



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique



UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID DE TLEMCEM

Faculté Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de
l'Univers Département de Biologie

Laboratoire de recherche

Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie

Option : *Physiopathologie*

Thème

**Evaluation des effets biologiques et métaboliques
des extraits des grignons d'olive de l'ouest
algérien sur des rats rendus diabétiques**

Présentée par : BENMELIANI Fatiha Ep. YOUSFI

Soutenue publiquement, le 23/11/2024, devant le jury composé de :

- | | |
|--|---------------------|
| •Mme MERZOUK Hafida Professeur Univ. Tlemcen | Présidente |
| •Mme BENHAMMOU-BELYAGOUBI Nabila Professeur Univ. Tlemcen | Examinatrice |
| •Mme MEDJDOUB Amel MCA Univ. Oran | Examinatrice |
| •Mlle IMESSAOUDENE Asmahan MCA Univ. Tissemsilt | Examinatrice |
| •Mme GUERMOUCHE Baya Professeur Univ. Tlemcen | Directrice de thèse |

Année universitaire : 2024-2023





Remerciements

À l'issue de mon parcours doctoral, je prends un moment pour réfléchir au chemin parcouru depuis mes premiers pas à l'université. Ce voyage a été une véritable aventure, marquée par la croissance, l'épanouissement et l'accomplissement d'un projet ambitieux. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes celles et tous ceux qui m'ont guidée et soutenue tout au long de cette aventure.

Ce doctorat n'est pas seulement une réussite personnelle, mais aussi le fruit d'un effort collectif. Je suis fière d'avoir partagé cette expérience avec vous et je garderai précieusement le souvenir de ces années de travail et d'apprentissage.

Plutôt que de me limiter à une simple énumération de noms, je souhaite mettre en lumière l'impact considérable que chacune et chacun d'entre vous a eu sur mon parcours.

Tout d'abord, je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères à ma directrice de thèse, Madame **GUERMOUCHE Baya**, Professeure à l'Université de Tlemcen et membre du Laboratoire de Recherche en Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition. Je lui exprime ma profonde reconnaissance pour avoir accepté de superviser ma recherche et pour m'avoir guidée dans la réalisation de ce travail. Ses conseils avisés, son expertise et son soutien constant ont été d'une valeur inestimable pour moi.

Je souhaite également exprimer ma sincère gratitude à Madame la Professeure **MERZOUK Hafida**, de l'Université de Tlemcen, qui a accepté de présider le jury de ma thèse. C'est un véritable honneur de bénéficier de son expertise et de sa reconnaissance. Je la remercie sincèrement pour ses précieux conseils, pour m'avoir permis de travailler sur ce sujet captivant, ainsi que pour son accueil chaleureux au sein de son laboratoire. Son accompagnement attentif et ses orientations éclairées ont été déterminants dans l'aboutissement de ce travail.

Je tiens à adresser ma plus profonde gratitude à Madame **BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila**, Professeure à l'Université de Tlemcen, pour son soutien et son accompagnement tout au long de mon parcours. J'ai eu l'inestimable privilège de bénéficier de ses conseils qui ont constitué des sources inestimables d'inspiration et d'apprentissage. Veuillez recevoir ici l'expression de ma reconnaissance la plus respectueuse. La concrétisation de cette thèse n'aurait été possible sans votre bienveillance et votre compréhension, et je vous en suis profondément reconnaissante.





Remerciements

Je remercie également Madame **MEDJDOUB Amel**, Maître de Conférences à l'Université d'Oran, ainsi que Mademoiselle **IMESSAOUDENE Asmahan**, Maître de Conférences à l'Université de Tissemsilt, d'avoir accepté de faire partie des examinateurs de ma thèse. Leur soutien et leur confiance dans l'évaluation de ce travail m'ont été précieux, et je leur en suis profondément reconnaissante.

Un remerciement particulier va à Madame **MEDJDOUB Houria**, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen. Je lui suis infiniment reconnaissante pour son soutien constant et ses encouragements qui ont été un véritable moteur tout au long de ma thèse. Ses conseils avisés ont été d'une aide précieuse dans mes progrès.

Je souhaite également remercier chaleureusement les **Drs KHERRAF Yamna** et **BENZAZOUA Nassima** pour leur contribution à la réalisation, à la lecture et à l'interprétation des coupes histologiques. Leur expertise a été d'une grande valeur pour ma recherche et leur soutien m'a permis de surmonter de nombreux défis techniques.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à Madame **BENDIAB Hadjer** pour ses précieux conseils et son aide dans la réalisation de l'étude statistique. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon respect.

Un grand merci à **toutes les doctorantes et à tous les membres** du Laboratoire de Recherche en Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition, ainsi qu'à ceux du laboratoire des produits naturels d'Imama. Les moments précieux partagés avec vous resteront gravés dans ma mémoire. Cette thèse n'aurait pu voir le jour sans votre soutien, votre bienveillance et votre compréhension, et je vous en suis profondément reconnaissante.

Enfin, il m'est agréable d'exprimer mes sincères remerciements **à tous les enseignants** qui ont contribué à ma formation, ainsi qu'à toutes celles et tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce projet de thèse. À celles et ceux que j'aurais involontairement oubliés, je vous adresse mes plus vifs remerciements du fond du cœur.

Chacune et chacun d'entre vous a joué un rôle essentiel dans la réussite de ce projet, et je vous en suis sincèrement reconnaissante.

Merci du fond du cœur.





Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents,

Je tenais à vous exprimer ma reconnaissance éternelle pour votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible. Vous avez toujours cru en moi, même lorsque je doutais de moi-même. Malgré votre absence physique, vous restez à jamais présents dans mon cœur et votre souvenir m'a guidé tout au long de cette aventure.

A mes enfants,

Sarah Nesrine, Meriem wafae, Ikram Oum Elkheir, Kawther Aman et Mehdi Abdelkader, merci d'avoir illuminé ma vie de vos sourires et de votre joie de vivre. Votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible ont été ma source de motivation tout au long de ces années.

A mon mari,

Yousfi Hadj Farh Aissa, merci d'avoir été mon pilier et mon confident durant cette aventure. Tu as toujours cru en moi, même lorsque je doutais de moi-même. Ton amour, ta patience et tes encouragements ont été essentiels à ma réussite.

A tous les membres de ma famille,

Pour leur soutien précieux et leur présence réconfortante. Vous avez toujours été là pour moi, aux bons comme aux mauvais moments.

A mes amies,

Ces âmes bienveillantes qui ont illuminé mon quotidien. Vos conseils, votre écoute attentive et vos moments de partage ont été une source de motivation inestimable.

A mes camarades doctorants en physiologie et biochimie de nutrition, en physiologie et physiopathologie cellulaire, ainsi qu'à tous les ingénieurs de laboratoire de Ppabionut et du laboratoire de produits naturels d'Imama. Merci pour votre entraide, votre gentillesse et votre esprit de camaraderie. Ensemble, nous avons créé un environnement d'apprentissage stimulant et enrichissant.

Cette thèse est le fruit d'un travail acharné et d'une collaboration précieuse. Je suis reconnaissante envers chacun d'entre vous pour le rôle que vous avez joué dans mon accomplissement.

Merci du fond du cœur



AVANT PROPOS

Ce doctorat s'est déroulé principalement au laboratoire PPABIONUT de l'Université de Tlemcen. Certaines manipulations ont également été réalisées au laboratoire de Produits naturels de Tlemcen. Les résultats de cette recherche ont fait l'objet de publications dans des revues scientifiques internationales et ont été présentés lors de conférences internationales et nationales.

Parmi ces publications qui ont bénéficié d'une diffusion internationale.

Premier article :

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Chenini-Bendiab Hadjer, Haddam Nahida, Kherraf Yamna, Benousser Nesrine, Tahir Fatima Zohra, Badi Zoulikha, Merzouk Hafida, Belyagoubi-Benhammou Nabila. (2023). Potential bioactivity of Algerian olive pomace hydro-ethanolic extract: phytochemical investigation, antioxidant activity, and acute toxicity. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 16, 49–61. <https://doi.org/10.1007/s13530-023-00197-2>.

Deuxième article:

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Belyagoubi-Benhammou Nabila, Kherraf Yamna, Benzazoua, Nassima, Merzouk Hafida, Medjdoub Houria. (2024). Evaluation of the antioxidant and antidiabetic activity of the hydro-ethanolic extract and aqueous fraction of olive pomace on an experimental model of streptozotocin (STZ)-induced diabetes. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02831-7>

2021

Webinaire National sur « Valorisation des matières résiduelles du secteur agro-alimentaire ». Tlemcen, Algérie : 26/06/2021

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Badi Zoulikha, Tahir Fatima Zohra. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique et éthanolic des grignons d'olive.

2021

The seventh MGIBR International Seminar of « Startups and smart agriculture ». Tlemcen, Algérie : 15-16/12/2021

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Tahir Fatima Zohra. Etude de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait hydro-ethanolic de grignons d'olive.

2021

The seventh MGIBR International Seminar of « Startups and smart agriculture ». Tlemcen, Algérie: 15-16/12/2021

Tahir Fatima Zahra, Tefiani C, Haddam Nahida, **Benmeliani Fatiha**. Effet de l'addition de la parche de café dans la culture de *Pleurotus ostreatus*.

2022

The International Seminar of The « Valorisation of Agronomic, Ecological and Food Resources ISVAEFR ». Skikda, Algérie: 18-20/10/2022

Habi Salim, Cherrak Sabri Ahmed, Larbi Belyagoubi, Souna Mimmoun, Amina Touil, Benoussar Fatima Zohra Nesrine, Benyelles Meriem, Melliani Nouria, Tahir Fatima Zahra, Baraka Chems Houda, Reghi Halima, **Benmeliani Fatiha**, Laroussi Mohamed Amine. Effet de l'addition de la parche de café dans la culture de *Pleurotus ostreatus*

2022

Le comité scientifique du Séminaire National « Alimentation et santé ». Relizane, Algérie : 05/12/2022

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Badi Zoulikha, Tahir Fatima Zohra. Evaluation of anti-hemolytic activity of methanol and ethanol extract of olive pomace.

2022

5ème séminaire LAREDIAB et des 11ème journée AMWIT. Tlemcen, Algérie : 09-10/12/2022

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Tahir Fatima Zohra. Antidiabetogenic and cytoprotective effect of aqueous fraction and ethanol extract of olive pomace on an experimental model of diabetes induced by streptozotocin.

2023

1er workshop sur « Economie Circulaire : un gisement pour l'attractivité du secteur agricole et Agro-industrie nationale ». Boumerdès, Algérie : 31/01/2023

Benoussar Fatima Zohra Nesrine, Haddam Nahida, Tahir Fatima Zahra, Habi Salim, **Benmeliani Fatiha**. Screening phytochimique de l'extrait aqueux de la parche de café.

2023

The First International Webinar on « Promotion and Exploitation of Plants of Ecological and Economic Interest ». Khenchela, Algérie: 15-16/03/2023

Benoussar Fatima Zohra Nesrine, Haddam Nahida, Tahir Fatima Zahra, Habi Salim, Laroussi Mohamed Amine, **Benmeliani Fatiha**. Screening phytochimique de l'extrait aqueux de la parche de café.

2023

1er séminaire national, Valorisation des matières résiduelles du secteur agro-alimentaire et application en santé et maladies. Tlemcen, Algérie : 17/06/2023

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya. Effet antioxydant et antidiabétique de l'extrait hydro-éthanolique de grignons d'olive sur un modèle expérimental du diabète induit par la streptozotocine.

2023

The 2nd National Day on Citriculture in Algeria. Tlemcen, Algérie: 13/12/2024

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Belyagoubi Benhamou Nabila, Benoussar Fatima Zohra Nesrine. Exploration du Potentiel Antioxydant de l'Extrait des Grignons d'olive : Une Étude Approfondie des Composés Bioactifs et des Applications Pharmacologiques.

2024

In the 9th International Seminar MGIBR of « BIODIVERSITY: Food Security & Health ». Tlemcen, Algérie : 20-22/04/2024

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Belyagoubi Benhamou Nabila, Habi Salim. Effets antioxydants et protecteurs de la fraction aqueuse des grignons d'olive contre les altérations cellulaires induites par la STZ Chez le rat rendu diabétique.

2024

The 5th National Seminar MGBIR between Student and Investor. Tlemcen, Algérie:
06/05/2024

Benmeliani Fatiha, Baya Guermouche, Belyagoubi, Benhamou Nabila, Merzouk Hafida.
Analyse phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive et étude de leurs
activités biologiques.

2024

The second International Congress on Energy and Industrial Processes Engineering
ICEIPI'24. Alger, Algérie: 14-16/05/2024

Benmeliani Fatiha, Guermouche Baya, Belyagoubi Benhamou Nabila, Habi salim,
Medjdoub Houria, Merzouk Hafida. Antioxidant and protective effects of bioactive
compounds contained in the hydro-ethanolic extract of olive pomace against cellular
alterations induced by streptozotocin in diabetic rats.

الملخص

لقد أظهرت العديد من الدراسات دور تقل الزيتون في الوقاية من الأمراض المختلفة بفضل خصائصه المضادة للأكسدة. في هذا السياق، استكشفت دراستنا الكيمياء النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، التأثيرات المضادة للسكري، السمية الحادة بالإضافة إلى الخصائص المضادة للتكسر الخلوي والمضادة للالتهابات لاستخلاصات تقل الزيتون أظهر التحليل الكيميائي النباتي أن المستخلص الهيدروإيثانولي لتقل الزيتون يحتوي على تركيزات ملحوظة من المركبات الفينولية (15,55 ± 90,14 mg EAG/g PS) ، الفلافونويدات (73,97 ± 1,08 mg EQ/g PS) والتانينات (7,31 ± 0,96 mg EC/g PS).

كما أظهرت الاختبارات قدرة عالية على مقاومة الأكسدة حيث بلغت قيمة EC_{50} لاختبار DPPH نحو (1,704±0, 023 mg/mL) ، وقيمة EC_{50} للاختزال (0,23± 2,71 mg/mL) ، وبلغت قدرة مضادة للأكسدة قيمة نحو (4,81 ± 45,41 mg EAG/g PS).

أما الجزء المائي الناتج عن المستخلص بعد غسله بمذيبات ذات قطبية متناقصة مثل الأسيتون، أسيتات الإيثيل، الإيثانول ثنائي كلورو ميثان، والماء ، كان أكثر غنى بالمركبات النشطة بيولوجيًا. احتوى هذا الجزء على تركيزات أعلى من المركبات الفينولية (13,99±130,81 mg EAG/g PS) ، الفلافونويدات (3,41±52,01 mg EQ/g PS) والتانينات (10,960 ± 0,966 mg EC/g PS) .

كما أظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة بقدرة EC_{50} لاختبار DPPH قيمة (2,46±0,04 mg/mL) ، EC_{50} للاختزال بلغت ب (1,85±2,026 mg/mL) ، إلى جانب قدرة مضادة للأكسدة بلغت (51,191 ± 3,72 mg EAG /g PS). في إطار دراسة التأثيرات المضادة للسكري الناتج عن الستربتوزوتوسين في جرذان ويستار ، أظهر المستخلص الهيدروإيثانولي والجزء المائي تأثيرات إيجابية على مستوى السكر في الدم، الكوليسترول، والدهون الثلاثية. ساعدت هذه الاستخلاصات في تعزيز إفراز الأنسولين وتقليل مستويات السكر في الدم بشكل ملحوظ. كما أظهرت البوليفينولات الموجودة في الاستخلاصات خصائص قوية مضادة للأكسدة وواقية للخلية، حيث أعادت التوازن الأوكسيدي والاختزالي في خلايا بيتا وقللت من الأضرار التأكسدية مثل مستويات المالونديالدهيد والبروتينات الكربونيلية. تبين أن المستخلص الهيدروإيثانولي خال من السمية الحادة خلال اختبارات DL_{50} بجرعات تصل إلى 5000mg/kg. وعند الجرعات المعتدلة، أظهر المستخلص تأثيرات مفيدة على التمثيل الغذائي بما في ذلك زيادة ملحوظة في الوزن لذكور ومع ذلك فإن الجرعات التي تجاوزت 500mg/kg، تسببت في خلل في وظائف الكبد والكلى رغم أن الفحوصات النسيجية لم تظهر أي تلف في الأنسجة.

في الختام، تتميز استخلاصات تقل الزيتون بخصائصها الغنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا، مما يمنحها إمكانات قوية مضادة للأكسدة، مضادة للسكري، واقية للخلية، مضادة للتكسر الخلوي، ومضادة للالتهابات. كما أن سلامتها عند الجرعات المعتدلة تجعلها مرشحاً واعداً لتطوير استراتيجيات علاجية جديدة مستندة إلى هذه الاستخلاصات الطبيعية

الكلمات المفتاحية: التحليل الكيميائي النباتي، المركبات النشطة بيولوجيًا، الخصائص المضادة للأكسدة، النشاط المضاد لمرض السكري، السمية الحادة

Résumé

De nombreuses études ont souligné le rôle des grignons d'olive (GO) dans la prévention de diverses maladies grâce à ses propriétés antioxydantes. Dans ce contexte, notre étude a exploré la phytochimie, l'activité antioxydante, les effets antidiabétiques, la toxicité aiguë, ainsi que les propriétés anti-hémolytiques et anti-inflammatoires des GO. L'analyse phytochimique a révélé des concentrations notables de composés phénoliques (cp), tanins et flavonoïdes, dans l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des GO bruts contenant respectivement $90,14 \pm 15,55$ mg EAG /g PS, $7,31 \pm 0,96$ mg EC/g PS et $73,97 \pm 1,08$ mg EQ/g PS. Le pouvoir antioxydant mesuré par le test DPPH a révélé un EC_{50} de $1,704 \pm 0,023$ mg /mL, tandis que le test de pouvoir reducteur a donné un EC_{50} de $2,71 \pm 0,23$ mg /mL, et la capacité antioxydante totale (CAT) a été évaluée à $45,41 \pm 4,81$ mg EAG/g PS. La fraction aqueuse obtenue à partir de l'extrait délipidé des GO, ayant subi une série de lavages successifs avec des solvants de polarité décroissante (dichlorométhane, acétone, acétate d'éthyle, éthanol et eau), s'est révélée particulièrement riche en composés bioactifs. Elle contient notamment $130,81 \pm 13,99$ mg EAG/g PS de cp, $52,01 \pm 3,41$ mg EQ/g PS de flavonoïdes, et $10,960 \pm 0,966$ mg EC/g PS de tanins. Cette FAq a également montré un pouvoir antioxydant remarquable, avec un EC_{50} déterminé par le DPPH de $2,46 \pm 0,04$ mg /mL, un EC_{50} mesuré par le pouvoir reducteur de $2,026 \pm 1,85$ mg /mL, et une CAT de $51,191 \pm 3,72$ mg EAG /g PS. Dans le cadre du diabète induit par la streptozotocine chez le rat Wistar, l'extrait hydro-ethanolique des GO bruts et la fraction aqueuse des GO délipidés, ont montré des effets bénéfiques sur le cholestérol, les triglycérides, favorisant la sécrétion d'insuline et réduisant significativement les niveaux de glycémie. Ils ont montré un puissant potentiel antioxydant, rétablissant l'équilibre rédox des cellules β et réduisant les dommages oxydatifs, notamment les niveaux de malondialdéhyde et de protéines carbonylées. De plus, ils ont révélé un fort potentiel anti-hémolytique et anti-inflammatoire. Lors de test de toxicité aiguë, l'extrait hydroéthanolique (EHE) s'est révélé non toxique, avec une DL_{50} dépassant 5000 mg/kg indiquant une large marge de sécurité. À des doses modérées, cet extrait a présenté des effets bénéfiques sur le métabolisme, notamment une prise de poids significative observée chez les mâles, soulignant son potentiel d'application pour des usages biologiques ou thérapeutiques. Cependant, des doses supérieures à 500 mg/kg ont entraîné des dysfonctionnements hépatiques et rénaux, bien que les examens histologiques n'aient révélé aucune lésion tissulaire. En conclusion, l'EHE et la fraction aqueuse sont riches en composés bioactifs, qui présentent un fort potentiel antioxydant, cytoprotecteur, antidiabétique, anti-hémolytique et anti-inflammatoire. Leur innocuité à doses modérées en fait des candidats

prometteurs pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur ces extraits naturels.

Mots clés : Grignons d'olive, la phytochimie, propriétés antioxydantes, composés bioactifs, activité antidiabétique, toxicité aiguë.

Abstract

Numerous studies emphasized the role of olive pomace (OP) in the prevention of various healths pathologies due to its antioxidant properties. In this context, our study explored the phytochemistry, antioxidant activity, antidiabetic effects, acute toxicity, as well as the anti-hemolytic and anti-inflammatory properties of olive pomace extracts.

Phytochemical analysis revealed significant concentrations of phenolic compounds, tannins, and flavonoids in the hydro-ethanolic extract (HEE) of raw OP, containing 90.14 ± 15.55 mg GAE/g DW, 7.31 ± 0.96 mg CE/g DW and 73.97 ± 1.08 mg QE/g DW, respectively. The antioxidant power measured by the DPPH test revealed an EC_{50} of 1.704 ± 0.023 mg /mL, while the reducing power yielded an EC_{50} of 2.71 ± 0.23 mg /mL, and the total antioxidant capacity (TAC) was evaluated at 45.41 ± 4.81 mg GAE/g DW. The aqueous fraction (AqF) derived from the delipidated extract of OP, which underwent a series of washes with solvents of decreasing polarity (dichloromethane, acetone, ethyl acetate, ethanol, and water), proved to be even richer in bioactive compounds (bc), containing 130.81 ± 13.99 mg GAE/g DW of pc, 52.01 ± 3.41 mg QE/g DW of flavonoids, and 10.960 ± 0.966 mg CE/g DW of tannins. This AqF also demonstrated remarkable antioxidant power, with an EC_{50} determined by the DPPH of 2.46 ± 0.04 mg /mL, an EC_{50} measured by the Reducing power of 2.026 ± 1.85 mg /mL, and a TAC of 51.191 ± 3.72 mg GAE/g DW. In the case of streptozotocin-induced diabetes, the extracts, particularly AqF, demonstrated beneficial effects on blood glucose, cholesterol, and triglycerides, promoting insulin secretion and significantly reducing blood glucose levels. Furthermore, the polyphenols demonstrated their antioxidant potential by restoring the redox balance of beta cells and reducing oxidative damage, such as levels of malondialdehyde and protein carbonylation. OP has promoted insulin secretion and reduced blood glucose levels. Moreover, OP extracts exhibit strong anti-hemolytic and anti-inflammatory potential. In the acute toxicity, the EHE showed no signs of toxicity, with no fatalities observed. These findings suggest that the LD_{50} exceeds 5000 mg/kg. At moderate doses, the extract demonstrated beneficial effects on metabolism, particularly in females, and resulted in more pronounced weight gain in males. However, at doses exceeding 500 mg/kg of BW, the extract induced dysfunction in the liver and kidneys, fortunately, histological examination of various organs

revealed no tissue damage. In conclusion, OP extracts, rich in bioactive compounds, exhibit strong antioxidant, antidiabetic, anti-hemolytic, and anti-inflammatory potential. Their safety at moderate doses makes them promising candidates for the development of new therapeutic strategies based on these natural extracts.

Keywords: Olive pomace, Phytochemical analysis, bioactive compounds, antioxidant properties, antidiabetic activity, acute toxicity.

Liste des abréviations

GO : Grignon d'olive	TG : Triglycérides
OMS : Organisation Mondiale de la Santé	ADA : Association Américaine du Diabète
EHE : Extrait Hydro-éthanolique	ADN : Acide désoxyribonucléique
DT 1 : Diabète Type 1	ADP : Adénosine Di Phosphate
DT2 : Diabète Type 2	ALX : Alloxane
GLUT 2 : Glucose Transporter 2	ATP : Adénosine Tri Phosphate
STZ : Streptozotocine	CE : Cholestérol-estérase
NOS : NO synthase,	CHOD : Cholestérol-Oxydase
O₂⁻ : Anion superoxyde	DR3 : Death Receptor 3
CT : cholestérol total	DR4 : Death Receptor 4
ROS : Reactive Oxygen Species,	GK : Glycerol Kinase
GSSG : glutathion S-S oxydé	GPO : Glycérol Phosphate-Oxydase
GSH : glutathion réduit	G6PDH : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène	HK : Hexokinase
Hb : hémoglobine	HO• : Radical hydroxyle
HDL-TG : triglycérides des lipoprotéines de haute densité	IR : Insulino résistance
HDL : lipoprotéines de haute densité (high density lipoprotein)	NO : Oxyde nitrique
HDL-C : Cholestérol des lipoprotéines de haute densité	NOD : Non Obese Diabetic
AST : Aspartate transaminase	MODY : Maturity Diabetes of the Young
ALT : Alanine transaminase	NAD + : Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé
TGO : Transaminase Glutamo-oxaloacétique	NADPH, H + : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique	

Liste des figures

Figure 1. Grignons pâteux à la sortie d'un moulin à huile, après séparation des fragments de noyaux w fr.wikipedia.org	6
Figure 2. Diagramme général représentant les différentes voies de valorisation biotechnologiques des sous-produits oléicoles	9
Figure 3. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive.....	16
Figure 4. Les étapes de fractionnement des grignons d'olive (GO) delipidés	17
Figure 5. A : HPLC chromatogramme de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive (GO) brut, B : la fraction Ethanolique, C de la fraction d'acétone, D : la fraction d'acétate d'éthyle, E : la fraction Aqueuse, F : la fraction de dichlorométhane.....	24
Figure 6. Production de l'insuline dans le pancréas humain : Les cellules bêta sont situées à proximité des vaisseaux sanguins qui irriguent le pancréas et dans lesquels elles relâchent l'insuline (w.eurostemcell.org/fr/diabete).....	29
Figure 7. Physiopathologie du diabète type 1. Activation du système immunitaire conduisant à la mort des cellules β	31
Figure 8. Les mécanismes majeurs impliqués dans le diabète de type 2 (adapted from : inzucchi SE, Sherwin RS. La régulation périphérique de la glycémie	34
Figure 9. Relations hyperglycémie et stress oxydant	40
Figure 10. Schéma de différentes formes de ROS	42
Figure 11. Aperçu des différentes ROS et antioxydants régulateurs de leur production	44
Figure 12. Classification des composés phénoliques	51
Figure 13. Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose).....	53
Figure 14. Structure chimique de stibenes	56
Figure 15. Structure générale des lignanes.....	58
Figure 16. Stabilisation de radicaux par l'hydroxytyrosol	60
Figure 17. Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.....	61
Figure 18. Impact des extraits hydro-éthanoliques et de la fraction aqueuse des grignons d'olive sur la croissance pondérale et la variabilité glycémique chez les rats diabétiques	69
Figure 19. Effets de l'extrait Hydro-éthanolique (EHE) des grignons d'olive sur le poids relatif des organes chez les rats diabétiques traités comparés aux témoins.....	70
Figure 20. Effets des extraits des grignons d'olive sur la glycémie et autres marqueurs métaboliques chez les rats diabétiques.....	73

Figure 21. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases (TGO ou AST et TGP ou AST) chez les rats diabétiques	74
Figure 22. Détermination des teneurs en urée et en créatinine sériques chez les rats diabétiques induits par STZ.....	75
Figure 23. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau pancréatique.....	79
Figure 24. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau hépatique.....	80
Figure 25. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau érythrocytaire.....	81
Figure 26. Comparaison histologique du pancréas de rats diabétiques traités avec des extraits des grignons d'olive au 28e jour d'expérimentation	82
Figure 27. Comparaison histologique du foie de rats diabétiques traités avec des extraits des grignons d'olive au 28e jour d'expérimentation	84
Figure 28. Comparaison histologique de reins de rats diabétiques traités avec des extraits des grignons d'olive au 28e jour d'expérimentation	85
Figure 29. Tourteaux agglomérés de l'aliment destiné aux rats wistar	100
Figure 30. Variation du poids corporel chez les mâles traités avec l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des GO dans le cadre d'un test de toxicité orale aiguë	104
Figure 31. Variation du poids corporel chez les femelles traités avec l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des GO dans le cadre d'un test de toxicité orale aiguë	104
Figure 32. Effets de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des grignons d'olive sur le poids relatif des organes chez les mâles traités par voie oral dans le cadre d'un test de toxicité aiguë.....	105
Figure 33. Effets de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des grignons d'olive sur le poids relatif des organes chez des femelles traitées par voie orale dans le test de toxicité aiguë	106
Figure 34. Exploration de la fonction hépatique par analyse sérique chez les rats soumis à un test de toxicité aigue	107
Figure 35. Exploration de la fonction rénale par analyse sérique chez les rats soumis à un test de toxicité aigue	107
Figure 36. Evaluation de quelques paramètres lipidiques sérique chez les rats soumis à un test de toxicité aigue	108
Figure 37. Evaluation de taux de glucose et protéines totales sériques chez les rats soumis à un test de toxicité aigue	109
Figure 38. Evaluation de quelques marqueurs système immunitaire par analyse sérique chez les rats (mâles et femelles) soumis à un test de toxicité aigue	110

Figure 39. Photographies de l’histologie des foies de rats femelles et mâles traités (B, C, D et E) avec (125, 500, 2000 et 5000 mg/Kg pc) de l’extrait d’hydro-éthanolique des grignons d’olive, comparées à l’histologie d’un groupe témoin (A) traité avec une solution saline	111
Figure 40. Photographies de l’histologie des reins de rats femelles et mâles traités (B, C, D et E) avec (125, 500, 2000 et 5000 mg/Kg BW) d’extrait hydro-éthanolique des grignons d’olive comparé à l’histologie d’un groupe témoin (A)	112
Figure 41. Photographies de l’histologie du tissu adipeux de rats femelles et mâles traités (B, C, D et E) avec (125, 500, 2000 et 5000 mg/Kg pc) de l’extrait hydro-éthanolique des grignons d’olive, comparées à l’histologie d’un groupe témoin (A) traité avec une solution	112
Figure 42. Destruction membranaire par attaque des ERO.....	119
Figure 43. Représentation schématique du fonctionnement du système redox de la membrane plasmique (PMRS), AA-ascorbic acide	120
Figure 44. Pourcentage d’hémolyse dans la fraction aqueuse et l’extrait hydro-éthanolique des grignons d’olive.....	127
Figure 45. L’activité anti hémolytique de l’extrait hydro-éthanolique et de la fraction aqueuse des grignons d’olive comparé à l’acide gallique	128
Figure 46. L’activité anti inflammatoire de l’extrait hydro-éthanolique et de la fraction aqueuse des grignons d’olive comparé au diclofénac	128

Liste des figures en annexes

Figure A 1. Courbe d’étalonnage pour le dosage des phénols totaux	168
Figure A 2. Courbe d’étalonnage pour le dosage des flavonoïdes	168
Figure A 3. Courbe d’étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	168

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition chimique indicative des différents types de grignons.....	10
Tableau 2. Les principaux composés phénoliques identifiés dans les Grignons d'olive	12
Tableau 3. Concentrations moyennes et Teneur en composés phénoliques en % dans les grignons d'olive.....	13
Tableau 4. Les proportions des acides gras du grignon d'olive	14
Tableau 5. Détermination phytochimique, rendement et activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) et de différentes fractions des grignons d'olive.....	22
Tableau 6. Exemples de produits couramment dosés pour mettre en évidence l'oxydation d'une cible moléculaire spécifique	43
Tableau 7. Principaux acides hydroxbenzoïques et hydroxycinnamiques	52
Tableau 8. Classification de certaine structure des Flavonoïdes	55
Tableau 9. Effet de la fraction aqueuse et l'extrait hydro-éthanolique des GO sur les paramètres hématologiques chez les rats diabétiques.....	77

Liste des tableaux en annexes

Tableau A 1. Variation de la glycémie et du poids corporel chez les rats traités ou non avec des extraits dans le cadre de diabète.....	162
Tableau A 2. Evaluation du poids relatif des organes des rats expérimentées cas de diabete	162
Tableau A 3. Impact des grignons d'olive sur les paramètres biochimiques chez les rats dans le cadre de diabète.	163
Tableau A 4. Effet de la fraction aqueuse et l'extrait hydro éthanolique des GO sur les paramètres du statut oxydant anti oxydant au niveau du pancréas, foie et lysat	164
Tableau A 5. Évolution de la croissance pondérale des mâles et des femelles dans le cadre de toxicité aigüe.	165
Tableau A 6. Poids des organes des mâles et femelles traités par l'extrait hydro-éthanolique dans le cadre de toxicité aigüe.	165
Tableau A 7. Effects de l'extrait hydro-éthanolique sur les paramètres biochimiques chez les mâles et les femelles dans le cadre de toxicité aigüe.....	166
Tableau A 8. Effects de l'extrait hydro-éthanolique sur les paramètres hématologiques chez les mâles et les femelles dans le cadre de toxicité aigüe	167

Table des matières

Introduction Générale	1
Partie 01 : Généralités sur les grignons d'olive	
Chapitre 01 : Synthèse bibliographique	
I. Le rôle de l'oléiculture en Algérie : Traditions, Défis et Opportunités	5
II. Généralités sur les grignons d'olive	5
II.1. Définition des grignons d'olives	6
II.2. Conservation des grignons d'olives	7
II.3. Impact environnemental des grignons d'olive	7
II.4. Gestion des grignons d'olive	8
II.4.1. Utilisation des grignons d'olive comme combustible	9
II.4.2. Utilisation des grignons dans le compostage et le lombricompost	9
II.4.3. Utilisation des grignons d'olive dans l'alimentation animale	10
II.5. La composition chimique des grignons d'olive	10
II.5.1. Les composés phénoliques des grignons d'olive	11
II.5.2. La matière grasse (lipidique) des grignons d'olive	13
II.5.3. Les polysaccharides des grignons d'olive	14
Chapitre 02 : Matériels et méthodes	
I. Préparation de matériel végétal pour l'analyse des composés phénoliques.....	15
II. Extraction des composés bioactifs à partir des grignons d'olive.....	15
II.1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts.....	15
II.2. Délipidation et Fractionnement de grignons d'olive.....	16
III. Analyses phytochimiques.....	18
III.1. Quantification du contenu phénolique total des extraits.....	18
III.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits	18
III.3. Quantification de la teneur en tanins condensés des extraits.....	18
IV. Détermination de l'activité antioxydante des extraits	18
IV.1. Test de piégeage des radicaux DPPH	18
IV.2. Détermination de la capacité antioxydante totale (CAT).....	19
IV.3. Détermination du pouvoir antioxydant réducteur	19
V. Identification des composés phénoliques de l'extrait des grignons d'olive par HPLC.....	20
VI. Analyse statistique	20
Chapitre 03 : Résultats et interprétations	
I. Valorisation des grignons d'olive par extraction hydro-éthanolique : Rendement, profil phénolique et activité antioxydante	21

I.1. Rendement de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts et de différentes fractions des GO délipidés.....	21
I.2. Quantification des composés phénoliques de l'extrait hydro-éthanolique des GO bruts	21
I.3. Quantification de composés phénoliques de différentes fractions des GO délipidés.....	21
I.4. Courbe d'étalonnage pour le dosage des phénols totaux	21
I.5. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes	22
I.6. Dosage des tanins	22
II. Évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des GO bruts et de différentes fractions des GO délipidés	22
III. Identification des composés phénoliques de l'extrait des grignons d'olive par empreinte chromatographique HPLC.....	23

Chapitre 04 : Discussion

I. Analyses phytochimiques	25
----------------------------------	----

Partie 02 : Effets des extraits des grignons d'olive sur le métabolisme et le stress

Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le diabète	28
I.1. Définition du diabète	28
I.2. Classification.....	29
I.2.1. Diabète de type 1	29
I.2.2. Diabète de type 2	29
I.3. Le diabète expérimental	30
I.4. Physiopathologie du diabète.....	31
I.4.1. La physiopathologie du diabète de type 1	31
I.4.2. Physiopathologie du diabète de type 2	32
I.5. La régulation périphérique de la glycémie	33
I.6. Troubles métaboliques liés au diabète.....	34
I.7. Diagnostique du diabète	35
I.8. Complications et symptômes du diabète	36
I.9. Traitements du diabète sucré.....	37
I.10. Diabète et tension oxydative	39
II. Stress oxydatif	40
II.1. Définition du stress oxydant	40
II.2. Les radicaux libres	41
II.3. Origines et rôles du stress oxydatif.....	42

II.4. Marqueurs biologiques du stress oxydant.....	43
II.5. Les antioxydants	43
II.5.1. Les antioxydants enzymatiques.....	44
II.5.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	46
Chapitre 02 : Matériels et méthodes	
I. Matériel végétale.....	64
I.1. Préparation de la solution de gavage.....	64
II. Matériel animale	64
II.1. Induction du diabète.....	64
II.1.1. Suivi des tendances de la glycémie et du poids corporel chez les rats expérimentaux.....	65
II.1.2. Analyses biochimiques et hématologiques	65
II.1.3. Détermination des paramètres du stress oxydatif.....	66
II.1.4. Analyse statistique.....	68
Chapitre 03 : Résultats et interprétations	
I. Induction expérimentale du diabète	69
I.1. Évaluation de la glycémie et de l'évolution du poids chez les rats expérimentaux	69
I.2. Impact des extraits des GO sur le poids relatif des organes chez les rats diabétiques ...	70
I.3. Effets des extraits des grignons d'olive sur la glycémie, et autres marqueurs métaboliques et hématologiques chez des rats Wistar diabétiques	71
II. L'analyse histopathologique.....	81
II.1. L'analyse histopathologique du pancréas	82
II.2. L'analyse histopathologique du foie de rats expérimentés.....	83
II.3. L'analyse histopathologique de reins de rats expérimentés.....	84
Chapitre 04 : Discussion	
I. Effet antihyperglycémiant des extraits des grignons d'olive chez des rats diabétiques induits par la STZ.....	86
I.1. Surveillance de l'évolution de la glycémie et du poids corporel chez les rats.....	86
I.2. Évaluation des paramètres biochimiques et hématologiques	88
I.3. Évaluation des paramètres de statut oxydant antioxydant	91
Partie 03 : Toxicité aiguë d'extrait des grignons d'olive	
Chapitre 01 : Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur la toxicité.....	95
I.1. Qu'est-ce que la toxicologie ?.....	95
I.2. Différents types de toxicité.....	95
I.2.1. La toxicité aiguë	95

I.2.2. Toxicité subaiguë (à moyen termes).....	96
I.2.3. Toxicité subchronique	96
I.2.4. Toxicité chronique (long termes).....	96
I.3. Relation dose-effet et relation dose-réponse	96
I.3.1. Détermination de la dose minimale mortelle (DMM)	97
I.3.2. Détermination de la dose létale 50 (DL ₅₀).....	97
I.4. Toxicologie des organes cibles.....	97
I.4.1. Méthodes d'études de toxicité pour les organes cibles.....	98
Chapitre 02 : Matériels et méthodes	
I. Etude de la toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts.....	99
I.1. Matériel végétale	99
I.2. Matériel animale.....	99
I.3. Détermination de la (DL ₅₀) de l'extrait hydro-éthanolique.....	100
I.4. Évaluation des Paramètres Comportementaux, de la Croissance Pondérale et du Poids Relatif des Organes, après sacrifice des rats.....	100
I.5. Analyse des paramètres biochimiques	101
I.6. Dosages des paramètres hématologiques	101
I.7. Étude histopathologique	101
I.8. Analyse statistique.....	102
Chapitre 03 : Résultats et interprétations	
I. Test de toxicité Aiguë dans l'extrait hydro-éthanolique brut des grignons d'olive.....	103
I.1. Détermination de la (DL ₅₀) de l'extrait hydro-éthanolique.....	103
I.2. Évaluation des Paramètres Comportementaux, de la Croissance Pondérale et du Poids Relatif des Organes.....	103
I.3. Évaluation des paramètres biochimiques sériques	106
I.4. Évaluation des paramètres hématologiques	109
I.5. L'examen histopathologie	111
Chapitre ie 04 : Discussion	
I. Test de toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive.....	113
Partie 04 : Évaluation des effets biologiques des extraits des grignon d'olive	
Chapitre 01 : Synthèse bibliographique	
I. L'hémolyse : Définition, causes et conséquences.....	118
I.1. Définition	118
I.2. Conséquences	118
I.3. Facteurs influençant le degré d'hémolyse	118
I.4. Rôle des globules rouges dans l'hémolyse.....	119

I.5. L'Oxydation érythrocytaire et son lien avec l'hémolyse	119
I.6. Les anti-hémolytiques	120
I.7. Action anti-hémolytique des polyphénols	121
II. L'activité anti inflammatoire	121
II.1. L'inflammation : c'est quoi ?.....	121
II.2. Les acteurs de l'inflammation.....	121
II.3. L'inflammation : une symphonie complexe en deux temps	122
II.4. Rôle de l'examen anatomopathologique au cours d'une réaction inflammatoire.....	122
Chapitre 02 : Matériels et méthodes	
I. Préparation des extraits	124
II. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRH)	124
III. Evaluation de test de cytotoxicité l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire des extraits des grignons d'olive	124
III.1. Test de cytotoxicité.....	124
III.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique.....	125
III.3. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire	125
III.4. Analyse statistique	126
Chapitre 03 : Résultats et interprétations	
I. Evaluation de test de cytotoxicité l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire des extraits des grignons d'olive	127
I.1. Test de cytoxicité.....	127
I.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique	129
Chapitre 04 : Discussions	
Conclusion générale	129
Références bibliographiques	129
Annexes	129



Introduction Générale



Depuis près d'un demi-siècle, des études scientifiques ont démontré les bienfaits du régime méditerranéen, reconnu pour offrir une alimentation saine et équilibrée grâce à sa diversité et à sa richesse en aliments d'origine végétale (**Benyaich et al., 2017**). Ce régime repose sur des éléments clés, notamment les graisses saines de l'huile d'olive et les fibres contenues dans les fruits et légumes, qui favorisent la santé cardiovasculaire, un contrôle optimal de la glycémie et protègent contre l'inflammation et les déséquilibres métaboliques (**Ancel, 2021**). Notre étude a porté spécifiquement sur l'un des sous-produits de ces aliments d'origine végétale : l'huile d'olive. Consommée pour ses multiples vertus nutritionnelles et sanitaires, l'huile d'olive a contribué à une augmentation de 40 % de sa production mondiale, accompagnant ainsi l'essor de la culture de l'olivier (**Montpellier et al., 2019 ; Dermeche et al., 2020**). Cet arbre emblématique, qui façonne le paysage méditerranéen de sa silhouette caractéristique, possède une forte symbolique dans de nombreux textes religieux tels que le Coran, la Bible et la Torah, où il incarne depuis des millénaires la vie et l'abondance (**Angles, 2016 ; Bouzeboudja et al., 2021**). L'Algérie fait partie des pays méditerranéens où l'olivier trouve un environnement propice, avec environ 21 millions d'oliviers couvrant une superficie de 288 442 hectares. L'oléiculture y représente la culture arboricole la plus importante en termes de surface. L'oléiculture représente l'activité arboricole (**Benziadi, 2021**). Cette culture a favorisé une production d'huile d'olive qui représente environ 97,5 % de la production des pays méditerranéens (**Munir, 2016**). Selon les données du Conseil oléicole international, la production d'olives destinées à l'huile s'élevait à 3 135 000 tonnes pour l'année 2018 et à 2 751 000 tonnes pour la saison 2018-2019, la majorité étant concentrée dans le bassin méditerranéen (Espagne, Portugal, Italie, Grèce, Turquie, etc.). Ces pays assurent à eux seuls plus de 90 % de la production mondiale d'huile d'olive (**Mylène, 2021**). Les méthodes de production de l'huile d'olive, qu'elles soient traditionnelles ou industrielles, génèrent deux sous-produits : un résidu solide appelé grignon et un résidu liquide appelé margine (**Iboukhoulef, 2020**). La production mondiale d'huile d'olive est d'environ 3 millions de tonnes par an, ce qui génère environ 10,5 millions de tonnes des grignons. En Algérie, la production annuelle d'huile d'olive est d'environ 100 à 120 millions de litres, générant entre 350 000 et 420 000 tonnes des grignons, soit environ 35 % du volume total d'olives traitées (**COI, 2018**). Ces sous-produits constituent, un polluant puissant de l'environnement (**Salah, 2020**) mais qui pourrait aussi être considéré comme une source potentielle de produits naturels de haute valeur additive (**Dermeche, 2020**). Plusieurs études ont prouvé les effets négatifs de ces déchets sur l'environnement (**Zghari et al., 2018**). Cependant, l'olive est particulièrement riche en composés phénoliques. Toutefois, seuls 2 % des phénols totaux présents dans le fruit se retrouvent dans l'huile, tandis que le reste se perd

dans les margines (~53 %) et les grignons (~45 %) (**Rodi et al., 2002**). Le profil phénolique des effluents d'olive identifiés comprend principalement l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'acide parahydroxyphénylacétique, l'acide caféique, l'acide vanillique, ainsi que l'aglycone de l'oleuropéine (**Yakhlef et al., 2019**). Les polyphénols suscitent un grand intérêt pour leurs bienfaits potentiels sur la santé, en raison de leur puissante activité antioxydante, qui sous-tend divers effets biologiques, notamment des propriétés antimicrobiennes, antivirales, antifongiques et antidiabétiques (**Senani & Moulti-Mati, 2012**). Les composés phénoliques se distinguent par leur capacité à inhiber l'oxydation en neutralisant les radicaux libres, jouant ainsi un rôle protecteur pour les érythrocytes sanguins, comme démontré en laboratoire grâce à leur activité antioxydante (**Kebbab et al., 2017**). Ils ont également montré leur efficacité dans la stabilisation des huiles de friture contre l'oxydation thermique, ce qui en fait des antioxydants naturels prometteurs pour des applications agroalimentaires (**Almi et al., 2010**). De nombreuses études ont exploré les propriétés thérapeutiques de ces composés dérivés des sous-produits de l'olivier, soulignant leur potentiel pour le développement de nouvelles solutions de santé naturelles. Les composés phénoliques présents dans les grignons d'olive offrent divers bienfaits : ils sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antitumorales, contribuant ainsi à réduire l'inflammation, à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et à prévenir potentiellement certaines maladies chroniques. Des recherches indiquent qu'une consommation régulière de ces composés pourrait contribuer à la réduction des risques de maladies cardiovasculaires, en améliorant la santé cardiaque et vasculaire. En outre, leur capacité à réguler la glycémie en fait un allié potentiel dans la prévention du diabète de type 2 (**Djedioui, 2019 ; Achat, 2013**).

Des études menées par **Cherrad et al. (2019)** et **Salah et al. (2015)** ont mis en évidence que certains polyphénols peuvent influencer la régulation de la glycémie en améliorant l'activité antioxydante des tissus, ce qui modifie l'absorption du glucose et la sensibilité à l'insuline.

Les polyphénols contenus dans l'huile d'olive, en particulier l'hydroxytyrosol, ont montré leur efficacité à inhiber le stress oxydatif et l'hyperglycémie et prévenir les complications associées au diabète (**Peyrol et al., 2018 ; Hamden et al., 2009**).

Par exemple, la quercétine, un polyphénol, a montré un effet pro-oxydant à fortes doses chez les rats (**Bisht et al., 2010**). Cependant, à des concentrations élevées, en présence de métaux ou dans des cellules soumises à un stress oxydatif important, certains polyphénols se comportent de manière pro-oxydante, contribuant ainsi à la production de radicaux libres. Par exemple, la quercétine, un type de polyphénol, a été observée avoir un effet pro-oxydant à des concentrations élevées chez les rats (**Bisht et al., 2010**). Les polyphénols agissent également

comme agents réducteurs, et seuls ceux ayant un fort potentiel de réduction, capables d'entrer dans des cycles redox, peuvent déclencher cet effet pro-oxydant en générant des espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'acide gallique en est un exemple : il peut réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) ou le cuivre cuivrique (Cu^{2+}) en cuivre cuprique (Cu^+), activant ainsi la réaction de Fenton, qui génère le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), une espèce hautement réactive susceptible d'endommager l'ADN, les lipides et d'autres biomolécules (Achat et al., 2013). Par leurs effets pro-oxydants potentiels, certains polyphénols peuvent ainsi provoquer des dommages oxydatifs à l'ADN, aux lipides et à d'autres structures cellulaires essentielles. La recherche d'un modèle de valorisation des grignons d'olive (GO) nécessite l'identification et le contrôle des facteurs limitant leur utilisation en tant que produit nutraceutique. Notre travail vise à évaluer les propriétés phytochimiques et thérapeutiques des GO collectés dans la région de l'ouest algérien (Tlemcen), ainsi que leurs effets biologiques et métaboliques, dans le but de résoudre des problèmes environnementaux en réduisant la pollution et en préservant la santé publique. Une analyse approfondie de la toxicité aiguë des GO sera également réalisée pour garantir leur sécurité et innocuité en vue d'applications thérapeutiques et pharmacologiques futures. Pour atteindre ces objectifs, nous avons structuré notre étude en quatre parties principales :

La partie 1, intitulée "**Généralités sur les grignons d'olive**", repose sur une analyse générale de l'olivier, comprenant sa distribution géographique dans le monde et en Algérie, en mettant particulièrement l'accent sur l'ouest algérien. Cette analyse s'étend à la composition physicochimique des grignons d'olive (GO), en explorant leurs caractéristiques fondamentales, notamment la composition phytochimique, incluant les polyphénols totaux, le taux de flavonoïdes et de tanins condensés. De plus, nous évaluons l'activité antioxydante de ces composés à l'aide de différents tests (DPPH, CAT et Pouvoir reducteur).

La partie 2 s'intéresse à "**l'évaluation de l'effet antidiabétique de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts et d'une fraction aqueuse de l'extrait délipidé des grignons d'olive lavé par différents solvants de polarité décroissante (dichlorométhane, acétone, acétate d'éthyle éthanol et l'eau)**". Pour ce faire, nous avons utilisé un modèle expérimental du diabète chez des rats Wistar induit par une injection de streptozotocine. Ce modèle nous permet de mieux comprendre les altérations du système métabolique survenant au cours du diabète et de déterminer l'impact des molécules bioactives présentes dans les grignons d'olive sur la stabilisation du fonctionnement cellulaire chez les rats diabétiques.

Dans cette étude, différentes doses d'un extrait hydro-éthanolique et d'une fraction aqueuse des grignons d'olive ont été administrées aux rats diabétiques. L'objectif était d'évaluer

l'efficacité de ces préparations dans la régulation de la glycémie et l'amélioration des paramètres métaboliques chez les rats diabétiques.

Ces animaux ont été suivis et traités pendant 28 jours à raison de 2 ml d'extrait tous les 2 jours. Nos objectifs sont les suivants : approfondir nos connaissances sur les altérations du système métabolique associées au diabète et démontrer que ces produits à valeur ajoutée peuvent constituer un moyen efficace pour améliorer les stratégies de prévention et de traitement du diabète.

Nous visons également à déterminer la capacité protectrice des molécules bioactives contenues dans nos extraits contre l'effet délétère du diabète induit par le STZ et leur contribution à empêcher la perte de l'équilibre redox intracellulaire et organique.

La 3ème partie de la thèse implique **"l'étude de la toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts"** afin de déterminer la dose minimale susceptible de provoquer des effets nocifs sur différents paramètres biochimiques, hématologiques, organiques et tissulaires (foie, reins et tissu adipeux) chez des rats Wistar en bonne santé.

La quatrième partie de la thèse se concentre sur trois objectifs principaux : **"évaluer la cytotoxicité in vitro de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts et de la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés, analyser leur activité anti-hémolytique et explorer leur activité anti-inflammatoire"**.

En guise de conclusion, nous synthétisons les apports majeurs de ce travail et dressons des perspectives prometteuses pour de futures recherches.



Partie I

Généralités sur les grignons d'olive





Le chapitre I

Synthèse bibliographique



I. Le rôle de l'oléiculture en Algérie : Traditions, Défis et Opportunités

L'oléiculture à Tlemcen comme l'un de ses centres historiques, est une pratique ancienne favorisée par un climat méditerranéen propice. Les olives et l'huile produites sont réputées pour leur qualité. Cependant, malgré son importance économique, ce secteur est confronté à des défis tels que la gestion de l'eau et la concurrence internationale. Un défi supplémentaire est la valorisation adéquate des grignons d'olive, un sous-produit dont la mauvaise gestion peut entraîner une pollution environnementale. L'Algérie encourage activement la recherche et le développement de solutions durables pour la valorisation des grignons d'olive. Diverses initiatives sont en cours pour promouvoir son utilisation dans divers domaines, tels que la production d'énergie renouvelable, l'agriculture, l'industrie agroalimentaire, la pharmacie et la cosmétique.

II. Généralités sur les grignons d'olive

L'oléiculture, la culture de l'olivier et la production de son huile précieuse, occupe une place prépondérante dans les économies des pays du bassin méditerranéen. En effet, cette région concentre plus de 94% de la production mondiale d'huile d'olive, faisant d'elle un véritable pilier de l'agriculture méditerranéenne.

Parmi les pays méditerranéens qui se distinguent dans ce domaine, l'Algérie se positionne comme un acteur majeur. Sa longue tradition oléicole, héritée de l'Antiquité, et ses conditions climatiques favorables font de l'Algérie un terroir d'exception pour la production d'huile d'olive de haute qualité.

Lors des années 2016/2017, l'Algérie a produit 66 700 tonnes d'huile d'olive contre 80 000 tonnes en 2017/2018 selon le Conseil Oléicole International (COI, 2018). En effet cette production oléicole pose des sérieux problèmes de pollution environnementale par ses rejets solides (les grignons) et liquides (les margines), dans la nature, sans aucun traitement préalable (Iboukhoulef, 2014). À l'échelle mondiale, la production totale des grignons d'olive est estimée à 20×10^6 chaque année. En Algérie, elle est estimée en moyenne de 9×10^5 tonnes (COI, 2018).

Dans ce contexte la gestion durable de ces effluents dans le cadre de leur valorisation demeure un moyen éminemment pratique à objectif principale le développement socioéconomique, la préservation sanitaire et aussi environnementale (Taleb, 2021). Avant de montrer quelles seraient les possibilités de valorisation par la transformation de ces déchets polluants, il me paraît nécessaire de rassembler quelques généralités sur ces déchets qui vont me servir comme un fonds documentaire très utile pour comprendre bien la composition physicochimique de ces

effluents, ses différentes variétés, ses conditions de conservation ainsi que leur impact sur l'environnement.

II.1. Définition des grignons d'olives

Les grignons d'olive sont des résidus solides obtenus après l'extraction de l'huile d'olive, soit par pressage, soit par centrifugation des olives. Ils présentent environ 35% des olives transformées (Neifar et al., 2013). Ils sont composés par un agrégat de peaux, de résidus de pulpe, de fragments des noyaux (COI, 2018). Ces déchets contiennent en moyenne 28,5% d'eau, 41,5% de coque, 21,5% de pulpe et 8,5% d'huile. Ils représentent environ un tiers du poids des olives fraîches triturées (Aurélié et al., 2013). Les grignons d'olive renferment divers composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins (Zaidi et al., 2009). Les grignons peuvent être transformés en un produit destiné à l'alimentation animale, engrais ou subir une extraction chimique afin de produire de l'huile des grignons d'olive (Labdaoui, 2017).



Figure 1. Grignons pâteux à la sortie d'un moulin à huile, après séparation des fragments de noyaux w fr.wikipedia.org

Il existe divers types des grignons dans le processus d'extraction de l'huile d'olive :

a) Grignons bruts : Les grignons bruts sont les premiers résidus solides obtenus après la première extraction de l'huile d'olive par pression de l'olive entière. Ils présentent une teneur en eau élevée de 24 % et une teneur en huile de 9 %, ce qui les rend susceptibles de s'altérer rapidement à l'air libre. Les grignons bruts sont utilisés ultérieurement pour extraire l'huile résiduelle, utilisée dans la production de savon, tout en contribuant à rendre les déchets solides plus secs (Yaich et al., 2016).

b) Grignons dégraissés ou épuisés : Les grignons dégraissés ou épuisés sont obtenus après le déshuilage des grignons bruts à l'aide d'un solvant organique, généralement de l'hexane. Ils se caractérisent par une faible teneur en matière grasse, de l'ordre de 0,5 %, et une réduction de la teneur en eau, d'environ 10 %, d'où leur appellation "épuisés" et "déshydratés" lors de l'extraction (FAO, 2011). Ils sont plus stables que les grignons bruts, et peuvent être stockés plus longtemps.

c) Grignons épuisés partiellement dénoyautés : Ces résidus résultent de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation.

Ils présentent une teneur en noyaux plus élevée que les grignons épuisés, ce qui leur confère une valeur énergétique plus élevée. Ils sont également plus stables que les grignons bruts, et peuvent être stockés plus longtemps.

d) Grignons gras partiellement dénoyautés : Ces résidus résultent de la séparation partielle du noyau de la pulpe.

II.3. Conservation des grignons d'olives

La conservation des grignons d'olives constitue un défi important, étant donné que ces sous-produits de l'extraction de l'huile d'olive sont riches en eau et en matière grasse, les rendant sensibles à la détérioration (**Aguilera et al., 1986**).

Les grignons bruts, obtenus immédiatement après l'extraction, présentent une teneur en eau d'environ 50 %. Cette humidité favorise le développement de micro-organismes tels que les bactéries, les levures et les moisissures, responsables de la fermentation et du rancissement des grignons d'olive.

La durée de conservation des grignons d'olive bruts est donc limitée, variant en fonction du procédé d'extraction utilisé :

- Les grignons obtenus par centrifugation se détériorent rapidement, en quelques jours.
- Ceux obtenus par pression se conservent un peu plus longtemps, environ 15 jours.
- Les grignons déshydratés, avec une teneur en eau inférieure à 10 %, peuvent se conserver pendant plus d'un an (**Aguilera et al., 1986**).

