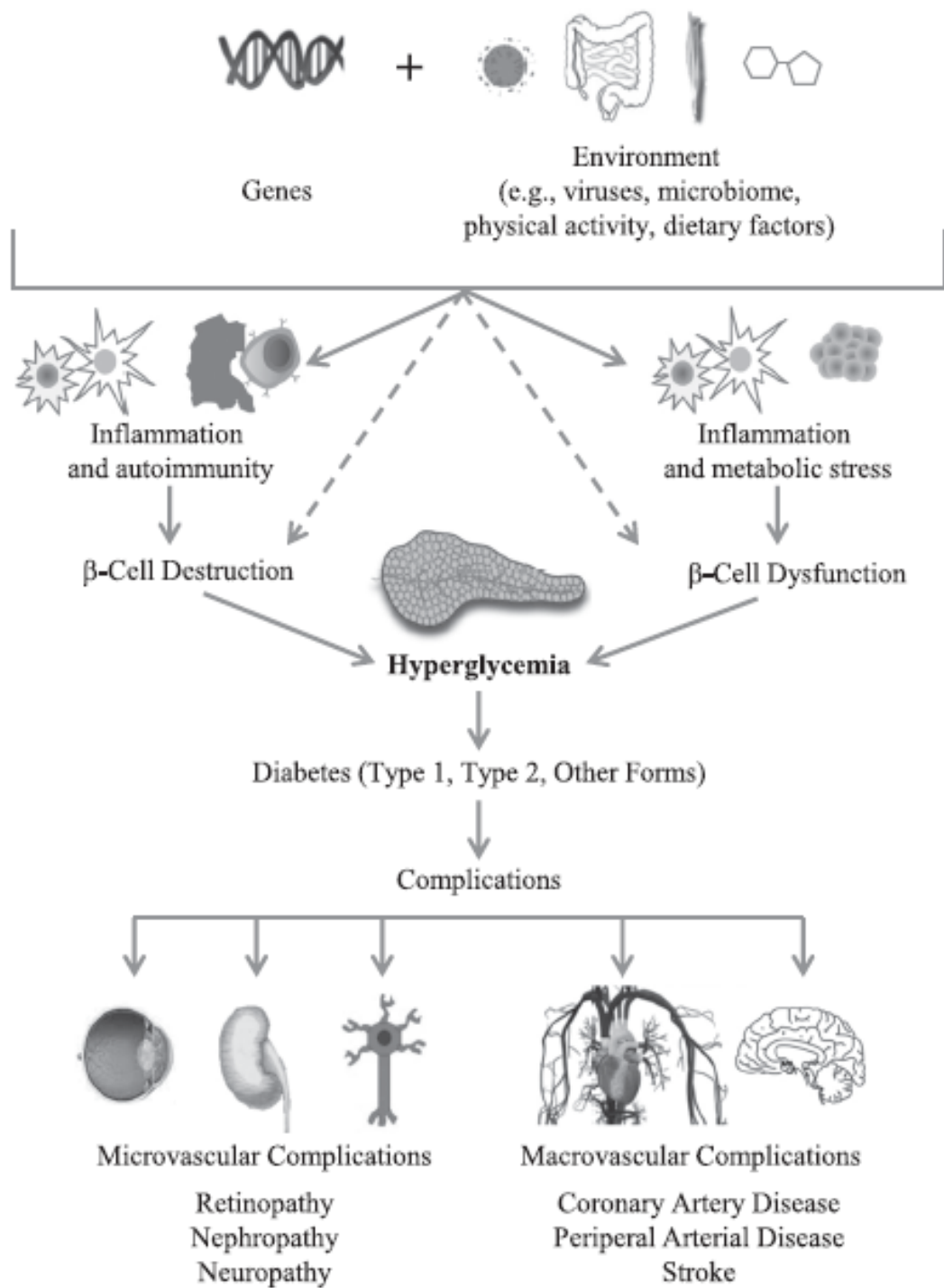
**-Autres types de diabète:** Plusieurs formes de diabète sont associées à des mutations monogéniques portant sur la régulation de la sécrétion insulinaire par les îlots de Langerhans. Ces variétés de diabète sont généralement caractérisées par la survenue d'un diabète chez les sujets jeunes ayant moins de 25 ans. Elles sont désignées sous le terme générique de diabète de la maturité chez le sujet jeune (MODY) (Baynest, 2015).

Le diabète sucré peut être également secondaire à des maladies du pancréas (pancréatite chronique) ou à d'autres endocrinopathies par le biais d'un excès d'hormones (acromégalie, syndrome de Cushing). Les produits chimiques toxiques et certains médicaments tels que les glucocorticoïdes peuvent aussi être une cause de diabète (Harikumar et al., 2015).

Tous les types de diabète sont susceptibles de voir évoluer des complications liées à l'état d'hyperglycémie chronique. En effet, l'hyperglycémie mal contrôlée peut endommager avec le temps divers systèmes organiques, entraînant le développement de plusieurs complications aiguës et chroniques (Baynest, 2015; Harikumar et al., 2015). L'acidocétose, le coma hyperosmolaire, l'acidose lactique et l'hypoglycémie sont les principales complications métaboliques aiguës qui peuvent survenir au cours du diabète (Hanumanthaiah et al., 2017).

Les complications chroniques du diabète concernent à la fois les gros vaisseaux (macroangiopathie) et les petits vaisseaux (microangiopathie) (Figure 1). Les complications microangiopathiques comprennent la néphropathie, la neuropathie et la rétinopathie diabétique, tandis que les complications macroangiopathiques concernent le cœur (l'insuffisance cardiaque), le cerveau et les membres inférieurs (Tarigan et al., 2015).

Le diagnostic précoce et la prise en charge du diabète aident à prévenir ces complications.



**Figure 1.** Facteurs contribuant à la destruction des cellules  $\beta$  et les complications liées au diabète (Skyler et al., 2017)



## II. Diabète et stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre profond entre la balance pro-oxydante et antioxydante en faveur des premiers (Pincemail et al., 2002).

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules lorsqu'elles sont soumises à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres qui dépasse leurs capacités antioxydantes (Favier, 2006). Ces radicaux libres sont des composés possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, et qui se stabilisent en oxydant d'autres molécules biologiques. Au cours de ce processus, ils génèrent plus de radicaux libres, provoquant une chaîne de destruction (Phaniendra et al., 2015).

Le radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) sont encore appelés les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou « Reactive Oxygen Species » (ROS) car ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Parmi les ERO, il existe d'autres radicaux libres telles que les radicaux peroxydes ( $RO_2^{\cdot}$ ), les hydroperoxydes ( $RO_2H$ ) et les radicaux alkoxydes ( $RO^{\cdot}$ ). Ces espèces participent à différents types de réactions et peuvent induire un processus de réactions radicalaires (Figure 2) (Delattre et al., 2005).

Le radical superoxyde est l'une des ERO les plus fortes parmi les radicaux libres générés par l'oxygène dans les cellules vivantes (Al-Mamun et al., 2007). Il est formé lors du métabolisme normal de la cellule. En effet, la chaîne respiratoire mitochondriale constitue la source principale de production des radicaux  $O_2^{\cdot-}$ , c'est environ 2% de l'oxygène moléculaire utilisé par les mitochondries sont transformés en radicaux  $O_2^{\cdot-}$  (Delattre et al., 2005; Sisein, 2014). Une fois produit, le  $O_2^{\cdot-}$  déclenche une cascade rapide des événements qui crée d'autres espèces réactives comme le radical  $OH^{\cdot}$  et le peroxyde d'hydrogène (Figure 3) (Al-Mamun et al., 2007). Bien que le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre mais ils est classé comme une forme réactive de l'oxygène qui peut être généré par une réaction de dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase. L' $H_2O_2$  se diffuse facilement à travers les membranes plasmiques (Sisein, 2014 ; Phaniendra et al., 2015). Il exerce des effets délétères qui peuvent être directe par oxydation des molécules biologiques ou indirecte dans laquelle ils servent de source à des espèces plus nuisibles comme par exemple les radicaux hydroxydes (Kohen et Nyska, 2002). Cependant, le radical  $OH^{\cdot}$  est le plus réactif et le plus instable de toutes les espèces dérivées de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002). Il est généré par la réaction de l' $H_2O_2$  avec des ions ferreux (réaction de Fenton) ou via la réaction d'Haber-Weiss à partir de la réduction du  $H_2O_2$  par le radical  $O_2^{\cdot-}$  (Gupta et al., 2012).

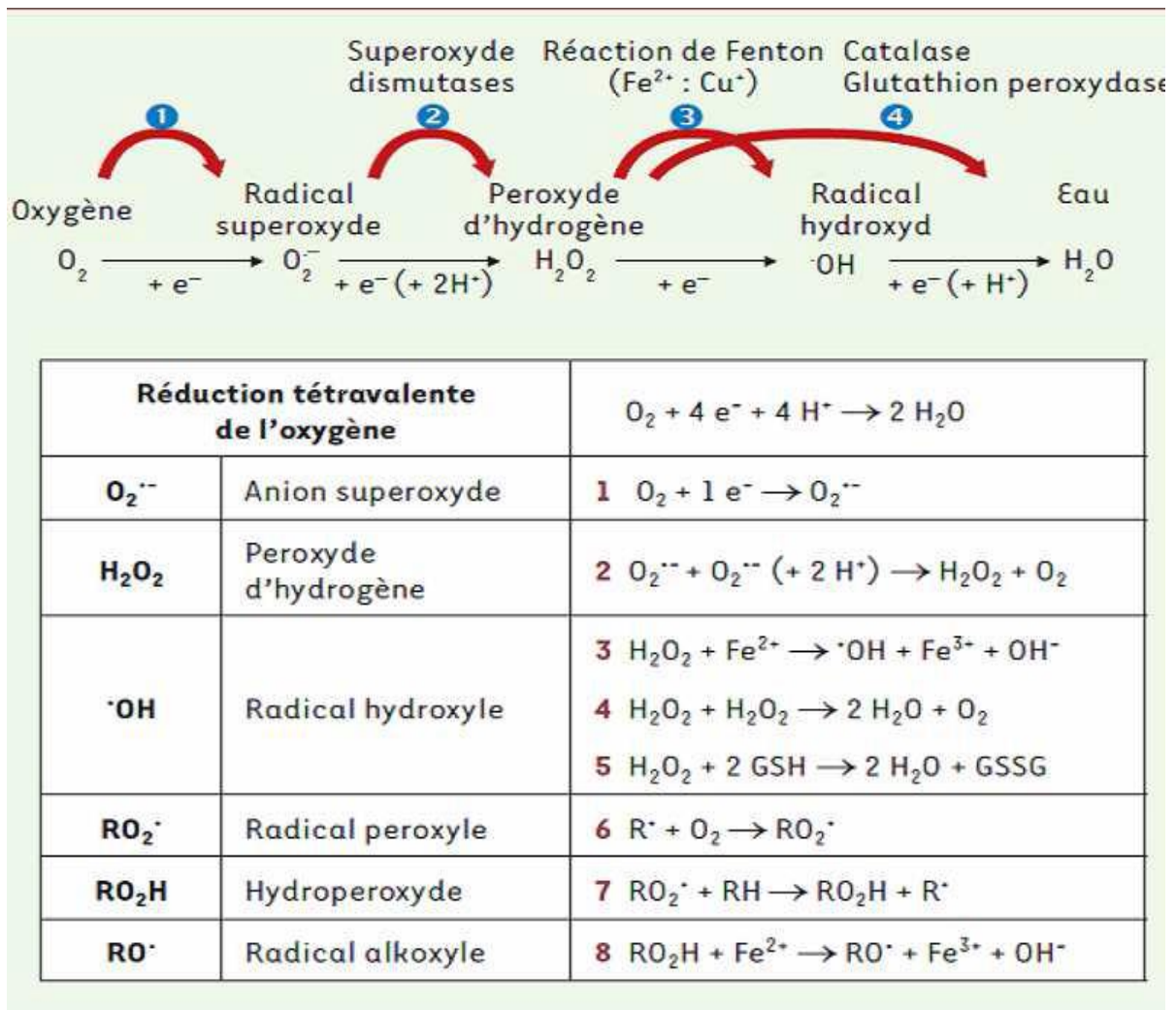


Figure 2. Origine des espèces réactives de l'oxygène (Migdal et Serres, 2011)

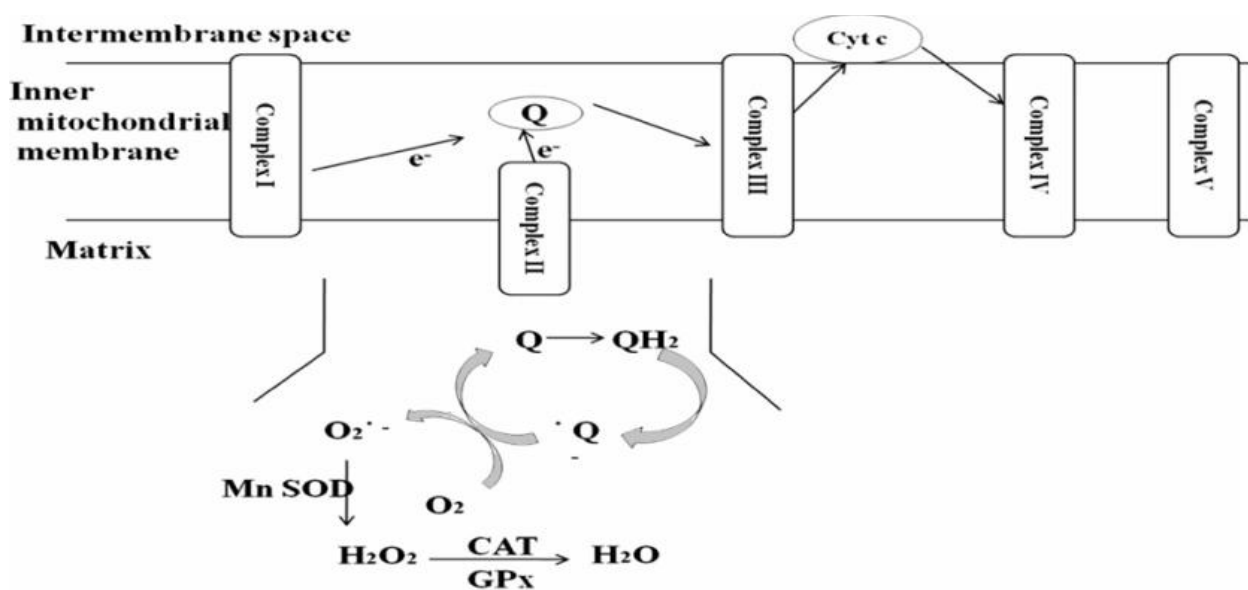


Figure 3. Production mitochondriale de l'anion superoxyde (Phaniendra et al., 2015)

Normalement tous les processus utilisant de l'oxygène dans les différents compartiments cellulaires sont susceptibles de produire les ERO dans les cellules mammifères. Par ailleurs, les mitochondries sont les principaux sites de production d'ERO via la chaîne de transport d'électrons. Les électrons sont transférés le long de la chaîne respiratoire mitochondriale par de réactions d'oxydoréduction jusqu'à l'accepteur terminal de la chaîne "l'oxygène", qui est réduit complètement en H<sub>2</sub>O. L'énergie ainsi libérée sous forme d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane interne est alors utilisée par l'ATP synthétase pour donner l'ATP. Cependant, lors du transfert des électrons, il peut y avoir des fuites d'électrons dans cette chaîne de transport et production des ERO comme l'anion superoxyde aux niveaux des complexes I et III (Delattre et al., 2005; Carrière et al., 2006).

Parmi les différentes causes qui conduisent au diabète, le rôle des mitochondries est considéré comme important (Labieniec-Watala et al., 2012).

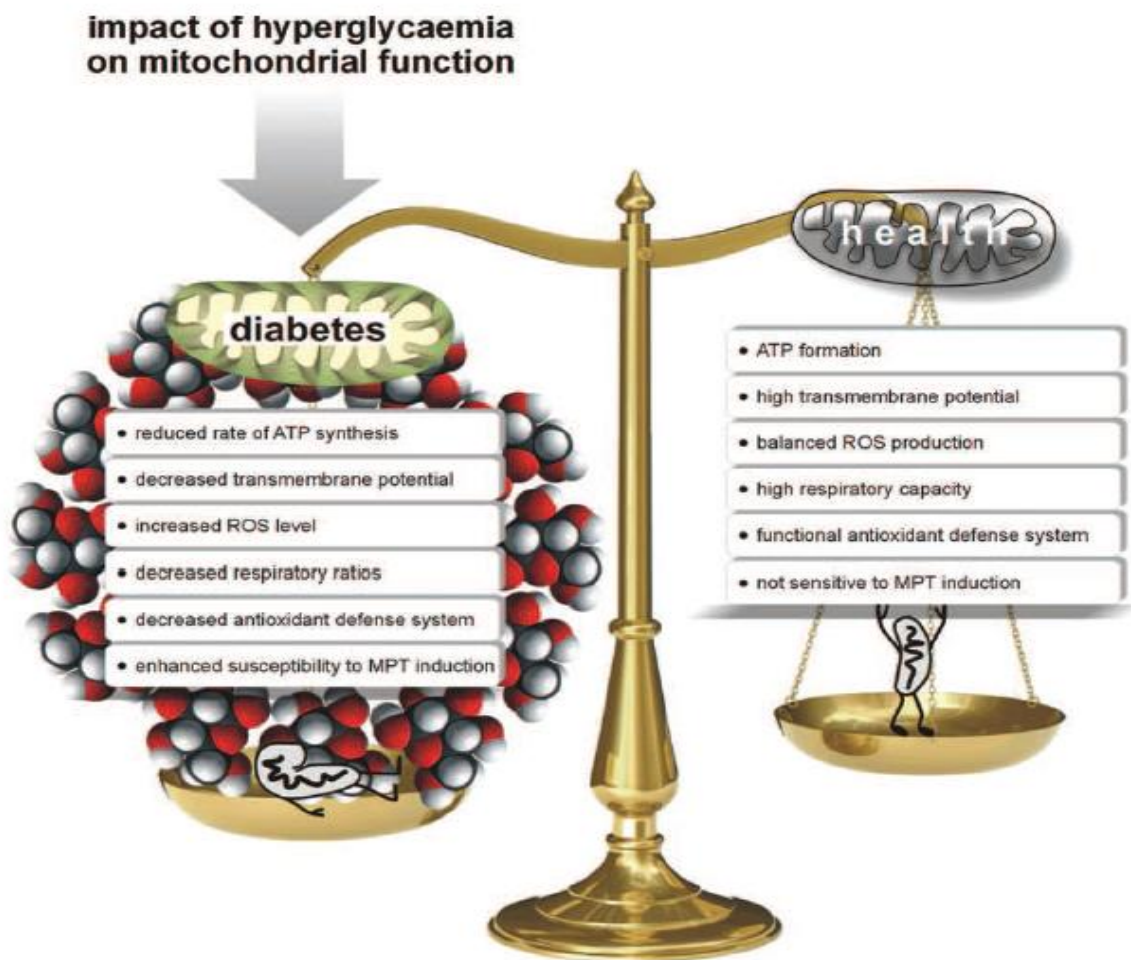
Il est intéressant de noter que la fonction mitochondriale est nécessaire pour la sécrétion normale d'insuline stimulée par le glucose à partir de cellules pancréatiques. En effet, l'hyperglycémie est l'un des facteurs pouvant favoriser l'apparition d'un dysfonctionnement mitochondrial chez les diabétiques (Figure 4) (Labieniec-Watala et al., 2012).

De nombreuses études ont investigué les liens potentiellement physiopathologiques entre le dysfonctionnement mitochondrial et le diabète de type 2 (Disse, 2013). De plus, les troubles de la chaîne respiratoire mitochondriale et la surproduction d'espèces réactives oxygénées sont rencontrés dans ce type de diabète (Labieniec-Watala et al., 2012).

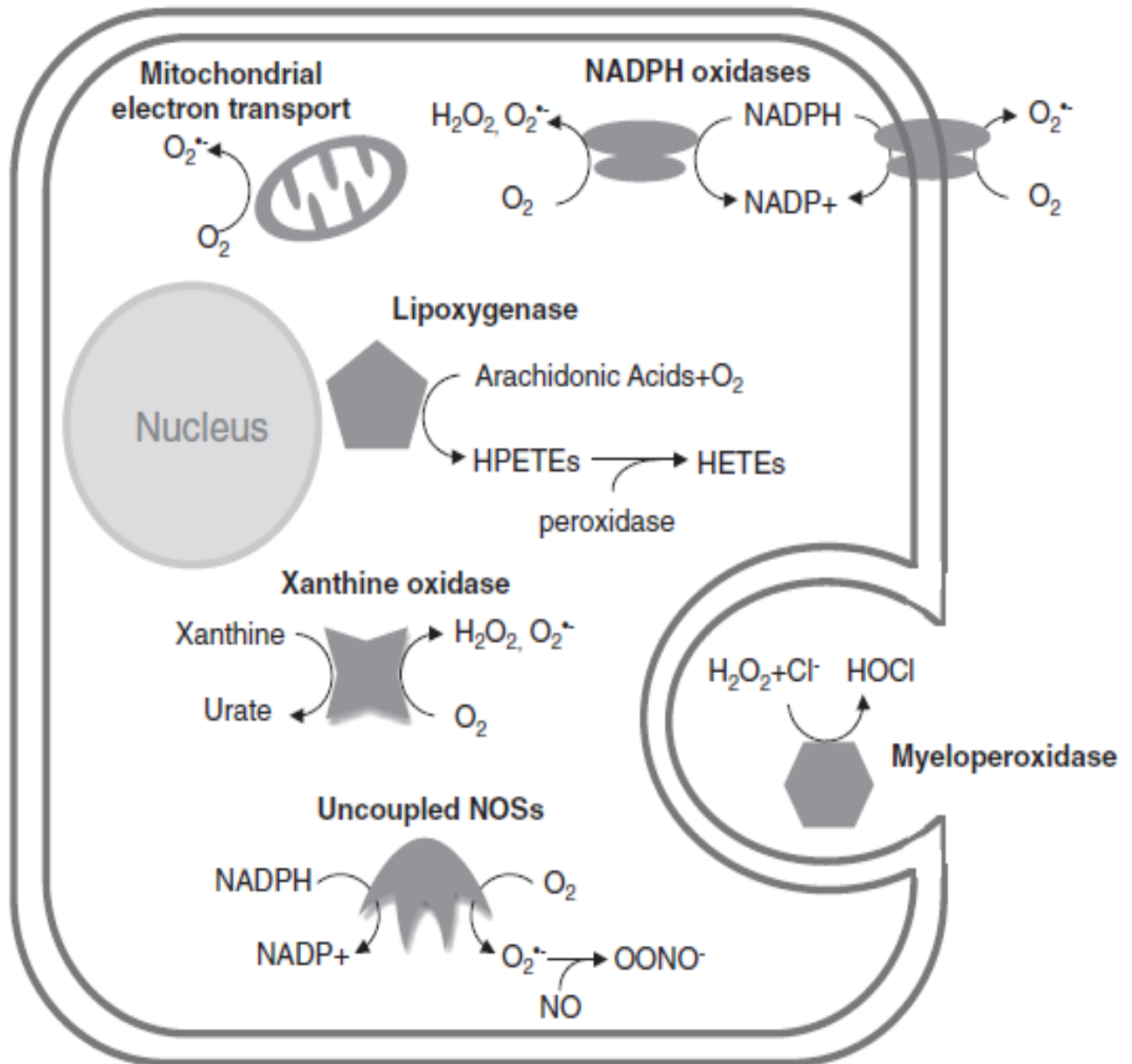
Au sein de la cellule, outre la mitochondrie, d'autres sources des ERO existent comme la xanthine oxydase, la NADPH oxydase, les enzymes du réticulum endoplasmique lisse, dont la famille des cytochromes P-450, qui assurent l'oxydation des acides gras insaturés et réduisent l'oxygène moléculaire pour former O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, les enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipo-oxygénases et les cyclo-oxygénases). Ainsi, les peroxysomes, les lysosomes et le noyau sont également impliqués dans la production des ERO (Figure 5) (Delattre et al., 2005).

Les ERO peuvent aussi être produites par une multitude de sources exogènes telles que les xénobiotiques, les produits chimiques, les métaux, les rayonnements et les agents environnementaux (Rahman, 2007).

À des concentrations faibles, les ERO jouent un rôle majeur dans la signalisation cellulaire, la prolifération cellulaire et la régulation métabolique. Cependant, une production excessive d'ERO lors d'un stress oxydatif peut induire des modifications défavorables à plusieurs composants cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN (Migdal et Serres, 2011).



**Figure 4.** L'impact global de la charge d'hyperglycémie dans le diabète sur le fonctionnement des mitochondries (Labieniec-Watala et al., 2012)



**Figure 5.** Sources et voies spécifiques de la génération des ROS (Sugamura et Keane, 2011)

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés (AGPI) sont la cible privilégiée de l'attaque radicalaire. Les dommages oxydatifs aux lipides provoquent une peroxydation lipidique qui fournit une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, on peut citer le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal, l'acroléine, oxystérols et les isoprostanes, dont le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal ont été les plus étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Thanan et al., 2015).

Cette attaque des lipides peut concerner aussi les phospholipides membranaires, ce qui entraîne des modifications de la fluidité membranaire et donc l'altération de fonctionnement de plusieurs récepteurs et transporteurs. Une autre cible importante sont les lipoprotéines circulantes, notamment les LDL, aboutissant à la formation de LDL oxydées qui sont captées par des macrophages, formeront des plaques d'athérome, ceci conduit à des maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

La toxicité des ERO s'exerce également sur les protéines. Ces ERO sont en effet capables de réagir avec la chaîne polypeptidique et les chaînes latérales de différents acides aminés. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. En général, l'oxydation des protéines conduit à des modifications de leurs structures avec des altérations de leurs fonctions biologiques (enzyme, récepteur...) et sont rendues beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome qui joue un rôle majeur dans la dégradation des protéines oxydées. Lors d'un stress oxydatif important, certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules, ce qui conduit aux dégâts protéiques observés dans le diabète sucré et le vieillissement. Lorsque les radicaux libres réagissent avec la chaîne latérale des acides aminés, il en résulte la formation des protéines carbonylées qui peuvent être utilisées comme des marqueurs biologiques pour mesurer les dommages oxydatifs effectués aux protéines (Favier, 2003 ; Therond, 2006).

Comme les protéines, l'acide désoxyribonucléique est vulnérable aux dommages oxydatifs. Les bases qui composent l'ADN sont des cibles privilégiées pour les radicaux libres. La guanine peut réagir avec le radical hydroxyle pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui s'associera avec l'adénine au lieu de s'apparier avec la cytosine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans la cancérogenèse et le vieillissement (Haleng et al., 2007).

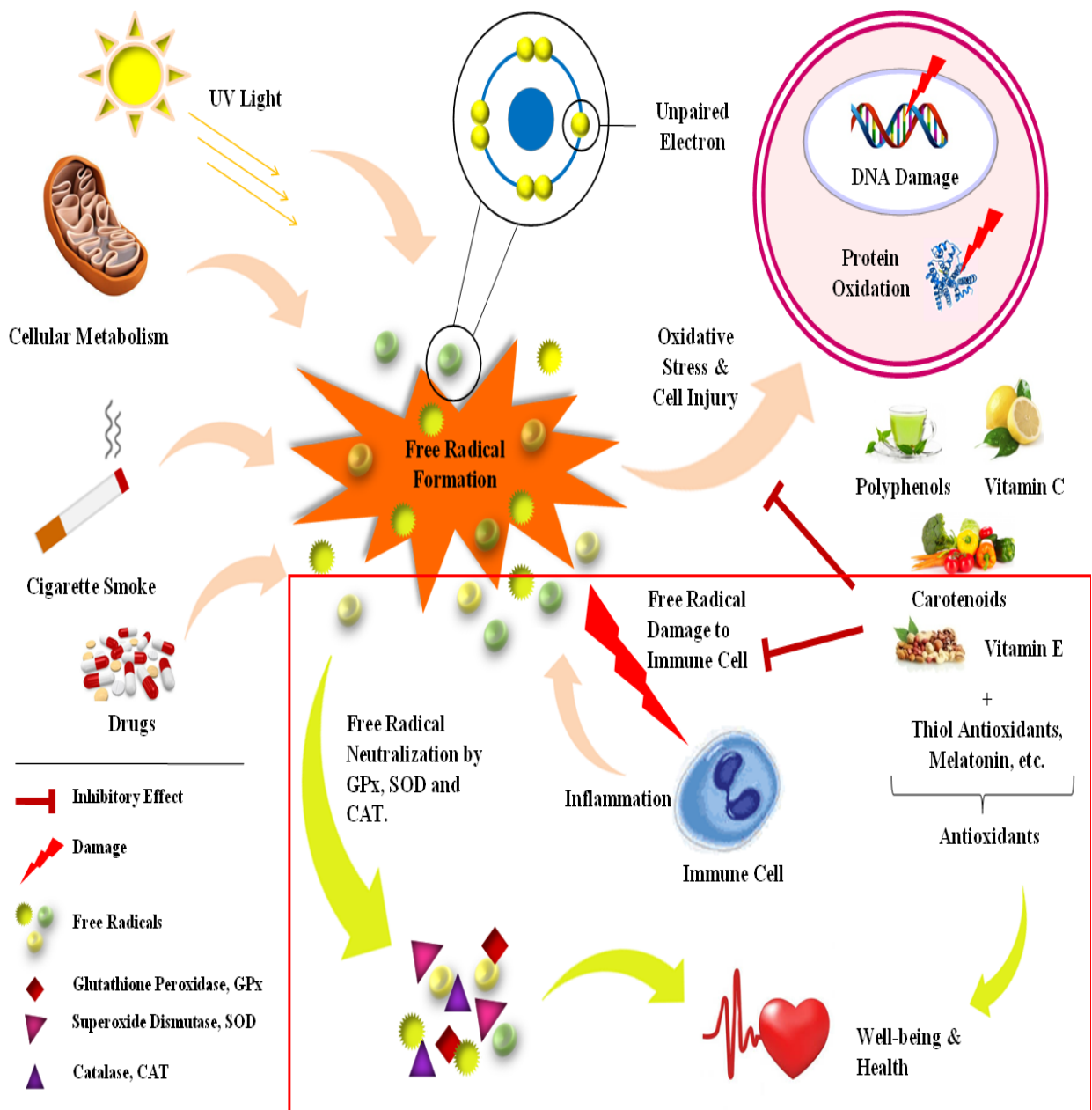
Les ERO sont présents dans les cellules à des concentrations très faibles. Ces concentrations sont régulées par un équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par des systèmes de défense de nature enzymatiques ou non enzymatiques. Les molécules qui contrôlent cette production sont désignées par le terme antioxydants, qui à faibles concentrations sont capables d'entrer en compétition avec les cibles des ERO, et donc empêcher leur oxydation. La superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase sont les principales enzymes antioxydants intracellulaires qui représentent la première ligne de défense de l'organisme contre le stress oxydant (Delattre et al., 2005; Ighodaro et Akinloye, 2018).

Les superoxydes dismutase (SOD) sont des métalloenzymes qui assurent l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Sisein, 2014). Ces enzymes se trouvent dans presque tous les organismes vivants et procurent un système de défense essentiel à leur survie en milieu aérobie. Chez l'homme, on distingue trois formes de SOD: une forme cytosolique (Cu, Zn-SOD), une forme extracellulaire et une forme mitochondriale (Mn-SOD) qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Landis et Tower, 2005).

La catalase agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Cette enzyme présente en particulier dans les peroxysomes et dans les érythrocytes (Delattre et al., 2005). La catalase peut convertir environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène chaque minute (Ifeanyi, 2018).

Le glutathion peroxydase (GPx) sont aussi capable de détoxifier le peroxyde d'hydrogène en eau par l'oxydation de glutathion réduit. Ces enzymes sont sans doute le principal système de protection car elles détruisent non seulement le  $H_2O_2$ , mais également d'autres hydroperoxydes formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol. L'activité de ces enzymes est très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium. Par ailleurs, une diminution de l'activité de GPx pendant le diabète peut entraîner des effets délétères dus à l'accumulation de produits toxiques (Favier, 2003; Al-Numair et al., 2015).

D'autres antioxydants non enzymatiques existent et ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation comme les oligoéléments (cuivre, manganèse, sélénium, zinc), vitamines C, A et E, les caroténoïdes ou les polyphénols. D'autres composés endogènes comme le glutathion, l'acide urique, le coenzyme Q, la bilirubine, la mélanine et la mélatonine contribuent aussi à la défense antioxydante de l'organisme (Figure 6) (Delattre et al., 2005).



**Figure 6.** Effets délétères des radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants (Aslani et Ghobadi, 2016)



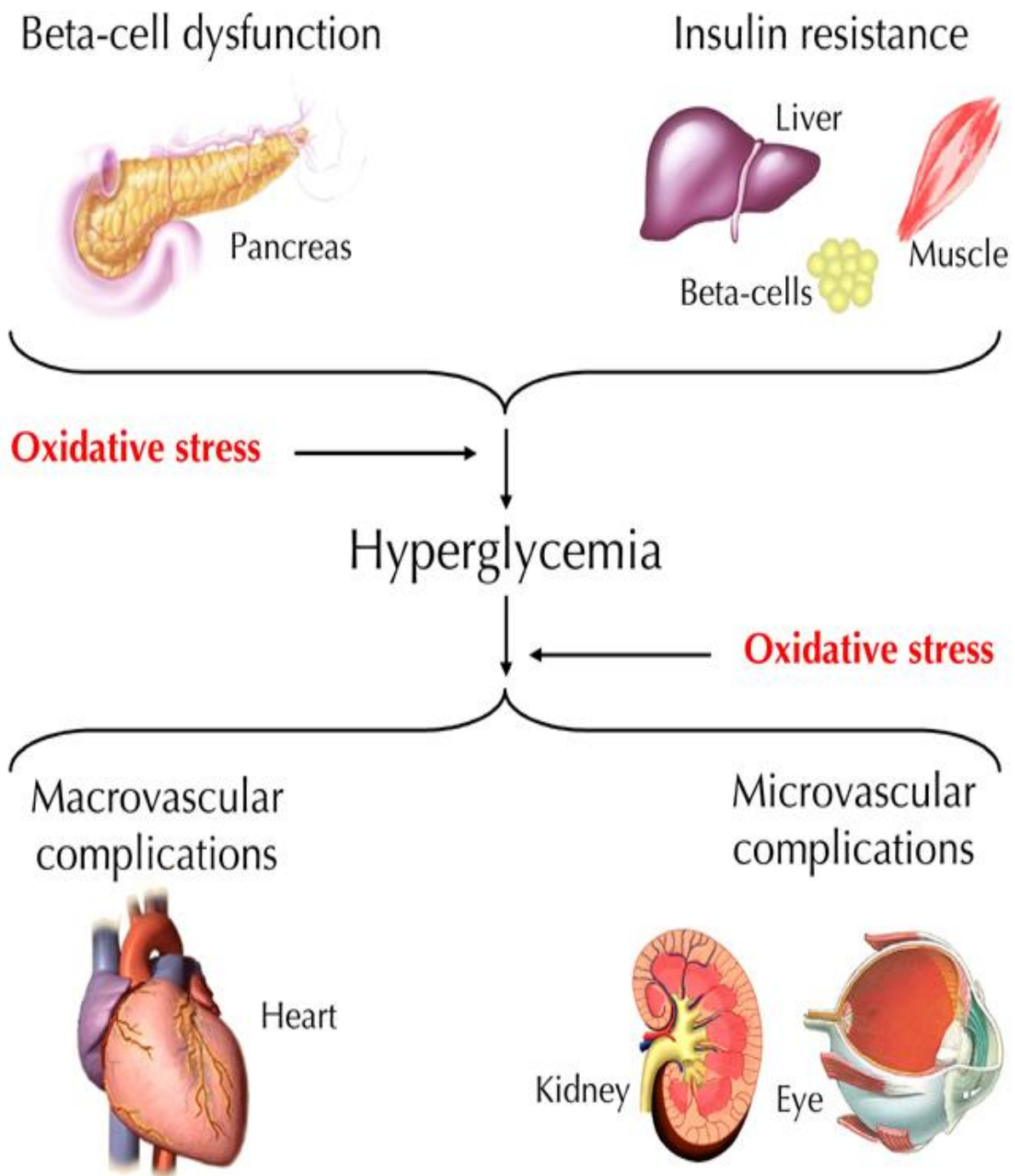
Il a été démontré dans de nombreuses études que l'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant, qui résultera d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux libres oxygénés. Ce stress oxydant pourrait être impliqué dans la physiopathologie des complications du diabète et pourrait représenter un nouveau facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires au cours du diabète de type 2 (Figure 7) (Bonfont-Rousselot et al., 2004).

Au cours du diabète, l'hyperglycémie conduit, via plusieurs mécanismes, à une production accrue des espèces radicalaires (Figure 8) (Bonfont-Rousselot, 2002).

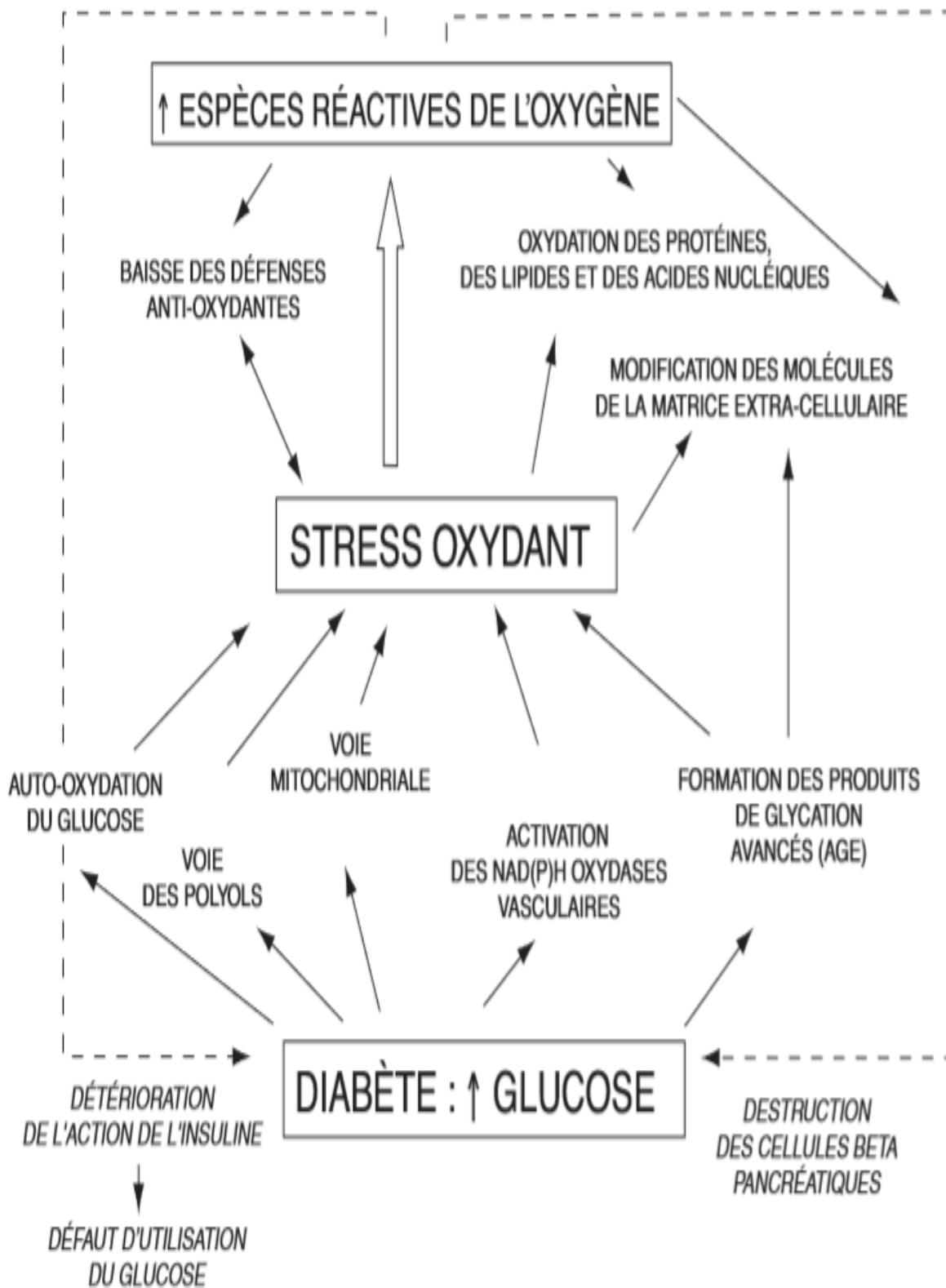
A l'état physiologique, le glucose est métabolisé en glucose-6-phosphate par l'hexokinase puis dirigé soit dans la voie de la glycolyse, soit dans la voie des pentose-phosphates. Cependant, dans le cas d'une hyperglycémie, l'hexokinase est saturée. Le glucose de ce fait s'accumule dans les tissus périphériques et active une autre voie « la voie des polyols ». Dans cette voie, le glucose est réduit par l'aldose réductase en sorbitol qui est ensuite oxydé en fructose par la sorbitol déshydrogénase. L'activation de la voie des polyols due à une hyperglycémie a de nombreuses conséquences. Elle conduit à l'accumulation de sorbitol et de fructose et diminue les taux cellulaires de NADPH (Nicotinamide Dinucléotide Phosphate réduit), car le NADPH est nécessaire pour l'activité de l'aldose réductase. Le déficit de NADPH induit une faible régénération du GSH ainsi à une activité réduite de l'ascorbate réductase et de la NO-synthase qui utilisent ce cofacteur. La baisse de ce cofacteur entraîne une diminution des capacités antioxydantes, ce qui augmente la sensibilité des cellules au stress oxydant (Delattre et al., 2005; Haleng et al., 2007). De plus, la production accrue de fructose par cette voie participe au mécanisme de glycation, responsable de la génération de radicaux libres (Delattre et al., 2005).