Bien que la déshydratation des grignons soit une solution efficace pour prolonger leur durée de conservation, ce procédé est coûteux en énergie et n'est pas toujours adapté aux grignons riches en matières grasses.

Une alternative prometteuse à la déshydratation est l'ensilage des grignons. Ce processus de conservation implique le mélange des grignons avec des bactéries lactiques. Ces bactéries produisent de l'acide lactique, acidifiant le milieu et empêchant le développement des micro-organismes responsables de la détérioration (**Aguilera et al., 1986**).

Des essais de conservation des grignons par ensilage ont démontré que cette méthode prolonge la durée de conservation des grignons bruts jusqu'à plusieurs mois. L'ensilage peut être effectué dans des silos-taupinières, des structures simples et économiques.

L'ensilage des grignons offre une solution prometteuse pour la conservation de ce sous-produit agricole (**Nefzaoui, 1991**).

II.4. Impact environnemental des grignons d'olive

Les grignons d'olive, un sous-produit de la production d'huile d'olive, peuvent avoir un impact environnemental important s'ils ne sont pas gérés correctement. Les points critiques comprennent la pollution des sols et des eaux en raison des rejets organiques riches en matière organique, de la présence de polyphénols potentiellement toxiques, des huiles et des graisses susceptibles de contaminer les eaux souterraines (Dermeche, 2020 ; Ducom et al., 2021). Les émissions de gaz à effet de serre, notamment le méthane produit lors de la décomposition des grignons et le CO₂ résultant de l'incinération non valorisée, sont également des préoccupations. En outre, l'impact sur la biodiversité se manifeste par la pollution des habitats et la compétition éventuelle avec les cultures alimentaires lors de la valorisation des grignons d'olive.

II.5. Gestion des grignons d'olive

La gestion appropriée des grignons d'olive, sous-produits de l'industrie oléicole, est essentielle pour minimiser leur impact environnemental (Obied et al., 2005). Ces sous-produits, bien que présentant des risques de pollution, représentent une précieuse source de composés naturels à haute valeur nécessitant une récupération, ainsi qu'un substrat potentiel pour la bioconversion (Galanakis, 2017).

La valorisation des grignons d'olive comprend plusieurs étapes, telles que le tri, le nettoyage, l'extraction de la glycérine et du furfural un composé organique qui peut être utilisé pour la fabrication de produits chimiques, de lubrifiants et de carburants, ainsi que la transformation de la pulpe pour la production de biogaz, de compost ou de savon. Ces processus offrent des avantages significatifs, tels que la réduction des déchets, la valorisation des ressources naturelles et la création de nouvelles opportunités économiques. Diverses voies de valorisation sont explorées, offrant des perspectives variées pour une utilisation bénéfique de ces sous-produits. Plusieurs recherches ont identifié diverses voies de valorisation des sous-produits oléicoles, comme illustré dans la Figure 2. Ces voies offrent ainsi des perspectives variées pour leur utilisation bénéfique.

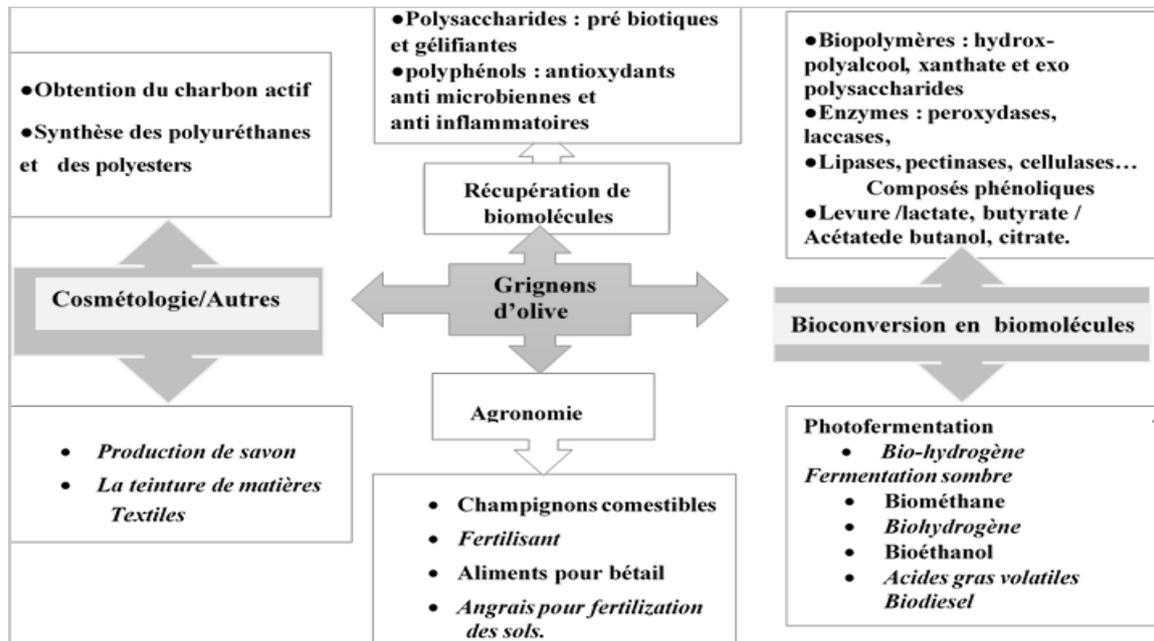


Figure 2. Diagramme général représentant les différentes voies de valorisation biotechnologiques des sous-produits oléicoles (Dermache, 2020)

II.5.1. Utilisation des grignons d'olive comme combustible

Les grignons d'olive sont des combustibles d'une valeur calorifique moyenne de 2950 kcal/kg. Cette quantité de chaleur est principalement fournie par la coque, qui peut également être utilisée comme matière première pour la fabrication de furfural et dans l'industrie du bois pour la production de panneaux de particules (Nefzaoui, 1991). Après la séparation de la pulpe du noyau, la pulpe est transformée en pellets, tandis que les noyaux peuvent être directement utilisés dans les chaudières (Bennini et al., 2017).

II.5.2. Utilisation des grignons dans le compostage et le lombricompost

Le compostage et le lombricompost des grignons d'olive offrent une solution riche en matière organique. La décomposition de cette matière organique, grâce à l'action de bactéries, de champignons, de microorganismes et de lombrics, produit un lombricompost particulièrement enrichi en minéraux tels que l'azote, le phosphore, le calcium et le potassium. Le compost ainsi obtenu joue un rôle essentiel dans l'amélioration de la fertilité des sols et l'augmentation de la productivité des cultures. Des études ont confirmé la qualité élevée du compost issu des déchets oléicoles (Mennane et al., 2010), ce qui le rend adapté à une utilisation en tant qu'engrais agricole, favorisant une fertilisation optimale et la régénération des sols tout en réduisant le recours à d'autres produits chimiques. L'épandage de ces déchets nécessite une étude préalable pour déterminer les doses et les périodes d'épandage adaptées aux cultures fertilisées. Cette approche contribue à réduire les coûts de fertilisation et à limiter la pollution environnementale

causée par ces déchets, offrant ainsi une solution durable et bénéfique tant pour l'agriculture que pour l'environnement (Ndegwa et al., 2001).

II.5.3. Utilisation des grignons d'olive dans l'alimentation animale

Plusieurs chercheurs ont souligné l'importance des grignons d'olive dans la ration alimentaire totale des animaux, en les combinant avec d'autres composants tels que le son, le cactus, la mélasse, le fourrage, les minéraux, etc. (Doreau et Orskov, 1977). De nombreuses études ont exploré la possibilité d'utiliser ces grignons comme ressource alimentaire pour les ruminants en raison de leur contenu en énergie, en protéines brutes et en fibres. Cependant, cette utilisation est entravée par leur faible digestibilité en raison du pourcentage élevé de lignine. Le dénoyautage partiel pourrait réduire ce pourcentage et améliorer la digestibilité. De plus, le contenu élevé en matière grasse et en acide oléique peut susciter un intérêt particulier dans l'alimentation des chèvres laitières, visant à améliorer la qualité nutritionnelle du lait (Keli et al., 2009). En Algérie, la valorisation d'un tel résidu revêt une importance particulière en raison du potentiel fourrager qu'il représente et des problèmes d'alimentation du cheptel, surtout dans des conditions difficiles (Zaidi et al., 2009). Néanmoins, la faible valeur nutritive de ce sous-produit pourrait s'expliquer par la présence de composés phénoliques tels que les tanins, susceptibles de limiter la disponibilité des nutriments (Zaidi et al., 2009).

II.6. La composition chimique des grignons d'olive

La composition chimique des grignons d'olive peut varier légèrement selon la variété d'olive, le procédé d'extraction d'huile et le type de grignon (sec ou humide) Tableau 1 :

Tableau 1. Composition chimique indicative des différents types de grignons (Yaich et al., 2016 ; Neifar et al., 2013 ; Boucherba et al., 2015 ; Dermeche et al., 2013 et Sadegh et al., 2009)

% En Matière Sèche								
Composition Grignons	Matière Sèche (%)	Matière Organique	Matière minérale	Matière azotée	Cellulose brute	Matière grasse	Cp	Protéines (%)
Grignon brut	59,52-94,4	60,3-98,5	3-8,97	0,2-10	35-50	3,5-15	1-3	6-10
Grignon gras partiellement dénoyauté	80-95	6-7	9-12	20-30	15-30	5-12	1-3	6-8
Grignon épuisé	72,3-90,25	84,25	7-15,75	8-10	35-44,5	4-6	1-3	6-8
Grignon épuisé partiellement dénoyauté	85-95,5	93,55	6-8	6,39-14	15-50	4-18,6		6-10

II.6.1. Les composés phénoliques des grignons d'olive

L'olivier est une plante riche en composés phénoliques, qui sont des substances naturelles aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-cancéreuses (**Garcia-Villalba et al., 2010 ; Yakhlef et al., 2018**). L'huile d'olive, qui est le principal produit de l'olive, ne représente que 2,1 % de la teneur totale en phénols de l'olive, Les 98-99 % restants se trouvent dans les déchets de l'huilerie, notamment les grignons d'olive (**Rodis et al., 2002 ; Yakhlef et al., 2018**).

Les grignons d'olive sont composés de 10-35% de pulpe et de 12-45% de noyau d'olive riche en lignine (30%) (**Dermeche et al., 2013 ; de la Casa and Castro, 2014 ; Dhyani et Bhaskar, 2017**). La pulpe des grignons est riche en fibres, sucre, protéines, matière grasse résiduelle, en eau et en composés phénoliques. Les noyaux et les pépins contiennent des huiles, des protéines et des minéraux (**Nefzaoui, 1984**).

Les composés phénoliques des grignons d'olive sont principalement des acides phénoliques, des flavonoïdes et des stibènes. Les acides phénoliques les plus importants sont l'acide gallique, l'acide ellagique et l'acide hydroxytyrosol. Les flavonoïdes les plus importants sont l'oleuropéine, la lutéoline et la quercétine. Les stibènes les plus importants sont le resvératrol et le piceid. Tous présentent un noyau catéchol (1,2-dihydroxybenzène), principal déterminant structural de l'activité antioxydante et complexant (**Achat, 2013 ; Mouzaoui, 2014**).

Les composés phénoliques des grignons d'olive présentent de nombreux avantages pour la santé. Ils peuvent contribuer à réduire le risque de maladies cardiovasculaires, du diabète de type 2, de certains cancers et de maladies neurodégénératives (**Djedioui, 2019 ; Achat, 2013**). La valorisation des grignons d'olive pour la production de composés phénoliques est une voie prometteuse pour améliorer la santé publique et réduire les déchets. Le tableau 2 résume les principaux composés phénoliques identifiés dans les grignons d'olive.

Tableau 2. Les principaux composés phénoliques identifiés dans les Grignons d'olive (Jerman Klen 2014 ; Rubeo et al., 2013 ; Cardoso et al., 2005 ; Obied et al., 2007 ; Molina et al., 2012 ; Sanchez et al., 2011 ; Innocenti et al., 2006 ; Aludatt et al., 2010 ; Suár et al., 2010)

Alcools phénoliques	Acides cinnamiques	Acides benzoïques
Hydroxytyrosol glucoside Tyrosol glucoside Hydroxytyrosol Tyrosol	B-OH-verbascoside Acide Férulique Acide <i>p</i> -Coumarique Acide Cinnamique Acide caféique Acide sinapique	Acide Syringique Acide Proto-catéchique Acide Quinique Vanilline Acide Gallique Acide Vanillique Acide <i>p</i> -Hydroxybenzoïque
Flavonoïdes Hespéridine Flavonols (quercétine, kaempférol Rutine Lutéoline-7- <i>O</i> - glucoside Apigénine-7- <i>O</i> - glucoside Flavones (lutéoline) Épigénine	Lignâmes Acétoxypinorésinol Pinorésinol Secoiridoïdes Oleuropéine diglucoside Oleuropéine Acide élénolique glucoside Ligstroside dérivé Caffeoyl-6'-secologanoside Oleuroside Comsélogoside	Dérivés estérifiés de l'acide caféique Verbascoside Dérivés estérifiés de l'acide élénolique Oleuropeine

S'ils font l'objet de nombreuses recherches aujourd'hui, c'est avant tout parce que les composés phénoliques présentent un fort potentiel dans la prévention de diverses maladies humaines, (Garcia-Villalba ; Vierhuis, 2001). Le profil phénolique, des grignons dépend de plusieurs facteurs tels que le cultivar (variété d'olive), la maturation des fruits, le processus d'extraction de l'huile utilisé, les conditions de stockage des grignons ainsi que par la dégradation enzymatique naturelle et le Solvant d'extraction (Laincer et al., 2016 ; Peres et al., 2017). Le tableau 3 résume les concentrations moyennes de quelques cp extraits des grignons d'olive.

Tableau 3. Concentrations moyennes et Teneur en composés phénoliques en % dans les grignons d'olive (Zaidi et al.,2009 ; Mouzaoui, Yazzag, Moulti-Mati, 2014 ; Cucci et al., 2008 ; Dubravka Vitali Cepo et al., 2018)

		Solvant					
Composés phénoliques (%)		Méthanol/Eau			Acétone/Eau		
Phénol totaux solubles		1,18±0,03			1,5±0,0		
Acides phénoliques attachés au parois		2,08±0,07*			2,64±0,19*		
Phénols non attachés à la cellulose		0,84±0,04*			1,32±0,05*		
Phénols polymérisés		0,17±0,01*			0,24±0,018*		
Phénols non attaches a la protéine		0,52±0,05*			0,61±0,01*		
Flavonoïdes		0,16±0,03*			0,19±0,01*		
Type GO	cpt mg/kg	OL µg/kg	HT µg/kg	Dérives d'HTmg/100 g		Acide phénoliques (mg/100g)	
Issus de l'HM	9,42±0,26	11,88±0,0196	0,21±0,085	Hryrosol	51,26 ± 0,4	Acide 3,4-dihydroxybenzoïque	3,72±0,47
				Tyrosol	88,67 ± 1,17	Acide homo vanillique	1,25±0,12
Issus de HTr	7,64±0,38 12,37(mg/g)	26,56±0,52	3,38±0,24			Acide vanillique	2,16±0,13
				Oleuropeine	16,29 ±0,39	Acide p-hydroxybenzoïque	0,33±0,058

HM : huilerie moderne ; HTr : huilerie traditionnelle ; HT : hydroxytyrosol ; OL : oleuropéine ; cpt : composés phénoliques totaux.

II.6.2. La matière grasse (lipidique) des grignons d'olive

Le grignon d'olive, issu du premier pressage des olives, contient une huile résiduelle appelée huile secondaire. Cette huile extraite des grignons bruts est utilisée dans la production de savon de Marseille et pour assécher les déchets solides. La composition en acides gras des grignons varie en fonction de la variété d'olives, de la région de production et de l'année de récolte, influencée par les conditions environnementales.

Les acides gras se divisent en saturés et insaturés, les derniers comprenant des acides gras essentiels polyinsaturés comme l'acide alpha-linolénique (ALA) et l'acide linoléique (LA), essentiels car notre organisme ne peut les produire. La matière grasse des grignons d'olives est particulièrement riche en acides gras insaturés, principalement l'acide oléique C16 et C18, constituant 96% du total des acides gras, Ces acides gras essentiels pourraient bénéficier aux diabétiques en réduisant les dyslipidémies, comme observé chez le rat (Fritsche, 2015).

En termes d'apport énergétique, la matière grasse des grignons bruts peut être une source importante d'énergie, fournissant environ 4700 Kcal/Kg MS, dont près de 50% au niveau de la paroi (**Zaidi et al., 1983**). Cependant, dans le cas des grignons épuisés, cet apport est limité, Le tableau 4 résume la composition en acides gras des grignons d'olive.

Tableau 4. Les proportions des acides gras du grignon d'olive (**Demeyer, 1981**)

Acides gras	Classe de l'AG	% Matière grasse
Oléique	C18 : 1	65,11
Linoléique	C18 : 2	12,7
Palmitique	C16 : 0	10,46
Linoléique	C18 : 3	0,26
Laurique	C12 : 0	0,14
Myristique	C14 : 0	0,1
Caproïque	C10 : 0	0,08
Caprilique	C8 : 0	0,05
Autres		2,06

II.6.3. Les polysaccharides des grignons d'olive

Les polysaccharides des grignons d'olive, tels que la cellulose, l'hémicellulose et les pectines, ont été identifiés principalement grâce à des études antérieures (**Galanakis et al., 2010 ; Nadour et al., 2015**). Les analyses compositionnelles ont mis en évidence que le glucose est le monosaccharide principal des pectines d'olive, accompagné de galactose, d'arabinose, de rhamnose et d'acide galacturonique. Au cours du processus d'extraction de l'huile d'olive, les pectines, en particulier l'arabinose et les acides uroniques, sont transférées dans les grignons humides, représentant environ 75% de leur composition. Des niveaux élevés de lignine et de cellulose ont également été décelés dans les grignons (**Rodriguez et al., 2008**).

Les extraits polysaccharidiques des grignons démontrent une richesse remarquable en composés phénoliques (cp) dotés de propriétés bioactives similaires à celles des fibres alimentaires antioxydantes, comme signalé par **Rubio-senent et al., (2015)**. Par ailleurs, les activités prébiotiques et antioxydantes des fractions polysaccharidiques de sous produits oléicoles (SPO) algériennes ont été évaluées selon **Nadour et al., (2015)**.



Le chapitre II

Matériels et méthodes



I. Préparation de matériel végétal pour l'analyse des composés phénoliques

Les grignons d'olive ont été collectés après l'extraction de l'huile d'olive de la variété siégoise la plus abondante dans la région d'Ouzidane à Tlemcen, dans l'ouest de l'Algérie. Ils ont ensuite été séchés à l'air à température ambiante dans un endroit bien ventilé et à l'ombre, afin de préserver au maximum les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière, avant d'être finement broyés.

II. Extraction des composés bioactifs à partir des grignons d'olive

II.1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts

Le matériel broyé constitue la matière sèche utilisée pour l'extraction des composés phénoliques. L'extrait hydro-éthanolique est obtenu en faisant macérer 5 g de poudre des grignons d'olive finement broyés dans 100 ml d'un mélange éthanol-eau (80/20, V/V) et en laissant reposer pendant 24 heures. L'extrait obtenu a ensuite été filtré et concentré par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif Eyela à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait pâteux, qui a ensuite été complètement séché dans un dessiccateur pour obtenir un extrait sec (voir Figure 3). Le rendement de l'extrait obtenu à partir de la poudre des GO a été exprimé en pourcentage et calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rend} = (m \times 100) / M,$$

Où :

Rend : Rendement d'extraction en pourcentage

m : Masse de l'extrait sec obtenu

M : Masse de la poudre des grignons d'olive (GO) utilisée

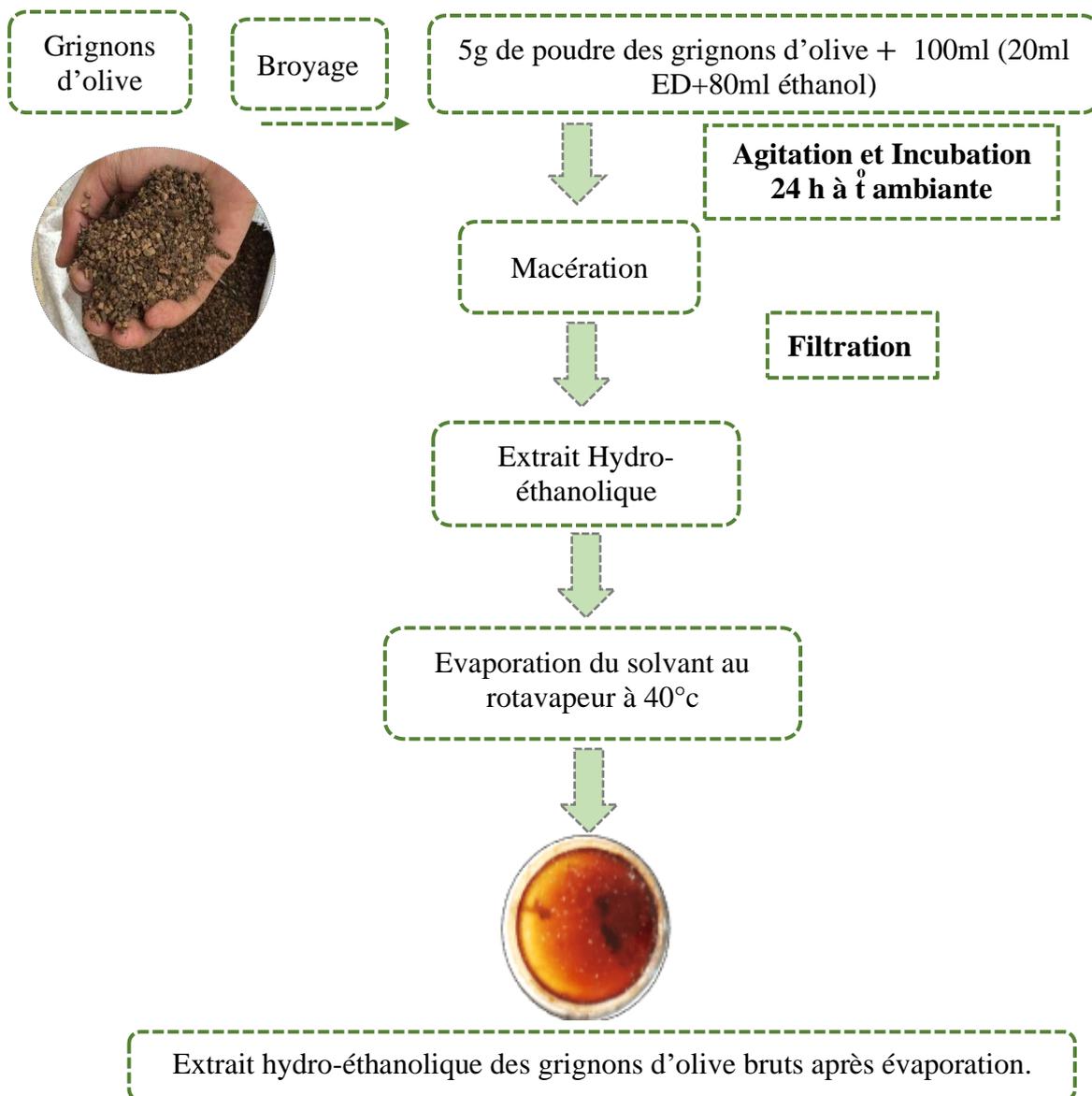


Figure 3. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive

II.2. Délipidation et Fractionnement de grignons d'olive

Afin d'éliminer les lipides qui pourraient interférer avec l'extraction des composés phénoliques (cp), nous avons procédé à une délipidation à l'hexane dans l'appareil du Soxhlet pendant six heures. Pour ce faire, 40 g de poudre des grignons d'olive (GO) bruts ont été placés dans une cartouche de cellulose préalablement pesée. L'ensemble a ensuite été introduit dans le Soxhlet, et la poudre a été soumise à une délipidation à l'aide de 400 mL d'hexane pendant 6 heures.

L'extrait délipidé a ensuite subi une série d'extractions successives à l'aide des solvants de polarité décroissante : dichlorométhane, acétone, acétate d'éthyle, éthanol et eau.

Après agitation pendant 10 min et macération pendant 24 h, l'extrait a été filtré à l'aide d'un papier filtre. L'extrait phénolique a ensuite été séparé du solvant par évaporation sous vide à

45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif Eyela, pour récupérer à la fin une fraction du solvant utilisé (voir Figure 4).

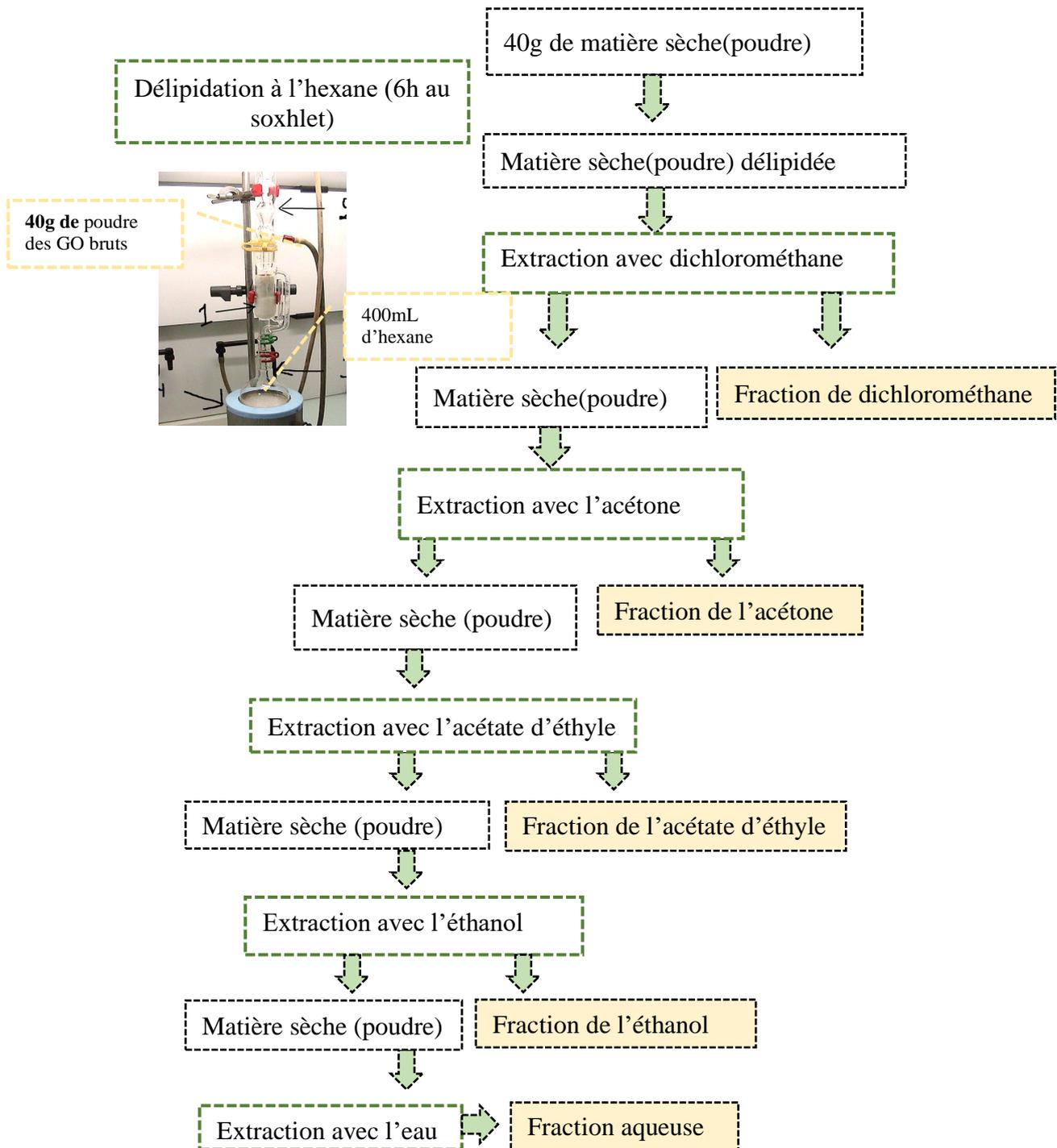


Figure 4. Les étapes de fractionnement des grignons d'olive (GO) delipidés

Le rendement de la quantité d'extraits obtenus à partir de différents solvants à partir de la poudre des GO est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule citée précédemment.

III. Analyses phytochimiques

III.1. Quantification du contenu phénolique total

Le contenu phénolique total a été évalué selon la méthode Folin-Ciocalteu d'après **Singleton et Rossi, (1965)**. Un volume de 200 μL de l'extrait a été mélangé avec 1 mL de réactif de Folin Ciocalteu, préalablement dilué 10 fois avec de l'eau, et 800 μL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5%. Après agitation pendant 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. L'acide gallique a été utilisé comme étalon pour la préparation d'une courbe d'étalonnage. La teneur phénolique totale a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme du poids sec (mg EAG/g PS).

III.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par le test colorimétrique décrit par **Zhishen et al, (1999)**. Brièvement, 500 μL de l'échantillon ont été mélangés avec 1500 μL d'eau distillée et 150 μL d'une solution de NaNO_2 à 5%. Après 5 minutes, 150 μL d' AlCl_3 à 10 % ont été ajoutés et la solution a été incubée pendant 6 minutes à température ambiante. Ensuite, 500 μL de NaOH (1M) ont été ajoutés, le mélange a été bien agité et l'absorbance a été mesurée à 510 nm par rapport à un blanc. La quercétine a été utilisée comme étalon pour la préparation d'une courbe d'étalonnage. Le résultat a été exprimé en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme du poids sec (mg EQ/g PS).

III.3. Quantification de la teneur en tanins condensés

La concentration en tannins condensés a été déterminée en utilisant la méthode à la vanilline développée par **Julkunen, (1985)**, 1500 μL de solution de vanilline/méthanol (4%) ont été ajoutés à 50 μL d'extrait et 750 μL de HCl concentré. L'échantillon a ensuite été incubé à température ambiante pendant 20 minutes et l'absorbance à 550 nm a été mesurée par rapport à un blanc. La catéchine a été utilisée comme étalon pour la préparation d'une courbe d'étalonnage. Le résultat a été exprimé en milligrammes d'équivalents catéchine par gramme du poids sec (mg EC/g PS).

IV. Détermination de l'activité antioxydante

IV.1. Test de piégeage des radicaux DPPH

L'activité de piégeage des radicaux libres de l'échantillon a été déterminée par spectrophotométrie à l'aide du test DPPH (**Sanchez-Moreno et al., 1998**), avec une légère modification. Le radical DPPH absorbe à 517 nm, mais lorsqu'il est réduit par un antioxydant, son absorption diminue. Cinquante microlitres de différentes concentrations d'extrait ont été ajoutés à 1,950 ml d'une solution de DPPH à 0,025 g/L. Le mélange a été incubé à température ambiante.

Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 515 nm par rapport à un blanc (sans extrait végétal ni DPPH). Une solution de DPPH sans échantillon a été utilisée comme contrôle négatif, et le méthanol a été utilisé comme blanc.

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. Chaque échantillon a fait l'objet de trois tests. La concentration de l'extrait produisant une inhibition de 50 % (EC₅₀) a été extrapolée à partir du graphique des pourcentages d'inhibition.

À partir du graphique des pourcentages d'inhibition obtenus en utilisant différentes concentrations de l'extrait. Le potentiel antioxydant des échantillons a été exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}) / A \text{ témoin}] \times 100,$$

Où :

A témoin : Absorbance de la réaction de contrôle (sans extrait végétal)

A échantillon : Absorbance de la solution contenant l'extrait végétal

IV.2. Détermination de la capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait a été déterminée à l'aide de la méthode du phosphomolybdène selon la méthode décrite par **Prieto et al, (1999)**, 3 ml de la solution réactive, contenant 0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium, ont été mélangés à 0,3 ml de l'aliquote de l'extrait. Les tubes ont été bouchés et incubés à 95°C pendant 90 minutes, puis refroidis à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 695 nm par rapport à un blanc sans extrait. L'acide gallique a été utilisé comme étalon pour extrapoler l'activité antioxydante de l'extrait, exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme du poids sec (mg EAG/g PS). Pour garantir la précision des résultats, l'analyse a été effectuée trois fois.

IV.3. Détermination du pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur selon le protocole établi par **Bursal et Gülçin, (2011)**.

Une aliquote de 100 µL de l'extrait a été mélangée à 250 µL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et à 250 µL de potassium hexacyanoferrate (III) K₃Fe (CN)₆ (1%) (m/v). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. Une portion de 250 µL d'acide trichloroacétique (TCA) (10%) a été ajoutée au mélange, qui a ensuite été centrifugé pendant 10 minutes à 3000 tr/min, et 500 µL du surnageant ont été prélevés. À cela, 500 µL d'eau distillée et 100 µL de chlorure de fer (FeCl₃) à 0,1% ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm en utilisant de l'eau distillée comme blanc et comme témoin. Une absorbance plus élevée indique une meilleure capacité de réduction de l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif,

servant de référence pour une activité antioxydante élevée. Chaque test a été répété en triplicata. Les résultats ont été exprimés sous forme de valeur EC_{50} (mg/mL), qui est la concentration efficace de l'échantillon donnant une absorbance de 0,5. Cet indice a été obtenu par analyse de régression linéaire.

V. Identification des composés phénoliques de l'extrait des grignons d'olive par HPLC

L'identification des composés phénoliques présents dans l'extrait des grignons d'olive a été analysée par chromatographie liquide (système HPLC) en phase inverse à l'aide d'une colonne C18 (4,6 mm × 250 mm de longueur, 5 µm de taille de particule, colonne Perkin Elmer) et d'un détecteur UV à 254 nm (logiciel Chromira CDS). Une aliquote de 20 µL de chaque solution a été injectée dans la colonne HPLC, en utilisant deux phases mobiles différentes, soit le solvant A (acide acétique à 3% (v/v) dans l'eau) et le solvant B (MeOH), circulant à un débit de 1 mL/min, comme décrit par (Akyüz, 2022). L'identification des composés a été réalisée par comparaison avec le temps de rétention des standards de référence, incluant des composés phénoliques (acide caféique, rutine, quercétine, acide gallique, catéchine, épicatechine, acide salisilique).

VI. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyenne ± écart-type (ET). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été réalisées par comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $P < 0,05$, hautement significatives pour ($***P < 0,001$, très significatives pour $**P < 0,01$ et significatives pour $*P < 0,05$).



Chapitre III

Résultats et interprétations



I. Valorisation des grignons d'olive par extraction hydro-éthanolique : Rendement, profil phénolique et activité antioxydante

I.1. Rendement de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts et de différentes fractions des GO délipidés

L'estimation des rendements de l'extrait hydro-éthanolique des **GO** bruts et des différentes fractions des **GO** délipidés a permis d'obtenir des quantités variables en fonction des solvants utilisés. L'extrait hydro-éthanolique a présenté un rendement de 8,66 %. Les fractions de dichlorométhane, acétone, acétate d'éthyle et éthanolique ont présenté des rendements de 2,6, 0,064, 0,64 et 0,046 %, respectivement tandis que la fraction aqueuse a affiché le rendement le plus élevé parmi toutes les fractions testées, soit 5,3 % (Tableau 5).

I.2. Quantification des composés phénoliques de l'extrait hydro-éthanolique des GO bruts

Concernant la composition en polyphénols extraits des **GO** bruts (Tableau 5), la teneur phénolique totale a été mesurée à $90,139 \pm 15,545$ mg EAG/g PS.

De plus, les quantités de flavonoïdes et de tanins condensés étaient respectivement de $73,968 \pm 1,081$ mg EQ/g PS et $7,307 \pm 0,966$ mg EC/g PS (Tableau 5).

I.3. Quantification de composés phénoliques de différentes fractions des GO délipidés

La composition des polyphénols dans les différentes fractions des **GO** délipidés varie en fonction du solvant utilisé. La teneur phénolique totale des fractions oscille entre $237,440 \pm 43,528$ mg EAG/g PS avec $130,812 \pm 13,991$ mg EAG E/g PS dans la fraction aqueuse. La teneur en flavonoïdes varie entre $123,429 \pm 1,477$ et $52,009 \pm 3,406$ mg EQ/g PS, tandis que la teneur en tanins varie entre $17,659 \pm 1,838$ et $10,960 \pm 0,962$ mg EC/g PS respectivement (Tableau 5).

I.4. Courbe d'étalonnage pour le dosage des phénols totaux

Cette courbe a été établie en utilisant, comme référence, l'acide gallique. La formule de régression linéaire de cette courbe est de $y = 4,399x + 0,0152$, avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0,9933$) (Figure A 1 en annexe).

I.5. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

La catéchine a été utilisée comme référence pour tracer cette courbe d'étalonnage qu'on a utilisé pour le dosage des flavonoïdes (Figure A 2 en annexe). La formule de régression linéaire de cette courbe est de $y = 1,1248x$, avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0,9984$).

I.6. Dosage des tanins

Afin de tracer cette courbe d'étalonnage, on a choisi la catéchine comme référence.

La formule de régression linéaire de cette courbe est de $y = 2,0998x + 0,0152$ avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0,99$) (Figure A 3 en annexe).

II. Évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des GO bruts et de différentes fractions des GO délipidés

L'activité antioxydante, évaluée par le test DPPH, et le test du pouvoir réducteur a montré une valeur EC_{50} de $1,704 \pm 0,023$ mg /mL et $2,71 \pm 0,23$ mg /mL tandis que la CAT a été mesurée à $45,41 \pm 4,808$ mg EAG /mL dans l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts. L'activité antioxydante de différentes fractions des GO d'olive délipidés évaluée par le test DPPH a montré une valeur EC_{50} qui varie entre $3,815 \pm 0,501$ mg /mL dans la fraction d'acétate d'éthyle et $2,0165 \pm 0,012$ mg /mL dans la fraction éthanolique et $2,460 \pm 0,044$ mg /mL dans la fraction aqueuse. Tandis que la CAT, varie entre à $51,191 \pm 3,719$ mg EAG/mL dans la fraction aqueuse et $17,553 \pm 0,43$ mg EAG /mL dans la fraction éthanolique (Tableau 5).

Tableau 5. Détermination phytochimique, rendement et activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des GO d'olive bruts et de différentes fractions des GO d'olive délipidés

Test	EC ₅₀ (mg/mL)		CAT (mg EAG / g PS)	Rend (%)	Phénolique total (mg EAG /g PS)	Flavonoïdes (mg EQ/g PS)	Tannins Condensés (mg EC/g PS)
	DPPH	Pouvoir réducteur					
EHE	1,704±0,023***	2,71±0,23	45,41± 4,81***	8,66	90,14± 15,55***	73,97± 1,081***	7,31±0,97***
AA ^e	0,063 ± 0,02	0,091±0,002					
FDichl	2,344±0,073***		24,66791±192***	2,6	237,440±43,53***	123,43±1,48***	17,66±1,84*
FACTN	3,340±0,165***		21,182±0,696**	0,064	213,257± 9,327***	113,12±0,102***	13,03±1,38**
FACET	3,815±0,501***		23,0574±2,25**	0,64	107,727±3,109**	36,984±2,135**	10,35±1,17***
FE	2,0165±0,012**		17,553±0,434**	0,046	125,316±6,218***	34,495±1,735**	11,69± 1,67***
FAq	2,460±0,044***	2,026±1,85***	51,191±3,719***	5,3	130,812±13,99***	52,009±3,406	10,960±0,966***

EHE : extrait hydro-éthanolique ; EAG : équivalent acide gallique ; EC : équivalent catéchine ; EQ : équivalent quercétine ; AA : Acide ascorbique ; PS : poids sec ; EC₅₀ : concentration effective ; DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ; CAT : capacité antioxydante totale ; FDichl : fraction dichlorométhane ; FACET : fraction acétate d'éthyle ; FACTN : fraction acétone ; FE : fraction éthanolique ; FAq : fraction aqueuse.

III. Identification des composés bioactifs de l'extrait des grignons d'olive par empreinte chromatographique HPLC

L'utilisation de la HPLC a montré une variété de composés bioactifs dans l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts et dans les différentes fractions des grignons d'olive délipidés à l'hexane qui ont été identifiés mais non quantifiés. Parmi ces composés phénoliques révélés dans nos extraits on a trouvé : A-Gallique, A-Chlorogénique, Epicatechine, et la Rutine dans l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts (Figure 5.A). La fraction éthanolique des grignons d'olive (GO) a révélé la présence de : A-Salisilique, A-Caféique, et la Rutine (Figure 5.B). Pour la fraction d'acétone, des GO, on a trouvé : A-Gallique (Figure 5.C). HPLC de la fraction d'acétate d'éthyle a révélé également : A-Chlorogénique, et la Rutine (Figure 5.D). La fraction aqueuse a révélé la présence de : A-Gallique, A-Chlorogénique, A-Salisilique et la Rutine (Figure 5.E), alors que la fraction dichlorométhane a révélé : A-Gallique, A-Salisilique, et la Rutine (Figure 9.F).

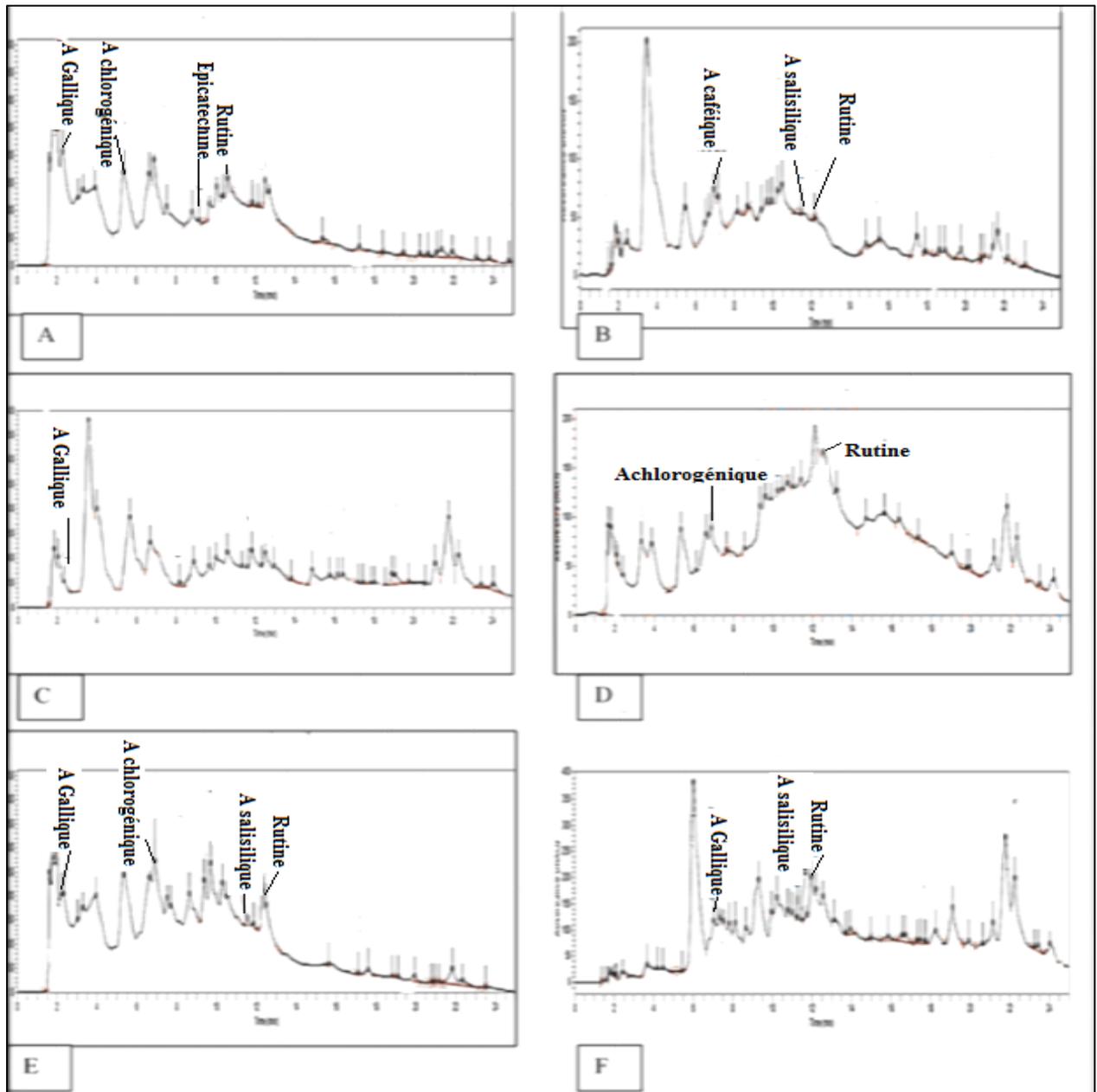


Figure 5. A : HPLC chromatogramme de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts, B : la fraction Ethanolique, C de la fraction d'acétone, D : la fraction d'acétate d'éthyle, E : la fraction Aqueuse, F : la fraction de dichlorométhane



Chapitre IV

Discussion



I. Analyses phytochimiques

Les résultats présentés dans la figure 8 et le tableau 5 révèlent une variabilité du rendement d'extraction des grignons d'olive en fonction des solvants utilisés et du type d'extraction. Ces solvants ont été sélectionnés en raison de leur faible toxicité et de leur approbation par l'autorité européenne de sécurité des aliments (AES) pour la formulation d'aliments fonctionnels (Gómez-Cruz et al., 2021). L'extrait hydro-éthanolique présente le meilleur rendement, suivi de la fraction aqueuse. En revanche, les rendements sont plus faibles pour la fraction éthanolique, la fraction d'acétone et d'acétate d'éthyle.

Ces résultats sont en accord avec la littérature, soulignant que les composés phénoliques des grignons d'olive sont solubles dans des solvants hydrophiles tels que l'eau et l'éthanol. Par conséquent, les extraits obtenus avec ces solvants sont plus riches en composés phénoliques.

Concernant la composition des polyphénols extraits des grignons d'olive bruts, la teneur est comparable à celle rapportée dans d'autres études, oscillant entre 60 et 120 mg EAG/g PS. En revanche, la fraction de dichlorométhane, d'acétone et aqueuse extraites des grignons d'olive délipidés présentent un taux de polyphénols totaux significativement supérieur à celui des grignons d'olive bruts. Ces résultats sont comparables à des études antérieures, montrant que la délipidation favorise une meilleure extraction des composés phénoliques (Mouzaoui et al., 2014 ; Gómez-Cruz et al., 2021 ; et al., 2017 ; Nunes et al., 2018).

Les flavonoïdes sont la principale classe de polyphénols, suivis par les tanins condensés. La comparaison des résultats avec des études antérieures (Ribeiro et al., 2020) montre une cohérence, bien que des variations légères dans le profil des composés bioactifs entre les échantillons puissent être attribuées à des facteurs tels que la sélection des solvants, les méthodes d'extraction, les pratiques agricoles, l'origine géographique, et les variétés d'olive spécifiques utilisées (Portarena et al., 2017 ; Nunes et al., 2018).

Les résultats obtenus dans notre recherche démontrent une activité antioxydante significative des extraits des grignons d'olive, mesurée par les tests DPPH, Pouvoir reducteur et CAT. Le test DPPH révèle des valeurs EC_{50} comparables à celles rapportées dans d'autres études antérieures (Dubravka et al., 2018 ; Sarr et al., 2015), confirmant la puissance antioxydante des extraits étudiés. Par ailleurs, la mesure de la capacité antioxydante totale (CAT) a également produit des résultats cohérents avec ceux décrits dans la littérature (Gómez et al., 2021 ; Praven and Kumud, 2012). Ces observations soulignent le potentiel des grignons d'olive comme source naturelle d'antioxydants. Le test du pouvoir reducteur montre des valeurs similaires à celles rapportées dans d'autres études, avec une valeur située entre 1 et 2 mg GAE/mL (Gómez et al., 2021 ; Sarr et al., 2015), aussi bien pour l'extrait hydro-éthanolique

que pour la fraction aqueuse. Cependant, le pouvoir antioxydant de la fraction aqueuse semble significativement supérieur à celui de l'extrait hydro-éthanolique des GO bruts, comme le confirment les résultats des tests de capacité antioxydante totale (CAT) et de DPPH. Ces résultats montrent une cohérence, avec la littérature qui ont identifié l'hydroxytyrosol comme le principal cp dans l'extrait aqueux des GO. Par ailleurs, cet extrait montre une activité antioxydante élevée. De manière générale, ces résultats mettent en évidence le grand potentiel de l'extrait de GO comme source de composés bioactifs, avec des perspectives prometteuses pour diverses applications industrielles (**Gómez et al., 2021 ; Praven and Kumud, 2012**).

Les analyses menées par **Yakhlef et al. (2018)**, **Badi et al. (2022)**, et **Ribeiro et al. (2020)** ont identifié une diversité de composés bioactifs tels que saponines, polyphénols, flavonoïdes, tanins, quinones, terpénoïdes, hydroxytyrosol, tyrosol, oleuropéine, acide caféique, acide benzoïque, rutine, vanilline, acide coumarique, et quercétine. Ces composés contribuent au potentiel antioxydant des grignons d'olive, offrant ainsi des avantages pour la santé.

Identification des composés phénoliques de l'extrait des grignons d'olive par empreinte chromatographique HPLC.

L'identification des composés bioactifs par HPLC a révélé une variété de composés phénoliques à la fois dans EHE des GO bruts et dans les différentes fractions délipidées. Ces résultats sont comparables à ceux de **Paulina Tapia-Quirós et al. (2020)** néanmoins d'autres pics ne sont pas déterminés vue le manque de standards.

L'extrait hydro-éthanolique (Figure 5.A) présente des pics identifiés correspondant à l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'épicatéchine et la rutine. La diversité des composés présents dans l'EHE des GO bruts peut être attribuée à la polarité intermédiaire du mélange hydro-éthanolique, qui favorise l'extraction à la fois des composés phénoliques hydrophiles et des flavonoïdes légèrement plus lipophiles. Pour la fraction éthanolique (Figure 5.B), les pics du chromatogramme HPLC indiquent la présence d'acide caféique, d'acide salicylique et de rutine. L'éthanol, en tant que solvant polaire, est particulièrement efficace pour extraire des composés à polarité intermédiaire. La présence de la rutine, un flavonoïde aux propriétés anti-inflammatoires, et de l'acide caféique, connu pour ses effets antioxydants, suggère que cette fraction pourrait avoir un potentiel thérapeutique intéressant. Le chromatogramme HPLC de la fraction acétonique (Figure 5.C) révèle que les composés détectés incluent uniquement l'acide gallique. L'acétone, un solvant polaire mais moins hydrophile que l'éthanol ou l'eau, semble moins efficace pour extraire une variété de composés. Cependant, la présence exclusive de l'acide gallique, un antioxydant puissant, peut indiquer que cette fraction possède une activité antioxydante ciblée et significative.

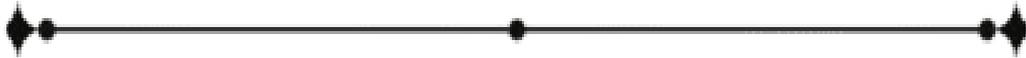
Pour la fraction d'acétate d'éthyle (Figure 5.D), les pics sont associés à l'acide chlorogénique et à la rutine. L'acétate d'éthyle, un solvant à polarité intermédiaire, est bien adapté pour extraire ces molécules. L'acide chlorogénique, souvent associé à des effets anti-inflammatoires et métaboliques, et la rutine renforcent le potentiel bioactif de cette fraction.

La fraction aqueuse (Figure 5.E), présente un profil riche, comprenant l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide salicylique et la rutine. La polarité élevée de l'eau permet d'extraire efficacement une large gamme de composés hydrophiles. La combinaison de ces composés dans une seule fraction pourrait expliquer la forte capacité antioxydante et les effets bénéfiques observés lors des études biologiques.

Enfin, le chromatogramme de la fraction de dichlorométhane (Figure 5.F) révèle des pics correspondant à l'acide caféique, l'acide salicylique et à la rutine. Le dichlorométhane, un solvant moins polaire, est particulièrement adapté à l'extraction de composés lipophiles ou légèrement polaires. La présence de ces composés suggère que cette fraction pourrait avoir des propriétés bioactives spécifiques, mais moins diversifiées que les fractions plus polaires.

Conclusion

En conclusion, les grignons d'olive se révèlent être une source prometteuse de composés bioactifs, notamment d'antioxydants naturels. Leur potentiel antioxydant a été confirmé par des tests tels que DPPH, Pouvoir reducteur et CAT. Le choix du solvant d'extraction, les méthodes d'extraction, les pratiques agricoles, l'origine géographique et les variétés d'olive sont des facteurs cruciaux influençant le rendement et le profil des composés bioactifs. Ces résultats ouvrent des perspectives pour l'utilisation industrielle et pharmaceutique des grignons d'olive dans diverses applications. Des recherches approfondies sur ce sous-produit sont nécessaires pour exploiter pleinement son potentiel en tant que source de molécules bioactives bénéfiques pour la santé.



Partie II

Effets des extraits des grignons
d'olive sur le métabolisme et le
stress





Chapitre I

Synthèse bibliographique



I. Généralités sur le diabète

I.1. Définition du diabète

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une élévation de la glycémie à jeun au-delà de 7 mmol/L. Cette augmentation du taux de glucose dans le sang est due à une perturbation du système de régulation du glucose dans l'organisme, résultant soit d'une production insuffisante d'insuline par le pancréas, soit d'une mauvaise utilisation de cette hormone par l'organisme. L'hyperglycémie non contrôlée peut entraîner des complications graves dans plusieurs systèmes organiques.

Normalement, le pancréas, un organe situé derrière l'estomac, produit une hormone appelée insuline en réponse à l'augmentation de la glycémie après un repas (Figure 6). L'insuline permet aux cellules du corps d'absorber le glucose du sang pour l'utiliser comme source d'énergie (w.eurostemcell.org/fr/diabete).

Dans le cas du diabète, l'organisme présente une anomalie dans la production ou l'utilisation de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang.

L'épidémiologie mondiale du diabète est alarmante, affectant les pays développés et en développement, notamment en Afrique. En 2021, plus de 537 millions de personnes (20-79 ans) dans le monde étaient touchées, représentant environ 1 personne sur 10, avec 81 % des adultes diabétiques vivant dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. En 2021, le diabète a causé le décès de 6,7 millions de personnes, soulignant sa persistance en tant que problème de santé publique majeur (FID, 2021).

La Fédération Internationale du Diabète prévoit une augmentation continue du nombre de patients diabétiques, avec des projections atteignant 643 millions d'ici 2030 et 784 millions d'ici 2045 (FID, 2021). La journée mondiale du diabète des Nations Unies, déclarée le 14 novembre chaque année, vise à sensibiliser et mobiliser les efforts pour lutter contre cette épidémie silencieuse du diabète.

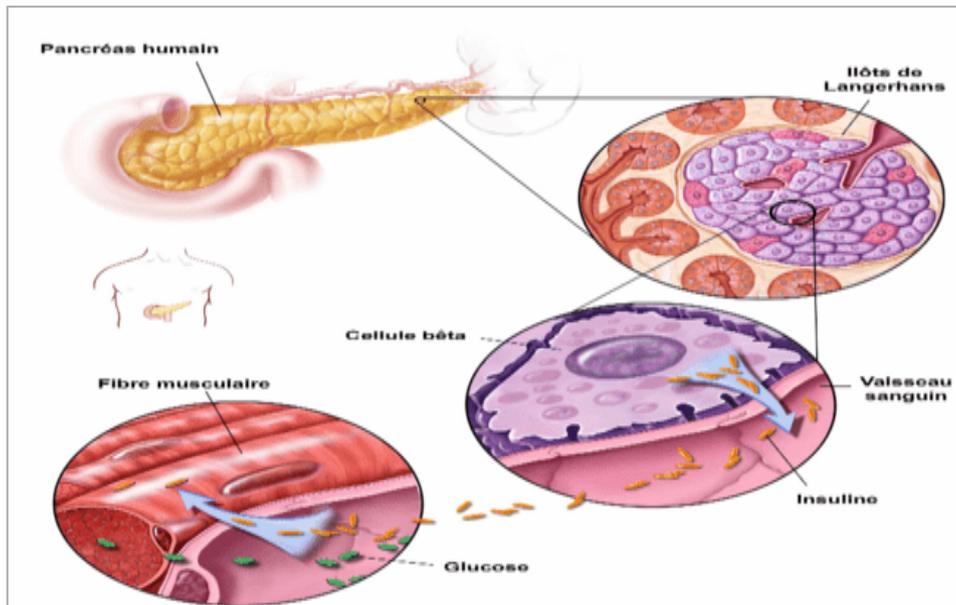


Figure 6. Production de l'insuline dans le pancréas humain : Les cellules bêta sont situées à proximité des vaisseaux sanguins qui irriguent le pancréas et dans lesquels elles relâchent l'insuline (w.eurostemcell.org/fr/diabete)

I.2. Classification

I.2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1, aussi appelé diabète insulino-dépendant ou juvénile, se caractérise par une production insuffisante d'insuline, nécessitant une administration quotidienne de cette hormone. Il résulte de la destruction progressive des cellules pancréatiques, entraînant une diminution puis un arrêt de la sécrétion d'insuline. Les symptômes, tels que l'excès d'urine, la soif constante, la faim persistante, la perte du poids, les altérations visuelles, et la fatigue, peuvent survenir subitement (OMS, 2023).

En 2017, environ 9 millions de personnes étaient touchées, principalement dans des pays à revenu élevé. Bien que sa cause exacte soit inconnue, il représente environ 10% de tous les cas du diabète. Il se manifeste souvent pendant l'enfance, résultant d'une destruction auto-immune des cellules β pancréatiques sur plusieurs années avant l'apparition du diabète (Colomban Teddy, 2022). Certains cas non auto-immuns, considérés comme idiopathiques, représentent moins de 10% de tous les cas du diabète.

I.2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2, anciennement diabète non insulino-dépendant ou diabète gras, se caractérise par une résistance à l'insuline due à une carence relative ou insuffisante de cette hormone, et/ou à une mauvaise utilisation par l'organisme (Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, et al., 2003). Constituant près de 90% des cas diagnostiqués mondialement, il peut être évité en prenant en compte des facteurs tels que l'obésité, le surpoids, la sédentarité, et les

prédispositions génétiques. Les symptômes, similaires à ceux du diabète de type 1, peuvent évoluer silencieusement pendant des années. Autrefois observé principalement chez les adultes, il affecte désormais également les enfants (OMS, 2023).

Il existe d'autres formes du diabète, dont :

I.2.3. Le diabète gestationnel qui survient pendant la grossesse et est généralement causé par une résistance à l'insuline. Il est souvent transitoire et disparaît après l'accouchement, mais il peut également persister et devenir un diabète de type 2.

I.2.4. Le diabète secondaire qui est causé par une autre condition médicale, telle que la prise de corticoïdes, la pancréatite, l'hémochromatose, la mucoviscidose ou certaines maladies génétiques (FFC; 2019).

I.3. Le diabète expérimental

Le diabète expérimental vise à reproduire chez les animaux un état similaire au diabète sucré, dans le but de mieux comprendre la maladie chez l'homme et de développer de nouvelles thérapies. Différentes méthodes peuvent être employées pour induire le diabète chez les modèles animaux, comprenant des approches spontanées, chirurgicales, chimiques, immunologiques, ou génétiques par sélection ou génie génétique (Wright et al., 1980).

Un modèle diabétique chez le rat a été établi par Portha en 1974 en administrant de la streptozotocine (STZ) pendant la période péri-natale, devenant une référence pour l'étude expérimentale du diabète de type 1. La streptozotocine, une glucosamine nitrosée, cible sélectivement les cellules bêta des îlots de Langerhans, induisant un effet cytotoxique. Son mécanisme d'action implique son pouvoir alkylant, provoquant des dommages spécifiques aux cellules bêta. Les modèles de rats diabétiques induits par la streptozotocine reproduisent des mécanismes lésionnels similaires au diabète de type 1, avec une insulino-pénie et des symptômes proches de la douleur évoquée.

Les modèles de rongeurs spontanément diabétiques, tels que la souris NOD et le rat BB, sont essentiels pour comprendre la maladie humaine. La souris NOD développe un diabète insulino-prive avec une phase silencieuse suivie d'une insulite inflammatoire. Le rat BB/Wistar présente également un diabète insulino-prive, bien que des essais immunologiques aient montré des résultats mitigés. Ces modèles, bien qu'utiles, présentent des limites, et les tentatives de prévention réussies chez la souris NOD n'ont pas été reproduites chez l'homme.

I.4. Physiopathologie du diabète

I.4.1. La physiopathologie du diabète de type 1

La physiopathologie du diabète de type 1 est caractérisée par une insulinopénie absolue résultant de la destruction progressive et significative (> 80%) des cellules sécrétrices d'insuline, induite par une réaction auto-immune (Figure 7).

La production d'anticorps ciblant des antigènes spécifiques des cellules bêta pancréatiques (tels que GAD65, insuline, IA2) précède la destruction des cellules bêta et le début de la maladie. La réponse inflammatoire est supposée conduire progressivement à l'insulite et à l'insulinopénie (Nathan, et al., 2023).

Les facteurs environnementaux, tels que les virus (notamment les entérovirus comme le Cocksackie B4), jouent un rôle central en augmentant la perméabilité intestinale et en modifiant la composition du microbiote. Des changements dans le comportement alimentaire peuvent également contribuer à l'augmentation de la perméabilité intestinale. Le terrain génétique est un autre élément clé, augmentant le risque de développer un diabète de type 1 et pouvant être considéré comme un déclencheur de la maladie.

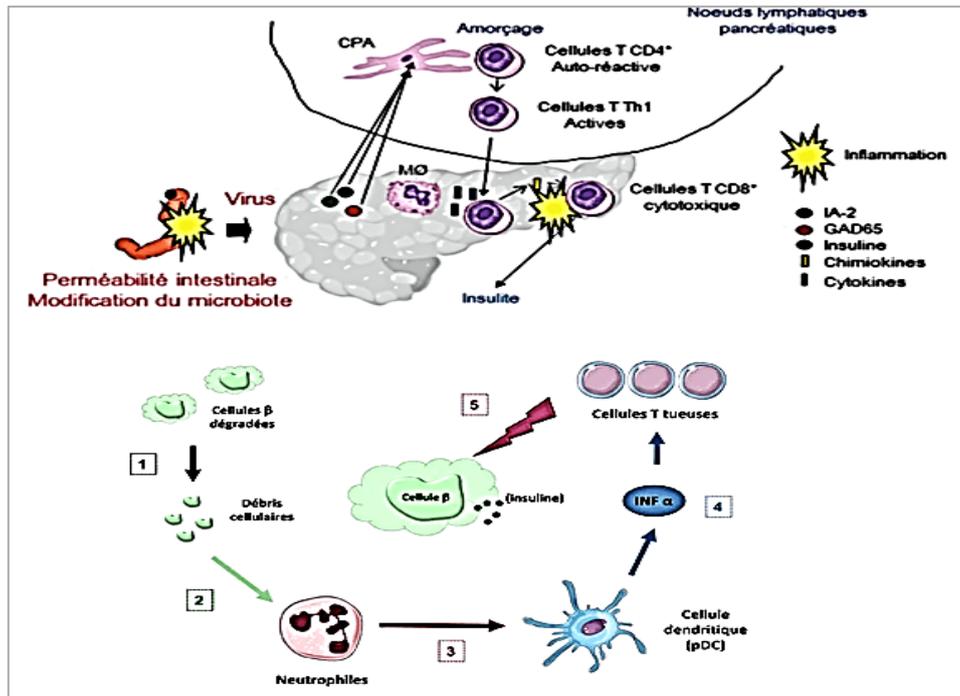


Figure 7. Physiopathologie du diabète type 1 (Amar Abderrahmai et al., 2018). Activation du système immunitaire conduisant à la mort des cellules β

Dans l'évolution de la maladie, on suppose que la perméabilité intestinale augmente, favorisant ainsi les infections. La destruction des cellules bêta par l'infection libère des antigènes qui

seront reconnus par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) au niveau des nœuds lymphatiques pancréatiques. Les lymphocytes T CD4⁺ activés par les CPA migrent vers les cellules bêta pancréatiques et libèrent des chimiokines attirant ainsi les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques. Ces derniers produisent des cytokines qui activent les macrophages et détruisent les cellules bêta, induisant ainsi l'insulite.

Dans le système immunitaire inné, normalement activé lors d'une infection, les chercheurs observent chez les souris diabétiques NOD une réponse auto-immune innée dans le pancréas.

Les cellules bêta du pancréas, responsables de la production d'insuline, peuvent subir une dégradation naturelle au cours du temps (1). Les débris cellulaires issus de cette dégradation activent anormalement les neutrophiles, des globules blancs qui font partie du système immunitaire (2). Ces neutrophiles alertent ensuite les cellules dendritiques plasmocytoides (pDC), un type spécialisé de cellules immunitaires (3). Les pDC, en réponse à cette alerte, produisent des interférons de type α (IFN- α), des molécules qui signalent un danger (4). L'IFN- α stimule à son tour les lymphocytes T, un autre type de globules blancs impliqués dans la réponse immunitaire (5) qui, en reconnaissant les cellules bêta pancréatiques fonctionnelles, induisent leur mort.

I.4.2. Physiopathologie du diabète de type 2

Le diabète de type 2 se caractérise par l'insulino-résistance, où la fonction pancréatique devient anormale à mesure de l'augmentation de la glycémie à jeun (**DeFronzo, 1988 ; Benhaddou andaloussi, 2009**). La perte de la fonction pancréatique devient un acteur précoce et majeur dans la physiopathologie de ce type de diabète (**Pratley et Weyer, 2001 ; Benhaddou andaloussi, 2009**). Plusieurs mécanismes contribuent à l'étiopathie du diabète de type 2 (Figure 8), dont l'insulino-résistance, le dysfonctionnement pancréatique et l'excès de glucose produit par le foie.

L'insulino-résistance affecte pratiquement tous les diabétiques de type 2, détectable 10 à 20 ans avant le diagnostic, même en l'absence d'obésité (**Rigalleau et al., 2007**). Les principaux sites de l'insulino-résistance sont le muscle, l'adipocyte et le foie, où le défaut est localisé en aval du récepteur de l'insuline, au niveau de la voie métabolique non oxydative du glucose, c'est-à-dire la synthèse de glycogène. Le déficit d'inhibition de la lipolyse dans le tissu adipeux par l'insuline contribue à une augmentation des acides gras libres, stimulant la néoglucogenèse, la synthèse des triglycérides et la production de glucose hépatique.

Les acides gras libres plasmatiques sont préférentiellement utilisés par le muscle, ce qui diminue l'utilisation et le catabolisme du glucose, altérant ainsi l'insulinosécrétion et aggravant l'insulino-résistance (**Guillausseau et Laloi-Michelin, 2003**). L'insulino-résistance ne

provoque pas nécessairement un diabète si elle est isolée, sans déficit de l'insulinosécrétion, généralement détecté chez des sujets obèses. Cependant, elle peut révéler l'hyperglycémie, en particulier chez des individus génétiquement prédisposés (**Guillausseau et Laloi-Michelin, 2003**).

Le caractère au moins partiellement réversible de l'insulino-résistance sous l'influence des mesures hygiéno-diététiques ou de certains antidiabétiques oraux renforcent son intérêt pour le clinicien (**Rigalleau et al., 2007**).

La régulation périphérique de la glycémie fait référence aux mécanismes qui contrôlent les niveaux de glucose (sucre) dans le sang en dehors du système endocrinien central, qui comprend le pancréas et l'hypothalamus. Plusieurs organes et tissus dans le corps contribuent à maintenir l'équilibre de la glycémie en régulant l'absorption du glucose, sa libération et son utilisation.

I.5. La régulation périphérique de la glycémie

Les principaux acteurs dans la régulation périphérique de la glycémie sont :

- **Le foie** : Le foie stocke le glucose sous forme de glycogène et peut libérer du glucose dans le sang entre les repas pour maintenir une glycémie stable.
- **Les muscles** : Ils peuvent prendre et stocker le glucose sous forme de glycogène et libérer du glucose pendant l'exercice pour fournir de l'énergie.
- **Le tissu adipeux** : Les cellules adipeuses libèrent des acides gras dans le sang, une source d'énergie alternative au glucose.
- **Le tractus gastro-intestinal** : L'absorption des glucides alimentaires dans le sang après les repas influence également la glycémie.
- **Les hormones**

Les hormones régulatrices de la glycémie sont :

- **L'insuline** : Hormone hypoglycémisante produite par le pancréas, favorise le stockage de nutriments et réduit les niveaux de glucose dans le sang.
- **Autres hormones** : Glucagon, catécholamines, hormone de croissance et glucocorticoïdes, qui ont des effets hyperglycémisants, agissant en opposition à l'insuline (**Daziano, 2021**).

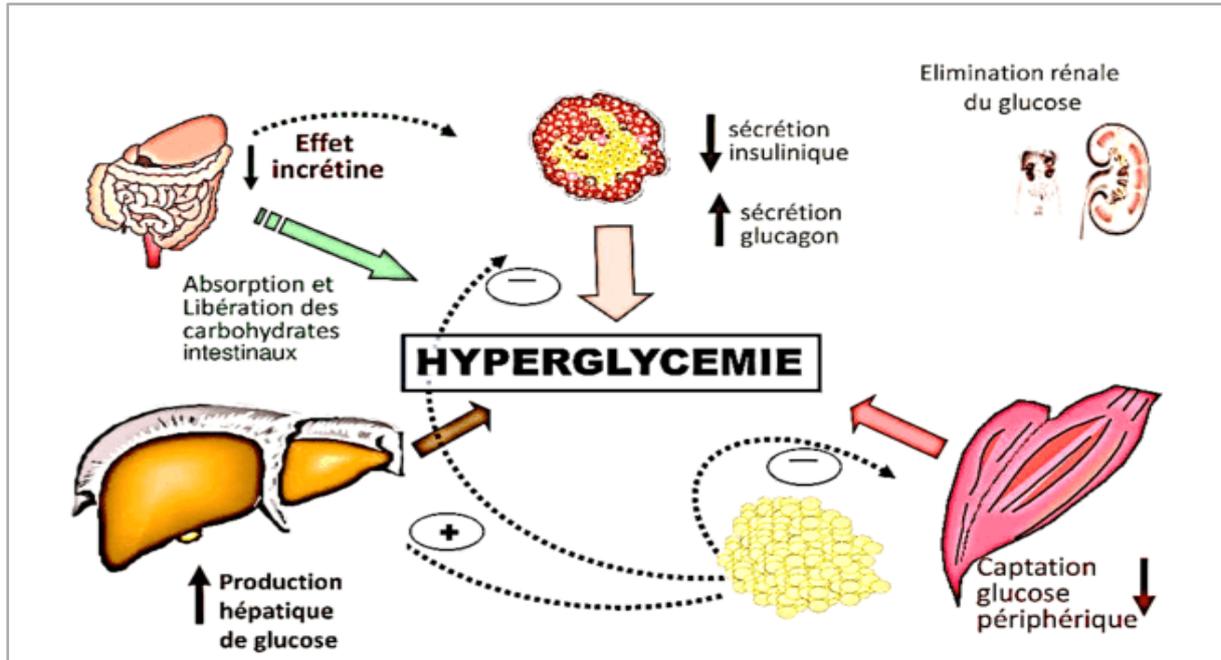


Figure 8. Les mécanismes majeurs impliqués dans le diabète de type 2 (adapted from : inzucchi SE, Sherwin RS in : (Cecil Medecine, 2011). La régulation périphérique de la glycémie

I.6. Troubles métaboliques liés au diabète

Le diabète est associé à divers troubles métaboliques qui résultent principalement d'un dysfonctionnement des cellules bêta du pancréas, responsables de la production d'insuline. Ces dysfonctionnements contribuent à des déséquilibres dans la régulation de la glycémie et entraînent des complications métaboliques significatives.

a) Résistance à l'insuline : La résistance à l'insuline est une caractéristique majeure du diabète de type 2. Les cellules perdent leur sensibilité à l'insuline, ce qui signifie que même si l'hormone est présente, les cellules ne répondent pas correctement, entraînant une augmentation de la glycémie.

b) Dysfonctionnement des cellules β : Dans le diabète de type 1, les cellules bêta sont attaquées par le système immunitaire, entraînant leur destruction progressive. Dans le diabète de type 2, bien que les cellules bêta soient initialement hyperactives pour compenser la résistance à l'insuline, elles finissent par s'épuiser, réduisant la production d'insuline.

c) Hyperglycémie : Le dysfonctionnement des cellules bêta conduit à une sécrétion d'insuline insuffisante, ce qui entraîne une hyperglycémie chronique. Des niveaux élevés de glucose dans le sang peuvent provoquer des dommages aux organes et contribuer à des complications à long terme.

d) Défaut dans la régulation du glucose : Les cellules bêta régulent normalement la libération d'insuline en fonction des besoins. Dans le diabète, cette régulation est perturbée, entraînant une libération inappropriée d'insuline ou une absence de réponse adéquate aux variations de la glycémie.

e) Inflammation et stress oxydatif : Le diabète est associé à une inflammation chronique et à un stress oxydatif, contribuant au dysfonctionnement des cellules bêta. Ces processus altèrent la capacité des cellules à sécréter de l'insuline de manière appropriée.

La compréhension approfondie de ces troubles métaboliques et du dysfonctionnement des cellules bêta est cruciale pour développer des stratégies de traitement efficaces visant à réguler la glycémie et à prévenir les complications liées au diabète.

I.7. Diagnostique du diabète

Le diabète de type 2 évolue souvent de manière silencieuse, sans présenter de symptômes, pendant plusieurs années, car la glycémie augmente progressivement. Le diagnostic est le plus souvent fortuit, lors d'une analyse sanguine ou d'un dépistage du diabète.

Pour diagnostiquer le diabète de type 2, une prise de sang à jeun est nécessaire. Il est important de respecter un jeûne de 8 heures avant la prise de sang pour des résultats précis. Le diagnostic est confirmé lorsque la glycémie à jeun est égale ou supérieure à 1.26 g/l (ou 7 mmol/l) et est constatée à deux reprises.

Le diagnostic du diabète de type 1 repose sur des critères cliniques, tels que la présence de signes cardinaux, et biologiques, incluant la mesure de la glycémie et la recherche des corps cétoniques. La découverte des symptômes tels qu'une hyperglycémie progressive, une polyurie, une polydipsie, une polyphagie, une perte du poids significative, une asthénie, et des troubles visuels peut suggérer un possible diagnostic du diabète.

Les enfants, en particulier, peuvent présenter une acidocétose diabétique, caractérisée par des symptômes tels que des difficultés respiratoires (dyspnée), des vomissements, des douleurs abdominales et une altération de l'état de conscience, pouvant aller de la somnolence jusqu'au coma.

Des examens complémentaires, tels que l'insulinémie, le dosage du peptide C, la glycosurie, la glycémie, l'acétonurie, peuvent être réalisés pour confirmer le diagnostic clinique. L'acidocétose diabétique est définie par une triade biochimique : une hyperglycémie marquée (> 11 mmol/L), une acidose métabolique avec un pH veineux inférieur à 7,30 et une diminution des bicarbonates plasmatiques (< 15 mmol/L), ainsi qu'une cétonémie élevée ($\geq 0,6$ mmol/L) due à une production excessive de corps cétoniques.

Les auto-anticorps circulants, tels que les anticorps anti-îlots (ICA), anti-GAD, anti-IA2, anti-insuline, peuvent être des marqueurs confirmant une réaction auto-immune, en particulier chez les jeunes patients. Les anticorps anti-Zn T-8, liés au transport du zinc impliqué dans la stabilisation de la molécule d'insuline, sont également des indicateurs importants. En présence de ces signes, il reste généralement seulement 10 à 20% des cellules β fonctionnelles.

I.8. Complications et symptômes du diabète

Le diabète de type 1 (DT1) se caractérise par des signes cliniques résultant d'une hyperglycémie aiguë. Ces signes apparaissent brusquement chez des individus précédemment en bonne santé. Les complications métaboliques aiguës chez les diabétiques de type 1 se répartissent en deux catégories : celles liées à une insuffisance de traitement ou un défaut de surveillance, comprenant l'acidocétose et les états hyperosmolaires, et celles d'origine iatrogène, telles que l'hypoglycémie et l'acidose lactique.

L'acidocétose diabétique est une complication aiguë du diabète caractérisée par une triade biochimique : une hyperglycémie marquée, une cétonémie due à un métabolisme anormal des graisses et une acidose métabolique liée à l'accumulation de corps cétoniques.

Le traitement implique une injection d'insuline rapide, un apport glucidique, et une réhydratation, mais une hospitalisation est nécessaire en cas d'acidocétose installée.

Le diabète de type 2, en revanche, présente souvent des symptômes discrets et est généralement diagnostiqué lors d'une analyse sanguine.

Le diabète de type 2 peut entraîner de nombreuses complications à long terme, telles que des difficultés de cicatrisation, une perte de sensibilité au niveau des pieds (neuropathie), des troubles de la vision, une insuffisance rénale et un risque accru de maladies cardiovasculaires (infarctus, AVC). À mesure que la maladie progresse, des symptômes plus évidents peuvent apparaître, tels qu'une augmentation de la soif et de la faim, un besoin fréquent d'uriner, une fatigue, une peau sèche sujette à des démangeaisons, des coupures qui cicatrisent lentement, des infections fréquentes, une insensibilité ou des fourmillements dans les membres, des troubles de l'érection chez l'homme, et une vision floue.

De plus, les personnes atteintes du diabète de type 2 présentent fréquemment des anomalies sanguines, notamment un taux élevé de triglycérides, un taux de cholestérol HDL inférieur à la normale, et une élévation de la pression sanguine. Ces indicateurs soulignent l'importance d'une surveillance régulière et d'un traitement approprié pour prévenir ou gérer les complications associées au diabète de type 2.

L'éducation thérapeutique joue un rôle crucial, permettant au patient de reconnaître les signes précurseurs de l'acidocétose et de prendre des mesures préventives. En cas de symptômes tels

que polyurie, polydipsie, amaigrissement, le patient doit mesurer sa glycémie, rechercher des corps cétoniques dans les urines ou le plasma, et, si nécessaire, s'injecter de l'insuline rapide. Une glycémie anormalement élevée peut entraîner des complications graves, comme l'acidocétose chez les diabétiques de type 1 ou 2, et un coma hyperosmolaire chez les diabétiques de type 2. De même, une hypoglycémie, déclenchée par des facteurs tels que le jeûne ou un excès d'exercice, peut provoquer une crise épileptique ou une perte de conscience, mettant la vie en danger. Une surveillance attentive et une gestion appropriée sont essentielles pour éviter ces complications potentiellement graves.

Quel que soit le type du diabète, une glycémie élevée peut entraîner des complications graves, mettant la vie en danger (**OMS, 2016**).

Les complications à long terme du diabète de type 1 (DT1) se manifestent à la fois au niveau microvasculaire et macrovasculaire.

Les complications macrovasculaires, affectant les artères de taille moyenne et grande, favorisent l'athérosclérose et s'aggravent avec la durée non traitée ou mal traitée du diabète (**Marshall, 2005**).

- La rétinopathie diabétique, majeure chez les personnes atteintes de DT1, peut conduire à la malvoyance ou à la cécité. Elle reste souvent asymptomatique pendant des années, soulignant l'importance d'examen ophtalmologiques réguliers (**Aubry-Quenet, 2010**).

- La néphropathie diabétique, une cause majeure d'insuffisance rénale, se caractérise par une microalbuminurie précoce évoluant en trois phases, allant de l'hyperfiltration glomérulaire à l'insuffisance rénale chronique (**Canaud, 2010**).

- La neuropathie diabétique, altérant le système nerveux périphérique et autonome, peut engendrer divers symptômes, tels que des troubles gastro-intestinaux, des dysfonctions génitales, des problèmes cardiaques et vasculaires, ainsi que des complications comme le mal perforant plantaire entraînant des amputations fréquentes.

I.9. Traitements du diabète sucré

Le traitement du diabète sucré dépend du type du diabète et du degré de déficit en insuline. Pour le diabète de type 1 (DT1), l'insuline demeure le moyen le plus efficace et accessible pour maintenir une glycémie normale. Son administration contrôlée vise à remplacer celle produite naturellement par l'organisme, stimulant l'utilisation périphérique du glucose et activant plusieurs processus métaboliques. En outre, l'insuline inhibe la gluconéogenèse et la lipolyse. Concernant le diabète de type 2 (DT2), un régime alimentaire et une activité physique peuvent suffire aux stades précoces. Cependant, en cas de non-atteinte de la glycémie normale, des antidiabétiques oraux tels que les sulfonylurées, les dérivés de l'acide benzoïque, les

biguanides, les inhibiteurs de l' α -glucosidase, et les thiazolidinediones sont prescrits. De nouveaux insulinosécrétagogues, analogues du GLP-1, et inhibiteurs du DDP-IV sont également disponibles. Chaque classe pharmacologique présente des différences en termes de mécanisme d'action, toxicité, et effets secondaires.

Les effets secondaires des antidiabétiques incluent l'hypoglycémie pour les sulfamides et insulinosécrétagogues, ainsi que d'autres effets indésirables tels que l'hyponatrémie, l'hépatite, des atteintes hématologiques, des réactions dermatologiques, et un gain du poids lié à l'hyperinsulinémie.

Certains biguanides, bien qu'efficaces contre la néoglucogénèse et l'absorption intestinale du glucose, ont été retirés du marché en raison d'effets secondaires graves tels que l'acidose lactique, la fatigue, les nausées et la toxicité rénale, comme observé avec la metformine aux États-Unis. Une nouvelle stratégie thérapeutique est proposée par l'utilisation de composés naturels bioactifs capables de réduire les effets toxiques néfastes pour la santé et de freiner la progression du diabète grâce à leurs propriétés antioxydantes et antidiabéto-gènes.

La mise en place de mesures hygiéno-diététiques efficaces est préalable et doit être maintenue tout au long de la prise en charge. Il existe plusieurs classes thérapeutiques de médicaments aux mécanismes d'action distincts, administrés seuls ou en association.

✓ **La metformine** : La metformine est un membre de la famille des biguanides qui agit comme un hypotenseur de glucophage. C'est un médicament oral qui réduit la glycémie.

C'est le médicament de premier choix pour traiter le diabète de type 2. En 1929, Slotta et Tschesche ont découvert que ses effets hypoglycémisants chez les lapins étaient les plus puissants de tous les composés qu'ils avaient étudiés. Lorsque d'autres analogues sont devenus accessibles, ce résultat a été complètement négligé, car ces derniers ont rapidement été éclipsés par l'arrivée de l'insuline. Les résultats du premier essai sur l'efficacité de la metformine dans le traitement du diabète chez les humains n'ont été publiés qu'en 1957 par le diabétologue français Jean Sterne.

✓ **L'insuline** : Le traitement du diabète de type 1 repose sur des injections sous-cutanées d'insuline, plusieurs fois par jour, dans le but de stabiliser la glycémie et ainsi réduire les risques de complications liés à l'hyperglycémie chronique. Cette insulinothérapie est complétée par des mesures hygiéno-diététiques adaptées et une alimentation équilibrée associée à une activité physique régulière. La pratique de l'exercice physique améliore la sensibilité à l'insuline exogène et permet une réduction des doses d'insuline et un meilleur équilibre métabolique.

En cas d'insulinopénie, l'insulinothérapie devient également nécessaire pour les patients atteints du diabète de type 2. L'insuline recombinante injectable remplace l'insuline qui devrait

être sécrétée par le pancréas. Le médecin propose un schéma d'insuline adapté au profil glycémique du patient, comprenant une insuline lente, si la glycémie est élevée le matin et diminue au cours de la journée, une insuline rapide, si la glycémie augmente après les repas, et une association d'insuline lente et rapide, si la glycémie est élevée à plusieurs moments de la journée.

La sécrétion pulsatile d'insuline par les cellules β prévient l'internalisation du récepteur de l'insuline et le développement de l'insulino-résistance. Les injections d'insuline, souvent nécessaires plusieurs fois par jour, sont vitales pour de nombreux patients diabétiques. La pompe à insuline, qui diffuse lentement l'insuline dans le corps, offre une alternative pour ceux ayant des difficultés à contrôler leur glycémie. Elle a révolutionné le traitement, permettant un contrôle plus précis et pratique.

La greffe d'îlots pancréatiques est actuellement la seule thérapie curative pour les stades avancés du diabète de type 1, bien qu'elle nécessite une immunosuppression pour prévenir le rejet de la greffe. La sécrétion d'insuline doit être finement ajustée et réactive à des stimuli spécifiques pour maintenir une régulation précise de la glycémie.

I.10. Diabète et tension oxydative

Le diabète est l'une des nombreuses conditions physiologiques qui peuvent réduire la sensibilité à l'insuline (**Liang et al., 2016**). Un lien étroit existe entre le stress oxydant et le diabète (Figure 9), qui résulte d'une hyperproduction radicalaire associée à l'hyperglycémie et d'une diminution des défenses antioxydantes (**Zhuang et al., 2014**).

Une augmentation de la concentration en insuline, en acide gras libres et/ou en glucides augmente la production d'ERO, induit un stress oxydant et active les voies métaboliques génératrices d'ERO, ce qui aggrave à la fois l'action et la sécrétion d'insuline et accélère l'installation du diabète. Enfin, l'attaque radicale modifie la transcription des transporteurs de glucose, augmentant le taux de GLUT-1 et réduisant le taux de GLUT-4. L'activation de la PKC par des ERO peut également être liée à l'insulinorésistance.

L'activation de la PKC provoque la phosphorylation des résidus sérine/thréonine de l'IRS, ce qui inhibe la transmission du signal insulinaire et la capture cellulaire du glucose qui en découle. Après avoir exposé les cellules à un stress oxydant, on constate une inhibition du transport du glucose au niveau des myotubes L6 (**Justin et al., 2011**).

En raison de son rôle pro-oxydant et du risque du diabète associé à une ferritinémie élevée, les apports élevés en fer ont suscité une controverse au cours des dix dernières années. Une relation qui est également expliquée dans l'augmentation du risque de diabète gestationnel (**Zhuang et al., 2014**).

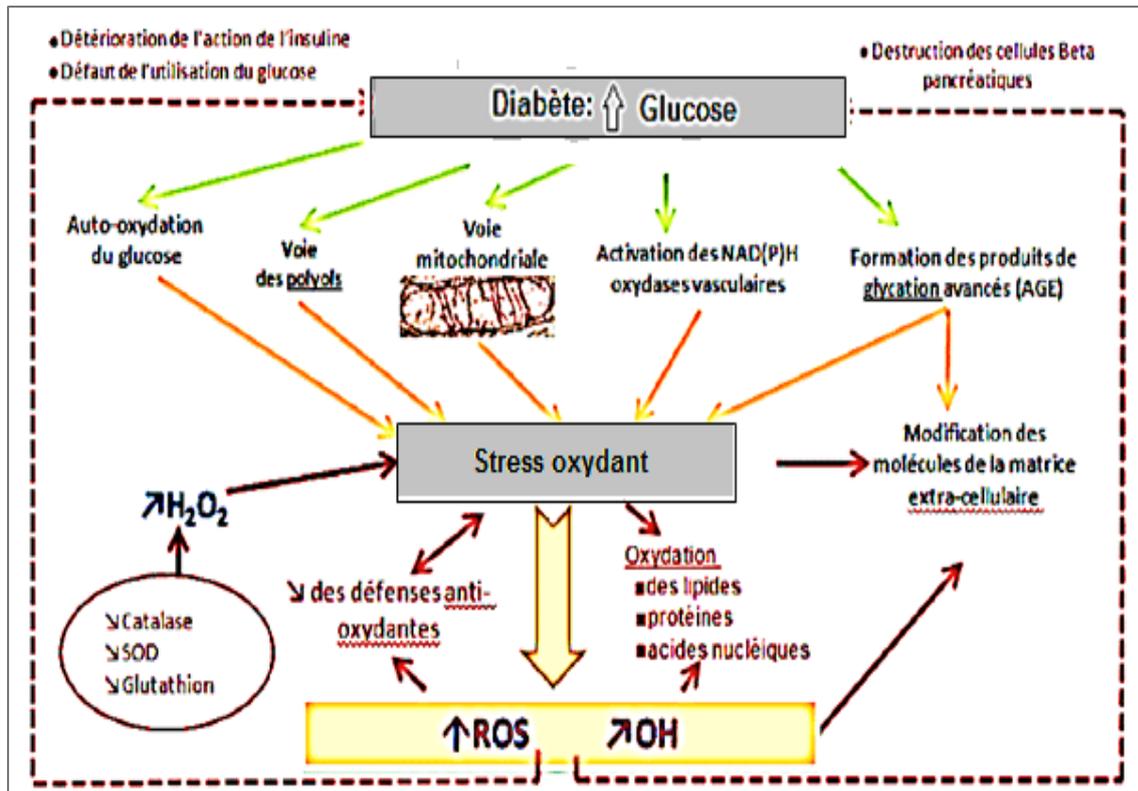


Figure 9. Relations hyperglycémie et stress oxydant (Bonfont-Rousselot et al., 2004, modifié)

II. Stress oxydatif

II.1. Définition du stress oxydant

Au cours des années 1950, Gerschman et ses collaborateurs ont établi que l'oxygène, essentiel à la vie, peut également présenter une toxicité pour l'organisme (Gerschman et al., 1954 ; Defraigne et Pincemail, 2008). Bien que l'oxygène se transforme en eau dans la chaîne respiratoire mitochondriale grâce à des mécanismes d'oxydoréduction, ce processus génère environ 2 à 3% d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), particulièrement réactives (Dal et al., 2014).

Le stress oxydant se caractérise par un déséquilibre entre les prooxydants et les antioxydants, favorisant les premiers et affaiblissant les défenses antioxydantes, entraînant des dommages cellulaires irréversibles dus à la surproduction de ROS (Bensakhria, 2018 ; He et al., 2021 ; Vandecandelaere, 2022 ; Albinet, 2020 ; Bruno Baudin, 2020).

La surproduction de radicaux libres (RL) peut altérer les macromolécules, entraînant la fragmentation de l'ADN avec un risque de mutation et de cancérisation, la peroxydation lipidique perturbant les membranes cellulaires, et la carbonylation des protéines affectant les récepteurs et les enzymes (Mishra et al., 2019 ; Costa et al., 2021 ; Aouachria et al., 2020).

II.2. Les radicaux libres

Notre organisme nécessite de l'oxygène pour produire de l'énergie essentielle à son fonctionnement. Cependant, une fraction de cet oxygène se transforme en espèces réactives, appelées radicaux libres (RL), pouvant endommager des molécules cruciales comme les gènes, les protéines et les lipides (**Baba Ahmed Fédia, 2018 ; El-Houcine Sebbar et al., 2023**). Les radicaux libres sont des composés chimiques instables, dotés d'un ou de plusieurs électrons célibataires, susceptibles de réagir avec diverses macromolécules à proximité de leur lieu de formation. Ces réactions peuvent entraîner des altérations des protéines et des lipides, rendant ces derniers rances (**Mohammed Saber Guiga, 2019 ; Hokayem et al., 2012**).

Les radicaux libres, représentés conventionnellement par le symbole " \bullet ", comprennent des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), constituant la principale classe d'espèces à radical libre dans les systèmes vivants (**Ben Saad et al., 2017, Kehili, 2018 ; Paola Sist et al., 2018 ; Denise de Melo-Marins et al., 2021**). Malgré leur durée de vie très courte, les radicaux libres sont hautement réactifs, cherchant à réappairier leur électron célibataire en le partageant avec les molécules environnantes. Cela induit un état instable dans la molécule d'origine, pouvant entraîner des dommages tissulaires graves (**Hamma et al., 2015 ; Michel Démarchez., 2012 ; Filaire et Toumi, 2012**).

La formation de radicaux libres initiée par l'oxygène, commence par la transformation de la molécule bi-radicalaire d'oxygène en anion superoxyde (O_2^-) par capture successive d'électrons (Figure 10). Ce processus physiologique donne lieu à d'autres radicaux libres tels que le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le radical peroxyde ($ROO\cdot$), et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ainsi que des espèces réactives de l'azote comme le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) et le peroxyde d'azote ($ONOO\cdot$) (**Élodie Lefranc, 2018 ; Kehili, 2018 ; Antoine Avignon et al., 2020**).

La dismutation de l'anion superoxyde conduit à la formation d'oxygène fondamental et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier possédant un fort pouvoir oxydant et la capacité de traverser les membranes biologiques. La réaction de Fenton, en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}), décompose le H_2O_2 en ion hydroxyde (OH^-) et en radical hydroxyle ($\cdot OH$). Ce dernier, avec une demi-vie extrêmement courte de l'ordre de la nanoseconde, est particulièrement réactif et instable, jouant ainsi un rôle majeur dans la cytotoxicité des radicaux oxygénés. Il agit sur des molécules à proximité telles que les protéines, les lipides et l'ADN, induisant divers dommages cellulaires (**Giovanni Agati et al., 2020 ; Massimo Nespolo, 2015 ; Gutteridge et Halliwell, 1993**).

comme le peroxy-nitrite (ONOO-) et le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$). Ces espèces sont responsables de la fragmentation protéique ou de la formation d'agrégats moléculaires, mais dans un rayon d'action limité (Martinez-Cayuela et al., 1995 ; Baraka-Vidot et al., 2015)

II.4. Marqueurs biologiques du stress oxydant

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) réagissent avec toute une série de substrats biologiques tels que les protéines, les lipides et l'ADN (Tableau 6). La détection des dérivés de l'oxydation de ces différents substrats constitue donc un moyen de marquer la présence d'un stress oxydatif (Cano, 2007).

Tableau 6. Exemples de produits couramment dosés pour mettre en évidence l'oxydation d'une cible moléculaire spécifique (Cano, 2007)

Cible	Produits	Exemples
Protéines	Protéines oxydées	Groupes carbonyle, tyrosine, hydroxylée
ADN	ADN oxydés	8-hydroxy-2'déoxyguanosine
Lipides	Lipides peroxydés	Malondialdéhyde (MDA), isoprostanes

II.5. Les antioxydants

Les antioxydants regroupent toutes les substances capables de ralentir ou d'inhiber l'oxydation d'un substrat oxydable, même à des concentrations relativement faibles par rapport à ce substrat (Halliwell et al., 1999). Cette catégorie englobe à la fois des antioxydants enzymatiques tels que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase, ainsi que des composés non enzymatiques tels que le tocophérol (vitamine E), le carotène, l'acide ascorbique (vitamine C) et le glutathion. Les antioxydants d'origine exogène sont apportés par l'alimentation, notamment sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes et flavonoïdes (Figure 11).

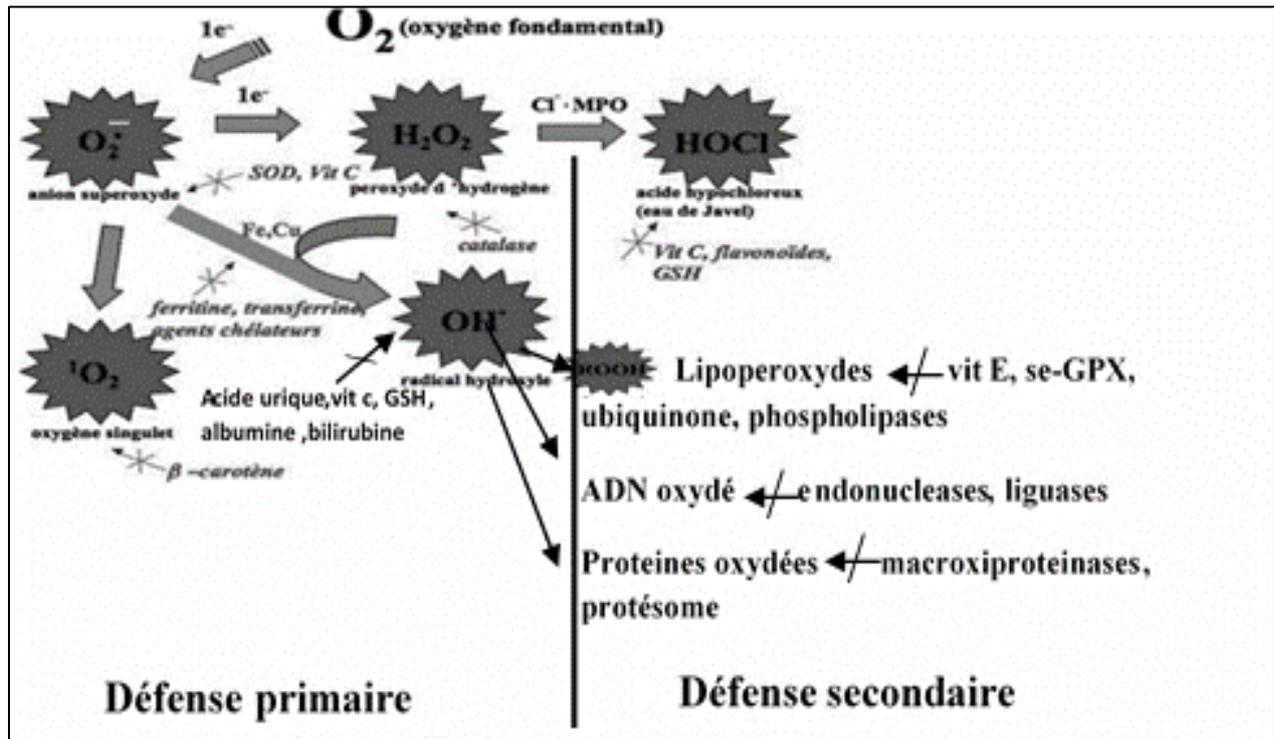


Figure 11. Aperçu des différentes ROS et antioxydants régulateurs de leur production (Haleng et al., 2007)

II.5.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques, considérés comme la première ligne de défense de l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Bahlil et al., 2018), comprennent des enzymes telles que la catalase, la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la glutathion réductase (Figure 11). Ces enzymes jouent un rôle crucial en neutralisant les intermédiaires clés de la réduction de l'oxygène en eau, visant ainsi à réduire la quantité de ROS présentes dans la cellule (Dorseman, 2018 ; Antoine Avignon et al., 2020 ; Bahlil et al., 2020).

1. La catalase (cat) :

La catalase (cat) est une enzyme du groupe des oxydoréductases héminiques, agissant en synergie avec la superoxyde dismutase (SOD). Son rôle principal est d'accélérer la conversion du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et dioxygène (Tichati, 2020 ; Gebicka et al., 2019 ; Laure Couaillet., 2015 ; Kim Durand, 2018). Composée de quatre sous-unités protéiques, chaque sous-unité contient un groupe hème et une molécule de NADPH dans son site actif, avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} . La fixation du NADPH protège la catalase contre l'attaque de l' H_2O_2 et sert de source de NADPH pour la glutathion peroxydase (Delattre et al, 2009).

La catalase est présente principalement dans les peroxysomes, les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Les hématies et les neutrophiles expriment fortement la catalase, ces

derniers jouant un rôle crucial dans la réponse inflammatoire (**Kehili, 2018 ; Desmier, 2016 ; Johanson et al., 1988 ; Caroline Prouillac, 2006**). Son importance augmente avec des niveaux élevés de peroxyde d'hydrogène, participant à l'élimination de cette substance en collaboration avec le glutathion peroxydase (**Gharaghani et al., 2022 ; Sghaier, 2019 ; Gandhi and Abramov, 2012**). Dans les érythrocytes, la valeur usuelle de la catalase est de 9 ± 1 U/mg de protéine selon la méthode de Johanson et Borg.

2. Le glutathion peroxydase (GPx) :

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme dépendante du sélénium, agissant en synergie avec la catalase (cat) pour accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et dioxygène (O_2) (**Khither, 2019**). Composée de quatre sous-unités, chacune contenant un atome de sélénium, la concentration de la GPx dans l'organisme est proportionnelle à celle du glutathion (GSH). Le GSSG (glutathion oxydé) produit est réduit par le glutathion réductase, utilisant le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) comme donneur d'électrons.

La GPx joue un rôle essentiel avec les superoxyde-dismutases et la vitamine E pour maintenir l'équilibre pro-/antioxydant intra et extracellulaire (**Kehili, 2018 ; Desmier, 2016**). La régénération du GSH, nécessaire pour maintenir l'activité de la GPx, est assurée par le glutathion réductase (**Tichat, 2020**). Il existe cinq isoformes de cette enzyme, localisés dans le cytosol (cGPx), les mitochondries, la membrane cellulaire (HPGPx), le plasma (pGPx), et spécifiquement dans les cellules digestives (GIGPx) (**Boubali, 2017 ; Bensakhria, 2018 ; Favier, 2003**)

3. La superoxyde dismutase :

La superoxyde dismutase (SOD) est une métallo-enzyme catalysant la dismutation de l'anion superoxyde (O_2^-), produisant du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et du dioxygène (O_2) (**Baudin et al., 2020 ; Laukkanen, 2016**). Trois types de SOD existent, se distinguant par leur cofacteur et leur localisation cellulaire : la Cu/Zn SOD dans le cytosol et le cytoplasme, la Mn SOD et/ou Fer SOD dans les mitochondries, et la Cu/Zn SOD extracellulaire (**Kehili, 2018 ; Laukkanen, 2016**).

Cette enzyme joue un rôle crucial dans la prévention de la formation d'entités oxydantes plus toxiques, telles que le peroxyde d'hydrogène (O_2^\bullet réagissant avec NO) ou l'ion hydroxyle. Des études animales suggèrent que la SOD participe à la prévention du vieillissement cellulaire et de certaines pathologies inflammatoires, notamment l'arthrite (**Afonso V et al, 2007**). En agissant en amont de la catalase et de la glutathion peroxydase, la SOD contribue à maintenir l'équilibre redox et à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

II.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

II.5.2.1. Les antioxydants non enzymatiques endogènes

Les antioxydants non enzymatiques endogènes jouent un rôle crucial dans la défense contre les radicaux libres, des dérivés actifs de l'oxygène. Ces molécules, présentes naturellement dans l'organisme, contribuent à la capacité antioxydante interne (**Emeraux, 2019 ; Laguna, 2019**). Parmi ces antioxydants, on compte le glutathion, le coenzyme Q10, l'albumine, l'acide urique, l'acide ascorbique, la bilirubine, les œstrogènes, la mélanine, la mélatonine et l'acide alpha-lipoïque. Ils représentent plus de trois quarts de la capacité antioxydante totale (**Bousnane, 2018 ; Koala, 2015**).

1. Le glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion (GSH), un thiol antioxydant endogène, est un agent réducteur physiologique crucial pour le maintien du statut redox intracellulaire (**Desmier, 2016 ; Kim Durand, 2018**). Il exerce un rôle majeur dans la protection et la détoxification contre les composés toxiques et les espèces réactives de l'oxygène (ERO), agissant comme cosubstrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) (**Pylypenko et al., 2019 ; Yue Liu et al., 2020**).

Chimiquement, le glutathion est un tripeptide composé de cystéine, d'acide glutamique et de glycine, représentant le thiol (-SH) prédominant intracellulaire. Il est abondant dans les reins, le foie, les poumons et l'intestin, agissant comme un défenseur essentiel contre les radicaux libres, les médicaments toxiques et les métaux lourds (**Benamara et al., 2022 ; Joubert, 2018 ; Sinha et al., 2018**). Plus de 90 % du glutathion intracellulaire se trouve sous forme réduite (GSH), jouant un rôle central dans la détoxification cellulaire.

La GPx facilite l'élimination du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou des hydroperoxydes (LOOH), oxydant le GSH réduit en glutathion oxydé (GSSG). Ce dernier est ensuite réduit à nouveau en GSH par le glutathion réductase, utilisant le NADPH comme donneur d'électrons. Le GSH participe activement à la synthèse des protéines, de l'ADN, et au transport des acides aminés. Il est essentiel pour le recyclage d'autres antioxydants tels que les vitamines C et E, en maintenant leur état actif (**Tichati et al., 2020 ; Wolf, 2018**).

Le glutathion est également crucial pour le fonctionnement optimal du système immunitaire, régénérant les cellules immunitaires comme les lymphocytes. Une déficience en glutathion est associée à diverses maladies inflammatoires, neurodégénératives, et autres dysfonctionnements organiques. Sa demande augmente en cas de stress, fatigue, maladies, et même exercice physique. En outre, le glutathion agit comme un détoxifiant des métaux lourds, prévenant la peroxydation lipidique. Les groupements "thiols" présents dans la plupart des protéines,

notamment l'albumine, contribuent également à leurs propriétés réductrices et à la capture des espèces oxygénées activées (Goutzourelas et al., 2018 ; Djohan et al., 2018 ; Shahid P. Baba et Aruni Bhatnagar, 2018).

2. Le Coenzyme Q10

Le coenzyme Q10, également appelé ubiquinone en raison de sa présence ubiquitaire dans les cellules, occupe un rôle crucial dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons. Il agit comme un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique, travaillant en synergie avec la vitamine E (Gkekas et al., 2021 ; Ben Saad et al., 2017).

3. L'acide urique

L'acide urique, produit du métabolisme des purines, existe principalement sous forme d'urate (UrH_2^-) à pH physiologique. Dans le plasma, il démontre une forte activité antioxydante, agissant efficacement comme un piège pour divers radicaux libres tels qu' $\text{OH}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{NOO}\cdot$. Ces réactions génèrent des espèces radicalaires qui peuvent être réduites, notamment par la vitamine C (Rosell, 2018 ; Tichati et al., 2019).

D'autres systèmes antioxydants non enzymatiques présents dans l'organisme incluent la bilirubine, les hormones sexuelles, la mélatonine, l'acide lipoïque, ainsi que certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine. Ces composés peuvent être mesurés dans le plasma et les érythrocytes. L'évaluation de ces systèmes antioxydants est considérée comme utile en tant que biomarqueurs, notamment dans le choix des stratégies thérapeutiques lors de pathologies induites par le stress oxydant, telles que le cancer (Merlin, 2015 ; Ambroise-Thomas, 2017).

II.5.2.2. Les antioxydants non enzymatiques exogènes

Ces antis oxydants jouent un rôle essentiel en prévenant l'oxydation des aliments, en particulier des lipides, tout en stimulant la production d'antioxydants endogènes, contribuant ainsi à la protection contre les maladies dégénératives. Parmi les antioxydants diététiques cruciaux, on trouve des vitamines telles que l'acide ascorbique (vitamine C), les tocophérols (vitamine E), les caroténoïdes, ainsi que des composés phénoliques présents dans des aliments végétaux caractéristiques du régime méditerranéen, tels que l'huile d'olive (Shinde et al., 2012).

Les chélateurs biologiques des métaux agissent en empêchant la participation des ions métalliques transitoires dans la formation de radicaux hydroxyles et d'autres substances hautement réactives. Ces molécules interviennent lorsque l'oxydation est déjà en cours, malgré la présence de systèmes biologiques antioxydants. Les chélateurs biologiques sont essentiels dans la lutte contre les espèces hautement réactives (Esmaeili, 2019 ; Sanchez, 2018).

Ces antioxydants exercent leur action en réagissant avec les radicaux libres pour former des adduits plus stables ou des radicaux moins réactifs, incapables de nuire aux biomolécules, ou en effectuant une réparation chimique sur une cible endommagée. En conséquence, cette catégorie de composés est souvent désignée comme des "piégeurs de radicaux libres" (**Delehedde, 2019 ; Desmier, 2016**).

L'huile d'olive et ses dérivés se distinguent par leur riche contenu en substances protectrices aux puissants effets antioxydants. Les polyphénols présents dans l'huile d'olive capturent de manière très efficace les radicaux libres, expliquant ainsi leur fort pouvoir antioxydant (**source : www.olivie**).

1. La vitamine E

La vitamine E, composée de huit molécules organiques, dont quatre tocophérols (alpha, bêta, gamma, delta) et quatre tocotriénols, est un antioxydant liposoluble. L'isoforme alpha-tocophérol est la plus efficace et prédominante dans la vitamine E.

Elle constitue le principal antioxydant soluble dans les chaînes lipidiques, présent dans le plasma, les globules rouges et les tissus. Son rôle essentiel réside dans la préservation de l'intégrité des structures lipidiques, en particulier des membranes cellulaires.

L'alpha-tocophérol s'intègre facilement dans les membranes cellulaires, agissant comme protecteur contre la peroxydation lipidique en neutralisant l' H_2O_2 et en décomposant les radicaux libres. Cette molécule liposoluble se lie aux membranes, inhibant ainsi les réactions de propagation de la peroxydation lipidique (**Tichati, 2020 ; Delehedde, 2019**).

En réagissant avec les radicaux peroxydes ($ROO\bullet$) ou alcoxydes ($RO\bullet$) par échange d'un atome d'hydrogène phénolique, l'alpha-tocophérol forme un hydroperoxyde et un radical tocophéryle, ce dernier étant stabilisé par résonance et peu réactif (**Delehedde, 2019**).

L'alpha-tocophérol agit en synergie avec d'autres antioxydants, tels que la vitamine C et le glutathion, facilitant leur régénération. En outre, in vitro, les vitamines E et C renforcent l'activité des enzymes antioxydantes, comme la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la glutathion réductase, tout en réduisant la peroxydation lipidique. Le tocophérol se révèle également être l'antioxydant naturel le plus efficace pour protéger les cellules neuronales cultivées contre la mort cellulaire oxydative.

2. La vitamine C ou acide ascorbique

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une molécule hydrosoluble présente principalement dans les agrumes et d'autres fruits et légumes, avec un apport journalier recommandé d'environ 100 mg (**Suzuki K et al., 2011 ; Tichati, 2020**). Elle est reconnue pour son rôle protecteur contre l'oxydation membranaire en neutralisant les radicaux oxygénés hydrosolubles tels

qu'OH• et O₂•-. Travaillant en synergie avec la vitamine E, elle facilite la régénération de l'alpha-tocophérol. À des conditions de pH physiologiques, la vitamine C est principalement présente sous forme d'anion ascorbate (**Camarena et Wang, 2016**).

3. Le bêta-carotène

Le β-carotène, l'α-carotène et la β-cryptoxanthine sont des caroténoïdes agissant comme des précurseurs de la vitamine A, également connue sous le nom de rétinol (**Chen Liu et al., 2016 ; Couaillet, 2015**). Le β-carotène, en particulier, fonctionne comme un puissant antioxydant, capable de neutraliser les radicaux hydroxyles (HO•) et les peroxydes (ROO•), contribuant ainsi à prévenir les réactions en chaîne de peroxydation lipidique (**Ono et al., 2012 ; Robinson, 2018**). Il peut également neutraliser l'oxygène singulet (1O₂), un autre type de radical libre formé en présence de lumière (**Tabet, 2019**).

En tant que provitamine A, le β-carotène, tout comme l'α-carotène et la β-cryptoxanthine, est essentiel pour la production de vitamine A chez l'homme (**Kehili, 2018**).

Ces caroténoïdes agissent également comme des photoprotecteurs, préservant les cellules des dommages causés par les rayons ultraviolets, contribuant ainsi à la prévention du vieillissement prématuré de la peau et à la réduction du risque de dommages cutanés (**Lorena Pizarro ; Claudia Stange, 2009 ; Tabet, 2019**).

Il est crucial de noter que les caroténoïdes xanthophylles, tels que la lutéine et la zéaxanthine présentes dans des aliments tels que les tomates et les agrumes, jouent un rôle essentiel dans la santé oculaire, en particulier dans la prévention de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et d'autres pathologies oculaires (**Lefranc, 2019 ; Fanciullino et Gautier, 2022 ; Vandecandelaere, 2022**).

La vitamine A est indispensable, et son apport doit être quotidien, que ce soit sous forme de β-carotène d'origine végétale, présent dans des aliments comme les tomates, les carottes et les abricots, ou sous forme de vitamine A active (le rétinol), que l'on trouve principalement dans des aliments d'origine animale comme la viande, le poisson et les produits laitiers. Une étude récente au Japon suggère également une relation inverse entre la concentration circulante de β-carotène et l'incidence du syndrome métabolique, suggérant un rôle potentiel des caroténoïdes dans la prévention du diabète et de ses complications (**Couaillet, 2015 ; Suzuki et al., 2011**).

4. Les oligoéléments

Certains oligo-éléments, tels que le sélénium, le zinc, le cuivre, le fer et le manganèse, sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Ils agissent en tant que cofacteurs d'enzymes, contribuant au bon fonctionnement de ces enzymes, renforçant le système immunitaire et protégeant les cellules contre le stress oxydatif (**Zazzo, 1993 ; Tagliante, 2022**).

Ces oligo-éléments, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme humain, doivent être apportés par une alimentation variée et équilibrée car le corps ne les produit pas lui-même. Ils sont majoritairement stockés dans les muscles et le foie. Une carence en oligo-éléments, souvent associée à un déficit protéique, peut entraîner des anomalies biologiques (**Brebion, 2022 ; Haleng et al., 2007**).

- Le sélénium est un cofacteur crucial de l'enzyme glutathion peroxydase, présent notamment dans les poissons, les fruits de mer, les viandes, les abats, les produits céréaliers complets et certains légumes (**Djohan.,2018, Wallace et al.,1987**). La forme organique liée à la cystéine est mieux absorbée et subit une métabolisation hépatique.

- Le cuivre agit en tant que cofacteur pour diverses enzymes, mais peut déclencher la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) à des concentrations élevées (**Djohan., 2018 ; Tan et al., 2018**). Il est présent dans des aliments tels que le son, l'avoine, le seigle et le foie de veau.

- Le zinc, en plus de servir de molécule de signalisation, est un cofacteur pour de nombreuses enzymes et facteurs de transcription.

Il protège les groupements thiols des protéines et peut inhiber les réactions de formation de ROS induites par d'autres métaux (**Chasapis et al., 2020 ; Faghfour et al., 2021**). Les aliments riches en zinc comprennent les viandes, les poissons, les céréales complètes et les légumes secs (**Djohan., 2018 ; Marreiro et al., 2017**).

- Le manganèse est un élément essentiel de la superoxyde dismutase mitochondriale (SOD Mn), une enzyme qui joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs (**Marreiro et al., 2017 ; Tichati et al., 2020**).

5. Les polyphénols

Le terme "polyphénol" a remplacé l'ancien terme "tanin végétal". Sur le plan moléculaire, ces métabolites du poids élevé présentent une structure de base caractérisée par la présence d'au moins un cycle aromatique porteur d'une ou de plusieurs fonctions hydroxyles, qui peuvent être méthylées, acylées ou glycosylées (**de Araújo et al., 2021 ; de Paulo Farias et al., 2020 ; Vuolo, Lima, & Mar'ostica Junior, 2019**).

5.1. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols, classés comme métabolites végétaux secondaires, se divisent en cinq groupes structuraux (Figure 12) : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stibènes, les tanins et les lignanes, chacun comprenant un ou plusieurs sous-groupes (**Błaszczak et al., 2020 ; Wojtunik-Kulesza et al., 2020 ; Wu et al., 2022**). On connaît au moins 8000 structures différentes de polyphénols, allant des molécules phénoliques simples comme les acides phénoliques aux

composés fortement polymérisés comme les tanins (Vuolo et al., 2019 ; Agouazi, 2021 ; Ben Nasr et al., 2021).