Ainsi, l'hyperglycémie génère une synthèse accrue de diacylglycérol (DAG) qui est un activateur de différentes isoformes de la protéine kinase C (PKC) (Gerald et King, 2010). Puisque la PKC est une molécule de signalisation intracellulaire capable de réguler de nombreuses fonctions vasculaires, il a été rapporté que l'activation de cette molécule par l'hyperglycémie, est à l'origine de diverses complications vasculaires chez les diabétiques (Inoguchi et al., 2003). De plus, l'activation de la PKC par des niveaux élevés de glucose peut stimuler la production d'ERO via l'activation des NADPH oxydases (Volpe et al., 2018).

Une des conséquences essentielles de l'hyperglycémie est la glycosylation non enzymatique ou la glycation des protéines. La réaction de glycation a été décrite pour la première fois par Maillard en 1912. Elle consiste en une réaction non enzymatique du glucose avec les protéines, résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines, généralement la fonction amine N-terminale et/ou la



**Figure 7.** Stress oxydant et diabète (Pitocco et al., 2010)



**Figure 8.** Relations entre l'hyperglycémie et le stress oxydant (Bonnetfont-Rousselot et al., 2004)

fonction  $\epsilon$ -aminée des résidus lysine). Elle comporte plusieurs étapes, avec une formation précoce de produits appelés produits d'Amadori, suivie de la production d'intermédiaires réactifs aboutissant à des composés complexes, dénommés produits de glycation avancée (AGE) ou produits de Maillard (Bonnet-Rousselot et al., 2004). Ces derniers induisent des modifications structurales et fonctionnelles au niveau de diverses protéines. Les lipoprotéines sont les molécules les plus touchées par la glycation du fait de leur nature à la fois protéique et lipidique. De même, il a été montré que la glycation de l'ApoB est augmentée chez les patients diabétiques. Ceci aurait pour conséquence leur reconnaissance par des anticorps et leur captation par les macrophages évoluant ainsi en cellules spumeuses et donc le processus d'athérogenèse. Les globules rouges sont aussi des cibles privilégiées par la glycation. La formation d'AGE à la membrane des globules rouges entraîne une diminution de la souplesse membranaire, et par conséquent l'altération de leurs fonctions. La glycation peut aussi concerner l'hémoglobine et les protéines de la matrice extracellulaire (Grossin et Wautier, 2007). D'autre part, la production d'AGE semble jouer un rôle important dans le développement et la progression de différentes complications diabétiques comme la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie. En outre, la formation des AGE peut stimuler la production des radicaux libres oxygénés via leur interaction avec des récepteurs spécifiques (RAGE) (receptor for advanced glycation end product) qui s'accompagne d'une augmentation de l'activité du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa-B), responsable de l'activation de nombreux gènes (Singh et al., 2014).

Aussi, la surproduction mitochondriale d'anions superoxydes en cas d'hyperglycémie semble être la source principale des ERO chez les diabétiques. Lorsque le gradient électrochimique de la membrane mitochondriale interne est élevé, la demi-vie des systèmes générateurs d'anions superoxydes, tels que l'ubisemiquinone est prolongée. L'hyperglycémie favorise ce gradient de protons suite à une activation des donneurs d'électrons (NADH et FADH<sub>2</sub>) via le cycle des acides tricarboxyliques, Ceci, à son tour, provoque une augmentation marquée de la production d'anions superoxydes (Brownlee, 2001; Giacco et Brownlee, 2010). L'excès de l'anion superoxyde inhibe partiellement l'activité de l'enzyme glycolytique la glyceraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase (GAPDH). Ceci résulte une accumulation de glyceraldéhyde-3-phosphate qui induit une augmentation du flux de dihydroxyacétone phosphate (DHAP) vers la production de DAG, activateur de la PKC, et des trioses phosphates vers la formation de méthylglyoxal, le précurseur de l'AGE intracellulaire (Brownlee, 2001).

### III. Diabète induit par la streptozotocine

La recherche sur le diabète chez les sujets humains est entravée par des considérations éthiques évidentes. L'utilisation de modèles animaux contourne largement ces problèmes. La maladie peut être induite chez de nombreux animaux, en particulier les rongeurs de laboratoire, en utilisant une variété d'agents chimiques, dont la streptozotocine (STZ) est considéré comme le composé diabétogène le plus utilisé pour induire le diabète expérimental chez divers animaux (Brenna et al., 2003).

La streptozotocine (2-désoxy-2- (3- (méthyl-3-nitrosouréido) -Dglucopyranose) est un antibiotique produit par la bactérie *Streptomyces achromogenes* (Wu et Yan, 2015), l'effet diabétogène de la STZ a été signalé pour la première fois en 1963 (Asrafuzzaman et al., 2017), elle possède une toxicité sélective et toxique sur les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans productrices d'insuline (Brenna et al., 2003).

Le mécanisme d'action de cet agent diabétogène reste encore mal connu. Cependant, des études antérieures ont montré son action sur les îlots de Langerhans. Cette action réduit la masse des cellules  $\beta$  et par conséquent une insulino-pénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire (Szkudelski, 2001).

La molécule de la STZ pénètre les cellules  $\beta$  pancréatiques via les transporteurs de glucose GLUT2. La pénétration est assurée par la présence du glucose dans la molécule. La décomposition de la STZ en espèces réactives oxygénées (ERO) se fait à l'intérieur de la cellule. Les ERO provoquent une alkylation de l'ADN qui se défragmente, ce qui active la poly (ADP-ribose) polymérase, enzyme clé de la réparation de l'ADN. Cette réaction consomme le NAD et l'ATP comme cofacteurs enzymatiques conduisant à leur déplétion et à la nécrose de la cellule  $\beta$  (Szkudelski, 2001). En plus de son impact sur le métabolisme des hydrocarbures qui est bien étudié, la STZ provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline (Szkudelski, 2001). En revanche, certaines recherches ont démontré l'effet indirect de cette toxine sur la signalisation de l'insuline. L'hyperglycémie chronique est à l'origine d'une insulino-résistance résultante d'une diminution d'autophosphorylation du récepteur de cette hormone (Kadowaki et al., 1984). Récemment étudiée la STZ, active l'expression de la protéine kinase C, une protéine responsable de la déphosphorylation du récepteur de l'insuline (Davidoff et al., 2004).

De nombreux travaux effectués, ont pour objectif de comprendre le mécanisme pathogène de la STZ. Ces recherches ont montré que ce produit diminue la défense antioxydante de la cellule, particulièrement une inhibition de l'activité superoxyde dismutase (Rajasekaran et al., 2004).

#### **IV. Les microalgues et effets bénéfiques sur le stress oxydatif et le diabète**

Les algues occupent une place importante dans le milieu marin. Ces organismes sont généralement classés en deux formes principales qui sont les macroalgues et les microalgues.

Les macroalgues sont des algues multicellulaires de grande taille, visibles à l'œil nu, dont la taille peut atteindre 60 m de long (Villarruel-López et al., 2017), tandis que les microalgues sont considérées comme des microorganismes unicellulaires qui pouvant se développer dans l'eau douce ou salée et avoir des formes variées d'un diamètre ou d'une longueur de 3 à 10  $\mu\text{m}$  (de Morais et al., 2015).

Les microalgues peuvent synthétiser par le biais de la photosynthèse de nombreux composés bioactifs à forte valeur nutritionnelle tels que les protéines, les polysaccharides, les lipides (en particulier les acides gras polyinsaturés), les glucides, les vitamines, les stérols, les caroténoïdes, les glycolipides et d'autres composés qui ont de nombreux effets bénéfiques sur la santé humaine (Priyadarshani et Rath, 2012; Bule et al., 2018).

De nos jours, les propriétés des microalgues sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-inflammatoires et antioxydantes. En effet, la très grande majorité des effets pharmacologiques sont liés à l'activité antioxydante des microalgues (Gacheva et Gigova, 2014).

Les microalgues possèdent une activité antioxydante supérieure à celle des autres antioxydants synthétiques. Ces microorganismes peuvent donc être considérés comme une source potentielle d'antioxydants naturels qui protègent les cellules contre les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres (Rodriguez-Garcia et Guil-Guerrero, 2008 ; Maadane et al., 2015 ; Bhuvana et al., 2017). Lorsqu'ils sont générés en excès, les radicaux libres peuvent endommager des macromolécules biologiques, et sont donc impliquées dans la physiopathologie de plusieurs maladies chroniques comme l'obésité et le diabète.

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que le traitement par les microalgues prévient diverses maladies métaboliques associées au stress oxydatif (Aizzat et al., 2010 ; Kim et al., 2010). Ainsi, plusieurs antioxydants ont été isolés à partir de microalgues tels que les composés phénoliques et les caroténoïdes (Rodriguez-Garcia et Guil-Guerrero, 2008; Mata et al., 2010). Parmi ces caroténoïdes, l'astaxanthine s'est révélée être un antioxydant puissant qui a la capacité de neutraliser et piéger les radicaux libres. De même, l'astaxanthine peut protéger les cellules et les membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs causés par les ERO et de prévenir les maladies cardiovasculaires et leurs facteurs de risque (Ekpe et al., 2018).

D'autre part, les effets des microalgues sur certaines complications du diabète expérimental induit chez les animaux ont fait l'objet de nombreux travaux. Par ailleurs, le traitement des rats diabétiques avec plusieurs espèces de microalgues a montré une augmentation de la production d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas (Amin et al., 2011; Pandey et al., 2011). D'autres auteurs ont mis en évidence l'effet hypoglycémiant de la microalgue *chlorella* chez les animaux normaux et diabétiques (Jong-Yuh et Mei-Fen, 2005; Jeong et al., 2009). Cette espèce possède aussi des propriétés antioxydantes qui leur permet d'empêcher la peroxydation des membranes cellulaires et d'améliorer la capacité antioxydante des cellules (Vijayavel et al., 2007 ; Yun et al., 2011). Ainsi, une amélioration de l'activité des enzymes antioxydantes et une protection contre la peroxydation des lipides ont été observés chez le rat rendu diabétique par la STZ après la supplémentation par *Spirulina platensis* (Nasirian et al., 2018).

*Nannochloropsis* est un genre de microalgues unicellulaires photosynthétiques appartenant à la classe *Eustigmatophyceae*. Ils ont des cellules de forme sphérique avec une taille très petite 2 à 5  $\mu\text{m}$  et présentent un seul chloroplaste entouré de quatre membranes et occupant la majeure partie du volume cellulaire (Figure 9). Ce genre appartient au milieu marin, récemment il a aussi trouvé dans les eaux douces et saumâtres (Simionato et al., 2013; Wang et al., 2014).

Actuellement, le genre *Nannochloropsis* comprend six espèces: *Nannochloropsis salina*, *Nannochloropsis granulata*, *Nannochloropsis limnetica*, *Nannochloropsis oceanica*, *Nannochloropsis gaditana* et *Nannochloropsis oculata* (Ma et al., 2014). Ces microalgues grandissent rapidement, doublant généralement leur biomasse une fois par jour et possédant également une productivité élevée en biocarburants (Anandarajah et al., 2012).

La microalgue *Nannochloropsis gaditana* a été décrite pour la première fois en 1982 par Lubian (Figure 10), cette espèce est utilisée en aquaculture soit directement dans l'élevage du poisson, soit via des rotifères (Lubian, 1982 ; Macias-Sanchez et al., 2005). En raison de son taux de croissance rapide et de sa capacité à accumuler de grandes quantités de lipides, l'espèce *Nannochloropsis gaditana* est devenue l'une des microalgues la plus utilisée pour la fabrication des biocarburants et pour les applications biotechnologiques (Baba Hamed et al., 2016; Chukhutsina et al., 2017).

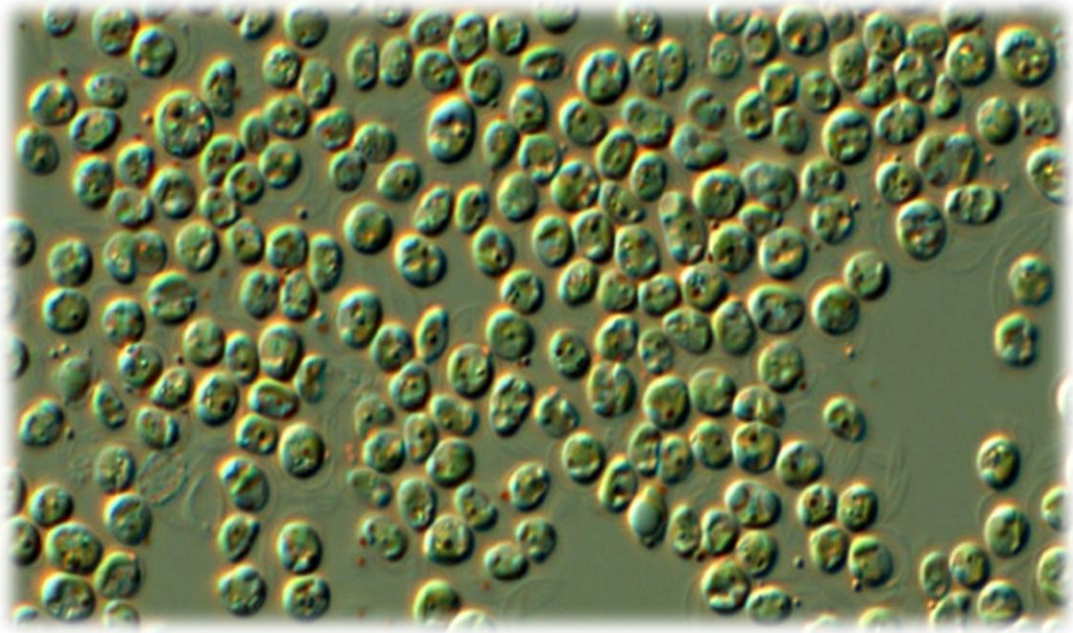
*Nannochloropsis gaditana* présente un large éventail de pigments dont la chlorophylle a, le  $\beta$ -carotène, la violaxanthine, l'astaxanthine et le zéaxanthine (Lubian et al., 2000 ; Macias-Sanchez et al., 2005) ayant déjà été évoqué dans divers études pour leurs activités anti-inflammatoires, antioxydantes et antidiabétiques (Sathasivam et Ki, 2018).

*Nannochloropsis gaditana* est également reconnu comme une bonne source potentielle d'acide eicosapentaénoïque (EPA), un acide gras polyinsaturé important pour la prévention de diverses

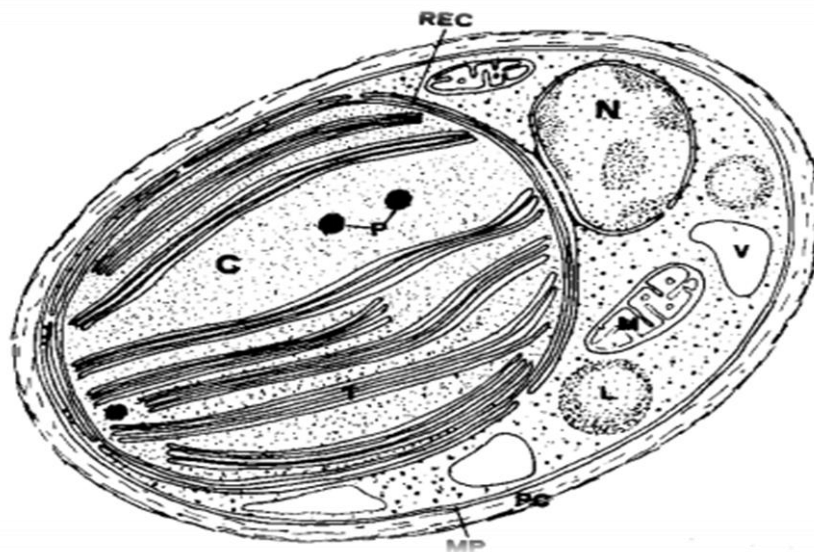
maladies humaines (Abirami et al., 2017). D'autre étude ont révélé que l'utilisation d'extraits de *Nannochloropsis gaditana* permet la protection des cellules cutanée contre un stress oxydatif induit in vitro, ces microalgue possède des propriétés antioxydantes, qui serviront de source anti-âge en cosmétologie (Letsiou et al., 2017).

Mekdade et al. (2016) ont récemment démontré l'effet antioxydant et l'effet anticancéreux des extraits de *Nannochloropsis gaditana*. Cependant peu de travaux ont été publiés sur le potentiel de *Nannochloropsis gaditana* comme complément alimentaire. Pour cela, notre étude a porté essentiellement sur les effets métaboliques des microalgues «*Nannochloropsis gaditana*» chez le rat rendu diabétique par la STZ.





**Figure 9.** Image microscopique de *Nannochloropsis gaditana* (Baker et al., 2012)



**Figure 10.** Schéma représentatif des principales caractéristiques ultra-structurales de *Nannochloropsis gaditana* (Lubian, 1982)

C: Chloroplaste; MP: Membrane plasmique; N: Noyau; M: Mitochondries; REC: Réticulum endoplasmique associé au chloroplaste; T: Thylakoïdes; PC: Paroi cellulaire; V: Vacuoles; L: Lipides; P: Globules plastidiaux.



# **MATERIEL ET METHODES**

## **I. Protocole expérimental**

### **I.1. Choix de l'animal**

L'étude est réalisée sur des rats mâles adultes de type « *Wistar* », (poids  $150 \pm 5,13$  g) élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Université de Tlemcen. Les animaux sont traités conformément aux conseils relatifs à la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire (Council of European Communities, 1986). Les animaux sont logés dans des cages métalliques en conditions contrôlées de température ( $25^{\circ}\text{C}$ ), un taux d'humidité entre 60% et 70% et soumis à un rythme nyctéméral de 12 heures. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture.

### **I.2. Induction du diabète expérimental**

Après une mise à jeun pendant une nuit (privation de la nourriture pendant 16 heures mais pas de l'eau), le diabète a été induit chez les rats par injection intrapéritonéale d'une solution fraîchement préparée de la streptozotocine (STZ) (Sigma ST Louis, Mo) à une dose finale de 45 mg/kg de poids corporel soit un volume de 2 ml/kg (qui détruit les cellule  $\beta$ ). La streptozotocine (2-Deoxy-2-[[[(methylnitrosoamino)-carbonyl] amino]-Dglucopyranose,  $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_7$ ,  $\text{PM}=265,221$  g/mol, demi-vie : 35-40 minutes) est dissoute dans un tampon citrate de sodium 0,1 M à pH 4,5.

Après 48 heures de l'injection de la STZ (temps de développement du diabète), le diabète a été confirmé chez les rats par mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre de type Accu-Chek à bandelettes réactives. Les rats ayant une glycémie à jeun supérieur à 2,5 g/L et une glycosurie positive (+++) sont considérés diabétiques et sont retenus pour cette expérimentation.

### **I.3. Régimes et différents lots de rats**

Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en quatre groupes de six rats chacun et gardés dans des mêmes conditions. Le début du traitement par les microalgues commence 24 heures après la confirmation du diabète et dure 2 mois (durée d'expérimentation).

Ainsi on obtient 4 lots différents :

- Un lot de rats témoins (non diabétique ; **C**) recevant le régime standard produit par l'ONAB (Office National d'Alimentation de Bétails), dont la composition est donnée dans le **Tableau 1**.
- Un lot de rats témoins (non diabétique ; **CM**) recevant le régime test (microalgue), composé de 90 % de régime standard et de 10 % de microalgue *Nannochloropsis gaditana*, selon le protocole de Markovits et al. (1992).

- Un lot de rats (diabétiques ; **D**) recevant le régime standard.
- Un lot de rats (diabétiques ; **DM**) recevant le régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%.

Les *Nannochloropsis gaditana* sont des microalgues marines de 2 µm, originaire d'Espagne. La culture de *Nannochloropsis gaditana* est effectuée par un photobioréacteur cyclique comprenant un milieu favorable par la croissance du Bloom algal au niveau de la Wilaya de Sidi Bel Abbess. Après la récolte, la masse algale est lyophilisée, des analyses physicochimiques de la biomasse de la microalgue *Nannochloropsis* ont été effectuées permettant de caractériser l'aspect quantitatif de la microalgue (**Tableau 2**).

Durant la période de l'expérimentation, le poids corporel et la nourriture ingérée sont notés quotidiennement.

#### **I.4. Sacrifices et prélèvements de sang et d'organes**

A la fin de la période expérimentale, les rats de chaque lot sont anesthésiés à l'aide d'une injection intrapéritonéale d'une solution de chloral à 10% (0,3 ml par 100g de poids corporel), et sont sacrifiés après 12 heures de jeûne. Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale. Une quantité du sang prélevé est récupéré dans des tubes avec anticoagulant (EDTA) et l'autre partie est recueillie dans des tubes secs.

Le sang prélevé sur tubes EDTA sert pour les dosages hématologiques, puis il est centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 min afin de récupérer le plasma pour la détermination des marqueurs du stress oxydatif plasmatiques (vitamine C, NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, MDA et les protéines carbonylées).

Les érythrocytes restants sont lavés avec de l'eau physiologique dix fois de suite, puis sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubés pendant 15 min dans la glace. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 tr/min pendant 5 min. Le lysat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser les marqueurs du stress oxydatif intracellulaires (GSH, catalase, SOD, NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, MDA et les protéines carbonylées).

Après coagulations, le sang prélevé sur tubes secs est centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 min. Le sérum est récupéré pour le dosage des différents paramètres biochimiques et la séparation des fractions lipoprotéiques.

Les différents organes (le foie, le pancréas, le tissu adipeux blanc et le tissu adipeux brun) sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 0,9 %, ensuite pesés pour préparer les homogénats. Une partie aliquote des différents organes est immédiatement broyé dans le tampon PBS, pH 7,4.

**Tableau 1.** Composition des régimes consommés par les rats

<b>Composition (% énergétique)</b>	<b>Régime témoin</b>
<b>Protéines totales</b>	19
<b>Glucides</b>	60
<b>Lipides totaux</b>	8,50
<b>Fibres</b>	4
<b>Humidité</b>	7,50
<b>Minéraux</b>	4
<b>Vitamines (mg/100g)</b>	5
<b>Energie (Kcal/100g)</b>	386
<b>Acides gras:</b>	
<b>AGS</b>	29
<b>AGMI</b>	21
<b>C18 :2 n-6</b>	46
<b>C18 :3 n-3</b>	3
<b>C20 :4 n-6</b>	1

La composition des régimes est déterminée au laboratoire de Produit Naturels du département de Biologie, Faculté SNVTU, Université de Tlemcen. La composition en acides gras a été analysé par chromatographie en phase gazeuse, INSERM UMR 866, "Cancer Nutrition Lipides", Université de Bourgogne.

**Tableau 2.** Composition de la biomasse de la microalgue *Nannochloropsis gaditana*

<b>Composants</b>	<b>Pourcentage %</b>
Teneur en l'eau	42,91 %
Taux en Matière Sèche	57,08 %
Teneurs en Cendres/MS	5,74 %
Teneurs en Protéines /MS	28,03 %
Teneurs en Matières grasses/MS	18,39 %
Teneurs en Cellulose/MS	0,38 %
Teneurs en Glucides /MS	45 %
<b><u>Valeurs Energétique :</u></b>	4613,53 Kcal/Kg
Teneurs en Calcium /MS	4,41%
Teneurs en Magnésium /MS	0,02%
Teneurs en Manganèse /MS	0,4253 mg/100gr
Teneurs en Zinc /MS	0,01%
Teneurs en Cuivre /MS	0,005%
Teneurs en Fer /MS	0,017%
Teneurs en Beta carotène /MS	7848,63 µg/100gr
Teneurs en Molybdène /MS	0,0028 mg/100gr
Teneurs en Vitamine- A- /MS	0,00 µg/100gr
Teneurs en Vitamine - B- /MS	0,00 µg/100gr
Teneurs en Vitamine- C- /MS	334,44 mg/100gr
Teneurs en Vitamine- B1- /MS	0,61 mg/100gr
Teneurs en Vitamine- B2- /MS	2,17 mg/100gr
Teneurs en Vitamine- B3- /MS	0,85 mg/100gr
Teneurs en Vitamine- B12- /MS	1,92 µg/100gr
Teneurs en Valine /MS	7,35 mg/100gr
Teneurs en Phénylalanine /MS	3,71 mg/100gr
Teneurs en Méthionine /MS	2,62 mg/100gr
Teneurs en Histidine /MS	3,17 mg/100gr
Teneurs en Arginine /MS	5,78 mg/100gr
Acide Arachidique	0,023 g/100gr
Acide Linoléique	0,011 g/100gr
Acide Linoléique	0,017 g/100gr
Acide Oléique	0,061 g/100gr

La composition de la biomasse de la microalgue est déterminée au laboratoire Partisano Biotech Algérie

L'homogénat obtenu est utilisé pour la détermination des différents paramètres du statut oxydant/antioxydant.

Une autre partie d'aliquote du tissu adipeux blanc est homogénéisée dans le tampon PBS supplémenté de différents inhibiteurs des protéases (leupeptine, antipaine et pepstatine) afin de stopper la protéolyse intracellulaire selon le protocole de Kabbaj et al. (2003). L'homogénat obtenu est utilisé pour la détermination de l'activité de l'enzyme LHS (lipase hormono-sensible). Pour l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL), les homogénats des organes sont préparés dans une solution de NaCl à 0,9 % contenant de l'héparine (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.), selon le protocole de Mathe et al. (1991).

Une autre partie du foie frais a servi à l'extraction des mitochondries qui sert à l'étude des enzymes antioxydantes mitochondriales.

D'autres parties aliquotes sont conservés à -20°C, en vue des dosages lipidiques et protéiques.

## **II. Dosage des minéraux**

### **II.1. Dosage du phosphore (Kit SIGMA)**

En milieu alcalin, le complexe phospho-molybdate est réduit en complexe phosphomolybdique de couleur bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration sérique en phosphore. La lecture se fait à 680 nm.

### **II.2. Dosage du calcium (Kit SIGMA)**

La mesure du calcium est basée sur la formation de complexe coloré pourpre entre le calcium et l'ortho crésolphtaléine dans le milieu alcalin grâce à un groupement OH. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de calcium dans l'échantillon. La lecture se fait à 550 nm.

### **II.3. Dosage du magnésium (Kit Spinreact)**

En milieu alcalin, le magnésium forme un complexe coloré lorsqu'il réagit avec la calmagite. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration en magnésium contenu dans l'échantillon. La lecture se fait à 520 nm.

## **III. Analyse des paramètres hématologiques**

### **III.1. Numération des globules rouges et blancs**

Le dénombrement des hématies et des leucocytes se fait par les cellules de Thomas, au moyen d'un microscope optique à un grossissement de 10x40. Les résultats sont exprimés en nombre d'hématie ( $10^6/\text{mm}^3$  de sang) ou de leucocytes ( $10^3/\text{mm}^3$  de sang).

### **III.2. Dosage de l'hémoglobine: Méthode de Drabkin**

L'hémoglobine est dosée par la méthode colorimétrique de Drabkin (cyanométhémoglobine). Le  $\text{Fe}^{+2}$  de l'hémoglobine est oxydé en  $\text{Fe}^{+3}$  de la méthémoglobine par le ferricyanure de potassium

qui est ensuite transformée en cyanométhémoglobine un composé stable par le cyanure de potassium (KCN). L'absorbance du cyanométhémoglobine directement proportionnelle à la concentration en hémoglobine, est mesurée à 546 nm.

#### **IV. Analyse des paramètres biochimiques**

##### **IV.1. Détermination des teneurs en glucose sérique (Kit Prochima)**

Le glucose sérique est déterminé par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence de glucose oxydase (GOD). Le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène (Le 4-amino-antipyrine) incolore en couleur rouge à structure quinonéimine. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 505 nm.

##### **IV.2. Dosage d'hémoglobine glyquée**

Le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est réalisé par chromatographie échangeuse de cations. Le sang total est mélangé avec un agent contenant un détergent, toutes les hémoglobines se fixent sur la résine et un agent éluant est utilisé pour séparer HbA1c de la résine. La proportion d'HbA1c est donnée en pourcentage de l'hémoglobine totale contenue dans l'échantillon.

##### **IV.3. Détermination des teneurs en protéines totales sérique**

Les protéines totales sériques sont dosées par la méthode colorimétrique de Biuret (Kit BIOLABO S.A, France). Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec  $\text{Cu}^{2+}$  en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration en protéines. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

##### **IV.4. Détermination des teneurs en acide urique sérique (Kit Prochima)**

L'acide urique sérique est dosé par une méthode colorimétrique. L'acide urique est dosé par réduction d'un réactif phosphotungstique en milieu alcalinisé par le carbonate de sodium. L'intensité de la coloration bleue obtenue est proportionnelle à la quantité d'acide urique présent et est mesurée à une longueur d'onde égale à 620 nm.

##### **IV.5. Détermination des teneurs en créatinine sérique (Kit Spinreact)**

La créatinine sérique est dosée par la méthode de Jaffé basée sur la réaction de l'acide picrique avec la créatinine en milieu basique formant un complexe coloré en jaune orange. L'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.



#### **IV.6. Détermination des teneurs en urée sérique (Kit Prochima)**

L'urée sérique est dosée par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du diacétyl monooxine et des ions  $\text{Fe}^{+3}$ . En présence d'ions  $\text{Fe}^{+3}$  et d'un réducteur, l'urée réagit avec le diacétyl monooxine pour donner un complexe coloré en rose. La coloration obtenue est proportionnelle à la quantité d'urée présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 525 nm.

#### **IV.7. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases (TGO ou ASAT, TGP ou ALAT) (kit Spinreact)**

Les transaminases permettent le transfert du groupement aminé d'un acide aminé sur un acide  $\alpha$  cétonique. L'acide aminé est alors transformé en acide cétonique correspondant et l'acide  $\alpha$  cétonique en acide aminé. Les deux principales réactions de transamination sont catalysées par les transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO) et glutamo-pyruvique (TGP). La détermination des activités enzymatiques des transaminases au niveau sanguin permet d'apprécier l'atteinte tissulaire et la cytolyse, notamment au niveau hépatique.

L'enzyme transaminase catalyse le transfert du groupe amine de l'aspartate (pour l'ASAT) ou de l'alanine (pour l'ALAT) vers l'oxaloglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate (pour l'ASAT) ou du pyruvate (pour l'ALAT). Les mesures sont effectuées à l'aide de réactions couplées pour permettre l'utilisation du coenzyme  $\text{NADH}/\text{H}^+$  dont on mesure la diminution d'absorbance. Ainsi, l'oxaloacétate est réduit en malate ou le pyruvate en lactate grâce à des déshydrogénases (MDH ou LDH) couplées à  $\text{NADH}/\text{H}^+$ . La vitesse d'oxydation du  $\text{NADH}$  est proportionnelle à l'activité enzymatique des transaminases. Elle est déterminée par mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm.

#### **IV.8. Détermination cinétique des phosphatases alcalines (kit Spinreact)**

Les phosphatases alcalines (PAL) sont des enzymes capables de libérer de l'acide phosphorique à partir de ses esters. Elles sont actives à pH alcalin. Ces enzymes sont trouvées en grande quantité dans le foie, le placenta, l'os et les globules blancs.

La détermination de l'activité des phosphatases alcalines par la méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes:

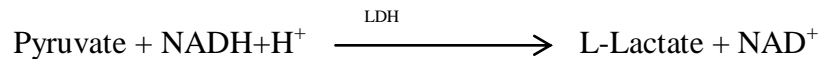


La DO du p-nitrophénol libéré est proportionnel à l'activité des PAL et mesurée à une longueur d'onde de 405 nm.

#### **IV.9. Dosage du lactate déshydrogénase (LDH) (Kit Spinreact)**

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme présente dans tout l'organisme humain. Les plus grandes concentrations de LDH se trouvent dans le foie, le cœur, les reins, le muscle squelettique et les érythrocytes.

La détermination de l'activité enzymatique de LDH repose sur la réaction suivante:



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H+, est proportionnel à l'activité catalytique du lactate déshydrogénase.

#### **IV.10. Détermination des paramètres lipidiques au niveau du sérum, des lipoprotéines et des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun)**

##### **IV.10.1. Séparation des lipoprotéines**

Les lipoprotéines totales sont isolées à partir du sérum par précipitation selon la méthode de Burstein et al. (1989). A pH neutre, les poly-anions, en présence de cations divalents, peuvent former des complexes insolubles avec les lipoprotéines (lipopoly-anions-cations) donc la précipitation se fait grâce aux poly-anions qui se combinent aux lipides des lipoprotéines. Généralement, les poly-anions utilisés sont les sulfates (SO<sup>3-</sup>), les polysaccharides (héparine) et l'acide phosphotungstique, alors que les cations sont les Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup>. L'utilisation du même réactif de précipitation à différentes concentrations permet de précipiter sélectivement les fractions de lipoprotéines ; et ainsi à concentration de plus en plus élevée, ce réactif permet la séparation à partir du sérum, d'abord des VLDL, ensuite des LDL et en dernier des HDL. Ce principe est analogue à celui de l'ultracentrifugation en gradient de densité des lipoprotéines. En effet, lorsque la concentration du réactif varie, la densité du milieu varie aussi et permet une précipitation sélective. Les lipoprotéines précipitées par l'acide phosphotungstique et le MgCl<sub>2</sub> à différentes concentrations, sont par la suite solubilisées grâce à une solution de solubilisation contenant du tampon citrate trisodique et NaCl à pH 7,6.

##### **IV.10.2. Détermination des teneurs en triglycéride et en cholestérol (Kit Spinreact)**

Les triglycérides et le cholestérol total sont dosés par des méthodes enzymatiques sur le sérum total, les différentes fractions lipoprotéiques et les homogénats des organes (après broyage d'une partie aliquote dans du tampon phosphate/ EDTA, pH 7,2, et addition de lauryl sulfate de sodium (SDS 1%), et centrifugation à 3000 t/mn pendant 10 min). Ces techniques sont basées sur l'utilisation d'enzymes estérases ou lipases, oxydases ou kinases et peroxydases aboutissant à un chromogène coloré dont l'intensité de la coloration est mesurée à 500 nm.

### **IV.10.3. Détermination des lipides totaux des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun)**

L'extraction lipidique se fait à partir des organes par la méthode de Folch et al. (1957) après le broyage d'une partie aliquote de l'organe (300 mg) et extraction par un mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v). Après évaporation totale du solvant, les lipides totaux sont pesés.

### **IV.11. Détermination des teneurs en protéines totales des organes**

Au niveau des homogénats d'organes, les protéines totales sont dosées par la méthode de Lowry et al. (1951) utilisant l'albumine sérique bovine comme standard (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA). En milieu alcalin, le complexe formé par les ions  $\text{Cu}^{2+}$  et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin. La coloration bleue développée est proportionnelle à la quantité de protéines de l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 689 nm.

### **IV.12. Détermination de l'activité des lipases**

#### **IV.12.1. Détermination de l'activité de l'enzyme LPL tissulaire (LPL, EC 3.1.1.34)**

L'activité lipase est déterminée à partir du niveau d'hydrolyse des TG d'un substrat synthétique en mesurant la quantité d'acides gras libérés par titrimétrie selon la technique pH – STAT (Taylor, 1985; Tietz et al., 1989). Une émulsion d'huile d'olive et de gomme arabique solubilisées dans l'eau est préparée par sonication (3 fois 45 minutes). Le substrat synthétique contient l'émulsion, la solution de sérum albumine bovine (à 4% dans du tampon tris/HCl) et le sérum humain chauffé à 56°C. Une prise aliquote de substrat de substrat synthétique est incubée avec le surnageant (source enzymatique) dans le tampon NaCl 100 mmol/L,  $\text{CaCl}_2$  5 mmol/L ; pH 8, à température ambiante et sous agitation pendant 5 min. Après incubation le pH du milieu (devenu acide suite à la libération des AGL) est ramené à sa valeur initiale par addition de NaOH 0.05 mol/L. Le volume de NaOH versé est alors noté et correspond après conversion au nombre d'acides gras libérés (mol). Une unité lipase est la quantité d'enzyme qui permet la libération d'une micromole d'acide gras en une minute.

#### **IV.12.2. Détermination de l'activité de l'enzyme lipase hormono-sensible tissulaire (LHS; EC 3.1.1.3)**

L'activité lipolytique est mesurée quantitativement selon la méthode décrite par Kabbaj et al. (2003). Cette activité est dosée avec l'ester p-nitrophényle-butyrates (PNPB), hydrolysé en présence de la lipase en p-nitrophénol et l'acide butyrique. La libération du p-nitrophénol se traduit par l'apparition d'une coloration jaune détectée à 400 nm. Les homogénats de tissu adipeux sont incubés avec le PNPB dans le tampon (0,1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,25, 0,9% NaCl, 1

mM dithiothreitol) à 37°C pendant 10 minutes. La réaction est stoppée par addition d'un mélange méthanol/chloroforme/heptane (10/9/7). Après centrifugation à 800 g pendant 20 minutes, les solutions sont incubées pendant 3 minutes à 42°C. L'absorbance lue à 400 nm permet de calculer la concentration en utilisant un coefficient d'extinction molaire de  $12,75 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  pour le p-nitrophénol. Une unité enzymatique est la quantité d'enzyme capable de libérer une  $\mu\text{M}$  de p-nitrophénol par minute et par mg de protéines.

#### **IV.13. Détermination de l'activité de la lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT)**

L'activité de la LCAT est déterminée sur le sérum frais, par estimation de la conversion du cholestérol sérique en cholestérol estérifié, selon la méthode d'Albers et al. (1986). Le cholestérol estérifié est dosé avant et après une incubation du sérum frais à 37°C pendant 1 heure. Le cholestérol estérifié est dosé après précipitation du cholestérol libre par la digitonine. L'augmentation des taux de cholestérol estérifié correspond à l'activité enzymatique de la LCAT qui est exprimée en nmole de cholestérol estérifié/h/ml de sérum.

### **V. Détermination du statut oxydant/antioxydant**

#### **V.1. Détermination des teneurs en anion superoxyde**

La détermination des concentrations en anion superoxyde est basée sur la réduction du Nitro Bleu de tétrazolium (NBT) en monoformazan par les radicaux superoxydes selon la méthode d'Auclair et Voisin (1985). Le bleu de formazan est par la suite dissous en utilisant de l'hydroxyde de potassium 2M et le diméthylsulfoxyde et sa formation est suivie par spectrophotométrie.

#### **V.2. Détermination des teneurs en oxyde nitrique (NO)**

L'oxyde nitrique (NO) est dosé par la méthode de Guevara et al. (1998), après l'étape de déprotéinisation du plasma (en utilisant du méthanol: éther diéthylique; mélange 3: 1, v / v). Les niveaux de nitrites et de nitrates sont mesurés ensemble; nitrates étant préalablement transformés en nitrites par réduction au cadmium. Le nitrite est dosé directement par spectrophotométrie en utilisant la méthode colorimétrique de Griess.

#### **V.3. Dosage de la vitamine C**

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de Jagota et Dani (1982) utilisant le réactif de Folin et une gamme d'acide ascorbique. Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le réactif de Folin est ajouté au surnageant. La vitamine C présente dans le surnageant réduit le réactif de Folin donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon.

#### V.4. Dosage de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)

Cette activité enzymatique est mesurée au niveau du lysat érythrocytaire et l'homogénat par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Aebi, 1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de  $H_2O_2$  en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient le lysat érythrocytaire ou l'homogénat,  $H_2O_2$  et le tampon phosphate (50 mmol/l, pH 7,0). Après incubation, le réactif de coloration, titanium oxyde sulfate ( $TiOSO_4$ ) (préparé dans  $H_2SO_4$  2N) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du  $H_2O_2$  restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de  $H_2O_2$  avec le tampon phosphate et le réactif  $TiOSO_4$  de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

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

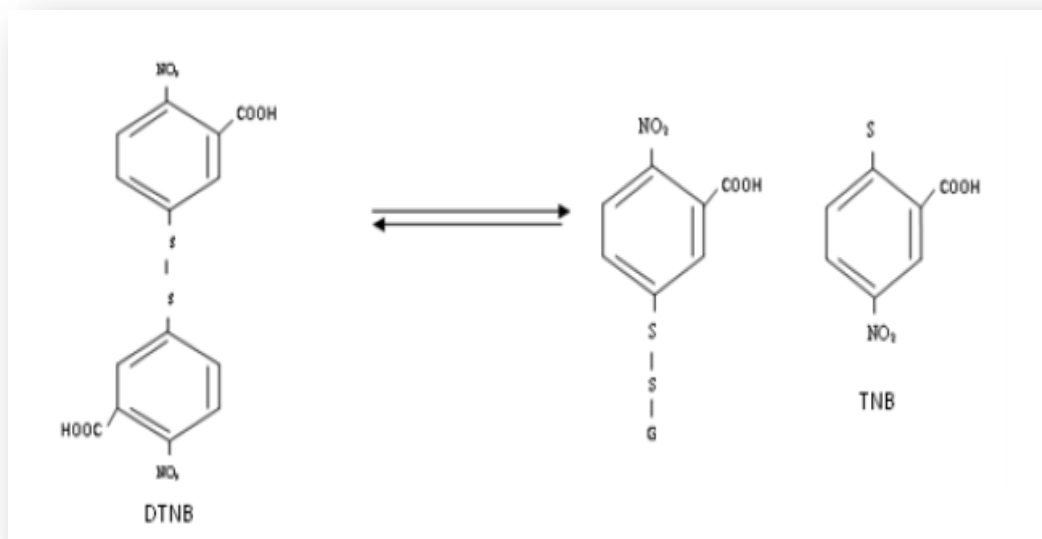
$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

$A_1$  est la concentration de  $H_2O_2$  de départ.