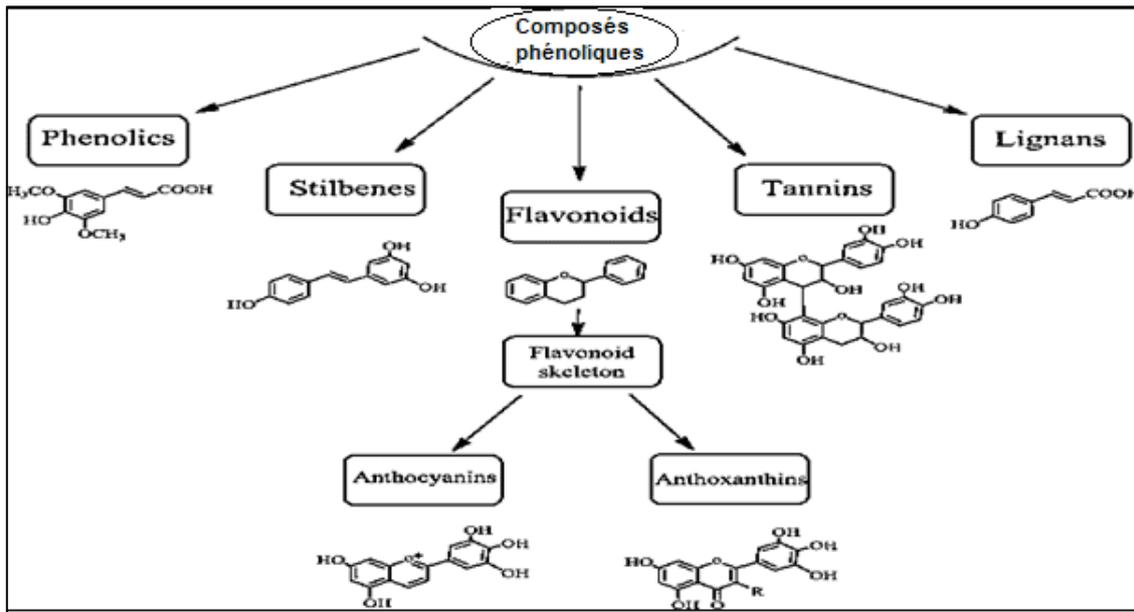


Figure 12. Classification des composés phénoliques (Tijjani et al., 2020)

5.1. 1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques caractérisés par au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils se divisent en deux classes principales : les dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Tableau 7) (El Gharras, 2009 ; Bruneton, 2008). Ces acides phénoliques jouent un rôle essentiel dans la biosynthèse de nombreuses molécules naturelles. Par exemple, l'acide cinnamoylé, dérivé de l'acide cinnamique, est un métabolite clé dans la synthèse des chalcones (El Gharras, 2009).

✓ Les acides phénols dérivés de l'acide hydroxybenzoïque, représentés dans le tableau 6, sont des dérivés courants de l'acide benzoïque (structure C6-C1). Ils se trouvent fréquemment sous forme libre ou combinée, notamment en tant qu'esters ou hétérosides. L'acide gallique, l'un des acides phénols les plus répandus, et son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique, sont des composants hydrolysables des tanins, présents en abondance dans les fruits et légumes (Bruneton, 2009 ; Legrand, 2015).

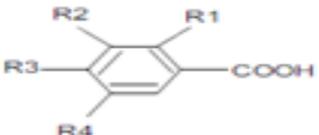
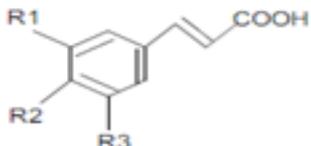
✓ Les acides phénols dérivés de l'acide hydroxycinnamique, également répertoriés dans le tableau 2, proviennent de l'acide cinnamique, également appelé phénylpropanoïde. Leur structure de base (C6-C3) est caractérisée par un noyau benzénique et une chaîne aliphatique à trois carbones, comportant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Psotová et Vicar, 2003 ; Richter, 1993). La réactivité de ces composés dépend du degré d'hydroxylation et de

méthylation du cycle benzénique, ainsi que des éventuelles modifications par des réactions secondaires (Chira et al., 2008 ; Legrand, 2015).

Ces composés sont largement distribués, souvent estérifiés, amidifiés, ou associés à des sucres ou des polyols tels que l'acide quinique (Bruneton, 2008).

Un représentant majeur de cette catégorie est l'acide caféique, un composé polyphénolique présent dans une variété de végétaux, tels que les grains de café, les tomates, les olives et les pommes. Il représente une proportion importante des acides hydroxycinnamiques dans la plupart des fruits, principalement sous forme d'ester lié à l'acide quinique, comme l'acide chlorogénique. Ce dernier est particulièrement concentré dans les pommes (430 mg/kg) et le café, où une seule tasse peut en contenir entre 70 et 350 mg (Manach et al., 2004 ; Podsedek et al., 2000).

Tableau 7. Principaux acides hydroxbenzoïques et hydroxycinnamiques (Cheynier, 2006 ; Chira et al., 2008)

Structures					
					
Acides benzoïques	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Acides Hydroxycinnamiques
	H	H	H	H	Acide cinnamique
Acide Hydroxybenzoïque	H	H	OH	H	Acide P Coumarique
Acide Protocatéchique	H	OH	OH	H	Acide Caféique
Acide Vanillique	H	OCH ₃	OH	H	Acide Férulique
Acide Gallique	H	OH	OH	OH	
Acide Syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide Sinapique
Acide Salicylique	OH	H	H	H	
Acide Gentisique	OH	H	H	OH	

5.1.2. Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques polymériques complexes, hydrosolubles, qui se lient aux protéines, démontrant leur capacité à s'associer à des macromolécules, précipiter les alcaloïdes et interagir avec la gélatine (Haslam, 1996 ; Cowan, 1999).

Naturellement produits par les plantes, ces composés se trouvent notamment dans les écorces de certains fruits (Makkar, 2003). On distingue deux groupes de tanins en fonction de leur structure et de leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines (Figure 13) (Vermerris et al., 2006).

1. Tannins hydrolysables (THs) : Il s'agit d'esters de glucose, molécules d'acide-phénol facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (Mueller-Harvey, 2001). Après hydrolyse, ils libèrent une partie non phénolique et une partie phénolique, qui peut être de l'acide gallique ou un dimère de celui-ci (Jiménez et al., 2014). On les classe en deux sous-groupes : les tannins galliques et les tannins ellagiques, obtenus par couplage oxydatif entre les molécules d'acide gallique (Hagerman, 2002 ; Mueller-Harvey, 2001).

2. Tanins condensés (TCs) ou proanthocyanidols : Ces polyphénols, appartenant à la famille des flavonoïdes, ont généralement des poids moléculaires plus élevés que les tannins hydrolysables (Bruneton, 1993 ; Hagerman, 1992). Contrairement à ces derniers, l'hydrolyse des tanins condensés ne produit pas de composés simples tels que le glucose ou les acides phénols, mais plutôt des anthocyanidines (Klongsiriwet et al., 2015).

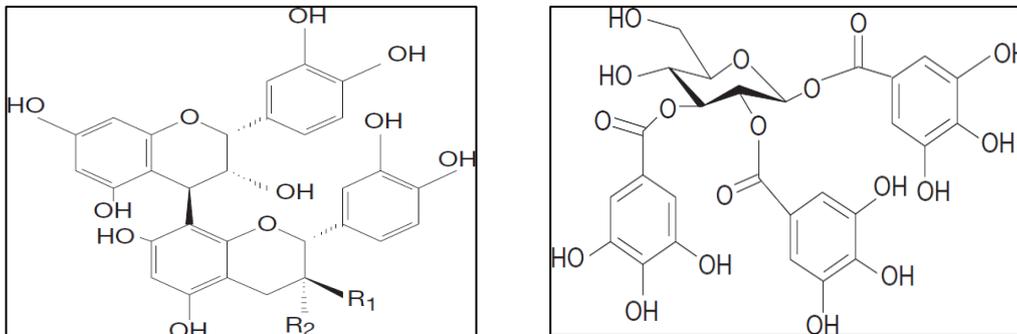


Figure 13. Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) (Vermerris et al., 2006 ; Moran et al., 1997)

5.1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent plus de la moitié des polyphénols, tandis que les lignanes, les coumarines et les stibènes se décomposent en plusieurs composés (Russell, 2019 ; Saidi et al., 2018). On les retrouve sous forme d'anthocyanines dans les fruits rouges et le vin rouge, sous forme de flavonoïdes dans les agrumes et l'huile de lin, et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes (Irene Dini et Lucia, 2022 ; Grumetto Laredj Zazou, 2020 ; Tichati et al., 2019).

Les flavonoïdes, dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone, possèdent un squelette de base composé de quinze atomes de carbone (Tableau 8). Ce squelette est constitué de deux

noyaux aromatiques formant les cycles phényles A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné central de type pyrane, désigné par la lettre C. Les flavonoïdes présentent une structure C6-C3-C6, portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Ghedira et al., 2005 ; Milane, 2004**).

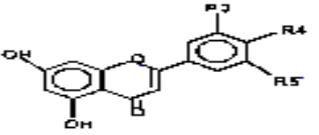
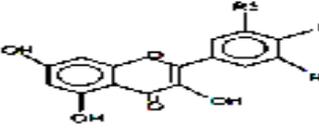
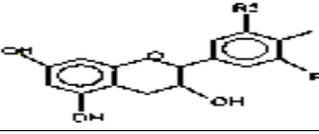
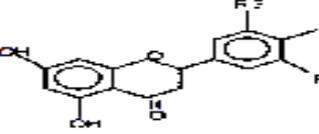
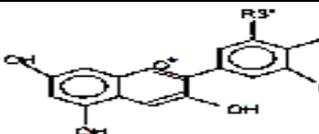
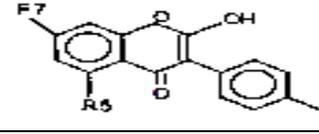
En tant que métabolites secondaires, les flavonoïdes représentent une vaste gamme de composés phénoliques (**Seleem et al., 2017**) et agissent souvent comme des pigments presque universels dans les végétaux, contribuant à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Leur présence dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits crée une palette de couleurs allant du jaune clair au jaune doré (**Ghestem et al., 2001**). Les flavonoïdes jouent un rôle crucial dans la défense des plantes contre les rayonnements UV, les herbivores et les attaques microbiennes (**Crozier et al., 2003**).

À l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides, bien que leur localisation cellulaire reste incertaine, avec des indications suggérant un stockage dans la vacuole ou le réticulum endoplasmique (**Lilou et al., 2008**).

Tous les flavonoïdes partagent une origine biosynthétique commune et ont le même élément structural de base, avec des groupements hydroxyles généralement en positions 4, 5 et 7. Ces composés sont fréquemment présents sous forme de glycosides (**Chira et al., 2008**) et peuvent être subdivisés en plusieurs classes en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central (Tableau 8).

Les principales classes de flavonoïdes comprennent les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (**Effendi et al., 2008**) (Tableau 8). Les substitutions des cycles A et B conduisent à une diversité de composés flavonoïdes, impliquant des processus tels que l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation (**Balasundram et al., 2006**).

Tableau 8. Classification de certaine structure des Flavonoïdes (Boutera et al., 2015 ; Aruoma et al., 2003)

Classe	Structure chimique	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzeine

✓ Les anthocyanidines

Les anthocyanidines sont des pigments hydrosolubles dont la structure de base est un ion flavylum (ion 2-phénylchroménylium), comme présenté dans le tableau 7. Leurs dérivés hétérosides sont appelés anthocyanes, anthocyanosides ou encore anthocyanines. Elles sont largement présentes dans le règne végétal, principalement sous forme de glycosides, où elles sont responsables des couleurs rouges, bleues et violettes en fonction du pH du milieu (Ferrier et al., 2018).

✓ Les anthoxanthines (flavones et flavonols)

Les anthoxanthines sont un type de pigments flavonoïdes présents dans les plantes. Ce sont des pigments hydrosolubles dont la couleur varie du blanc ou incolore à un jaune crème, souvent sur les pétales de fleurs. Ces pigments sont généralement plus blancs en milieu acide et jaunissent en milieu alcalin.

Ils sont très sensibles aux changements de couleur avec les minéraux et les ions métalliques, tout comme les anthocyanines (Blanco et al., 2021 ; Boutera et al., 2015).

5.1.4. Les stilbènes (C6-C2-C6)

Les stilbènes (Figure 14), sont des exemples de composés produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales. Ces composés font partie de la famille des polyphénols non-flavonoïdes, contrairement aux anthocyanidines et aux flavonols qui appartiennent à la famille des polyphénols flavonoïdes. Les stilbènes, sont caractérisés par leurs propriétés antioxydantes, contribuant ainsi à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs. Le resvératrol est le stilbène le plus étudié et se trouve dans la peau des raisins rouges, le vin rouge, les noix et les baies. Il a été associé à de nombreux bienfaits pour la santé, notamment la protection contre les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies neurodégénératives (**Lambert, 2011**).

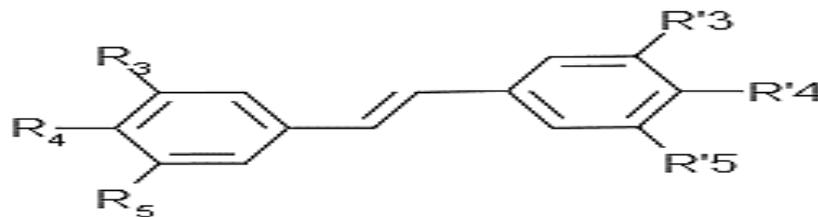


Figure 14. Structure chimique de stilbenes

$R_1=R_3=R'_2=OH, R_2=R'_1=R'_3=H$: resvératrol

$R_1=R_3=OCH_3, R_2=R'_1=R'_3=H, R'_2=OH$: ptérostilbène

$R_1=glucose, R_2=R'_1=R'_3=H, R_3=R'_2=OH$: picéide

5.1.5. Les lignanes et les lignines (C6-C3) n

Les lignanes sont des composés phénoliques constitués par la liaison de deux unités de monolignols (Figure 15). Ils peuvent être trouvés dans de nombreuses plantes, y compris les graines, les fruits, les légumes et les céréales. Les lariciresinols, les secoisolariciresinols et les dihydroxystilbènes sont les lignanes les plus courants (**Xiao Fan Song, 2013**).

L'olive est une source importante de lignanes, notamment de secoisolariciresinol, de pinosresinol et de lariciresinol. Ces lignanes sont des phytoestrogènes, c'est-à-dire des composés végétaux qui ont une structure similaire aux œstrogènes humains. Les phytoestrogènes peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé, notamment en réduisant le risque de maladies cardiovasculaires, du diabète de type 2 et de certains cancers.

La teneur en lignanes des olives varie en fonction de la variété d'olive, du mode de culture et du stade de maturité des olives. En général, les olives noires sont plus riches en lignanes que les olives vertes.

-Lignines

Les lignines sont des composés phénoliques complexes qui se composent de nombreuses unités de phénylpropanoïdes liées d'unités de phénylpropanoïdes identiques, tandis que les lignines hétérogènes sont composées d'unités de phénylpropanoïdes différentes (**Jiménez-Escrig et al., 2016**)

Les lignines sont également présentes dans l'olive, mais elles sont plus difficiles à extraire que les lignanes. Les lignines de l'olive sont principalement constituées de syringaldéhyde, de p-coumaryldéhyde et de vanilline (**Jiménez-Escrig et al., 2016**).

Les lignines de l'olive ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Elles peuvent également contribuer à réduire le risque de maladies cardiovasculaires et du diabète de type 2. L'olive constitue une source importante de lignanes et de lignines, des composés qui ont des propriétés bénéfiques pour la santé (**Muanda Nsemi, 2010**). Les graines, les fruits, les légumes et les céréales sont les principales sources alimentaires de lignanes (**Imran et al., 2015**). Les graines de lin, les graines de sésame, les noix, les haricots, les lentilles et les noix sont les aliments les plus riches en lignanes (**Imran et al., 2015**).

Les lignines sont les composants structurels principaux des parois cellulaires des plantes. Elles confèrent aux plantes leur rigidité et leur résistance. Les lignines jouent également un rôle important dans la protection des plantes contre les infections et les ravageurs.

Les lignanes et les lignines sont des composés importants qui jouent un rôle vital dans le monde végétal. Ils ont également des propriétés bénéfiques pour la santé humaine (**Marie-Chantal et al., 2023**).

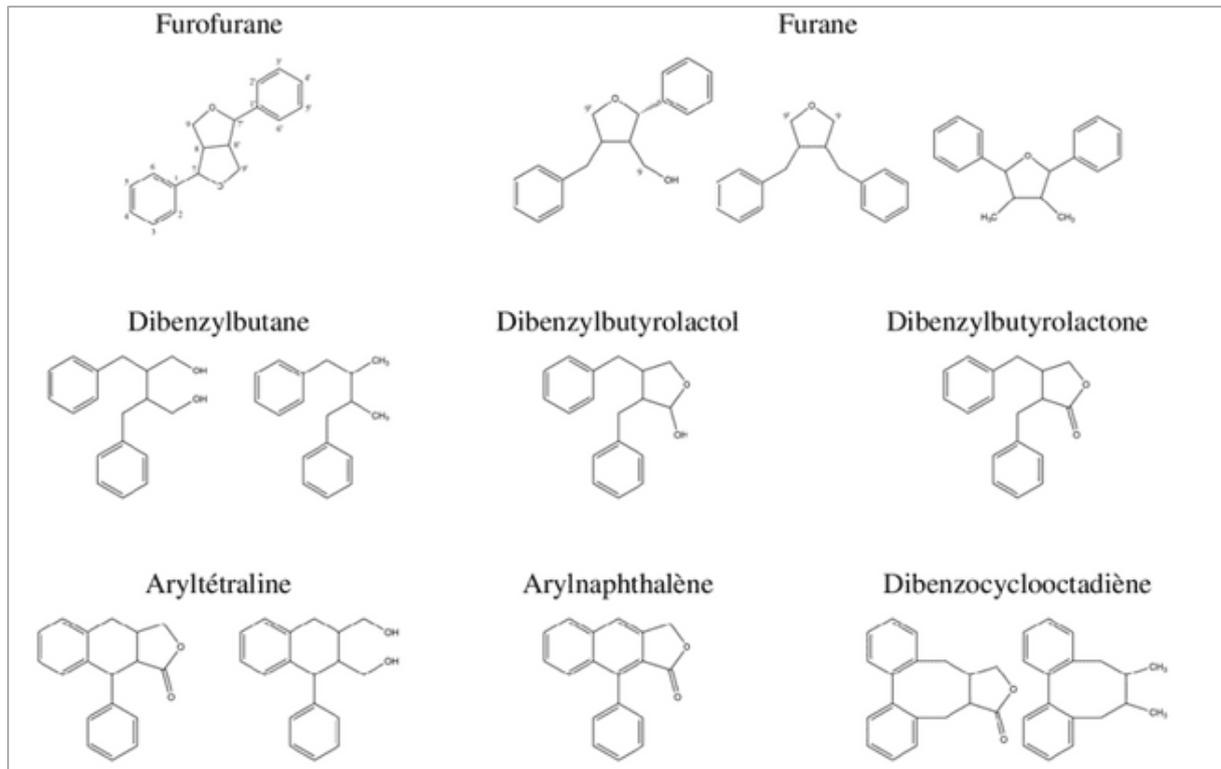


Figure 15. Structure générale des lignanes. D'après **Suzuki et al., (2007)**

5.2. Les effets biologiques variés des composés phénoliques de L'olive

En tant que métabolites secondaires, les polyphénols et les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine (**Wang et al., 2021 ; Irene Dini et Lucia Grumetto, 2022 ; Wang et al., 2021 ; Irene Dini et Lucia Grumetto, 2022**).

Ces substances contribuent aux caractéristiques sensorielles des plantes telles que la couleur, l'astringence et l'amertume et jouent un rôle essentiel dans la croissance végétale (**Manach et al., 2004**). Ils agissent également comme mécanisme de défense contre les agents pathogènes, parasites, prédateurs et rayons UV.

Il est également reconnu que les polyphénols peuvent piéger les espèces réactives de l'oxygène, chélater les métaux de transition, tels que le fer et le cuivre, inhibition des enzymes génératrices d'EOR et induire la biosynthèse des enzymes antioxydantes (**Achat, 2013**). Cependant, ils ne forment pas un groupe homogène de molécules (**Erdman et al., 2007**). La biodisponibilité des polyphénols est influencée par des processus tels que le fractionnement, le raffinage, la fermentation, la cuisson, la conservation et la maturation, qui impliquent des réactions d'hydrolyse et d'oxydation.

L'absorption des polyphénols varie en fonction de la structure et des propriétés chimiques, se produisant principalement dans l'intestin grêle, mais aussi à l'estomac et au côlon (**Hollman et**

al., 2011). L'hydrolyse est nécessaire pour faciliter leur absorption en rendant les composés davantage lipophiles (Scalbert et Williamson, 2000 ; Gee et al., 2000 ; Prior et Wu, 2006).

Bien que la concentration plasmatique des polyphénols consommés soit relativement faible par rapport à leurs métabolites, peu de données sont disponibles sur l'activité biologique de ces métabolites et leurs sites d'action (Scalbert et Williamson, 2000 ; Prior et Wu, 2006).

Les apports en polyphénols varient selon les habitudes alimentaires, avec une estimation moyenne d'apport en polyphénols à environ 1.2 g/jour, les flavonoïdes contribuant à plus de 40% de ces apports journaliers dans une cohorte française (Perez-Jimenez et al., 2011).

5.2.1. Anti-oxydation : En termes d'antioxydation, les polyphénols agissent en neutralisant les radicaux libres par différents mécanismes, y compris la capture directe (Figure 16), la chélation des métaux de transition (Figure 17) et l'inhibition enzymatique, telle que l'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase. Ils peuvent également chélater les ions métalliques dans les systèmes d'oxydation des métaux de transition, contribuant ainsi à prévenir la génération de radicaux hydroxyles.

De nombreuses études ont démontré l'activité antioxydante des composés phénoliques issus des grignons d'olive (Cherrad et al., 2019-2020 ; Čepo et al., 2018 ; Gómez-Cruz, 2021 ; Apia-Quirós et al., 2020). Manna et al., 1999 ont mis en évidence la capacité des polyphénols de l'huile d'olive à prévenir les dommages dans des cellules érythrocytaires et des cellules de tumeur intestinale lors de leur exposition à un stress oxydatif, en présence de H₂O₂.

La propriété antioxydante majeure des polyphénols est associée à leur capacité anti-radicalaire, interrompant la chaîne de réactions induite par les radicaux libres. Cette activité antioxydante est liée à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires entre le groupe hydroxyle et les radicaux phénoliques, conduisant à la formation d'une quinone (Visioli & Galli, 1998). Des études sur les flavonoïdes et les polyphénols indiquent une corrélation entre l'activité antioxydante et le nombre ainsi que la position des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique (Visioli & Galli, 1998).

Les composés ortho et paras substitués sont plus stables que les méta substitués, favorisant une activité antioxydante élevée (Finotti et Di Majo, 2003). Par exemple, la substitution orthodiphénolique montre une capacité antioxydante accrue, tandis qu'une seule substitution hydroxyle, comme dans le cas du tyrosol, n'offre pas une activité forte, sauf pour la protection des lipoprotéines de faible densité (LDL) contre les dommages oxydatifs induits chimiquement. Les activités antioxydantes de composés phénoliques tels que l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine présents dans l'huile d'olive et ses dérivés ont été étudiées à travers divers modèles

expérimentaux, montrant des effets bénéfiques sur des modèles cellulaires et in vivo sur des animaux (Manna et al., 1997 ; Speroni et al., 1998 ; Visioli et al., 1998).

Des études ont démontré que ce composé peut augmenter les capacités antioxydantes plasmatiques chez les rats en augmentant l'activité de la GSH peroxydase, de la GSH réductase et de la GSH S-transférase, tout en réduisant les marqueurs de peroxydation lipidique, d'oxydation des protéines et de l'ADN, et en augmentant l'activité des protéines antioxydantes dans divers tissus (Konstantinidou et al., 2010 ; Visioli et al., 2001 ; Poudyal et al., 2016).

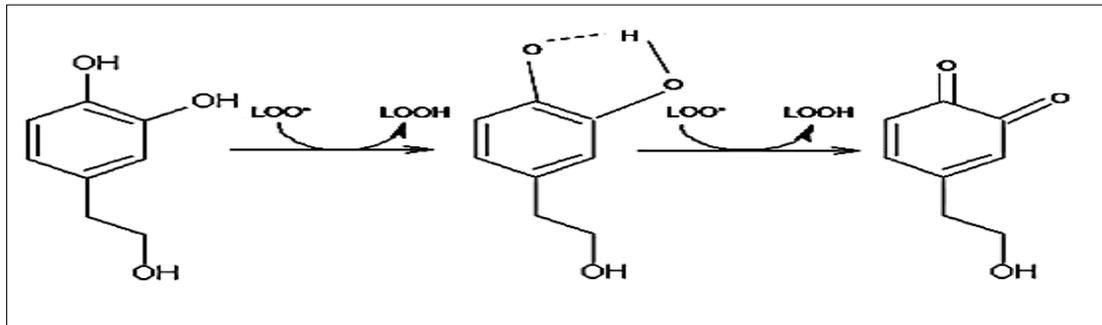
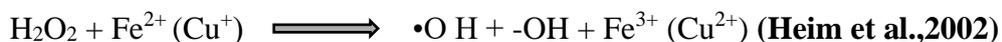


Figure 16. Stabilisation de radicaux par l'hydroxytyrosol (Tripoli, 2005)

L'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de $\text{O}_2^{\bullet-}$ et de H_2O_2 . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante (Russo et al., 2018 ; Pietta et al., 2000).

Les polyphénols peuvent inhiber la formation des radicaux libres en chélateant les métaux de transition, tels que le fer et le cuivre (Figure 17). Ces métaux sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques, mais ils peuvent également contribuer à la formation des radicaux libres comme radical OH^{\bullet} par la réduction de H_2O_2 lors de la réaction de Fenton.



Les polyphénols notamment les flavonoïdes peuvent se lier à ces métaux et les rendre indisponibles pour réagir avec d'autres molécules.

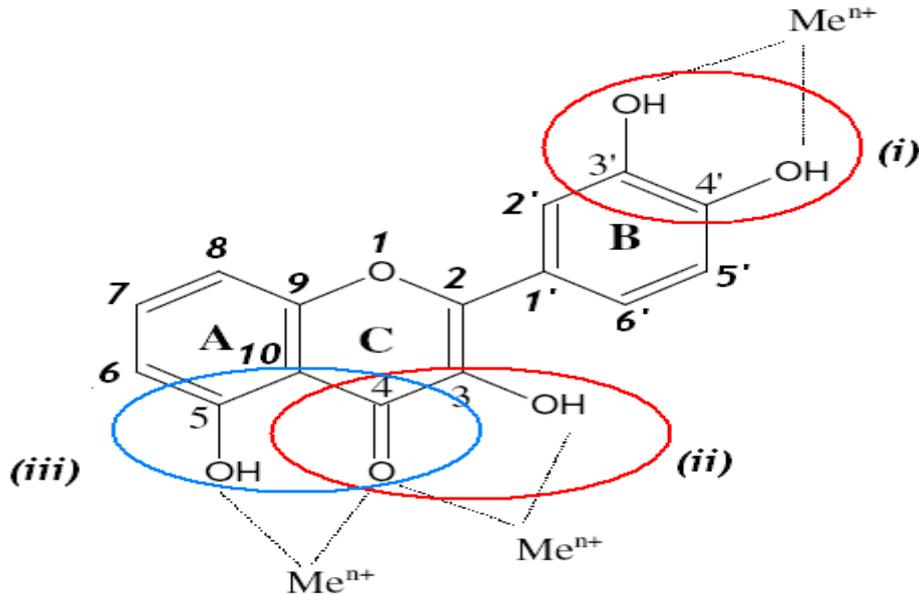


Figure 17. Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Me^{n+}) (Milane, 2004)

Les polyphénols affectent l'activité des enzymes de diverses manières, notamment en rivalisant avec les substrats ou les cofacteurs enzymatiques. Ils peuvent, par exemple, se lier aux sites actifs des enzymes, ce qui les empêche de se lier à leurs substrats. De plus, les polyphénols peuvent modifier la structure des enzymes, ce qui compromet leur activité catalytique, ou provoquer une inactivation irréversible de l'enzyme, souvent par des modifications chimiques (Gouzi, 2014 ; Elise Emeraux, 2019).

Les effets de l'inhibition des enzymes par les polyphénols peuvent varier, avec des effets bénéfiques et néfastes pour la santé. Dans certaines situations, l'inhibition des enzymes digestives peut entraîner une diminution de l'absorption des nutriments. Cependant, cette inhibition peut également être bénéfique, par exemple en réduisant l'activité des enzymes impliquées dans la croissance des cellules tumorales, ce qui pourrait avoir des effets anticancéreux. Par conséquent, l'effet global des polyphénols sur la santé dépend de la spécificité des enzymes ciblées et des processus biologiques régulés par ces enzymes (Ferrier, 2018 ; Dangles et al., 2012).

Parmi les polyphénols étudiés pour leurs effets inhibiteurs sur les enzymes, les tanins se démarquent. Ces composés phénoliques complexes, présents dans des sources telles que le thé, le vin, les fruits secs et les légumes, démontrent une capacité à inhiber diverses enzymes, y compris les enzymes digestives, celles impliquées dans le métabolisme des glucides, ainsi que celles associées à la croissance des cellules tumorales (Russo, 2018 ; Laib et al., 2020).

5.2.2. Anti-inflammation : En ce qui concerne l'anti-inflammation, certains polyphénols ont des propriétés anti-inflammatoires, contribuant à réduire l'inflammation chronique associée à diverses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, et les maladies neurodégénératives (**Bouderbala et al., 2015 ; Badi et al., 2022 ; Cherrad et al., 2020**).

Les phénols semblent moduler l'expression génique, et la consommation d'huile d'olive riche en phénols peut influencer l'expression de gènes via l'induction d'enzymes détoxifiantes de phase II, notamment par l'activation du facteur nucléaire lié à E β (Nrf-2) (**Konstantinidou et al., 2010 ; Farràs et al., 2013**). Des mécanismes impliquant l'hydroxytyrosol ont été étudiés, montrant son effet protecteur contre le stress oxydant et son activation de la voie Keap1/Nrf-2, induisant l'expression d'enzymes de détoxification et stimulant la biogenèse mitochondriale. La consommation d'huile d'olive riche en phénols a également été associée à une diminution de l'expression de certains gènes liés au stress oxydant et à l'inflammation (**Konstantinidou et al., 2010**).

5.2.3. Régulation de la Glycémie

Selon des études sur les animaux, les polyphénols peuvent améliorer la glycémie en empêchant l'absorption du glucose au niveau intestinal, réduisant ainsi la quantité de glucose circulant dans le sang. Ils agissent également en régulant la sécrétion d'insuline et en réduisant la production de glucose par le foie. Des études menées par **Cherrad et al. (2019)**, et **Salah et al. (2015)**, ont montré que certains polyphénols peuvent contribuer à la régulation de la glycémie en améliorant l'activité antioxydante tissulaire, influençant ainsi l'absorption du glucose et la sensibilité à l'insuline.

Dans une étude menée par **Hamden et ses collaborateurs en 2009**, les polyphénols de l'olive, particulièrement riches en hydroxytyrosol, ont démontré leur efficacité dans l'inhibition du stress oxydatif et de l'hyperglycémie. Ainsi, cette étude suggère que l'administration de polyphénols issus de l'huile d'olive pourrait être bénéfique pour prévenir les complications diabétiques associées au stress oxydatif.

Cependant, les données sur les effets des polyphénols sur la glycémie chez l'homme sont limitées. Certaines études suggèrent que la consommation de polyphénols peut entraîner une diminution de la glycémie à jeun, de la glycémie post-prandiale et de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), un indicateur du contrôle glycémique à long terme. Néanmoins, d'autres études n'ont pas observé de résultats significatifs (**Bonina et al., 2002**). Les données indiquent que les polyphénols peuvent influencer la glycémie, mais les résultats des études chez les humains sont contradictoires. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces effets et identifier les doses et les types de polyphénols les plus efficaces.

Certaines anthocyanidines, notamment la pélagonidine-3-galactoside, la cyanidine-3-glucoside et la delphinidine-3-glucoside, ont la capacité de stimuler la sécrétion d'insuline. Il semble que le nombre de groupes hydroxyles sur le cycle B de ces anthocyanidines joue un rôle crucial dans leur activité insulinosécrétoire. En revanche, d'autres anthocyanidines, telles que la cyanidine, la delphinidine, la pélagonidine et la malvidine, ne provoquent pas de sécrétion significative d'insuline (**Ferrier, 2018 ; Czank et al., 2013**).

Les stibènes, et plus particulièrement le resvératrol, ont la capacité de diminuer la glycémie et de protéger les cellules β pancréatiques contre les dommages oxydatifs chez l'animal. Ils réduisent également les complications vasculaires et diminuent les cardiomyopathies liées au diabète (**Ferrier, 2018 ; Czank et al., 2013**).

5.2.4. Protection Cardiovasculaire

Les polyphénols peuvent contribuer à la santé cardiovasculaire en améliorant la fonction des vaisseaux sanguins, en réduisant l'oxydation du cholestérol LDL (le "mauvais" cholestérol) et en modulant la pression artérielle. Certains polyphénols, tels que les flavonoïdes présents dans le vin rouge, sont associés à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires (**Bouderbala et al., 2015 ; Badi et al., 2022 ; Henry, 2003 ; Messaoudi, 2020**).

5.2.5. Modulation du Métabolisme Lipidique

Certains polyphénols peuvent influencer le métabolisme des lipides, contribuant ainsi à la gestion des niveaux de cholestérol et de triglycérides dans le sang (**Bouderbala et al., 2015 ; Badi et al., 2022 ; Zidan et al., 2019**).

5.2.6. Effets Neuroprotecteurs

Certains polyphénols, en particulier ceux présents dans certains fruits, légumes et thés, ont montré des propriétés neuroprotectrices. Ils peuvent contribuer à la prévention de certaines maladies neurodégénératives et à l'amélioration de la fonction cognitive (**Corona et al., 2007 ; Paula et al., 2007**).

5.2.7. Protection Contre le Cancer

Certains polyphénols ont été étudiés pour leur potentiel dans la prévention du cancer, en raison de leurs propriétés antioxydantes et de leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses (**Henry, 2003 ; Corona et al., 2007 ; Paula et al., 2007**).

Il est important de noter que les effets des polyphénols peuvent varier en fonction du type de polyphénol, de la source alimentaire et de la quantité consommée. Une alimentation équilibrée et riche en fruits, légumes, thés et autres sources de polyphénols peut contribuer à ces bienfaits pour la santé.



Chapitre II

Matériels et méthodes



I. Matériel végétale

Pour explorer l'impact des extraits de grignons d'olive sur des rats rendus diabétiques, une solution de gavage a été préparée à partir d'un extrait hydro-éthanolique et de la fraction aqueuse obtenus précédemment dans la partie "Matériels et méthodes" du premier chapitre consacrée à l'étude phytochimique.

I.1. Préparation de la solution de gavage

Le résidu sec de l'extrait brut hydro-éthanolique et de la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés sera solubilisé dans de l'eau physiologique. La quantité de résidu sec à solubiliser dépendra de la concentration souhaitée de la solution de gavage. La solution obtenue sera homogénéisée à l'aide d'un agitateur magnétique ou d'un vortex pendant 5 minutes. Ensuite, la solution sera ajustée au volume final avec de l'eau physiologique. La concentration finale de la solution de gavage est de 200 mg/mL. La solution de gavage sera administrée aux rats par gavage oral à l'aide d'une sonde gastrique à raison de 1 ml/100 g du poids corporel.

II. Matériel animale

Notre étude a porté sur des rats blancs mâles Wistar en bonne santé, âgés de 2 à 3 mois et pesant entre 200 et 300 grammes. Les animaux étaient hébergés dans l'animalerie du département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers de l'Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen).

Les rats étaient logés dans des cages en polypropylène standard, à raison de 6 individus par cage. Les animaux étaient maintenus dans des conditions standard de laboratoire, avec un cycle lumière-obscurité de 12 heures, une température de 20 ± 2 °C et une humidité relative comprise entre 35 et 60 %. Ils avaient accès à un régime alimentaire standard sous forme de granulés et à de l'eau ad libitum. Ils ont été suivis attentivement tout au long de l'expérience.

II.1. Induction du diabète

Le diabète permanent a été induit par injection intrapéritonéale d'une dose unique de STZ (45 mg/kg) chez des rats à jeun pendant 12 à 16 heures. L'eau en bouteille a été remplacée par une solution de glucose pour éviter un choc hypoglycémique mettant la vie en danger. Après deux jours, l'établissement du diabète sucré chez les rats a été vérifié en mesurant le taux de glucose sanguin et la glycosurie. Les rats avec des taux de glucose sanguin entre 2 et 2,5 g/L étaient considérés comme hyperglycémiques (glycémie permanente) et ont été sélectionnés pour l'expérimentation. Ils ont été répartis en 7 lots de 6 rats : un lot témoin négatif (C) a reçu 1 ml/100 g d'eau physiologique et un lot témoin positif diabétique non traité (DnTr), tandis que

les autres lots ont été administrés par gavage avec l'extrait hydro-éthanolique (EHE) et la fraction aqueuse (FAq) à des doses de 100, 250, 350 mg/kg et 50 mg/kg du poids corporel, respectivement.

Un suivi individuel a été effectué en mesurant les taux de glucose sanguin par la veine caudale et en surveillant la prise du poids. À la fin de 28 jours de suivi et de traitement par administration orale de 2 mL d'extrait tous les deux jours, et après 12 heures de jeûne, les animaux expérimentés ont été pesés et anesthésiés avec 0,3 mL de chloral à 10 % pour chaque 100 g du poids corporel.

Une quantité de sang a été prélevée de l'aorte abdominale et collectée dans des tubes contenant de l'EDTA pour des tests hématologiques, y compris des numérations sanguines. Une autre partie du sang a été collectée dans des tubes secs ou héparinisés pour des tests de paramètres biochimiques.

Pour l'analyse biologique, des organes tels que le foie, les reins, le cœur, la rate, le cerveau et le pancréas ont été soigneusement prélevés, rincés à l'eau physiologique et pesés. Une autre partie de ces organes a été conservée dans une solution de formol à 10 % pour l'histopathologie.

II.1.1. Suivi des tendances de la glycémie et du poids corporel chez les rats expérimentaux

Le poids corporel et la glycémie, deux paramètres essentiels pour évaluer l'état du diabète, suivre son évolution et établir un diagnostic précis, ont été mesurés tous les deux jours et en fin de semaine. Les résultats concernant l'effet antidiabétique de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des grignons d'olive bruts et de la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés sur des rats diabétiques, traités pendant 28 jours avec des doses quotidiennes de 100, 250, et 350 mg/kg pour l'EHE et 50 mg/kg pour la fraction aqueuse, ont été enregistrés.

II.1.2. Analyses biochimiques et hématologiques

• Analyses biochimiques

L'insuline plasmatique a été analysée à l'aide du kit ELISA Rat Ins1 / Insulin utilisant un standard d'insuline de rat (SIGMA/RAB0904), et le glucose plasmatique a été mesuré à l'aide du kit de glucose (Sigma-Aldrich) pour évaluer la fonction pancréatique.

Le cholestérol total plasmatique (mg/dL), les triglycérides (mg/dL), et le cholestérol HDL (mg/dL), l'aspartate aminotransférase plasmatique (AST U/L) et l'alanine aminotransférase (ALT U/L), la protéine totale (g/dL), ont été mesurés à l'aide de kits enzymatiques colorimétriques (Sigma-Aldrich) pour évaluer la fonction hépatique, tandis que le kit Spinreact

a été utilisé pour mesurer l'urée (mg/dL) et la créatinine (mg/dL) afin d'évaluer la fonction rénale.

L'analyse hématologique a été réalisée au laboratoire d'analyse du Centre Hospitalier Universitaire de Tlemcen à l'aide d'un analyseur hématologique du modèle XN-1000 (Sysmex). Les paramètres hématologiques suivants ont été analysés : le nombre de globules rouges (GR, $10^6/\mu\text{L}$), le nombre total de globules blancs (GB, $10^3/\mu\text{L}$), la numération plaquettaire ($10^3/\mu\text{L}$), la numération différentielle des globules blancs (exprimée en pourcentage), la détermination de l'hémoglobine (g/dL), l'hématocrite (%), et la détermination des indices érythrocytaires, le volume globulaire moyen (VGM, fl), la concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire (CMHC, %), le volume corpusculaire moyen (VCM, fl), et l'hémoglobine corpusculaire moyenne (HCM, pg).

II.1.3. Détermination des paramètres du stress oxydatif

a. Dosage du malondialdéhyde (MDA) tissulaire et au niveau de lysat

La peroxydation lipidique a été évaluée en mesurant les niveaux de MDA (malondialdéhyde) selon la méthode de **Nourooz-Zadeh et al, (1997)**, un marqueur largement utilisé de la peroxydation lipidique. Le MDA est l'un des produits finaux de la dégradation des acides gras polyinsaturés (AGPI) sous l'influence des radicaux libres produits lors du stress. Pour la mesure du MDA, 100 mg de tissu pancréatique ont été ajoutés à 3 ml de tampon phosphate-EDTA, puis homogénéisés à l'aide d'un broyeur électrique. Ensuite, 100 μl de l'homogénat, 500 μl d'acide trichloroacétique à 20% et 100 μl d'acide thiobarbiturique à 0,67% (TBA) ont été mélangés. Le mélange a été chauffé à 100°C pendant 20 minutes, puis laissé refroidir avant d'être centrifugé à 6 000 tr/min pendant 10 minutes. L'absorbance a été mesurée dans la phase supérieure à l'aide d'un spectrophotomètre (LKB II) à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration de MDA a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction (ϵ) égal à $1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$, en utilisant l'équation suivante :

$$C = OD / \epsilon \text{ (les résultats sont exprimés en } \mu\text{mol/L)}$$

b. Dosage du glutathion pancréatique (GSH)

Le dosage du GSH (glutathion réduit) est basé sur la méthode colorimétrique **d'Ellman (1959)**. Pour ce dosage, 100 mg de tissu pancréatique (frais ou congelé) ont été homogénéisés dans 2 ml d'eau distillée à l'aide d'un broyeur électrique, puis centrifugés à 2 000 tours/minute. Ensuite, 500 microlitres du surnageant ont été dilués dans 1 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 7,5), puis 400 μl d'eau distillée et 0,5 ml de DTNB (3 mM) ont été ajoutés, et le mélange a

été incubé pendant 30 minutes à 37°C, L'absorbance a été mesurée à 412 nm par rapport à un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les concentrations sont exprimées en nmol/g du tissu pancréatique, calculées selon la formule : $C = OD / \varepsilon$ (mM), où : ε est le coefficient d'extinction égal à 13,6 mM⁻¹ cm⁻¹.

c. Évaluation de l'activité enzymatique de la catalase

L'activité enzymatique de la catalase (cat) a été déterminée selon la méthode **d'Aebi (1974)**, basée sur l'analyse spectrophotométrique du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de H₂O₂ en fonction du temps, comme suit : 100 mg de tissu pancréatique ont été coupés et homogénéisés dans 2 ml d'eau distillée à l'aide d'un broyeur Dounce, puis centrifugés à 2 000 tours/minute. Ensuite, 500 microlitres du surnageant ont été mélangés à 500 µl de 30 mmol/l de H₂O₂ + 500 µl d'eau physiologique, agités vigoureusement et incubés pendant 5 minutes à température ambiante. Ensuite, 500 µL de TIOSO₄ ont été ajoutés, le mélange a été agité à nouveau et l'absorbance a été mesurée à 420 nm par rapport à un blanc préparé avec de l'eau distillée.

d. Évaluation de l'activité enzymatique de la SOD

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est évaluée dans le cytosol selon la méthode de **Martin et al., (1987)**. Cette méthode est basée sur la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation de l'hématoxyline, générant un produit quinonoïde accompagné d'une augmentation de l'absorbance à 560 nm à pH 7,5. Cette augmentation de l'absorbance est proportionnelle à l'activité de la SOD.

Pour effectuer cette mesure, un mélange a été réalisé avec 100 µl d'échantillon (homogénat de pancréas), 400 µl de réactif à l'hématoxyline et 2,50 ml de tampon phosphate EDTA à pH 7,5. L'absorbance a ensuite été lue à 560 nm après 30 minutes, comparée à un blanc (ED).

L'activité de la SOD a été calculée comme suit :

Activité SOD (mM/min/mL) = (DO blanc - DO test) / ε / 30, où ε = 27 mM⁻¹.

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

Les protéines carbonylées, marqueurs de l'oxydation protéique, sont mesurées par la réaction au 2-4 dinitrophénylhydrazine (DNPH) qui aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. Les concentrations érythrocytaires en protéines carbonylées (PC) sont déterminées par lecture à des longueurs d'onde de 350 et 375 nm. Les concentrations en PC, analysées sont calculées en utilisant le coefficient d'extinction des PC :

$C = DO / \varepsilon$ (µM / l) avec ($\varepsilon = 21,5$ mmol⁻¹ l. cm⁻¹).

f. Dosage de l'anion superoxyde érythrocytaire (Auclair et al., 1985)

La méthode de dosage de l'anion superoxyde érythrocytaire (ASO) est basée sur la réduction du nitro bleu tetrazolium (NBT) en monoformazon en présence des radicaux superoxydes. Cette réaction produit un composé bleu, le monoformazon, dont l'absorbance est mesurée à 550 nm. La concentration en ASO est ensuite calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire de l'ASO :

$C = DO / \epsilon (\mu M)$ avec ($\epsilon = 120,10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

g. Étude histopathologique

Des fragments du pancréas du foie et de reins prélevés sur des rats mâles ont été immédiatement conservés dans du formol neutre tamponné à 10 % en vue d'une analyse histopathologique. Ces échantillons de tissus ont été déshydratés dans l'alcool, nettoyés au xylène et inclus dans de la paraffine. Ils ont ensuite été sectionnés (5 mm), colorés à l'hématoxyline et à l'éosine et examinés au microscope optique. Les échantillons ont été analysés pour détecter les changements structurels généraux des organes, les altérations dégénératives, les signes de nécrose et les signes d'inflammation.

II.1.4. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (ET). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été obtenues par comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $P < 0,05$, hautement significatives pour $***P < 0,001$, très significatives pour $**P < 0,01$, significatives pour $*P < 0,05$, et non significatives pour $P > 0,05$ NS.



Chapitre III

Résultats et interprétation



I. Induction expérimentale du diabète

I.1. Évaluation de la glycémie et de l'évolution du poids chez les rats expérimentaux

Nous avons mesuré les variations de la glycémie par prélèvement dans la veine de la queue et enregistré le poids corporel à l'aide d'une balance graduée en grammes (g), le tout à la fin de chaque semaine. Une augmentation significative du poids corporel a été enregistrée aux jours 21 et 28 de traitement, indiquant une tendance à la hausse chez les rats traités par 250 mg/kg (EHE2), 350 mg/kg (EHE3) et la FAq. À l'inverse, les rats témoins diabétiques non traités et ceux traités par 100 mg/kg (EHE1) ont montré une tendance à la baisse du poids corporel (Figure 18, Tableau A 1 en annexe). En ce qui concerne la glycémie, une diminution significative similaire a été observée chez les rats traités par rapport au groupe témoin (Figure 18, Tableau A 1 en annexe).

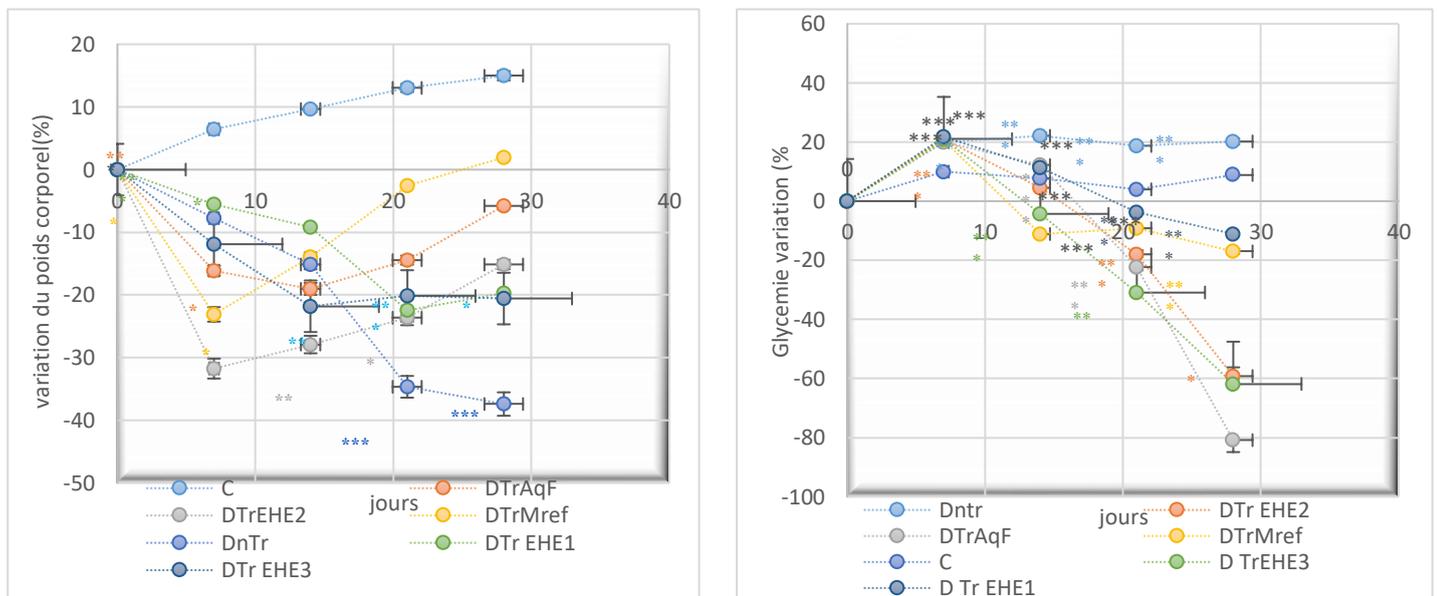


Figure 18. Impact des extraits hydro-éthanoliques et de la fraction aqueuse des grignons d'olive sur la croissance pondérale et la variabilité glycémique chez les rats diabétiques

DTrAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétiques traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Les données sont analysées statistiquement par le test ANOVA suivi du test de Tukey. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm SD. * : différence significative à $P < 0,05$; ***: différence hautement significative à $P < 0,001$ et ** : différence très significative à $P < 0,01$.

I.2. Impact des extraits des GO sur le poids relatif des organes chez les rats diabétiques

Des différences statistiquement significatives ont été observées entre le groupe témoin et les groupes de rats diabétiques, à l'exception de la rate et du cœur, où aucune différence significative n'a été enregistrée par rapport au groupe témoin. Une diminution significative du poids des organes a été observée pour le pancréas chez les rats diabétiques non traités ($p < 0,01$), tandis que pour les rats diabétiques traités par EHE2, EHE3 et Mref, cette diminution était d'environ ($p < 0,5$). Par conséquent, aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée pour la fraction aqueuse et metformine (Mref) comparées au control. Pour le foie, une augmentation significative du poids a été enregistrée chez les rats diabétiques non traités et traités par EHE1 ($p < 0,01$). Pour les rats traités par EHE3 et Mref, cette augmentation était d'environ ($p < 0,05$) par rapport au control.

Par conséquent, aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée pour la fraction aqueuse et EHE2. De même, pour le rein, une diminution significative a été signalée pour EHE2. Pour le cerveau, une augmentation significative ($p < 0,01$) ou ($p < 0,05$) a été observée chez les rats traités par EHE3 et Mref, ainsi que chez les DnTr et EHE1, tandis qu'aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée pour la fraction aqueuse et EHE2, comparées au groupe control (Figure 19, Tableau A 2 en annexe).

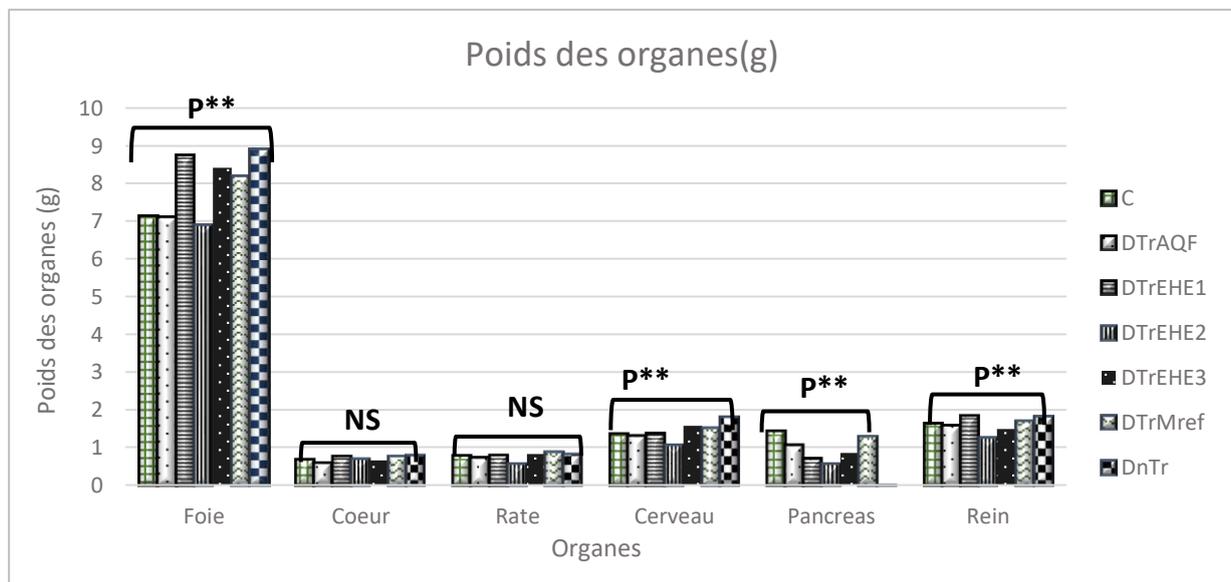


Figure 19. Effets de l'extrait Hydro-éthanolique (EHE) et la fraction aqueuse (FAq) des grignons d'olive sur le poids relatif des organes chez les rats

DTr FAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétique traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Les données sont analysées statistiquement par le test ANOVA suivi du test de Tukey. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm SD. * : différence significative à $P < 0,05$; ***: différence hautement significative à $P < 0,001$ et ** : différence très significative à $P < 0,01$.

I.3. Effets des extraits des grignons d'olive sur la glycémie, et autres marqueurs métaboliques et hématologiques chez des rats Wistar diabétiques

a. Teneurs sériques en glucose et en insuline chez les rats

Les marqueurs biochimiques (Figure 20, Tableau A 3 en annexe) ont révélé des différences significatives entre le groupe témoin et les différents traitements. Les teneurs sériques en glucose étaient significativement augmentées ($p < 0,001$) et/ou ($p < 0,01$) chez les rats diabétiques non traités (DnTr) et DTrEHE1 tandis qu'aucune différence significative et/ou une augmentation faiblement significative ($p < 0,05$) a été observée pour les groupes DTrEHE2, DTrEHE3 et DTr FAq respectivement par rapport au groupe control. En ce qui concerne la sécrétion d'insuline, une augmentation significative a été observée dans le groupe DTr FAq ($p < 0,001$), tandis qu'une diminution significative a été notée dans le groupe DnTr.

Aucune différence significative n'a été observée pour les groupes DTrEHE2, DTrEHE3 et DTrEHE1 (Figure 20, Tableau A 3 en annexe).

b. Teneurs sériques en cholestérol, HDLc, TG et protéines totales chez les rats

• Cholestérol

Les résultats montrent que les taux de cholestérol sérique étaient significativement augmentés chez les rats diabétiques non traités (DnTr) et traités par 100 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive (DTrEHE1) ($p < 0,001$). Cette augmentation était encore significative chez les rats traités par 250 mg/kg (DTrEHE2) et 50 mg/kg de la fraction aqueuse (DTr FAq) et 250 mg/kg de metformine (DTr Mref). Mais aucune différence significative pour le lot traité par 350 mg/kg (DTrEHE3) comparé au control (Figure 24, Tableau A 3 en annexe).

• Triglycérides

Les résultats indiquent une augmentation significative ($p < 0,001$) des taux de triglycérides sériques chez les rats diabétiques non traités (DnTr). En revanche, aucune différence significative et/ou une diminution significative ($p < 0,05$) a été observée dans le taux des

triglycérides chez les rats traités avec 250 mg/kg (DTrEHE2), 350 mg/kg (DTrEHE3), 250 mg/kg de metformine (DTr Mref) et 50 mg/kg de la fraction aqueuse (DTr FAq) respectivement par rapport au groupe control (Figure 20, Tableau A 3 en annexe).

• HDL-cholestérol

Les résultats montrent que les taux de HDL-cholestérol sérique étaient significativement diminués chez les rats diabétiques non traités (DnTr). En revanche, les taux de HDL-cholestérol étaient significativement augmentés($p<0,01$) chez les rats traités par 250 mg/kg (DTrEHE2) et par 50 mg/kg de la fraction aqueuse (DTr FAq). Aucune différence significative n'a été observée entre les taux de HDL-cholestérol chez les rats traités par la metformine (DTr Mref) et 350 mg/kg (DTrEHE3), par rapport au control (Figure 20, Tableau A 3 en annexe).

• Protéines totales

Les résultats montrent que les taux de protéines totales sériques n'étaient pas significativement différents entre les rats traités par 350 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive (DTrEHE3), 250 mg/kg de metformine (DTr Mref) et 50 mg/kg la fraction aqueuse (DTrFAq) comparés au control.

En revanche, les taux de protéines totales étaient significativement augmentés chez les rats traités par 100 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive (DTrEHE1) et diabétiques non traités (DnTr) ($p<0,001$). De même, les taux de protéines totales étaient significativement augmentés chez les rats traités par 250 mg/kg d'extrait (Figure 20, Tableau A 3 en annexe).

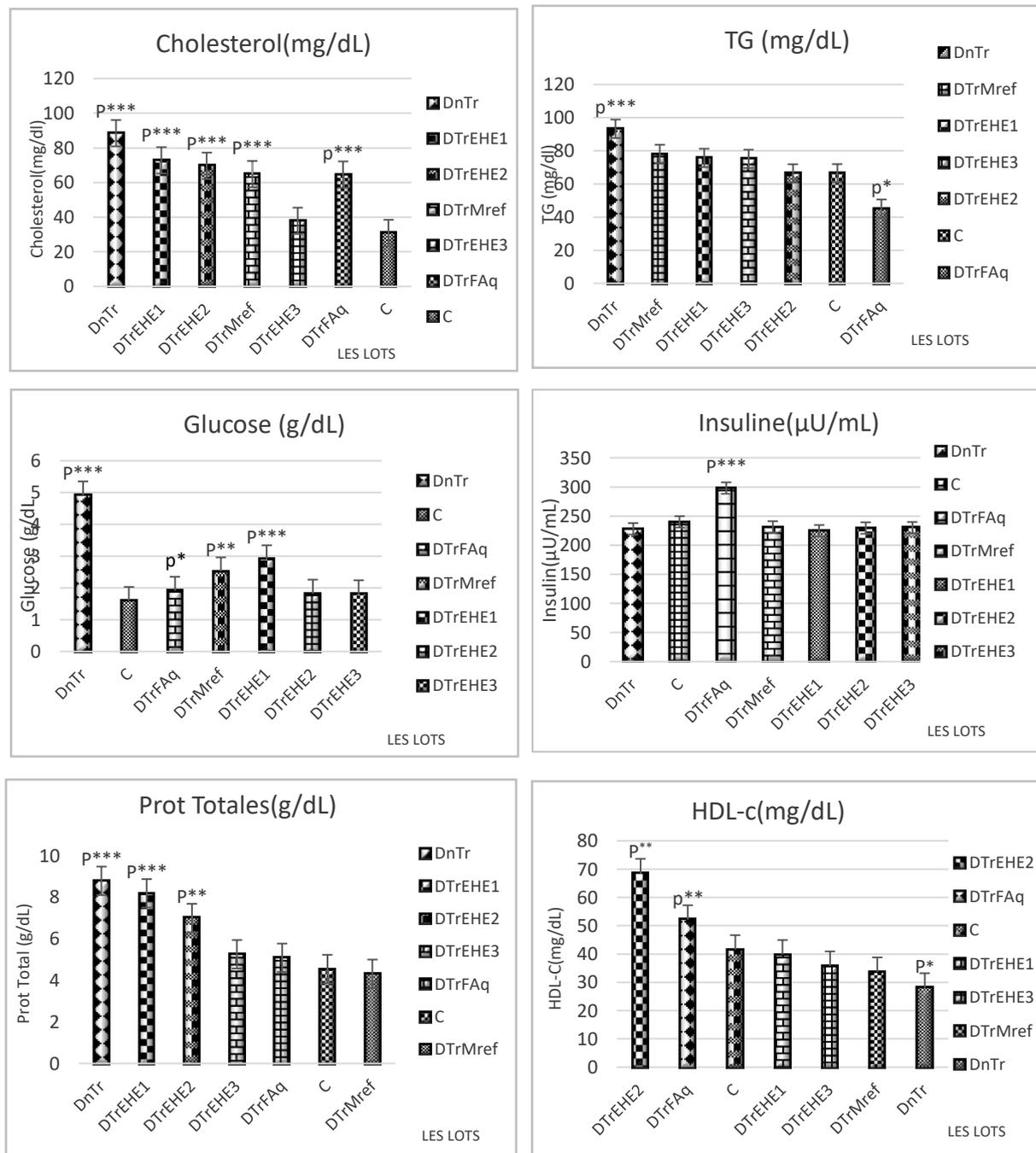


Figure 20. Effets des extraits des grignons d'olive sur la glycémie et autres marqueurs métaboliques chez les rats diabétiques

DTrFAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétique traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de

l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot de contrôle. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; *** : différence hautement significative à $P < 0,001$, ** $p < 0,01$, Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été soumises à une comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey.

c. Activités des transaminases sériques (TGO ou AST et TGP ou AST)

L'activité plasmatique de l'AST a augmenté de manière significative ($p < 0,001$) et/ou ($p < 0,05$) chez les rats diabétiques non traités et DTrEHE1. Tandis qu'aucune différence significative n'a été observées chez les rats diabétiques traités par EHE2, EHE3, FAq et Mref.

Pour l'ALT, une augmentation significative ($p < 0,001$) et/ou ($p < 0,01$) a été observée dans les groupes diabétiques non traités, dans le groupe DTrEHE1, DTrEHE3 ET DTrFAq., tandis qu'aucune différence significative n'a été observée pour les groupes DTrEHE2 et DTrMref par rapport au groupe témoin (Figure 21, Tableau A 3 en annexe).

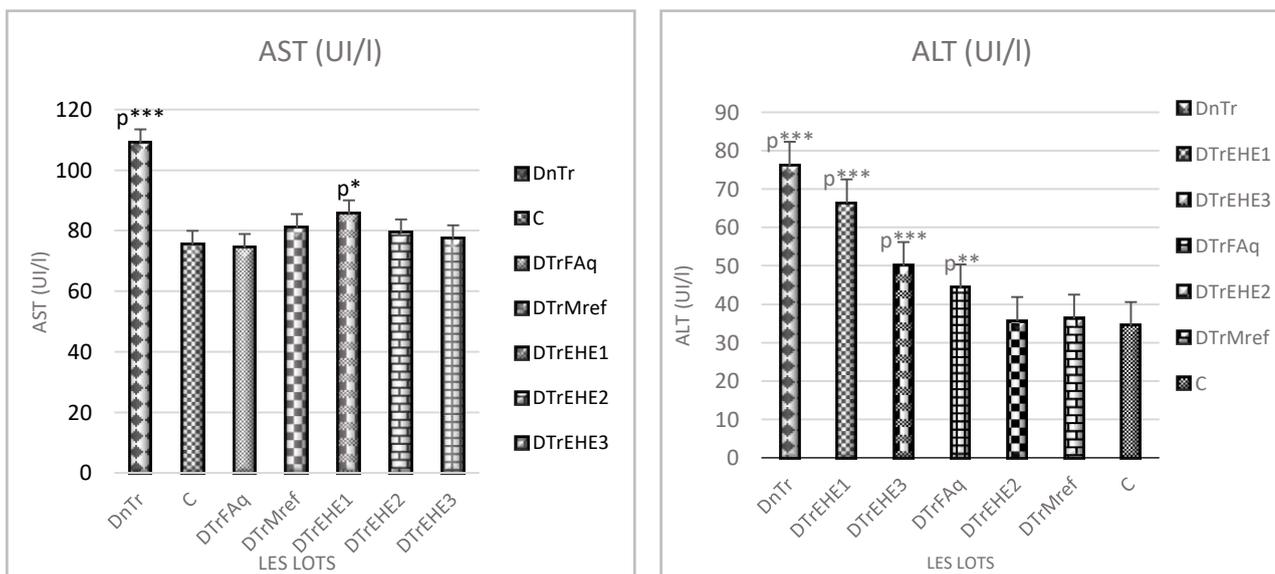


Figure 21. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases chez les rats

DTrFAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétique traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot de contrôle. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; *** : différence hautement significative à $P < 0,001$, ** $p < 0,01$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été soumises à une comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey.

d. Teneurs sériques en urée et en créatinine chez les rats

Les concentrations sériques en urée et en créatinine sont globalement similaires à celles du groupe témoin à l'exception du taux d'urée, pour lequel quelques différences significatives ($p < 0,05$) ont été observées dans l'extrait hydro-éthanolique (Figure 22, Tableau A 3 en annexe).

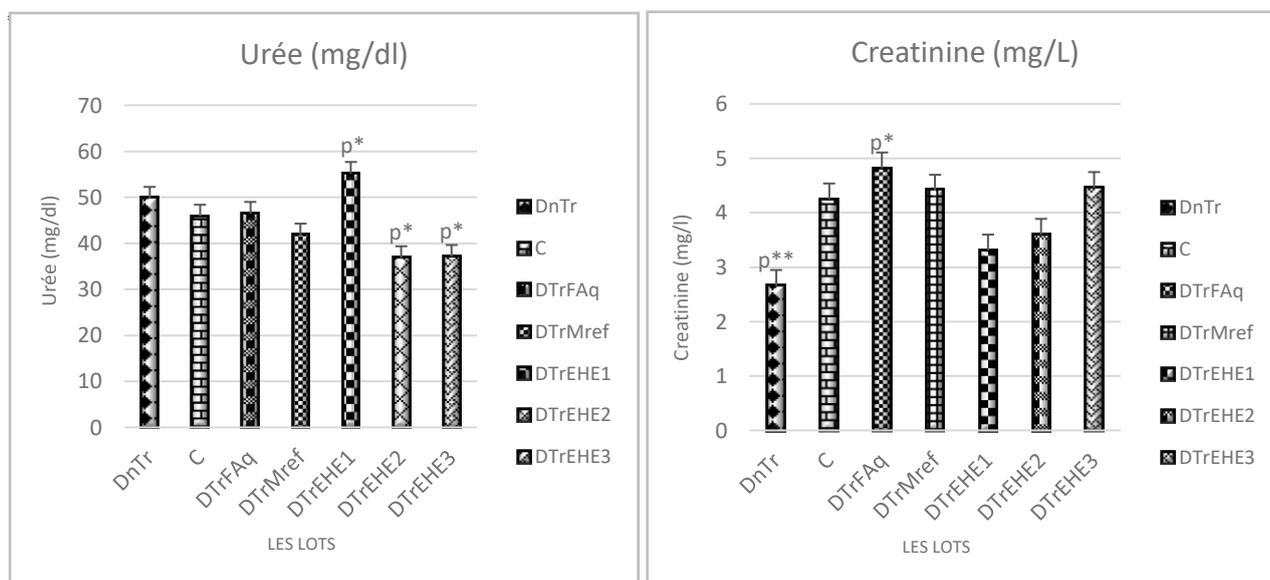


Figure 22. Détermination des teneurs en urée et en créatinine sériques chez les rats

DTrFAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétique traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot de contrôle. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; *** : différence hautement significative à $P < 0,001$, ** $p < 0,01$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été soumises à une comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey.

e. Évaluation des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques (Tableau 9) du groupe de rats traités n'ont pas présenté de différences significatives par rapport à ceux des rats témoins normoglycémiques. Cependant, les rats témoins diabétiques ont montré des numérations de globules rouges, des volumes corpusculaires moyens, des hémocrites et des numérations de plaquettes significativement ($P < 0,01$) et/ou ($P < 0,05$) plus faibles par rapport aux rats témoins normoglycémiques.

Le nombre de globules blancs, de monocytes et de neutrophiles était significativement plus élevé ($P < 0,05$) chez les rats diabétiques témoins que chez les rats témoins normoglycémiques. Les monocytes leur taux augmente d'une façon significative ($p < 0,01$) chez les rats diabétiques non traités et le groupe traité par 100 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique (DTrEHE1), en revanche aucune différence significative n'est enregistrée pour les groupes traités par GO (DTrEHE2, DTrEHE3, DTrFAq).

Le taux de GB n'a subi aucune modification significative pour les rats de groupes traité en comparaison avec le groupe control.

Le pourcentage de lymphocytes a augmenté de manière significative ($p < 0,001$) chez les rats diabétiques non traités (DnTr), par rapport au groupe témoin. En revanche, aucune modification significative n'a été observée chez les rats diabétiques traités par 250 mg/kg, 350 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique, de fraction aqueuse des grignons d'olive ou de metformine (DTrEHE2, DTrEHE3, DTrFAq, DTrMref). Une augmentation significative ($p < 0,05$) a été observée chez les rats diabétiques traités par 100 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique (DTrEHE1), par rapport au groupe témoin.

La concentration de neutrophiles n'a subi aucune modification significative chez les rats diabétiques traités par 350 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique, de fraction aqueuse des grignons d'olive ou de metformine. En revanche, une augmentation significative, mais moins marquée ($p < 0,05$), a été observée chez les rats diabétiques traités par 250 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique, par rapport au groupe témoin. Cependant une augmentation significative plus marquée ($p < 0,01$) a été observée chez les rats diabétiques non traités.

Tableau 9. Effet de la fraction aqueuse et l'extrait hydro-éthanolique des GO sur les paramètres hématologiques chez les rats diabétiques.

Paramètres sanguins	C(n=4)	DT	DT _r FAq (50mg/kg)	DTr(100mg/kg)	DT _r (250MG/KG)	DT _r (350MG/KG)	Me(250mg/kg)
HGB (g/dL)	16,27±0,37	12,40±2,14**	19,9±1,16*	14,75±1,66	16,0±0,39	14,82±0,71	16,45±0,49
GR (10 ⁶ /uL)	8,89±0,16	6,99±1,21**	10,98±0,28*	8,5±0,78	9,00±0,51	8,28±0,16	9,27±0,19*
GB (10 ³ /μL)	7,29±0,85	5,22±0,86	6,47±1,59	5,06±2,58	5,8±1,6	6,75±2,02	3,71±0,56
HCT %	57,57±2,54	44,02±8,65**	66,17±3,59*	50, 7±6,91	51,35±2,85	53,10±1,95	58,9±1,03
Eosinophiles%	0,95±0,54	1,22±0,41	0,97±0,35	0,4±0,28	1,82±0,81	1,25±0,94	1,47±0,27
Lymphocyte%	37,25±5,24	82,67±22,18***	54,97±0,26	60,35±3,02*	42,57±7,31	46,52±5,47	47,92±10,57
Neutrophiles%	5,6±0,57	12,12±1,35**	4,6±0,25	12,22±3,34**	10,45±0,91*	4,52±2,03	8,62±2,37
Monocytes%	20,82±0,57	35,85±5,25**	29,97±0,47	35,6±3,81**	29,4±7,55	28,2±0,96	30,2±6,71*
Basophiles%	18±1,77	4,27±2,13*	1,57±1,40	3,7±2,57*	0,77±0,56*	0,65±0,20*	1,57±0,22
MCH (pg)	27±0,37	16,82±1,26	16,45±0,47	17,25±0,6	17,8±0,58	18,47±0,67	17,5±0,85
MCHC (g/dl)	28,67±0,89	27,32±1,59	29,22±0,43	30,67±1,98	31,17±1,01	27,65±1,77	27,58±0,44
VGM	65,2±2,52	42,85±19,58**	59,57±2,4	55,35±1,45	57,05±0,35	64,65±1,17	62,37±1,64
Platelets10 ³ /μl)	695±30,57	595,75±171,3	743,25±147,52	695,00±22,1	495,75±169,03	715,5±27,81	610,75±67,92
CHCM (pg)	28,12±1,39	27,87±0,34	26,92±0,67	30,20±1,99	30,62±0,81	27,45±1,44	26,87±0,49

MCH : Hémoglobine Corpusculaire Moyenne ; MCHC : Hémoglobine Corpusculaire Moyenne, HCT : Hématocrite, VGM : Volume Globulaire Moyen ; GR : globules rouges ; GB : globules blancs.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot de contrôle. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à P<0,05 ; *** : différence hautement significative à P<0,001, **p<0,01. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été soumises à une comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey.

f. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau érythrocytaire et tissulaire

●Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau pancréatique

Au niveau du pancréas, le taux du GSH et l'activité de la catalase ainsi que celle de SOD sont réduits tandis que le taux en MDA et en protéines carbonylées sont augmentés chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins (Figure 23 et Tableau A 4 en annexe). Le traitement par l'extrait hydro éthanolique et la fraction aqueuse a induit une réduction significative du MDA et protéines carbonylées alors qu'une augmentation significative soit une similarité dans le taux de GSH et de l'activité de la catalase et de SOD chez les rats traités par rapport aux control. Ce traitement à base de d'EHE et de AqF aux doses 250, 350mg/kg et 50mg/kg induisent une augmentation de l'activité de la catalase, SOD et du taux GSH et/ou leur

stabilisation associée à une réduction du MDA et des protéines carbonylées ; l'effet étant meilleur en fonction de la dose pour EHE.

• Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau hépatique

Au niveau du foie, le taux du GSH, l'activité de la catalase et le taux de SOD sont réduits tandis que le taux en MDA et en protéines carbonylées sont augmentés chez les rats diabétiques non traités par rapport aux rats diabétiques traités et au control (Figure 24, Tableau A 4 en annexe). Le traitement par l'extrait hydro éthanolique et la fraction aqueuse a induit une réduction significative du MDA et protéines carbonylées alors qu'une augmentation significative et /ou aucun changement significatif n'a été enregistré dans le taux de GSH, de l'activité de la catalase et de SOD chez les rats traités par rapport aux control. Ces traitements à base de d'EHE et de FAq aux doses 250, 350mg/kg et 50mg/kg assurent l'équilibre redox intra hépatique en améliorant l'activité de la catalase, SOD et le taux GSH et/ou le stabilisé et en réduisant le taux du MDA et des protéines carbonylées.

• Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau érythrocytaire

Au niveau érythrocytaire, le taux du GSH, l'activité de la catalase et le taux de SOD sont réduits tandis que le taux en MDA et en protéines carbonylées sont augmentés chez les rats diabétiques non traités par rapport aux rats diabétiques traités et aux rats témoins (Figure 25, Tableau A 4 en annexe). Le traitement par l'extrait hydro-éthanolique et la fraction aqueuse a induit une réduction significative du MDA et protéines carbonylées alors qu'une augmentation significative et /ou aucun changement significatif n'a été enregistré dans le taux de GSH, de l'activité de la catalase et de SOD chez les rats traités par rapport aux control. Ce traitement à base de d'EHE et de FAq aux doses 250, 350mg/kg et 50mg/kg assurent l'équilibre redox intra hépatique en améliorant l'activité de la catalase, SOD et le taux GSH et/ou le stabilisé associée à une réduction du taux de MDA et des protéines carbonylées néanmoins la dose 100mg/kg reste toujours non significative comparée aux témoins.

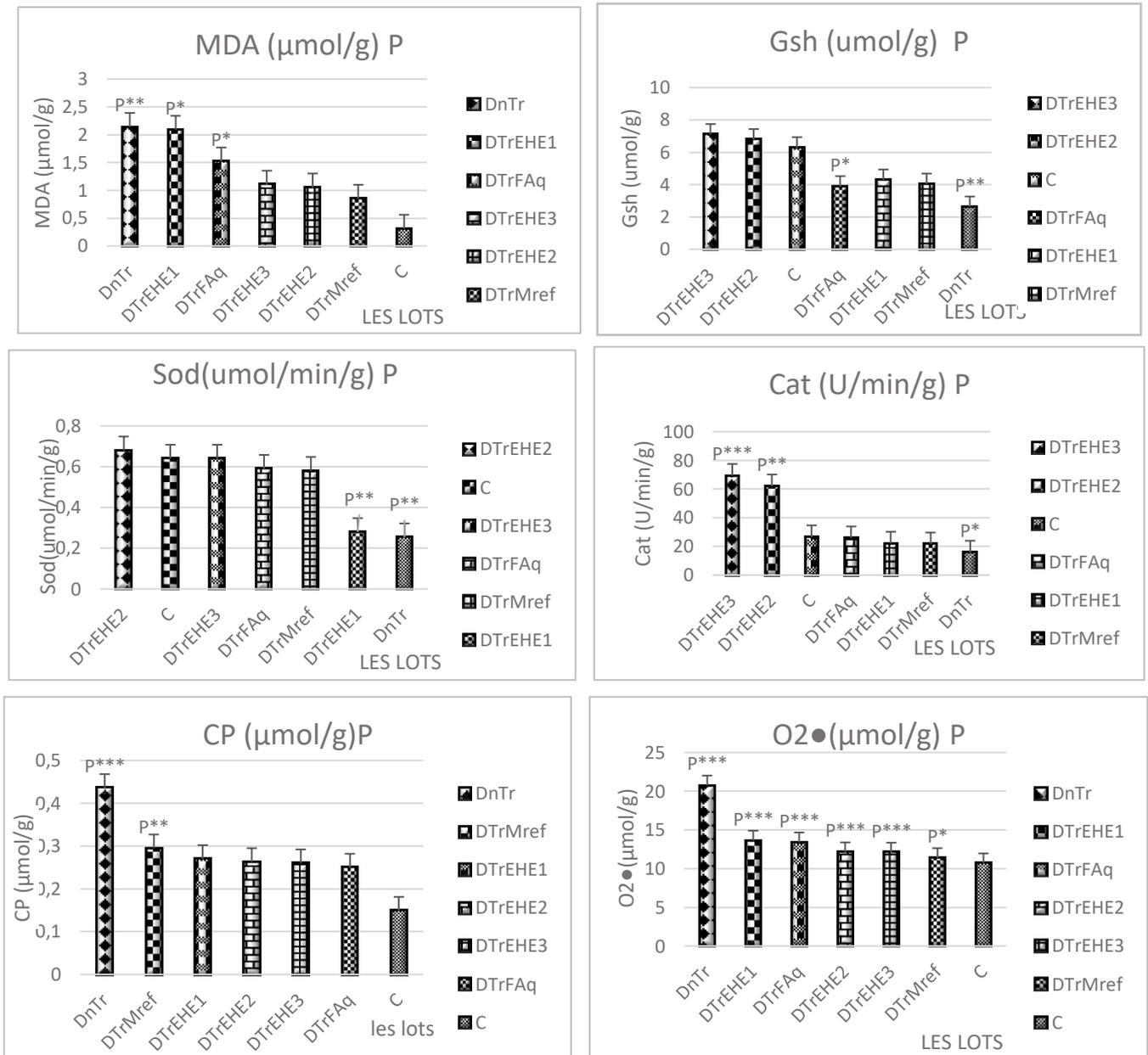


Figure 23. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau pancréatique

DTrFAq : Diabétique traité avec fraction aqueuse ; DTrEHE : Diabétique traité avec extrait hydro-éthanolique ; DTrMref : Diabétique traité avec molécule de référence de metformine ; C : Rat traité avec de l'eau physiologique ; DnTr : Diabétique non traité ; Cat : Catalase ; SOD : superoxyde dismutase ; GSH : glutathion réduit ; PC : protéines carbonylées ; O2• : anion superoxyde ; MDA : malondialdéhyde, Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type.

* : différence significative à P < 0,05 ; *** : différence extrêmement significative à P < 0,001 et ** : différence très significative à P < 0,01.

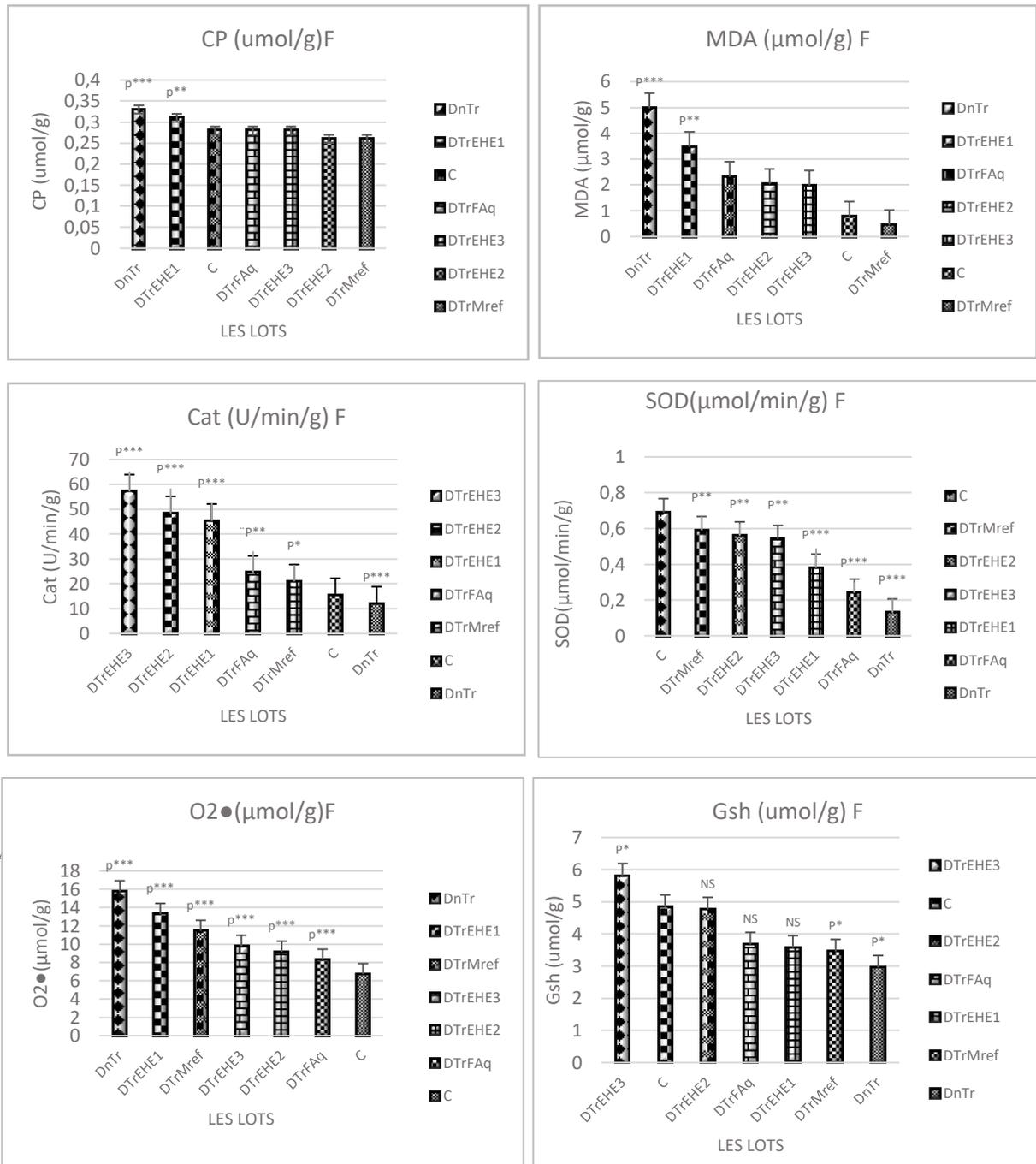


Figure 24. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau hépatique

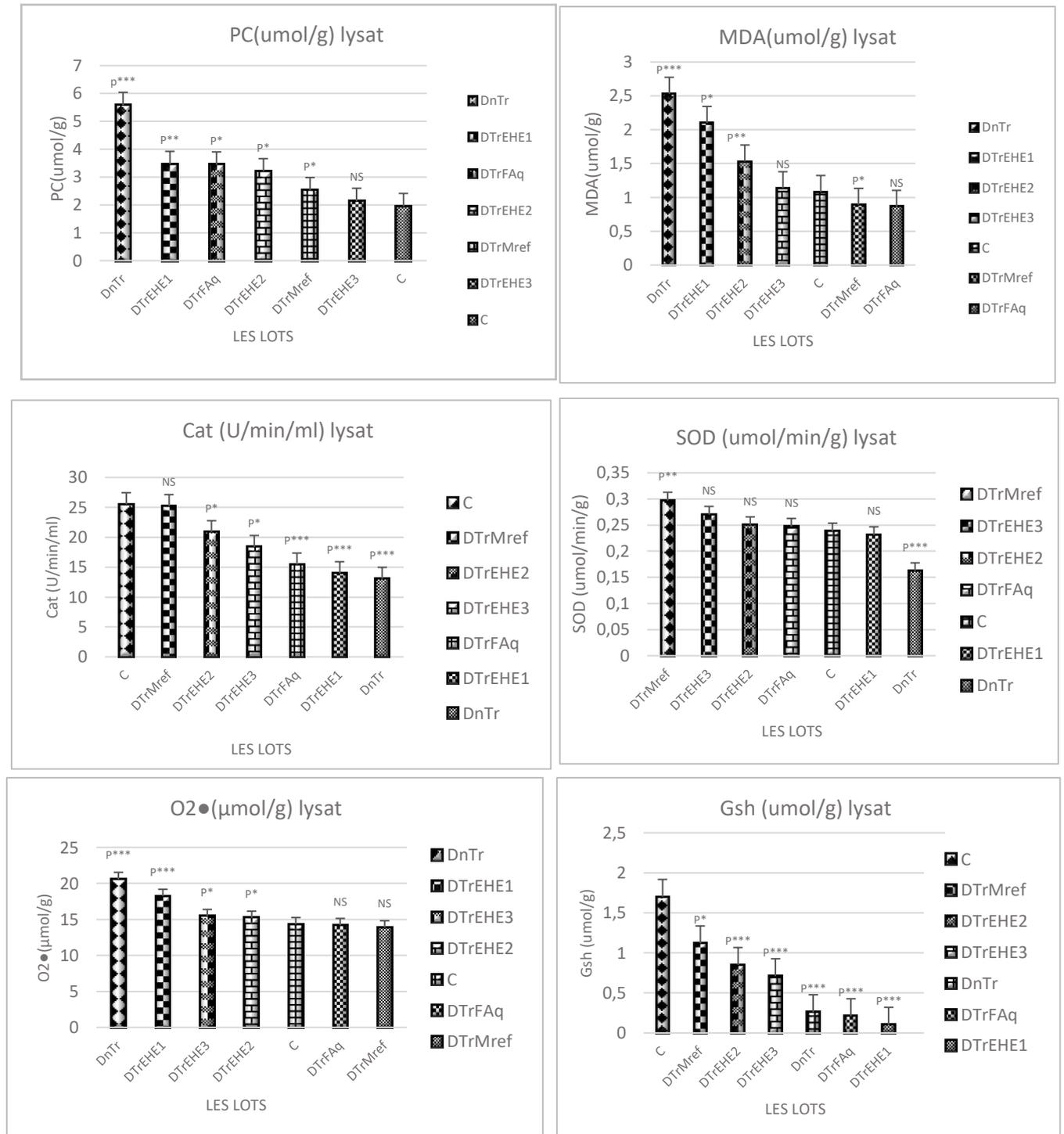


Figure 25. Marqueurs oxydants et antioxydants au niveau érythrocytaire

II. L'analyse histopathologique

II.1. L'analyse histopathologique du pancréas

L'analyse histopathologique du pancréas (Figure 26) a révélé une dégénérescence des cellules bêta et une nécrose cellulaire des îlots pancréatiques, avec une diminution de leur taille, chez les rats témoins diabétiques (Figure 26 D) par rapport au groupe traité. La morphologie, la taille et l'architecture globale des îlots dans le groupe traité (Figure 26 : B, C et E) étaient très similaires à celles du groupe témoin sain (Figure 26 A). Dans le groupe traité, les îlots présentaient une structure cellulaire intacte, conférant un aspect homogène et, pour la plupart, une forme plus régulière. Cela suggère une augmentation du nombre de cellules insulaires et une restauration du contour des îlots.

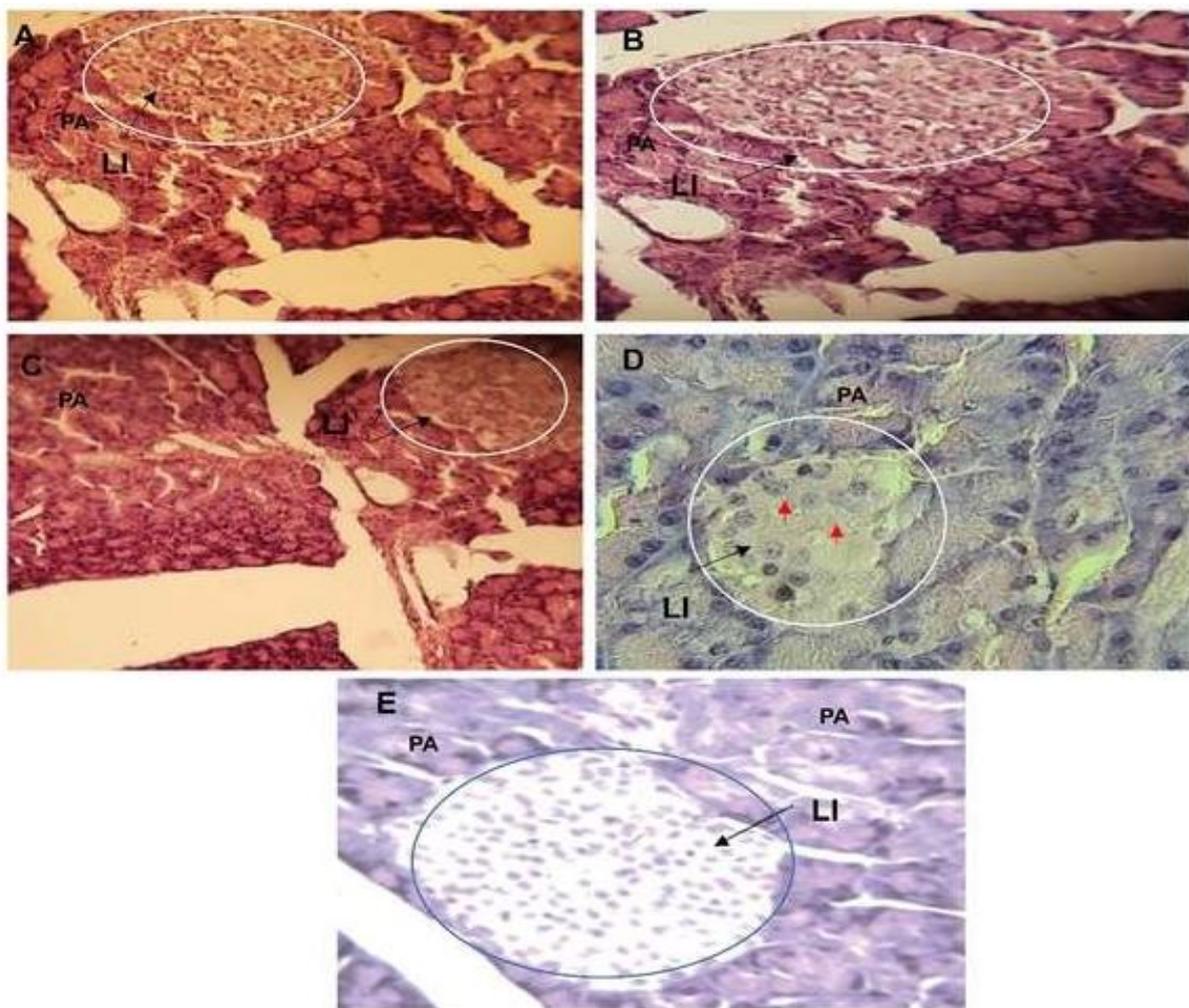


Figure 26. Comparaison histologique du pancréas des rats diabétiques traités avec des extraits des grignons d'olive au 28^{ème} jour d'expérimentation

II.2. L'analyse histopathologique du foie de rats expérimentés

L'examen histopathologique du foie (Figure 27) de rats du groupe témoin (Figure 27 A) présentait une architecture hépatique normale avec des lobules distincts. Les veines lobaires centrales étaient clairement délimitées par des cellules endothéliales et des hépatocytes (H) aux noyaux bien définis, séparés par des sinusoides étroites (S).

Pour les rats diabétiques traités par 250 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique de grignon d'olive brut, la fraction aqueuse (FAq) et la metformine, les micrographies sélectionnées (Figure 27 B, C et E) montrent une architecture hépatique normale. La structure du tissu hépatique est très similaire à celle du groupe témoin, bien que l'obstruction des veines du lobe central (VC) soit observée dans le lot (B), la veine lobulaire centrale conservant cependant sa structure normale (CLV).

En revanche, les groupes diabétiques non traité et traité par 100mg/kg d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts (Figure 27 D et B1) présentent une micrographie sélective de coupes du foie montrant une congestion vasculaire (VC) avec la présence de cellules inflammatoires (IC) entre les trabécules hépatiques.

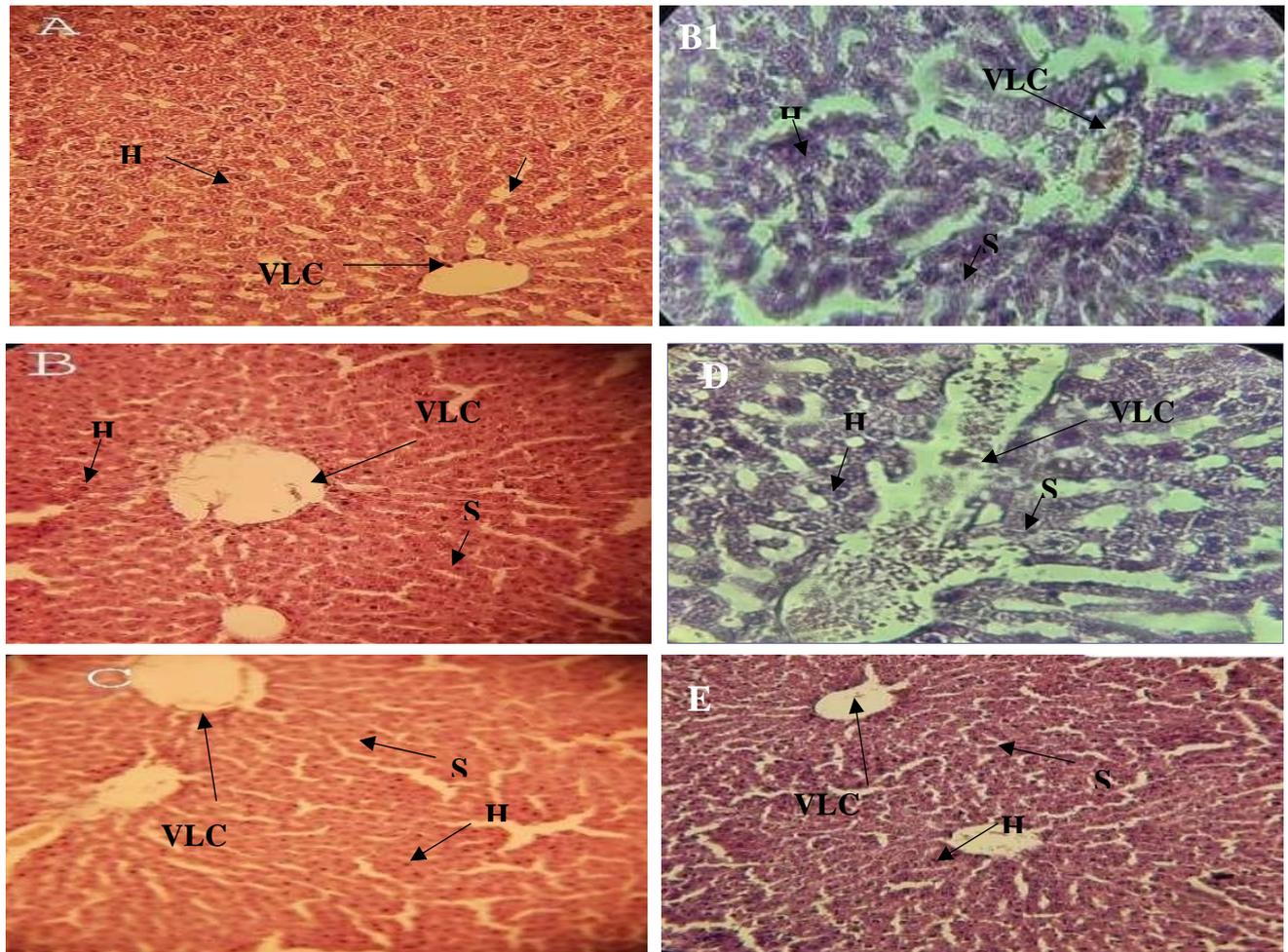


Figure 27. Comparaison histologique du foie de rats diabétiques traités avec des extraits des grignons d'olive au 28^{ème} jour d'expérimentation

II.3. L'analyse histopathologique de reins de rats expérimentés

La photomicrographie de l'histoarchitecture du rein (Figure 28) illustre l'effet de la STZ sur les changements histopathologiques chez les rats diabétiques traités avec 100 et 250 mg/kg de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive (GO), la fraction aqueuse (FAq) (Figure 28 B1, B et E), ainsi que la metformine (Figure 28 C), au cours d'un traitement de 28 jours. Ceci est comparé au groupe témoin de rats diabétiques non traités (Figure 28 D). Les glomérules rénaux (G) et les tubes contournés (CT) présentent une similitude visible entre le groupe témoin et les groupes diabétiques traités avec 250 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive brut, la metformine et la fraction aqueuse. Aucune différence morphologique n'est observée par rapport au groupe témoin (Figure 28A), avec des cellules disposées de manière régulière, suggérant la santé du rein sans signe d'altération ou d'inflammation. En revanche, le groupe diabétique non traité et traités par la plus faible dose de d'extrait hydro-éthanolique (Figure

28D) et (Figure 28 B1) présentent des glomérules (G) qui semblent plus petits, en forme de croissant, avec une dilatation de la capsule de Bowman et un espace de Bowman plus important par rapport au control.

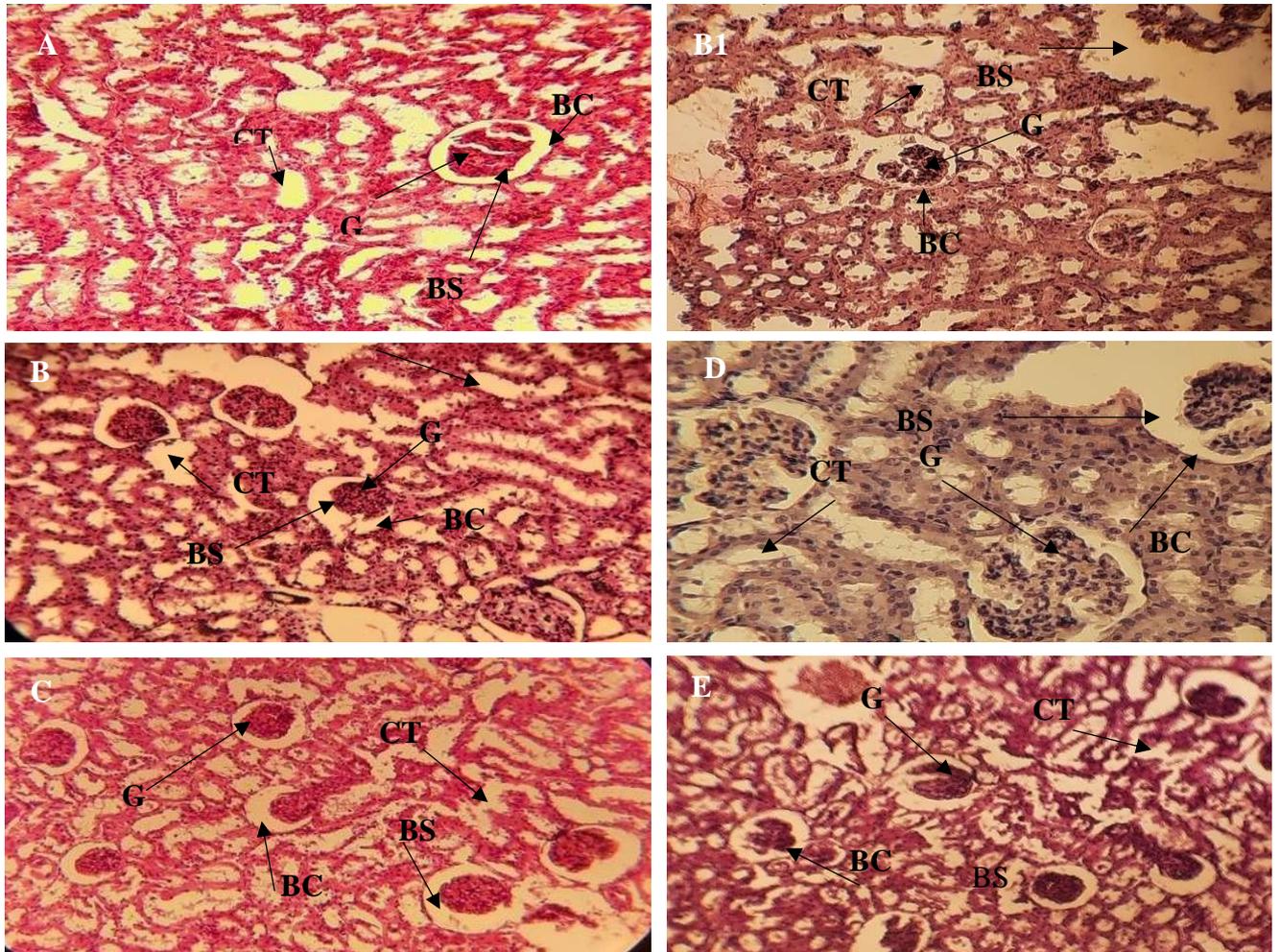


Figure 28. Comparaison histologique de reins de rats diabétiques traités avec des extraits des grignons d'olive au 28^{ème} jour d'expérimentation



Chapitre IV

Discussion



I. Effet antihyperglycémiant des extraits des grignons d'olive chez des rats diabétiques induits par la STZ

Plusieurs études ont rapporté les effets bénéfiques des produits naturels tels que les plantes, les co-produits et/ou leurs extraits sur le diabète et ses complications. L'objectif de cette étude est de mettre en évidence les effets de l'extrait hydro-éthanolique brut et de la fraction aqueuse des grignons d'olive sur d'une part, les paramètres biochimiques et hématologiques, et d'autre part, le statut redox, chez des rats rendus diabétiques par une injection de streptozotocine (STZ).

Notre premier objectif est de vérifier si ces extraits peuvent réduire l'hyperglycémie induite par la streptozotocine, ainsi que d'évaluer leurs effets bénéfiques sur les marqueurs du stress oxydant au niveau cellulaire et tissulaire.

L'induction expérimentale du diabète sucré chez les modèles animaux est essentielle pour l'étude, la promotion, la connaissance et la compréhension de la genèse de cette pathologie et de ses complications (Ferhati et al., 2017 ; Mehoul et al., 2020) dont le but final est la mise au point de nouvelles thérapies. Jusqu'à 2010 la STZ aurait été utilisée dans 69% dans des modèles animaux du diabète induit chimiquement en particulier chez le rat BB (biobreding) et la souris NOD (non obese diabetic) (Bernard Vialettes.,2021 ; Wallis RH et al.,2009 ; Kuhn C et al., 2011). La streptozocine est un analogue toxique du glucose qui s'accumule préférentiellement dans les cellules β pancréatiques grâce à l'action du transporteur du glucose GLUT2. Son effet diabétogène est attribué à sa capacité de détruire les cellules β pancréatiques (Boudah et al., 2017 ; Mallek et al., 2020).

I.1. Surveillance de l'évolution de la glycémie et du poids corporel chez les rats

Il est crucial de surveiller l'évolution de la glycémie et du poids corporel, car ces deux paramètres fournissent des informations préliminaires sur la substance étudiée et son impact sur le diabète. Dans notre étude, l'extrait hydro-éthanolique (EHE) et la fraction aqueuse (FAq) des grignons d'olive ont contribué à une augmentation du poids corporel chez les rats diabétiques traités. Cette amélioration du poids corporel était plus prononcée au cours des deux dernières semaines de traitement. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Boudiaf (2020), qui a observé une augmentation du poids corporel et de la consommation alimentaire chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine (STZ) et traités avec de la cannelle et de la quercétine, ainsi qu'avec les résultats rapportés par Taleb-Senouci et al. (2009) chez des rats diabétiques traités avec l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*, Kebir (2018), qui a étudié les effets du lait de chamelle cru sur les profils glucidiques et lipidiques de rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane pendant

28 jours d'expérimentation. En revanche, les rats diabétiques témoins non traités et ceux traités par EHE1 ont montré une tendance à la baisse du poids corporel. En effet, au cours des 28 jours de l'expérience, les rats diabétiques non traités ont montré une diminution de leur poids corporel. Cette perte de poids est probablement due à la carence en insuline, qui entraîne une diminution de la synthèse des protéines (Elsy et al., 2017 ; Polakof, 2019). De plus, de nombreuses études suggèrent que la perte de poids corporel chez les rats diabétiques est probablement due à l'augmentation du catabolisme des lipides et des protéines résultant de la carence en glucides cellulaires (Douaouya et Bouzerna, 2016 ; Fawzy et Elsherbiny, 2021 ; Salah et al., 2020). Ces résultats s'alignent sur ceux documentés dans la littérature, indiquant que l'injection intrapéritonéale de 45 mg/kg du poids corporel de streptozotocine provoque une perte de poids chez les rats Wistar (Boudiaf, 2020). De nombreuses études ont confirmé les effets bénéfiques des grignons d'olive sur l'amélioration du poids corporel des animaux nourris avec ce sous-produit (EL-Hachemi, 2008 ; Gharbi et Benarif, 2011). D'autres études ont également démontré les effets positifs de ce déchet sur la santé. Ces effets sont sans doute attribués à la forte teneur en composés phénoliques et autres molécules antioxydantes et nutraceutiques (Bouderbala et al., 2015 ; Čepo et al., 2018).

En ce qui concerne la glycémie, une diminution notable a été observée chez les rats traités, par EHE2, EHE3 et FAq. Contrairement aux rats diabétiques témoins non traités et traités par EHE1, en comparaison avec le groupe témoin normal (control). Ces résultats sont conformes à ceux précédemment rapportés par (Boudah et Bouhouche, 2017 ; Bouhouche, 2014).

Cette baisse de la glycémie, dès la 2^{ème} semaine d'expérimentation dans les groupes traités et jusqu'au 28^{ème} jour, souligne l'efficacité de nos extraits, en particulier de la fraction aqueuse, pour améliorer la glycémie. Il est intéressant de noter qu'une étude menée par Omari et al., (2011) suggère que la dose de streptozotocine administrée à 45 mg/kg du poids corporel pourrait être insuffisante pour maintenir l'état diabétique. Cette observation pourrait potentiellement expliquer le retour à un état normal observé à la fin de la période expérimentale chez les animaux traités.

Par ailleurs, Cherrad et Bouderbala (2019) ont également observé que les grignons d'olive réduisent la glycémie et renforcent l'activité antioxydante chez des rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine. De plus, les recherches menées par le groupe du professeur Mancini (Mancini, 1997) ont démontré qu'un régime riche en huile d'olive améliore la glycémie et augmente la sensibilité à l'insuline. Ils ont également constaté que plus la

consommation d'huile d'olive est élevée, plus la glycémie à jeun est faible. Enfin, une étude récente de **Thomsen et al. (2003)** a révélé que l'huile d'olive entraîne une augmentation de la sécrétion de GLP-1 (glucagon-like peptide) chez les patients diabétiques (**Henry, 2003**). Cet effet observé est similaire aux effets de plusieurs plantes traditionnelles, telles que *Cuminum cyminum* (**Onsiyor et al., 2019 ; Agbodjento et al., 2018**).

Au cours de cette phase de traitement du diabète, l'effet de l'extrait de GO sur le poids relatif des organes a également été évalué. En effet, le diabète est associé à des troubles métaboliques pouvant également affecter ces organes (**Bedou, 2014**). De plus, les mécanismes d'action diabétogénique de la streptozotocine entraînent la mort cellulaire et des altérations métaboliques dues à la destruction sélective des cellules β -pancréatiques, ce qui entraîne une diminution du poids de cet organe chez les rats diabétiques non traités principalement. En revanche, l'extrait des GO a contribué à une amélioration du poids de certains organes (foie et cerveau). Ce changement peut être dû à l'activité protectrice potentielle de l'extrait, induisant une prolifération cellulaire et entraînant une amélioration du poids de ces organes par rapport aux témoins (**Kouadio et al., 2022**).

I.2. Évaluation des paramètres biochimiques et hématologiques

Les marqueurs biochimiques ont montré une différence significative entre le groupe témoin et les différentes doses de traitement.

L'amélioration de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta, observée dans les groupes principalement traités avec la fraction aqueuse, est à l'origine de la réduction de la glycémie (**Bensiameur Touati et al., 2019 ; Chekatt, 2020 ; Cortez-Navarrete et al., 2023 ; Firdausa et al., 2020 ; Lee et al., 2012 ; Sun et al., 2023**). L'EHE et la FAq des GO, grâce à leur propriété antioxydante, contribuent probablement à la restauration de la fonction des cellules bêta, ce qui expliquerait leur effet hypoglycémiant.

Le taux des protéines totales était significativement augmenté chez les rats diabétiques non traités et ceux traités par 100 mg/kg d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive. Cette augmentation de la protéinémie peut être due à l'inflammation, phénomène fréquent chez les diabétiques qui peut contribuer à l'augmentation de la protéinémie (**Konrad et al., 2001 ; Zerriouh, 2015**). Cette inflammation peut endommager les vaisseaux sanguins et les tissus, ce qui peut entraîner une fuite de protéines dans le sang. Il est également possible que l'extrait lui-même ait contribué à l'augmentation de la protéinémie. Cependant, à une dose insuffisante, il peut ne pas assurer une protection adéquate, contrairement aux autres doses et à la fraction

aqueuse. Ces résultats concordent avec plusieurs études internationales publiées (**Simon, 2020 ; Vanel, 2023**).

Les transaminases sont des enzymes présentes dans le foie et d'autres organes. Leurs concentrations sanguines augmentent en cas de dommages hépatiques (**Azzi et Hamida, 2016 ; Vanhoebost, 2020**). Dans notre recherche, l'activité plasmatique de l'AST et ALT a manifesté une diminution significative ($p < 0,05$) et/ou aucune différence significative n'a été observées dans les groupes diabétiques traités par rapport au groupe non traité et traité par la plus faible dose de l'extrait hydro-éthanolique (100mg/kg) du poids corporel. Ces résultats suggèrent que les grignons d'olive peuvent avoir un effet protecteur sur le foie. En effet, la stabilité de taux de l'AST et la diminution de l'activité de l'ALT pourrait être due à une diminution des dommages hépatiques. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'études précédentes qui ont montré que d'autres plantes médicinales, telles que *Globularia alypum*, *Capparis spinosa* et *Lepidus sativum*, peuvent également avoir un effet protecteur sur le foie des rats diabétiques (**Friščić et al., 2022 ; Assadi et al., 2021 ; Attia et al., 2019 ; Iwaka, 2022**).

L'hyperglycémie induite par le diabète entraîne une élévation des taux d'urée et de créatinine qui peuvent être considérés comme des marqueurs de dysfonctionnement rénal. De nombreuses études ont démontré l'efficacité de certaines plantes pour améliorer la fonction rénale. Après 28 jours de traitement, les taux d'urée chez les rats traités à l'EHE et à l'FAQ des GO ne différaient pas significativement et/ou présente une diminution significative ($p < 0,05$) de ceux du groupe control. Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Assou et al. (2022)** qui ont montré une réduction des niveaux d'urée plasmatique chez les rats diabétiques traités. De plus, la réduction ou la stabilisation de l'urée plasmatique avec ces extraits est concomitante à son élimination dans les urines, témoignant d'une fonction rénale améliorée et plus saine. Comme l'a souligné **Assadi et al. (2021)**. En ce qui concerne la créatinine, aucune différence significative n'a été enregistrée dans le sang des animaux traités et/ou une légère modification dans sa concentration pendant la période expérimentale. Ceci indique que les doses d'extrait utilisées n'auraient eu aucun impact néfaste sur le métabolisme de la créatinine et qu'ils agissent favorablement sur la fonction rénale, probablement par leur effet protecteur contre les troubles causés par la streptozotocine (STZ), en réduisant significativement l'urémie (**Feudjio et al., 2018**).

L'hyperlipidémie joue un rôle clé dans la physiopathologie du diabète. Nos résultats confirment cela, avec une hausse significative ($p < 0,001$) du cholestérol plasmatique et une

baisse marquée ($p < 0,001$) du HDL-C chez les rats diabétiques non traités et traités par la plus faible dose de l'extrait hydro-éthanolique. Cependant, l'administration de la fraction aqueuse et de l'extrait hydro-éthanolique à dose 250 et 350 mg/kg du poids corporel a entraîné une augmentation faiblement significative ($p < 0,01$) et /ou aucune différence significative du cholestérol plasmatique, tout comme la metformine, comparativement au groupe control. Pour les concentrations de triglycérides, une augmentation significative ($p < 0,001$) est observée chez les rats diabétiques non traités et traités par la plus faible dose de l'extrait hydro-éthanolique. En revanche, une diminution significative ($p < 0,01$) et /ou ($p < 0,05$) est observée dans le lot traité avec l'extrait hydro-éthanolique à dose 250 et 350 mg/kg du poids corporel et aucune différence significative chez les rats traités par la fraction aqueuse, ainsi que pour celui traité avec metformine, par rapport au groupe control. Ces résultats sont comparables à ceux publiés par **Badi et al. (2022)** ; **Bouderbala, (2015)** ; **Cherrad et Bouderbala, (2019)**. À partir de ces résultats, nous pouvons conclure que le traitement par des extraits des grignons d'olive induit des effets hypocholestérolémiants et hypotriglycéridémiants. En effet, plusieurs études chez le rat ont mis en évidence l'effet hypolipidémiant de différentes plantes (**Irudayaraj et al., 2022** ; **Lee et al., 2012** ; **Bahlil et al., 2019** ; **Boudiaf, 2020**).