$A_2$  est la concentration de  $H_2O_2$  après incubation.

#### V.5. Dosage du glutathion réduit (GSH) (Ellman, 1959)

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



Le thionitrobenzoïque (TNB) à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à  $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

#### **V.6. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)**

Les glutathion-S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports de biosynthèses intracellulaires. La mesure de l'activité de glutathion S-transférase a été réalisée par la méthode de Habig et al. (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue facilement avec glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

#### **V.7. Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)**

La superoxyde dismutase (SOD) est dosé selon la méthode de Marklund (1985). Le principe est basé sur la capacité de l'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par la Superoxyde dismutase. Le milieu réactionnel contient de DTPA (diethylenetriamine pentaacetic acid), la catalase, un tampon cacodylate (pH 8,5) et le lysat ou l'homogénat. L'augmentation de l'absorbance à 420 nm après addition de pyrogallol est inhibée par la présence de la SOD. Une unité de la SOD est décrite comme la quantité d'enzyme nécessaire pour provoquer 50% d'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol. L'activité de la SOD est exprimée en U/min/mL.

#### **V.8. Dosage du malondialdéhyde (MDA)**

Le malondialdéhyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique. Ce dosage est réalisé selon la méthode de Draper et Hadley (1990), par un traitement acide à chaud, grâce à l'utilisation de l'acide thiobarbiturique (TBA). Le plasma, lysat ou l'homogénat d'organes est incubé 20 minutes à 100°C avec le TBA et l'acide trichloroacétique (TCA). Après incubation, refroidissement et centrifugation à 4000 t/min pendant 10 min, la lecture est réalisée sur le surnageant qui contient le MDA. Le TBA réagit avec les aldéhydes pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA dont l'absorption se fait à 532 nm. La concentration en MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ( $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

#### **V.9. Détermination des protéines carbonylées**

Les protéines carbonylées du plasma, du lysat érythrocytaire et tissulaire (marqueurs de l'oxydation protéiques) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine selon la méthode de Levine et al. (1990). Le plasma, le lysat ou l'homogénat d'organes est incubé 1 h à température ambiante en présence de la dinitrophénylhydrazine (DNPH). Ensuite, les protéines sont précipitées avec l'acide trichloroacétique (TCA) et lavées 3 fois par l'éthanol: ethylacetate 1:1 (v/v) et 3 fois par le TCA. Le culot est solubilisé dans une solution de guanidine.

Les lectures se font à 350 et 375 nm. La concentration des groupements carbonylés est calculée selon un coefficient d'extinction ( $\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

## **VI. Extraction de la fraction mitochondriale hépatique**

La procédure d'isolement des mitochondries hépatiques est basée sur une technique de fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle décrite par Frezza et al. (2007). Brièvement, une partie du foie est broyée dans un potter verre-téflon à 1000 trs/min dans une solution de tampon Tris froide (10 mM, pH 7,4) contenant du Sucrose et EGTA, ce qui permet la libération des mitochondries. Une première centrifugation (Beekman, rotor JA17) à 600 g permet de se débarrasser des débris cellulaires (noyaux, microsomes,...). Le surnageant est recentrifugé à 7000 g pendant 15 minutes à 4°C pour récupérer les mitochondries sous forme d'un culot brun. Le culot est ensuite remis en suspension dans une solution tampon Tris à base du sucrose. La suspension finale représente un rendement d'environ 80% de mitochondries purs.

### **VI.1. Détermination des marqueurs du stress oxydatif au niveau mitochondrial**

#### **VI.1.1. Détermination du glutathion réduit (GSH) mitochondrial**

Le glutathion réduit (GSH) a été mesurée au niveau des mitochondries hépatiques selon la méthode d'Ellman (1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB). L'absorption de TNB est mesurée à 412 nm.

#### **VI.1.2. Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD) mitochondriale**

L'activité de l'enzyme SOD au niveau mitochondriale est mesurée selon la méthode d'Elstner et al. (1983). Le principe est basé sur la réaction chimique qui génère l'ion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) à partir de l'oxygène moléculaire en présence d'EDTA, de  $\text{MnCl}_2$  et du mercaptoéthanol.

L'oxydation du NADPH est liée à la disponibilité des ions superoxyde dans le milieu. Dès que la SOD est ajoutée dans le milieu réactionnel, elle entraîne l'inhibition de l'oxydation du NADPH. La lecture se fait à 540 nm, après incubation de 20 min. L'activité de la SOD est exprimée en Unité/g de protéines.

#### **VI.1.3. Détermination de l'activité de la catalase mitochondriale**

Cette activité enzymatique a été mesurée au niveau des mitochondries hépatiques selon la méthode d'Aebi (1974) par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution d' $\text{H}_2\text{O}_2$  à 420 nm. Cette diminution étant due à la dismutation du peroxyde d'hydrogène par la catalase. L'activité de la catalase est exprimée en Unité/g de protéines.

#### **VI.1.4. Teneurs en protéines carbonylées mitochondrial**

Les protéines carbonylées sont mesurées au niveau des mitochondries hépatiques par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine. La réaction aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone

colorée. La concentration des groupements carbonylés est déterminée par lecture à des longueurs d'onde de 350 et 375 nm (Levine et al., 1990).

#### **VI.1.5. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) mitochondrial**

Le MDA est dosé au niveau des mitochondries hépatiques en utilisant l'acide thiobarbiturique selon la méthode de Draper et Hadley (1990).

#### **VII. Analyse statistique**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  Ecart type. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 4.1, Statsoft, Paris, France). La vérification de la distribution normale des variables est réalisée par le test Shapiro-Wilk. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).





# **RESULTATS ET INTERPRETATIONS**

## **I. Evolution du poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique chez les différents lots de rats (Figure 11 et Tableau A1 en annexes)**

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. Le poids des animaux a été suivi tout au long de notre étude.

La variation du poids corporel moyen des rats des 4 lots est représentée dans le tableau A1 en annexes (chaque valeur correspond à la moyenne  $\pm$  écart-type) et illustrée dans la figure 11.

Nos résultats révèlent une diminution du poids corporel chez le groupe de rats rendus diabétiques par la streptozotocine (D) comparés aux rats témoins (C) nourris au même régime respectivement. Cependant, le poids corporel des rats diabétiques soumis au régime standard enrichi en 10% de *Nannochloropsis gaditana* (DM) est significativement plus élevé que celui des rats diabétiques nourris au régime standard (D).

La nourriture ingérée (exprimée en g/j/rat) et l'apport énergétique (exprimé en Kcal/J/rat), sont très significativement élevés chez les rats diabétiques (D) comparés aux rats témoins (C) nourris au même régime standard. Par contre, l'ajout de *Nannochloropsis gaditana* au régime standard provoque une réduction significative de la quantité de la nourriture ingérée et de l'apport énergétique chez le groupe de rats (DM) par rapport aux rats diabétiques (D).

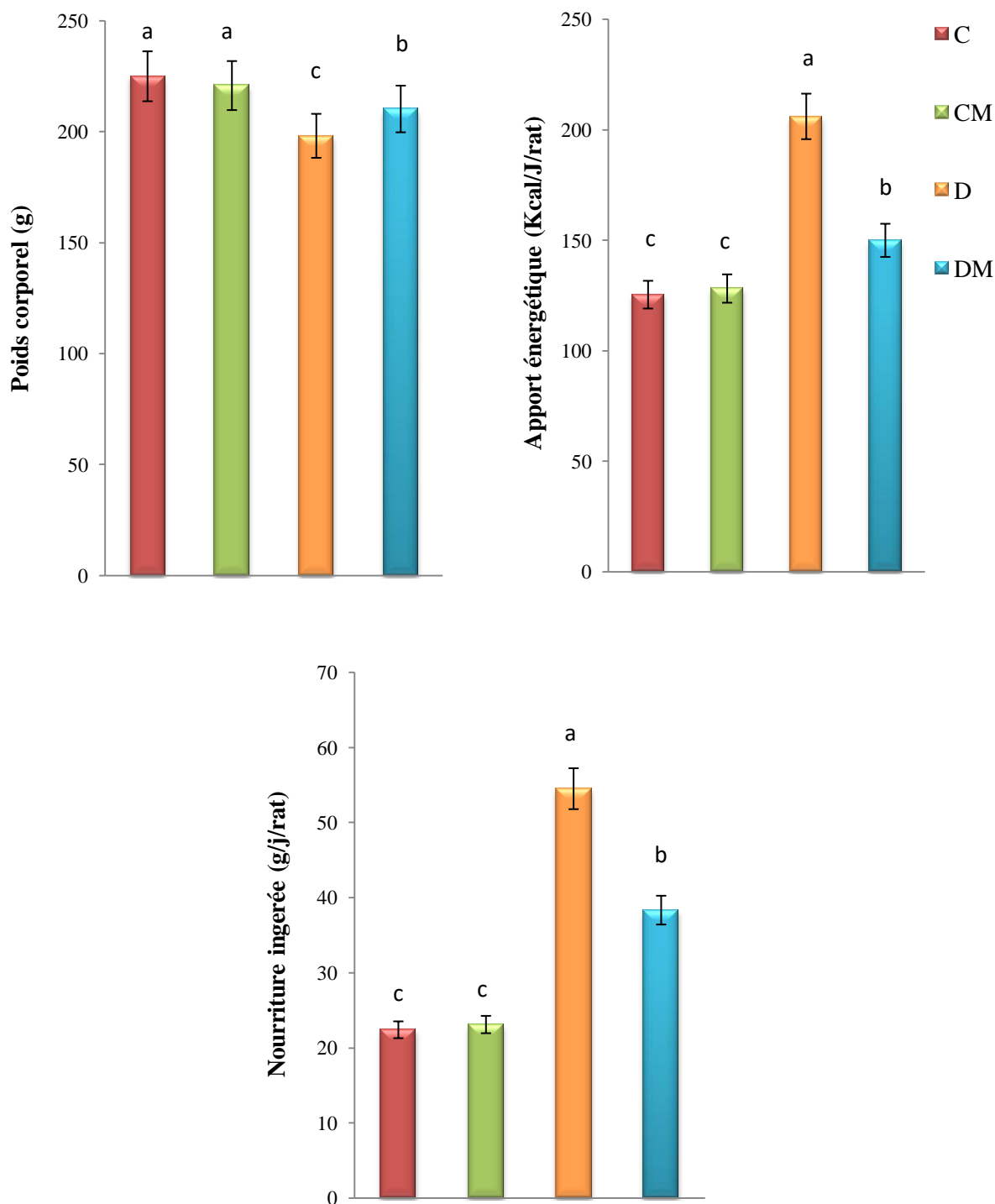
En revanche, aucune différence significative n'est notée pour le poids corporel, la prise alimentaire quotidienne et l'apport énergétique chez les rats témoins nourris au régime standard enrichi en *Nannochloropsis gaditana* à 10% (CM versus C) puisque les valeurs sont proches à celles des témoins (C).

## **II. Teneurs sériques en minéraux chez les différents lots de rats (Figure 12 et Tableau A2 en annexes)**

Comparées au groupe contrôle (C), les teneurs sériques en calcium, phosphore et en magnésium sont significativement diminuées chez les groupes diabétiques (D) non traités.

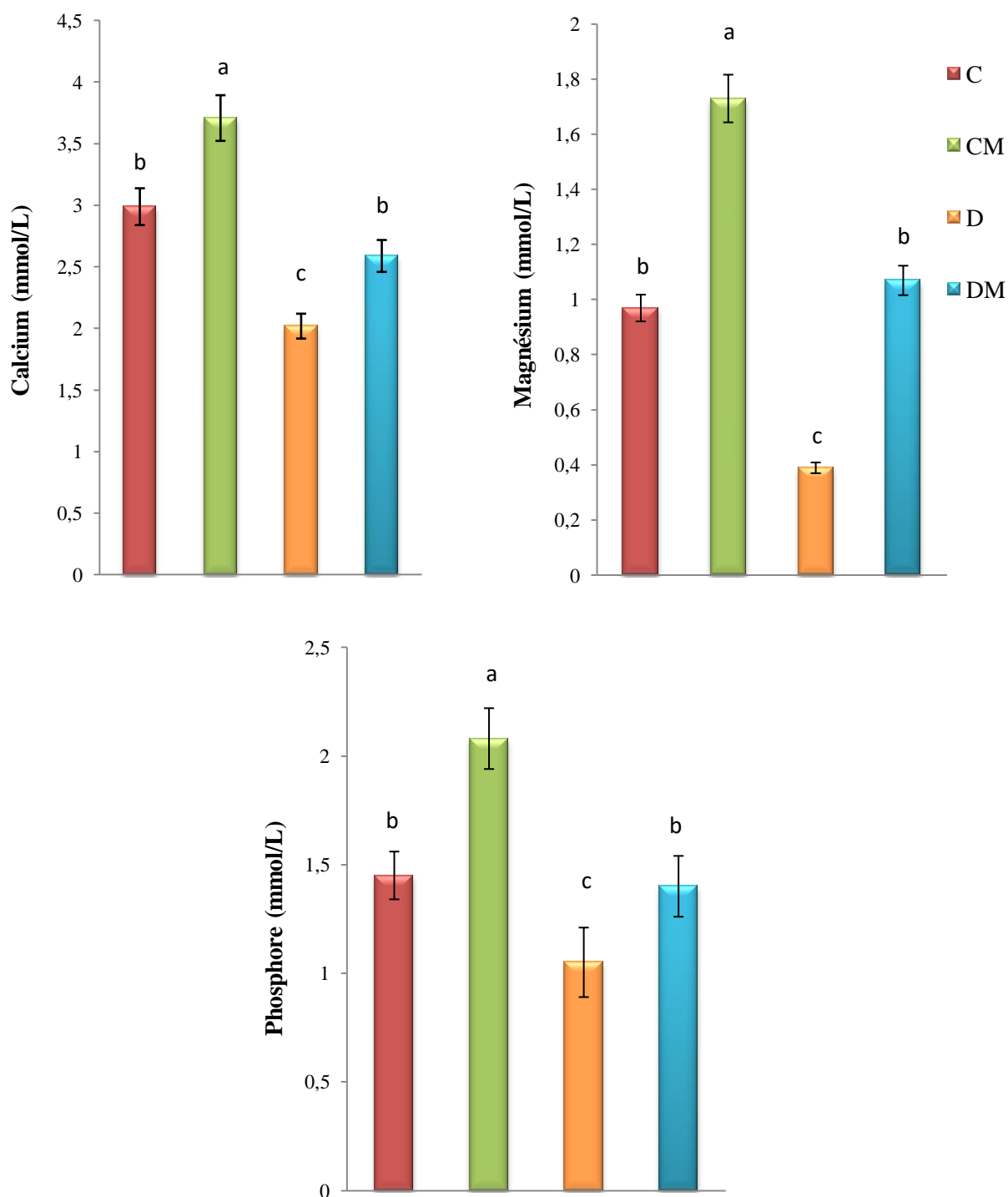
Après administration quotidienne de la microalgue, *Nannochloropsis gaditana*, au régime standard chez les rats diabétiques (DM) une élévation hautement significative de ces teneurs est notée par rapport au groupe diabétique (D). Cependant, ces valeurs tendent à se rapprocher des valeurs initiales observées chez le groupe contrôle (C).

Parallèlement, la microalgue incorporée au régime standard (CM) a suscité une augmentation significative des teneurs sériques en calcium, phosphore et en magnésium par rapport aux témoins consommant le régime standard (C).



**Figure 11.** Le poids corporel, nourriture ingérée et l'apport énergétique chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Figure 12.** Teneurs sériques en minéraux chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

### **III. Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots de rats (Tableau 3)**

Nos résultats montrent une diminution significative des concentrations des globules rouges et d'hémoglobines chez les rats diabétiques (D) comparés aux autres lots de rats. L'enrichissement du régime en *Nannochloropsis gaditana* induit une augmentation significative des concentrations des globules rouges et d'hémoglobine chez les rats du groupe (DM) par rapport aux rats du groupe (D).

En outre, chez les rats diabétiques nous avons remarqué une augmentation significative du taux des globules blancs et des lymphocytes. L'addition de *Nannochloropsis gaditana* au régime standard a suscité une baisse significative du taux des globules blancs chez les rats du groupe (DM) par rapport aux rats du groupe (D). Concernant le taux des lymphocytes l'addition de la microalgue dans le régime n'a pas entraîné de changement chez le groupe (DM).

Par contre, les teneurs en monocytes et des polynucléaires ne montrent aucune variation significative entre les différents groupes de rats (**Tableau 3**).

### **IV. Paramètres biochimiques**

#### **IV.1. Teneurs sériques en glucose, hémoglobine glyquée et en protéines totales chez les différents lots de rats (Figure 13 ; Tableau A4 en annexes).**

Les résultats révèlent une augmentation significative des teneurs sériques en glucose et en hémoglobine glyquée chez les rats diabétiques (D) comparés aux rats témoins (C).

La supplémentation en microalgue *Nannochloropsis gaditana* montre son effet régulateur et entraîne une correction des valeurs glycémiques chez le groupe de rats diabétiques.

Cependant, par rapport au groupe contrôle (C), les teneurs en glucose et en hémoglobine glyquée de groupe (CM) ne montrent aucune différence significative.

Les teneurs sériques en protéines totales sont significativement plus faibles chez les rats diabétiques comparées aux autres lots de rats. Toutefois, l'administration de la microalgue au régime chez les rats diabétiques corrige ces anomalies protéiques par rapport au groupe (D). En revanche, ces valeurs se rapprochent de celles observées chez le groupe contrôle (C).

#### **IV.2. Teneurs sériques en acide urique, urée et en créatinine chez les différents lots de rats (Figure 14 ; Tableau A4 en annexes)**

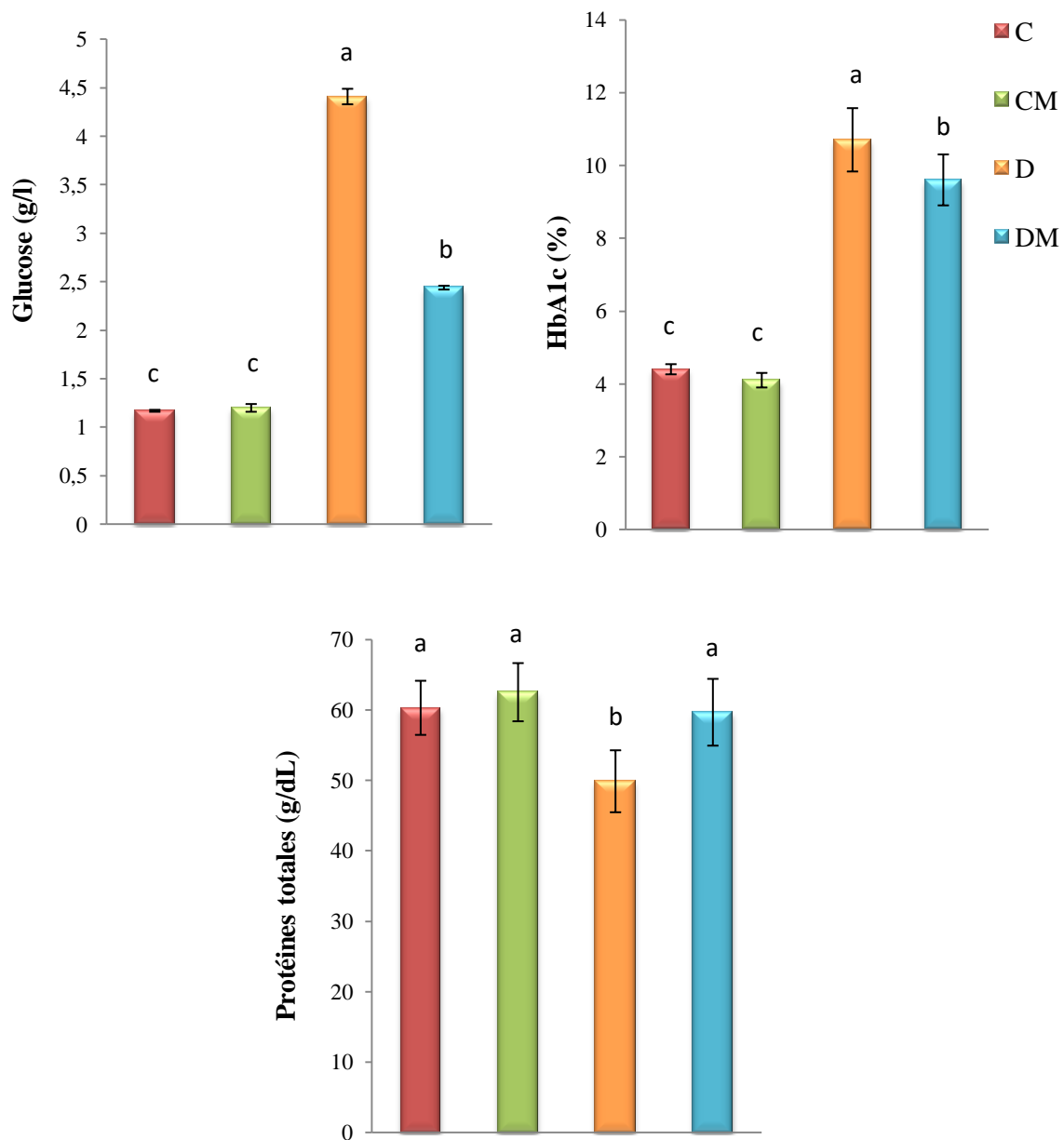
Le suivi de l'évolution des paramètres de la fonction rénale révèle des taux sériques plus élevés d'acide urique, d'urée et de créatinine chez le groupe (D) comparés au groupe contrôle (C).

L'addition de *Nannochloropsis gaditana* montre son effet bénéfique chez les rats diabétiques (DM) où une réduction significative des teneurs en acide urique, urée et en créatinine est notée par rapport au groupe diabétique (D) non traités. Cependant, ces valeurs tendent à se rapprocher des valeurs initiales observées chez le groupe contrôle (C).

**Tableau 3.** Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots de rats

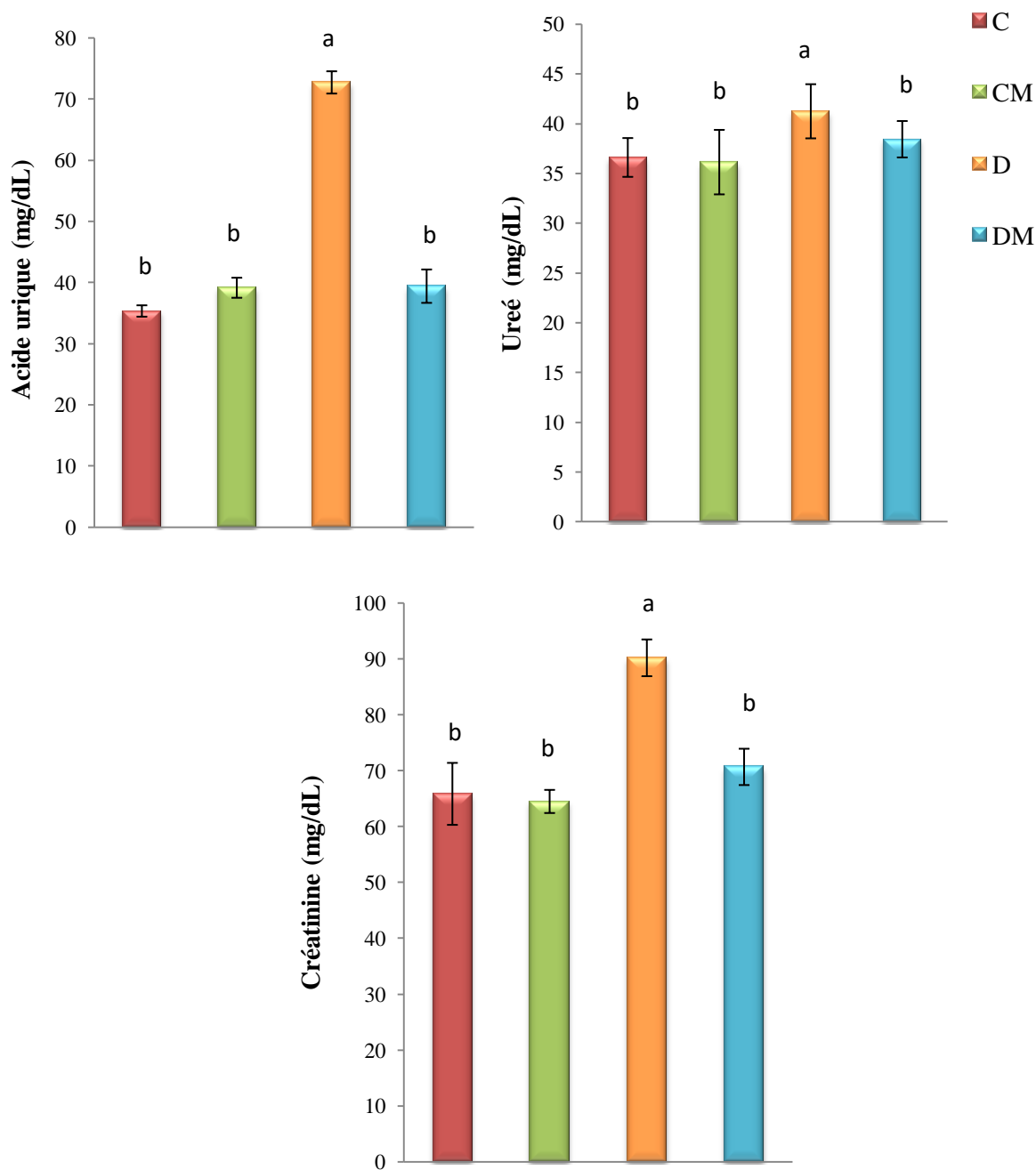
<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>Globules rouges (10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	6,01±0,24 <sup>c</sup>	8,41±0,72 <sup>a</sup>	4,95± 0,19 <sup>d</sup>	6,5±2,50 <sup>b</sup>	0,0001
<b>Hémoglobine (mg/dL)</b>	12,22±0,25 <sup>b</sup>	13,63± 0,10 <sup>a</sup>	9,53± 0,03 <sup>c</sup>	12,03± 0,13 <sup>b</sup>	0,0001
<b>Globules blancs (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	4,82±0, 82 <sup>c</sup>	4,65±0, 92 <sup>c</sup>	6,50± 0,40 <sup>a</sup>	5,14±0,44 <sup>b</sup>	0,0001
<b>Lymphocytes (/mm<sup>3</sup>)</b>	1962,5±125 <sup>b</sup>	1893,5±121 <sup>b</sup>	2648±293 <sup>a</sup>	2821,5±125 <sup>a</sup>	0,0001
<b>Polynucléaires (/mm<sup>3</sup>)</b>	2932,5±295	2782,5±275	2530±159	2470±149	0,750
<b>Monocytes (/ mm<sup>3</sup>)</b>	230±28,9	227±21,9	226,8±23,0	232,3± 24,70	0,750

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).



**Figure 13.** Teneurs sériques en glucose, hémoglobine glyquée et en protéines totales chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Figure 14.** Teneurs sériques en acide urique, urée et en créatinine chez les différents lots de rats. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



### **IV.3. Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la PAL et de la LDH chez les différents lots de rats (Figure 15 ; Tableau A4 en annexes)**

L'activité des transaminases sériques (ASAT, ALAT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la lactate déshydrogénase (LDH) montrent une élévation significative chez les rats diabétiques (D) comparés à leurs témoins respectifs.

L'enrichissement du régime standard en *Nannochloropsis gaditana* à 10% induit une diminution significative de l'activité enzymatique ASAT, ALAT, PAL et LDH chez le groupe de rats (DM) par rapport aux rats diabétiques non traités (D).

La microalgue incorporée au régime standard (CM) n'exerce aucun effet sur l'activité des transaminases, des phosphatases alcalines et de la LDH chez le groupe (CM) par rapport aux témoins puisque les valeurs sont similaires.

### **IV.4. Teneurs en lipides sériques et en lipoprotéines chez les différents lots de rats (Figure 16 ; Tableau A5 en annexes)**

Nos résultats révèlent une augmentation significative des teneurs sériques en cholestérol total et en triglycérides chez les rats diabétiques (D) par rapport aux autres groupes de rats.

Concernant les fractions lipoprotéiques, les teneurs en cholestérol et en triglycérides sont significativement augmentées au niveau (VLDL-C, VLDL-TG, LDL-TG et LDL-C) et diminuées au niveau des HDL-TG et HDL-C chez les rats diabétiques (D) par rapport aux autres lots de rats.

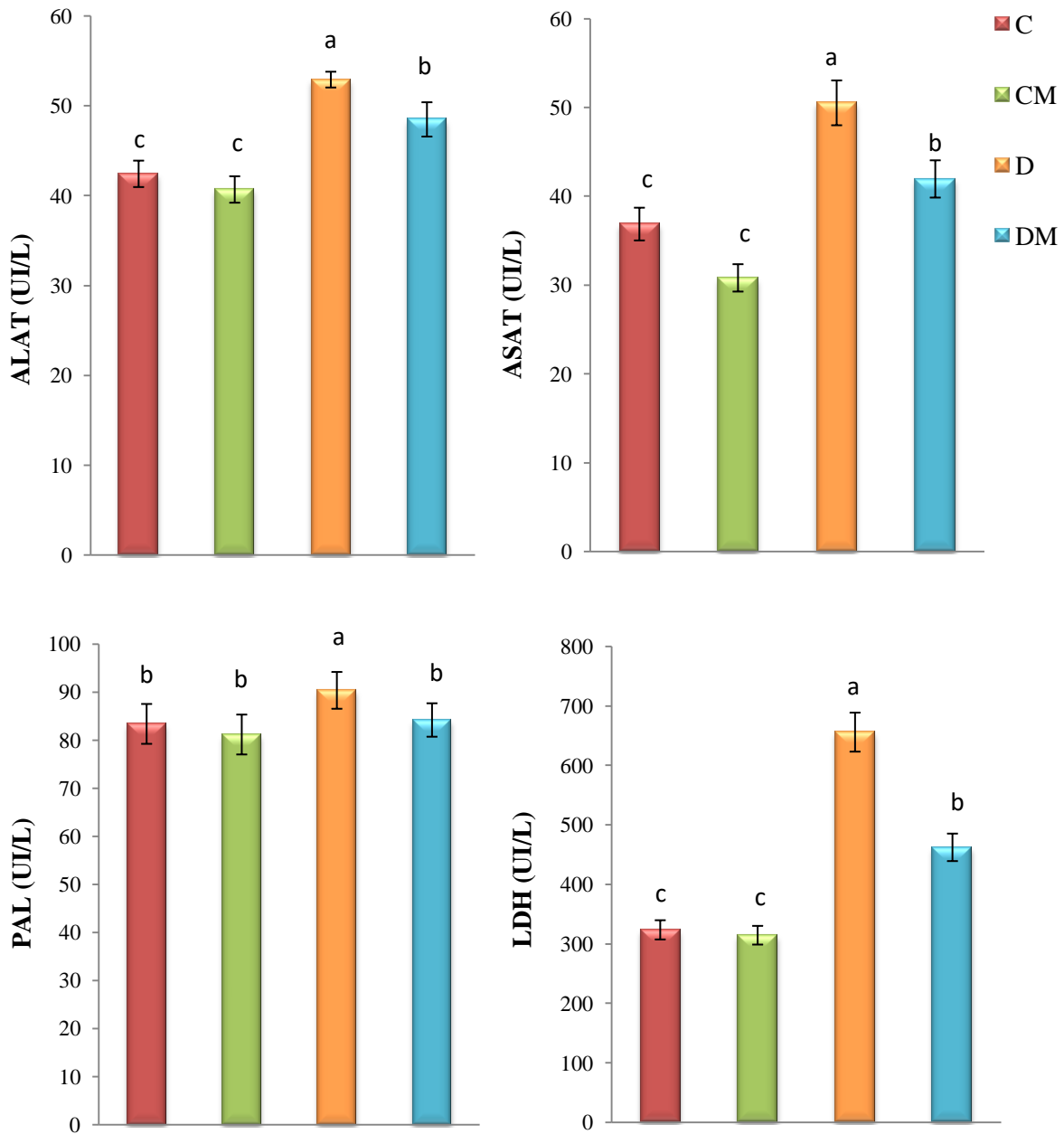
Le traitement par la microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10% induit une correction des ces paramètres lipidiques chez les rats (DM). Cependant, ces valeurs tendent à se rapprocher des valeurs initiales observées chez le groupe contrôle (C).

## **V. Paramètres tissulaires**

### **V.1. Poids absolu des organes et teneurs en protéines totales aux niveaux des organes chez les différents lots de rats (Figure 17 et 18 ; Tableau A6 en annexes)**

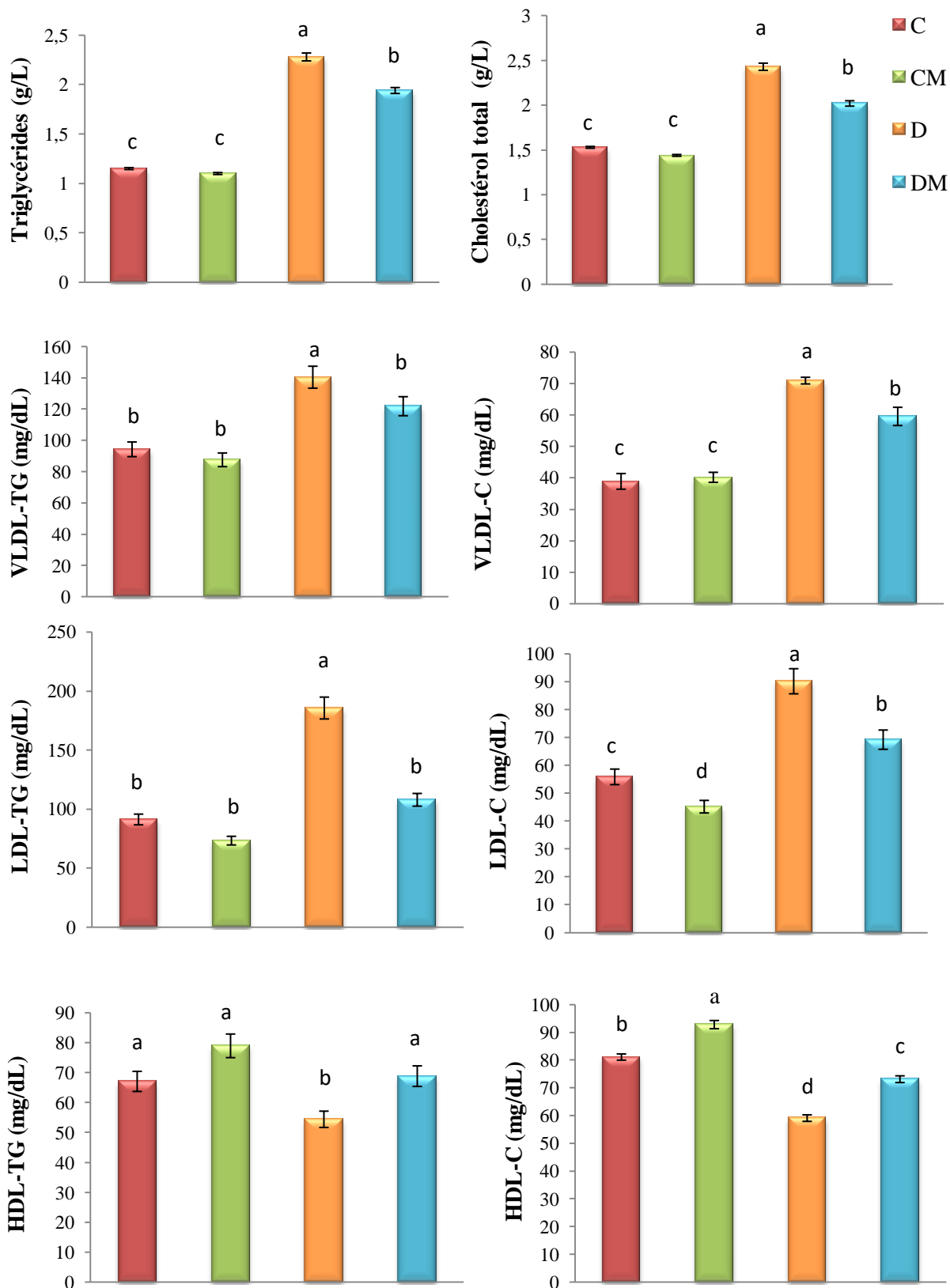
Nous avons suivi l'évolution des poids absolus (PA) des organes suivants: le foie, le pancréas, le tissu adipeux blanc et le tissu adipeux brun chez les rats témoins et les rats diabétiques nourris ou non par la microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%.

Le poids absolu du foie et de tissu adipeux brun ne montre aucune différence significative entre les différents groupes alors que le poids absolu du pancréas et de tissu adipeux blanc est significativement diminué chez le groupe diabétique (D) non traité par rapport aux autres lots.



**Figure 15.** Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la PAL et de la LDH chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Figure 16.** Teneurs en lipides sériques et en lipoprotéines chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

Toutefois, la microalgue *Nannochloropsis gaditana* incorporée au régime standard augmente efficacement le poids absolu du pancréas et de tissu adipeux blanc chez les rats diabétiques par rapport aux rats diabétiques non traités (D).

Comparés aux rats témoins, les rats diabétiques (D) ont des teneurs élevées en protéines totales au niveau du foie. Par contre, aucune différence significative n'est notée au niveau des autres organes (pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun) entre les différents lots.

Cependant, les rats diabétiques (DM) sous régime supplémenté en *Nannochloropsis gaditana* à 10% affichent une diminution significative des teneurs en protéines totales au niveau hépatique par rapport aux rats diabétiques (D). Cependant, ces valeurs sont similaires à celles observées du groupe contrôle (C).

## **V.2. Teneurs en lipides aux niveaux des organes chez les différents lots de rats (Figure 19, 20 et 21 ; Tableau A7 en annexes)**

Les résultats révèlent une augmentation significative des teneurs en cholestérol total et triglycérides au niveau du foie, pancréas et le tissu adipeux blanc chez le groupe de rats diabétiques par rapport aux autres lots de rats.

Cependant, l'addition de *Nannochloropsis gaditana* au régime standard induit chez les rats diabétiques une diminution significative des teneurs en cholestérol total et triglycérides au niveau du foie, le pancréas et le tissu adipeux blanc par rapport aux rats diabétiques non traités.

De plus, la microalgue incorporée au régime standard chez le groupe de rats (CM) n'a pas d'effet sur les teneurs en cholestérol total et triglycérides au niveau du foie, le pancréas et le tissu adipeux blanc comparées aux rats témoins (C), puisque les valeurs sont stables.

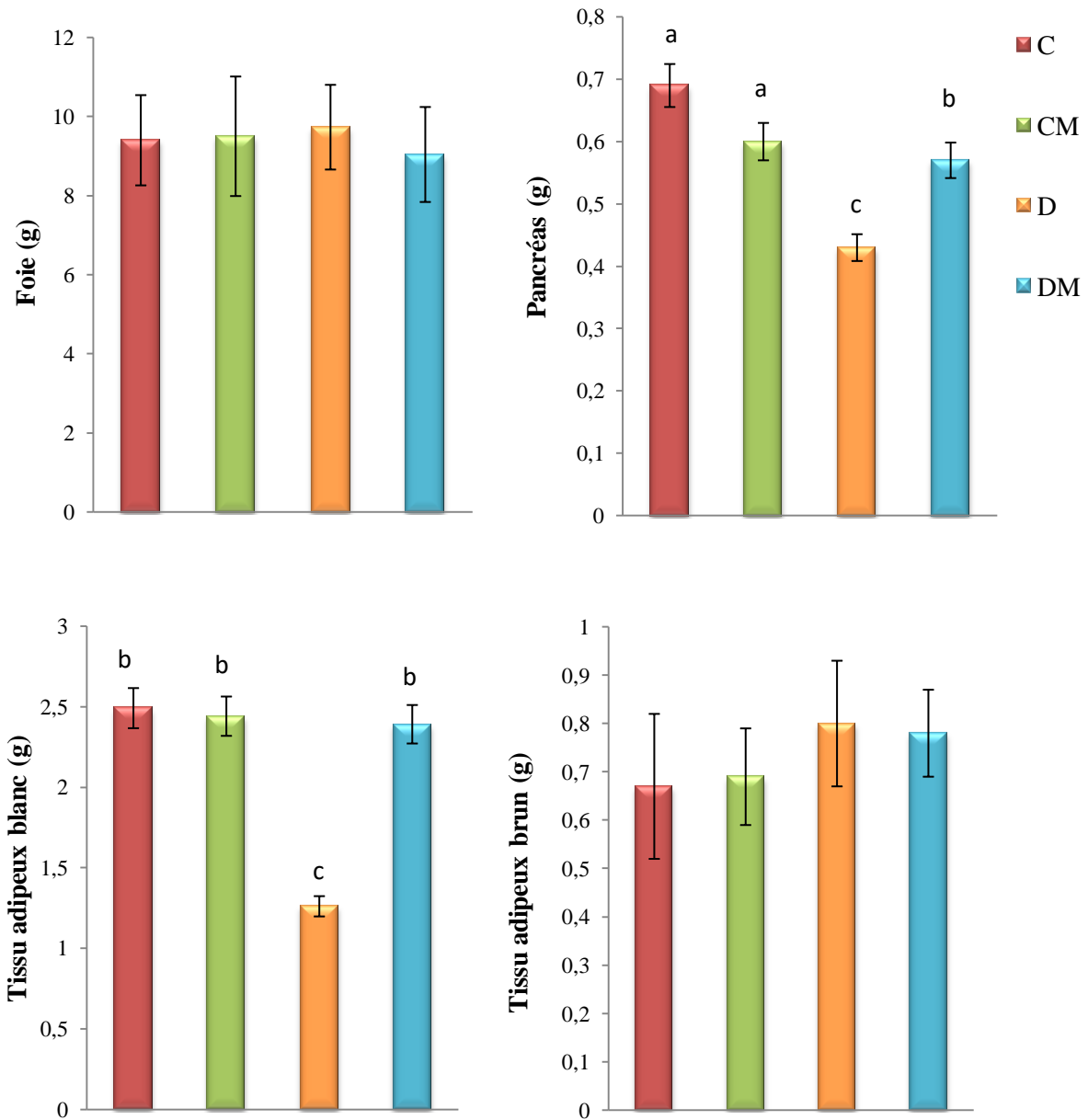
Au niveau du tissu adipeux brun, les teneurs en triglycérides et cholestérol total sont similaires entre les différents groupes de rats (C, CM, D, DM) quelque soit le régime consommé.