Les paramètres hématologiques du groupe des rats traités n'ont pas présenté de différences significatives par rapport à ceux des rats témoins normoglycémiques. Cependant, les rats témoins diabétiques ont montré des numérations de globules rouges, des volumes corpusculaires moyens, des hémocrites et des numérations de plaquettes significativement ($P < 0,01$) et/ou ($P < 0,05$) plus faibles par rapport aux rats témoins normoglycémiques.

Le nombre de globules blancs, de monocytes et de neutrophiles était significativement plus élevé ($P < 0,05$) chez les rats diabétiques témoins que chez les rats témoins normoglycémiques. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec des extraits éthanoliques de feuilles de *Nauclea latifolia* chez des rats diabétisés à l'alloxane par **Asanga et al. (2013)**. **Ageratum conyzoides Onsiyor et al. (2019)** et **Ceiba pentandra Muhammad et al. (2016)**. Une leucopénie, une anémie et une thrombocytopénie ont été observées chez les rats diabétiques non traités, ce qui est considéré comme un indicateur d'une perturbation de l'hématopoïèse chez ces rats. L'administration de l'extrait a corrigé ces anomalies, de manière comparable et parfois supérieure au médicament de référence (metformine), en particulier pour la fraction aqueuse. Des études antérieures ont montré que les composés bioactifs d'un extrait naturel possèdent des effets immunomodulateurs. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins présents dans l'extrait

avaient réduit l'hyperglycémie chez des rats diabétiques en favorisant l'hématopoïèse (**Feudjio et al., 2018**).

I.3. Évaluation des paramètres de statut oxydant antioxydant

Une augmentation de la glycémie peut induire un stress oxydatif par la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Daian et al., 2023**). Plusieurs études ont mis en évidence une augmentation des marqueurs de stress oxydatif dans le diabète expérimental induit par la STZ (**Couaillet, 2015**).

Les résultats de notre étude sur l'évaluation des paramètres du statut oxydant antioxydant chez les rats diabétiques non traités montrent que ça soit au niveau érythrocytaire ou tissulaires une augmentation significative des niveaux d'anion superoxyde ($P < 0,05$), de protéines carbonylées et de MDA ($P < 0,001$), qui sont des marqueurs indicateurs du stress oxydatif.

Le traitement des rats diabétiques avec de l'extrait des grignons d'olive a efficacement atténué la peroxydation lipidique. Les concentrations de MDA érythrocytaires et tissulaires des groupes diabétiques traités étaient nettement plus faibles que celles des groupes non traités. Ces résultats suggèrent que cette réduction de la peroxydation lipidique pourrait être attribuée à une augmentation du statut antioxydant. Des auteurs proposent que l'extrait des grignons d'olive réduit la peroxydation lipidique soit en inhibant la production de radicaux libres, soit grâce à sa forte activité antioxydante (**Zidan et al., 2019**). Ces résultats concordent avec ceux de **Cherrad et Bouderbala (2019)** qui ont observé une diminution de la peroxydation lipidique chez des rats soumis à un régime hypercholestérolémique et traités par les grignons d'olive. Cela pourrait s'expliquer par la présence de composés actifs identifiés par **Nassar Boulahneche et Zerizer (2017)** et **Zaidi et al. (2009)**.

Outre leurs effets hypoglycémiant et hypolipidémiant, l'EHE et la FAq des GO présentent également des vertus pour combattre le stress oxydatif. Ils protègent les organes des attaques radicalaires en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (catalase, superoxyde dismutase, etc.) et en stimulent la production de grandes quantités de glutathion (GSH), ce qui explique la réduction de la peroxydation lipidique observée au niveau tissulaire.

Dans notre étude, les taux de Cat et de GSH ont été significativement réduits ($P < 0,05$) dans le groupe contrôle diabétique, tandis que les concentrations de MDA, PC et O_2^\bullet ont été significativement augmentées ($P < 0,001$ et/ou $P < 0,05$). D'autres études ont montré une diminution du MDA tissulaire chez des rats diabétisés par la STZ et traités à l'extrait aqueux de *Nigella sativa* (**Bensiameur Touati et al., 2019**) et de *Momordica charantia* (**Ramdane et**

al., 2021). Les enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase : SOD, et catalase : Cat) et le glutathion réduit (GSH) jouent un rôle essentiel dans la protection cellulaire (**Ramdane et al., 2021**). La supplémentation en extrait réduit le stress oxydatif tissulaire en stimulant l'activité de la SOD et de la catalase et en augmentant les niveaux de GSH.

Cela est probablement dû à l'influence des composés bioactifs et à leur capacité à recycler la vitamine E et à piéger les radicaux libres, ce qui pourrait directement contribuer à une diminution de l'utilisation du GSH (**Awa et al., 2016 ; Ben-Saad et al., 2017 ; Haleng et al., 2007**). Nos résultats ont montré une diminution significative des niveaux d'anion superoxyde, de PC et de MDA, accompagnée d'une augmentation des activités de SOD, de GSH et de catalase, chez les rats diabétiques traités à l'extrait hydro-éthanolique (EHE) et à la fraction aqueuse des grignons d'olive (GO). Ces résultats concordent avec ceux publiés par **Friščić et al. (2022)** et **Balakrishnan et al. (2020)**. Nos résultats biochimiques, hématologiques et métaboliques obtenus dans le cadre de notre étude sont cohérents avec les observations histologiques réalisées sur des coupes du pancréas, foie et rein de rats diabétiques non traités et de rats diabétiques traités. L'analyse histopathologique du pancréas a révélé une dégénérescence des cellules bêta et une nécrose cellulaire des îlots pancréatiques, avec une diminution de leur taille, chez les rats témoins diabétiques par rapport au groupe traité et au control. La morphologie, la taille et l'architecture globale des îlots dans le groupe traité étaient très similaires à celles du groupe témoin sain ou control. Dans le groupe traité, les îlots présentaient une structure cellulaire intacte, conférant un aspect homogène et, pour la plupart, une forme plus régulière. Cela suggère une augmentation du nombre de cellules insulaires et une restauration du contour des îlots. Ces observations soutiennent l'hypothèse d'une régénération des îlots pancréatiques sous l'effet de notre extrait. Ces résultats concordent avec ceux de **Bensiameur Touati et al. (2019) ; Sundaram et al. (2019)** et **Assou et al. (2022)**. Dans l'analyse histologique des tissus hépatiques, les rats diabétiques non traités présentent des altérations. La figure 27 D met en évidence plusieurs lésions au niveau du cytoplasme des cellules hépatiques, notamment une congestion vasculaire (CV) associée à la présence de cellules inflammatoires (CI) entre les travées récurrentes. De plus, on observe plusieurs veines centrolobulaires contenant des globules rouges dans leur lumière, en quantité variable.

Des foyers de cytolysse sont également présents, couvrant des zones étendues du tissu hépatique. Ces zones sont caractérisées par des destructions cellulaires tant au niveau nucléaire que cytoplasmique, accompagnées d'une inflammation. **Lucchesi et al. (2015)** et **Telli (2018)** ont

montré que le diabète induit chez les rats déclenche des changements morphologiques et ultrastructuraux du foie, qui sont très similaires à ceux observés dans les maladies humaines. Les photomicrographies sélectionnées des sections du foie des rats du lot témoin montrent une architecture normale avec des lobules distincts. La veine centrale est bien délimitée par les cellules endothéliales, et les hépatocytes présentent des noyaux bien définis, séparés par des sinusoides étroites. Une architecture normale du foie est observée, avec la veine centrale (VC), les hépatocytes (H) et les sinusoides (S) clairement identifiables. De plus, l'architecture normale d'une veine centrale est également représentée. Les coupes histologiques des rats diabétiques traités par l'extrait hydro-éthanolique à la dose de 250 mg/kg, la fraction aqueuse des grignons d'olive (GO) et par la metformine sont illustrées dans les images (B), (E) et (C). Ces coupes montrent une architecture normale du tissu hépatique, similaire à celle du groupe témoin sain. Ceci contraste avec la dose de 100 mg/kg, dont la coupe histologique a révélé la présence de cellules inflammatoires. Ceci suggère l'efficacité de traitement par l'extrait contre les effets délétères et la toxicité tissulaire induits par la streptozotocine. La photomicrographie de l'histoarchitecture du rein de rats, montrant l'effet de de STZ sur les changements histopathologiques du rein chez les rats diabétiques traités par l'extrait hydro-éthanolique des GO bruts, la fraction aqueuse et la metformine pendant 28 jours de traitement, comparé au groupe témoin diabétique. Les glomérules rénaux (G) et les tubes contournés (CT) sont visiblement similaires dans le groupe témoin et les groupes diabétiques traités. Le groupe témoin ainsi que le groupe traité par EHE et le groupe traité par la fraction aqueuse ne présentent pas de différence morphologique avec des cellules disposées de manière régulière, suggérant que le rein est sain, sans signe d'altération ou d'inflammation. En revanche, le groupe diabétique non traité présentent des glomérules (G) qui semblent plus petits, en forme de croissant, avec une dilatation de la capsule de Bowman et un espace de Bowman plus important par rapport au groupe témoin, qui ne présente pas la même similarité. Ces changements histologiques observés dans le groupe diabétique non traité et traité par la plus faible dose de l'extrait hydro-éthanolique sont caractéristiques de la néphropathie diabétique. Un glomérule est une structure dans le rein qui joue un rôle clé dans la filtration du sang pour former l'urine. La granulosité et la formation en croissant suggèrent des modifications dans la structure normale du glomérule, résultant probablement de l'accumulation de substances anormales. Un glomérule plus petit peut indiquer une atrophie ou une diminution de la taille de cette structure essentielle pour la fonction rénale. L'espace de Bowman est une partie du glomérule où le filtrat

est recueilli avant d'être transporté dans les tubules rénaux. Une dilatation de cet espace peut résulter de la pression accrue exercée sur les structures du glomérule. Ces changements histologiques suggèrent des altérations graves au niveau du glomérule, caractéristiques de la néphropathie diabétique. Ces altérations peuvent entraîner une altération de la fonction rénale, en particulier chez les personnes atteintes du diabète de type 1 ou de type 2.

Conclusion

L'étude pharmacologique de l'extrait brut hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts, ainsi que de la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés, visait le traitement du diabète sucré. Cette étude, à travers une analyse phytochimique, a révélé une hétérogénéité de groupes chimiques présentant une activité antioxydante potentielle déterminée par divers tests (DPPH, Pouvoir reducteur et CAT). Les résultats de l'étude in vivo ont révélé que ces échantillons, aux doses de 250 mg/kg, 350 et 50 mg/kg, avaient un effet antihyperglycémique avéré, tel que déterminé par diverses analyses biochimiques, hématologiques et de statut antioxydant. Nous avons également mesuré les changements du poids corporel et de glycémie pendant la période de traitement. Tous ces résultats ont permis de déterminer le potentiel biologique et métabolique des composés bioactifs contenus dans le résidu d'olive, qui sont dotés d'un pouvoir chimioprotecteur contre les effets délétères et diabéto-gènes du STZ. Cet effet se manifeste par le maintien de l'équilibre redox des cellules pancréatiques malgré l'effet pro-oxydant et cytotoxique du STZ, protégeant ainsi les cellules β de la cytolysse. Cette prévention de l'apparition de complications diabétiques chez les animaux est attribuée à l'effet protecteur des molécules actives des grignons d'olive. Il est important de mentionner l'importance de ces résultats. Néanmoins, des études complémentaires approfondies seront nécessaires pour valider cette première preuve et déterminer les composants actifs responsables de son mécanisme cellulaire et moléculaire. Il est important de souligner que la recherche sur le grignon d'olive est en pleine expansion et que des essais cliniques supplémentaires sont requis pour corroborer ses bienfaits sur la santé humaine.



Partie III

Toxicité aiguë d'extrait de
grignons d'olive





Chapitre I

Synthèse bibliographique



I. Généralités sur la toxicité

I.1. Qu'est-ce que la toxicologie ?

La toxicologie explore les effets néfastes des substances chimiques sur les organismes vivants, élargissant son champ initial centré sur les poisons pour englober tous les impacts sur la santé. Elle étudie les toxines, potentiellement mortelles à fortes doses, cherchant à comprendre leurs mécanismes d'action et à développer des stratégies pour réduire les risques pour la santé humaine et l'environnement (**Society of Toxicology, 2023**). Cette discipline analyse les effets toxiques à différents niveaux, moléculaire, cellulaire et organique, tout en évaluant les conditions d'exposition, dans le but de protéger la santé publique et l'environnement (**Chéour, 2020 ; Tardif, 2020**). Avec l'augmentation de l'exposition aux produits chimiques, la toxicologie trouve des applications étendues dans des secteurs comme la chimie, l'agriculture, l'alimentation et la médecine (**Boullier ; Henry, 2022**).

Un toxique ou poison est une substance qui, lorsqu'elle est introduite dans l'organisme par divers moyens, entraîne des perturbations temporaires ou durables d'une ou plusieurs fonctions vitales, pouvant potentiellement être mortelles (**Chéour, 2020**). Ces substances toxiques peuvent être d'origine naturelle ou artificielle, créées par l'homme dans le cadre d'activités industrielles ou agricoles (**Robert et al., 2007**).

Toxicité : La toxicité résulte d'une interaction complexe entre une substance et un organisme vivant. Elle englobe l'ensemble des effets néfastes que cette substance peut induire à l'échelle moléculaire, cellulaire et organique (**Kim et Kang, 2021**). La gravité de la toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose exposée, de la voie d'exposition et des caractéristiques individuelles. Plus la dose est importante, plus le mal est grave. (**Society of Toxicology, 2023**).

I.2. Différents types de toxicité

La toxicité se manifeste sous différentes formes d'intoxications :

I.2.1. La toxicité aiguë

La toxicité aiguë se manifeste par des effets indésirables graves survenant après l'administration orale, cutanée ou par inhalation d'une dose unique d'une substance toxique, ou plusieurs doses rapprochées (dans les 24 heures) ou encore par inhalation sur une courte durée (4 heures) (**OCDE, 2022**). La gravité de la toxicité aiguë est mesurée par des indicateurs comme la dose létale (DL), notamment la dose létale médiane (DL₅₀).

L'étude de la toxicité aiguë permet de déterminer la dose maximale sans effet toxique (DME) et la dose minimale létale (DML), c'est-à-dire la dose qui provoque la mort de tous les animaux dans le cadre de l'expérimentation. **(Wallace et Hayes, 2008)**

I.2.2. Toxicité subaiguë (à moyen termes)

La toxicité subaiguë se caractérise par des effets néfastes sur la santé qui surviennent après une exposition fréquente et répétée à une substance toxique sur une période allant de quelques jours ou semaines à 28 jours. Contrairement à la toxicité aiguë, la toxicité subaiguë se développe de manière plus progressive suite à des expositions répétées sur une durée plus longue n'excédant pas 3 mois. Elle permet d'identifier l'organe et les fonctions ou le système touché par le toxique **(Mikolo et al., 2020)**.

I.2.3. Toxicité subchronique

La toxicité subchronique se caractérise par des effets néfastes sur la santé qui surviennent après une exposition répétée à une substance toxique sur une période allant de 28 jours à 90 jours.

I.2.4. Toxicité chronique (long termes)

La toxicité chronique est le résultat d'une exposition prolongée à des faibles concentrations d'une substance toxique sur une période de plus de trois mois. Les effets néfastes de cette exposition peuvent ne se manifester que des mois, des années, voire des décennies plus tard.

La toxicité chronique est le résultat de l'exposition prolongée à des faibles concentrations d'une substance toxique sur une période de plus de trois mois. Les effets néfastes peuvent ne se manifester que des mois, des années, voire des décennies plus tard **(Brendan et al., 2019 ; Capoferri et al., 2018)**. Il s'agit d'une toxicité qui apparaît par cumul de toxique dans l'organisme et que l'on appelle (toxicité cumulative). Les effets dépendent de la dose totale de substance toxique absorbée au fil du temps. Les symptômes peuvent apparaître durant l'exposition ou bien longtemps après la fin de l'exposition à la substance toxique. Cette exposition prolongée peut également contribuer à des altérations génétiques et moléculaires, augmentant ainsi le risque de développer des cancers **(Caron-Beaudoin et al., 2018)**.

I.3. Relation dose-effet et relation dose-réponse

La relation dose-effet et la relation dose-réponse illustrent comment l'effet d'une substance toxique varie en fonction de la dose administrée. En général, à mesure que la dose augmente, l'effet causé par le toxique augmente également, ce qui définit la relation dose-effet **(Guo et al., 2022)**.

I.3.1. Détermination de la dose minimale mortelle (DMM)

C'est la dose minimale de substance capable de tuer un animal par administration intraveineuse lente, la mort est appréciée par arrêt cardiaque. Cette dose permet à l'expérimentateur de choisir les doses à utiliser pour la DL_{50} (Robert et al., 2007).

I.3.2. Détermination de la dose létale 50 (DL_{50})

La dose létale 50 (DL_{50}) ou de la concentration létale 50 (CL_{50}) est une estimation statistique d'une dose unique de produit supposée tuer 50% des animaux mis en expérience dans une même espèce animal (souvent des souris ou des rats) dans un délai de 14 jours. Elle s'exprime en milligrammes de substance par kilogramme du poids corporel (mg/kg). La DL_{50} est déterminée par des tests expérimentaux où des groupes d'animaux reçoivent des doses croissantes de la substance à étudier dans des conditions d'expérimentation précises (Cao et al., 2014). En fonction de leur DL_{50} (orale ou cutanée) ou CL_{50} (inhalation), les produits chimiques sont classés en cinq catégories de toxicité aiguë selon le système harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (GHS) de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE, 2022). Plus la valeur de la DL_{50} est basse, plus la substance est considérée comme toxique (Bensakhria, 2018).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) classe les substances toxiques en fonction de leur dose létale 50 (DL_{50}). La classification est la suivante :

- ❑ Substance extrêmement toxique : $DL_{50} < 5$ mg/kg
- ❑ Substance très toxique : DL_{50} entre 5 et 50 mg/kg
- ❑ Substance toxique : DL_{50} entre 50 et 500 mg/kg
- ❑ Substance peu ou pas toxique : $DL_{50} > 500$ mg/kg

L'indice DL_{50} sert fréquemment pour exprimer la toxicité aiguë ainsi que pour classer et comparer les toxiques. Il a cependant une valeur très limite, car il ne concerne lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire, qui peut être très influencée par plusieurs facteurs tels que l'espèce animale, le sexe, l'âge, le moment de la journée (Bachtarzi, 2020).

I.4. Toxicologie des organes cibles

La toxicité d'une substance n'affecte pas tous les organes du corps de manière uniforme. En général, un ou deux organes sont particulièrement sensibles à l'action toxique d'une substance donnée. Ces organes, appelés "organes cibles". Le système nerveux central 'est l'organe cible le plus souvent touché par les effets toxiques systémiques, c'est-à-dire ceux qui affectent l'ensemble de l'organisme. Les substances neurotoxiques peuvent perturber le fonctionnement

du cerveau, de la moelle épinière et des nerfs, entraînant des troubles neurologiques graves. Le système circulatoire peut être aussi altérée ainsi que le foie, les reins, les poumons et la peau. Il est important de noter que les muscles et les os peuvent également être des organes cibles pour certaines substances spécifiques. De plus, de nombreuses substances peuvent avoir un impact sur le système reproducteur masculin et féminin, affectant la fertilité et la santé reproductive. (Mikolo et al., 2020).

I.4.1. Méthodes d'études de toxicité pour les organes cibles

Pour évaluer les effets toxiques sur les organes cibles, plusieurs approches sont couramment utilisées. D'abord, l'exposition d'organismes entiers permet une analyse complète de la fonction et de l'histopathologie des organes. Ensuite, l'exposition de cellules, de tranches de tissus ou d'organes maintenus en culture in vitro offre une alternative pratique et contrôlée. Les études de toxicité pour les organes cibles partagent généralement les caractéristiques suivantes (Brendan, 2021 ; Lombard, 2014)

- Examen histopathologique, mesure du poids des tissus et examen des tissus fixés pour détecter d'éventuelles anomalies
- Études biochimiques, en se concentrant souvent sur les systèmes enzymatiques importants pour évaluer les altérations biochimiques résultant de l'exposition toxique.
- Études fonctionnelles évaluant la capacité de l'organe cible à remplir les fonctions métaboliques et autres fonctions attendues.
- Analyse des biomarqueurs d'exposition dans les cellules des organes cibles pour détecter des signes d'exposition toxique. En combinant ces approches, une compréhension approfondie des effets toxiques potentiels sur les organes cibles et de leurs mécanismes sous-jacents peut être obtenue.



Chapitre II

Matériels et méthodes



I. Etude de la toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive bruts

Notre étude vise à évaluer la toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique brut des grignons d'olive en utilisant le modèle animal du rat Wistar. Le test de toxicité aiguë permet d'évaluer les effets nocifs potentiels de l'extrait sur la santé des organismes, garantissant ainsi l'absence de risques immédiats ou graves pour la santé. Cela est crucial pour assurer la sécurité des sujets de l'étude, optimiser le protocole de traitement et se conformer aux normes éthiques et réglementaires.

La toxicité aiguë se manifeste rapidement après une prise unique à court terme. Pour évaluer la toxicité aiguë de l'extrait, nous utilisons la méthode décrite par Lorke, consistant à déterminer la dose létale 50 % (DL₅₀), exprimée en milligramme de matière active par kilogramme d'animal. Notre étude comprend également une analyse qualitative et quantitative des paramètres biochimiques et hématologiques, ainsi qu'une étude histologique des cellules du foie, du rein et du tissu adipeux pour identifier d'éventuelles altérations cellulaires.

I.1. Matériel végétale

Préparation de solution de gavage à partir de l'extrait hydro-éthanolique déjà préparé dans le premier chapitre (étude phytochimique)

Le résidu sec de l'extrait brut hydro-éthanolique des grignons d'olive sera solubilisé dans de l'eau physiologique. La quantité de résidu sec à solubiliser dépendra de la concentration souhaitée de la solution de gavage. La solution obtenue sera homogénéisée à l'aide d'un agitateur magnétique ou d'un vortex pendant 5 minutes. Ensuite, la solution sera ajustée au volume final avec de l'eau physiologique.

La solution de gavage sera administrée aux rats par gavage oral à l'aide d'une sonde gastrique à raison de 1 mL/100 g du poids corporel.

I.2. Matériel animale

Notre étude a porté sur des rats blancs de souche Wistar, mâles et femelles en bonne santé, âgés de 2 à 3 mois et pesant entre 200 et 300 grammes. L'élevage de ces animaux a été réalisé au sein de l'animalerie du département de Biologie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers de l'Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen). Les animaux ont été logés dans des cages en polypropylène standards (6 par cage) et maintenus dans des conditions standard de laboratoire (12 h cycle lumière-obscurité). Ils ont été nourris avec un régime alimentaire standard sous forme de granules et avaient accès à l'eau ad libitum (Figure 29). Les expériences ont été menées conformément aux directives internationalement

reconnues de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE) (OCDE, 2008, lignes directrices numéro 407). Les animaux de laboratoire ont été suivis attentivement tout au long de l'expérience, conformément aux principes éthiques internationaux pour la recherche animale.



Figure 29. Tourteaux agglomérés de l'aliment destiné aux rats wistar

I.3. Détermination de la (DL₅₀) de l'extrait hydro-éthanolique

Les propriétés toxiques des GO ont été étudiées chez le rat Wistar par voie orale via un test de toxicité aiguë réalisé sur une période de 14 jours. À cet effet, les rats ont été répartis en 5 lots de 6 rats (3 mâles et 3 femelles albinos de la souche Wistar). Le lot 1 (groupe témoin) a reçu 1 ml/100 g de sérum physiologique, tandis que les lots 2, 3, 4 et 5 ont été exposés à l'extrait hydro-éthanolique de grignons d'olive brut à des doses croissantes.

L'extrait hydro-éthanolique a été administré par gavage en doses uniques de 125, 500, 2000 et 5000 mg/kg du poids corporel. Les animaux traités ont été suivis et observés pendant 14 jours, au cours desquels ils ont eu libre accès à la nourriture et à l'eau.

I.4. Évaluation des Paramètres Comportementaux, de la Croissance Pondérale et du Poids Relatif des Organes, après sacrifice des rats.

Le poids corporel a été mesuré tous les deux jours et à la fin de chaque semaine. Tout changement de comportement a été noté tel que perte de poils, présence de diarrhée, changement du poids corporel, troubles de l'équilibre, grattage, apparition de poils, agressivité, saignements, hypersalivation, variation de la prise de nourriture et d'eau, etc.

Après 14 jours, et après 12 heures de jeûne, les animaux traités avec l'extrait sont pesés puis anesthésiés avec du chloral à 10 % (0.3 ml pour 100 g du poids corporel). Une quantité de sang prélevée par ponction de l'aorte abdominale et recueillie dans des tubes EDTA pour les tests hématologiques de numération sanguine globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) (GR), globules blancs (WBC), détermination de l'hémoglobine (g/dL), hématocrite (%), numération plaquettaire

($10^3/\text{mm}^3$), volume corpusculaire moyen (MCV), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et une autre partie est recueillie dans des tubes séchés ou héparinés pour tester les paramètres biochimiques (glucose, protéines totales, créatinine, urée, cholestérol total, cholestérol HDL, triglycérides (TG), alanine aminotransférase (ALT), aspartate aminotransférase (AST).

Pour les analyses biologiques, les organes (foie, reins, cœur, rate, cerveau, pancréas et tissu adipeux) sont soigneusement prélevés, rincés à l'eau physiologique et pesés. Une autre partie est conservée dans du formol à 10% pour l'histopathologie. L'étude histologique consiste en un examen macroscopique effectué, avant leur fixation, pour noter tout changement de couleur ou de forme des organes des rats sacrifiés. La réalisation des coupes histologiques comprenant la déshydratation des tissus, l'inclusion et la section, est effectuée au niveau du Laboratoire de la faculté de médecine de Tlemcen. Les coupes sont colorées à l'hématoxyline-éosine.

I.5. Analyse des paramètres biochimiques

Nous avons utilisé le kit Spinreact pour évaluer la fonction rénale en mesurant le taux sérique de l'urée (mg/dL) et de la créatinine (mg/dL). Pour évaluer les effets sur le foie, les niveaux d'alanine aminotransférase (ALT, U/L), d'aspartate aminotransférase (AST, U/L), de protéines sériques totales (g/dL), de cholestérol total (mg/dL) et de cholestérol HDL (mg/dL) ont été mesurés en utilisant des kits colorimétriques enzymatiques de la marque Sigma-Aldrich. En outre, le glucose (mg/dL) a également été mesuré pour évaluer la fonction pancréatique à l'aide du kit Sigma-Aldrich.

I.6. Dosages des paramètres hématologiques

L'analyse hématologique a été réalisée au laboratoire d'analyse du CHU de Tlemcen à l'aide d'un analyseur hématologique avec des paramètres spécifiques pour les rats.

Les paramètres hématologiques analysés sont les suivants : nombre de globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$), nombre de globules blancs totaux ($10^3/\text{mm}^3$), nombre de plaquettes ($10^3/\text{mm}^3$), nombre de globules blancs différentiels (nombre relatif, %) ; détermination de l'hémoglobine (g/dl), de l'hématocrite (%) ; et détermination des indices érythrocytaires : volume cellulaire moyen (MCV, fl), concentration cellulaire moyenne en hémoglobine (MCHC, %), volume cellulaire moyen (VCM, fl), hémoglobine cellulaire moyenne (MCH, pg).

I.7. Étude histopathologique

Des fragments de foie, de rein et de rate prélevés sur des rats mâles ont été immédiatement conservés dans du formol neutre tamponné à 10 % en vue d'une analyse histopathologique.

Ces échantillons de tissus ont été déshydratés dans l'alcool, nettoyés au xylène et inclus dans de la paraffine. Ils ont ensuite été sectionnés (5 mm), colorés à l'hématoxyline et à l'éosine et examinés au microscope optique. Les échantillons ont été analysés pour détecter les changements structurels généraux des organes, les altérations dégénératives, les signes de nécrose et les signes d'inflammation.

I.8. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (ET). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été obtenues par comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $P < 0,05$, hautement significatives pour $***P < 0,001$, très significatives pour $**P < 0,01$, significatives pour $*P < 0,05$, et non significatives pour $P > 0,05$ NS.



Chapitre III

Résultats et interprétations



I. Test de toxicité Aiguë dans l'extrait hydro-éthanolique brut des grignons d'olive

I.1. Détermination de la (DL₅₀) de l'extrait hydro-éthanolique

Les résultats du test de toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des GO administré en doses uniques de 125, 500, 2000 et 5000 mg/kg n'ont révélé aucune toxicité significative chez les rats dans les heures suivant l'administration et pendant toute la durée du traitement. Aucun signe de toxicité ou de mortalité n'a été observé chez les animaux étudiés. Conformément au système de classification harmonisé des produits chimiques et des mélanges de l'OCDE, les substances administrées entre 2000 et 5000 mg/kg du poids corporel sont considérées comme relativement non classées ou classées dans la classe 5 (**Organisation pour le développement économique, 2001**). Sur la base des résultats, il est possible de conclure que la DL₅₀ orale de l'EHE provenant des grignons d'olive est supérieure à 5000 mg/kg et semble varier en fonction du solvant d'extraction.

Par ailleurs, le test de toxicité aiguë réalisé sur des rats mâles et femelles a révélé des réponses différentes à des doses élevées d'extrait des grignons d'olive (GO).

I.2. Évaluation des Paramètres Comportementaux, de la Croissance Pondérale et du Poids Relatif des Organes

Le poids corporel est crucial pour obtenir des informations préliminaires sur la substance étudiée. Nous avons mesuré le poids corporel des rats chaque jour et à la fin de chaque semaine à l'aide d'une balance en grammes (g), et les résultats sont présentés dans les figures 30 et 31. Le gain du poids corporel a été utilisé comme indicateur de l'état de santé général des animaux de laboratoire. Une augmentation significative ($p < 0,001$) du poids des mâles par rapport à leur poids initial a été observée sur l'ensemble de la période expérimentale (Figure 30, Tableau A5 en annexes). En revanche, les rates femelles n'ont montré qu'un léger gain du poids tout au long de cette expérimentation par rapport à leur poids corporel initial (Figure 31, Tableau A5 en annexe). Nous pouvons donc conclure que notre extrait a favorisé la prise du poids chez les rats mâles par rapport aux femelles.

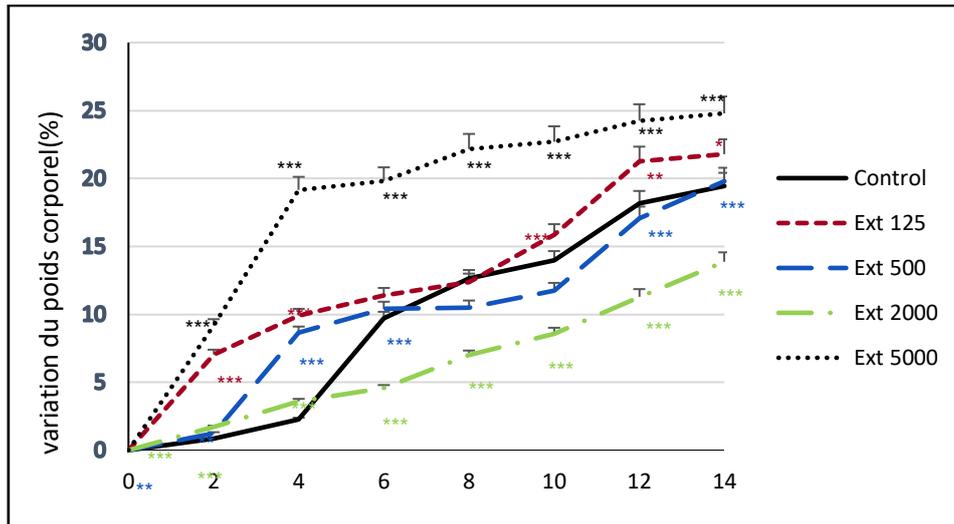


Figure 30. Variation du poids corporel chez les mâles traités avec l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des GO dans le cadre d'un test de toxicité orale aiguë

Groupe 1 (control) : rats traités avec l'eau physiologique ; Groupe 2 : rats traités avec 125 mg/kg PS d'EHE ; Groupe 3 : rats traités avec 500 mg/kg PS d'EHE ; Groupe 4 : rats traités avec 2000 mg/kg PS d'EHE ; Groupe 5 : rats traités avec 5000 mg/kg PS d'EHE.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; ** : différence très significative à $P < 0,01$; *** : différence très significative à $P < 0,001$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

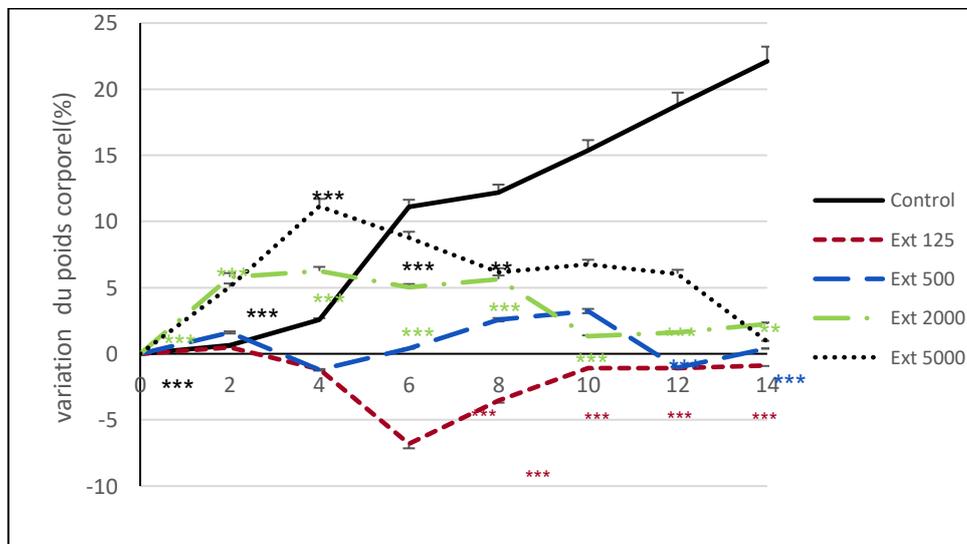


Figure 31. Variation du poids corporel chez les femelles traitées avec l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des GO dans le cadre d'un test de toxicité orale aiguë

Groupe 1 (control) : rats traités avec l'eau physiologique ; Groupe 2 : rats traités avec 125 mg/kg PS d'EHE ; Groupe 3 : rats traités avec 500 mg/kg PS d'EHE ; Groupe 4 : rats traités avec 2000 mg/kg PS d'EHE ; Groupe 5 : rats traités avec 5000 mg/kg PS d'EHE.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; ** : différence très significative à $P < 0,01$; *** : différence très significative à $P < 0,001$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

En ce qui concerne le poids relatif des organes, aucune différence significative n'a été observée à toutes les doses chez les mâles (Figure 32, Tableau A 6 en annexes) et les femelles (Figure 33, Tableau A 6 en annexe), à l'exception du foie, où une augmentation significative a été observée à 500 et 2000 mg/kg du poids corporel. Par conséquent, un effet antagoniste a été observé chez les femelles dans le même organe, dans le cœur à 5000 mg/kg du poids corporel, et dans la rate à toutes les doses.

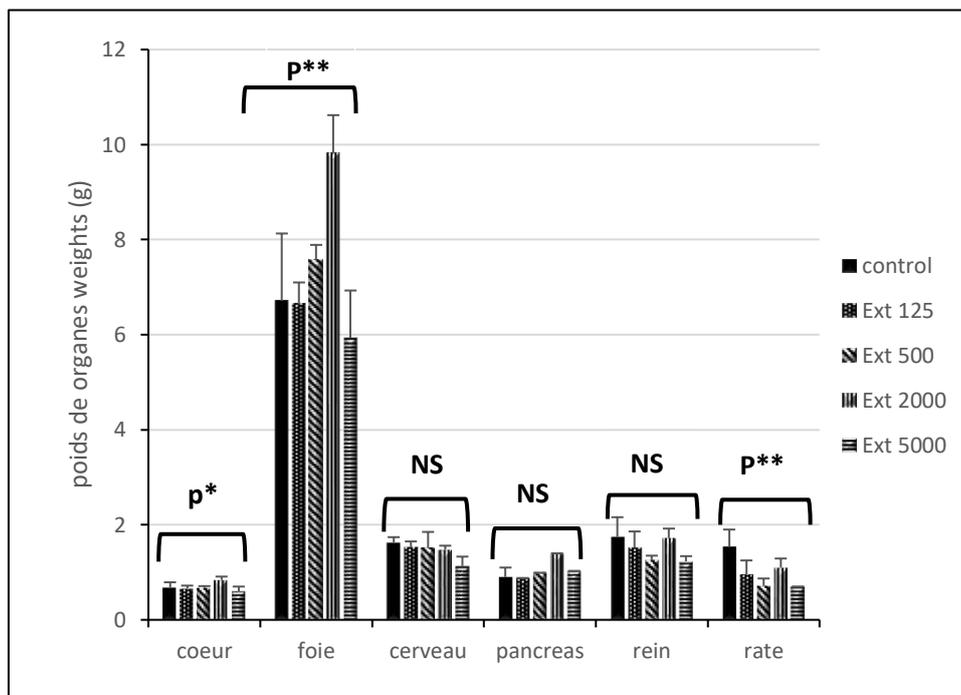


Figure 32. Effets de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des grignons d'olive sur le poids relatif des organes chez les mâles traités par voie orale dans le cadre d'un test de toxicité aiguë

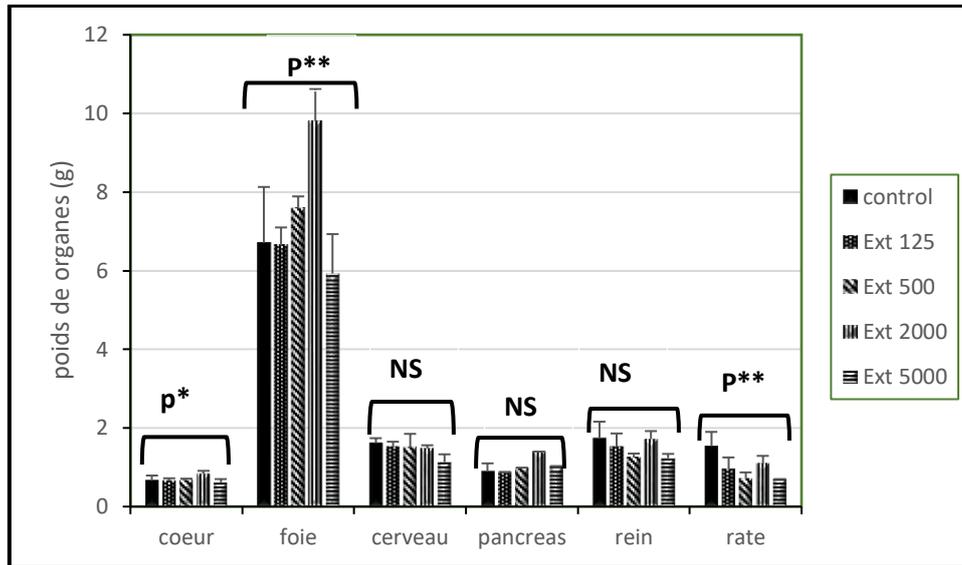


Figure 33. Effets de l'extrait hydro-éthanolique (EHE) des grignons d'olive sur le poids relatif des organes chez des femelles traitées par voie orale dans le test de toxicité aiguë

Groupe 1 (control): rats traités avec l'eau physiologique; Groupe 2: rats traités avec 125 mg/kg PS d'EHE; Groupe 3: rats traités avec 500 mg/kg PS d'EHE; Groupe 4: rats traités avec 2000 mg/kg PS d'EHE; Groupe 5: rats traités avec 5000 mg/kg PS d'EHE.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; ** : différence très significative à $P < 0,01$; *** : différence très significative à $P < 0,001$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

I.3. Évaluation des paramètres biochimiques sériques

I.3.1. Activités des transaminases sériques (TGO et TGP)

Une augmentation significative des taux de AST et ALT ($p < 0,001$) / (0.01) a été observée chez les rats mâles et femelles exposés à des doses de 500, 5000 mg/kg et 2000 mg/kg. Cependant, la fonction hépatique des femelles a été beaucoup plus perturbée, indiquant une élévation significative des taux d'ALT même à des doses plus faibles, en comparaison avec le groupe témoin C (Figure 34., Tableau A 7 en annexes).

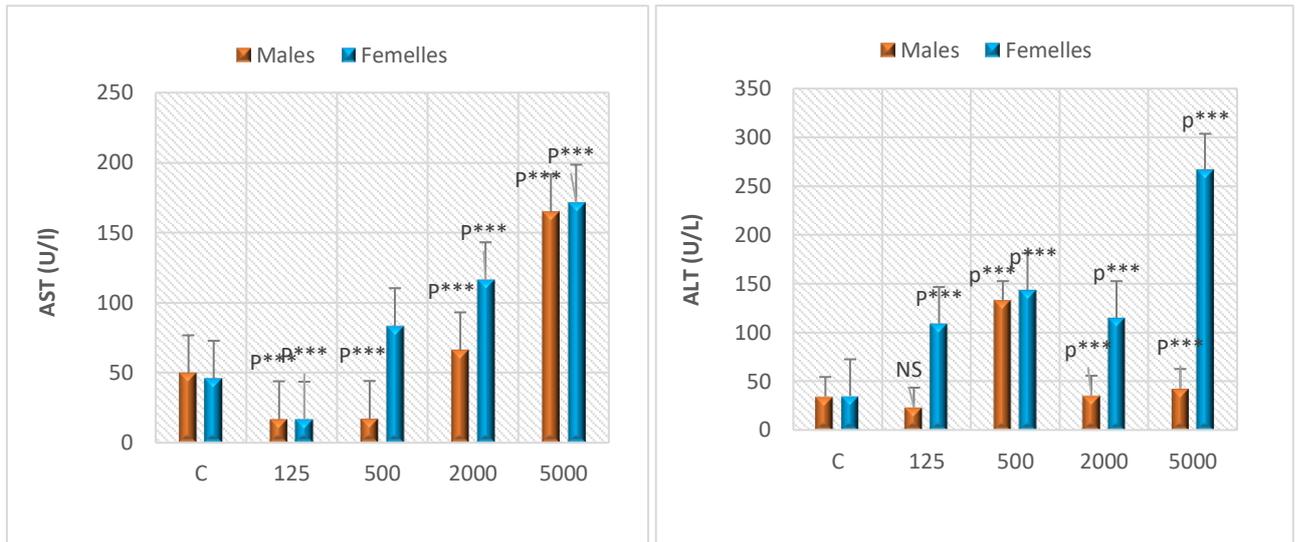


Figure 34. Exploration de la fonction hépatique par analyse sérique chez les rats soumis à un test de toxicité aigue

ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase.

I.3.2. Détermination des teneurs en urée et créatinine sériques

Une augmentation significative de l'urée et une diminution significative de la créatinine ont été signalées à toutes les doses mais beaucoup plus significatives à $P < 0,001$ à haute dose par rapport aux témoins chez les mâles et les femelles (Figure 35, Tableau A 7 en annexes).

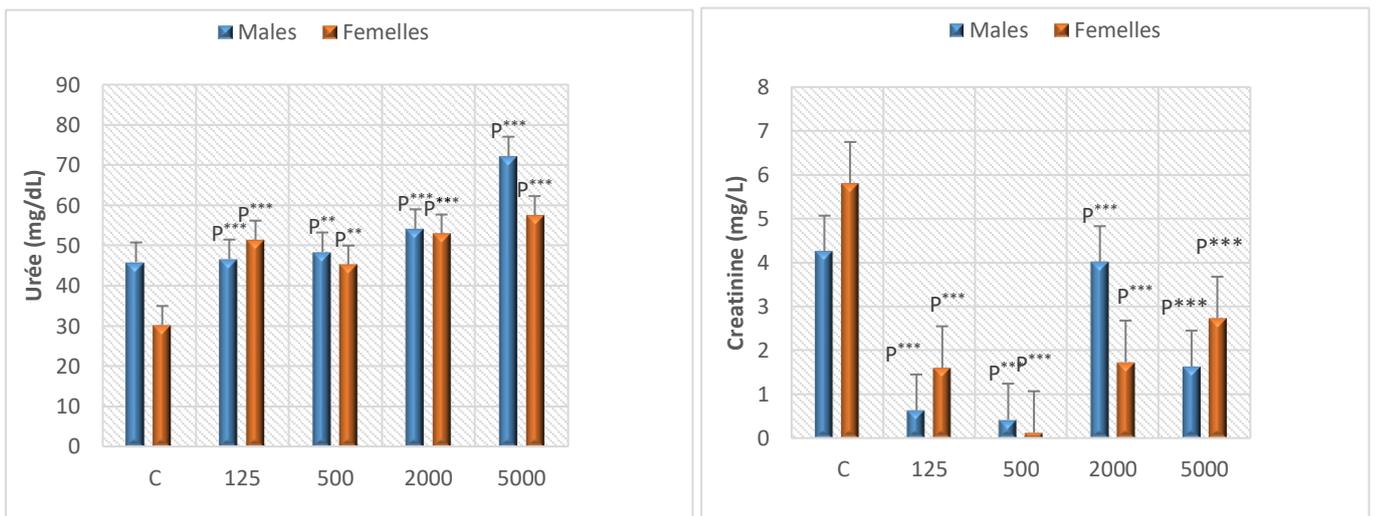


Figure 35. Exploration de la fonction rénale par analyse sérique chez les rats soumis à un test de toxicité aigue

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot de contrôle. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; *** : différence hautement significative à $P < 0,001$, ** $p < 0,01$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les

données ont été soumises à une comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey.

I.3.3. Détermination des paramètres lipidiques

Une diminution de taux du cholestérol et de triglycérides (TG), et une amélioration. De taux de lipoprotéines de haute densité (C-HDL) chez les mâles que chez les femelles, est enregistrée à faibles doses en revanche une augmentation significative est observée à la dose de 2000 et 5000 mg/kg de P.C pour le taux de cholestérol total comparées aux témoins (Figure 36 et Tableau A 7 en annexes).

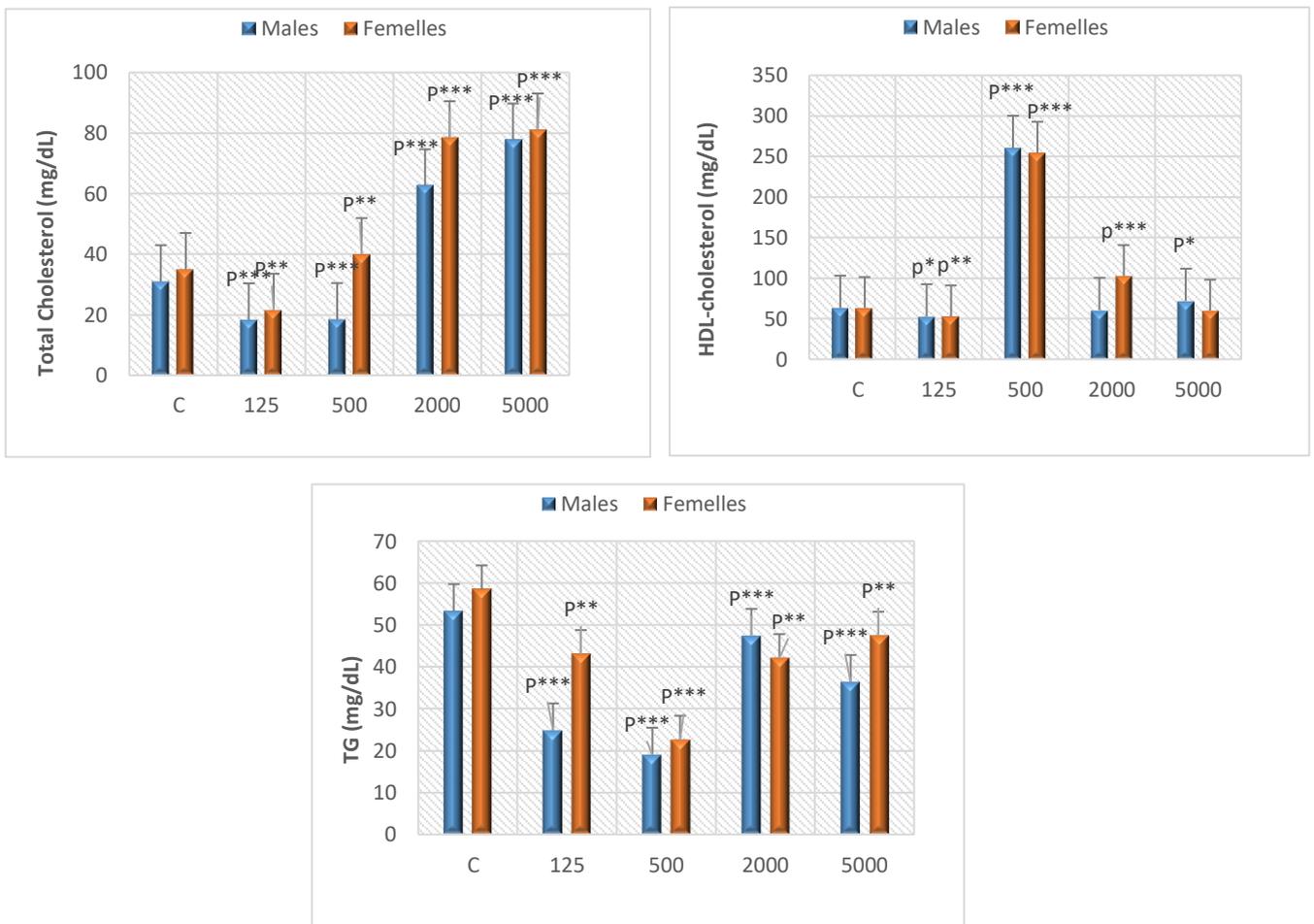


Figure 36. Evaluation de quelques paramètres lipidiques sérique chez les rats soumis à un test de toxicité aiguë

TG : triglycérides ; HDLc : Lipoprotéine de haute densité.

I.3.4. Détermination de glucose et protéines totales sériques

Notre étude a révélé un effet améliorant significativement à $P < 0,001$ et /ou $P < 0,01$ de la glycémie à faible dose chez les animaux traités par l'extrait des GO chez les deux sexes par rapport au groupe témoin. Néanmoins une augmentation significative est signalée at hautes doses. Pour les protéines totales une diminution significative est enregistrée à $P < 0,001$ et /ou $P < 0,01$ chez les deux sexes par rapport au groupe témoin (Figure 37, Tableau A 7 en annexes).

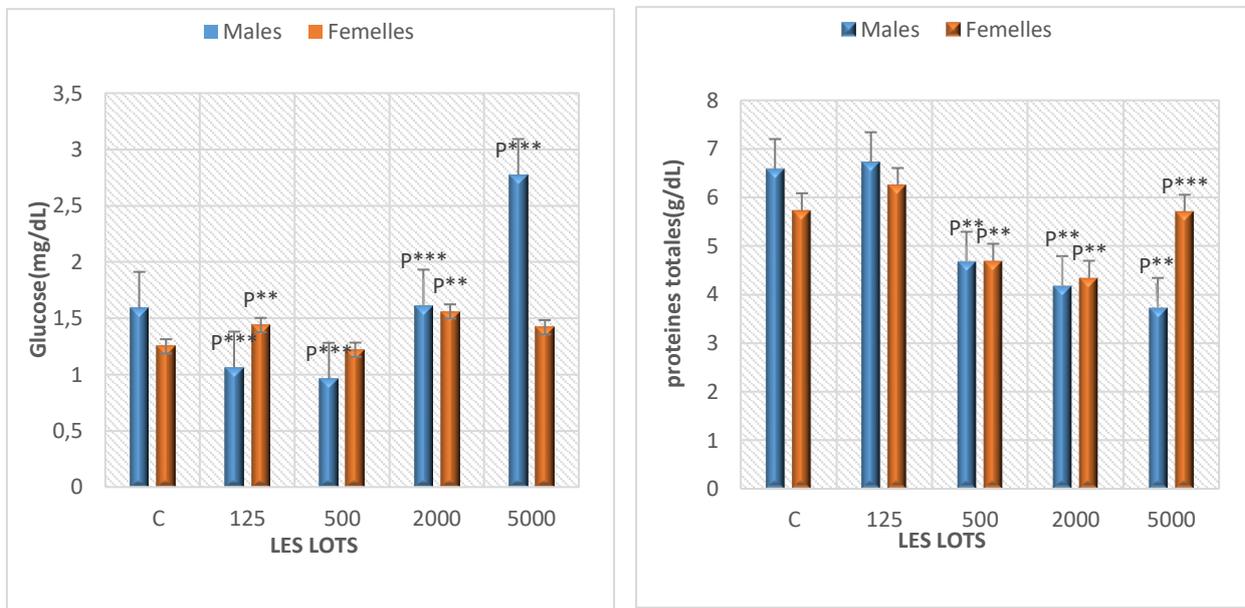


Figure 37. Evaluation de taux de glucose et protéines totales sériques chez les rats soumis à un test de toxicité aigüe

I.4. Évaluation des paramètres hématologiques

L'analyse des paramètres hématologiques n'a pas montré de différence significative dans l'hémogramme chez les deux sexes par rapport aux témoins. Pour l'HCT, une diminution significative ($p < 0,05$) à toutes les doses a été observée chez les mâles ; cette réduction était également significative chez les femelles à la dose de 2000 mg/kg par rapport aux témoins. Une modification significative ($p < 0,05$) de la MCH, de la MCHC, des GR, du HGB et des plaquettes a été observée à 2000 mg/kg et/ou 5000 mg/kg chez les mâles et les femelles par rapport aux témoins (Figure 38, Tableau A 8 en annexes).

Une augmentation du taux des, monocytes et neutrophiles à la dose de 2000 mg /kg de manière significative a été observé dans notre étude comparativement aux témoins.

Dans cette étude, aucune différence significative dans les niveaux de lymphocytes n'a été observée entre les rats femelles et les rats mâles.

Pour les globules blancs (GB) et les plaquettes, les mâles et les femelles ont montré une diminution significative ($p < 0,05$) à 2000 mg/kg par rapport au contrôle.

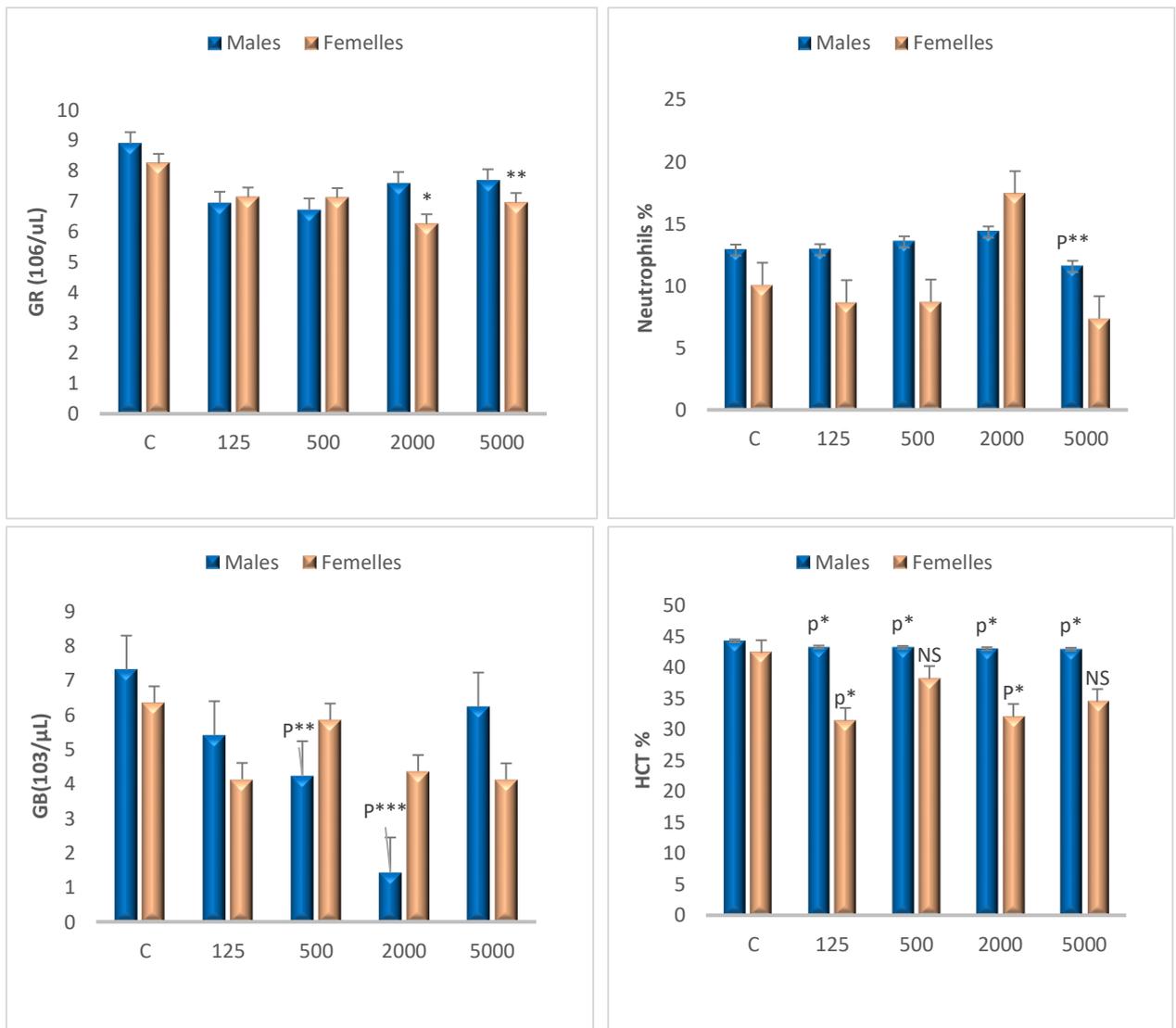


Figure 38. Evaluation de quelques marqueurs système immunitaire par analyse sérique chez les rats (mâles et femelles) soumis à un test de toxicité aiguë

RBC : globules rouges ; WBC : globules blancs ; HGB : hémoglobine ; MCV : volume corpusculaire moyen ; MCH : hémoglobine corpusculaire moyenne ; MCHC : concentration d'hémoglobine corpusculaire moyenne ; HCT : hématocrite ; VGM : volume globulaire moyen.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. * : différence significative à $P < 0,05$; *** : différence très significative à $P < 0,001$, ** : différence très significative à $P < 0,01$. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

1.5. L'examen histopathologie

Les histologies de différents organes, notamment du foie (Figure 39), du rein (Figure 40) et du tissu adipeux (Figure 41), n'ont révélé aucune anomalie chez les rats du groupe témoin (Figure A). De même, les rats traités avec des doses de 125 (Figure B), 500, 2000 et 5000 mg/kg (Figure C, D et E) ont présenté une architecture morphologique normale dans le foie, les reins et le tissu adipeux par rapport au groupe témoin, comme observé sur les photomicrographies.

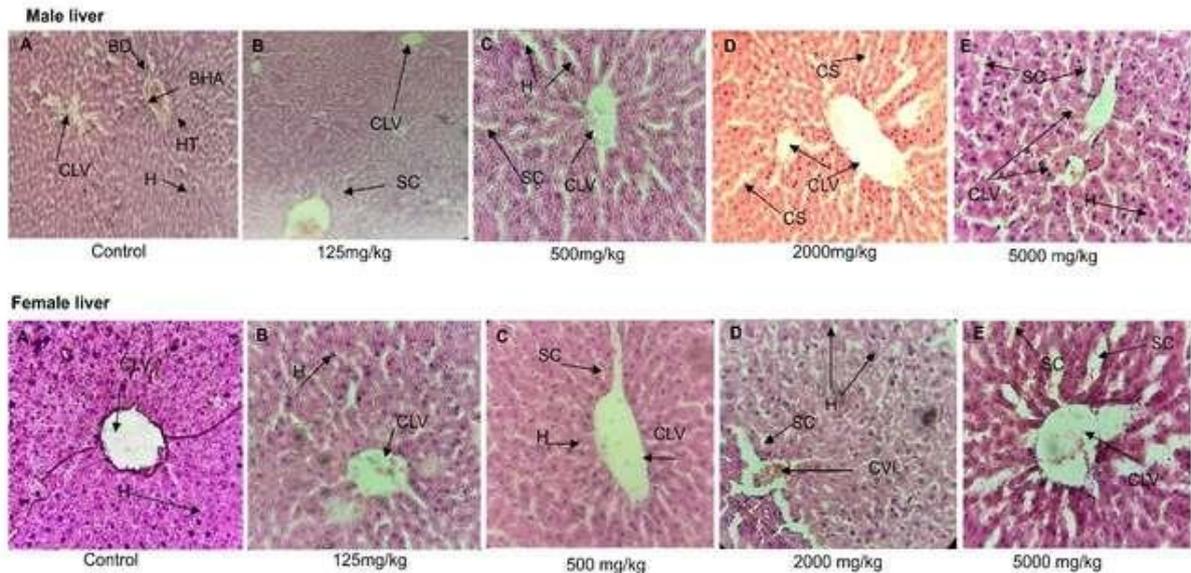


Figure 39. Photographies de l'histologie des foies de rats femelles et mâles traités (B, C, D et E) avec (125, 500, 2000 et 5000 mg/Kg pc) de l'extrait d'hydro-éthanolique des grignons d'olive, comparées à l'histologie d'un groupe témoin (A) traité avec une solution saline

CLV : veine centro lobulaire ; H : hépatocytes ; SC : capillaires sinusoidaux ; HT : triade hépatique ; BHA : branche de l'artère hépatique ; BD : canal biliaire ; Les hépatocytes (H), la veine centro lobulaire (CLV), la triade hépatique (HT) et les capillaires sinusoidaux (SC) étaient tous présents dans le segment hépatique et avaient un aspect banal. Il n'y avait pas de symptômes visibles d'inflammation, le parenchyme hépatique était préservé et ordonné, et l'espace porte hépatique semblait normal. Aucune différence morphologique n'a été observée pour les doses de 125 mg/kg du poids corporel (B), 500 mg/kg du poids corporel (C), 2000 mg/kg du poids corporel (D), 5000 mg/kg du poids corporel (E) par rapport au contrôle, quel que soit le sexe.

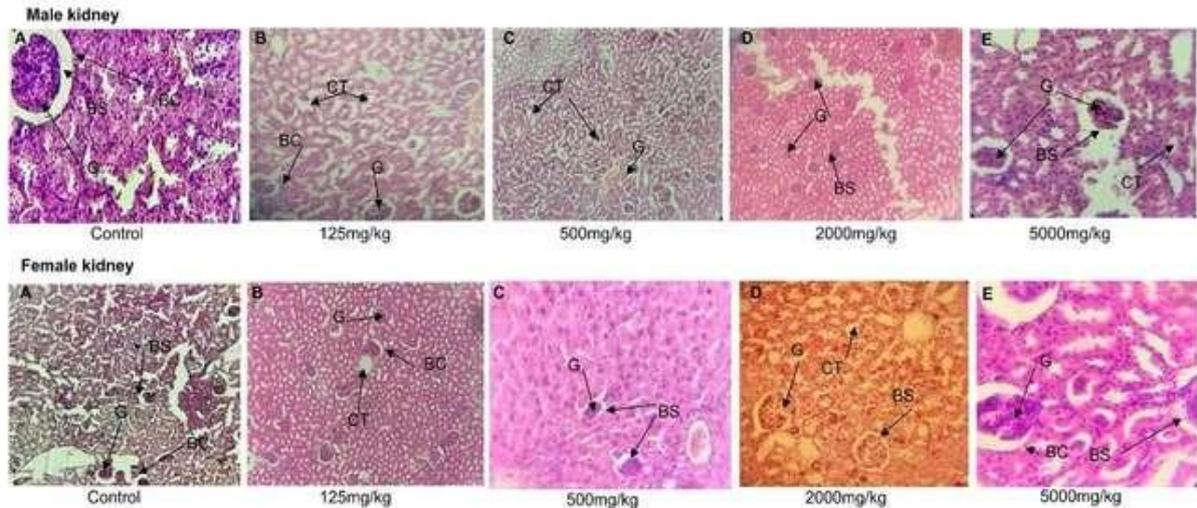


Figure 40. Photographies de l'histologie des reins de rats femelles et mâles traités (B, C, D et E) avec (125, 500, 2000 et 5000 mg/Kg BW) d'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive comparé à l'histologie d'un groupe témoin (A)

G : Glomérules rénaux ; CT : Tube Convoluté ; BC : Capsule de Bowman ; BS : Espace de Bowman ; Contrôle (A) et groupes (B, C, D, et E) traités avec (125, 500, 2000, et 5000 mg/kg BW) ne montrant aucune différence dans la morphologie des glomérules (G), dans le Tube Convoluté (CT), la capsule de Bowman (BC), et l'espace de Bowman (BS) par rapport aux contrôles (A) groupe traité avec une solution saline pour les deux sexes.

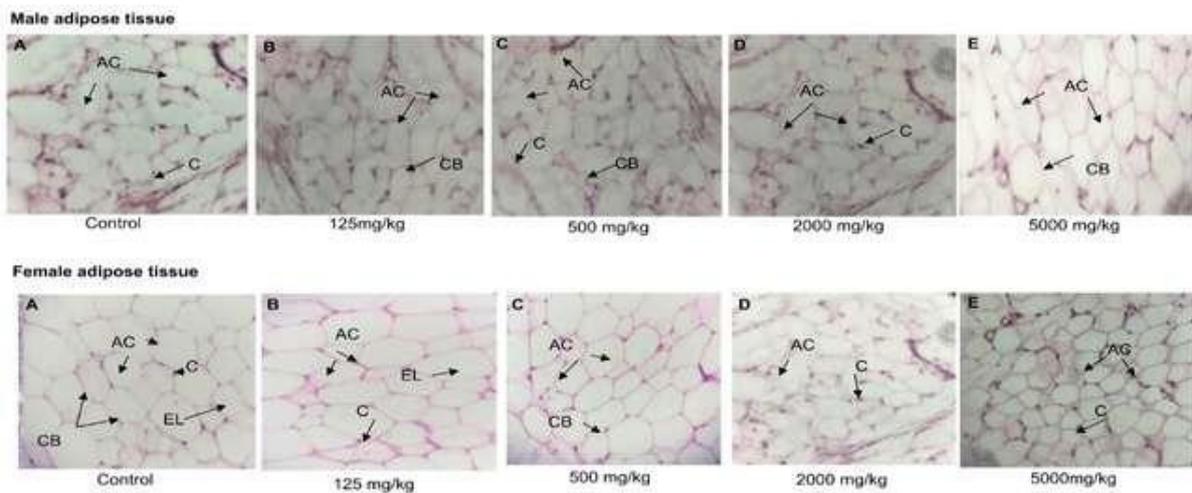


Figure 41. Photographies de l'histologie du tissu adipeux de rats femelles et mâles traités (B, C, D et E) avec (125, 500, 2000 et 5000 mg/Kg pc) de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive, comparées à l'histologie d'un groupe témoin (A) traité avec une solution



Chapitre IV

Discussion



I. Test de toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive

La toxicité aiguë est considérée comme une étude indispensable et préliminaire pour déterminer le degré d'activité métabolique et toxicologique afin de fournir des informations plus précises sur les composés de notre extrait étudié (**Ukwani et al., 2015**). Par conséquent, dans ce but, nous avons procédé à l'examen de la toxicité potentielle de l'extrait en utilisant des modèles animaux *in vivo*. Le test de toxicité aiguë de l'extrait hydro-éthanolique administré par voie orale en doses uniques allant de 125 à 5000 mg/kg n'a entraîné aucun décès et aucun signe de toxicité tout au long de notre étude. L'absence de signes toxiques dans ces études suggère une faible toxicité aiguë d'utilisation et Conformément au système de classification harmonisé des produits chimiques et des mélanges de l'OCDE, les substances administrées entre 2000 et 5000 mg/kg du poids corporel sont considérées comme relativement non classées ou classées dans la classe 5 (**Organisation pour le développement économique, 2001**). Sur la base des résultats, il est possible de conclure que la DL₅₀ orale de l'EHE provenant des grignons d'olive est supérieure à 5000 mg/kg et semble varier en fonction du solvant d'extraction.

En revanche ce test de toxicité aiguë appliqué sur des rats mâles et femelles a révélé une différence de réponses aux fortes doses de l'extrait des GO. Il existe de nombreuses preuves dans la littérature scientifique montrant cette discrimination entre les deux sexes dans le dépistage de la toxicité d'une substance (**Czerniak et al., 2001 ; Sikiru et al., 2014 ; Kadekar et al., 2012**), qui peut être due à plusieurs facteurs physiologiques, métaboliques et pharmacocinétiques (**Balogun et al., 2014 ; Vandjiguiba Diaby, 2020**).

Le poids corporel revêt une importance cruciale pour obtenir des informations préliminaires sur la substance étudiée. Le gain du poids corporel a été utilisé comme indicateur de l'état de santé général des animaux de laboratoire. L'augmentation significative du poids chez les mâles par rapport à leur poids initial sur l'ensemble de la période expérimentale, en comparaison avec les femelles qui n'ont montré qu'un léger gain du poids tout au long de l'expérimentation par rapport à leur poids corporel initial, suggère que notre extrait a favorisé la prise du poids chez les rats mâles par rapport aux femelles.

Concernant le poids relatif des organes, une légère modification dans le poids de certains organes est observée, pouvant être attribuée à l'activité protectrice potentielle de l'extrait ou à un manque de prolifération cellulaire, entraînant une diminution du poids de ces organes par rapport aux contrôles. Ce travail présente des similitudes avec d'autres travaux réalisés par **Kouadio et al. (2022)** et **Ozturk et al. (2009)** dans l'évaluation de la toxicité de leurs extraits. Par ailleurs, des modifications dans les paramètres sanguins révèlent quelques différences entre les rats mâles et femelles (**Park et al., 2019**). Le foie et les reins sont des organes importants

pour le métabolisme, la détoxification et l'excrétion des produits chimiques et de leurs métabolites (Al-gehan, 2013 ; Bilbao-Meseguer, 2018). L'alanine aminotransférase ou la glutamyl-pyruvate-transaminase (ALT = GPT) est une enzyme spécifique du tissu hépatique présente principalement dans les hépatocytes, en faisant un marqueur spécifique des lésions hépatocellulaires. Bien que les valeurs d'ALT soient généralement plus élevées chez les mâles que chez les femelles, c'est un marqueur fiable et sensible des maladies du foie (Park et al., 2020).

L'aspartate aminotransférase sérique (AST) ou la glutamate-oxaloacétate transaminase sérique (SGOT) possède deux isoformes : cytoplasmique et mitochondriale. Des lésions cellulaires graves peuvent entraîner la libération de l'AST mitochondriale, présente principalement dans le cœur, le foie, le pancréas, et les muscles (Al-Khayri et al., 2022 ; Kim et al., 2021).

Dans la plupart des maladies du foie, le rapport AST/ALT, ou rapport de Ritis, est inférieur à 1,5. Cependant, en cas d'hépatite chronique, il est supérieur ou égal à 1,5. Toute agression du foie peut entraîner une augmentation du taux sérique de ces enzymes (Yang et al., 2019). Dans notre étude, une augmentation significative des AST et ALT a été constatée chez les rats aux doses élevées et à la dose de 500 mg/kg. Ces effets toxiques dépendants de la dose mettent en évidence les dangers d'une utilisation excessive de l'extrait pour la santé. À l'inverse, une diminution significative de ce paramètre a été enregistrée à faibles doses pour les deux sexes. En revanche, l'examen histopathologique n'a révélé aucun effet toxique sur les organes des animaux. Cette observation suggère que l'extrait n'a pas induit de modifications structurales dans ces tissus vitaux, malgré la présence d'enzymes hépatiques élevées chez les rats expérimentés.

Alors que les taux d'ALT et d'AST décrivent l'intégrité cellulaire du foie, les taux de protéines totales reflètent également sa fonctionnalité. Une diminution sérique des protéines totales chez les rats mâles et femelle indique une réduction de la fonction synthétique, souvent associée à des dommages ou à des maladies du foie. Cependant, l'histologie du foie chez les rats mâles et femelles n'a pas montré de changements structurels dans l'architecture du foie, suggérant ainsi que l'extrait n'est pas toxique pour ce tissu. On peut donc en déduire qu'il s'agit d'une perturbation de la fonction hépatique à la suite d'un surdosage aux doses les plus élevées de l'extrait. La diminution de taux du cholestérol et de triglycérides (TG), et l'amélioration de taux de lipoprotéines de haute densité (HDL-c) chez les mâles que chez les femelles, à faibles doses suggère l'effet hypolipidémique d'extrait des GO. Ces résultats sont en accord avec ceux de Sherazede et al. (2015). L'effet hypolipidémique des grignons d'olive pourrait être lié à leur richesse en métabolites secondaires, largement reconnus comme un facteur de protection

crucial contre les risques cardiovasculaires (**Amrane et al., 2018**). Les niveaux élevés de ce paramètre sont associés à une réduction de la synthèse des acides biliaires. Sa fonction première est de faciliter le transport inverse du cholestérol (**Triguin et al., 2023**) Notre étude a révélé un effet améliorant de la glycémie à faible dose chez les animaux traités par l'extrait des GO par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Cherrad et al. (2020)**. L'activité hypoglycémique de l'extrait des GO peut être attribuée à la présence de molécules bioactives telles que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, qui sont associées à la régulation du transporteur de glucose 4 (GLUT4), à la potentialisation de la libération d'insuline, à la modulation de l'homéostasie redox, et au maintien de la physiologie des cellules bêta contre le stress oxydatif. Ceci est en accord avec d'autres études démontrant le rôle hépato-protecteur de l'huile d'olive et des sous-produits de l'olive contre les changements pathologiques (toxicité, inflammation) (**Peyrol et al., 2018**). Un niveau élevé d'urée reflète non seulement le fonctionnement rénal et hépatique, mais aussi l'apport en protéines alimentaires. Cependant, l'urée n'est pas très spécifique et ne permet pas à elle seule d'explorer la fonction rénale. Une urémie élevée pourrait être associée à la production d'espèces réactives de l'oxygène (**Poontawee et al., 2016**). La créatinine est filtrée passivement dans les reins. Elle est un bon indicateur de l'intégrité glomérulaire. La mesure de la créatinine dans le sang permet d'évaluer plus précisément que l'urée la capacité d'excrétion des reins (**Diaby Vandjiguiba Yapo et al., 2017**).

L'augmentation de l'urémie et la diminution de la créatinine signalées dans notre résultat peut ne pas être liée à un dysfonctionnement rénal, comme peut être un signe d'une faible masse musculaire (**Almi, 2010**). L'histologie des reins n'a présenté aucun changement structural dans ces organes chez les rats par rapport au contrôle, ce qui confirme l'innocuité de l'extrait pour ce tissu vital. L'hémogramme nous a permis de révéler certains marqueurs de système immunitaire qui peuvent diagnostiquer l'état toxique et inflammatoire chez les rats. Pour l'HCT, une diminution chez les mâles et les femelles à la dose de 2000 mg/kg par rapport aux témoins. Une modification significative ($p < 0,05$) de la MCH, de la MCHC, des GR, du HGB et des plaquettes a été observée à 2000 mg/kg et/ou 5000 mg/kg chez les mâles et les femelles par rapport aux témoins. Ce résultat suggère la présence d'une anémie légère, induite soit par une hémolyse à la suite d'une surdose de l'extrait administré (**Diaby Vandjiguiba Yapo et al., 2017**). Ils ont été comparés à des études de toxicité antérieures (**Shata et al., 2014**) ainsi qu'à une petite comparaison avec les travaux de **Gomez et al. (2012)**. Cette relation peut être attribuée à l'effet hémolytique de l'extrait, conduisant à la destruction des globules rouges et à une réduction de leur synthèse. En conséquence, les rats traités présentent une diminution du

poids de la rate et une augmentation du poids du foie par rapport aux témoins selon **Gabol et al. (2014)**. Le foie et la rate sont toujours les organes cibles de l'érythropoïèse, et toute diminution de leur poids est une réaction de défense contre une éventuelle intoxication.

Les lymphocytes sont des cellules dynamiques qui assurent la médiation des réponses immunitaires aux substances étrangères. Dans cette étude, aucune différence significative dans les niveaux de lymphocytes n'a été observée entre les rats femelles et les rats mâles. Ce résultat suggère l'absence d'effets immunostimulants ou de signes d'inflammation causés par notre extrait. Pour les globules blancs (GB) et les plaquettes, les mâles et les femelles ont montré une diminution significative ($p < 0,05$) à 2000 mg/kg par rapport au contrôle. Dans une étude réalisée par **Gabol et al. (2014)**, dans le cadre de l'étude de la toxicité de la substance, il a été constaté que les globules blancs subissaient une diminution significative chez les mâles, mais pas chez les femelles, à une dose de 2 000 mg/kg. Cette leucopénie est due à l'augmentation des défenses de l'organisme contre l'intoxication, entraînant une diminution du nombre de leucocytes. Cependant, les femelles ont montré une augmentation des taux de neutrophiles à la même dose, considérée comme une réaction de l'organisme contre un agent infectieux ou une substance étrangère. Cette augmentation ne s'accompagne d'aucune modification clinique ou histopathologique dans l'analyse histologique des organes vitaux étudiés.

La seule différence notable a été observée au niveau des cellules adipeuses des femelles, moins développées dans les groupes traités à fortes doses par rapport aux cellules adipeuses des mâles et du témoin. Cette différence peut être attribuée à la diminution du poids corporel précédemment observée chez les femelles (**Sindete et al., 2019 ; Goossens et al., 2011**). Des résultats similaires ont été obtenus avec **Koudou, (2019)**.

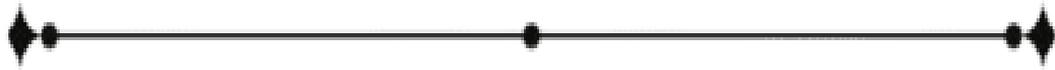
Les résultats obtenus par **Badi et al. (2022)** ont révélé des altérations de certains paramètres hématologiques et biochimiques, ainsi que des modifications histologiques des tissus rénaux et hépatiques, à une dose de 500 mg/kg lors de l'utilisation d'un extrait méthanolique des grignons d'olive dans une étude de toxicité subaiguë.

Cependant, dans le test de cytotoxicité, d'anti-hémolyse et d'anti-inflammation, ils ont découvert que l'extrait méthanolique était plus toxique que l'extrait hydro-éthanolique. Une autre étude a démontré que l'extrait hydro-éthanolique était meilleur que l'extrait méthanolique pour obtenir des niveaux élevés de polyphénols et d'autres composés bioactifs, présentant ainsi des capacités antioxydantes très élevées (**Suharni et al., 2021 ; Machado-Carvalho et al., 2023**).

Conclusion

L'administration orale de doses allant jusqu'à 2000 et 5000 mg/kg du poids corporel n'a pas provoqué de toxicité aiguë, et les valeurs de la DL_{50} ont montré qu'elle dépassait 5000 mg/kg du poids corporel. Aucun effet indésirable sur le comportement n'a été observé. L'extrait a un effet positif sur la glycémie, le cholestérol et les taux de triglycérides à faibles doses et stimule une croissance pondérale plus significative chez les mâles que les femelles. Cependant, à des doses > 500 mg/kg du poids corporel, l'extrait induit une légère perturbation des fonctions hépatiques et rénales, comme l'indiquent les changements dans les paramètres hématologiques et biochimiques. L'étude histologique des différents organes n'a pas révélé de lésions tissulaires.

Les tests de toxicité aiguë et de cytotoxicité nous ont permis d'évaluer les effets nocifs potentiels de l'extrait sur la santé des organismes, en particulier à des doses élevées. Les résultats obtenus nous ont assuré que l'extrait, à certaines doses, ne présente pas de risques létaux ou graves pour la santé. Cela nous a permis de mettre en œuvre notre protocole pour induire un diabète expérimental chez des rats Wistar, de les traiter avec notre extrait, et de nous assurer de la sécurité des animaux de l'étude. Cela a également contribué à optimiser le protocole de traitement et à se conformer aux normes éthiques et réglementaires. Il est important de souligner l'importance de ces résultats. Néanmoins, des études complémentaires approfondies seront nécessaires pour valider cette première preuve et déterminer les composants actifs responsables de son mécanisme cellulaire et moléculaire. Il est important de souligner que la recherche sur les grignons d'olive est en pleine expansion et que des essais cliniques supplémentaires sont requis pour corroborer ses bienfaits sur la santé humaine.



Partie IV

Évaluation des effets
biologiques de l'extrait hydro-
ethanolique et de la fraction
aqueuse des GO





Chapitre I

Synthèse bibliographique



I. L'hémolyse : Définition, causes et conséquences

I.1. Définition

Le processus d'hémolyse implique la destruction irréversible des globules rouges, libérant leur contenu cellulaire, notamment l'hémoglobine, dans le plasma sanguin. Cela peut être causé par divers facteurs tels que des agents physiques, chimiques ou biologiques. Si non contrôlée, l'hémolyse peut entraîner des conséquences et des complications graves (Vidhya., 2015).

I.2. Conséquences

Si les mécanismes de protection innés ne parviennent pas à neutraliser les complications de l'hémolyse, plusieurs voies inflammatoires peuvent être activées. L'hème, une molécule libérée par les globules rouges détruits, joue un rôle crucial dans ce processus en déclenchant la signalisation des récepteurs de type Toll et la formation de pièges extracellulaires pour les neutrophiles. D'autres molécules puissantes, telles que les protéines de choc thermique (HSP), peuvent également être libérées et contribuer à l'inflammation.

La destruction des globules rouges par l'hémolyse peut entraîner des complications graves : anémie, hémoglobinémie, insuffisance rénale et choc hémolytique. L'anémie résulte de la diminution du nombre de globules rouges, tandis que l'hémoglobinémie c'est la libération d'hémoglobine dans le plasma qui peut endommager les reins et l'insuffisance rénale. Enfin, le choc hémolytique représente une chute brutale de la pression artérielle mettant la vie en danger.

I.3. Facteurs influençant le degré d'hémolyse

Le degré d'hémolyse est influencé par des facteurs intracellulaires et extracellulaires (Aguilar, 2007). Parmi les facteurs intracellulaires, on trouve l'état de la membrane des globules rouges, les altérations génétiques ou chimiques pouvant fragiliser la membrane et augmenter le risque d'hémolyse. De plus, les dysfonctionnements dans le métabolisme énergétique des globules rouges peuvent les rendre plus vulnérables. Enfin, les mutations ou modifications chimiques de la structure de l'hémoglobine peuvent favoriser la précipitation et donc l'hémolyse.

Cependant, dans les facteurs extracellulaires, on trouve les composants du plasma : des déséquilibres électrolytiques, la présence de toxines ou d'agents infectieux peuvent fragiliser les globules rouges, favorisant l'hémolyse. De plus, le système mononucléophagocytaire, responsable de l'élimination des globules rouges vieillissants ou endommagés, peut dysfonctionner, augmentant ainsi le risque d'hémolyse en entraînant l'accumulation de globules rouges altérés dans la circulation.

Il est important de différencier l'hémolyse physiologique de l'hémolyse pathologique ou hyperhémolyse, liée à des altérations des trois facteurs vitaux pour les globules rouges : la

membrane érythrocytaire, le métabolisme énergétique et le contenu hémoglobinique (Lippi et al., 2011 ; Dahmani et al., 2016).

I.4. Rôle des globules rouges dans l'hémolyse

Les globules rouges (GR), également appelés hématies ou érythrocytes, sont les cellules les plus abondantes dans la circulation sanguine. Leur rôle principal est de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus et d'éliminer le dioxyde de carbone. Le nombre de GR varie selon l'âge, le sexe et l'altitude (Gwalter, 1992). La membrane érythrocytaire est composée d'une double couche lipidique avec diverses protéines associées, dont certaines expriment des déterminants des groupes sanguins (Manaargadoo-catin et al., 2016). En cas de milieu hypotonique, une diminution de la concentration de NaCl dans le plasma par rapport aux GR peut déclencher l'hémolyse (Guilaum., 2007).

Les globules rouges jouent un rôle vital dans le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone. Leur intégrité est essentielle pour maintenir l'équilibre homéostatique (Guilaum., 2007).

I.5. L'Oxydation érythrocytaire et son lien avec l'hémolyse

L'oxydation érythrocytaire, impliquant des métaux et des radicaux libres, joue un rôle crucial dans l'hémolyse, la destruction des globules rouges (Figure 42). Les métaux tels que le cuivre et le fer catalysent la production de radicaux libres via la réaction de Fenton, endommageant ainsi la membrane et les protéines des GR. La peroxydation lipidique, issue de cette réaction en chaîne, altère la structure des lipides membranaires, entraînant une perte de perméabilité, une modification du potentiel membranaire, et l'inactivation d'enzymes et de récepteurs (Ercal et al., 2001 ; Tweeddale et al., 2007). Ce processus induit des changements structuraux dans les membranes biologiques ou d'autres éléments contenant des lipides, entraînant une perte de perméabilité et de potentiel membranaire, ainsi qu'une inactivation de récepteurs et d'enzymes membranaires.

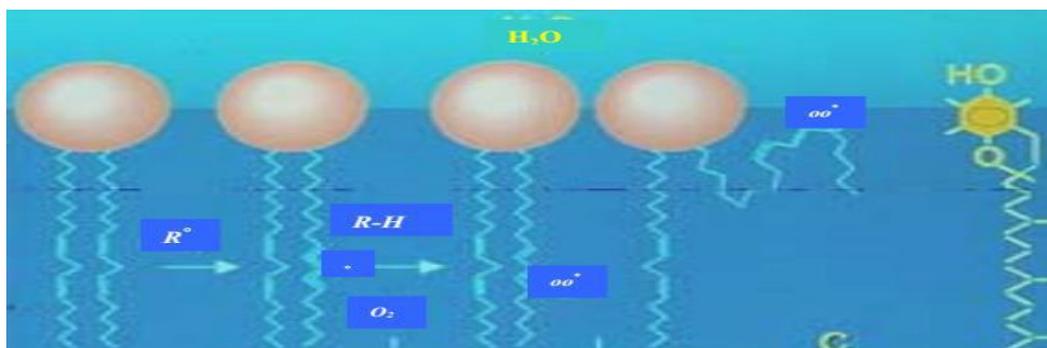


Figure 42. Destruction membranaire par attaque des ERO (Pincemail & Defraigne, 2003)

Les globules rouges sont fréquemment utilisés pour évaluer l'action hémolytique et la toxicité en raison de leur disponibilité et de leur facilité de surveillance de la lyse cellulaire (Situ et Bobek, 2000). Cette lyse peut entraîner une oxydation de l'hémoglobine et de la membrane érythrocytaire, les rendant sensibles aux radicaux libres (Wright RO., 1999 ; Situ et Bobek, 2000). Le peroxyde d'hydrogène est couramment employé pour évaluer l'activité anti-hémolytique, induisant la dégradation de la membrane et la libération d'hémoglobine (Tiwari et al., 2011). Ce processus mobilise le Fe^{2+} via la réaction de Fenton, produisant des radicaux hydroxyles (Kupier Goodman et Scott, 1989). L'oxydation continue de l'hémoglobine peut altérer sa capacité à transporter l'oxygène, entraînant la formation de méthémoglobine et de corps de Heinz (Liao YP et al., 2002 ; Liao YP et al., 1999 ; Houston DM, Myers SL, 1993)

I.6. Les anti-hémolytiques

Le traitement des anémies hémolytiques implique de cibler les causes sous-jacentes avec divers médicaments anti-hémolytiques tels que l'acide folique, les compléments de fer, les corticoïdes et les suppléments de vitamine B (Ventaka et al., 2016). De plus, la recherche de nouvelles substances anti-hémolytiques d'origine végétale est également en cours (Ventaka et al., 2016). Les anti-hémolytiques, y compris l'acide folique, les compléments de fer, la vitamine B12 et les corticoïdes, retardent ou inhibent la lyse des globules rouges (Bachhy et al., 2015).

Pour maintenir l'intégrité de la membrane érythrocytaire, divers mécanismes physiologiques régulent le passage des électrolytes à travers la membrane, notamment la pompe Ca^{2+} -ATPase (Vanduijin et al., 2001).

Les globules rouges sont exposés aux espèces réactives d'oxygène (Figure 43), et pour contrer ce stress oxydatif, l'érythrocyte utilise des complexes enzymatiques tels que le PMRS et l'AFR réductase (Rizvi et al., 2009 ; Vanduijin et al., 2001).

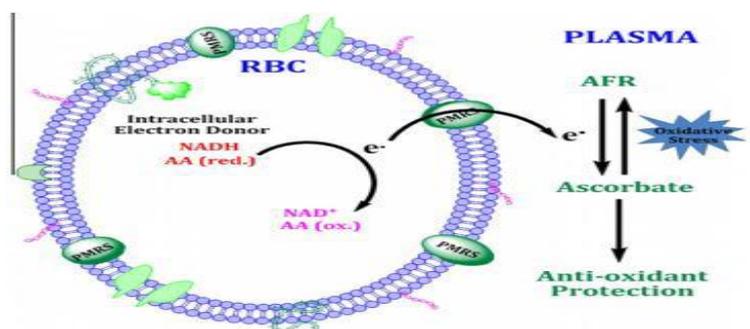


Figure 43. Représentation schématique du fonctionnement du système redox de la membrane plasmique (PMRS), AA-ascorbic acide (Rizvi et al., 2011)

I.7. Action anti-hémolytique des polyphénols

De nombreuses études ont examiné les propriétés bénéfiques des polyphénols et des flavonoïdes présents dans les extraits de plantes et certains coproduits, les identifiant comme ayant des propriétés antioxydantes et anti-hémolytiques (**Devjani et Barkha, 2011 ; Tay-yaba, 2016 ; Belkhir, 2017**). Bien que le mécanisme d'action de ces composés ne soit pas totalement compris, des recherches suggèrent qu'ils peuvent prévenir les dommages oxydatifs et réguler divers processus cellulaires en interagissant avec des protéines cibles (**Nijveldt et al., 2001 ; M. Zhu & Fahl, 2001**). Des études ont montré que les érythrocytes prétraités avec ces composés résistent à l'oxydation des lipides et à l'hémolyse induite par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Manna et al., 1999**). Par exemple, l'hydroxytyrosol protège contre l'altération du transport des acides aminés induite par le H₂O₂ dans les érythrocytes. Ces composés phénoliques, tels que l'hydroxytyrosol et l'acide vanillique, ont démontré des activités antioxydantes importantes, ce qui pourrait contribuer à prévenir les déformations des érythrocytes et l'hémolyse (**Van Dyke, 1996 ; Owen, 2000**).

II. L'activité anti inflammatoire

L'inflammation est une réponse complexe et essentielle du système immunitaire face à une agression. Elle joue un rôle crucial dans la défense de l'organisme contre les agents pathogènes, les blessures et les irritants. Cependant, une inflammation excessive ou non contrôlée peut devenir nuisible et causer des dommages aux tissus.

II.1. L'inflammation : c'est quoi ?

L'inflammation est le mécanisme naturel de défense de notre corps contre une multitude d'agressions, qu'il s'agisse de substances chimiques nocives, d'infections microbiennes, de blessures ou de polluants environnementaux. Elle se caractérise par une série de changements physiologiques et cellulaires coordonnés visant à éliminer l'agent pathogène, à réparer les tissus lésés et à rétablir l'homéostasie (**Muster, 2005**). Cette réponse s'articule autour de signes cardinaux bien connus : rougeur, chaleur, gonflement et douleur. Elle s'arrête lorsque les agressions disparaissent. (**John et al., 2021**).

II.2. Les acteurs de l'inflammation

L'inflammation débute par une phase de reconnaissance impliquant des cellules sentinelles de l'immunité innée, telles que les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes T et B ainsi que des protéines circulantes comme les anticorps, les protéines du complément et le facteur de Hageman (**John et al., 2021**). Ces cellules et protéines reconnaissent des motifs moléculaires spécifiques présents sur les agents pathogènes, les cellules endommagées ou les substances étrangères, déclenchant ainsi la cascade inflammatoire.

Cette cascade implique une séquence complexe et variable d'interactions entre diverses cellules et médiateurs inflammatoires (**John et al., 2021**). Parmi les médiateurs clés, on trouve les prostaglandines et les cytokines, qui sont produites par différents types cellulaires et exercent des effets multiples sur d'autres cellules, régulant parfois leur propre production par rétroaction. Les cytokines dont les plus connues sont l'anti-TNF, l'interleukine 1 et 6. Ces cytokines sont fabriquées par les cellules impliquées dans la défense contre l'inflammation. Leur rôle est de servir de messenger c'est-à-dire de transporter un message à distance et d'aider dans l'élimination de l'agresseur (**Muster, 2005**).

II.3. L'inflammation : une symphonie complexe en deux temps

Cette réponse complexe se déroule en deux actes distincts et complémentaires, chacun jouant un rôle crucial dans la lutte contre les agressions et la restauration de l'homéostasie.

Le premier acte, l'inflammation aiguë, est décrit comme une réponse rapide orchestrée par les macrophages, déclenchée dès la détection d'un agent pathogène ou d'une blessure. Cette phase est caractérisée par la libération de divers messagers chimiques, entraînant les signes classiques de l'inflammation : rougeur, chaleur, gonflement et douleur. Ces manifestations sont présentées comme des mécanismes essentiels visant à augmenter le flux sanguin vers la zone affectée, isoler l'infection et signaler la présence d'un problème à l'organisme.

Dans l'acte II de cette symphonie inflammatoire, l'accent est mis sur l'inflammation chronique, une phase indispensable après l'inflammation aiguë. Cette étape, dirigée par les macrophages M2 et des médiateurs anti-inflammatoires, vise à éliminer les débris cellulaires, à réduire l'inflammation et à stimuler la cicatrisation. Un passage fluide de l'inflammation aiguë à la résolution est crucial pour rétablir l'homéostasie. Cependant, toute perturbation de ce processus peut entraîner une inflammation chronique, favorisant le développement de diverses maladies telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires et certains cancers (**Muster, 2005**).

II.4. Rôle de l'examen anatomopathologique au cours d'une réaction inflammatoire

L'étude histologique des tissus affectés par une inflammation révèle souvent des caractéristiques non spécifiques, rendant difficile la détermination de sa cause. Cependant, elle permet d'évaluer la nature aiguë ou chronique de l'inflammation et fournit des indications sur le pronostic, en se basant sur la gravité des dommages tissulaires et le risque de séquelles. Parfois, elle peut orienter vers la cause de l'inflammation, notamment dans les cas d'inflammations granulomateuses spécifiques ou lorsqu'un agent pathogène est identifiable au microscope.

L'examen histologique des tissus et organes comme le foie, les reins, le pancréas et le tissu adipeux révèle une gamme de signes inflammatoires cruciaux pour évaluer la nature et la gravité

de la réaction inflammatoire. Il permet d'analyser la taille et la distribution des adipocytes, le stockage des lipides, l'inflammation et la vascularisation. Ces signes, bien que parfois non spécifiques, jouent un rôle essentiel dans le diagnostic, le pronostic et l'orientation thérapeutique des patients atteints de réactions inflammatoires.

Parmi les signes inflammatoires courants, on trouve l'infiltration cellulaire, les altérations tissulaires, la microvascularite et la formation d'exsudats. Certains organes présentent également des signes spécifiques tels que la nécrose hépatocytaire, l'infiltration portale et les granulomes dans le foie, la glomérulonéphrite, l'infiltration interstitielle et la formation de croissants glomérulaires dans les reins, ainsi que l'infiltration périductale, la nécrose pancréatique et la fibrose pancréatique dans le pancréas. L'interprétation conjointe des signes histologiques avec les données cliniques et biologiques permet d'établir un diagnostic précis, d'évaluer le pronostic et de guider la prise en charge thérapeutique des patients souffrant de réactions inflammatoires.

5. Les anti-inflammatoires : des outils pour moduler la réponse inflammatoire

Les anti-inflammatoires : des outils pour moduler la réponse inflammatoire.

Face à une inflammation excessive ou chronique, les anti-inflammatoires représentent une classe de médicaments précieuse pour moduler la réponse inflammatoire et soulager les symptômes. On distingue deux grandes catégories : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes).

Les AINS agissent en bloquant la production de prostaglandines, réduisant ainsi la douleur, l'inflammation et la fièvre. Exemples : ibuprofène, naproxène, paracétamol. Cependant, les corticoïdes, ou anti-inflammatoires stéroïdiens, sont des médicaments qui agissent en se liant à un récepteur spécifique, réduisant ainsi la transcription des gènes pro-inflammatoires et stabilisant les membranes lysosomales. Ils sont puissamment anti-inflammatoires et immunosuppresseurs, mais leur utilisation comporte des risques d'effets secondaires importants, tels que la suppression de l'axe HPA, l'ostéoporose, l'hyperglycémie et un affaiblissement du système immunitaire. Exemples : cortisol, prednisone, bétaméthasone.



Chapitre II

Matériels et méthodes



Ce chapitre explore l'effet cytoprotecteur de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive brut et d'une fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés in vitro.

I. Préparation des extraits

Les extraits ont été préparés de manière similaire à celle du premier chapitre (étude phytochimique).

II. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRH)

Du sang humain frais a été prélevé chez des adultes dans des tubes héparinisés. Le sang a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes pour éliminer le plasma et les cellules polynucléaires. Ensuite, le culot de GRH a été lavé trois fois avec une solution isosaline. Après cette étape, le volume a été mesuré et reconstitué sous forme d'une suspension à 10 % (v/v) de GRH avec une solution isosaline, puis utilisé immédiatement.

III. Evaluation de test de cytotoxicité l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire des extraits des grignons d'olive

III.1. Test de cytotoxicité

Certains composés végétaux, tels que les saponines, peuvent s'avérer hémolytiques pour les globules rouges. Afin d'évaluer ce risque, nous avons étudié l'effet hémolytique d'extraits hydro-éthanoliques et de la fraction aqueuse des grignons d'olive sur des globules rouges, en suivant la méthode de **Bulmus et al. (2003)**. Des suspensions de globules rouges ont été incubées avec des solutions d'extraits végétaux à différentes concentrations. L'hémolyse a été évaluée en mesurant l'absorbance du surnageant à 540 nm, correspondant à la libération d'hémoglobine (Hb) par les cellules lysées. Le taux d'hémoglobine libérée a également été quantifié par spectrophotométrie colorimétrique. Ainsi, les globules rouges dans le NaCl 0,9 % sont considérés comme 0% d'hémolyse (contrôle négatif), tandis que ceux dans l'eau distillée sont considérés comme une hémolyse à 100 % (contrôle positif). De façon concrète, nous avons incubé un volume de 1,6 ml d'extraits et d'acide gallique (molécule de référence) avec un volume de 0,4 mL de la suspension de GRH (10%). Le mélange réactionnel a été incubé à 37°C pendant 30 min ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min et l'absorbance de l'Hb libérée a été mesuré à 560 nm. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Hémolyse} = (Ac - At / Ac) \times 100$$

Où :

Ac = Absorbance du contrôle ; At = Absorbance du test

III.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique

Le principe fondamental de cette méthode repose sur la capacité des extraits à prévenir l'hémolyse des globules rouges (GR) induite par l'hypotonie et la chaleur, et ainsi à empêcher la libération de l'hémoglobine. Ce test a été conduit selon le protocole décrit par (**Sadique et al., 1989 ; Oyedapo et al., 2010**).

Pour ce faire, 0,5 ml d'extrait des grignons d'olive (GO) ou d'acide gallique à diverses concentrations ont été mélangés avec 1,5 ml de tampon phosphate (0,9% NaCl, pH=7,4) et 2 ml d'une solution hypotonique saline (0,36% NaCl), puis incubés à 37°C pendant 20 minutes. Par la suite, 0,5 ml de la suspension de GR (10%) ont été ajoutés à chaque concentration, suivi d'une deuxième incubation à 56°C pendant 1 heure.

À la fin de l'expérimentation, les tubes ont été refroidis sous l'eau courante, puis soumis à une centrifugation à 2500 rpm pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Plus l'absorbance est élevée, plus l'hémolyse est importante. En parallèle, un contrôle a été effectué en remplaçant l'extrait par 0,5 ml de tampon phosphate. Le pourcentage de stabilité membranaire a été calculé en utilisant l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (Ac - At / Ac) \times 100$$

Où :

Ac = Absorbance du contrôle, At = Absorbance du test.

III.3. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines représente l'une des causes de l'inflammation, comme rapporté par **Williams et al. (2008)**. Diverses études ont examiné l'effet inhibiteur d'extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire in vitro en utilisant la méthode de dénaturation des protéines, comme détaillé par **Bouhlali et al. (2016)**. Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits des grignons d'olive, la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines, décrite par **Chandra et al. (2012)**, a été appliquée. Cette méthode implique la préparation de quatre solutions

1. La solution d'essai (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 5 % et 0,05 ml d'extrait avec une concentration de 250 pg/ml (test solution).
2. La solution control test (0,5 ml) composé de 0,45 mL de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distillé (test control).
3. La solution contrôle produit (0,5 ml) composé de 0,45 mL d'eau distillé et 0,05 ml d'extraits avec une concentration de 250 pg/ml (control).

4. La solution standard test (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 mL de la solution de standard dichlofénac sodium avec une concentration de 250 pg/ml (étalon).

Toutes les solutions au-dessus ont été ajustées à pH 6,3 par une solution d'HCl (1N).

Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée pour garder les échantillons à 57° pendant 3 min.

Après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution phosphate buffer saline (Ph=6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus. L'absorbance a été mesurée à 416 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé selon la formule suivante :

$$\%d'inhibition = 100 - [(DO\ solution\ test - DO\ control - / DO\ control\ test+) \times 100.$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparé avec le Diclofénac sodium (250ug/ml).

III.4. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (ET). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été réalisées par comparaison des variances (ANOVA) suivie de tests post hoc établis par Tukey. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $P < 0,05$, hautement significatives pour (***) $P < 0,001$, très significatives pour ** $P < 0,01$ et significatives pour * $P < 0,05$.



Chapitre III

Résultats et interprétations



I. Evaluation de test de cytotoxicité l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire des extraits des grignons d'olive

I.1. Test de cytotoxicité

L'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive présente un pourcentage d'hémolyse de 35,16% à la concentration de 1mg/mL d'extrait et de 12,59, 5,31 et 4,37% à la concentration de 0,5, 0,25 et 0,125 mg/mL respectivement. En revanche la fraction aqueuse présente également un pourcentage d'hémolyse comparable à celui de l'extrait hydro-éthanolique variant entre 34,3657 et 3,95% (Figure 44).

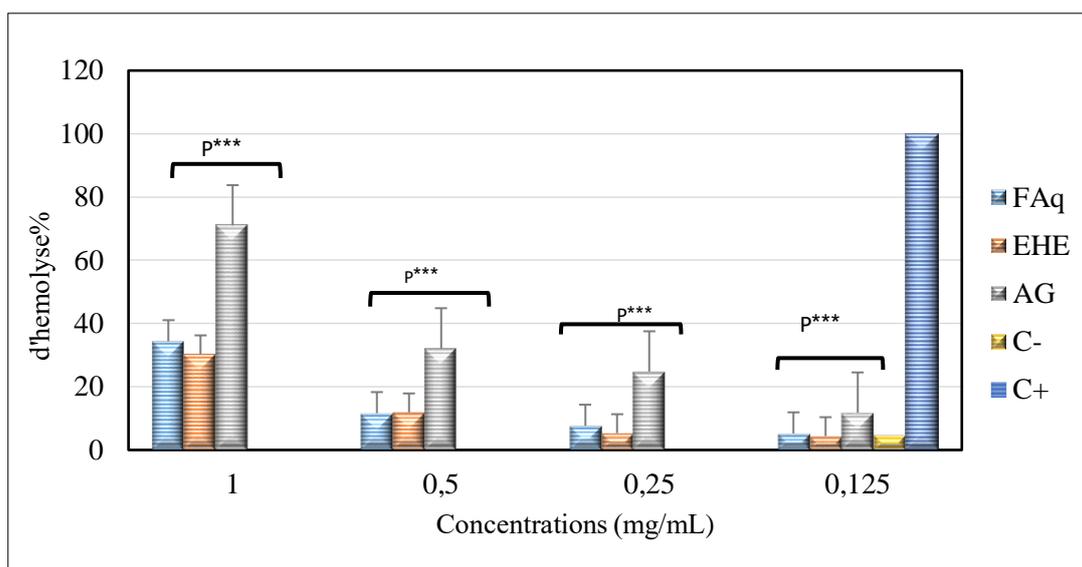


Figure 44. Pourcentage d'hémolyse dans la fraction aqueuse et l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive

FAq : fraction aqueuse ; EHE : extrait hydro-éthanolique ; AG : acide gallique ; C⁻ : control négatif ; C⁺ : control positive.

I.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique

L'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive brut présentait une activité anti-hémolytique de l'ordre de 63,93% à la concentration de 10µg/mL et qui allait jusqu'à 83,44% à la concentration de 300µg/mL, cependant pour la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés cette activité présentait un pourcentage qui varie entre 31,96 et 74,84% à la concentration de 10µg/mL et 300µg/mL respectivement. En comparaisant avec l'acide gallique qui présentait une activité anti-hémolytique de l'ordre de 26,31% à la concentration de 10µg/mL et qui allait jusqu'à 78,81% à la concentration de 75µg/mL mais cette activité a diminué jusqu'à 55,58% en augmentant la concentration à 300µg/mL (Figure 45).

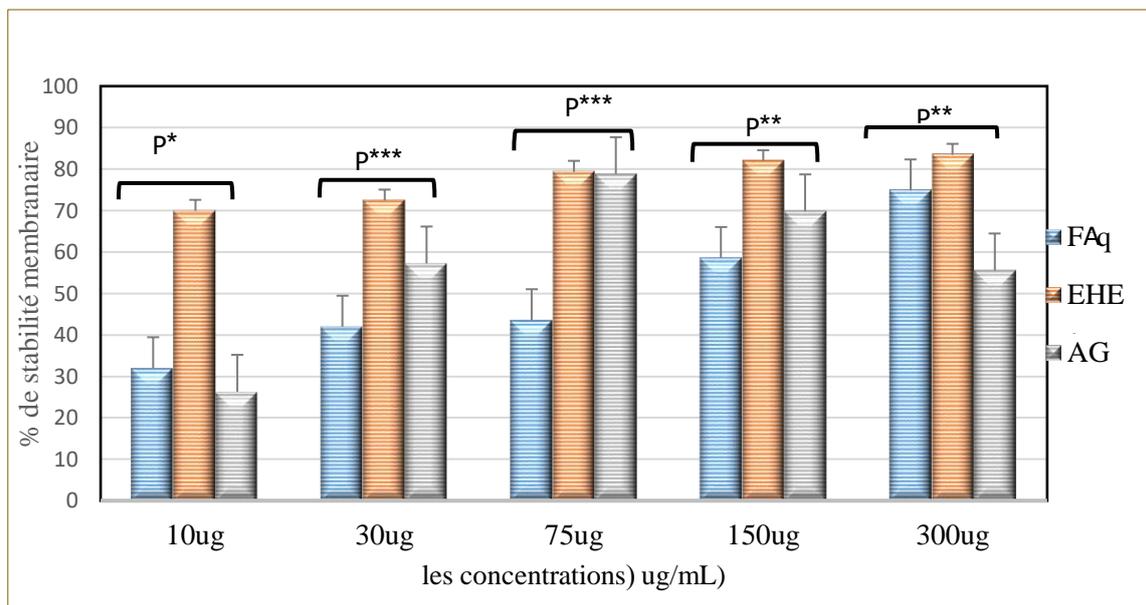


Figure 45. L'activité anti hémolytique de l'extrait hydro-éthanolique et de la fraction aqueuse des grignons d'olive comparé à l'acide gallique

I.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive brut exerce une activité anti-inflammatoire de l'ordre de 61,90% à la concentration de 250pg/mL et qui allait jusqu'à 74,74% à la concentration de 250µg/mL, cependant pour la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés cette activité présentait un pourcentage qui varie entre 76,81 et 89,73% à la concentration de 250pg/mL et 250µg/mL respectivement. En comparaisant avec diclofénac qui présentait une activité anti-inflammatoire de l'ordre de 59,17% à la concentration de 250pg/mL et qui allait jusqu'à 89,66% à la concentration de 250µg/mL résultat non significatif avec la fraction aqueuse mais qui est significatif ($p < 0,05$) avec l'extrait hydro-éthanolique (Figure 46).

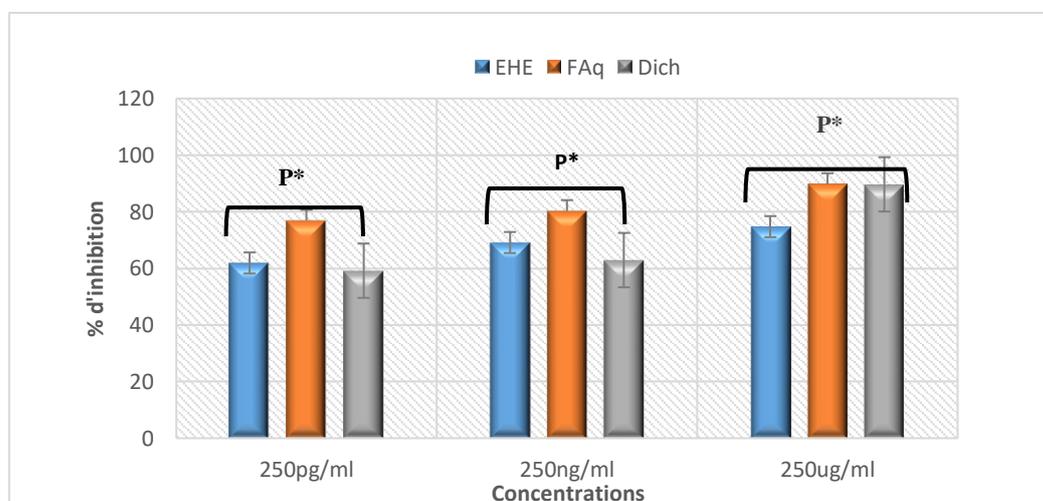


Figure 46. L'activité anti inflammatoire de l'extrait hydro-éthanolique et de la fraction aqueuse des grignons d'olive comparé au diclofénac



Chapitre IV
Discussion



Dans des études précédentes, l'extrait méthanolique s'est révélé plus toxique que l'extrait hydro-éthanolique. Une autre étude a démontré que l'extrait hydro-éthanolique était supérieur à l'extrait méthanolique pour obtenir des niveaux élevés de polyphénols et d'autres composés bioactifs, montrant ainsi des capacités antioxydantes très élevées (**Bourgou et al., 2016 ; Boudraa-Taleb, 2023 ; Machado-Carvalho et al., 2023**).

Les extraits des grignons d'olive constituent effectivement une source riche en molécules naturelles, et leur utilisation dans la recherche médicale et pharmaceutique s'avère de plus en plus cruciale. Ces extraits renferment divers composés bioactifs bénéfiques pour la santé (**Nunes et al., 2021**). Dans ce chapitre, nous explorons les diverses activités biologiques de l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive (GO) bruts et de la fraction aqueuse des GO délipidés. L'ingéniosité de la nature ne cesse de nous émerveiller, nous offrant une multitude de ressources aux propriétés thérapeutiques inestimables. Les recherches sur les grignons d'olive et d'autres produits naturels révèlent le potentiel immense de ces substances pour lutter contre diverses maladies et promouvoir une santé optimale. En effet, ces trésors naturels regorgent de composés bioactifs aux vertus curatives et préventives, ouvrant la voie à de nouvelles thérapies et approches innovantes en matière de bien-être.

L'extraction joue un rôle crucial dans la mise en évidence des composés actifs des plantes étudiées, favorisant ainsi leur utilisation thérapeutique (**Aljuboori et al., 2022**).

Bien que les solvants mixtes soient courants en chimie de synthèse, leur sélection reste un domaine de recherche peu exploré. Le système eau-éthanol, largement utilisé en raison de l'efficacité individuelle de ses composants, fait l'objet de nombreuses études récentes. L'intérêt pour les effets des solvants sur les réactions chimiques et les propriétés des composés demeure vif, comme en témoignent les publications récentes dans ce domaine (**Aljuboori et al., 2022**).

La cytotoxicité *in vitro* est largement utilisée en raison de sa simplicité et de sa grande sensibilité, souvent avec des globules rouges comme modèle (**Mapfunde et al., 2016**). Bien que bénéfiques, les extraits des grignons d'olive peuvent également présenter une toxicité, dépendante de la dose, de la composition des extraits et du solvant d'extraction utilisé (certains solvants étant plus toxiques que d'autres). Leur lipophilie facilite également leur traversée des membranes biologiques (**Laguna, 2019**). Des études antérieures ont montré que les extraits éthanoliques présentent une moindre cytotoxicité à des doses élevées (**Badi et al., 2022 ; Laguna et al., 2019**).

Dans notre étude, l'extrait hydro-éthanolique des grignons d'olive présente un effet inhibiteur significatif contre l'hémolyse induite par l'hypotonie et la chaleur, variant entre 69,93 % et 83,44 %. En revanche, pour la fraction aqueuse des grignons d'olive délipidés, cette activité

présente un pourcentage variant entre 31,96 % et 74,84 %. Cette activité inhibitrice dépend à la fois de la dose et de la composition de ces extraits. L'EHE et la FAQ des grignons d'olive ont démontré une capacité à prévenir la lyse des érythrocytes, suggérant un effet stabilisateur sur la membrane cellulaire. Cette protection est attribuée à leur richesse en composés phénoliques (cp), connus pour leur capacité à réduire l'hémolyse en modifiant la fluidité membranaire et en augmentant la pression osmotique (Socrier, 2017 ; Bendjabeur, 2019). De plus, les composés phénoliques présents dans les extraits des grignons d'olive contribuent à protéger les globules rouges contre différents types de dommages et à garantir leur fonctionnement optimal, car certains composés phénoliques, tels que les lignanes aglycones, sont capables de pénétrer les membranes. Ces composés s'accumulent au niveau des têtes polaires des phospholipides des membranes des globules rouges. Ils interviennent uniquement dans la phase d'initiation de la peroxydation lipidique, en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (EROs) avant qu'elles ne pénètrent dans la membrane, protégeant ainsi ces dernières de l'oxydation (Bonarska-Kujawa et al., 2014). Dans une solution hypotonique, les cellules subissent un effet hémolytique où elles accumulent trop de liquide, ce qui entraîne la rupture de leur membrane. Les érythrocytes endommagés deviennent plus sensibles à la peroxydation lipidique due aux radicaux libres, selon Anosike et al. (2012) and Parameswari et al. (2019).