Concernant les teneurs en lipides totaux au niveau du foie, le pancréas et le tissu adipeux blanc sont significativement augmentés chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la STZ (D) comparés aux rats témoins (C).

L'incorporation de *Nannochloropsis gaditana* dans le régime standard a provoqué une atténuation significative de la moyenne en lipides totaux au niveau du foie, le pancréas et le tissu adipeux blanc chez le groupe (DM) par rapport au groupe (D).

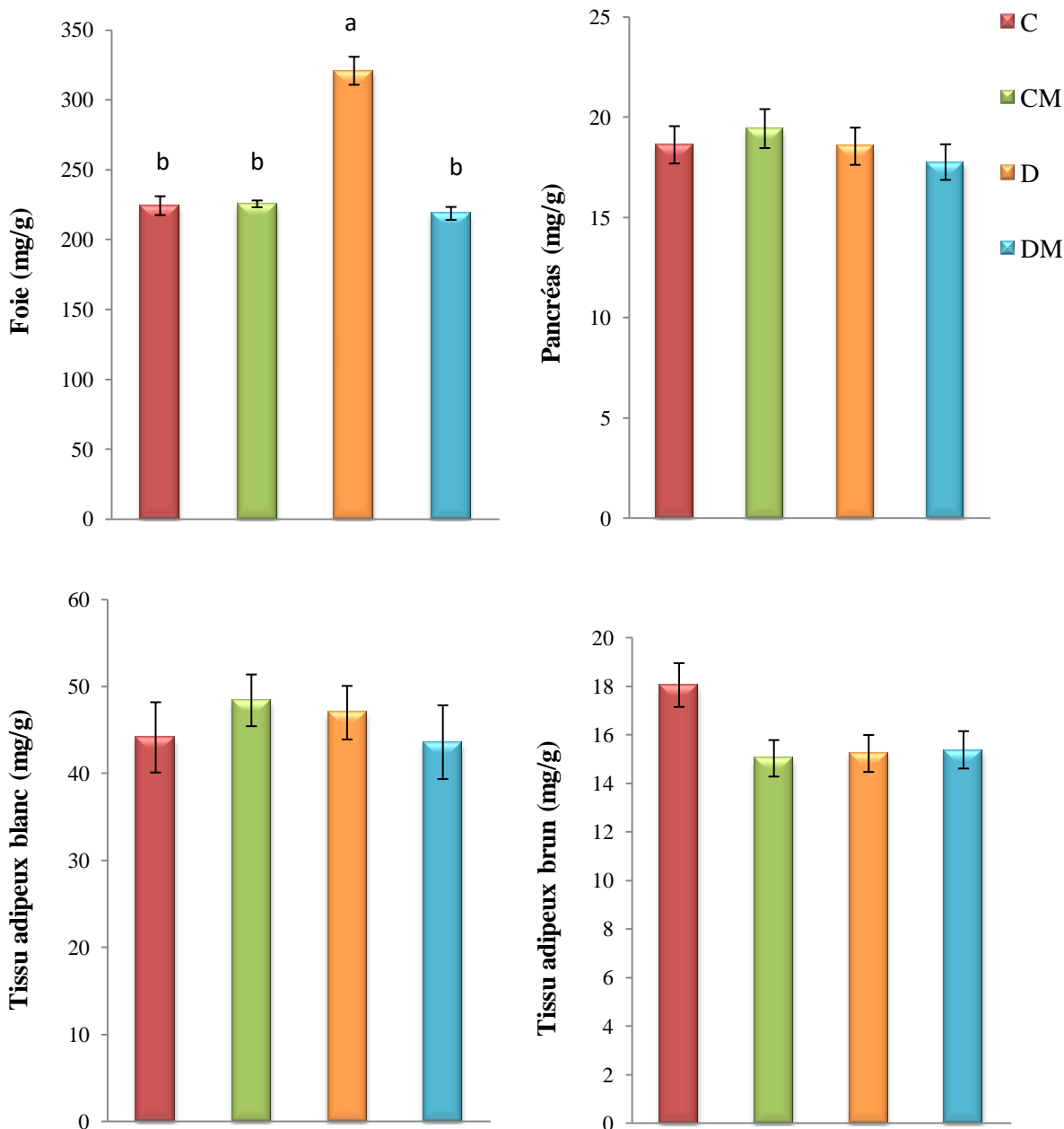
De plus, la microalgue incorporée au régime standard chez le groupe de rats (CM) n'a pas d'effet sur les teneurs en lipides totaux au niveau du foie, le pancréas et le tissu adipeux blanc comparées aux rats témoins (C), puisque les valeurs sont stables.

Au niveau du tissu adipeux brun, les teneurs en lipides totaux sont similaires entre les différents groupes de rats (C, CM, D, DM) quelque soit le régime consommé.



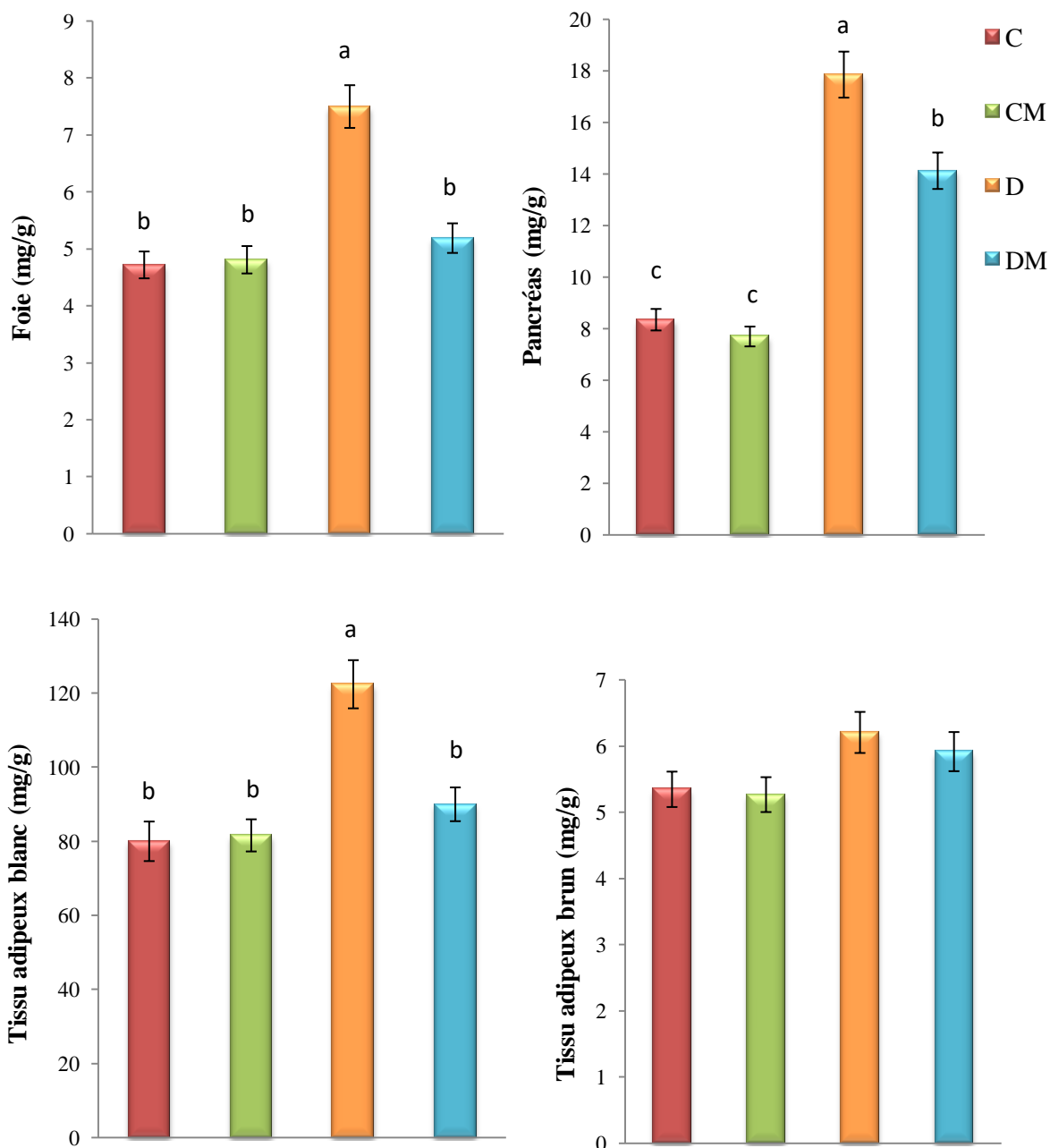
**Figure 17.** Poids absolu des organes chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).



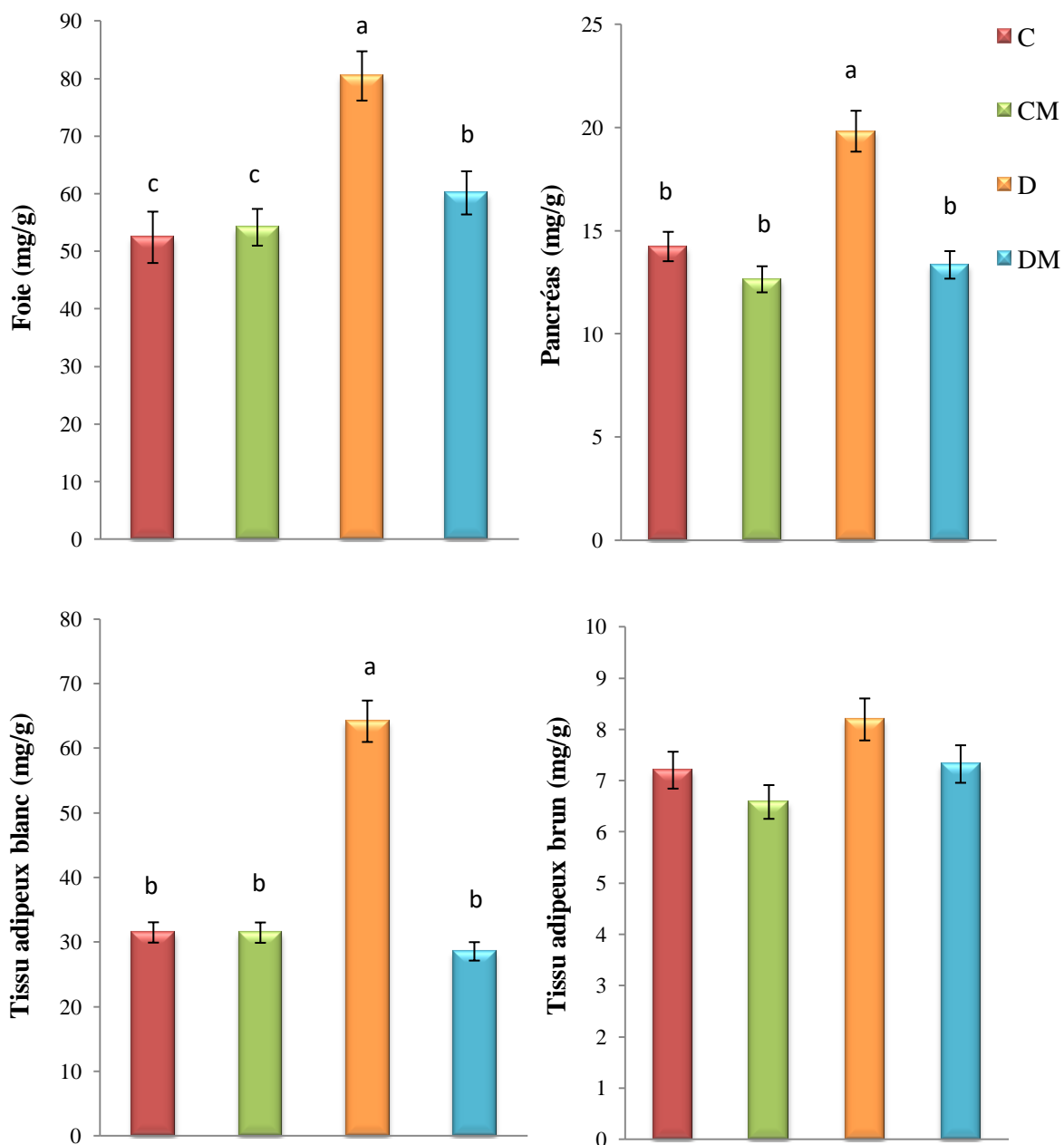
**Figure 18.** Teneurs en protéines totales aux niveaux des organes chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).



**Figure 19.** Teneurs en cholestérol total (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats

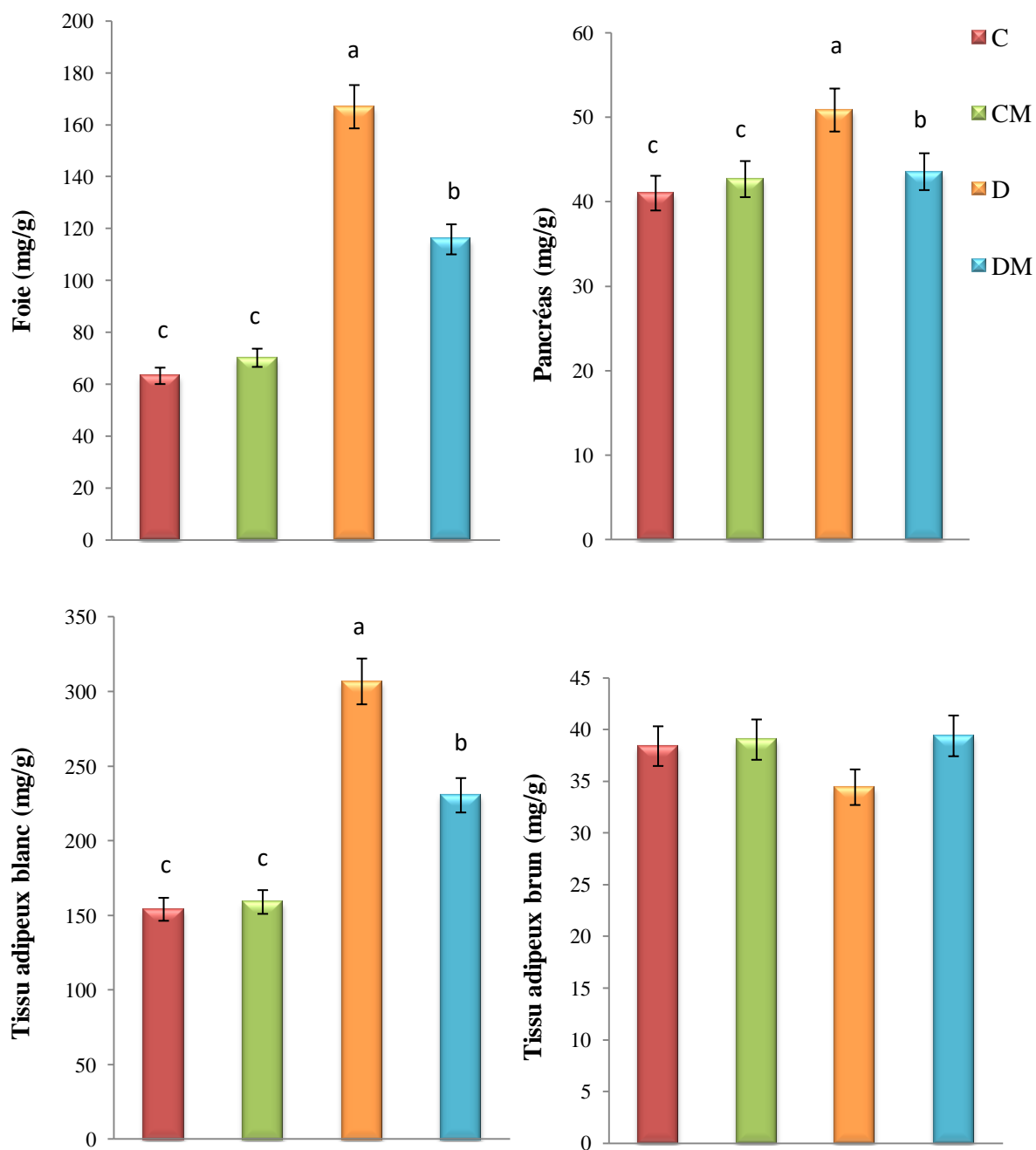
Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).



**Figure 20.** Teneurs en triglycérides (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).





**Figure 21.** Teneurs en lipides totaux (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

### **V.3. Activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) et l'activité des lipases (LPL et LHS) au niveau des organes chez les différents lots de rats (Figure 22 ; Tableau A8 en annexes)**

L'activité de l'enzyme LCAT sérique est significativement diminuée chez les rats diabétiques (D) par rapport aux rats témoins (C). La supplémentation du régime standard par 10% de *Nannochloropsis gaditana* a suscité une augmentation significative de l'activité de la LCAT chez les rats diabétiques, ce qui illustre bien que la microalgue à 10% possède un effet correctif de l'activité des enzymes intervenant dans le métabolisme lipidique.

De plus, l'addition de la microalgue au régime standard n'exerce aucun effet sur l'activité de la LCAT chez les rats de groupe (CM) par comparaison aux témoins (C).

L'activité des lipases (LPL) aux niveaux des différents organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun) est significativement diminuée chez les rats diabétiques (D) comparée aux autres lots de rats. L'administration quotidienne de la microalgue *Nannochloropsis gaditana* au régime standard chez les rats diabétiques (DM) accroît significativement l'activité des LPL aux niveaux de ces organes par rapport au groupe (D).

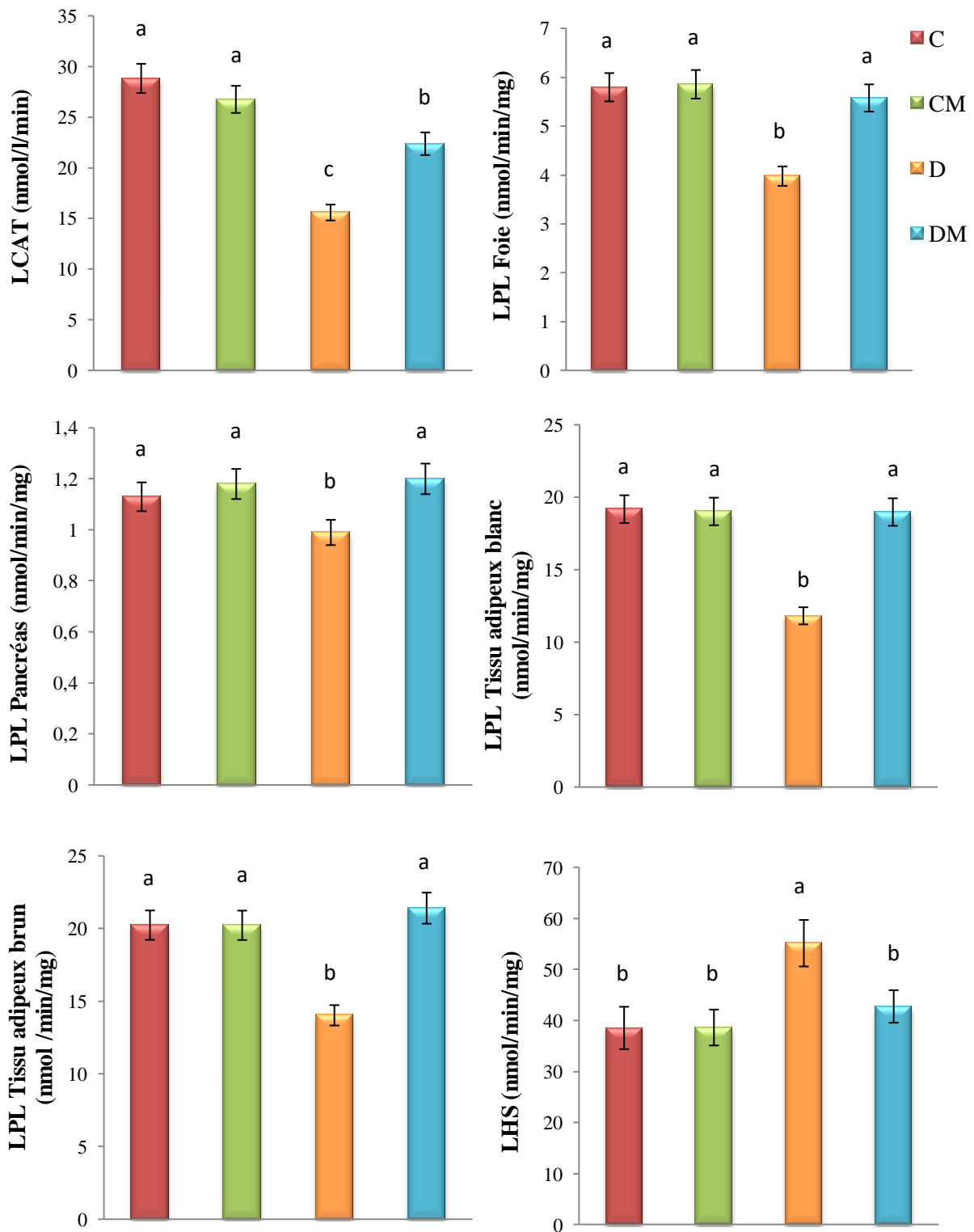
Chez les rats rendus diabétiques par la STZ (D), une augmentation significative de l'activité LHS adipocytaire est observée par rapport aux témoins (C). L'enrichissement du régime standard en *Nannochloropsis gaditana* chez le groupe de rats diabétiques (DM) montre son effet positif exprimant une réduction significative de l'activité de la LHS adipocytaire par rapport aux rats (D).

## **VI. Statut oxydant/antioxydant**

### **VI.1. Marqueurs du statut antioxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats (Figure 23; Tableau A9 en annexes)**

Le taux plasmatique de la vitamine C, le taux de glutathion réduit (GSH), l'activité de la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) érythrocytaire sont réduits chez les rats diabétiques (D) par rapport aux témoins (C). Tandis que le groupe diabétique (DM) ayant reçu le régime supplémenté en microalgue, les teneurs en vitamine C, GSH et l'activité de catalase et la SOD érythrocytaire sont augmentées respectivement chez le groupe (DM) versus (D).

L'addition de la microalgue au régime standard ne montre aucun effet sur les teneurs en vitamine C, le taux du GSH et l'activité de catalase et de la SOD érythrocytaire chez les rats du groupe (CM) comparés aux témoins (C).



**Figure 22.** Activité de la LCAT sérique et des lipases tissulaires chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

## **VI.2. Marqueurs du statut oxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats (Figure 24 ; Tableau A10 en annexes).**

Une augmentation significative des teneurs plasmatiques et érythrocytaires en monoxyde d'azote (NO) et d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) est notée chez les rats rendus diabétiques par la STZ (D) comparées aux rats témoins (C). De plus, nos résultats montrent aussi une élévation significative des teneurs en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées au niveau plasmatiques et érythrocytaires chez le groupe diabétique (D) par rapport aux valeurs des témoins (C).

L'administration quotidienne de la microalgue *Nannochloropsis gaditana* au régime standard induit une diminution significative des teneurs plasmatiques et érythrocytaires en NO,  $O_2^{\cdot-}$ , MDA et en protéines carbonylées chez les rats (DM) par rapport aux valeurs (D).

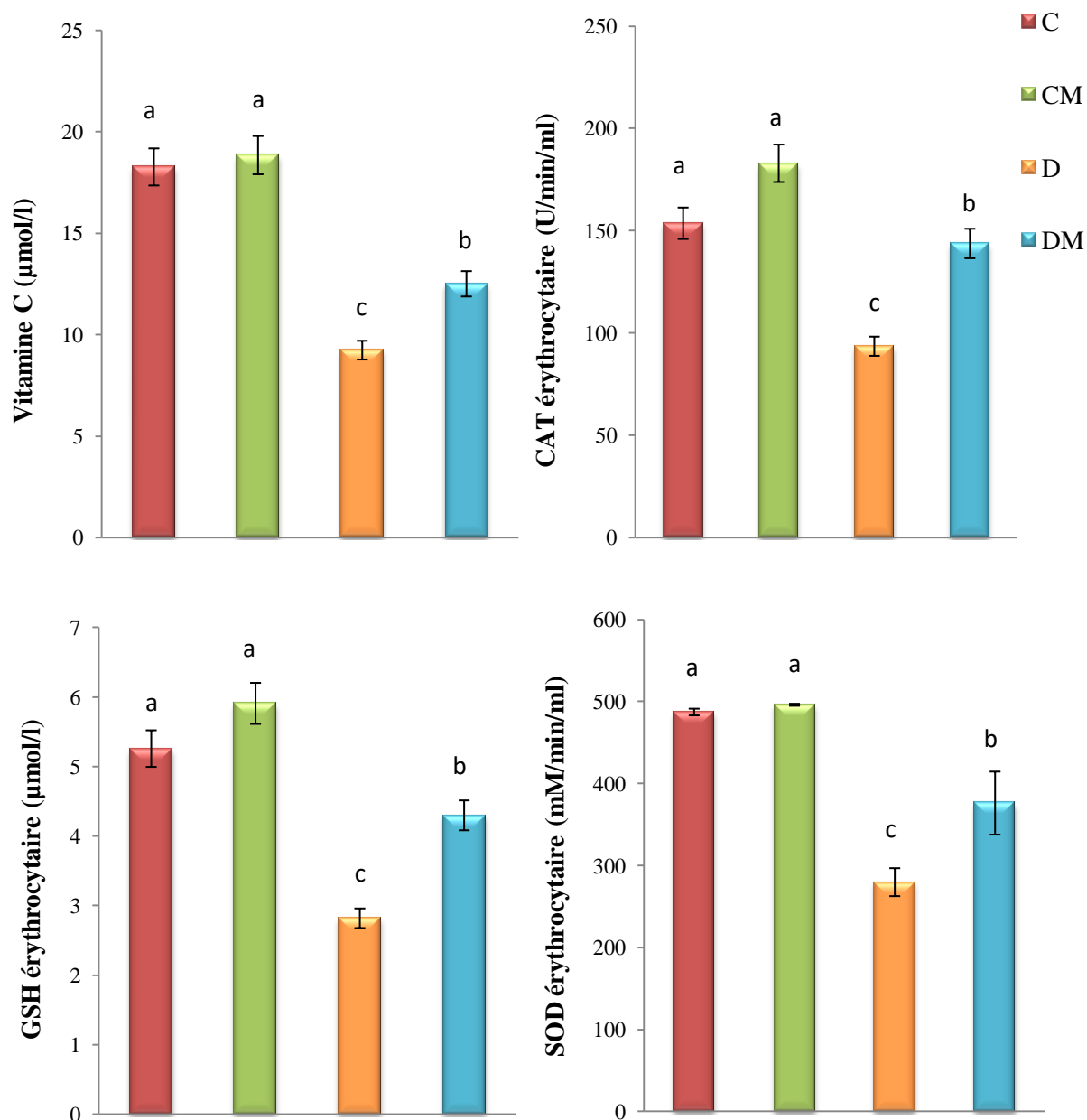
## **VI.3. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des organes**

### **VI.3.1. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les différents lots de rats (Figure 25 ; Tableau A11 en annexes)**

Au niveau du foie, le taux en MDA et en protéines carbonylées sont augmentés alors que le contenu en GSH et l'activité de catalase, SOD et GST sont réduits chez le groupe de rats diabétiques (D) par rapport aux valeurs des rats témoins (C).

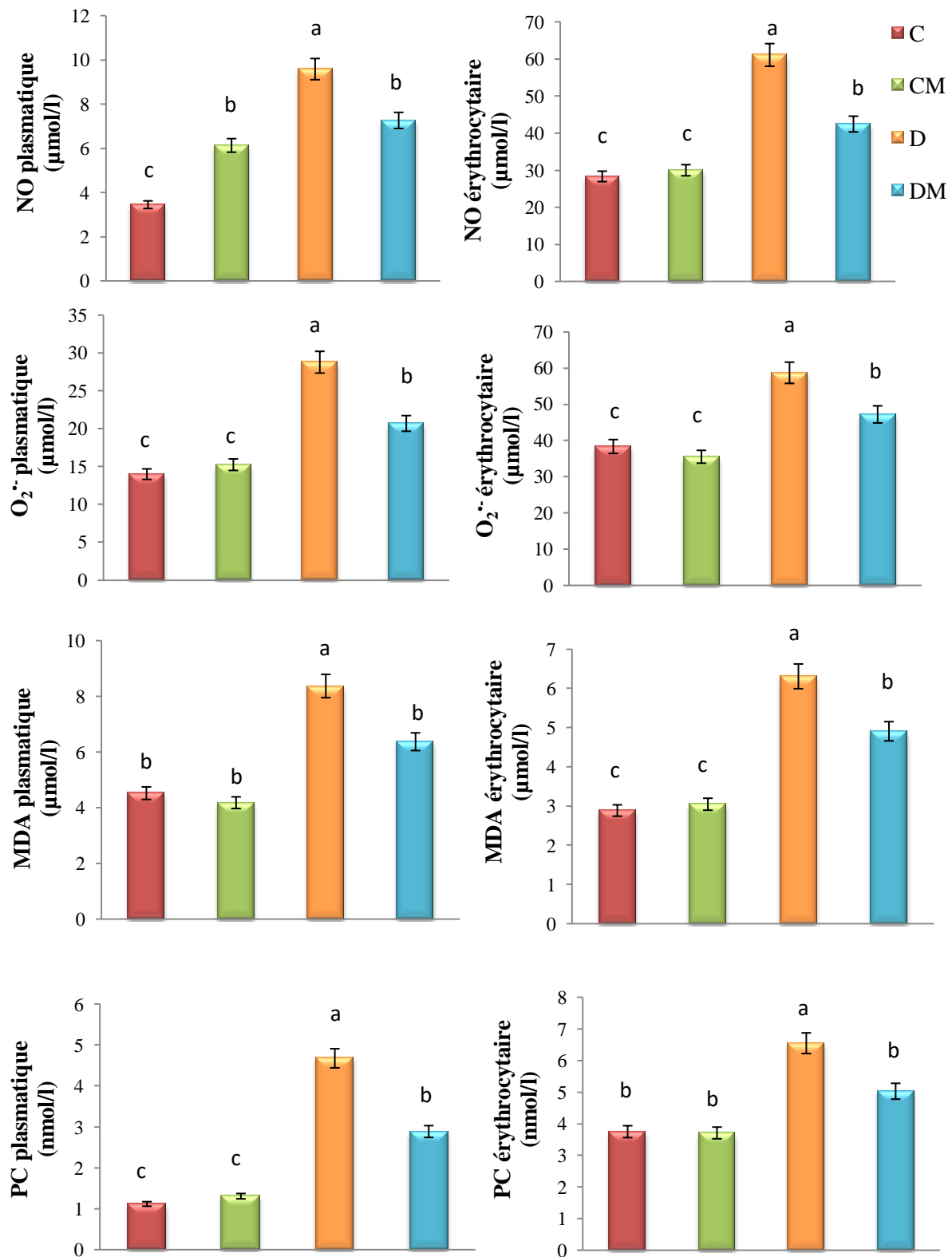
Suite à l'addition de la microalgue *Nannochloropsis gaditana* au régime standard une réduction significative des teneurs en MDA et en protéines carbonylées est notée associée à une augmentation des teneurs en catalase, GSH, SOD et en GST chez les rats (DM) par rapport aux rats diabétiques (D).

En revanche, le traitement par *Nannochloropsis gaditana* n'a aucun effet sur le statut redox hépatique chez les rats (CM) comparé aux témoins (C).



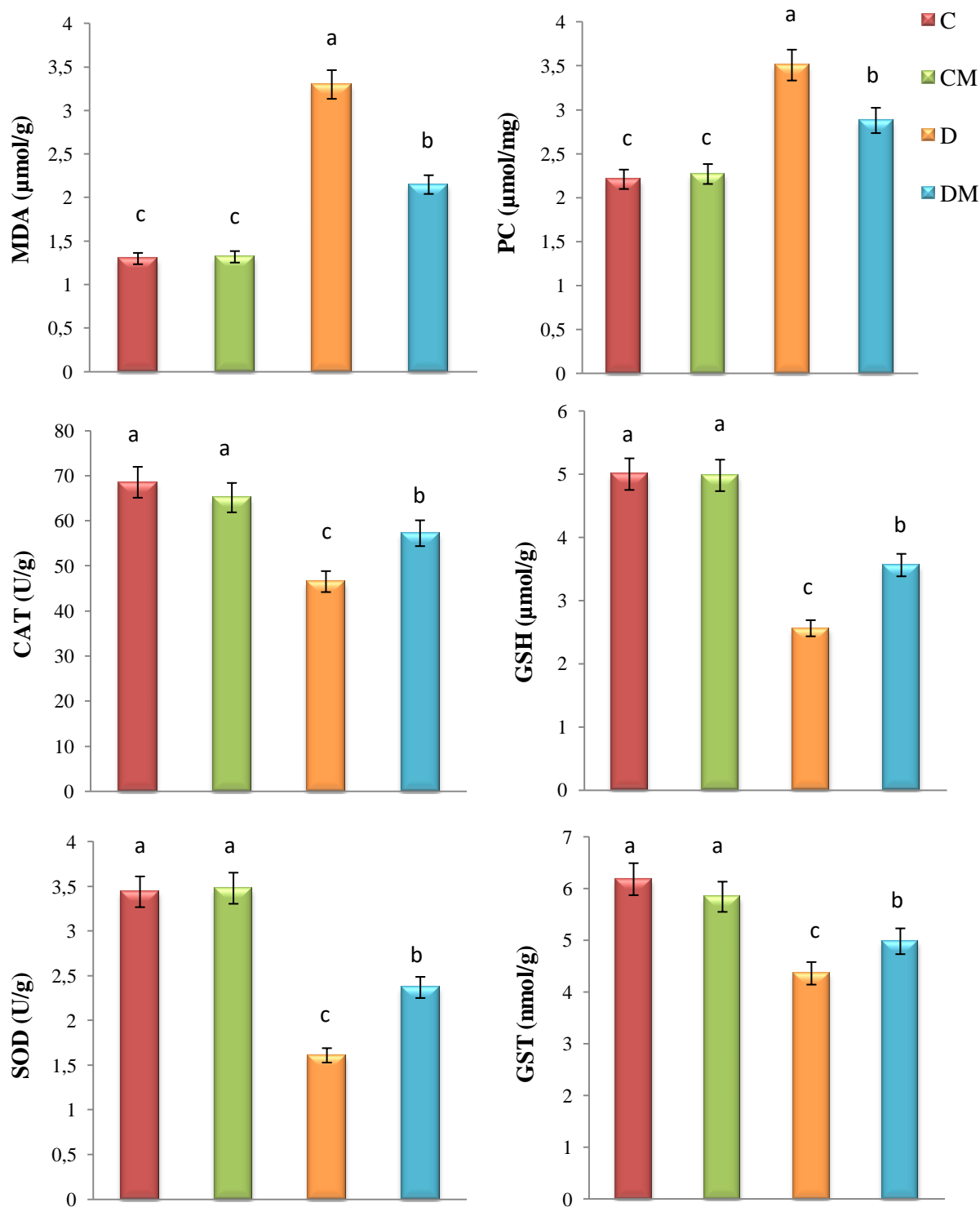
**Figure 23.** Marqueurs du statut antioxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Figure 24.** Marqueurs du statut oxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).



**Figure 25.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type,  $n=6$ . C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

### **VI.3.2. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant mitochondrial chez les différents lots de rats (Figure 26 ; Tableau A12 en annexes)**

Au niveau mitochondrial, le taux de GSH et l'activité de la catalase et la SOD sont réduits chez les rats rendus diabétiques par la STZ comparés aux autres lots de rats. À l'inverse, les teneurs en MDA et en protéines carbonylées sont augmentées chez les rats diabétiques. En revanche, l'addition de *Nannochloropsis gaditana* au régime standard induit chez les rats diabétiques une augmentation significative du taux de GSH et de l'activité de la catalase et la SOD. Toutefois, on a observé une réduction des teneurs en MDA et en protéines carbonylées au niveau de la mitochondrie chez les rats du groupe (DM) comparés aux rats du groupe (D).

### **VI.3.3. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du pancréas chez les différents lots de rats (Figure 27 ; Tableau A13 en annexes)**

Le taux de GSH et l'activité de la catalase, SOD au niveau du pancréas sont réduits alors que les teneurs en MDA et en protéines carbonylées sont augmentées chez les rats diabétiques (D) par rapport aux valeurs des rats témoins (C). Chez les rats diabétiques, le traitement par la microalgue induit une augmentation significative de l'activité de la catalase, SOD et du taux de GSH associée à une réduction significative des teneurs en MDA et protéines carbonylées. Par contre, le traitement par la microalgue n'a aucun effet sur le statut redox au niveau du pancréas chez les rats (CM) par rapport aux rats (C).

### **VI.3.4. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux blanc chez les différents lots de rats (Figure 28 ; Tableau A14 en annexes)**

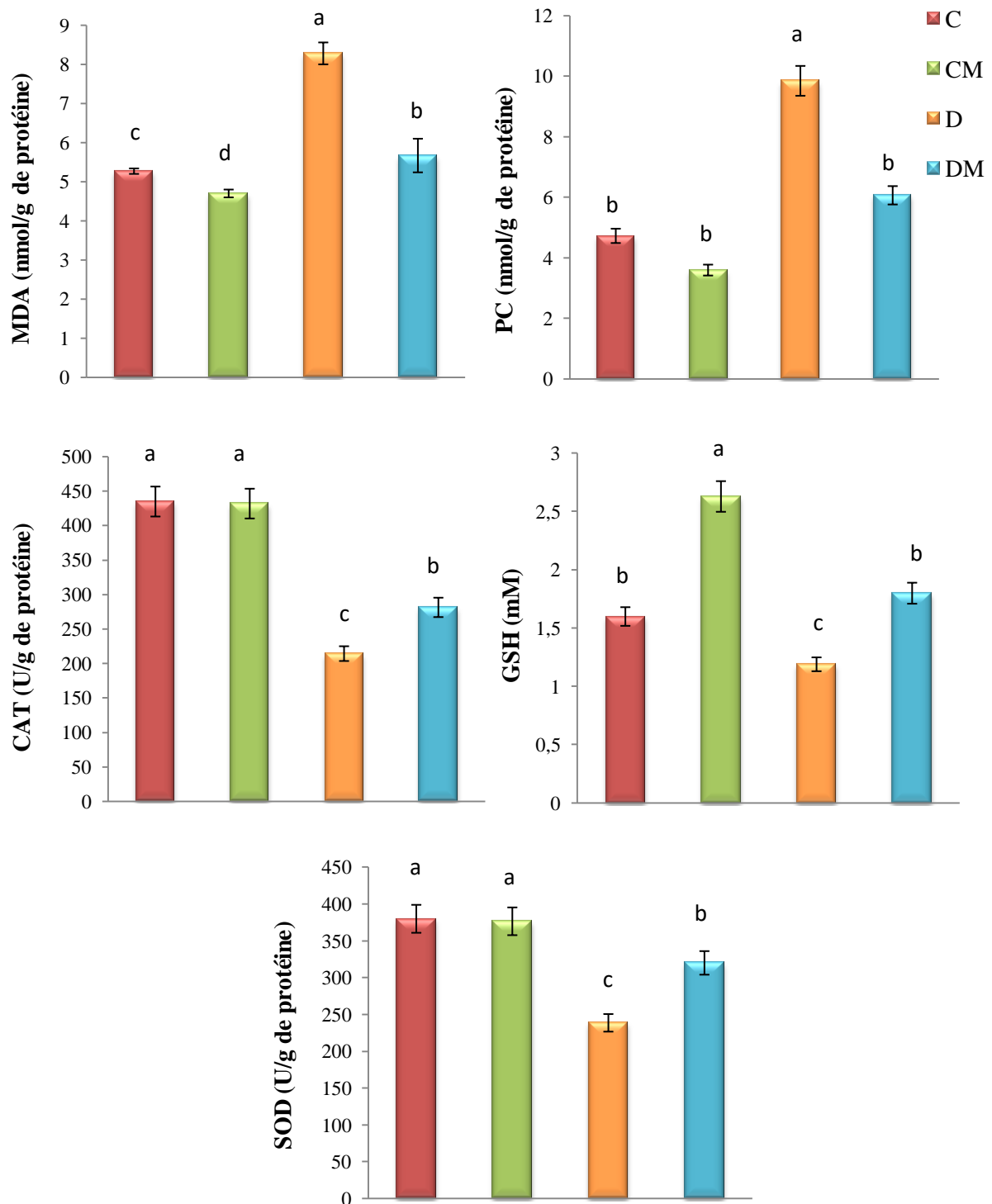
Au niveau du tissu adipeux blanc, les teneurs en MDA sont augmentées alors que le contenu en GSH, l'activité de la catalase et la SOD sont réduits chez les rats diabétiques (D) par rapport aux valeurs des rats témoins (C).

L'addition de *Nannochloropsis gaditana* au régime standard induit chez les rats diabétiques (DM) une réduction des teneurs en MDA. Toutefois, une augmentation significative du taux de GSH et de l'activité de la catalase et la SOD au niveau adipocytaire est notée chez les rats du groupe (DM) par rapport aux valeurs (D).

L'enrichissement du régime standard en *Nannochloropsis gaditana* n'a aucun effet sur le profil redox adipeux chez les rats (CM) et les témoins (C) puisque les valeurs sont stables.

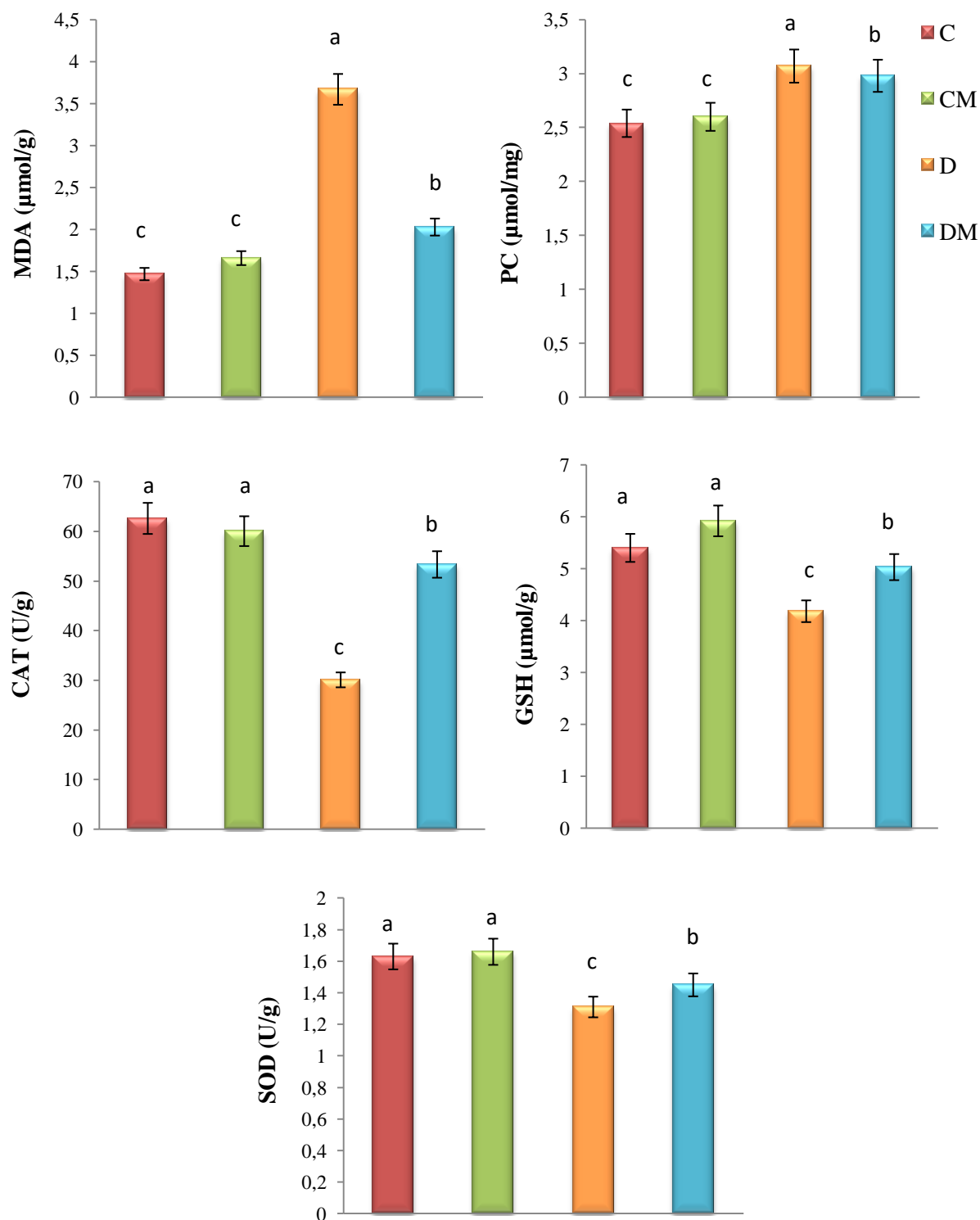
Quelque soit le régime ou le traitement (STZ), les teneurs en protéines carbonylées n'ont pas changé de manière significative entre les différents groupes de rats.





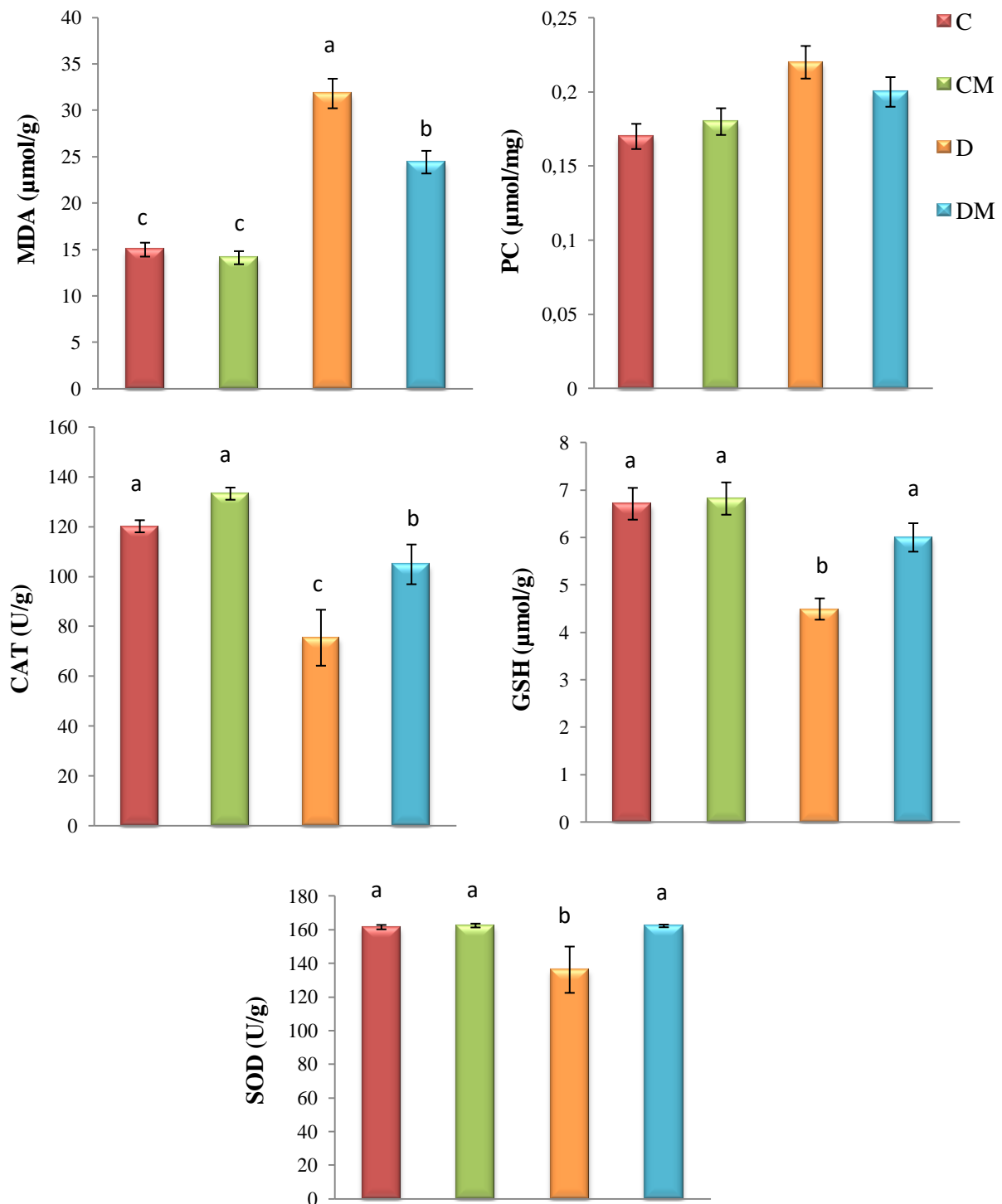
**Figure 26.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant mitochondrial chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Figure 27.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du pancréas chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Figure 28.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux blanc chez les différents lots de rats

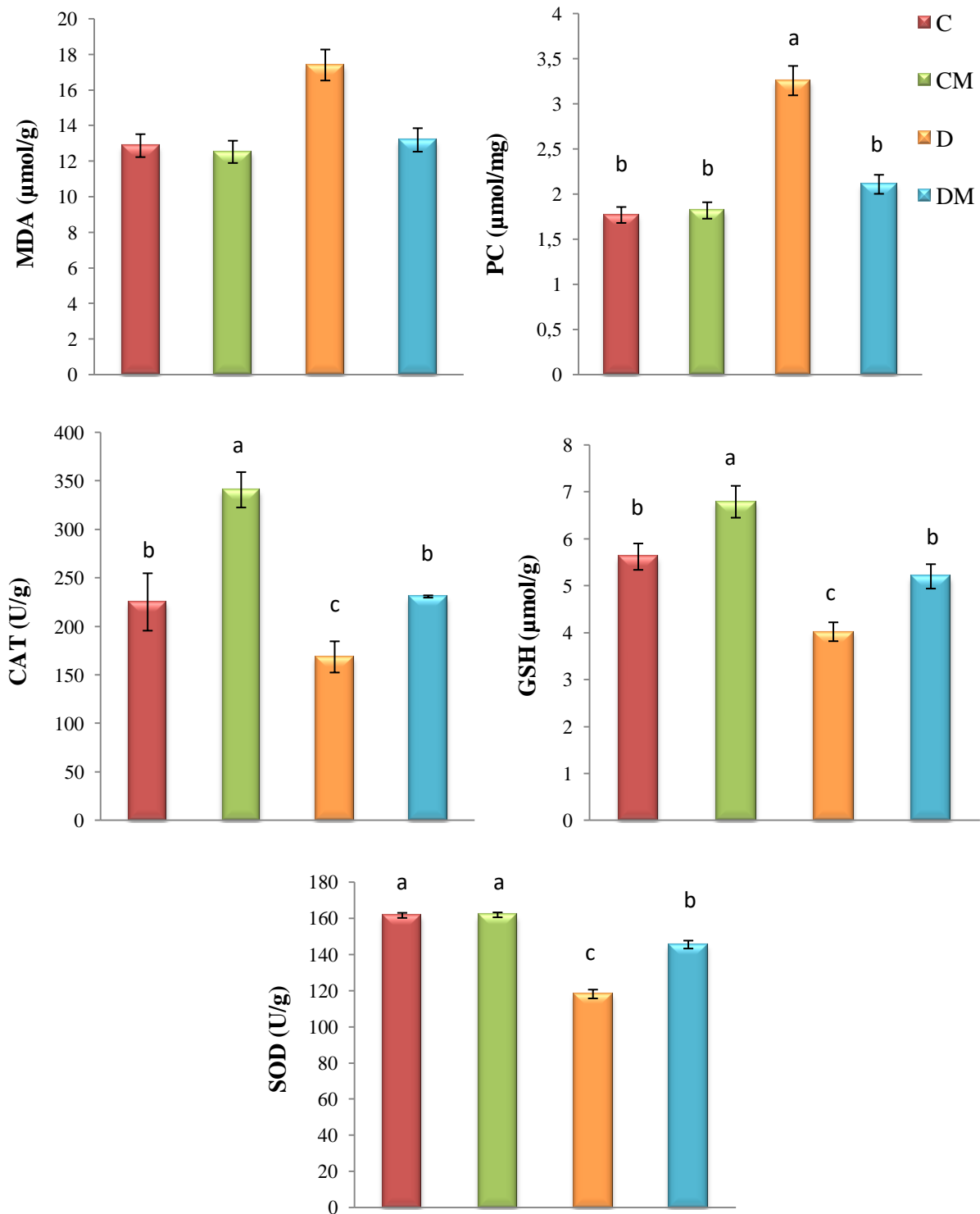
Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

### **VI.3.5. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux brun chez les différents lots de rats (Figure 29 ; Tableau A15 en annexes)**

Au niveau du tissu adipeux brun, le taux en protéines carbonylées sont augmentés alors que le contenu en GSH, l'activité de la catalase et la SOD sont réduits chez les rats diabétiques (D) par rapport aux valeurs des rats témoins (C).

La supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* à 10% induit une réduction significative des teneurs en protéines carbonylées associée à une augmentation significative du taux de GSH et de l'activité de la catalase et la SOD chez les rats (DM) par rapport aux rats (D).

Quelque soit le régime consommé, les teneurs en MDA n'ont pas changé de manière significative entre les différents groupes de rats.



**Figure 29.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux brun chez les différents lots de rats

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



# **DISCUSSION**

Le diabète est une maladie chronique non transmissible dont la fréquence augmente à une vitesse alarmante partout dans le monde, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement (Soualem-Mami et al., 2015). Ce trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique, qui est attribuée à plusieurs complications, notamment l'athérosclérose, la rétinopathie, la neuropathie et la néphropathie. Ces complications sont les principales causes de morbidité et de mortalité chez les patients diabétiques (Kumar et al., 2010). De nombreuses recherches sont mobilisées pour lutter activement contre cette pathologie. Les thérapies actuellement disponibles pour la prise en charge du diabète comprennent principalement les antidiabétiques oraux et les injections d'insuline. Cependant, l'utilisation continue de médicaments synthétiques provoque différents effets secondaires. Par conséquent, il existe un besoin urgent de médicaments antidiabétiques sûrs et efficaces pour le traitement et la gestion de cette maladie. Dans la recherche continue de médicaments antidiabétiques efficaces, les algues marines restent une source prometteuse avec une bioactivité puissante. Il est prévu que l'isolement, la caractérisation et l'étude pharmacologique des algues marines inexplorées peuvent être utiles dans la découverte de nouveaux composés antidiabétiques à haute valeur biomédicale. Parmi ces algues marines, les microalgues sont reconnues pour leurs propriétés antidiabétiques (Lauritano et Ianora, 2016 ; Unnikrishnan et Jayasri, 2018).

Les microalgues marines sont des microorganismes photosynthétiques qui produisent de nombreuses molécules bioactives d'importance thérapeutique et nutritionnelle, tels que les AGPI comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), et les caroténoïdes (par exemple, le  $\beta$ -carotène, la fucoxanthine, l'astaxanthine). Il a déjà été démontré que ces molécules ont un effet positif dans la prévention des maladies métaboliques et cardiovasculaires (Mimouni et al., 2015).

Concernant plus particulièrement le genre *Nannochloropsis*, celui-ci a été reconnu comme une source potentielle de l'EPA, sachant que ce dernier joue un rôle important dans la prévention de plusieurs maladies chez l'homme (Rocha et al., 2003). Cependant, peu de travaux ont été publiés sur le potentiel de *Nannochloropsis gaditana* comme complément alimentaire.

Dans ce contexte le but de cette étude est de mettre en évidence l'impact d'une supplémentation en microalgues *Nannochloropsis gaditana* comme complément alimentaire sur métabolisme glucidique et lipidique d'une part, et d'autre part sur le statut oxydant/antioxydant chez les rats rendus diabétiques par l'injection de streptozotocine, dont l'objectif est de développer des stratégies préventives ou thérapeutiques efficaces pour réduire l'incidence de diabète et ses complications à long terme.

La streptozotocine (STZ) est l'une des substances les plus utilisées pour induire le diabète chez les animaux en effectuant la dégranulation et la nécrose des cellules  $\beta$  pancréatiques (Merzouk et al., 2000). L'injection intrapéritonéale de la STZ à des rats normaux induit efficacement un diabète, qui se traduit par une glycosurie, une polyphagie et une perte de poids corporel qui peut mener à plusieurs complications liées au diabète (Akbarzadeh et al., 2007). La perte de poids corporel et l'augmentation du taux de consommation journalière de nourriture chez les rats rendus diabétiques par la STZ sont également observées dans notre étude. De plus, une polyurie accompagnée d'une polydipsie caractérisent ce lot de rats diabétiques. Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par Kamalakkannan et Prince (2006) et Shah et al. (2019) qui ont constaté que, chez des rats mâles de la souche Wistar, l'injection de la STZ provoquait après quatre semaines une diminution significative de poids corporel, accompagnée d'une polyphagie. Cet état de polyphagie et la perte de poids corporel dans le diabète est due à une lipolyse accrue et à une augmentation de la fonte musculaire et de la perte de protéines tissulaires (due à la déshydratation et au catabolisme des protéines et des graisses) suite à une déficience en insuline (Salahuddin et al., 2010 ; Ajiboye et al., 2019).

L'insuline augmente le taux de transport de certains acides aminés dans les tissus; elle augmente le taux de synthèse des protéines dans les tissus musculaires, adipeux et hépatiques; elle diminue le taux de dégradation des protéines dans les muscles (et peut-être d'autres tissus); elle augmente l'absorption des acides aminés; elle diminue le catabolisme des protéines; elle diminue la libération d'acides aminés par gluconéogenèse (Qaid et Abdelrahman, 2016).

Ces effets d'insuline servent à favoriser la synthèse des glucides, des graisses et des protéines. Par conséquent, l'insuline est considérée comme une hormone anabolisante (Newsholme et Dimitriadis, 2001).

Dans notre étude, la supplémentation en microalgues *Nannochloropsis gaditana* à 10% pendant 2 mois aux rats diabétiques provoque une amélioration du poids corporel. La microalgue a probablement empêché cette lipolyse et la protéolyse en améliorant l'ampleur de la carence en insuline et provoquant ainsi une augmentation du poids corporel chez les rats diabétiques. De même cette microalgue a également diminué la consommation journalière de nourriture et l'apport énergétique d'une manière significative chez les rats diabétiques. Les résultats de poids corporel sont en accord avec ceux publiés par Nasirian et al. (2019) qui ont constaté qu'un traitement de 21 jours par la microalgue *Nannochloropsis oculata* provoque chez des rats rendus diabétiques par la STZ une augmentation significative du poids corporel. De même, des résultats similaires ont été notés après 3 semaines de traitement avec *Spirulina platensis* chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane (Hussaini et al., 2018). En effet, d'autres études suggèrent que



la consommation des microalgues favorise la perte de poids corporel chez les animaux sains, ainsi ces microorganismes aide à maintenir le poids corporel chez les animaux diabétiques (Nuno et al., 2013).

Les minéraux sont des éléments chimiques simples indispensables pour l'organisme vivant, ils jouent un rôle important dans le fonctionnement des différents systèmes biologiques. De nombreux de ces éléments métalliques ont une grande importance en médecine et en thérapeutique et sont répertoriés et impliqués dans la physiopathologie de la maladie diabétique ou ses conséquences vasculaires (Chappuis et Favier, 1991).

Le calcium étant le minéral le plus abondant du corps humain, il assure une des fonctions principales dans différentes systèmes biologiques, participe également à la coagulation sanguine, à la contraction musculaire, à la conduction nerveuse et à la libération d'hormones (Houillier, 2002). Il est bien connu que la libération de l'insuline est un processus dépendant du calcium (Hou et al., 2009). La libération de l'insuline, qui est stockée dans les granules de sécrétion dans les cellules  $\beta$  pancréatiques, dépend de l'influx de calcium à travers des canaux calciques voltage-dépendants. Des altérations dans le flux de calcium peuvent avoir des effets néfastes sur la fonction sécrétoire des cellules  $\beta$  (Rorsman et al., 2011 ; Becerra-Tomás et al., 2014).

Dans notre étude, les teneurs sériques en calcium sont significativement diminuées chez les rats diabétiques. En effet, au cours du diabète, le métabolisme calcique est perturbé aux niveaux rénal, cardiaque, oculaire, vasculaire, musculaire, hépatique, osseux, adipeux, nerveux et pancréatique (cellule bêta) « tout l'organisme est donc atteint », une hyperglycémie, caractéristique de l'état diabétique, provoque un afflux de calcium dans la cellule, une diminution du flux sortant de cet ion. Il en résulte une altération de la sécrétion d'insuline (Bracken et al., 2006 ; Singh et al., 2006).

Les déficits électrolytiques sont fréquents chez les diabétiques, depuis une quinzaine d'années, des études font un lien entre magnésium et le diabète. En effet, le magnésium participe dans plus de 300 réactions métaboliques. Il contribue notamment à la transmission nerveuse et à la relaxation musculaire après la contraction, ce qui est vital pour la fonction cardiaque. Il est essentiel au maintien d'un rythme cardiaque régulier, au métabolisme des lipides, ainsi qu'à la régulation du taux de sucre sanguin et de la tension artérielle. De plus, le magnésium joue un rôle essentiel dans la sécrétion d'insuline et ses effets sur les cellules. Le magnésium aide l'insuline à transporter le glucose dans les cellules. Il a été suggéré que le diabète sucré est le trouble métabolique le plus courant associé à une carence en magnésium. L'étude de Konishi et al. (2015) a montré que, le manque de magnésium empêcherait les récepteurs à l'insuline, situés à la périphérie des cellules, de fonctionner correctement. La connexion insuline/récepteurs se faisant

mal, le glucose ne peut pas entrer dans les cellules. Dans notre étude les teneurs sériques en magnésium sont significativement diminuées chez les rats diabétiques. Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui ont constaté de faibles taux de magnésium chez les patients diabétiques (Konishi et al., 2015 ; Kumar et al., 2018).

D'autre part, le phosphore a fait l'objet de nombreux travaux dès le début de ce siècle. Les phosphates interviennent dans de nombreuses réactions biologiques (stockage d'énergie - ATP - transduction de signaux intracellulaires – AMPc – phosphorylation des protéines et élément constitutif de l'ADN et de l'ARN). Ainsi, l'hypophosphatémie chronique altère le transport du calcium et le potentiel de membrane musculaire, et la diminution du phosphate intracellulaire induit une diminution de la production d'ATP (Amor, 1999). Ce déficit en phosphates intracellulaire va entraîner une diminution dans les globules rouges d'une enzyme clé dans la régulation du transport de l'oxygène, le 2, 3-diphosphoglycérate (DPG). La diminution du 2, 3- DPG entraîne l'augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

Dans notre étude les teneurs sériques en phosphore sont significativement diminuées chez les rats diabétiques. Ceci est du probablement à une carence insulinaire qui favorise la déplétion en phosphore intracellulaire (Henri, 2011).

Dans notre étude, la supplémentation du régime standard par 10% de *Nannochloropsis gaditana* a suscité une augmentation significative des teneurs sériques en calcium, magnésium et phosphore chez les rats sains et diabétiques. L'augmentation du niveau de ces minéraux pourrait être attribuée à la présence de divers micronutriments dans la biomasse des microalgues qui empêche la perte de ces minéraux. De plus, *Nannochloropsis* est connue par sa richesse en magnésium qui joue un rôle bénéfique dans la gestion et la prévention du diabète de type 2 (El-Feky et al., 2017).

L'évaluation des paramètres hématologiques nous a permis de montrer une diminution du taux de globules rouges et d'hémoglobines chez les rats diabétiques. La chute de ces paramètres pourrait être le résultat d'une anémie ou le début du processus de glycosylation des protéines membranaires de globules rouges, qui est en corrélation avec l'hyperglycémie (Olayaki et al., 2007). De plus, il a été démontré que l'hyperglycémie altère la déformabilité des érythrocytes, provoquant en outre une augmentation de leur hémolyse. Ce qui peut expliquer la diminution du taux de globules rouges chez les rats diabétiques. Cette diminution est accompagnée par une baisse du taux d'hémoglobines (Ludidi et al., 2019).

*Nannochloropsis gaditana* est considéré comme efficace pour corriger ces valeurs chez les rats diabétiques. Ceci peut être expliqué que cette microalgue stimule la formation ou la sécrétion d'érythropoïétine, qui stimule les cellules souches dans la moelle osseuse à produire des globules

rouges. Les mêmes résultats ont été obtenus par El-Feky et al. (2017) qui ont démontré que l'administration d'extrait d'algue *Nannochloropsis oculata* atténue l'anémie chez les rats rendu diabétique par la STZ, en augmentant significativement le taux des globules rouges et d'hémoglobines. D'autre part, il est bien connu que les microalgues par ses propriétés antioxydantes sont capables d'empêcher l'hémolyse des globules rouges pendant le diabète (Emami et Olfati, 2017).

Les globules blancs jouent un rôle important dans la défense du corps contre les infections. Par ailleurs, les taux de globules blancs dans le groupe diabétique ont montré une augmentation significative par rapport aux témoins. Cette augmentation est probablement en relation avec la présence d'une inflammation. Nos résultats concordent avec les résultats publiés par Sunmonu et Afolayan (2013). L'enrichissement du régime standard par *Nannochloropsis gaditana* entraîne une diminution significative du taux de globule blanc chez les rats diabétiques, ce qui suggère que la microalgue *Nannochloropsis gaditana* pourrait jouer un rôle préventif contre l'inflammation. De plus, le potentiel anti-inflammatoire de *Nannochloropsis gaditana* pourrait être dû à divers composés bioactifs contenus dans ces microalgues, tels que les caroténoïdes, l'astaxanthine et les acides gras polyinsaturés (Riccio et Lauritano, 2020).

Il est intéressant de noter que les lymphocytes sont impliqués dans plusieurs maladies auto-immunes comme dans le cas du diabète insulino-dépendant, qui se caractérise par la destruction des cellules bêta pancréatiques productrices d'insuline par les lymphocytes T. En effet, l'addition de la microalgue dans le régime n'a aucun effet sur le taux des lymphocytes chez le groupe diabétique. Cela est dû probablement à la courte durée de l'étude.

Nos résultats montrent aussi que les teneurs en monocytes et polynucléaires ne varient pas significativement entre les différents groupes de rats.

Dans cette étude les rats rendus diabétiques par l'injection d'une dose de 45 mg/kg de STZ ont montré une augmentation significative du taux du glucose dans le sang par rapport aux rats témoins. Ceci est consistant avec les résultats des autres études antérieures (Malini et al., 2011; Oyedemi et al., 2011 ; Jayaraman et al., 2018). Cet effet est expliqué par la cytotoxicité de la STZ sur les cellules  $\beta$  productrices d'insuline. Sa toxicité sur les cellules  $\beta$  est due à sa structure similaire au glucose qui lui permet de traverser les transporteurs de glucose GLUT-2 et pénétrer dans les cellules  $\beta$  pancréatiques et provoque la génération des espèces réactives oxygénées et l'alkylation de l'ADN, ce qui va conduire à la destruction sélective de ces cellules (Goud et al., 2015).

Dans notre étude, la supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* a réduit de manière significative la glycémie chez les rats diabétiques. L'effet hypoglycémiant de cette microalgue

pourrait être dû à la potentialisation de la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Nacer et al. (2019) qui indiquent que la microalgue *Nannochloropsis gaditana* présente un effet hypoglycémiant chez les rats rendus diabétiques par la STZ. Cet effet hypoglycémiant de *Nannochloropsis gaditana* est confirmé par des études précédentes (Bendaoud et al., 2018; Bendimerad-Benmokhtar et al., 2018).

L'hémoglobine glyquée est toujours considérée comme un indicateur important pour le suivi du patient diabétique. Sa mesure est maintenant utilisée pour révéler le niveau de contrôle glycémique du patient sur une longue période et estimer le risque de développement de complications chroniques du diabète (Sirsikar et al., 2016). Lorsque la glycémie est élevée, les molécules de glucose se fixent sur l'hémoglobine par une réaction de glycation non enzymatique pour former l'hémoglobine glyquée (HbA1c). Cette réaction est caractérisée par la fixation de glucose sur la partie N-terminale de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine (Braga et al., 2010; Patel et al., 2017). Les résultats obtenus dans cette étude montrent une augmentation significative de l'HbA1c chez les rats diabétiques. Les mêmes résultats sont obtenus par Sharvana bhava et al. (2020). En effet, le faible pourcentage en HbA1c noté chez le groupe diabétique traité par *Nannochloropsis gaditana* pourrait être le résultat d'une amélioration du contrôle glycémique.

Le dosage des protéines totales est utilisé pour apprécier le fonctionnement rénal et hépatique, le dysfonctionnement du système immunitaire ainsi que pour surveiller les maladies métaboliques et nutritionnelles (Estepa, 2006). En effet, les teneurs en protéines totales dans le sérum sont diminués de manière significative chez les animaux diabétiques par rapport aux témoins. D'après Ashraf et al. (2013), la baisse des teneurs en protéines totales sériques peuvent être attribués à une diminution de la synthèse protéique ou par une augmentation du processus catabolique due à une carence en insuline. Par conséquent, les niveaux accrus de protéines totales après un traitement par *Nannochloropsis gaditana* peuvent être liés à l'augmentation de la sécrétion d'insuline, parce que cette hormone stimule non seulement l'absorption des acides aminés et la synthèse des protéines, mais inhibe également la dégradation des protéines.

La créatinine, l'urée et l'acide urique sont considérés comme des marqueurs importants de la fonction rénale. De plus, les niveaux accrus d'urée et de créatinine et en acides urique trouvés chez les rats diabétiques suggèrent une altération de la fonction rénale (Kyznetsova et al., 2015). Par conséquent, la supplémentation du régime standard par *Nannochloropsis gaditana* offrait une bonne protection contre la dysfonction rénale chez les rats diabétiques parce que cette microalgue a empêché l'augmentation des ces marqueurs rénaux. Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux publiés par Aboulthana et al. (2018), qui ont constaté que le traitement par l'extrait de la microalgue *Nannochloropsis oculata* à un effet protecteur de la fonction rénale

chez les rats diabétiques. D'autre part, les propriétés protectrices des microalgues pourraient être dues à ses propriétés antioxydants et également à ses capacités à réguler la glycémie, car l'hyperglycémie diabétique a entraîné une dysfonction rénale.

Les enzymes sériques telles que l'ALAT, l'ASAT, la PAL et la LDH sont utilisées pour évaluer les troubles hépatiques. Dans la présente étude, la STZ affecte la fonction hépatique et provoque une augmentation de l'activité de ces enzymes chez le rat, ce qui donne une indication de l'effet hépatotoxique de STZ. Les résultats obtenus ont été trouvés cohérents avec ceux rapportés par Krishnakumari et al. (2011). De plus, il a été démontré que l'augmentation de l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, la PAL et la LDH dans le sérum de rats diabétiques est principalement attribuée à la fuite de ces enzymes du cytosol hépatique dans la circulation sanguine, ce qui peut provoquer par la suite un dysfonctionnement hépatique ou des dommages aux cellules hépatiques (Nithiya et Udayakumar, 2018). D'après les résultats obtenus, le traitement de rats diabétiques avec *Nannochloropsis gaditana* pendant 60 jours a réduit de manière significative l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, la PAL et la LDH. Cela indique que *Nannochloropsis gaditana* a un effet protecteur contre l'hépatotoxicité produite par la STZ. Plusieurs études antérieures ont montré l'effet hépatoprotecteur des microalgues contre les lésions hépatiques associées au diabète (Metwally et al., 2015 ; El-Baz et al., 2016 ; Aboulthana et al., 2018). Récemment, Bendaoud et al. (2018), ont démontré que *Nannochloropsis gaditana* protège les hépatocytes contre les effets toxiques du régime riche en graisses via l'augmentation des défenses antioxydantes.

Il est intéressant de noter que les anomalies lipidiques les plus courantes chez les sujets diabétiques sont l'hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie (Karan et al., 2013).

Nos résultats montrent que les rats diabétiques présentent une hyperlipidémie par augmentation des taux sériques du cholestérol total et des triglycérides, associée à des altérations des fractions lipoprotéiques, menant à une élévation des teneurs en cholestérol et en triglycérides des différentes fractions lipoprotéiques (VLDL et LDL), alors que celles des lipoprotéines de haute densité (HDL) sont réduites significativement. Ces modifications caractérisent la dyslipidémie, qui représente un facteur de risque de maladies cardiovasculaires chez les patients diabétiques (Chehade et al., 2013). En effet, les taux élevés de lipides sériques observés chez les rats diabétiques est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras libres à partir de tissu adipeux (Akah et al., 2009).

Cependant, une supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* à 10% pourrait aider à corriger les troubles lipidiques observées chez les rats diabétiques. Les études de Nacer et al. (2019) ont montré que le *Nannochloropsis gaditana* possède un effet hypolipédémique chez les rats

diabétiques. De plus, les travaux de Werman et al. (2003) ont montré que l'incorporation de *Nannochloropsis* dans un régime standard enrichi en cholestérol chez des rats mâles Sprague-Dawley induit un effet hypocholestérolémique. Ceci peut être dû à la richesse de *Nannochloropsis* en fibres insolubles et en acides gras polyinsaturés AGPI n-3, en particulier l'EPA. Par ailleurs, plusieurs études ont signalé que les AGPI n-3 d'origine marine exercent des effets protecteurs contre l'athérogenèse et les anomalies lipidiques (Ander et al., 2003 ; Nasirian et al., 2019). De même, des études expérimentales sur la supplémentation de régime cafeteria avec 10% de *Nannochloropsis gaditana* permet d'induire une diminution significative des teneurs sériques en cholestérol total et en triglycérides chez le rat, couplée à une hausse de concentration HDL-C, qui a été expliqué par la richesse de *Nannochloropsis gaditana* en AGPI. Cela indique l'effet bénéfique de ces microalgues dans la prévention des maladies métaboliques, grâce à l'amélioration du métabolisme lipidique (Bendimerad-Benmokhtar et al., 2018).

Le pancréas est un organe complexe exerçant des fonctions exocrines et endocrines. Cet organe est composé par divers types cellulaires. Parmi ces cellules, les cellules endocrines qui sont regroupées en amas de cellules appelées les îlots de Langerhans. Il existe 4 types cellulaires principaux au sein des îlots ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  et PP) sécrétant différentes hormones, dont les cellules  $\beta$ , sécrétrices d'insuline, représentent la majorité des cellules de l'îlot (Cerasi et Ktorza, 2007). Il a été rapporté que jusqu'à 70% des cellules des îlots pancréatiques sont constituées de cellules  $\beta$ , et ces cellules représentent 1% à 3% du poids du pancréas (Ozdemir et al., 2009). Dans notre étude on a remarqué que le poids absolu du pancréas est réduit significativement chez les rats diabétiques par rapport aux témoins. Cette diminution est principalement due à une destruction sélective des cellules  $\beta$  par la STZ, et par conséquent à la diminution d'un certain nombre d'îlots pancréatiques (Kim et al., 2006).

D'autre part, une diminution du poids de tissu adipeux blanc est observée chez le groupe diabétique. Ceci peut être expliqué par une déficience en insuline qui est une hormone lipogénique qui favorise le stockage des graisses dans les adipocytes de tissu adipeux, sachant que ce tissu constitue la plus grande réserve d'énergie dans l'organisme (Guerre-Millo, 2006).

En ce qui concerne le poids absolu du foie et le tissu adipeux brun aucune différence significative n'est observée.

Chez les rats diabétiques, la supplémentation du régime standard par 10% de *Nannochloropsis gaditana* a suscité une augmentation significative du poids absolu de pancréas et de tissu adipeux blanc. Cela indique l'effet bénéfique de *Nannochloropsis gaditana* dans le traitement du diabète.

Au niveau du foie des rats diabétiques par rapport aux témoins, on a constaté une augmentation significative des teneurs en protéines totales. Pour le reste des organes, aucune différence significative n'est observée.

L'élévation des teneurs hépatiques en protéines totales dans le groupe diabétique peut être la conséquence de l'état inflammatoire du foie. L'addition de *Nannochloropsis gaditana* dans le régime standard normalise ces valeurs. Ces résultats confirment l'effet anti-inflammatoire de la microalgue.

Les perturbations lipidiques induites par le diabète concernent aussi les teneurs en cholestérol et triglycérides au niveau des organes (foie, pancréas et le tissu adipeux blanc). En revanche, l'addition de la microalgue au régime standard induit chez les rats diabétiques une diminution significative des teneurs en cholestérol et triglycérides au niveau du foie, pancréas et le tissu adipeux blanc. De même, l'addition de la microalgue au régime standard a provoqué une atténuation significative des teneurs en lipides totaux au niveau du foie, le pancréas et le tissu adipeux blanc chez le groupe diabétique. Nos résultats concordent avec ceux de plusieurs auteurs qui ont mis l'accent sur le rôle de cette microalgue dans la réduction des lipides tissulaires (Werman et al., 2003 ; Bendaoud et al., 2018 ; Bendimerad-Benmokhtar et al., 2018 ; Nacer et al., 2019).

La lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) est une enzyme synthétisée dans le foie et circule dans le sang. Cette enzyme est impliquée dans l'estérification de cholestérol des lipoprotéines circulantes et aussi joue un rôle important dans le métabolisme du HDL-C (Borggreve et al., 2003). Dans notre étude, une baisse de l'activité de l'enzyme LCAT a été observée dans le serum des rats diabétiques, en accord avec des études antérieures (Ayyasamy et Leelavinothan, 2016). Par conséquent, une activité réduite de la LCAT peut conduire à une altération sévère de la synthèse et du métabolisme du HDL-C, ce qui explique la diminution du taux du HDL-C chez les rats diabétiques (Prince et Kannan, 2006 ; Kripa et al., 2011).

Parallèlement, l'ajout de *Nannochloropsis gaditana* dans le régime standard a augmenté l'activité de l'enzyme LCAT chez les rats diabétiques. Cela pourrait être dû à l'amélioration de la sécrétion d'insuline qui à son tour augmente l'activité de la LCAT. De plus, il a été démontré que la glycation de HDL diminue l'activité de la LCAT et contribue à l'athérosclérose, qui est l'une des complications majeures du diabète sucré (Nakhjavani et al., 2008). En effet, l'étude récente publiée par Khatib et al. (2017) a révélé que la microalgue *Nannochloropsis sp.* réduit le risque d'athérosclérose.

La lipoprotéine lipase (LPL) est une enzyme synthétisée par de nombreux tissus, notamment le tissu adipeux, le muscle cardiaque et squelettique et les macrophages. Elle joue un rôle majeur

dans le métabolisme et le transport des lipides. Dans les circonstances normales, l'insuline active la LPL, qui hydrolyse les triglycérides des lipoprotéines (chylomicrons et VLDL), générant des acides gras libres qui sont soit oxydés dans les muscles ou réestérifiés dans les tissus adipeux (Wang et Eckel, 2009). Cependant, dans l'état diabétique, la LPL n'est pas activée en raison d'une carence en insuline. Une étude menée par Simsolo et ses collaborateurs a montré que l'insuline stimule l'expression de l'ARNm de LPL dans les adipocytes des rats qui conduit à une augmentation de la synthèse de LPL (Simsolo et al., 1992). Par ailleurs, les travaux de Tavangar et al. (1992) suggèrent que le diabète sucré est associé à une réduction de l'activité de la LPL.

Les études précédentes permettent d'expliquer nos résultats concernant la diminution de l'activité de la LPL au niveau des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun) chez les rats diabétiques.

En outre, la lipase hormonosensible (LHS) est une enzyme capable d'hydrolyser les triacylglycérols en acides gras et en glycérol, c'est-à-dire la lipolyse, elle joue ainsi un rôle clé dans l'homéostasie énergétique (Huang et al., 2016). La carence en insuline observée dans le diabète insulino-dépendant provoque l'activation de la lipolyse dans le tissu adipeux qui conduit à l'hydrolyse des triglycérides stockés et la libération de grandes quantités d'acides gras dans le plasma, conduisant à une acidocétose diabétique. De plus, il a été suggéré que les adipocytes isolés de rats diabétiques induits par la STZ présentaient une activité lipolytique élevée qui était accompagnée d'une activité et d'une expression accrues de LHS (Sztalryd et Kraemer, 1995). En effet, chez les rats diabétiques l'activité de la LHS dans le tissu adipeux blanc est augmentée significativement par rapport aux rats témoins. Ceci peut être expliqué par une déficience en insuline sachant que cette hormone limitant la vitesse de la lipolyse dans le tissu adipeux. Ces résultats sont en accord avec d'autres études précédentes (Tellaa et al., 2019).

Parallèlement, l'ajout de *Nannochloropsis gaditana* dans le régime standard des rats diabétiques a suscité l'élévation de l'activité de LPL au niveau du foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun. De même, l'ajout de *Nannochloropsis gaditana* dans le régime standard a réduit l'activité de la LHS au niveau de tissu adipeux blanc chez les animaux diabétiques. Ces résultats suggèrent que les microalgues exercent un effet bénéfique sur l'activité des lipases chez les rats diabétiques. Récemment, Nacer et al. (2019) ont montré que la microalgue *Nannochloropsis gaditana* induit une modulation importante des activités des lipases chez le rat diabétique.

D'une façon générale, l'hyperglycémie liée au diabète peut induire un stress oxydatif qui correspond à un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défense antioxydantes des cellules (Jin et al., 2008). Il a été suggéré que la production accrue de ROS ainsi que la réduction des mécanismes de défense antioxydantes jouent un rôle principal



dans l'apparition et la progression de plusieurs complications du diabète (Genet et al., 2002 ; Yazdanparast et al., 2007). En effet, les radicaux libres se forment de manière excessive dans le diabète par oxydation du glucose et par glycation non enzymatique des protéines. La production excessive de ces radicaux libres et la baisse simultanée des mécanismes de défenses antioxydantes peuvent entraîner des dommages à des macromolécules telles que les acides nucléiques, les protéines et les lipides. Cela conduit à des changements dans la structure et la fonction cellulaire (Khan et al., 2015). Toutefois, les antioxydants enzymatiques tels que la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase, et les antioxydants non enzymatiques comme la vitamine C sont responsables de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères (Sellamuthu et al., 2013).

Par conséquent, dans la présente étude les rats diabétiques présentent des niveaux réduits en antioxydants (SOD, GSH, catalase) au niveau érythrocytaire et des faibles concentrations plasmatiques en vitamine C par rapport aux rats témoins. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Harini et al. (2010), Ghanema et al. (2012), et par Sureka et al. (2015) qui ont rapporté que lors du diabète la surproduction des ROS peuvent conduire à une diminution du système de défense antioxydant dans la cellule. En revanche, l'ajout de *Nannochloropsis gaditana* dans le régime standard entraîne une amélioration du statut antioxydant plasmatique et érythrocytaire chez les rats diabétiques. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Nacer et al. (2019), qui ont constaté que chez les rats rendus diabétiques par la STZ un traitement de 60 jours par la microalgue marine *Nannochloropsis gaditana* provoque une augmentation des marqueurs de défense antioxydants (vitamine C plasmatique, GSH, catalase et SOD érythrocytaire). Ce potentiel antioxydant peut être en lien avec la richesse de cette microalgue en AGPI et en caroténoïdes. En effet, les caroténoïdes qui sont les pigments constitutifs des microalgues possèdent une activité antioxydante notable. C'est le cas notamment de l'astaxanthine et de la lutéine (Zuluaga et al., 2017).

L'analyse des marqueurs de statut oxydant plasmatique et érythrocytaire révèle que l'injection de la STZ chez le rat diabétique augmente les taux de NO,  $O_2^{\cdot-}$ , MDA et protéines carbonylées. Ceci est en faveur de l'installation d'un stress oxydatif. Cependant, le traitement de rats diabétiques avec *Nannochloropsis gaditana* entraîne une réduction significative du NO,  $O_2^{\cdot-}$ , MDA et protéines carbonylées. Ces résultats sont en accord avec des études précédentes démontrant l'effet protecteur du *Nannochloropsis gaditana* contre le stress oxydatif (Bendaoud et al., 2018).

Nos résultats montrent que l'hyperglycémie induit aussi un stress oxydatif au niveau des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun) chez le groupe diabétique.

Au niveau du foie, les teneurs en MDA et en protéines carbonylées sont significativement augmentées chez les rats diabétiques alors que le contenu en GSH et l'activité de catalase, SOD et GST sont réduits par rapport à leurs témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs (Hussein, 2008 ; Korkmaz et al., 2012 ; Sharma et Singh, 2014 ; Ali et al., 2017).

Suite à l'ajout de la microalgue marine dans le régime, une baisse des teneurs en MDA et en protéines carbonylées hépatiques, ainsi une augmentation de la capacité antioxydante qui se manifeste par un taux élevé du GSH et une augmentation de l'activité de la catalase, GST et la SOD chez les rats diabétique. Cette élévation en antioxydants peut être due à une neutralisation des ROS par cette microalgue qui a été démontrée comme piègeur des radicaux libres (Kherraf et al., 2017).

Les mitochondries qui jouent un rôle crucial dans le métabolisme énergétique, semblent constituer l'une des principales sources de ROS. Lorsque la production de ROS mitochondrial dépasse la capacité antioxydante cellulaire, l'augmentation des niveaux de ROS peut entraîner un stress oxydatif. Ce phénomène peut jouer un rôle majeur dans le développement du diabète induit par la STZ et les mitochondries pourraient être la cible principale de cette toxicité (Jang et al., 2000; Liemburg-Apers et al., 2015).

Dans cette étude, les teneurs en MDA et en protéines carbonylées dans les mitochondries hépatiques sont augmentés de façon remarquable chez les rats rendus diabétiques par la STZ par rapport aux rats témoins. Les niveaux élevés du MDA et des protéines carbonylées indique une peroxydation lipidique et une oxydation protéique au niveau mitochondrial, en accord avec des études antérieures (Jang et al., 2000; Sánchez-Muñoz et al., 2018 ). En effet, il a été démontré que la peroxydation lipidique conduit à des altérations structurales dans les membranes mitochondriales, ce qui entraîne un dysfonctionnement mitochondrial. Ce dernier peut contribuer à plusieurs complications diabétiques (Jang et al., 2000; Aloud et al., 2018).

En outre, l'injection de la STZ chez le rat a induit une réduction significative de GSH et de l'activité de SOD et catalase dans les mitochondries hépatiques. Ces résultats sont similaires à ceux d'Aloud et al. (2018), qui ont constaté que la diminution du statut antioxydant dans les mitochondries hépatiques pourrait être due à une utilisation accrue d'antioxydants par les tissus.

Chez les rats diabétiques, la microalgue peut aider à atténuer le stress oxydatif au niveau mitochondrial, en réduisant les marqueurs oxydants, tels que le MDA et les protéines carbonylées, et en augmentant les marqueurs de la défense antioxydante (GSH, catalase et SOD). Les résultats obtenus indiquent que *Nannochloropsis gaditana* protège le fonctionnement mitochondrial et réduit les dommages oxydatifs dans les mitochondries. Ces effets sont attribués

à la présence des antioxydants, notamment la vitamine C qui améliore la fonction mitochondriale au niveau hépatique (Valdecantos et al., 2010).

Le tissu pancréatique est plus sensible au stress oxydatif que les autres tissus, en raison d'une faible expression d'enzymes antioxydantes dans les îlots pancréatiques. Ces enzymes antioxydantes constituent la première ligne de défense contre les ROS dans l'organisme (Modak et al., 2011). Une augmentation significative des teneurs pancréatiques en MDA et protéines carbonylées couplée à une diminution des antioxydants enzymatique (catalase, SOD) et non enzymatique (GSH) chez les rats rendus diabétiques par la STZ. Les mêmes résultats ont été observés précédemment chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane (Roy et al., 2015).

Les résultats obtenus dans notre étude ont révélé que le traitement par *Nannochloropsis gaditana* possède un effet bénéfique sur le statut redox du pancréas. Ces résultats suggèrent que cette microalgue a pu exercer une activité antioxydante qui peut protéger les tissus pancréatiques contre l'attaque radicalaires. Cela est dû selon Aboulthana et al. (2018) à la présence de divers composés bioactifs qui sont de bons piègeurs des radicaux libres.

D'autre part, les rats diabétiques présentaient aussi un rapport déséquilibré de la balance oxydante/antioxydante et un stress oxydatif accru au niveau de tissu adipeux blanc et brun.

Au vu des résultats obtenus, une élévation significative du MDA adipocytaire est observée chez les rats diabétiques, mais ces teneurs ne montrent aucune variation dans le tissu adipeux brun. Cette élévation en MDA adipocytaire est le résultat d'une augmentation de production de ROS qui attaquent les AGPI des membranes cellulaires et provoque la peroxydation lipidique. Il a été rapporté que le tissu adipeux blanc contient une concentration élevée en AGPI qui le rende vulnérable à la peroxydation des lipides (Masschelin et al., 2019).

Concernant les teneurs en protéines carbonylées au niveau de tissu adipeux brun, une augmentation significative est notée chez les rats diabétiques par rapport à leurs témoins, indiquant l'existence d'une oxydation protéique, signe de l'endommagement tissulaire causé par le stress oxydatif (Pradeep et al., 2013). Par contre, ces teneurs ne montrent aucune variation au niveau de tissu adipeux blanc.

La défense antioxydante est également altérée au niveau de tissu adipeux blanc et brun. Le traitement par *Nannochloropsis gaditana* exerce un effet bénéfique sur le statut redox au niveau de tissu adipeux blanc, ceci a été démontré par la réduction des niveaux de MDA combinée à une augmentation significative de GSH et de l'activité de la catalase et la SOD chez les rats diabétiques, ce qui suggère l'effet protecteur de cette microalgue contre les dommages oxydatifs. Ces résultats sont compatibles avec les études de Bendaoud et al. (2018) qui ont

montré que la supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* améliore les défenses antioxydantes et empêche les dommages oxydatifs dans les tissus.

Nos données indiquent aussi que la microalgue peut aider à atténuer le stress oxydatif au niveau de tissu adipeux brun, en réduisant les teneurs en protéines carbonylées, et en augmentant les défenses antioxydantes.

A notre connaissance aucune donnée de la littérature ne reporte une telle observation, mais il est probable que ces résultats confirment l'effet protecteur de *Nannochloropsis gaditana*.

Il apparaît clairement que la STZ induit un diabète chez le rat accompagnée par nombreux troubles métaboliques. L'enrichissement de régime standard en *Nannochloropsis gaditana* semble corriger ces anomalies chez le rat diabétique. Ces résultats suggèrent que ces microalgues pourraient représenter une stratégie thérapeutique contre diabète et ses complications.



# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et les capacités de défenses antioxydantes. Le stress oxydant est impliqué dans le développement de différentes maladies métaboliques comme le diabète sucré.

Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique et une perturbation de métabolisme glucidique, lipidique et protéique. Cette maladie est associée à de nombreuses complications qui peuvent finalement conduire à la mortalité du patient.

Le traitement du diabète sucré reste depuis longtemps restreint aux changements de régime alimentaire, à l'insulinothérapie et à la prise des antidiabétiques oraux. Toutefois, ces différentes approches thérapeutiques deviennent inefficaces chez beaucoup de diabétiques, en raison de non-disponibilité de ces médicaments antidiabétiques et d'une prise en charge médicale incorrecte, ce qui amène les populations à s'orienter vers la médecine traditionnelle.

Les microalgues constituent un potentiel médical accessible, disponible et à moindre coût, suggéré comme efficace dans le traitement et la prévention du diabète et ses complications à long terme. A l'heure actuelle, peu de données de la littérature décrivent l'effet des microalgues *Nannochloropsis* in vivo. Dans ce contexte, notre travail s'est focalisé sur l'étude des effets antidiabétiques et antioxydants de *Nannochloropsis gaditana* sur le diabète expérimental induit chez les rats Wistar par la streptozotocine (STZ) durant 2 mois d'expérimentation.

Nos résultats montrent que l'injection intrapéritonéale de la STZ chez les rats Wistar induit efficacement un diabète, qui se traduit par une polyphagie et une perte de poids corporel; ceci peut être lié à une perte de la masse musculaire.

Nos résultats indiquent aussi des anomalies hématologiques et minérales observés chez les rats diabétiques.

D'autre part, l'injection de la STZ induit des altérations du métabolisme lipidique, protéique et glucidique chez les rats, car les rats rendus diabétiques par la STZ présentent une hyperglycémie, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie. Les altérations touchent également la fonction rénale et hépatique.

Les perturbations lipidiques induites par le diabète concernent aussi les teneurs en triglycérides et cholestérol au niveau des organes.

De plus, le diabète est associé à une altération des activités des lipases tissulaires. En effet, la diminution de l'activité de LPL tissulaires, l'augmentation de l'activité de LHS adipeuse et la baisse de l'activité du LCAT sérique est le résultat d'une carence en insuline.

Concernant le statut redox, les résultats obtenus montrent que les rats diabétiques présentent un stress oxydatif intense caractérisé par une augmentation de la peroxydation des lipides et

l'oxydation des protéines mais aussi par une diminution des capacités de défenses antioxydantes telles que le GSH, SOD et la catalase. Chez ces rats diabétiques, le stress oxydatif intracellulaire affiche une certaine gravité puisqu'il touche les organes et les mitochondries et peut être à l'origine de lésions tissulaires et un dysfonctionnement mitochondrial.

Nos résultats ont révélé que la supplémentation en microalgue *Nannochloropsis gaditana* corrige les troubles hématologiques et minéraux chez les rats diabétiques. Ainsi, le traitement par cette microalgue est capable de réduire les altérations métaboliques liées au diabète par diminution de la glycémie et par l'amélioration du profil lipidique. De plus, *Nannochloropsis gaditana* induit une modulation des activités des lipases tissulaires (LPL, LHS) chez le rat diabétique. Ces actions pourraient être dues à la richesse de cette microalgue en AGPI.

D'autre part, en raison de ses propriétés antioxydantes, *Nannochloropsis gaditana* a la capacité d'atténuer le stress oxydatif en réduisant les marqueurs de la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique, et en augmentant les défenses antioxydantes.

En conclusion, nous avons montré que la supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* prévient les altérations hématologiques et métaboliques, et améliore le statut redox chez les rats diabétiques. On peut donc suggérer que cette microalgue peut constituer une thérapie nutritionnelle efficace pour prévenir et combattre les complications associées au diabète.

En perspective, il serait intéressant:

- D'identifier les molécules bioactives impliquées dans l'effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de *Nannochloropsis gaditana*.
- De compléter nos résultats précédents par des coupes histologiques au niveau des organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun).
- D'analyser les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale.



# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



- Abirami S, Murugesan S, Sivamurugan V, Narender Sivaswamy S (2017). Screening and optimization of culture conditions of *Nannochloropsis gaditana* for omega 3 fatty acid production. *J App Biol Biotech.* 5(3):13-17.
- Aboulthana WM, El-Feky AM, Ibrahim NE, Sahu RK, El-Sayed AEB (2018). Evaluation of the pancreatoprotective effect of *Nannochloropsis oculata* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. *J App Pharm Sci.* 8(6): 46-58.
- Adwas AA, Elsayed ASI, Azab AE, Quwaydir FA (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng.* 6(1):43-47.
- Aebi H (1974). Catalase. In *methods of enzymatic analysis.* (Bergmeyer, H. U., ed.), Verlag Chemie, Weinheim. 2(2): 673-684.
- Aizzat O, Yap SW, Sopia H, Madiha MM, Hazreen M, Shailah A, Wan Junizam WY, Nur Syaidah A, Srijit Das, Musalmah M, Yasmin Anum MY (2010). Modulation of oxidative stress by *Chlorella vulgaris* in streptozotocin (STZ) induced diabetic Sprague-Dawley rats. *Advances in Medical Sciences.* 55(2): 281-288.
- Ajiboye BO, Oyinloye BE, Agboinghale PE, Onikanni SA, Asogwa E, Kappo AP (2019). Antihyperglycaemia and related gene expressions of aqueous extract of *Gongronema latifolium* leaf in alloxan-induced diabetic rats. *Pharm Biol.* 57(1):604-611.
- Akah PA, Alemji JA, Salawu OA, Okoye TC, Offiah NV (2009). Effects of *Vernonia amygdalina* on biochemical and hematological parameters in diabetic rats. *Asian J. Med. Sci.* 1(3):108-113.
- Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, Jamshidi S, Farhangi A, Allah Verdi A, Mofidian S, Lame Rad B (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem.* 22: 60-64.
- Akhalya K, Sreelatha S, Rajeshwari, Shruthi K (2019). A review article-gestational diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Int J.* 7(1):26-39.
- Albers JJ, Chen CH, Lacko AG (1986). Isolation, characterization, and assay of lecithin cholesterol acyltransferase. *Methods Enzymol.* 129: 763-783.
- Ali A, Dar MA, Ayaz A (2017). Diagnostic approaches to diabetes mellitus and the role of vitamins. *J Nutr Food Sci.* 7:1-5.
- Ali MY, Paul S, Tanvir EM, Hossen MS, Rumpa NEN, Saha M, Bhoumik NC, Islam MA, Hossain MS, Alam N, Gan SH, Khalil MI (2017). Antihyperglycemic, antidiabetic, and antioxidant effects of *Garcinia pedunculata* in rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 1-15.

- Al-Mamun M, Yamaki K, Masumizu T, Nakai Y, Saito K, Sano H, Tamura Y (2007). Superoxide anion radical scavenging activities of herbs and pastures in northern Japan determined using electron spin resonance spectrometry. *Int J Biol Sci.* 3(6):349-355.
- Al-Numair KS, Chandramohan G, Veeramani C, Alsaif MA (2015). Ameliorative effect of kaempferol, a flavonoid, on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Redox Rep.* 20(5):198-209.
- Aloud AA, Veeramani C, Govindasamy C, Alsaif MA, Al-Numair KS (2018). Galangin, a natural flavonoid reduces mitochondrial oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Redox Rep.* 23(1):29-34.
- American Diabetes Association (2007). Standards of medical care in diabetes – 2007. *Diabetes Care.* 30:S4-41.
- American Diabetes Association (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 37: S81-S90.
- Amin A, Lotfy M, Mahmoud-Ghoneim D, Adeghate E, Al-Akhras MA, Al-Saadi M, Al-Rahmoun S, Hameed R (2011). Pancreas-protective effects of chlorella in STZ-induced diabetic animal model: insights into the mechanism. *Journal of Diabetes Mellitus.* 1(3):36-45.
- Amor B (1999). Manifestations ostéo-articulaires du diabète phosphoré mineur de l'adulte. XV<sup>e</sup> Journée de rhumatologie de l'hôpital Cochin, Paris.
- Anandarajah K, Mahendrapurumal G, Sommerfeld M, Hu Q (2012). Characterization of microalga *Nannochloropsis* sp. mutants for improved production of biofuels. *Appl. Energy.* 96:371-377.
- Ander BP, Dupasquier CMC, Prociuk MA, Pierce GN (2003). Polyunsaturated fatty acids and their effects on cardiovascular disease. *Exp Clin Cardiol.* 8(4):164-172.
- Ashraf H, Heidari R, Nejati V, Ilkhanipoor M (2013). Effects of aqueous extract of *Berberis integerrima* Root on some physiological parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Pharm Res.* 12(2):425-434.
- Aslani BA, Ghobadi S (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sci.* 146:163-173.
- Asrafuzzaman M, Cao Y, Afroz R, Kamato D, Gray S, Little PJ (2017). Animal models for assessing the impact of natural products on the aetiology and metabolic pathophysiology of Type 2 diabetes. *Biomed. Pharmacother.* 89: 1242-1251.
- Auclair C, Voisin E (1985). Nitroblue-tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, eds.

Handbook of methods for oxygen radical research. Boca Raton: CRC Press, Inc. 123-132.

- Ayyasamy R, Leelavinothan P (2016). Myrtenal alleviates hyperglycaemia, hyperlipidaemia and improves pancreatic insulin level in STZ-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*. 54: 2521-2527.
- Baba Hamed S, Baba Hamed MB, Kassouar S, Abi Ayad SMA (2016). Physicochemical analysis of cellulose from microalgae *Nannochloropsis gaditana*. *Afr J Biotechnol*. 15:1201-1207.
- Baker AL et al. (2012). Phycokey an image based key to Algae (PS Protista), Cyanobacteria, and other aquatic objects. University of New Hampshire Center for Freshwater Biology.
- Baynest HW (2015). Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *J Diabetes Metab*. 6:1-9.
- Baz B, Riveline JP, Gautier JF (2016). Gestational diabetes mellitus: definition, aetiological and clinical aspects. *Eur J Endocrinol*. 174:43-51.
- Becerra-Tomás N, Estruch R, Bulló M, Casas R, Díaz-López A, Basora J, Fitó M, Serra-Majem L, Salas-Salvadó J (2014). Increased serum calcium levels and risk of type 2 diabetes in individuals at high cardiovascular risk. *Diabetes Care*. 37(11): 3084- 3091.
- Bendaoud A, Baba Ahmed FZ, Merzouk H, Bouanane S, Bendimerad S (2018). Effects of dietary microalgae *Nannochloropsis gaditana* on serum and redox status in obese rats subjected to a high fat diet. *Phytothérapie*. 1-11.
- Bendimerad-Benmokhtar S, Bouanane S, Merzouk H, Baba Ahmed FZ, Bendaoud A (2018). Effects of *Nannochloropsis* fed on serum and tissue lipids metabolism in obese offspring of overfed dams. *Curr Nutr Food Sci*. 14:1-15.
- Bhuvana P, Anuradha V, Syed AM, Suganya V, Sangeetha P (2017). In vitro antioxidant activity of methanolic extract of *Chlorella vulgaris*. *Int. J. Adv. Res*. 5(11):1465-1474.
- Bonnefont-Rousselot D (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 5:561-568.
- Bonnefont-Rousselot D, Beaudeau JL, Théron P, Peynet J, Legrand A, Delattre J (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm Fr*. 62:147-157.
- Borggreve SE, DeVries R, Dullaart RPF (2003). Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes

mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin: cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest.* 33:1051-1069.

- Bracken N, Howarth FC, Singh J (2006). Effects of streptozotocin-induced diabetes on contraction and calcium transport in rat ventricular cardiomyocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 1084:208-222.
- Braga F, Dolci A, Mosca A, Panteghini M (2010). Biological variability of glycosylated hemoglobin. *Clin Chim Acta.* 411:1606-1610.
- Brenna O, Qvigstad G, Brenna E, Waldum HL (2003). Cytotoxicity of streptozotocin on neuroendocrine cells of the pancreas and the gut. *Dig Dis Sci.* 48(5):906-910.
- Brownlee M (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 414:813-820.
- Bule MH, Ahmed I, Maqbool F, Bilal M, Iqbal HMN (2018). Microalgae as a source of high-value bioactive compounds. *Front Biosci.* 10:197-216.
- Burstein M, Fine A, Atger V (1989). Rapid method for the isolation of two purified subfractions of high-density lipoproteins by differential dextran sulfate magnesium chloride precipitation. *Biochem.* 71:741-746.
- Carrière A, Galinier A, Fernandez Y, Carmona MC, Pénicaud L, Casteilla L (2006). Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Med Sci.* 22:47-53.
- Cerasi E, Ktorza A (2007). Plasticité anatomique et fonctionnelle des cellules  $\beta$  du pancréas endocrine et diabète de type 2. *Med Sci.* 23(10):885-894.
- Chappuis P, Favier A (1991). Les oligoéléments en médecine et biologie. Paris: Lavoisier. pp: 60-360.
- Chawla A, Chawla R, Jaggi S (2016). Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum. *Indian J Endocrinol Metab.* 20(4): 546-551.
- Chehade JM, Gladysz M, Mooradian AD (2013). Dyslipidemia in type 2 diabetes: prevalence, pathophysiology, and management. *Drugs.* 3:327-339.
- Chen SC, Tseng CH (2013). Dyslipidemia, kidney disease, and cardiovascular disease in diabetic patients. *Rev Diabet Stud.* 10: 88-100.
- Chukhutsina VU, Fristedt R, Morosinotto T, Croce R (2017). Photoprotection strategies of the alga *Nannochloropsis gaditana*. *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 1858(7):544-552.
- Dali-Sahi M, Benmansour D, Aouar A, Karam N (2012). Étude de l'épidémiologie du diabète de Type 2 dans des populations endogames de l'ouest algérien. *Leban Sci J.* 13(2):17-26.

- Davidoff AJ, Davidson MB, Carmody MW, Davis M, Ren J (2004). Diabetic cardiomyocyte dysfunction and myocyte insulin resistance: Role of glucose-induced PKC activity. *Mol. Cell. Biochem.* 262:155-163.
- Delattre J, Beaudeau J-L, Bonnefont-Rousselot D (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Lavoisier. Paris. 547p.
- de Morais MG, Vaz Bda S, de Morais EG, Costa JA (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *Biomed Res Int.* 1-15.
- Disse E (2013). Dysfonction mitochondriale et diabète de type 2. *Diabète & Obésité.* 8:24-29.
- Draper H, Hadley M (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421-431.
- Ekpe L, Inaku K, Ekpe V (2018). Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases-a review. *J Mol Pathophysiol.* 7:1-6.
- El-Baz FK, Aly HF, Ali GH, Mahmoud R, Saad SA (2016). Antidiabetic efficacy of *Dunaliella salina* extract in STZ-induced diabetic rats. *Int J Pharm Bio Sci.* 7:465-475.
- El-Feky AM, Aboulthana WM, El-Sayed AEB, Ibrahim NE (2017). Chemical and Therapeutic study of *Nannochloropsis oculata* on spleen of streptozotocin induced diabetes in rats. *Der Pharma Chemica.* 9(18):36-43.
- Ellman GL (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 82: 70-77.
- Elstner EF, Youngman R J, Obwald W (1983). Superoxide dismutase. In: *Methods of Enzymatic Analysis* (Ed. H. B. Bergmeyer). 3 (3): 293-302.
- Emami S, Olfati A (2017). Effects of dietary supplementing of *Spirulina Platensis* and *Chlorella Vulgaris* microalgae on hematologic parameters in streptozotocin induced diabetic rats. *Iran J Ped Hematol Oncol.* 7(3):163-170.
- Eringsmark Regnéll S, Lernmark A (2013). The environment and the origins of islet autoimmunity and Type 1 diabetes. *Diabet Med.* 30(2): 155-160.
- Estepa L (2006). Protéines totales. *Biol Clin.* 90:10-0790.
- Fareed M, Salam N, Khoja AT, Mahmoud MA, Ahamed M (2017). Life style related risk factors of type 2 diabetes mellitus and its increased prevalence in saudi arabia: A brief review. *Int J Med Res Health Sci.* 6(3): 125-132.
- Fatoumata BA, Mamadou Saïdou BAH, Mohamet SENE, Joseph Koulanzo SAMBOU, Modou Mbacké Gueye, El Hadji Makhtar BA (2020). Antidiabetic properties of *Moringa oleifera*: A review of the literature. *J. Diabetes Endocrinol.* 11: 18-29.

- Favier A (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
- Favier A (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr*. 64:390-396.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957). A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 226 (1):497-509.
- Forouhi NG, Wareham NJ (2014). Epidemiology of diabetes. *Medicine*. 42(12): 698-702.
- Frezza C, Cipolat S, Scorrano L (2007) Organelle isolation: functional mitochondria from mouse liver, muscle and cultured fibroblasts. *Nat Protoc*. 2(2): 287-295.
- Gacheva GV, Gigova LG (2014). Biological activity of microalgae can be enhanced by manipulating the cultivation temperature and irradiance. *Cent. Eur. J. Biol*. 9(12):1168-1181.
- Genet S, Kale RK, Baquer NZ (2002). Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Mol Cell Biochem*. 236:7-12.
- Geraldès P, King GL (2010). Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res*. 106(8):1319-1331.
- Ghanema IIA, Sadek KM (2012). Olive leaves extract restored the antioxidant perturbations in red blood cells hemolysate in streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Medical and Biological Sciences*. 6:181-187.
- Giacco F, Brownlee M (2010). Oxidative Stress and diabetic complications. *Circ Res*. 107:1058-1070.
- Gilmartin AB, Ural SH, Repke JT (2008). Gestational diabetes mellitus. *Rev Obstet Gynecol*. 1(3): 129-134.
- Gómez-Zorita S, Trepiana J, González-Arceo M, Aguirre L, Milton-Laskibar I, González M, Eseberri I, Fernández-Quintela A, Portillo MP (2020). Anti-obesity effects of microalgae. *Int J Mol Sci*. 21:1-17.
- Goud BJ, Dwarakanath V, Swamy BKC (2015). Streptozotocin - A diabetogenic agent in animal models. *Ijppr*. 3(1):253-269.
- Grossin N, Wautier JL (2007). Glycation des protéines et dysfonction endothéliale. *Journal de la Société de Biologie*. 201(2):175-184.
- Guerre-Millo M (2006). Adipose tissue secretory function: implication in metabolic and

cardiovascular complications of obesity. *J. Soc. Biol.* 200:37-43.

- Guevara I, Iwanejko J, Dembińska-Kieć A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, Gołabek I, Bartuś S, Malczewska-Malec M, Szczudlik A (1998). Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clin Chim Acta.* 274(2):177-188.
- Gupta A, Sharma M, Sharma J (2015). A role of insulin in different types of diabetes. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 4(1):58-77.
- Gupta V, Kumari S, Kumar A (2012). Mechanism of oxygen free radical generation and Endogenous Antioxidants. *J Phytopharmacol.* 89-100.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 249:7130-7139.
- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege.* 62:628-638.
- Hanumanthaiah RG, Krishnappa PPB, Prasad D, Farahat S, Ranganath TS (2017). Acute metabolic complications of diabetes mellitus in a tertiary care center. *Int J Adv Med.* 4(4):985-988.
- Harikumar K, Kishore Kumar B, Hemalatha GJ, Bharath Kumar M, Lado SFS (2015). A review on diabetes mellitus. *Int. J. Novel Trends Pharm. Sci.* 5(3):201-217.
- Harini R, Pugalendi KV (2010). Antioxidant and antihyperlipidaemic activity of protocatechuic acid on streptozotocin diabetic rats. *Redox Rep.* 15(2):71-80.
- Henri M (2011). Obésité et insulino-résistance: Etude longitudinale avec un traceur du transport du glucose, le [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose. Thèse doctorat. Université de Grenoble.
- Huang J, Huo YY, Ji R, Kuang S, Ji C, Xu XW, Li J (2016). Structural insights of a hormone sensitive lipase homologue Est22. *Sci. Rep.* 6:1-12.
- Hussaini SMAK, Hossain MI, Islam MS, Rafiq K (2018). Effects of *Spirulina platensis* on alloxan induced diabetic rats. *Progressive Agriculture.* 29(2):139-146.
- Hussein MA (2008). Antidiabetic and antioxidant activity of *Jasania montana* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 16:214-221.
- Houillier P (2002). Hypercalcémie: diagnostique et traitement. *Rev. Prat.* 52:1474-1480.
- Hou JC, Min L, Pessin JE (2009). Insulin Granule Biogenesis, Trafficking and Exocytosis. *Vitam Horm.* 80: 473-506.
- Ifeanyi OE (2018). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *Int. J. Curr. Res. Med.*

Sci. 4(2):123-133.

- Ighodaro OM, Akinloye OA (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J. Med.* 54:287-293.
- Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Etoh T, Kakimoto M, Sonoda N, Sato N, Sekiguchi N, Kobayashi K, Sumimoto H, Utsumi H, Nawata H (2003). Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase. *J Am Soc Nephrol.* 14: S227-S232.
- Jacota SK, Dani HM (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C, using Folin phenol reagent. *Anal Biochem.* 127:178-182.
- Jang YY, Song JH, Shin YK, Han ES, Lee CS (2000). Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacol Res.* 42:361-371.
- Jayaraman R, Subramani S, Sheik Abdullah SH, Udaiyar M (2018). Antihyperglycemic effect of hesperetin, a citrus flavonoid, extenuates hyperglycemia and exploring the potential role in antioxidant and antihyperlipidemic in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 97:98-106.
- Jebur AB, Mokhamer MH, El-Demerdash FM (2016). A review on oxidative stress and role of antioxidants in diabetes mellitus. *Austin Endocrinol Diabetes Case Rep.* 1(1): 1-6.
- Jeong H, Kwon HJ, Kim MK (2009). Hypoglycemic effect of *Chlorella vulgaris* intake in type 2 diabetic Goto-Kakizaki and normal Wistar rats. *Nutr Res Pract.* 3(1):23-30.
- Jin L, Xue HY, Jin LJ, Li SY, Xu YP (2008). Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Pharmacol.* 582:162-167.
- Jong-Yuh C, Mei-Fen S (2005). Potential hypoglycemic effects of *Chlorella* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Life Sci.* 77(9):980-990.
- Kabbaj O, Yoon SR, Holm C, Rose J, Vitale ML, Pelletier MR (2003). Relationship of the hormone-sensitive lipase-mediated modulation of cholesterol metabolism in individual compartments of the testis to serum pituitary hormone and testosterone concentrations in a seasonal breeder, the mink (*Mustela vison*). *Biol Reprod.* 68(3): 722-734.
- Kadowaki T, Kasugas M, Akanuma Y, Ezaki O, Takaku F (1984). Decreased autophosphorylation of the insulin receptor-kinase in streptozotocin-diabetic rats. *J. Biol. Chem.* 259:14208-14216.



- Kafaie S, Loh SP, Mohtarrudin N (2012). Acute and sub-chronic toxicological assessment of *Nannochloropsis oculata* in rats. *Afr. J. Agric. Res.* 7(7):1220-1225.
- Kamalakkannan N, Prince PS (2006). Antihyperglycaemic and antioxidant effect of Rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 98(1):97-103.
- Karan SK, Mondal A, Mishra SK, Pal D, Rout KK (2013). Antidiabetic effect of *Streblus asper* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol.* 51(3):369-375.
- Khan AN, Khan RA, Ahmad M, Mushtaq N (2015). Role of antioxidant in oxidative stress and diabetes mellitus. *J Pharmacogn Phytochem.* 3(6): 217-220.
- Khatib S, Artoul F, Paluy I, Boluchevsky L, Kvitnitsky E, Vaya J (2017). *Nannochloropsis* sp. ethanol extract prevents macrophage and LDL oxidation and enhances PON1 activity through the principal active compound lyso-diacylglyceryltrimethylhomoserine (lyso-DGTS). *J Appl Phyco.* 1-12.
- Kherraf A, Tehami W, Boufeldja W, Yahla I, Dra GA, Mansour IFZ, Benali M (2017). Determination of the nutritional and functional metabolites of *Nannochloropsis gaditana* produced in Algeria and evaluation of its antioxidant activity. *Der Pharma Chemica.* 9(14):8-13.
- Kim JD, Kang SM, Seo BI, Choi HY, Choi HS, Ku SK (2006). Anti-diabetic activity of SMK001, a poly herbal formula in streptozotocin induced diabetic rats: therapeutic study. *Biol Pharm Bull.* 29(3):477-482.
- Kim MY, Cheong SH, Lee JH, Kim MJ, Sok DE, Kim MR (2010). *Spirulina* improves antioxidant status by reducing oxidative stress in rabbits fed a high-cholesterol diet. *J Med Food.* 13(2):420-426.
- Kohen R, Nyska A (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 30(6):620-650.
- Konishi K, Wada K, Tamura T, Tsuji M, Kawachi T, Nagata C (2015). Dietary magnesium intake and the risk of diabetes in the Japanese community: results from the Takayama study. *Eur J Nutr.* 56:767-774.
- Korkmaz GG, Uzun H, Cakatay U, Aydin S (2012). Melatonin ameliorates oxidative damage in hyperglycemia-induced liver injury. *Clin Invest Med.* 35(6):370-777.
- Kripa K, Vijayalakshmi NR, Helen A (2011). Methanolic extract of *costusigneus* (N.E.Br.) alleviates dyslipidemia in diabetic rats. *Asian J Pharm Clin Res.* 4:154-157.

- Krishnakumari S, Bhuvanewari P, Rajeswari P (2011). Ameliorative potential of *Coccinia grandis* extract on serum and liver marker enzymes and lipid profile in streptozotocin induced diabetic rats. *Anc Sci Life*. 31(1):26-30.
- Kumar CA, Kolli SGD, Katta S, Katta S (2018). Serum magnesium levels in type 2 diabetes patients and its relation with diabetic nephropathy. *Int J Med Res Health Sci*. 7(7): 90-94.
- Kumar PM, Sasmal D, Mazumder PM (2010). The antihyperglycemic effect of aerial parts of *Salvia splendens* (scarlet sage) in streptozotocin-induced diabetic-rats. *Phcog Res*. 2(3): 190-194.
- Kyznetsova MY, Makieieva OM, Lavrovskaya DO, Tymoshenko MO, Sheverova DP, Halenova DI, Savchuk OM, Ostapchenko LI (2015). Effect of aqueous extract from *Phaseolus vulgaris* Pods on lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in the liver and kidney of diabetic rats. *J App Pharm Sci*. 5(5):1-6.
- Labieniec-Watala M, Karolina S, Slawomir G and Cezary W (2012). Mitochondria function in diabetes – from health to pathology – new perspectives for treatment of diabetes driven disorders, *Biomedical Science. Engineering and Technology*. 123-150.
- Landis GN, Tower J (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev*.126:365-379.
- Lauritano C, Ianora A (2016). Marine organisms with anti-diabetes properties. *Mar Drugs*. 14(12): 220.
- Letsiou S, Kalliampakou K, Gardikis K, Mantecon L, Infante C, Chatzikonstantinou M, Labrou NE, Fliemetakis E (2017). Skin protective effects of *Nannochloropsis gaditana* extract on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-stressed human dermal fibroblasts. *Front. Mar. Sci*. 4:1-15.
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 186: 464-478.
- Liemburg-Apers DC, Willems PH, Koopman WJ, Grefte S (2015). *Arch Toxicol*. 89: 1209-1226.
- Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpe N (2004). Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol*. 92(1):1-21.
- Lin Y, Sun Z (2010). Current views on type 2 diabetes. *J Endocrinol*. 204(1):1-11.
- Lowry OH, Roserbrough NJ, Farr AL, Randall RI (1951). Protein measurement with

folin phenol reagent. J Biol Chem. 193:265-275.

- Lubian LM (1982). *Nannochloropsis gaditana* spec nov, una nueva Eustigmatophyceae marina. Lazaroa. 4:287-294.
- Lubián LM, Montero O, Moreno-Garrido I, Huertas IE, Sobrino C, González-del Valle M, Parés G (2000). *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. J. Appl. Phycol. 12: 249-255.
- Ludidi A, Baloyi MC, Khathi A, Sibiyi NH, Ngubane PS (2019). The effects of *Momordica balsamina* methanolic extract on haematological function in streptozotocin-induced diabetic rats: Effects on selected markers. Biomed Pharmacother. 116:1-7.
- Maadane A, Merghoub N, Ainane T, El Arroussi H, Benhima R, Amzazi S, Bakri Y, Wahby I (2015). Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: Pufa profiles, carotenoids and phenolic content. J Biotechnol. 215:13-19.
- Macias-Sanchez MD, Mantell C, Rodriguez M, Martinez de la Ossa E, Lubian LM, Montero O (2005). Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Nannochloropsis gaditana*. J Food Eng. 66:245-251.
- Malini P, Kanchana G, Rajadurai M (2011). Antidiabetic efficacy of ellagic acid in streptozotocin induced diabetes mellitus in albino wistar rats. Asian J Pharm Clin Res. 4:124-128.
- Marklund SL, Adolfsson R, Gottfries CG, Winblad B (1985). Superoxide dismutase isoenzymes in normal brains and in brains from patients with dementia of Alzheimer type. Journal of the neurological sciences. 67: 319-325.
- Markovits A, Conjeros R, Lopez L, Lutz M (1992). Evaluation of marine microalgae *Nannochloropsis* sp. as a potential dietary supplement. chemical, nutritional and short term toxicological evaluation in rats. Nutr Res. 12:1273-1284.
- Masschelin PM, Cox AR, Chernis N, Hartig SM (2019). The Impact of oxidative stress on adipose tissue energy balance. Front Physiol. 10:1638.
- Mata TM, Martins AA, Caetano NS (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 14: 217-232.
- Mathe D, Serougne C, Ferezou, J. Lécuyer B (1991). Lipolytic activities in rats fed a sucrose-rich diet supplemented with either cystine or cholesterol: relationships with lipoprotein profiles. Ann Nutr Metab. 35(3): 165-173.
- Matos J, Cardoso C, Bandarra NM, Afonso C (2017). Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review. Food Funct. 8(8):2672-2685.

- Ma Y, Wang Z, Yu C, Yin Y, Zhou G (2014). Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. *Bioresour Technol.*167:503-509.
- Mekdade L, Baba Hamed MB, EL-Kebir FZ, Abi Ayad SM (2016). Evaluation of antioxidant and antiproliferative activities of *Nannochloropsis gaditana* extracts. *7(3):904-913.*
- Merzouk H, Madani S, Chabane D, Prost J, Bouchenak M, Belleville J (2000). Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci.* 98: 21-30.
- Metwally NS, Maghraby AS, Farrag EK, Abd El Baky HH, Farrag ARH, Foda DS, Rawi SM (2015). Efficiency of the algae *spirulina platensis* as antidiabetic agent. *WJPR.* 4:18-54.
- Migdal C, Serres M (2011). Espèces réactives à l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci.* 27: 405-412.
- Mimouni V, Ulmann L, Haimeur A, Guéno F, Meskini N, Tremblin G (2015). Marine microalgae used as food supplements and their implication in preventing cardiovascular diseases. *OCL.* 22(4): D409.
- Modak MA, Parab PB, Ghaskadbi SS (2011). Control of hyperglycemia significantly improves oxidative stress profile of pancreatic islets. *Islets.* 3:234-240.
- Moharerri A, Ghafari S, Golalipour MJ (2016). Gestational diabetes reduces pancreatic beta cells in rat offspring. *Int. J. Morphol.* 34(4):1386-1391.
- Nacer W, Baba Ahmed FZ, Merzouk H, Benyagoub O, Bouanane S (2019). Antihyperlipidemic and antioxidant effects of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Revue Agrobiologia.* 9(2):1474-1483.
- Nakhjavani M, Esteghamati A, Esfahanian F, Ghanei A, Rashidi A, Hashemi S (2008). HbA1c negatively correlates with LCAT activity in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 81:38-41.
- Nasirian F, Dadkhah M, Moradi-kor N, Obeidavi Z (2018). Effects of *Spirulina platensis* microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 11:375-380.
- Nasirian F, Sarir H, Moradi-kor N (2019). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of *Nannochloropsis oculata* microalgae in streptozotocin-induced diabetic rats. *BioMol Concepts.* 10:37-43.
- Newsholme EA, Dimitriadis G (2001). Integration of biochemical and physiologic

- effects of insulin on glucose metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 109:122-134.
- Nithiya T, Udayakumar R (2018). Hepato and renal protective effect of phloretin on streptozotocin induced diabetic rats. *J Biomed Pharm Sci*.1:1-6.
  - Nuno K, Villarruel-Lopez A, Puebla-Perez AM, Romero-Velarde E, Puebla-Mora AG, Ascencio F (2013). Effects of the marine microalgae *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata* in diabetic rats. *J. Funct. Foods*. 5:106-115.
  - Olayaki LA, Ajibade KS, Gesua SS, Soladoye AO (2007). Effect of *Zingiber officinale*. on some hematologic values in alloxan-induced diabetic rats. *Pharm Biol*. 45:556-559.
  - Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB (2012). Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. *Oman Med J*. 27(4): 269-273.
  - Ozdemir O, Akalin PP, Baspinar N, Hatipoglu F (2009). Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*. 53:783-790.
  - Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba CB (2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J. Physiol. Pathophysiol*. 4(4):46-57.
  - Oyedemi SO, Yakubu MT, Afolayan AJ (2011). Antidiabetic activities of aqueous leaves extract of *Leonotis leonurus* in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Med. Plant. Res*. 5(1): 119-125.
  - Pandey JP, Tiwari A, Mishra G, Mishra RM (2011). Role of *Spirulina maxima* in the control of blood glucose levels and body weight in streptozotocin induced diabetic male wistar rats. *J Alg Biomass utiliz*. 2(4):35-37.
  - Paoli P, Cirri P, Caselli A, Ranaldi F, Bruschi G, Santi A, Camici G (2013). The insulin-mimetic effect of Morin: A promising molecule in diabetes treatment. *Biochim Biophys Acta*. 1830 (4): 3102-3111.
  - Patel DK, Gamit DN, Patel AB, Gohil BH (2017). Glycosylated hemoglobin as a marker of dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus patients in a tertiary care hospital. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 7(1):113-118.
  - Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Ind J Clin Biochem*. 30(1):11-26.
  - Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne JO (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*.16: 233-239.
  - Pitocco D, Tesauro M, Alessandro R, Ghirlanda G, Cardillo C (2013). Oxidative stress in diabetes: Implications for vascular and other complications. *Int J Mol Sci*. 14(11):

21525-21550.

- Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, Ghirlanda G (2010). Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud.* 7(1):15-25.
- Pourhanifeh MH, Hosseinzadeh A, Dehdashtian E, Hemati K, Mehrzadi S (2020). Melatonin: new insights on its therapeutic properties in diabetic complications. *Diabetol Metab Syndr.* 1-20.
- Pradeep AR, Ramchandraprasad MV, Bajaj P, Rao NS, Agarwal E (2013). Protein carbonyl: An oxidative stress marker in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis, and chronic periodontitis subjects. *Contemp Clin Dent.* 4:27-31.
- Prince SMP, Kannan NK (2006). Protective effect of rutin on lipids, lipoproteins, lipid metabolizing enzymes and glycoproteins in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharm Pharmacol.* 58(10):1373-1383.
- Priyadarshani I, Rath B (2012). Commercial and industrial applications of micro algae – A review. *J. Algal Biomass Utiln.* 3(4): 89-100.
- Qaid MM, Abdelrahman MM (2016). Role of insulin and other related hormones in energy metabolism- A review. *Cogent Food & Agriculture.* 2:1-18.
- Rahman K (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging.* 2(2): 219-236.
- Rajasekaran S, Sivagnanam K, Ravi K, Subramanian S (2004). Hypoglycemic effect of Aloe vera gel on streptozotocin-induced diabetes in experimental rats. *J. Med. Food.* 7:61-66.
- Riccio G, Lauritano C (2020). Microalgae with Immunomodulatory activities. *Mar Drugs.* 18(1):1-18.
- Rocha JMS, Garcia JEC, Henriques MHF (2003). Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomolecular Engineering.* 20:237-242.
- Rodriguez-Garcia I, Guil-Guerrero JL (2008). Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chem.* 108(3):1023-1026.
- Rorsman P, Braun M, Zhanga Q (2011). Regulation of calcium in pancreatic  $\alpha$ - and  $\beta$ -cells in health and disease. *Cell Calcium.* 51: 300-308.
- Roy VK, Chenkual L, Gurusubramanian G (2015). *Mallotus roxburghianus* modulates antioxidant responses in pancreas of diabetic rats. *Acta Histochemica.* 1-12.
- Saberzadeh-Ardestani B, Karamzadeh R, Basiri M, Hajizadeh-Saffar E, Farhadi A,

- Shapiro AMJ, Tahamtani Y, Baharvand H (2018). Type 1 diabetes mellitus: cellular and molecular pathophysiology at a glance. *Cell J.* 20(3):294-301.
- Salahuddin M, Jalalpure SS (2010). Antidiabetic activity of aqueous fruit extract of *Cucumis trigonus* Roxb. In streptozotocin-induced-diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 127(2):565-567.
  - Sánchez-Muñoz MA, Valdez-Solana MA, Campos-Almazán MI, Flores-Herrera Ó, Esparza-Perusquía M, Olvera-Sánchez S, García-Arenas G, Avitia-Domínguez C, Téllez-Valencia A, Sierra-Campos E (2018). Streptozotocin-induced adaptive modification of mitochondrial supercomplexes in liver of wistar rats and the protective effect of *Moringa oleifera* Lam. *Biochem Res Int.* 1-15.
  - Sathasivam R, Ki JS (2018). A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. *Mar Drugs.* 16(1):1-31.
  - Sathasivam R, Radhakrishnan R, Hashem A, Abd Allah EF (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi J. Biol. Sci.* 26:709-722.
  - Schwartz A, Jimenez G, Markovits R, Conejeros R, Lopez L, Lutz M (1991). Formulacion y evaluacion organoleptica de alimentos formulados en base a la microalga marina *Nannochloropsis* sp. como fuente dietaria del ácido graso ω3 eicosapentaenoico. *Aliment. Equip. Tecnol.* 92: 149-152.
  - Sellamuthu PS, Arulselvan P, Kamalraj S, Fakurazi S, Kandasamy M (2013). Protective nature of mangiferin on oxidative stress and antioxidant status in tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *ISRN Pharmacol.* 1-10.
  - Shah MA, Reanmongkol W, Radenahmad N, Khalil R, Ul-Haq Z, Panichayupakaranant P (2019). Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of rhinacanthins-rich extract from *Rhinacanthus nasutus* leaves in nicotinamide-streptozotocin induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 13:1-8.
  - Sharma P, Singh R (2014). Effect of *Momordica dioica* fruit extract on antioxidant status in liver, kidney, pancreas, and serum of diabetic rats. *Phcog Res.* 6:73-79.
  - Sharvana bhava BS, Umasankar K, Kottai Muthu A (2020). Studies on Antidiabetic Activity of *Atylosia Albicans* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* 11(1): 416-424.
  - Simionato D, Block MA, La Rocca N, Jouhet J, Maréchal E, Finazzi G, Morosinotto T (2013). The response of *Nannochloropsis gaditana* to nitrogen starvation includes de

novo biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus. *Eukaryot Cell*. 12(5):665-676.

- Simmons KM, Michels AW (2015). Type 1 diabetes: A predictable disease. *World J Diabetes*. 6(3):380-390.
- Simsolo RB, Ong JM, Saffari B, Kem PA (1992). Effect of improved diabetes control on the expression of lipoprotein lipase in human adipose tissue. *J Lipid Res*. 33(1):89-95.
- Singh J, Chonkar A, Bracken N, Adeghate E, Latt Z, Hussain M (2006). Effect of streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus on contraction, calcium transient, and cation contents in the isolated rat heart. *Ann N Y Acad Sci*. 1084:178-190.
- Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS (2014). Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean J Physiol Pharmacol*. 18(1):1-14.
- Sinisterra-Loaiza L, Cardelle-Cobas A, Abraham AG, Calderon MN, Espinoza MA, González-Olivares LG, Gotteland M, Pazos-Sierra A, San Martin S, Cepeda A, Gagliardino JJ (2019). Diabetes in Latin America: prevalence, complications, and socio economic impact. *Int J Diabetes Clin Res*.6:1-9.
- Sireesha K et Rao SP (2015). Oxidative stress and diabetes: An overview. *Asian J Pharm Clin Res*. 8:15-19.
- Sirsikar M, Supriya, Mohanty S, Pinnelli VBK (2016). Role of glycated hemoglobin (HBA1c) as a dual marker to predict glycemic status and dyslipidemia in type II diabetes mellitus. *Int J Res Med Sci*. 4(10):4524-4529.
- Sisein EA (2014). Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Sch. Acad. J. Biosci*. 2(2):110-118.
- Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L, Groop PH, Handelsman Y, Insel RA, Mathieu C, McElvaine AT, Palmer JP, Pugliese A, Schatz DA, Sosenko JM, Wilding JPH, Ratner RE (2017). Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes*. 66(2): 241-255.
- Soualem-Mami Z, Brixi-Gormat N, Djaziri FZ, Hmimed S, Belarbi M (2015). Effet du son de seigle chez le rat diabétique. *Phytothérapie*. 1-8.
- Sugamura K, Keaney JF (2011). Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 51:978-992.
- Sunmonu TO, Afolayan AJ (2013). Evaluation of antidiabetic activity and associated toxicity of *Artemisia afra* aqueous extract in wistar rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 1-8.



- Sureka C, Ramesh T, Begum VH (2015). Attenuation of erythrocyte membrane oxidative stress by *Sesbania grandiflora* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Cell Biol.* 93(4):385-95.
- Szkudelski T (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50:537-546.
- Sztalryd C, Kraemer FB (1995). Regulation of hormone-sensitive lipase in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism.* 44(11):1391-1396.
- Talero E, García-Mauriño S, Ávila-Román J, Rodríguez-Luna A, Alcaide A, Motilva V (2015). Bioactive compounds isolated from microalgae in chronic inflammation and cancer. *Mar Drugs.* 13(10): 6152-6209.
- Tarigan TJE, Yunir E, Subekti I, Pramono LA, Martina D (2015). Profile and analysis of diabetes chronic complications in outpatient diabetes clinic of Cipto Mangunkusumo hospital, Jakarta. *Med J Indones.* 24:156-162.
- Tavangar K, Murata Y, Pedersen ME, Goers JF, Hoffman AR, Kraemer FB (1992). Regulation of lipoprotein lipase in the diabetic rat. *J Clin Invest.* 90(5):1672-1678.
- Taylor F (1985). Flow-through pH-stat method for lipase activity. *Anal Biochem.* 148: 149-153.
- Tellaa T, Masolaa B, Mukaratirwa S (2019). The effect of *Psidium guajava* aqueous leaf extract on liver glycogen enzymes, hormone sensitive lipase and serum lipid profile in diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 109:2441-2446.
- Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, Yongvanit P, Kawanishi S, Murata M (2015). Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. *Int J Mol Sci.* 16(1):193-217.
- Therond P (2006). Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxidant. *Ann Pharm Fr.* 64:383-389.
- Todkar SS (2016). Diabetes mellitus the ‘Silent Killer’ of mankind: An overview on the eve of upcoming world health day!. *J Med Allied Sci.* 6(1): 39-44.
- Tietz NW, Astles JR, Shuey DF (1989). Lipase activity measured in serum by a continuous monitoring pH-Stat technique-an update. *Clin Chem.* 35(8):1688-1693.
- Unnikrishnan PS, Jayasri MA (2018). Marine algae as a prospective source for antidiabetic compounds - a brief review. *Curr Diabetes Rev.* 14(3):237-245.
- Valdecantos MP, Pérez-Matute P, Quintero P, Alfredo Martínez J (2010). Vitamin C, resveratrol and lipoic acid actions on isolated rat liver mitochondria: all antioxidants but

different. *Redox Rep.* 15(5):207-216.

- Vijayavel K, Anbuselvam C, Balasubramanian MP (2007). Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Mol Cell Biochem.* 303:39-44.
- Villarruel-López A, Ascencio F, Nuño K (2017). Microalgae, a potential natural functional food source – a Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 67(4): 251-263.
- Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, Nogueira-Machado JA (2018). Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death Dis.* 9:1-9.
- Wang D, Ning K, Li J, Hu J, Han D, Wang H, Zeng X, Jing X, Zhou Q, Su X, Chang X, Wang A, Wang W, Jia J, Wei L, Xin Y, Qiao Y, Huang R, Chen J, Han B, Yoon K, Hill RT, Zohar Y, Chen F, Hu Q, Xu J (2014). Nannochloropsis Genomes Reveal Evolution of Microalgal Oleaginous Traits. *PLOS Genet.* 10(1):1-13.
- Wang H, Eckel RH (2009). Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 271-288.
- Werman MJ, Sukenik A, Mokady S (2003). Effects of the marine unicellular alga *Nannochloropsis* sp. to reduce the plasma and liver cholesterol levels in male rats fed on diets with cholesterol. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(10):2266-2268.
- Wu J, Yan LJ (2015). Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic  $\beta$  cell glucotoxicity. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 8:181-888.
- Yazdanparast R, Ardestani A, Jamshidi S (2007). Experimental diabetes treated with *Achillea santolina*: effect on pancreatic oxidative parameters. *J Ethnopharmacol.* 112:13-18.
- Yun H, Kim I, Kwon SH, Kang JS, Om AS (2011). Protective effect of *Chlorella vulgaris* against lead-induced oxidative stress in rat brains. *Journal of Health Science.* 57(3):245-254.
- Zainoddin HAH, Hamzah A, Jamari Z, Omar WAW (2018). Chemical profiles of methanolic extracts from two species of microalgae, *Nannochloropsis* sp. and *Spirulina* sp. *Pertanika J. Trop. Agric. Sc.* 41(3): 1085-1096.
- Zuluaga M, Gueguen V, Pavon-Djavid G, Letourneur D (2017). Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts.* 7(1):1-3.



# **ANNEXES**

**Tableau A1.** Le poids corporel, nourriture ingérée et l'apport énergétique chez les différents lots de rats

<b>Paramètres</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Poids corporel (g)</b>	225±6,21 <sup>a</sup>	220,82±5,11 <sup>a</sup>	198,17±4,37 <sup>c</sup>	210,27±3,21 <sup>b</sup>	0,04
<b>Nourriture ingérée (g/j/rat)</b>	22,41±0,22 <sup>c</sup>	23,11±0,92 <sup>c</sup>	54,51±0,34 <sup>a</sup>	38,34±0,12 <sup>b</sup>	0,03
<b>Apport énergétique (Kcal/J/rat)</b>	125,50±10,59 <sup>c</sup>	128,27±8,48 <sup>c</sup>	206,18±5,63 <sup>a</sup>	150,08±16,80 <sup>b</sup>	0,001

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A2.** Teneurs sériques en minéraux chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>Calcium (mmol/L)</b>	2,99±0,11 <sup>b</sup>	3,71±0,36 <sup>a</sup>	2,02±0,54 <sup>c</sup>	2,59±0,40 <sup>b</sup>	0,001
<b>Magnésium (mmol/L)</b>	0,97±0,07 <sup>b</sup>	1,73±0,33 <sup>a</sup>	0,39±0,08 <sup>c</sup>	1,07±0,11 <sup>b</sup>	0,001
<b>Phosphore (mmol/L)</b>	1,45 ±0,11 <sup>b</sup>	2,08±0,14 <sup>a</sup>	1,05 ±0,16 <sup>c</sup>	1,40±0,14 <sup>b</sup>	0,01

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A3.** Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>Globules rouges (10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	6,01±0,24 <sup>c</sup>	8,41±0,72 <sup>a</sup>	4,95± 0,19 <sup>d</sup>	6,5±2,50 <sup>b</sup>	0,0001
<b>Hémoglobine (mg/dL)</b>	12,22±0,25 <sup>b</sup>	13,63± 0,10 <sup>a</sup>	9,53± 0,03 <sup>c</sup>	12,03± 0,13 <sup>b</sup>	0,0001
<b>Globules blancs (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	4,82±0, 82 <sup>c</sup>	4,65±0, 92 <sup>c</sup>	6,50± 0,40 <sup>a</sup>	5,14±0,44 <sup>b</sup>	0,0001
<b>Lymphocytes (/mm<sup>3</sup>)</b>	1962,5±125 <sup>b</sup>	1893,5±121 <sup>b</sup>	2648±293 <sup>a</sup>	2821,5±125 <sup>a</sup>	0,0001
<b>Polynucléaires (/mm<sup>3</sup>)</b>	2932,5±295	2782,5±275	2530±159	2470±149	0,750
<b>Monocytes (/ mm<sup>3</sup>)</b>	230±28,9	227±21,9	226,8±23,0	232,3± 24,70	0,750

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A4.** Valeurs des paramètres biochimiques chez les différents lots de rats

<b>Paramètres</b> \ <b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Glucose (g/L)</b>	1,17±0,01 <sup>c</sup>	1,20±0,04 <sup>c</sup>	4,41±0,08 <sup>a</sup>	2,44±0,02 <sup>b</sup>	0,010
<b>HbA<sub>1</sub>C (%)</b>	4,40±0,14 <sup>c</sup>	4,10±0,2 <sup>c</sup>	10,70±0,87 <sup>a</sup>	9,60±0,7 <sup>b</sup>	0,004
<b>Protéines totales (g/dL)</b>	60,28±3,84 <sup>a</sup>	62,50±4,13 <sup>a</sup>	49,85±4,40 <sup>b</sup>	59,65±4,74 <sup>a</sup>	0,007
<b>Acide urique (mg/dL)</b>	35,38±0,93 <sup>b</sup>	39,18±1,64 <sup>b</sup>	72,76±1,82 <sup>a</sup>	39,44±2,73 <sup>b</sup>	0,010
<b>Uréé (mg/dL)</b>	36,62±1,95 <sup>b</sup>	36,15±3,24 <sup>b</sup>	41,26±2,72 <sup>a</sup>	38,45±1,83 <sup>b</sup>	0,010
<b>Créatinine (mg/dL)</b>	65,90±5,55 <sup>b</sup>	64,54±2,07 <sup>b</sup>	90,26±3,29 <sup>a</sup>	70,73±3,25 <sup>b</sup>	0,010
<b>ALAT (UI/L)</b>	42,45±1,47 <sup>c</sup>	40,71±1,47 <sup>c</sup>	52,94±0,88 <sup>a</sup>	48,51±1,91 <sup>b</sup>	0,010
<b>ASAT (UI/L)</b>	36,86±4,00 <sup>c</sup>	30,8 ±4,00 <sup>c</sup>	50,51±0,71 <sup>a</sup>	41,94 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,007
<b>PAL (UI/L)</b>	83,35±4,15 <sup>b</sup>	81,14±4,15 <sup>b</sup>	90,33±3,83 <sup>a</sup>	84,16±3,48 <sup>b</sup>	0,006
<b>LDH (UI/L)</b>	323,41±159,42 <sup>c</sup>	314,38±166,70 <sup>c</sup>	655,85±191,06 <sup>a</sup>	462,13±286,72 <sup>b</sup>	0,033

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A5.** Teneurs en lipides sériques et en lipoprotéines chez les différents lots de rats

Paramètres \ Lots	C	CM	D	DM	P (ANOVA)
<b>Triglycérides (g/L)</b>	1,15±0,01 <sup>c</sup>	1,10±0,01 <sup>c</sup>	2,28±0,04 <sup>a</sup>	1,94±0,03 <sup>b</sup>	0,006
<b>VLDL-TG (mg/dL)</b>	94,34±19,96 <sup>b</sup>	87,63±14,23 <sup>b</sup>	140,46±46,89 <sup>a</sup>	121,91±53,40 <sup>b</sup>	0,001
<b>LDL-TG (mg/dL)</b>	91,09±31,89 <sup>b</sup>	73,17±24,49 <sup>b</sup>	185,53±61,83 <sup>a</sup>	107,76±34,32 <sup>b</sup>	0,001
<b>HDL-TG (mg/dL)</b>	67,11±15,38 <sup>a</sup>	79,00±22,73 <sup>a</sup>	54,45±21,78 <sup>b</sup>	68,87±20,36 <sup>a</sup>	0,001
<b>Cholestérol total (g/L)</b>	1,53 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,44 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,43± 0,04 <sup>a</sup>	2,02 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,004
<b>VLDL-C (mg/dL)</b>	38,84±2,5 <sup>c</sup>	40,13±1,59 <sup>c</sup>	70,92±1,06 <sup>a</sup>	59,52±2,90 <sup>b</sup>	0,001
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	55,84±1,42 <sup>c</sup>	45,14± 2,38 <sup>d</sup>	90,14± 2,38 <sup>a</sup>	69,18±1,40 <sup>b</sup>	0,001
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	81,06±1,12 <sup>b</sup>	92,75±1,47 <sup>a</sup>	59,06±1,18 <sup>d</sup>	73,08±1,21 <sup>c</sup>	0,001

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).



**Tableau A6.** Poids absolu des organes et teneurs en protéines totales aux niveaux des organes chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b><u>Poids (g)</u></b>					
<b>Foie</b>	9,40±1,14	9,50±1,51	9,73±1,07	9,04±1,20	0,064
<b>Pancréas</b>	0,69±0,19 <sup>a</sup>	0,60±0,08 <sup>a</sup>	0,43±0,12 <sup>c</sup>	0,57±0,20 <sup>b</sup>	0,070
<b>Tissu adipeux blanc</b>	2,49±0,12 <sup>b</sup>	2,44±0,51 <sup>b</sup>	1,26±0,18 <sup>c</sup>	2,39±0,47 <sup>b</sup>	0,001
<b>Tissu adipeux brun</b>	0,67±0,15	0,69±0,10	0,80±0,13	0,78±0,09	0,670
<b><u>Protéines totales (mg/g)</u></b>					
<b>Foie</b>	224,20±6,76 <sup>b</sup>	225,51±2,44 <sup>b</sup>	320,77±10,02 <sup>a</sup>	218,68 ±4,65 <sup>b</sup>	0,001
<b>Pancréas</b>	18,63± 5,48	19,44±4,57	18,56±1,22	17,77± 3,59	0,647
<b>Tissu adipeux blanc</b>	44,16±4,04	48,42±2,97	47,00±3,08	43,61±4,24	0,099
<b>Tissu adipeux brun</b>	18,05±6,90	15,03± 9,58	15,23±7,61	15,38±4,16	0,565

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A7.** Teneurs en lipides (mg/g) aux niveaux des organes chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>Cholestérol total (mg/g)</b>					
<b>Foie</b>	4,72±0,71 <sup>b</sup>	4,81±0,70 <sup>b</sup>	7,50±1,30 <sup>a</sup>	5,19±0,16 <sup>b</sup>	0,001
<b>Pancréas</b>	8,35±4,54 <sup>c</sup>	7,70±1,37 <sup>c</sup>	17,86±4,85 <sup>a</sup>	14,13±4,07 <sup>b</sup>	0,001
<b>Tissu adipeux blanc</b>	80,02±5,34 <sup>b</sup>	81,62±4,34 <sup>b</sup>	122,42±6,50 <sup>a</sup>	90,01±4,56 <sup>b</sup>	0,001
<b>Tissu adipeux brun</b>	5,35±1,49	5,27±1,58	6,21±1,53	5,92±2,42	0,280
<b>Triglycérides (mg/g)</b>					
<b>Foie</b>	52,45±4,46 <sup>c</sup>	54,19±3,19 <sup>c</sup>	80,48±4,28 <sup>a</sup>	60,17±3,75 <sup>b</sup>	0,000
<b>Pancréas</b>	14,24±4,85 <sup>b</sup>	12,65±5,64 <sup>b</sup>	19,83±1,45 <sup>a</sup>	13,35±5,75 <sup>b</sup>	0,032
<b>Tissu adipeux blanc</b>	31,46±6,87 <sup>b</sup>	31,43±5,08 <sup>b</sup>	64,15±6,89 <sup>a</sup>	28,53±1,58 <sup>b</sup>	0,001
<b>Tissu adipeux brun</b>	7,20±1,98	6,58±1,93	8,19±2,66	7,32±1,76	0,150
<b>Lipides totaux (mg/g)</b>					
<b>Foie</b>	63,24±26,82 <sup>c</sup>	70,20±26,09 <sup>c</sup>	166,98±59,44 <sup>a</sup>	115,85±43,01 <sup>b</sup>	0,001
<b>Pancréas</b>	41,02±16,14 <sup>c</sup>	42,68±18,69 <sup>c</sup>	50,85±11,46 <sup>a</sup>	43,56±15,88 <sup>b</sup>	0,001
<b>Tissu adipeux blanc</b>	154,17±17,98 <sup>c</sup>	159,07±42,18 <sup>c</sup>	306,87±80,78 <sup>a</sup>	230,57±78,50 <sup>b</sup>	0,001
<b>Tissu adipeux brun</b>	38,38±12,86	39,01±11,67	34,41±36,71	39,37±12,50	0,021

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A8.** Activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) et l'activité des lipases (LPL et LHS) au niveau des organes chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>LCAT (nmol/l/min)</b>	28,84±2,45 <sup>a</sup>	26,77±3,76 <sup>a</sup>	15,60±2,99 <sup>c</sup>	22,39±3,31 <sup>b</sup>	0,000
<b>LPL Foie (nmol/min/mg)</b>	5,80±0,97 <sup>a</sup>	5,86±0,59 <sup>a</sup>	3,98±0,70 <sup>b</sup>	5,58±2,02 <sup>a</sup>	0,030
<b>LPL Pancréas (nmol/min/mg)</b>	1,13±0,03 <sup>a</sup>	1,18±0,07 <sup>a</sup>	0,99±0,16 <sup>b</sup>	1,20±0,07 <sup>a</sup>	0,001
<b>LPL Tissu adipeux blanc (nmol/min/mg)</b>	19,18±1,24 <sup>a</sup>	19,02±2,06 <sup>a</sup>	11,82±1,63 <sup>b</sup>	18,98±3,93 <sup>a</sup>	0,000
<b>LPL Tissu adipeux brun (nmol /min/mg)</b>	20,22±0,06 <sup>a</sup>	20,21±0,07 <sup>a</sup>	14,02±3,79 <sup>b</sup>	21,39±1,62 <sup>a</sup>	0,000
<b>LHS (nmol/min/mg)</b>	38,59±4,15 <sup>b</sup>	38,67±3,52 <sup>b</sup>	55,19±4,56 <sup>a</sup>	42,80±3,19 <sup>b</sup>	0,001

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A9.** Marqueurs du statut antioxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats

<b>Paramètres</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Vitamine C (µmol/l)</b>	18,27±4,63 <sup>a</sup>	18,85±3,90 <sup>a</sup>	9,24±1,78 <sup>c</sup>	12,51±1,69 <sup>b</sup>	0,000
<b>CAT érythrocytaire (U/min/ml)</b>	153,67±35,27 <sup>a</sup>	183,00±10,61 <sup>a</sup>	93,56±11,66 <sup>c</sup>	143,79±3,76 <sup>b</sup>	0,003
<b>GSH érythrocytaire (µmol/l)</b>	5,26±0,56 <sup>a</sup>	5,91±1,27 <sup>a</sup>	2,82±0,52 <sup>c</sup>	4,30±0,73 <sup>b</sup>	0,001
<b>SOD érythrocytaire (mM/min/ml)</b>	487,25±4,10 <sup>a</sup>	496,17±1,25 <sup>a</sup>	279,81±17,06 <sup>c</sup>	376,19±38,42 <sup>b</sup>	0,000

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A10.** Marqueurs du statut oxydant au niveau érythrocytaire et plasmatique chez les différents lots de rats

<b>Paramètres</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>NO plasmatique (µmol/l)</b>	3,46±0,67 <sup>c</sup>	6,14±2,35 <sup>b</sup>	9,59±0,84 <sup>a</sup>	7,27±1,11 <sup>b</sup>	0,000
<b>NO érythrocytaire (µmol/l)</b>	28,37±7,99 <sup>c</sup>	30,04±6,40 <sup>c</sup>	61,15±11,67 <sup>a</sup>	42,50±7,49 <sup>b</sup>	0,000
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup> plasmatique (µmol/l)</b>	13,97±2,57 <sup>c</sup>	15,22±1,97 <sup>c</sup>	28,75±2,07 <sup>a</sup>	20,67±3,55 <sup>b</sup>	0,000
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup> érythrocytaire (µmol/l)</b>	38,30±2,56 <sup>c</sup>	35,47±1,29 <sup>c</sup>	58,63±16,90 <sup>a</sup>	47,16±2,14 <sup>b</sup>	0,001
<b>MDA plasmatique (µmol/l)</b>	4,52±1,08 <sup>b</sup>	4,18±1,23 <sup>b</sup>	8,37±3,50 <sup>a</sup>	6,37±1,49 <sup>b</sup>	0,018
<b>MDA érythrocytaire (µmol/l)</b>	2,89±0,19 <sup>c</sup>	3,05±0,82 <sup>c</sup>	6,31±1,33 <sup>a</sup>	4,91±0,91 <sup>b</sup>	0,000
<b>PC plasmatique (nmol/l)</b>	1,12±0,23 <sup>c</sup>	1,31±0,37 <sup>c</sup>	4,68±1,98 <sup>a</sup>	2,89±0,56 <sup>b</sup>	0,000
<b>PC érythrocytaire (nmol/l)</b>	3,75±1,72 <sup>b</sup>	3,71±1,10 <sup>b</sup>	6,55±1,88 <sup>a</sup>	5,03±0,82 <sup>b</sup>	0,020

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A11.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>MDA (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	1,30 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	1,32 $\pm$ 0,30 <sup>c</sup>	3,30 $\pm$ 0,94 <sup>a</sup>	2,15 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	0,001
<b>PC (<math>\mu\text{mol/mg}</math>)</b>	2,21 $\pm$ 0,56 <sup>c</sup>	2,27 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	3,51 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>	2,88 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	0,001
<b>CAT (U/g)</b>	68,56 $\pm$ 4,26 <sup>a</sup>	65,15 $\pm$ 9,20 <sup>a</sup>	46,53 $\pm$ 8,48 <sup>c</sup>	57,26 $\pm$ 3,51 <sup>b</sup>	0,001
<b>GSH (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	5,00 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	4,98 $\pm$ 1,33 <sup>a</sup>	2,56 $\pm$ 0,22 <sup>c</sup>	3,56 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	0,001
<b>SOD (U/g)</b>	3,44 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	3,48 $\pm$ 0,99 <sup>a</sup>	1,61 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	2,37 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	0,000
<b>GST (nmol/g)</b>	6,18 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	5,84 $\pm$ 0,94 <sup>a</sup>	4,36 $\pm$ 0,52 <sup>c</sup>	4,98 $\pm$ 1,10 <sup>b</sup>	0,004

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A12.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant mitochondrial chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>MDA (nmol/g de protéine)</b>	5,27±0,073 <sup>c</sup>	4,70±0,10 <sup>d</sup>	8,28±0,28 <sup>a</sup>	5,67±0,43 <sup>b</sup>	0,000
<b>PC (nmol/g de protéine)</b>	4,73±1,08 <sup>b</sup>	3,60±1,10 <sup>b</sup>	9,85±3,05 <sup>a</sup>	6,07±0,48 <sup>b</sup>	0,000
<b>CAT (U/g de protéine)</b>	434,57±13,05 <sup>a</sup>	431,59±90,32 <sup>a</sup>	214,06±19,59 <sup>c</sup>	281,09±51,11 <sup>b</sup>	0,000
<b>GSH (mM)</b>	1,60±0,03 <sup>b</sup>	2,63±1,15 <sup>a</sup>	1,19±0,07 <sup>c</sup>	1,80±0,53 <sup>b</sup>	0,003
<b>SOD (U/g de protéine)</b>	379,94±4,14 <sup>a</sup>	376,56±0,92 <sup>a</sup>	238,64±48,87 <sup>c</sup>	320,05±46,78 <sup>b</sup>	0,000

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (P < 0,05).

**Tableau A13.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du pancréas chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>MDA (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	1,47 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>	1,66 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	3,67 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	2,03 $\pm$ 0,59 <sup>b</sup>	0,005
<b>PC (<math>\mu\text{mol/mg}</math>)</b>	2,54 $\pm$ 0,25 <sup>c</sup>	2,60 $\pm$ 0,41 <sup>c</sup>	3,07 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	2,98 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	0,001
<b>CAT (U/g)</b>	62,59 $\pm$ 5,55 <sup>a</sup>	60,02 $\pm$ 4,35 <sup>a</sup>	30,07 $\pm$ 4,00 <sup>c</sup>	53,31 $\pm$ 8,82 <sup>b</sup>	0,001
<b>GSH (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	5,40 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>	5,92 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	4,18 $\pm$ 0,35 <sup>c</sup>	5,03 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	0,002
<b>SOD (U/g)</b>	1,63 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	1,66 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,31 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>	1,45 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	0,002

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



**Tableau A14.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux blanc chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>MDA (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	15,00 $\pm$ 3,83 <sup>c</sup>	14,13 $\pm$ 2,76 <sup>c</sup>	31,83 $\pm$ 10,76 <sup>a</sup>	24,43 $\pm$ 3,70 <sup>b</sup>	0,001
<b>PC (<math>\mu\text{mol/mg}</math>)</b>	0,17 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,05	0,20 $\pm$ 0,03	0,156
<b>CAT (U/g)</b>	120,09 $\pm$ 2,44 <sup>a</sup>	133,18 $\pm$ 2,44 <sup>a</sup>	75,35 $\pm$ 11,23 <sup>c</sup>	104,80 $\pm$ 7,97 <sup>b</sup>	0,001
<b>GSH (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	6,71 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	6,82 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	4,49 $\pm$ 1,46 <sup>b</sup>	6,00 $\pm$ 2,24 <sup>a</sup>	0,001
<b>SOD (U/g)</b>	161,39 $\pm$ 1,31 <sup>a</sup>	162,34 $\pm$ 1,14 <sup>a</sup>	136,06 $\pm$ 13,77 <sup>b</sup>	162,10 $\pm$ 0,79 <sup>a</sup>	0,000

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

**Tableau A15.** Marqueurs du statut oxydant/antioxydant de tissu adipeux brun chez les différents lots de rats

<b>Lots</b>	<b>C</b>	<b>CM</b>	<b>D</b>	<b>DM</b>	<b>P (ANOVA)</b>
<b>Paramètres</b>					
<b>MDA (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	12,88 $\pm$ 2,05	12,53 $\pm$ 1,71	17,41 $\pm$ 6,95	13,20 $\pm$ 2,95	0,099
<b>PC (<math>\mu\text{mol/mg}</math>)</b>	1,77 $\pm$ 1,23 <sup>b</sup>	1,82 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>	3,26 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	2,11 $\pm$ 0,77 <sup>b</sup>	0,071
<b>CAT (U/g)</b>	225,30 $\pm$ 29,59 <sup>b</sup>	341,00 $\pm$ 18,26 <sup>a</sup>	168,63 $\pm$ 16,09 <sup>c</sup>	230,93 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>	0,001
<b>GSH (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	5,62 $\pm$ 1,47 <sup>b</sup>	6,79 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	4,02 $\pm$ 1,77 <sup>c</sup>	5,20 $\pm$ 1,35 <sup>b</sup>	0,130
<b>SOD (U/g)</b>	161,55 $\pm$ 1,40 <sup>a</sup>	161,83 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>	118,02 $\pm$ 2,44 <sup>c</sup>	145,39 $\pm$ 2,20 <sup>b</sup>	0,001

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type, n=6. C : rats témoins nourris au régime standard; CM : rats témoins nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10 %; D : rats diabétiques; DM : rats diabétiques nourris au régime standard enrichi en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10%. Les données ont été testées par des tests ANOVA et Tukey. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).



# ARTICLE

## ANTHYPERLIPIDEMIC AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF THE MICROALGAE *NANNOCHLOROPSIS GADITANA* IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

NACER Wassila<sup>1</sup>, BABA AHMED Fatima Zohra<sup>1\*</sup>, MERZOUK Hafida<sup>1</sup>, BENYAGOUB Ouahiba<sup>1</sup> and BOUANANE Samira<sup>1</sup>

1. University of Tlemcen, Faculty of SNVSTU, Department of Biology, Laboratory of Physiology and Biochemistry of Nutrition, Tlemcen, Algeria.

Reçu le 24/10/2019, Révisé le 28/12/2019, Accepté le 30/12/2019

### Abstract

**Description of the subject:** Marine organisms, such as microalgae, have attracted universal interest in the field of research as an alternative source of therapeutic and biological compounds that can be used for treatment of different diseases.

**Objective:** The aim of the present study was to investigate the possible hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effect of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* in streptozotocin-induced diabetic rats.

**Methods:** Diabetes was induced in male Wistar rats by single intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). Male rats were fed on control diet supplemented or not with *Nannochloropsis gaditana* (10%) for two months. At the end of the experiment, plasma and tissues biochemical parameters and oxidant/antioxidant markers were determined.

**Results:** The results obtained in this study show that streptozotocin induced animal diabetes characterized by adverse alterations of the metabolic and the balance oxidant /antioxidant. However, *Nannochloropsis gaditana* supplementation resulted in a significant reduction in the level of plasma glycated hemoglobin, plasma and tissue lipids and attenuates oxidative stress and thus improves metabolic status. In addition, it induced a modulation of lipase activities in diabetic rats. On the other hand, due to its antioxidant properties, *Nannochloropsis gaditana* was shown to have the capacity to mitigate the oxidative stress by increasing the antioxidant defense.

**Conclusion:** This study suggests that the microalgae *Nannochloropsis gaditana* has a beneficial effect in controlling diabetes by reducing blood glucose, lipid profile and oxidative stress, which reduces the risk of developing complications of diabetes.

**Keywords:** *Nannochloropsis gaditana* ; diabetes ; streptozotocin ; lipid profile ; oxidative stress

## EFFETS ANTHYPERLIPIDÉMIQUES ET ANTIOXYDANTS DE LA MICROALGUE *NANNOCHLOROPSIS GADITANA* CHEZ LES RATS DIABÉTIQUES INDUITS PAR LA STREPTOZOTOCINE

### Résumé

**Description du sujet:** Les organismes marins, tels que les microalgues, ont suscité un intérêt universel dans le domaine de la recherche en tant que source alternative de composés thérapeutiques et biologiques pouvant être utilisés pour le traitement de différentes maladies.

**Objectifs:** Le but de la présente étude était d'évaluer le possible effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de la microalgue *Nannochloropsis gaditana* chez les rats rendus diabétiques par streptozotocine.

**Méthodes:** Le diabète a été induit chez les rats Wistar mâles par injection de streptozotocine (45 mg / kg). Les rats mâles ont été nourris avec un régime standard témoin supplémenté ou non en *Nannochloropsis gaditana* (10%) pendant deux mois. À la fin de l'expérimentation, les paramètres biochimiques et les marqueurs oxydants/antioxydants plasmatiques et tissulaires sont déterminés.

**Résultats:** Les résultats obtenus montrent que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par de nombreuses altérations métaboliques et de la balance oxydant/antioxydant. Cependant, la supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* provoque une diminution significative de la concentration plasmatique de glucose, l'hémoglobine glyquée, des lipides plasmatiques et tissulaires et atténue le stress oxydatif et améliore ainsi le statut métabolique. De plus, il induit une modulation des activités des lipases chez le rat diabétique. D'autre part, en raison de ses propriétés antioxydantes, *Nannochloropsis gaditana* a la capacité d'atténuer le stress oxydatif en augmentant les défenses antioxydantes.

**Conclusion:** La présente étude suggère que les microalgues *Nannochloropsis gaditana* ont un effet bénéfique sur le contrôle de diabète par diminution de la glycémie, du profil lipidique et du stress oxydant, ce qui permet de réduire le développement des complications associées au diabète.

**Mots clés:** *Nannochloropsis gaditana* ; diabète ; streptozotocine ; profil lipidique ; stress oxydatif

\* Auteur correspondant: BABA AHMED Fatima Zohra, E-mail:fatimazohra\_7@yahoo.fr

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by the presence of hyperglycemia as a result of defective insulin secretion, faulty insulin action or both [1]. This metabolic disorder is widely prevalent throughout the world, and is considered today as a major public health issue that seriously threatens human health. Indeed, recent studies have found that this disease affects about 4% of the world population and is expected to rise to 5.4% in 2025 [2, 3].

Dyslipidemia is recognized as one of the most prominent risk factors for cardiovascular diseases due to diabetes; it is characterized by hypertriglyceridemia, low high-density lipoprotein cholesterol levels, and increased small and dense low-density lipoprotein-cholesterol particles [4].

Oxidative stress plays a crucial role in the development of diabetic complications. This phenomenon occurs when the balance between oxidant and antioxidant systems shifts in favour of the former, leading to the production of oxygen free radicals [5]. The involvement of oxidative stress in the pathogenesis of diabetes is suggested not only by oxygen free radicals generation, but also due to nonenzymatic protein glycosylation, auto-oxidation of glucose, impaired glutathione metabolism, alteration in antioxidant enzymes and formation of lipid peroxides [6].

It is worth stating that recently, marine organisms, such as microalgae, have attracted universal interest in the field of research as an alternative source of therapeutic and biological compounds that can be used in pharmaceutical,

nutraceutical, antioxidant, anticancer and antiviral applications [7].

Microalgae are microscopic photosynthetic organisms encountered in marine and freshwater environments [8].

*Nannochloropsis gaditana* is a microalga that belongs to the *Eustigmatophyceae* class, which is known as a source of proteins and polyunsaturated fatty acids [9, 10]. Recently, it has been documented that this marine alga possesses a variety of bioactive compounds that exhibit highly beneficial effects on health through their hypoglycemic and hypolipidemic properties [11, 12].

However, to the best of our knowledge, no prior studies have been reported in the literature so far on the effect of *Nannochloropsis gaditana* on streptozotocin-induced diabetic rats. Consequently, the purpose of the present work consists of exploring the effects of *Nannochloropsis gaditana* on lipid profile, lipase activities and redox status in diabetic rats.

## MATERIALS AND METHODS

### 1. Biological material

The microalgae *Nannochloropsis gaditana* used in our experimental protocol originated from Mediterranean Sea; it came from closed microalgae photo bioreactors (Sidi Bel-Abbes, a northwestern Algerian town). After cultivation, the microalgae biomass was harvested and lyophilized. The resulting lyophilisate was then analyzed in order to determine the physico-chemical composition of *Nannochloropsis gaditana*, as shown in Table 1.

Components	Amount
Water content	42.9 g/100g
Dry mater content	57 g/100g
Ash content / DM	5.74 g/100g
Protein content / DM	28 g/100
Fat content / DM	18.4 g/100g
Cellulose content / DM	386 mg/100g
Carbohydrate content / DM	45 g/100g
Calcium content / DM	4.41 g/100g
Manganese content / DM	420 mg/100g
Zinc content / DM	10 mg/100g
Copper content / DM	5 mg /100g
Iron content / DM	17 mg/100g
Beta carotene content / DM	7.85 mg/100g
Vitamin C content/ DM	0.334 g/100g
Vitamin B1content / DM	610 µg /100 g
Vitamin B2 content / DM	2.17 mg/100 g
Vitamin B3content / DM	830 µg/100 g
Vitamin B12 content / DM	1.92 mg/100 g
Linoleic Acid content	11 mg/100 g
Linolenic Acid content	17 mg/100 g
Oleic Acid content	61 mg/100 g

Table 1: Composition of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* DM: dry material

## 2. Animals and experimental design

Male Wistar rats, eight weeks old and weighing between 150 and 200 g, were obtained from the Pasteur institute in Algiers (Algeria), and were used in this study. All experiments were conducted according to the recommendations of the Committee on the Ethics of Animal Experiments and experimental animal care at the University of Tlemcen, in Algeria. The rats were housed in wood-chip bedded plastic cages and maintained under standard laboratory conditions, i.e. 12:12 h light-dark cycle, temperature of 25 °C and relative humidity of 60±5%. Animals had free access to food (control commercial diet for rats ONAB, Algeria) and water.

Diabetes was induced in rats by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ), dissolved in 0.1 M citrate buffer (pH 4.5), at a dose of (45 mg/kg). Diabetes was confirmed three days following the injection, through the estimation of blood glucose level using a glucose meter. It is worth clarifying that rats were considered diabetic only if their blood glucose level exceeded 127 mg/dL; they were then used in the present study.

The selected animals were divided into 4 experimental groups. The first group (control, C,  $n = 10$ ) included normal rats fed a control diet (ONAB); the second group (control microalgae, CM,  $n = 10$ ) contained normal rats fed a control diet enriched with 10% microalgae *Nannochloropsis gaditana*; the third one (diabetic group, D,  $n = 10$ ) involved diabetic rats fed only with control diet; and the fourth and last one (diabetic microalgae, DM,  $n = 10$ ) comprised diabetic rats fed a control diet enriched with 10% microalgae *Nannochloropsis gaditana*. The microalgae *Nannochloropsis gaditana* dosage used in this study was performed according to the protocol of Markovits et al. [13].

## 3. Blood and tissue samples

After the eight week, the experimental animals were fasted overnight and sacrificed. They were anaesthetized with intraperitoneal injection of 10% chloral (0.3 ml per 100 g of body weight). Their blood was then collected from abdominal aorta in two tubes, with and without anticoagulant, for plasma and serum separation. Serum was used for separation of different lipoprotein fractions and plasma was used for biochemical determinations and oxidant/antioxidant status parameters.

After removal of plasma, erythrocytes were washed with isotonic saline and were lysed with ice-cold distilled water and stored at 4 °C for 15 min. The cell debris was removed by centrifugation (2000 g for 15 min). Erythrocyte lysates were assayed for oxidant/antioxidant markers.

Afterwards, the liver, adipose tissue and pancreas were removed, washed with ice-cold saline, quickly blotted and weighed. An aliquot of each tissue was homogenized by means of an Ultra-Turrax homogenizer (Bioblock Scientific, Illkirch, France) in 10 volumes of ice-cold 10 mmol/l phosphate-buffered saline (pH 7.4) containing 1.15% KCl. The homogenates were subjected to a 6000 g centrifugation at 4°C for 15 min. The supernatant fractions were collected and used for tissue triglycerides and total cholesterol assays.

A second aliquot of tissues was homogenized in 0.9% (w/v) NaCl containing heparin (from Sigma in St. Louis, MO, USA) which was used for the determination of the lipoprotein lipase (LPL) activity.

Another portion of the adipose tissue was homogenized in ice cold buffer containing 0.25 M sucrose, 1 mM dithiothreitol and 1 mM EDTA, pH 7.4, supplemented with 20 mg/ml leupeptin, 2 mg/ml antipain and 1 mg/ml pepstatin; it was then used in the adipose hormone sensitive lipase (HSL) assay.

## 4. Chemical analysis

The plasma glucose level was determined using colorimetric enzymatic assays (kits from BioAssay Systems, Hayward, CA). In addition, the plasma and tissue triglycerides (TG) and total cholesterol (TC) were measured using colorimetric enzymatic kits (Sigma, St. Louis, MO, USA). The liquid chromatography method was employed to quantify the glycated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) in whole blood using a kit from Pointe Scientific Inc., United States. Also, the blood cell hemoglobin levels were measured using a hemoglobinometer (HemoCue Ltd., Dronfield, United Kingdom). Serum low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL) and high density lipoprotein (HDL) fractions were separated according to the method of Burstein et al. [14]. Different precipitate fractions were obtained from successive centrifugation with 0.1 ml phosphotungstic acid (30.3 mmol/L) and MgCl<sub>2</sub> (100 mmol/L) reagent mixture. HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and VLDL-cholesterol concentrations were measured by enzymatic methods (Sigma).

The lipase activity (LPL, EC 3.1.1.34; HSL, EC 3.1.1.79) was measured using the pH-stat technique by titrimetric measurement of fatty acids released after hydrolysis of triglycerides of synthetic substrate with NaOH 0.05 M at pH 8 and at temperature 25 °C. The enzyme activity was expressed in international units (IU). One unit corresponds to the release of one micro-equivalent of fatty acid per minute.

### 5. Oxidant/antioxidant marker determination

Plasma vitamin C levels were determined using dinitrophenylhydrazine as previously described [15]. Catalase activity was measured on erythrocyte lysate by spectrophotometric analysis of the rate of hydrogen peroxide decomposition at 240 nm [16]. Erythrocyte reduced glutathione (GSH) levels was assayed by colorimetric method based on the reduction of 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid by GSH to generate 2-nitro-5-thiobenzoic acid (DTNB or Ellman reagent) [17]. Superoxide dismutase (SOD) activity was measured by the NADPH oxidation procedure [18]. Malondialdehyde (MDA) levels, a marker of lipid peroxidation, were determined in plasma and erythrocyte by the procedure of Ohkawa et al. [19] based on the reaction of MDA with thiobarbituric acid. Carbonyl proteins (CARP) (markers of protein oxidation) in plasma and erythrocyte were assayed by the 2,4-dinitrophenyl hydrazine reaction [20].

### 6. Statistical analysis

The results obtained were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD). The results were tested for normal distribution using the Shapiro–Wilk test. Data not normally distributed were logarithmically transformed. Significant differences among the groups were analyzed statistically by a one-way analysis of variance (ANOVA). When significant changes were observed in ANOVA tests, Fisher least significant difference tests were applied to locate the source of significant difference. The significance level was set at  $P < 0.05$ . These calculations were performed using Statistica version 4.1 (Statsoft, Tulsa, OK).

## RESULTS

### 1. Effect of *Nannochloropsis gaditana* on plasma glucose, hemoglobin and glycated hemoglobin

It was found that rats in the diabetic group presented significantly high levels of plasma glucose and glycated hemoglobin, while the hemoglobin level decreased in a significant manner when compared with that of control group rats. However, when microalgae *Nannochloropsis gaditana* was fed to diabetic rats, it tended to bring the above values to near normal (Table 2).

Table 2: Levels of plasma glucose, hemoglobin and glycated hemoglobin in different experimental groups

	Control rats		Diabetic rats		P (ANOVA)
	C	CM	D	DM	
Glucose (g/L)	1.17 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.20 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	4.41 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.44 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.001
HbA <sub>1c</sub> (%)	4.40 $\pm$ 0.14 <sup>c</sup>	4.10 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	10.70 $\pm$ 0.87 <sup>a</sup>	9.60 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	0.004
Hb (mg/dL)	12.22 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	12.63 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	9.53 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	11.03 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.005

Values are presented as means  $\pm$  standard deviations (SD). C: normal rats fed a control diet; CM: normal rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%; D: diabetic rats fed only with control diet; DM: diabetic rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%. HbA<sub>1c</sub>, glycated hemoglobin; Hb, hemoglobin. Values with different superscript letters (a, b, c, d) are significantly different (ANOVA).

### 2. Effect of *Nannochloropsis gaditana* on lipid profile

A significant increase in total cholesterol, triglycerides, VLDL-C and LDL-C with significant decline in HDL-C concentrations was observed in diabetic rats as compared to control rats.

The treatment of rats with *Nannochloropsis gaditana* results in an important decrease in the level of total cholesterol, triglycerides, VLDL-C and LDL-C, while HDL-C was considerably increased compared to streptozotocin-induced diabetic rats (Table 3).

Table 3: Lipid profile in different experimental groups

	Control rats		Diabetic rats		P (ANOVA)
	C	CM	D	DM	
TC (mg/dL)	153.23±0.01 <sup>c</sup>	144.14±0.01 <sup>c</sup>	243.78±0.04 <sup>a</sup>	202.37±0.03 <sup>b</sup>	0.004
TG (mg/dL)	115.12±0.01 <sup>c</sup>	110.32±0.01 <sup>c</sup>	228.68±0.04 <sup>a</sup>	194.28±0.03 <sup>b</sup>	0.006
HDL-C (mg/dL)	81.06±1.12 <sup>b</sup>	92.75±1.47 <sup>a</sup>	59.06±1.18 <sup>d</sup>	73.08±1.21 <sup>c</sup>	0.001
LDL-C (mg/dL)	55.84±1.42 <sup>c</sup>	45.14±2.38 <sup>d</sup>	90.14±2.38 <sup>a</sup>	69.18±1.40 <sup>b</sup>	0.001
VLDL-C (mg/dL)	38.84±2.5 <sup>c</sup>	40.13±1.59 <sup>c</sup>	70.92±1.06 <sup>a</sup>	59.52±2.90 <sup>b</sup>	0.001

Values are presented as means ± standard deviations (SD). C: normal rats fed a control diet; CM: normal rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%; D: diabetic rats fed only with control diet; DM: diabetic rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%. TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; VLDL-C, VLDL cholesterol. Values with different superscript letters (a, b, c, d) are significantly different (ANOVA).

### 3. Effect of *Nannochloropsis gaditana* on tissue lipid levels

The group of diabetic rats showed significantly elevated levels of total cholesterol and triglycerides in their liver, pancreas and adipose tissue as compared to those of the control group.

However, liver, pancreas and adipose tissue total cholesterol and triglycerides contents were remarkably lower in diabetic rats fed a diet supplemented with *Nannochloropsis gaditana* (Fig. 1).

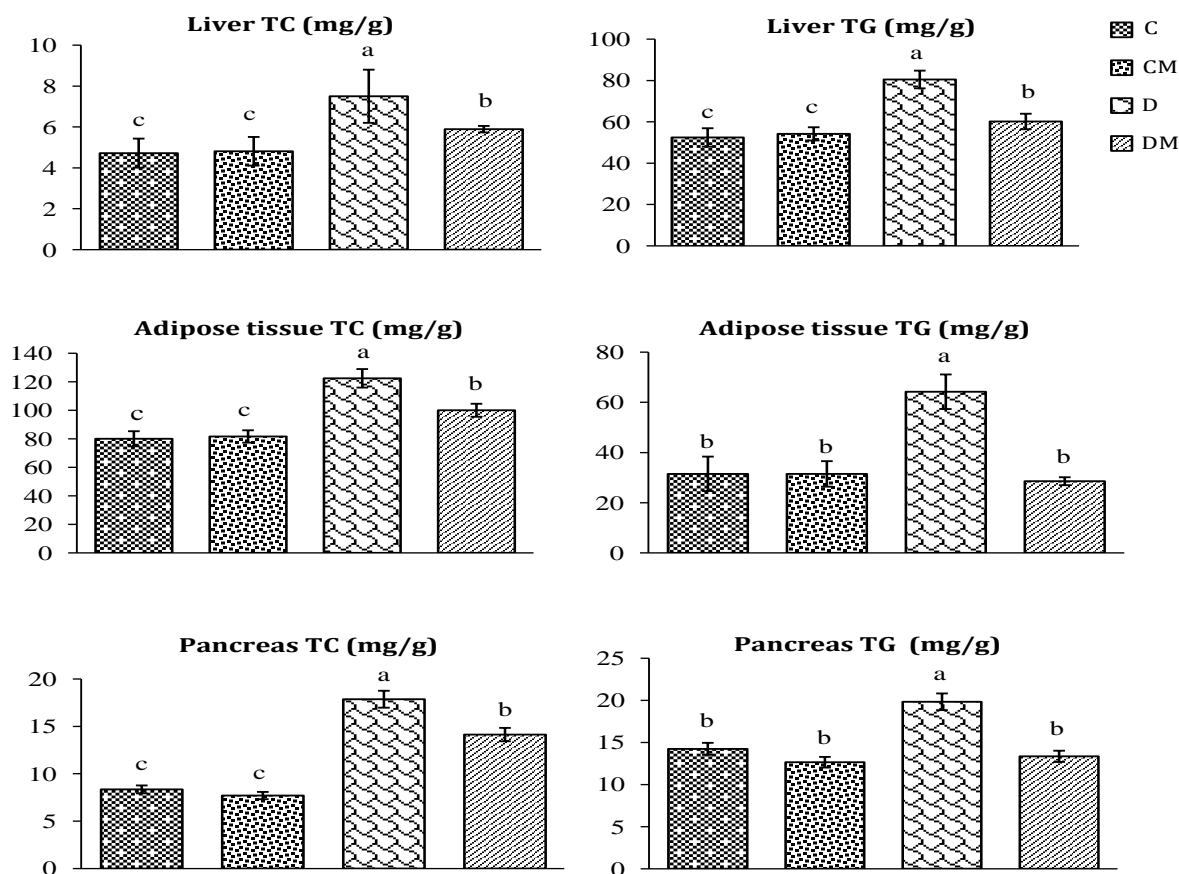


Figure 1: Tissue lipid levels in different experimental groups

Values are presented as means ± standard deviations (SD). C: normal rats fed a control diet; CM: normal rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%; D: diabetic rats fed only with control diet; DM: diabetic rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%. TC, total cholesterol; TG, triglycerides. Values with different superscript letters (a, b, c, d) are significantly different (ANOVA).



**4. Effect of *Nannochloropsis gaditana* on lipase activities in liver, pancreas and adipose tissue**

The LPL activity in liver, pancreas and adipose tissue decreased significantly in diabetic rats by comparison with control rats, whereas higher adipose HSL activity

was detected in streptozotocin-induced diabetic rats. It is worth noting that diabetic rats fed a diet rich in microalgae *Nannochloropsis gaditana* markedly improved their lipase activities as compared to diabetic rats fed a control diet (Fig. 2).

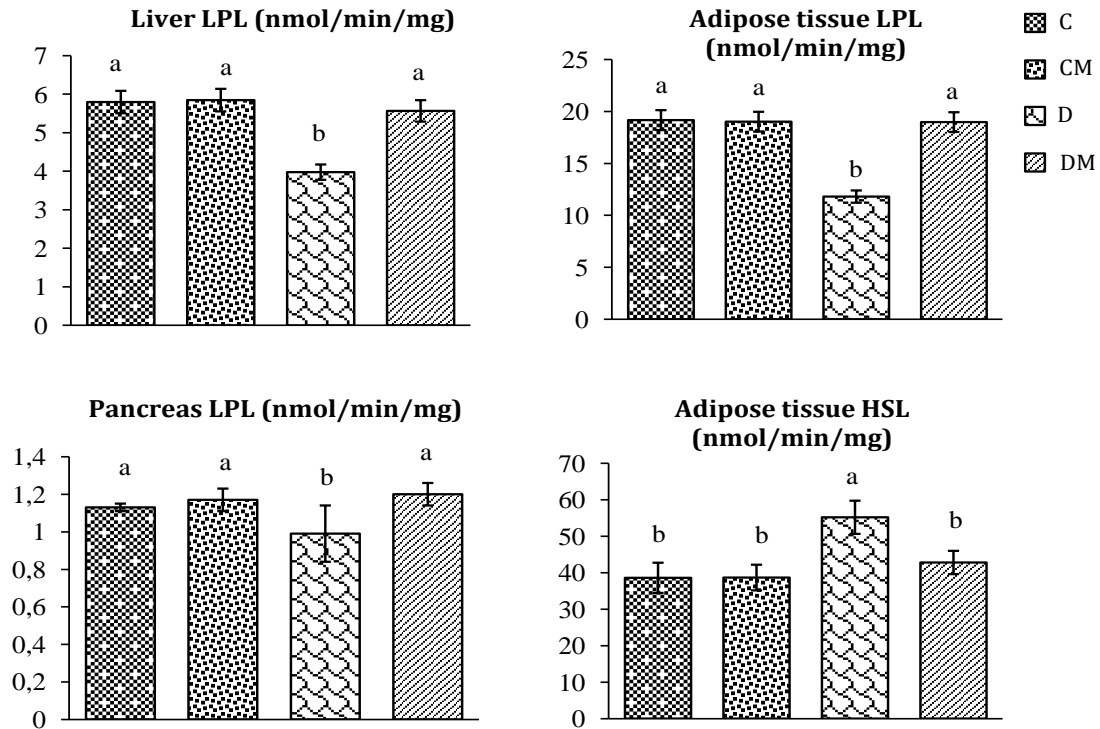


Figure 2: Liver, pancreas and adipose tissue lipase activities in different experimental groups. Values are presented as means ± standard deviations (SD). C: normal rats fed a control diet; CM: normal rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%; D: diabetic rats fed only with control diet; DM: diabetic rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%. LPL, lipoprotein lipase; HSL, hormone sensitive lipase. Values with different superscript letters (a, b, c, d) are significantly different (ANOVA).

**5. Effect of *Nannochloropsis gaditana* on oxidative stress markers**

In diabetic rats, there was a significant increase in oxidant markers (MDA and carbonyl proteins levels) in plasma and erythrocyte, while antioxidant defense markers (plasma vitamin C, erythrocyte GSH, catalase and SOD) were significantly reduced compared to control rats;

however, when these antioxidant enzymes were measured after dietary supplementation with *Nannochloropsis gaditana*, contradictory results were obtained. In addition, *Nannochloropsis gaditana* was able to reduce levels of MDA and carbonyl proteins in plasma and erythrocyte of diabetic rats (Table 4).

Table 4: Plasma and erythrocyte oxidant/antioxidant markers in different experimental groups

	Control rats		Diabetic rats		P (ANOVA)
	C	CM	D	DM	
<b>Plasma</b>					
CARP (nmol/l)	1.12±0.23 <sup>c</sup>	1.31±0.37 <sup>c</sup>	4.68±1.98 <sup>a</sup>	2.89±0.56 <sup>b</sup>	0.000
MDA (µmol/l)	4.52±1.08 <sup>b</sup>	4.18±1.23 <sup>b</sup>	8.37±3.50 <sup>a</sup>	6.37±1.49 <sup>b</sup>	0.018
vitamin C (µmol/l)	18.27±4.63 <sup>a</sup>	18.85±3.90 <sup>a</sup>	10.24±1.78 <sup>c</sup>	12.51±1.69 <sup>b</sup>	0.000
<b>Erythrocyte</b>					
CARP (nmol/l)	3.75±1.72 <sup>b</sup>	3.71±1.10 <sup>b</sup>	6.55±1.88 <sup>a</sup>	5.03±0.82 <sup>b</sup>	0.001
MDA (µmol/l)	2.89±0.19 <sup>c</sup>	3.05±0.82 <sup>c</sup>	6.31±1.33 <sup>a</sup>	4.91±0.91 <sup>b</sup>	0.000
GSH (µmol/l)	5.26±0.56 <sup>a</sup>	5.91±1.27 <sup>a</sup>	2.82±0.52 <sup>c</sup>	4.30±0.73 <sup>b</sup>	0.001
Catalase (U/min/ml)	153.67±35.27 <sup>a</sup>	183.00±10.61 <sup>a</sup>	93.56±11.66 <sup>c</sup>	143.79±3.76 <sup>b</sup>	0.000
SOD (mmol/min/ml)	487.25±4.10 <sup>a</sup>	496.17±1.25 <sup>a</sup>	279.81±17.06 <sup>c</sup>	376.19±38.42 <sup>b</sup>	0.000

Values are presented as means ± standard deviations (SD). C: normal rats fed a control diet; CM: normal rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%; D: diabetic rats fed only with control diet; DM: diabetic rats fed a control diet enriched with microalgae at 10%. CARP, carbonyl proteins; MDA, malondialdehyde; GSH, reduced glutathione; SOD, superoxide dismutase. Values with different superscript letters (a, b, c, d) are significantly different (ANOVA).

## DISCUSSION

Streptozotocin, an antibiotic and anticancer agent, has been widely used for inducing diabetes in animals by effecting degeneration and necrosis of pancreatic  $\beta$ -cells [21]. The present study allowed showing that the intraperitoneal injection of streptozotocin to normal rats resulted in significantly elevated glucose levels, which is in good agreement with the findings of Akberzadah et al. [22] and Jin et al. [5]. In contrast, *Nannochloropsis gaditana* supplementation was shown effective in lowering the levels of plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. The hypoglycemic action of this microalga might be due to the potentiation of the pancreatic secretion of insulin hormone by pancreatic beta cells. *Nannochloropsis gaditana*, through its ability to scavenge free radicals and inhibit lipid peroxidation [11] can prevent the oxidative stress damage caused by streptozotocin and protect the beta cells, thus resulting in decreased plasma glucose levels. Similar findings have been reported in diabetic rats fed a diet supplemented with *Nannochloropsis oculata* [23].

Low levels of hemoglobin observed in diabetic rats suggest an increased production of glycated hemoglobin. Glycated hemoglobin has always been considered as an important indicator of long-term glycemic control [24]. The excess glucose present in the blood of diabetic animals reacts with hemoglobin to form glycated hemoglobin [25]. According to Jangir et al. [26] and Gandhi et al. [27], a higher level of glycated hemoglobin was found in the blood of streptozotocin-induced diabetic rats, indicating their poor glycemic control, thus corroborating our findings.

Therefore, treatment of diabetic rats with *Nannochloropsis gaditana* caused reduction in the levels of glycated hemoglobin. This may be attributed to the improved glycemic control in the body.

In general, diabetes mellitus is associated with lipid disorders [28]. It is important to recall that the most common lipid abnormalities in diabetic subjects are hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia [29]. Indeed, the high lipid levels observed in diabetic rats are normally linked to an increased mobilization of free fatty acids from the peripheral fat depots [30].

In present study, diabetic rats showed a significant increase in total cholesterol, triglycerides, LDL-C, VLDL-C associated with significant decrease in HDL-C levels.

The results obtained were found consistent with those reported by Kebir et al. [31]. However, supplementation with *Nannochloropsis gaditana* at 10% could help to correct the lipid abnormalities observed in streptozotocin-induced diabetic rats. These findings were supported by Aboulthana et al. [23] who found that *Nannochloropsis oculata* decreased the levels of cholesterol, triglycerides, LDL-C but increased the HDL-C content in streptozotocin-induced diabetic rats. It was also revealed that *Nannochloropsis gaditana* has the capacity to improve the lipid metabolism [12]. On the other hand, *Nannochloropsis gaditana* caused a significant reduction in liver, pancreas and adipose tissue total cholesterol and triglycerides contents in diabetic rats. Thus, observed results indicate that *Nannochloropsis gaditana* possesses interesting antihyperlipidemic properties.

In this context, Bendaoud et al. reported that a diet supplemented with 10% *Nannochloropsis gaditana* during a period of 2 months reduced the plasma and tissue triglycerides and cholesterol levels in obese rats subjected to high fat diet [11]. In addition, other studies have discovered that *Nannochloropsis* alga has potential hypocholesterolemic effects on rats fed on high-cholesterol diets [32].

Furthermore, it is well known that lipoprotein lipase (LPL) is a rate-limiting enzyme that catalyzes the hydrolysis of the triglyceride core of the circulating triglyceride-rich lipoproteins, including chylomicrons, with a very low density of lipoproteins [33]. The data obtained revealed a significant decrease in the LPL activities of liver, pancreas and adipose tissue in rats of diabetic groups, as previously reported by Tavangar et al. [34] and Ranganathan et al. [35]. Regarding the adipose hormone-sensitive lipase, a higher level of HSL was observed in diabetic rats as compared to normal rats. These results were found to be highly consistent with those reported in previous studies. In addition, it was suggested that adipocytes isolated from streptozotocin-induced diabetic rats exhibited elevated lipolytic activity which was accompanied by increased HSL activity [36]. Consequently, treatment of diabetic rats with *Nannochloropsis gaditana* induces an important modulation of lipase activities. Moreover, the results achieved indicate that this microalga has the potential to counteract the development of many metabolic diseases and to prevent a number of complications associated with diabetes. It is interesting to note that previous studies have shown that *Nannochloropsis* is considered as a good potential source of EPA (20: 5 $\omega$ 3), and also an important polyunsaturated fatty acid that helps to prevent many diseases [37].

It has been shown that oxidative stress in diabetes mellitus coexists with a reduction in the antioxidant status, which can increase the deleterious effects of free radicals [25]. In a living organism, antioxidant enzymes as well as nonenzymatic antioxidants are the first line of defense against reactive oxygen species (ROS) induced oxidative damage [38]. In the present experiments, oxidative markers such as MDA and carbonyl proteins were elevated, while the antioxidant markers such as vitamin C, GSH, SOD and catalase activity were significantly reduced in diabetic rats.

These results were completely reversed upon treatment with *Nannochloropsis gaditana*, suggesting their antioxidant effect. In this respect, the previous studies have also supported that *Nannochloropsis gaditana* has the capacity to mitigate oxidative stress and enhance antioxidant status in obese rats subjected to a high fat diet [11]. Moreover, the antioxidant properties of *Nannochloropsis gaditana* could be due to various valuable pigments contained in this microalga such as the carotenoids, which are strong antioxidants and radical scavengers [39].

## CONCLUSION

From the present investigation, it can be concluded that *Nannochloropsis gaditana* is effective in improving the lipid profile and modulating the lipase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. In addition, these microalgae, because of their antioxidant properties, could also mitigate oxidative stress and prevent complications associated with diabetes.

## REFERENCES

- [1]. Ozougwu J.C., Obimba K.C., Belonwu., C.D. and Unakalamba C.B. (2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J. Physiol. Pathophysiol*, 4(4): 46-57.
- [2]. Kim S.H., Hyun S.H. and Choung S.Y. (2006). Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *J Ethnopharmacol*, 104: 119-123.
- [3]. Pandey A., Tripathi P., Pandey R., Srivastava R. and Goswami S. (2011). Alternative therapies useful in the management of diabetes: A systematic review. *J Pharm Bioall Sci*, 3(4): 504-512.
- [4]. Chen S.C. and Tseng C.H. (2013). Dyslipidemia, kidney disease, and cardiovascular disease in diabetic patients. *Rev Diabet Stud*, 10: 88-100.
- [5]. Jin L., Xue H.Y., Jin L.J., Li S.Y. and Xu Y.P. (2008). Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Pharmacol*, 582: 162-167.
- [6]. Samarghandian S., Borji A., Delkhosh M.B. and Samini F. (2013). Safranal treatment improves hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharm Pharm Sci*, 16(2):352-362.
- [7]. Valli Nachiyar V. and Renugadevi K. (2015). Bio-prospecting microalgae for value added products. *RJPBCS*, 6(3): 893-900.

- [8]. Priyadarshani I. and Rath B. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae- A review. *J. Algal Biomass Utiln*, 3(4): 89-100.
- [9]. Baba Hamed S., Baba Hamed M.B., Kassouar S. and Abi Ayad S.M.E. (2016). Physicochemical analysis of cellulose from microalgae *Nannochloropsis gaditana*. *Afr. J. Biotechnol*, 15(24): 1201-1207.
- [10]. Camacho-Rodríguez J., Cerón-García M.C., González-López C.V., Fernández-Sevilla J.M., Contreras-Gómez A. and Molina-Grima E. (2013). A low-cost culture medium for the production of *Nannochloropsis gaditana* biomass optimized for aquaculture. *Bioresour Technol*, 144: 57-66.
- [11]. Bendaoud A., Baba Ahmed F.Z., Merzouk H., Bouanane S. and Bendimerad S. (2018). Effects of dietary microalgae *Nannochloropsis gaditana* on serum and redox status in obese rats subjected to a high fat diet. *Phytothérapie*, 1-11.
- [12]. Bendimerad-Benmokhtar S., Bouanane S., Merzouk H., Baba Ahmed F.Z. and Bendaoud A. (2018). Effects of *Nannochloropsis* fed on serum and tissue lipids metabolism in obese offspring of overfed dams. *Curr Nutr Food Sci*, 14: 1-15.
- [13]. Markovits A., Conjeros R., Lopez L. and Lutz M. (1992). Evaluation of marine microalga *Nannochloropsis* sp. As a potential dietary supplement. Chemical, nutritional and short term toxicological evaluation in rats. *Nutr Res*, 12: 1273-1284.
- [14]. Burstein M., Fine A., Atger V., Wirbel E. and Girard-Globa A. (1989). Rapid method for the isolation of two purified subfractions of high density lipoproteins by differential dextran sulfate-magnesium chloride precipitation. *Biochimie*, 71(6): 741-746.
- [15]. Bouanane S., Merzouk H., Benkalfat N.B., Soulimane N., Merzouk S.A. and Grest J. (2009). Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. *Clin Sci*, 116: 669-680.
- [16]. Aebi H. (1974). Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd ed., pp. 673-684 [HU Bergmeyer, editor]. Weinheim: Verlag Chemie.
- [17]. Ellman G. (1995). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82: 70-77.
- [18]. Elstner E.F., Youngman R.J. and Obwad W. (1983). Superoxide dismutase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, third ed., pp. 293-302 [HU Bergmeyer Verlag, editor]. Chemie, Weinheim.
- [19]. Ohkawa H., Ohishi N. and Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95: 351-358.
- [20]. Levine R.L., Garland D., Olivier C.N., Amica A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shantiel S. and Stadtman E.R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol*, 186: 464-478.
- [21]. Merzouk H., Madani S., Chabane D., Prost J., Bouchenak M. and Belleville J. (2000). Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci*, 98: 21-30.
- [22]. Akbarzadeh A., Norouzi D., Mehrabi M.R., Jamshidi Sh., Farhangi A., Verdi A.A., Mofidian S.M. and Rad B.L. (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem*, 22(2): 60-64.
- [23]. Aboulthana W.M., El-Feky A.M., Ibrahim N.E., Sahu R.K. and El-Sayed A.B. (2018). Evaluation of the pancreatoprotective effect of *Nannochloropsis oculata* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. *J App Pharm Sci*, 8(6): 46-58.
- [24]. Sirsikar M., Supriya., Mohanty S. and Pinnelli V.B.K. (2016). Role of glycated hemoglobin (HbA1c) as a dual marker to predict glycemic status and dyslipidemia in type II diabetes mellitus. *Int J Res Med Sci*, 4(10): 4524-4529.
- [25]. Rajasekaran S., Sivagnanam K. and Subramanian S. (2005). Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep*, 57(1): 90-96.
- [26]. Jangir R.N. and Jain G.C. (2017). Evaluation of antidiabetic activity of hydroalcoholic extract of *Cassia fistula* Linn. Pod in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacogn J*, 9(5): 599-606.
- [27]. Gandhi G.R. and Sasikumar P. (2012). Antidiabetic effect of *Merremia emarginata* Burm. F. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2(4): 281-286.
- [28]. Shankarprasad D.S., Gundalli S., Mahantesh B., Kashinakunti S.V. and Sunitha P. (2015). Lipid profile in diabetes mellitus. *Indian J Pathol Oncol*, 2(4): 290-294.
- [29]. Karan S.K., Mondal A., Mishra S.K., Pal D. and Rout K.K. (2013). Antidiabetic effect of *Streblus asper* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*, 51(3): 369-375.
- [30]. Akah P.A., Alemji J.A., Salawu O.A., Okoye T.C. and Offiah N.V. (2009). Effects of *Vernonia amygdalina* on biochemical and hematological parameters in diabetic rats. *Asian J. Med. Sci*, 1(3): 108-113.
- [31]. Kebir N.E., Aichouni A. and Zahzeh T. (2017). Raw camel milk properties on alloxan-induced diabetic wistar rats. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis*, 24(1): 41-47.

- [32]. **Werman M.J., Sukenik A. and Mokady S. (2003).** Effects of the marine unicellular alga *Nannochloropsis* sp. to reduce the plasma and liver cholesterol levels in male rats fed on diets with cholesterol. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 67(10): 2266-2268.
- [33]. **Bensalah M., Bouanane S., Baba Ahmed F.Z., Merzouk H., Merzouk S.A. and Michel N. (2016).** Effect of cafeteria diet on lipid metabolism and lipase activities in Wistar rats. *Eur. Chem. Bull*, 5(3): 99-103.
- [34]. **Tavangar K., Murata Y., Pedersen M.E., Goers J.F., Hoffman A.R. and Kraemer F.B. (1992).** Regulation of lipoprotein lipase in the diabetic rat. *J Clin Invest*, 90(5): 1672-1678.
- [35]. **Ranganathan G., Li C. and Kern P.A. (2000).** The translational regulation of lipoprotein lipase in diabetic rats involves the 3'-untranslated region of the lipoprotein lipase mRNA. *J Biol Chem*, 275(52): 40986-40991.
- [36]. **Sztalryd C. and Kraemer F.B. (1995).** Regulation of hormone-sensitive lipase in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism*, 44(11): 1391-1396.
- [37]. **Abirami S., Murugesan S., Sivamurugan V. and Sivaswamy S.N. (2017).** Screening and optimization of culture conditions of *Nannochloropsis gaditana* for omega 3 fatty acid production. *J App Biol Biotech*, 5(3): 13-17.
- [38]. **Sellamuthu P.S., Arulselvan P., Kamalraj S., Fakurazi S. and Kandasamy M. (2013).** Protective nature of mangiferin on oxidative stress and antioxidant status in tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *ISRN Pharmacol*, 1-10.
- [39]. **Zuluaga M., Gueguen V., Pavon-Djavid G. and Letourneur D. (2017).** Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts*, 7(1): 1-3.

## Résumé

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques qui constituent une source naturelle très intéressante et précieuse de composés bioactifs de grande valeur qui pouvant être bénéfiques dans la prévention du diabète et ses complications. Dans ce contexte le but de cette étude est de mettre en évidence l'impact d'une supplémentation en microalgues *Nannochloropsis gaditana* comme complément alimentaire sur le métabolisme des lipides et des protéines et sur le statut redox chez les rats rendus diabétiques par l'injection de streptozotocine, dont l'objectif est de développer des stratégies préventives ou thérapeutiques efficaces pour réduire l'incidence de diabète et ses complications à long terme. Le diabète a été induit chez les rats mâles Wistar par injection intrapéritonéale de la streptozotocine (45 mg / kg). Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en quatre groupes, nourris avec un régime standard supplémenté ou non en microalgue *Nannochloropsis gaditana* à 10% pendant deux mois. À la fin de l'expérimentation, les rats sont sacrifiés. Le sang et les organes (foie, pancréas, tissu adipeux blanc et tissu adipeux brun) sont prélevés, ainsi que les mitochondries isolées du foie des rats en vu des différents dosages. Nos résultats soulignent que les rats diabétiques affichent des troubles hématologiques, minéraux et métaboliques. De même une altération de la balance oxydante/antioxydante est observée chez ces rats. En revanche, la supplémentation en *Nannochloropsis gaditana* corrige les troubles hématologiques et minéraux chez les rats diabétiques. Ainsi, cette microalgue est capable de réduire les altérations métaboliques liées au diabète par diminution de la glycémie et par amélioration du profil lipidique. De plus, elle induit une modulation des activités des lipases tissulaires (LPL et LHS) et entraîne aussi une amélioration du statut redox au niveau du plasma, des érythrocytes, des organes et des mitochondries chez les rats diabétiques. En conclusion, la microalgue *Nannochloropsis gaditana* prouve leur effet antidiabétique et antioxydant. Son intégration comme complément alimentaire peut constituer une stratégie de lutte contre le diabète et de ses complications.

**Mots clés :** microalgues *Nannochloropsis gaditana*, métabolisme, diabète, streptozotocine, statut redox, mitochondries

## Abstract

Microalgae are photosynthetic microorganisms which constitute a very interesting and precious natural source of valuable bioactive compounds which can be beneficial in the prevention of diabetes and its complications. In this context, the aim of this study is to highlight the impact of *Nannochloropsis gaditana* microalgae supplementation as a dietary supplement on lipid and protein metabolism and on redox status in rats made diabetic by the injection of streptozotocin, the objective of which is to develop effective preventive or therapeutic strategies to reduce the incidence of diabetes and its complications in the long term. Diabetes was induced in male Wistar rats by intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). After the induction of diabetes, all the rats, diabetic and non-diabetic, were divided into four groups, fed on a standard diet supplemented or not with *Nannochloropsis gaditana* microalga at 10% for two months. At the end of the experiment, the rats are sacrificed. The blood and the organs (liver, pancreas, white adipose tissue and brown adipose tissue) are taken, as well as the mitochondria isolated from the liver of rats in view of the different assays. Our results emphasize that diabetic rats display hematological, mineral and metabolic disorders. Similarly, an alteration in the oxidant/antioxidant balance is observed in these rats. In contrast, supplementation with *Nannochloropsis gaditana* corrects hematological and mineral disorders in diabetic rats. Thus, this microalga is capable of reducing the metabolic alterations linked to diabetes by reducing blood sugar and by improving the lipid profile. In addition, it induces a modulation of tissue lipase activities (LPL and LHS) and also leads to an improvement in the redox status in plasma, erythrocytes, organs and mitochondria in diabetic rats. In conclusion, the microalga *Nannochloropsis gaditana* proves their anti-diabetic and antioxidant effect. Its integration as a dietary supplement can constitute a strategy for combating diabetes and its complications.

**Key words:** *Nannochloropsis gaditana* microalgae, metabolism, diabetes, streptozotocin, redox status, mitochondria

## ملخص

الطحالب الدقيقة هي كائنات دقيقة ضوئية والتي تشكل مصدرا طبيعيا ثميننا جدا للمركبات النشطة بيولوجيا و التي يمكن أن تكون مفيدة في الوقاية من مرض السكري ومضاعفاته. في هذا السياق ، تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على تأثير الطحالب الدقيقة *نانوكلوروبسيس غاديتانا* كمكمل غذائي على التمثيل الغذائي للدهون والبروتين وعلى حالة الأكسدة في الفئران المصابة بداء السكري عن طريق حقن الستيروبتوزوتوسين، وهذا يهدف إلى تطوير استراتيجيات وقائية أو علاجية فعالة للحد من الإصابة بمرض السكري ومضاعفاته على المدى الطويل. تم إحداث مرض السكري في ذكور فئران ويستار عن طريق حقن الستيروبتوزوتوسين (45 مغ/كغ). بعد تحريض مرض السكري، تم تقسيم جميع الفئران، السكري وغير السكري، إلى أربع مجموعات، تتغذى على نظام غذائي قياسي مكمل أو لا مع الطحالب الدقيقة *نانوكلوروبسيس غاديتانا* بنسبة 10٪ لمدة شهرين. في نهاية التجربة، يتم التضحية بالفئران. يتم أخذ الدم والأعضاء (الكبد، البنكرياس، الأنسجة الدهنية البيضاء والأنسجة الدهنية البنينة)، وكذلك الميتوكوندريا المعزولة من كبد الفئران في ضوء المقاييس المختلفة. تؤكد النتائج التي توصلنا إليها على أن الفئران المصابة بداء السكري تعاني من اضطرابات في الدم والمعدن والتمثيل الغذائي. وبالمثل، لوحظ تغيير في توازن الأكسدة/مضادات الأكسدة في هذه الفئران. في المقابل، المكملات مع *نانوكلوروبسيس غاديتانا* تصحح الاضطرابات الدموية والمعدنية في الجرذان المصابة بداء السكري. و من ناحية أخرى، فإن هذه الطحالب الدقيقة قادرة على تقليل التغيرات الأيضية المرتبطة بمرض السكري عن طريق تقليل نسبة السكر في الدم وتحسين ملف الدهون. بالإضافة إلى ذلك، فإنها تحفز تعديل أنشطة الليباز في الأنسجة (LPL و LHS) وتؤدي أيضًا إلى تحسين حالة الأكسدة في البلازما والخلايا الحمراء والأعضاء والميتوكوندريا في الفئران المصابة بداء السكري. من خلال هذا نستنتج ان الطحالب الخضراء *نانوكلوروبسيس غاديتانا* يمكن ان تكون علاج فعال ضد مرض السكري ومضاعفاته.

**الكلمات الرئيسية :** الطحالب الدقيقة *نانوكلوروبسيس غاديتانا*، التمثيل الغذائي، السكري، الستيروبتوزوتوسين، حالة الأكسدة، الميتوكوندريا