Nos résultats ont révélé une variation significative de l'effet anti-hémolytique des extraits des grignons d'olive (GO) en fonction du solvant d'extraction utilisé.

L'extrait hydro-éthanolique brut de grignons d'olive a exhibé une activité anti-hémolytique remarquable, atteignant 83,44 % à la concentration maximale testée. En comparaison, la fraction aqueuse délipidée des grignons d'olive a présenté une activité anti-hémolytique plus modérée. L'acide gallique, une référence antioxydante commune, a présenté une activité anti-hémolytique de 26,31 % à 78,81 % à 75 µg/mL, mais cette activité a diminué à 55,58 % lorsque la concentration a été augmentée à 300 µg/mL.

Ces résultats suggèrent que l'extrait hydro-éthanolique bruts des grignons d'olive possède une activité anti-hémolytique supérieure à celle de la fraction aqueuse délipidée et de l'acide gallique. Cette différence d'activité pourrait être attribuée à la composition plus complexe des extraits bruts, qui contiennent une variété de composés phénoliques et d'autres composés bioactifs (Benabderrahmane et al., 2023 ; khiya et al., 2019).

L'activité anti-hémolytique de l'extrait des grignons d'olive pourrait être due à plusieurs mécanismes d'action. Les composés phénoliques présents dans l'extrait pourraient agir comme antioxydants, neutralisant les radicaux libres responsables des dommages aux membranes cellulaires.

L'éthanol, en tant que solvant polaire, extrait efficacement les flavonoïdes, les glycosides, les catéchols et les tanins des plantes. Cependant, la solubilité de ces composés peut être améliorée par l'utilisation d'un solvant mixte, augmentant ainsi les rendements d'extraction (**Hayat et al., 2020 ; Bourgou et al., 2016**).

Cette observation pourrait s'expliquer par le processus de délipidation, qui peut entraîner une perte de molécules liposolubles, telles que les polyphénols, ainsi que de molécules amphiphiles ou lipophiles comme les vitamines E et A (**Belhaoues, 2018 ; Aljuboori et al., 2022**). En effet, **Merah et al. (2020)** suggèrent que ces composés pourraient contribuer à l'activité anti-hémolytique des extraits bruts en stabilisant la membrane des globules rouges et en les protégeant contre les dommages oxydatifs.

L'inhibition de l'hémolyse induite par l'hypotonie et la chaleur a été considérée comme une mesure du mécanisme de l'activité anti-inflammatoire (**Anosike et al., 2012**).

La stabilisation de la membrane cellulaire permet de prévenir les fuites de protéines sériques et de fluides dans les tissus lors d'une augmentation de la perméabilité causée par des médiateurs inflammatoires (**Anosike et al., 2012**). Des études ont montré que les préparations à base de plantes peuvent stabiliser la membrane des globules rouges et exercer une activité anti-inflammatoire (**James et Nnacheta, 2008**).

L'effet stabilisateur de la membrane de *Berberis*, *Orthobotrys* pourrait être lié à son action inhibitrice sur la libération du contenu lysosomal des neutrophiles (**Alamgeer et al., 2017**). Le test d'inhibition de la dénaturation protéique est une méthode efficace pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro. Le test à l'albumine sérique bovine (BSA) vise à minimiser l'utilisation d'échantillons vivants dans le processus de développement de médicaments (**Williams et al., 2008**).

L'albumine de sérum bovin (BSA) présente deux sites potentiels d'interaction avec les molécules anti-dénaturation, localisés dans les régions riches en résidus de thréonine, lysine, tyrosine et chaînes aliphatiques. Ces interactions pourraient influencer l'activation des récepteurs à motifs de tyrosine double, régulant les voies de transduction du signal biologique et influençant ainsi leur efficacité thérapeutique (**Williams et al., 2008**).

Nos résultats indiquent clairement que les extraits des grignons d'olive possèdent un potentiel anti-inflammatoire. L'extrait hydro-éthanolique a montré une activité inhibitrice de la dénaturation de la BSA de l'ordre de 61,90 % et allant jusqu'à 74,74 %. La fraction aqueuse issue de l'extrait délipidé des grignons d'olive a présenté une activité encore plus élevée, avec un pourcentage variant entre 76,81 et 89,73 % en comparant avec diclofénac qui présentait une activité anti-inflammatoire de l'ordre de 59,17% et qui allait jusqu'à 89,66%.

Cette activité n'était pas significativement différente de celle de la fraction aqueuse, mais elle était significativement supérieure ($p < 0,05$) à celle de l'extrait hydro-éthanolique.

Ces résultats suggèrent que l'extrait des grignons d'olive pourrait être aussi efficaces, voire plus efficaces, que le diclofénac pour inhiber la dénaturation des protéines et réduire l'inflammation. L'effet anti-inflammatoire de l'extrait des grignons d'olive pourrait être attribué à la présence de stéroïdes, d'alcaloïdes et de flavonoïdes, des composés connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires (**Kiranmayi et al., 2018**).

Ces propriétés font de l'extrait des grignons d'olive un candidat prometteur pour le développement de nouveaux traitements anti-inflammatoires.

L'huile d'olive et ses dérivés sont principalement constitués d'acides gras monoinsaturés (AGMI). La fraction insaponifiable contient des tocophérols, des tocotriénols, du bêta-carotène, des phytostérols, des flavonoïdes et des composés phénoliques hydrophiles (**Fernandes et al., 2020**). Parmi ces composants, les composés phénoliques ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Fernandes et al., 2020**).

Le potentiel protecteur de l'extrait éthanolique des grignons d'olive contre la dénaturation protéique induite par la chaleur chez les globules rouges humains semble être en grande partie attribué à l'oléuropéine (OLE), son principal composé phénolique.

Les résultats de cette étude soulignent l'efficacité des composés phénoliques extraits des grignons d'olive comme protecteurs contre la dénaturation des érythrocytes et l'inflammation, comme le suggère également la recherche de **Maalej et al., (2017)**.

Conclusion

Cette étude a démontré que l'EHE et la FAq des grignons d'olive possèdent des propriétés prometteuses pour la santé humaine, notamment une activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire.

L'évaluation de la cytotoxicité des extraits sur des globules rouges humains a révélé une toxicité dépendante de la dose, suggérant un profil de sécurité acceptable à des concentrations appropriées.

L'activité anti-hémolytique in vitro a montré une protection significative des globules rouges contre la lyse, mettant en évidence le potentiel des extraits des grignons d'olive pour prévenir les dommages cellulaires.

De plus, les extraits ont exhibé une activité anti-inflammatoire remarquable, inhibant la dénaturation de la BSA de manière comparable, voire supérieure, au diclofénac, un AINS couramment utilisé.

Cette activité anti-inflammatoire est probablement attribuable aux composés phénoliques présents dans l'extrait, en particulier l'oléuropéine, connue pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

L'accessibilité et le coût relativement faible des extraits des grignons d'olive les rendent attrayants comme alternative prometteuse aux traitements anti-inflammatoires classiques.

Cette étude ouvre des perspectives prometteuses pour l'exploration du potentiel thérapeutique des extraits des grignons d'olive dans le traitement des maladies inflammatoires et d'autres affections. Des recherches futures approfondies sont nécessaires pour confirmer ces résultats, élucider les mécanismes d'action précis et développer des formulations et des stratégies thérapeutiques efficaces et sûres à base d'extraits des grignons d'olive.



Conclusion générale



À la conclusion de cette étude, il est clair que la phytothérapie demeure une approche largement utilisée pour traiter diverses maladies, y compris le diabète sucré, malgré les avancées socioéconomiques et médicales. L'objectif de cette étude était d'évaluer le potentiel de l'extrait brut et de la fraction aqueuse obtenue après une série de lavages avec différents solvants de polarité croissante, ainsi qu'une délipidation par Soxhlet, dans le traitement du diabète sucré. L'analyse phytochimique a révélé une diversité de groupes chimiques avec une activité antioxydante potentielle, confirmée par différents tests (DPPH, pouvoir reducteur et CAT).

Les résultats de l'étude sur le diabète expérimental menée *in vivo* chez des rats mâles Wistar ont montré que nos extraits, administrés à différentes doses (250 et 350 mg/kg de EHE et 50 mg/kg de FAq), avaient un effet antihyperglycémiant avéré, confirmé par diverses analyses biochimiques, hématologiques, ainsi que par l'étude histologique de divers organes (foie, reins et pancréas). Les variations du poids corporel et de glycémie ont également été mesurées pendant la période de traitement.

Ces résultats soulignent le potentiel biologique et métabolique des composés bioactifs contenus dans les grignons d'olive (sous-produit oléicole), dotés d'un pouvoir chimio-protecteur contre les effets délétères et diabétogènes de la streptozotocine (STZ). Cet effet se manifeste par le maintien de l'équilibre redox des cellules pancréatiques, hépatiques et rénales malgré l'effet pro-oxydant et cytotoxique de la STZ, protégeant ainsi les cellules β de la cytolyse. La prévention des complications diabétiques chez les animaux est attribuée à l'effet protecteur des molécules actives des grignons d'olive.

Par ailleurs, un test de toxicité aiguë a confirmé que l'EHE des grignons d'olive est peu toxique à des doses allant jusqu'à 5000 mg/kg du poids corporel, avec des bienfaits sur la glycémie, le cholestérol et les triglycérides à des doses inférieures. Des doses plus élevées peuvent entraîner de légères perturbations hépatiques et rénales, mais sans causer de lésions tissulaires significatives. Le test de cytotoxicité a montré une toxicité dose-dépendante, mais à des concentrations appropriées, l'EHE et la FAq ont présenté des propriétés anti-hémolytiques et anti-inflammatoires, potentiellement attribuables à l'oléuropéine et à l'hydroxytyrosol, comme prouvé par plusieurs études antérieures.

Ces résultats suggèrent que les extraits des grignons d'olive pourraient constituer une alternative intéressante aux traitements anti-inflammatoires classiques. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats, comprendre les mécanismes d'action et développer des stratégies thérapeutiques basées sur ces extraits. Il est également essentiel de souligner que la recherche sur les grignons d'olive est en pleine

expansion, et des essais cliniques supplémentaires sont requis pour corroborer ses bienfaits sur la santé humaine.

Néanmoins, des études complémentaires approfondies seront nécessaires pour valider cette première preuve et déterminer les composants actifs responsables de son mécanisme cellulaire et moléculaire.

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans The Toxicology and Environmental Health Sciences Journal le 31 October 2023.



Références bibliographiques



Achat S. (2014). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Autre. Université d'Avignon ; Université Abderrahmane Mira - Bejaïa (Bejaïa, Algérie). Français. fnnt, AVIG0248ff. fftel-00978529.

Aebi H. (1974). Catalase, in: *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd Edn, 2 (Bergmeyer, H. U., Ed.). Verlag Chemie, Weinheim. pp. 673–680.

Abderrahmani A., Bonnefond A., Froguel P. (2018). Physiopathologie du diabète. Article in *Revue Francophone des Laboratoires*. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X).

Agbodjento E., Klotoé J.R., Dramane G., Dougnon T.V, Ategbó J.M. (2018). *Gardenia ternifolia* Schumach. Et Thonn. revue sur les aspects ethnobotanique, ethnopharmacologique, phytochimique et toxicologique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 12, 2922–2932.

Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*.74(7),636-643. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.12.009>.

Akyüz E. (2022). Optimizing pulsed ultrasound assisted extraction of antioxidants from Linden and quantification by HPLC–PDA. *Food Anal.* <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02388-y>.

AL-Gehani Samar A. (2013). Toxicological Influence of ethanol and biochemical changes in rats exposed to cadmium. *Merit Research Journal of Environmental Science and Toxicology*. 1(2),051-059.

Almi, D. (2010). Étude du pouvoir antioxydant des composés et extraits phénoliques issus des olives et sous-produits de l'olivier (feuilles et margines) variété Chamlal sur l'oxydation thermique simulant la friture de deux huiles à large consommation : l'huile d'olive et l'huile de tournesol. Mémoire de magister. Faculté des sciences biologiques et agronomiques, Université Mohamed Boudiaf de M'sila. Pages: 1-72.

Alu'datt M.H., Alli I., Ereifej K., Alhamad M., Al-Tawaha A. R and Rababah T. (2010). Optimisation, characterization and quantification of phenolic compounds in olive cake. *Food Chemistry*. 123, 117-122.

Al-Khayri J.M., Yüksel A.K., Yüksel M., Işık M., Dikici E. (2022). Phenolic Profile and Antioxidant, Anticholinergic, and Antibacterial Properties of Corn Tassel. *Plants*. 11, 1899. <https://doi.org/10.3390/plants11151899>.

Aljuboori S. B., Abdulrahim N A., Yassen S., Khaleel H.H. (2022). Organic Synthesis under Solvent-free Condition (Green Chemistry): A Mini Literature Review. *Al-Rafidain J Med Sci*. 2022 ;3 :109-115. DOI : <https://doi.org/10.54133/ajms.v3i.94>

Ambroise-Thomas S. (2017). La mélatonine : rôle biologique, intérêt et limites de l'usage thérapeutique. Sciences pharmaceutiques. 1998. dumas-01613566.

Amrane S., Bedouhene F., Boussaada I., Niculescu S. I. (2018). On qualitative properties 495 of low-degree quasipolynomials: Further remarks on the spectral abscissa and rightmost-496 roots assignment. Bulletin Mathématique de La Société Des Sciences Mathématiques de Roumanie. 497,61(4).

Aguilera J. M., Sanz, J., Chiralt, A. (1986). Effect of moisture content on the aerobic stability of olive pomace. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 34(2), 259-262.

Angles S. (2012) L'olivier et les territoires méditerranéens. L'histoire de l'olivier. Hal 02096367.

Asanga E., Ebong P., Eseyin, O.A. (2013). Hematological parameters of alloxan-induced diabetic rats treated with ethanol extracts and fractions of nauclea lafiloia leaf. Eur. Sci. J. 9, 1857 – 7881.

Assadi S., Shafiee S.M., Erfani M., Akmal M. (2021). Antioxidative and antidiabetic effects of Capparis spinosa fruit extract on high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. Biomed Pharmacother 138, 111391.

Assou C., Anago E., Senou M., Agbogba Félicienne Agniwo P., Lokonon J.E., Abissi Y., Hlouedje Wilfried Tchogou., Pascal Houngbeme A., Akpovi C., Gbenou J. (2022). Anti-hyperglycemic effect of Momordica charantia green fruit extract. Int. J. Pharm. Sci. 11, 06–16.

Attia E.S., Amer A.H., Hasanein, M.A. (2019). The hypoglycemic and antioxidant activities of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed on alloxan-induced diabetic male rats. Nat. Prod. Res. 33, 901–905.

Aubry-Quenet. (2010). Allieu-Amara, Bousquet. Rétinopathie diabétique. In Diabétologie. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, p. 193-206.

Aurélié L. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Université de Reims Champagne Ardenne. Ecole doctorale sciences technologie santé. France. pp. 21-22.

Awa N.S., Alioune D.F., Mamadou N., Amadou O.S., Guata Y.S., Emmanuel B., Amadou M.D.(2016). Mise en Évidence De L'activité Anti-Inflammatoire Des Sous-Fractions Méthanoliques Des Feuilles De Moringa Oleifera Lam. (Moringaceae) Chez Le Rat. Int. J. Biol. Chem. Sci. 10, 760–768.

Azzi M and Hamida A. (2016). Effet de l'extrait aqueux de *Phragmites australis* (1841) chez les rats diabétiques Wistar albinos.

Badi Z., Guermouche B., Haddam N., Belyagoubi N., Rouigueb K., Benzerjeb H., Kechkouche., Merzouk H. (2022). Assessment of acute and sub-acute toxicity of olive pomace in female Wistar rats. *WCRJ*. 9, 2359. https://doi.org/10.32113/wcrj_20227_235.

Bahlil Y., Krouf D., Taleb-Dida N. (2019). *Zygophyllum album* aqueous extract reduces glycemia and ameliorates lipid profile and oxidative damage in hypercholesterolemic-diabetic rats. *Nutr. Food Sci.* 49, 141–157. https://doi.org/https://doi.org/10.1108/NF_0078.

Balogun S.O., Iberê Ferreira da Silva Jr., Eds on Moleta Colodel., Ruberlei Godinho de Oliveira., Sérgio Donizeti Ascêncio., Domingos Tabajara de Oliveira Martins. (2014). Toxicological evaluation of hydroethanolic extract of *Helicteres sacarolha* A. St.- Hil. et al. *Ethnopharmacology*. 157, 285–291.

Balasundram N Ai TY., Sambanthamurthi R., Sundram K., Samman S. (2005). Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pac J Clin Nutr.* 14: 319-324.

Balakrishnan R., Vijayraja D., Jo Song-Hee., Ganesan P., In Su-Kim and Dong-Kug Choi. (2020). Medicinal Profile, Phytochemistry, and Pharmacological Activities of *Murraya koenigii* and Its Primary Bioactive Compounds. *Antioxidants*. 9, 101. <https://doi.org/10.3390/antiox9020101>.

Belhaoues S. (2018). Étude phytochimique et activités biologiques des extraits de Feuilles et de fruits de *Chamaerops humilis* L. Thèse de Doctorat en Biologie ? Santé environnementale. Faculte des sciences departement de biologie. Universite Badji Mokhtar – Annaba.

Benabderrahmane A., Atmani M., Boutagayout Abdellatif., Rhioui Wijdane., Belmalha S. (2023). Phytochemical Investigation of *Thymus zygis* L. and *Salvia officinalis* L. Collected from Fez-Meknes Region, Morocco. *Egypt. J. Bot.* Vol. 63, No. 2, pp. 581-593. DOI: 10.21608/ejbo.2023.181580.2215

Benhaddou Andaloussi A. (2009). Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* : sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de Doctorat Université de Montréal Département de pharmacologie, Faculté de médecine.

Bensiameur Touati K., Kacimi G., Haffaf E.-M., Aouichat-Bouguerra S. (2019). Effet antioxydant d'un extrait aqueux de *Nigella sativa* sur le diabète alloxanique induit chez le rat wistar et sur l'histologie du pancréas. *Nutr. Santé* 08, 61–71.

Bendjabeur S.(2019). Etude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Teucrium polium* subsp *capitatum*, *Thymus algeriensis* et *Ammoides verticillata*. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques EL-Harrach –Alger.

Ben-Saad H., Kammoun I., Boudawara T., Zeghal K.M., Hakim A., Amara I.B. (2017). Effects of Selenium on Tebuconazole-Induced Hepatotoxicity in Adult Rats. *Res. Rev. Biosci.* 12, 118.

Benyaich A. (2017). Les effets du régime méditerranéen sur les maladies chroniques : Maladies car-diovasculaires, stress oxydatif, dyslipidémie, diabète sucré, pression artérielle, cancer, maladies neurodégénératives et obésité. *Nutrition Research Reviews*, A paraître. Hal-01629438.

Ben Nasr R., Djantou Baudelaire E., Dicko A and El Ferchichi Ouarda H. (2021). Phytochemicals, Antioxidant Attributes and Larvicidal Activity of *Mercurialis annua* L. (Euphorbiaceae) Leaf Extracts against *Tribolium confusum* (Du Val) Larvae (Coleoptera; Tenebrionidae). *Biology*. 10, 344. <https://doi.org/10.3390/biology10040344>.

Benamara M., Zaidi H., Amrani A., Sedrati F. (2022). Oxidative Stress Induced by the Copper Oxide (CuO-NPs) on Terrestrial Snail *Helix Aspersa*. *Annals of R.S.C.B.*, ISSN: 1583-6258, 26, 1, 890 – 90. <http://annalsofrscb.ro>.

Bernard V. (2022). Eléazar Shafir et les modèles animaux du diabète induit par une transition nutritionnelle. Elsevier Masson SAS. 16 (3), 286-289. Doi : 10.1016/j.mmm.2021.12.011.

Ben Saad H., Kammoun I., Zeghal KH. M., Ben Amara I., Magné C. A., Hakim C. (2017). Effets du selenium sur le stress oxydant au niveau des reins de rats traités par le tebuconazole effects of selenium on tebuconazole-induced nephrotoxicity in adult rats. *J.I. M. Sfax*, 27, 35 – 42.

Bisht K., Wagner K.H., Bulmer A.C., 2010. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology* 278, 88-100.

Bonarska-Kujawa D., Pruchnik H., Cyboran S., Żyłka R., Oszmiański J., Kleszczyńska H. (2014). Biophysical Mechanism of the Protective Effect of Blue Honeysuckle (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* Sevest.) Polyphenols Extracts Against Lipid Peroxidation of Erythrocyte and Lipid Membranes. *J. Membr. Biol.* 247, 611–625

Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J. L., Théron P., Peynet J., Legrand A., & Delattre J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 62(3), 147-157. [https://doi.org/10.1016/S0003-4509\(04\)94297-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4509(04)94297-6).

Bilbao-Meseguer I., Rodríguez-Gascón A., Barrasa H., Isla A., & Solinís M. Á. (2018). 502 Augmented Renal Clearance in Critically Ill Patients: A Systematic Review. In *Clinical Pharmacokinetics*. 57(9). <https://doi.org/10.1007/s40262-018-0636-7>.

Bouderbala, A. (2015). Assessment of groundwater quality and its suitability for agricultural uses in the Nador Plain, North of Algeria. *Water Quality, Exposure and Health*, 7(4). <https://doi.org/10.1007/s12403-015-0160-z>.

Boudiaf F., 2020. Etude sur le dysfonctionnement neurocomportemental et physiologique Suite à l'injection de la streptozotocine chez les rattes de la souche wistar traitées à la cannelle et la quercétine.

Bouhouche I. (2014). Etude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc . Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres.

Bouhlali E.D.T., Sellam K., Bammo M., Alem C et Filali-zehzouti, Y. (2016). In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (05): 156-162.

Boudah A and Bouhouche I. (2017). Etude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc; Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins.

Boudraa-Taleb. (2023). Optimisation des conditions d'extraction des substances bioactives de *Foeniculum vulgare* par micro-ondes et ultrasons en utilisant les plans d'expérience. These Université A. MIRA-BEJAIA Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences Alimentaires.

Bourgou S., Serairi Beji R., Medini F., Ksouri R.(2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. 28(12). www.jnsiences.org. E-ISSN 2286-5314.

Bousnane N. El H (2018). Diagnostic, physiopathologie, implication du stress oxydatif et génétique de l'infertilité masculine chez une partie de la population Algérienne Université Batna 2 Mustapha Ben Boulaid Faculte des sciences de la nature et de la vie département de biologie des organismes.

Bonarska-Kujawa D., Pruchnik H., Cyboran S., Żyłka R., Oszmiański J., Kleszczyńska H. (2014). Biophysical Mechanism of the Protective Effect of Blue Honeysuckle (*Lonicera Caerulea* L. var. *kamtschatica* Sevest.) Polyphenols Extracts Against Lipid Peroxidation of Erythrocyte and Lipid Membranes. *J. Membr. Biol.* 247, 611–625.

Bonina F.P., Leotta C., Scalia G et Puglia C. (2002). Evaluation of oxidative stress in diabetic patients after supplementation with a standardised red orange extract. *Diabetes Nutrition and Metabolism*.15, 14-19.

Błaszczak W., Jez, M., & Szwengiel. A. (2020). Polyphenols and inhibitory effects of crude and purified extracts from tomato varieties on the formation of advanced glycation end products and the activity of angiotensin-converting and acetylcholinesterase enzymes. *Food Chemistry*. 314, 126181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126181>.

Bulmus V., Woodward M., Lin L., Murthy N., Stayton P., et Hoffman A. (2003). A new pH-responsive and glutathione-reactive, endosomal membrane disruptive polymeric carrier for intracellular delivery of biomolecular drugs. *Journal of Controlled Release*, 93(2), 105-120.

Bruno Baudin. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *RFL - Revue francophone des laboratoires*. 522, 22-30. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30159-3](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30159-3).

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4ème édition Lavoisier, 1292 pages. D'antagonisme sur l'activité antioxydante.

Canaud Leray-Moragues., Renaud Chenine. (2010). *Néphropathie diabétique*. In *Diabétologie*. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 207-222.

Cardoso S. M., Guyot S., Marnet N., Lopes-da-Silva Jos é A., Renard C. MGC and Coimbra M.A. (2005). Characterisation of phenolic extracts from olive pulp and olive pomace by electrospray mass spectrometry. *Sci Food Agric* 85 :21–32 (2005. DOI: 10.1002/jsfa.1925.

Čepo D.V., Radić, K., Jurmanović, S., Jug, M., Rajković, M.G., Pedisić, S., Moslavac, T., Albahari, P.(2018). Valorization of olive pomace-based nutraceuticals as antioxidants in chemical, food, and biological models. *Molecules* 23, 2070. <https://doi.org/10.3390/molecules23082070>.

Chandra S., Chatterjee P., Dey P et Bhattacharya S. (2012). Evaluation of in vitro anti inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,178-180.

Chantal Canivenc-Lavier M., Bennetau-Pelissero C. (2023). Phytoestrogens and Health Effects. *Nutrients*, 15 (2), pp.317. [ff10.3390/nu15020317ff](https://doi.org/10.3390/nu15020317). [ffhal-03979055ff](https://doi.org/10.3390/nu15020317).

Chaudhuri Sudip., Banerjee Anwesha., Basu Kaushik., Sengupta Bidisa., Sengupta Pradeep K. (2007). "Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects". *International Journal of Biological Macromolecules*. 41 (1): 42-48.

Chekatt M.A. (2020). Phytochimie et propriétés pharmacologiques de la plante de *Nigella sativa* et les perspectives thérapeutiques de son miel.

Chen X., Ding YW., Yang Gy., Bondoc F., Lee MJ., Yang CS. (2000). Oxidative damage in an esophageal adenocarcinoma model with rats. *Carcinogenesis*. 21, 257–263.

Chira K., Pacella N., Jourdes, M., & Teissedre P. L. (2011). Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry*, 126(4), 1971–1977. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.056>.

Chira K, Suh j. H, Saucier C et Teissédre P. L. (2008). Les (polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6, 75-82.

COI. (2018). Conseil Oléicole Internationale. Newsletter – marché oléicole, N° 126.

Cortez-Navarrete M., Pérez-Rubio K.G., Escobedo-Gutiérrez, M. de J. (2023). Role of Fenugreek, Cinnamon, Curcuma longa, Berberine and Momordica charantia in Type 2 Diabetes Mellitus Treatment: A Review. *Pharmaceuticals*. 16, 515.

Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.* 26, 1001-1043.

Couaillet L. (2015). Le stress oxydant au cours du diabète de type 2. Application à la détermination de l'excrétion urinaire de 8-isoprostane chez le patient diabétique. *Sciences pharmaceutiques*. ffdumas-01234601ff

Cowan MM. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.

Czank C., Cassidy A., Zhang Q., Morrison DJ., Preston T., Kroon PA., et al. (2013) Human metabolism and elimination of the anthocyanin, cyanidin-3-glucoside: a (13) C-tracer study. *Am J Clin Nutr.* 97(5), 995-1003.

Czerniak R. (2001). Gender-Based Differences in Pharmacokinetics in Laboratory Animal Models. *Int. J. Toxicol.* 20, 161–163.

Daems, C., Vanderroost, J., Lysy, P.A., 2019. Diabète de type 1 :une maladie auto-immune, vraiment? *Louv. Med.* 138, 185–192.

Daian L.M., Tanko G., Vacaru A.M., Ghila L., Chera S., Vacaru A.-M. (2023). Modulation of Unfolded Protein Response Restores Survival and Function of β -Cells Exposed to the Endocrine Disruptor Bisphenol A. *Int. J. Mol. Sci.* 24.

Dal S., Schaschkow A., Maillard -Pedracini E., Pinget M., Jeandidier N., Sigrist S. (2014). Le stress oxydant : nouvelle cible pour optimiser la prise en charge du patient diabétique de type 1. Centre Européen d'Etude du Diabète (CEED), Strasbourg. 31, 3.

Daziano G. (2021). Rôle du propeptide de la sortiline et deses dérivés dans les mécanismes de survie de la cellule bêta pancréatique. Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire - UMR7275 CNRS.

De Araújo F. F., de Paulo Farias, D., Neri-Numa I. A., & Pastore G. M. (2021). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. Food Chemistry. 338, 127535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127535>.

Debbabi M., Nury T., Zarrouk A., Mekahl N., Bezine M., Sghaier R., Grégoire S., Martine L., Durand P., Camus E., Vejux A., Jabrane A., Bretilon L., Prost M., Moreau T., Ammou S. Ben Hammami M., Lizard, G., 2016. Protective Effects of α -Tocopherol, γ -Tocopherol and Oleic Acid Three Compounds of Olive Oils, and No Effect of Trolox, on 7-Ketocholesterol-Induced Mitochondrial and Peroxisomal Dysfunction in Microglial BV-2 Cells. Int. J. Mol. Sci. 17, 1973.

Delehedde, C. (2019). Du diabète au cancer : développement d'une nouvelle famille de molécules hybrides dérivées de la metformine. Synthèse et caractérisation par RPE de sondes vectorisées pour l'étude du dysfonctionnement mitochondrial. Université d'Aix-Marseille Ecole doctorale – Sciences Chimiques ED250.

Denise de Melo-Marins., Juliano Boufleu Farinha., Josianne Rodrigues-Krause., Orlando Laitano., Alvaro Reischak-Oliveira. (2021). Redox balance during exercise in the heat in healthy adults: A systematic review. 99, 102943. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.102943>.

De Paulo Farias D., Fabio ´ Fernandes de Araújo., Iramaia Ang´elica Neri-Numa., Glaucia Maria Pastore. (2021). Antidiabetic potential of dietary polyphenols: A mechanistic review. Food Research International. 145, 110383

Démarchez M. (2012). Le stress oxydant cutané. Cosmétique > Le vieillissement cutané.

Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. Process Biochemistry. Process Biochem. 48: 1532–1552

Dini, I., Grumetto, L. (2022). Recent Advances in Natural Polyphenol Research. Molecules. 27, 8777. <https://doi.org/10.3390/ molecules 27248777>.

Djedioui A. (2010). Evaluation de l'activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de

l'extrait aqueux d'inula viscosa; une plante de l'est algérien chez le rat avec un diabète induit, Thèse de Magister : Biochimie. Algérie. Université Badji Mokhtar. 90p.

Djouher, S. (2020). Pollution potentielle de l'environnement causée par les huileries d'olive dans la wilaya de Bouira Approche analogique.

Djohan YF, Badia E, Bonafos B, Fouret G, Lauret C, Lambert K, Raynaud F, Gayraud N Jover B, Monde AA, Cristol JP, Coudray C, Feillet-Coudray C. (2019). High dietary intake of palm oils compromises glucose tolerance whereas high dietary intake of olive oil compromises liver lipid metabolism and integrity. *Eur. J. Nutr.*, 58(8), 3091- 3107. DOI : <https://doi.org/10.1007/s00394-018>.

Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours : Définition et applications. Thèse d'exercice | Université de Limoges.

Diaby Vandjiguiba., Yapo Adou Francis., Adon Arsène Mousan., Yapi Houphouet Félix., Djama Allico Joseph., DOSSO Mireille. (2017). Biotoxicité hématologique du sulfate de cadmium chez les rats Wistar. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10, 1765-1772,.

Douaouya L., Bouzerna, N. (2016). Effect Of Garlic (*allium sativum* l) on biochemical parameters and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 8, 202–206.

Ducom G., Gautier M., Pietraccini M., Tagutchou J-P., Lebouil D., et al. (2019). Caractérisation des grignons d'olives en vue d'une valorisation thermochimique par gazéification. *Environnement, Ingénierie & Développement.* 82, pp.41-54. 10.4267/dechets-sciences-techniques.4227. hal-02416602

Effendi L., Yajun Y. & al. (2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng.* 8, 172-181.

El Hachemi C. (2010). Mémoire de Magister en Biologie. Option : Physiologie de la nutrition et de la Sécurité Alimentaire. Effet de différents modes de séchage sur la stabilité des qualités nutritionnelles et microbiologiques du grignon d'olive durant 3 mois de stockage Université d'Oran Es-Senia.

El Gharras, H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2512–2518.

EL- Hachemi A. (2008). Valorisation du grignon d'olive dans l'alimentation du poulet de chair : effets sur les performances de croissance et sur le dépôt des acides gras dans les muscles de la cuisse et du filet.

Ellman G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82, 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6).

Elsy B., Khan A.A., Maheshwari V. (2017). Effects of d- α -tocopherol on skeletal muscle regeneration in crushed injury of diabetic rats. *Eur. J. Anat.* 21, 293–304.

Emeraux E. (2019). Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. *Sciences pharmaceutiques*. Hal-03297878

Erdman JW Jr., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer JT., Folts J., Harnly J., Hollman P., Keen CL., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., Burrowes J. (2007). Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC. *J Nutr.* 137(3 Suppl 1) :718S-37S.

Esmaeili L. (2019). Complexes du cuivre avec applications biomédicales : synthèse, caractérisation et inclusion dans des films biocompatibles Université du Québec à Montréal, 2019 – 235.

Farràs Marta., Rosa M. Valls., Sara Fernández-Castillejo., Montserrat Giralt., Rosa Solà., Isaac Subirana., María-José Motilva., Valentini Konstantinidou., María-Isabel Covas et Montserrat Fitó. (2013). « Olive Oil Polyphenols Enhance the Expression of Cholesterol Efflux Related Genes in Vivo in Humans. A Randomized Controlled Trial ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* β 4 (7): 1 γ 4- γ 9.

Favier Alain (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique l'Actualité Chimique N°270.

Fawzy M.M., Elsherbiny A.M. (2021). The Effects of L-Carnitine and Garlic Oil on Hypercholesterolemia in Albino Rats Fed a High-Cholesterol Diet. *Zagazig Vet. J.* 49, 249–269. <https://doi.org/10.21608/zvjz.2021.81172.1143>.

Feudjio C., Njateng G.S.S., Kuate J.-R. (2018). Evaluation of Antidiabetic Activity of Aqueous Extract of Leaves from *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S Balle (Laurentiaceae) in Wistar Albino Rats. *J. Dis. Med. Plants* 4, 96–109

Ferhati X., Matassini C., Giulia Fabbrini M., Goti A., Morrone A., Cardona F., Moreno-Vargas A J., Paoli P. (2019). Dual targeting of PTP1B and glucosidases with new bifunctional iminosugar inhibitors to address type 2 diabetes. *Bioorganic Chemistry.* 87, 534-549

Ferrier M. (2018). Les polyphénols contenus dans le vin rouge : leurs propriétés pharmacologiques. *Sciences pharmaceutiques*. ffdumas-01901618ff.

Filaire E., Toumi H. (2012). Rôle de dérivés réactives de l'oxygène et de l'exercice physiques sur le métabolisme osseux : amis ou ennemis. *Revue du Rhumatisme* 79 :341-346 Doi : 10.1016/j.rhum.2012.07.003.

Finotti E et Di Majo D. (2003). Influence of solvents on the antioxidant property of flavonoids. *Nahrung* 47 186-187.

Fernandes J., Fialho M., Santos R., Peixoto-Placido C., Madeira T., Sousa-Santos N., Virgolino A., Santos O et Vaz Carneiro A. (2020). Is olive oil good for you? A systematic review and meta-analysis on anti-inflammatory benefits from regular dietary intake. *Nutrition* 69: Pp 110-559.

Firdausa S., Ch, M., maung Maung K., maung Aung N., Kuzaifah N., Suryawati S. (2020). The blood glucose lowering effect of Malaysian *Tinospora crispa* in rats. *J. Nat.* 20, 20–23.

Frišić M., Petlevski R., Kosalec I., Madunić J., Matulić M., Bucar F., Pilepić K.H., Maleš Ž. (2022). *Globularia alypum* Land related species: lc-ms profiles and antidiabetic, antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and anticancer potential. *pharmaceuticals* 15, 506.

Gabol K., Khan Z., Umair M., Khan A., Fatima F., Siddiqui S., Jabeen T., Baig N., Iqbal M., Usman M., Hashmi M., Tabish M. (2014). Induced effects of lead, chromium and cadmium on *Gallus domesticus*. *Can. J. Pure Appl. Sci.* 8, 3035–3042.

Galanakis C.M. Ed. (2017). *Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management*. 255-268.

Garcia-Villalba R., Carrasco-Pancorbo A., Oliveras-Ferraro C., Vazquez-Martin A., Menendez J. A., Segura-Carretero A. et al. (2010). Characterization and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; 51: 416-429.

Gee J., Dupont M. S. Day A. J., Plumb G. W., Williamson G., Johnson I., J. (2000). Intestinal transport of quercetin glucosides in rats involves both deglycosylation and interaction with the hexose transport pathways. *J Nutr*, 130 :2765-2771.

Gharbi F.R et Benarif T. (2011). Opportunité économique de l'introduction des grignons d'olive dans l'alimentation des animaux en Tunisie. *Biotechnol. Agron. Société Environ.* 15, 259–270.

Gharby, S., Harhar H., Farssi M., Ait Taleb A., Guillaume D and Laknifli A. (2018). Influence de la torréfaction des olives sur la composition chimique et la teneur en hydro-carbures aromatiques polycycliques de l'huile d'olive. *25(3), 7.* <https://doi.org/10.1051/ocl/2018013>

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois phytothérapeutique, 4 : 162-169.

Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., & Orecchioni, A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC&DOC. 275.

Goossens G.H., Bizzarri A., Venteclef N., Essers Y., Cleutjens J.P., Konings E., Jocken J.W.E., Cajlakovic M., Ribitsch V., Clément K., et al. (2011). Increased adipose tissue oxygen tension in obese compared with lean men is accompanied by insulin resistance, impaired adipose tissue capillarization, and inflammation. *Circulation* 124, 67–76.

Gómez-Cruz I., Contreras M. del M., Romero I., Castro E. (2021). Recovery of Antioxidant Compounds from Exhausted Olive Pomace through Microwave-Assisted Extraction. *J Biol Life Sci Forum.* 6, 62.

Goutzourelas N., Orfanou M., Charizanis I., Leon, G., Spandidos D A and Kouretas D. (2018). GSH levels affect weight loss in individuals with metabolic syndrome and obesity following dietary therapy. 16,2, 635-642. DOI : 10.3892/etm.2018.6204.

Guillausseau P.-J., Laloi-Michelin M. (2003). Physiopathologie du diabète de type2. Service de médecine interne B, Hopital Lariboisière, 2, rue Ambroise-Paré, 75475 Paris cedex 10, France. Université Paris, 7 Denis-Diderot, France. Volume 24, (11). P 730-737.

Hagerman A.E., Riedl K.M., Jones G.A., Sovik K. N., Ritchard N.T., Hartzfeld P.W et Richel T.L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. agric. Food chem.* 1998, 46.1887-1892.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., cHarlier c., cHaPelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege.* 10, 628-638.

Hamma S.A., Nouri N., Fergani I., Lekhal A., Cheriet S., Abadi N., Lezzar A., Benlatreche C. (2015). Biologie des espèces réactives et stress oxydant. Laboratoire de Biochimie, CHU Constantine. *Jam*, XXIII, 2.

Hamden K., Allouche N., Damak M. and Elfeki A. (2009). Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. *Chem. Biol. Interact.*,180,421-432.

Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6 (11), e05609.

- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.*13, 572-584.
- Henry S. (2003). L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. *Sciences pharmaceutiques*. fhal-01731806ff.
- Imran M., Ahmad N., Anjum F. M., Kamran-Khan M., Mushtaq Z., Nadeem M et Hussain S. (2015). Potentiel protective properties of flax lignin secoisolaric iresinol diglucoside. *Nutrition journal* .14, 1 – 7.
- Iboukhoulé H. (2014). Traitement des margines des huileries d'olive par les procédés d'oxydation avancés basés sur le système Fenton-like (H₂O₂/Cu). Thèse de doctorat, Faculté des sciences, université Mouloud MAMMERI, Tizi-Ouzou : 124.
- Iwaka C.(2022). Propriétés biologiques et pharmacologiques de *Kigelia africana* (Lam.) Benth en médecine traditionnelle humaine et vétérinaire.
- Joubert I. (2018). Mise au point sur la biochimie et les implications du sélénium en pathologie. *Sciences pharmaceutiques*. 1998. dumas-01701262.
- Justin L., Rains S., Jain K. (2011). Oxidative Stress, Insulin Signaling And Diabetes. *Free Radic Biol Med*. 50, 567–575.
- Jiménez B., Sánchez-Ortiz A., Lorenzo M. L and Rivas A. (2013). Influence of fruit ripening on agronomic parameters, quality indices, sensory attributes and phenolic compounds of Picudo olive oils. *Food Research International*. 54, 1860-1867.
- Julkunen-Titto R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern Willows methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem* 33:213–217.
- Juanals B. (2020). Le régime méditerranéen dans la presse quotidienne nationale française. *Recherches en communication, Du discours gastronomique et œnologique*. 48,147-163. Halshs-02899197.
- Kadekar S., Peddada S., Silins I., French J. E., Högberg J., & Stenius U. (2012). Gender differences in chemical carcinogenesis in national toxicology program 2-year bioassays. *Toxicologic Pathology*, 40(8). <https://doi.org/10.1177/0192623312446527>.
- Kebir N. (2018). Propriétés du Lait de chamelle cru sur les profils glucidique et lipidique des rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane.

Kebbab Ryma. (2014). Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal : Evaluation de l'activité avant et après dé glycosylation. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Mémoire de Magister :116.

Kiranmayi G.V.N., Chandrika Y., Anusha V., Satya Priya I.V.(2018). Preliminary phytochemical screening and in vitro evaluation of anti-inflammatory, antiarthritic, and thrombolytic activities of ethanolic leaf extract of Bauhinia purpurea. International Journal of Green Pharmacy 12(1) : S241-S247.

Koudou D.D.(2019). Toxicité subchronique chez le rat de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Holarrhena floribunda* (G. DON) T. Durand & Schinz, une plante utilisée dans le traitement traditionnel du diabète en Côte d'Ivoire. Université Alassane Ouattara, Côte d'Ivoire. HAL Id.

Konstantinidou V., Covas M., Muñoz-Aguayo, D., Khymenets O., Torre R., Saez G., Carmen Tormos, M., Toledo, E., Marti, A., Ruiz-Gutiérrez V., et al. (2010). In vivo nutrigenomic effects of virgin olive oil polyphenols within the frame of the Mediterranean diet: A randomized controlled trial. FASEB J. 2010, 24, 2546–2557.

Konrad D., Somwar R., Sweeney G., Yaworsky K., Hayashi M, Ramlal T, Klip A .(2001). The antihyperglycemic drug alpha-lipoic acid stimulates glucose uptake via both GLUT4 translocation and GLUT4 activation : potential role of p38 mitogen-activated protein kinase in GLUT4 activation. Diabetes, 1464-71. Doi : 10.2337/diabetes.50.6.1464.

Koala M. (2015). Étude des antioxydants d'ipomoea batatas (patate douce à chair orange) : Structures et propriétés biologiques. Université de Ouagadougou. École Doctoral Sciences et Technologie, Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées

Kouadio A. L., Gnahoue G., Kple m K. T., Abizi G., Kone S D et Kra M K. A. (2022). Effet des extraits des feuilles de *Ficus sycomorus* sur les paramètres hématologiques et biochimiques des rats Wistar. Int. J. Biol. Chem. Sci. 16(2) : 680-694. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v16i2.14>.

Kim Durand. (2018). Diabetes et stress oxydant. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie – 27 bd Jean Moulin – CS 30064 - 13385 Marseille cedex 05 - France

Kim TH., Koh YH., Kim BH., Kim MJ., Lee JH., Park B., Park JW. (2021). Proton beam radiotherapy 565 vs. Radiofrequency ablation for recurrent hepatocellular carcinoma: A randomized phase 566 III trial. J Hepatol. 74(3):603-612.

Khiya Z., Hayani M., Gamar A., Kharchouf S., Amine S., Berrekhis F., Bouzoubae A., Zair T., El Hilali F. (2019) Valorization of the *Salvia officinalis* L. of the Morocco bioactive extracts:

Phytochemistry, antioxidant activity and corrosion inhibition. *Journal of King Saud University -Science*, 31(3), 322-335.

Labdaoui D., Hadj Smaha D., Larid M., Gomez A.C.2. (2017). The Impact of Diffusion on the Adoption of an Olive Oil Extraction Technique with a Continuous Two-Phase System without Pollution: *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 6(11)56-62, 2016.

Laguna, O. (2019). Valorisation des composés phénoliques de colza et detournesol : du fractionnement des matières premières à la synthèse de molécules multifonctionnelles. École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau Unité de recherche UMR IATE – CIRAD.

Laib I., Karit H., Bouzerdouna R., Kettouche F., Barkat M. (2022). Effet de digestion gastro-intestinale in vitro sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante d'ail triquètre *Allium triquetrum* L. *J. Appl. Biosci.* 171, 2022.

Lambert C. (2011). Étude du rôle des stibènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois. Thèse n° 1910. Université Bordeaux Segalen.

Legrand K., Gendarme S., Collin J-F., Estève V., Durain-Siefert D., Lerman A-S., Mattei P., Ziegler O., Lipp S., Böhme P.(2014) Parcours d'éducation thérapeutique des patients diabétiques de type 2 : analyse des collaborations et partage des tâches entre professionnels de santé, *Médecine des Maladies Métaboliques*, Elsevier Masson. 8 (1), 66-72. DOI : 10.1016/S1957-2557(14)70684-4.

Lefranc Élodie. (2018.). Impact du stress oxydant sur les paramètres du sperme, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire en assistance médicale à la procréation. *Médecine humaine et pathologie*. Dumas-02104672.

Lee A.S., Lee Y.J., Lee S.M., Yoon J.J., Kim J.S., Kang D.G., Lee H.S. (2012). *Portulaca oleracea* Ameliorates Diabetic Vascular Inflammation and Endoth

Lillou C., Unis., & Peter R. (2008). Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant, Cell and Environment*, 31,787-601.

Liang Z., Wu Y., Zhu X., Fang Q, Chen D. (2016). Insulin resistance and lipid profile during an oral glucose tolerance test in women with and without gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol.* 36:337-339.

Lucchesi A.N., Cassettari L.L. & Spadella C.T. (2015). Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that resemble the natural history of chronic fatty liver disease in humans. *Journal of Diabetes Research*, volume 2105, Article ID 494578, 11 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/494578>.

Lorena Pizarro, and Claudia Stange. (2009). Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis in plants *Ciencia et investigación agraria*. 36(2), 143-162. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202009000200001>.

Lozano-Sánchez J., Segura-Carretero A., and Fernández-Gutiérrez A. (2011). Characterisation of the phenolic compounds retained in different organic and inorganic filter aids used for filtration of extra virgin olive oil. *Food chemistry*. 124, 1146-1150.

Maalej A, Mahmoudi A, Bouallagui Z, Fki I, Marrakchi R, Sayadi S (2017). Olive phenolic compounds attenuate deltamethrin-induced liver and kidney toxicity through regulating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Food and Chemical Toxicology*. 106 Pp 455-465.

Machado-Carvalho J. F., & Lopes J. G. (2023). Avaliação da toxicidade aguda e subaguda do extrato aquoso de folhas de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. em camundongos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 33(1), 1-10.

Machado-Carvalho L., Martins T., Aires A and Marques G. (2023). Optimization of Phenolic Compounds Extraction and Antioxidant Activity from *Inonotus hispidus* Using Ultrasound-Assisted Extraction Technology. *Metabolites* 2023, 13, 524. <https://doi.org/10.3390/metabo13040524>.

Mallek A., Semiane, N., Bellahreche, Z., Dahmani, Y.(2020). Étude immunohistochimique du pancréas chez *Gerbillus gerbillus* rendue diabétique par la streptozotocine. *Ann. Endocrinol. (Paris)*. 81, 427. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ando.2020.07.811>.

Makkar, H. P. S. (2003). Quantification of tannins in tree and shrub foliage: A laboratory analysis. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands.

Mancini, M. (1997). Le régime méditerranéen, meilleur choix dans le diabète. Société Internationale de l'athérosclérose, Paris.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., and Jiménez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 727–747.

Mapfunde S., Sithole S., and Mukanganyama S.(2016). In vitro toxicity determination of antifungal constituents from *Combretum zeyheri*. *BMC Complement Altern Med.* 16: 162. doi: 10.1186/s12906-016-1150-9.

Martinez-Cayuella M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie* 77(3),147-161.

Marreiro D., Cruz K., Morais J., Beserra J., Severo, J., de Oliveira A. (2017). Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*. 6(2), 24.

Martin J.P., Dailey M., Sugarman E. (1987). Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 255, 329–336.

Mennan Z., Tada S., Aki I., Faid M., Hassani S., Salmaoui S. (2010). Caractérisation physico-chimique et microbiologique des grignons d'olive de 26 huileries traditionnelles de la région de Beni Mellal (Maroc). *Les technologies de laboratoire.* 5, N°19 : 4- 9.

Merlin M. (2015). La consommation de polyphénols, en particulier de vin rouge, peut-elle avoir des effets sur la maladie d'Alzheimer ? État de la question. *Sciences pharmaceutiques.* 2015. dumas-01196357.

Messaoudi D. (2020). Effets des margines et de leur extrait phénolique sur les dyslipidémies (étude in vivo) et sur l'activation plaquettaire.

Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur13-36 (Strasbourg) (1971-2008).

Mouzaoui, K., L. Yazzag, and F. Moulti-mati. (2014). Composés phenoliques des grignons d'olive provenant d'huileries traditionnelle et moderne : essai de purification de l'oleuropeine et de l'hydroxytyrosol." *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies,* 9-15.

Molina-Alcaide, E., Morales-Garcia, E. Y., Martin-Garcia, A. I., Ben Salem, H., Nefzaoui, A., and Sanz-Sampelayo, M. R. (2010). Effects of partial replacement of concentrate with feed blocks on nutrient utilization, microbial N flow, and milk yield and composition in goats. *Journal of Dairy Science* 93, 2076-2087.

Muhammad L.H., Kabiru A.Y., Busari M.B., Mann A., Abdullah A.S., Usman A.T., Adamu U. (2016). Acute oral toxicity study of ethanol extract of *Ceiba pentandra* leaves as a glucose lowering agent in diabetic rats. *J. Acute Dis.* 5, 237–243.

Mueller-Harvey I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* 86, 2010-2037.

Muanda Nsemi F. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz, Français.* ffnt : 2010METZ011Sff. fftel-01752680ff.

Montpellier C. (2019). L'huile d'olive : intérêts alimentaire et cosmétique. *Sciences pharmaceutiques.* Dumas-02180498.

Mylène F. (2018). Les polyphénols contenus dans le vin rouge : leurs propriétés pharmacologiques. *Sciences pharmaceutiques.* Dumas-01901618.

Nassar Boulahneche M., Zerizer S. (2017). Activités biologiques des molécules bioactives extraites de quelques plantes médicinales. THESE de Doctorat en Sciences. Université Des Frères Mentouri Constantine 1 .

Nadour M., Michaud P. & Moulti-Mati F. (2012). Antioxidant activities of polyphenols extracted from olive (*Olea europaea*) of chamlal variety. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(6), 1802-1810.

Nefzaoui A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier. In : Tisserand J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). *Fourrages et sous-produits méditerranéens*. Zaragoza : CIHEAM. 101-108.

Neifar M., Jaouani A., Ayari A., Abid O., Ben Salem H., Boudabous A., Najar T., EllouzeGhorbel R. (2013). Improving the nutritive value of olive cake by solid state cultivation of the medicinal mushroom *Fomesfomentarius*. *Chemosphere* 91, 110-114.

Obied H., Allen M., Bedgood D., Prenzler P., Robards K. and Stockmann R. (2005). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *J. of agricul. Food chem.*, 53,823-837.

Nunes M.A., Palmeira J.D., Melo D., Machado S., Lobo J.C., Costa A.S.G., Alves R.C., Ferreira H., Oliveira M.B.P.P. (2021). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of a New Olive Pomace Functional Ingredient. *Pharmaceuticals*, 14, 913.

Okba Mehoul R. (2020). Evaluation des effets du stress de contention sur les fonctions Neuro-endocriniennes et sur le neurodéveloppement postnatal des deux sexes chez les rattes diabétiques traitées par le gingembre. Thèse de doctorat en biologie, option neurobiologie animale, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.

Omari N., Akli Y.D.-A., Labrousse F., Bekkouche F.H. (2011). Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). *Bull. la Société R. des Sci. Liège* 80, 907 – 938.

Organisation mondiale de la Santé. (2016). Diabète sucré – épidémiologie. 2. Diabète sucré – prévention et maîtrise. 3. Diabète, gestationnel. 4. Maladie chronique. 5. Santé publique. I. ISBN 978 92 4 256525 6.

Ozturk N., Lee J. H., Gaddameedhi S., & Sancar A. (2009). Loss of cryptochrome reduces 576 cancer risk in p53 mutant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the 577 United States of America*, 106(8)

Onsiyor E.J.-B., Akaffou N.A., Zahoui O.S., Traore F. (2019). Effets antidiabétiques de l'extrait aqueux d'*Ageratum conyzoides* (Asteraceae) chez les rats rendus diabétiques par pancréatectomie partielle et évaluation de leurs paramètres hématologiques. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13, 1621–1628.

Oyedapo O. O., Akinpelu B. A., Akinwunmi K. F., Adeyink M. O., et Sipeolu F. O. (2010). Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4), 46-51.

Ozturk N., Lee J. H., Gaddameedhi S., & Sancar A. (2009). Loss of cryptochrome reduces 576 cancer risk in p53 mutant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the 577 United States of America*, 106(8).

Paola Sist., Federica Tramer., Paola Lorenzon., Ranieri Urbani., Urska Vrhovsek., Annalisa Bernareggi., Marina Sciancalepore., *Rhodiola rosea*. (2018). A protective antioxidant for intense physical exercise: An in vitro study. 48,27-36. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.022>.

Parasuraman S. (2011). Toxicological screening. *J Pharmacol Pharmacother*. 2(2), 74-9. doi: 10.4103/0976-500X.81895.

Parameswari P., Devika R., and Vijayaraghavan P.(2019). In vitro anti-inflammatory and antimicrobial potential of leaf extract from *Artemisia nilagirica* (Clarke) Pamp. *Saudi J Biol Sci.* ; 26(3): 460–463. doi: 10.1016/j.sjbs.2018.09.005

Park, J., Yang, Y., You, S. G., & Hong, S. (2020). Immuno-stimulatory effects of sulfated 636 polysaccharides isolated from *Codium fragile* in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. 637 *Fish and Shellfish Immunology*, 87. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.002>

Poudyal H., Campbell F and Brown L. (2010). Olive leaf extract attenuates cardiac hepatic and metabolic changes in high carbohydrate- high fat-fed rats. *The Journal of Nutrition.*, 140(5), 946-953.

Poontawee W., Natakankitkul S., & Wongmekiat O. (2016). Protective effect of *Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* fruit extract against oxidative renal damage caused by cadmium. *Molecules*, 21(2), 133. <https://doi.org/10.3390/molecules21020133>.

Polakof S. (2019). Acides aminés à chaîne ramifiée et insulino-sensibilité : amis ou ennemis. *Cah. Nutr. Diététique* 54, 164–171.

Portarena S., Baldacchini C., Brugnoli E. (2017). Geographical discrimination of extravirgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chem* 215, 1–6.

Peres F., Martins L. L. and Ferreira-Dias S. (2017). Influence of enzymes and technology on virgin olive oil composition, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57, 14, 3104-3126.

Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Production*. 63: 1035-1042.

Pierre-Michel Riccio, Manuel Vera Marquez, Antonio Luis Castillo Palomino, Marinella Kanella Kat-Paloglou S, G, et al. *Knoleum*. (2008) paysages de l'olivier - études KNOLEUM. 186. hal-00812164.

Pratley RE et Weyer C. (2002). Progression from IGT to type 2 diabetes mellitus: the central role of impaired early insulin secretion. *Curr Diab Rep.*2(3):242-8.

Prior RL et Wu X. (2006) Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radic Res.*40(10):1014-28.

Prieto P., Pineda M., Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. *Anal Biochem* 269:337–341.

Psotová J., Lasovsky J. et Vicar J. (2003). Metal –chelating Propertys, lectrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Natural phenolic., s.l.: Biomed. Papers 147(2), 147153.

Peyrol J., Riva C., & Amiot M. J. (2018). Hydroxytyrosol in the prevention of the metabolic syndrome and related disorders. In *Nutrients*. 9 (3). <https://doi.org/10.3390/nu9030306>.

Ramdane F., Sobti A., Hadj M.M., Hrizatet N.H. (2021). Effet protecteur de Myrtus nivellei contre le stress oxydatif chez les rattes rendus diabétiques à l'alloxane. *Phytothérapie* 19, 291–296.

Ribeiro T.B., Oliveira A.L., Costa C., Nunes J., Vicente A.A., Pintado M. (2020). Total and sustainable valorisation of olive pomace using a fractionation approach. *Appl. Sci.* 10. <https://doi.org/10.3390/app10196785>.

Richter R. (1993). *Metabolisme des végétaux physiologie et biochimie.*, s.l. : PPUR, Lausanne.
Rodriguez-Cerrato V., Ponte M.C. and Soriano F. (2008). Correlation between virulence factors and in vitro biofilm formation by *Escherichia coli* is method-dependent. *J. Appl. Microbiol.*, 105, 585- 590.

Rigalleau V., Lang J., Gin, H. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition* 10-366-D-10. Doi :10.1016/S1155-1941(07)46586-6.

Rosell, M. (2018). Synthèse et évaluation de lipophénols deutérés, un nouveau concept pour réduire les stress oxydant et carbonylé dans les maladies rétinienne. *Chimie thérapeutique*. Université Montpellier. Français. NNT : MONTT188. Tel-01869838.

Robinson M. (2018). L'impact du vieillissement et de l'alimentation sur des biomarqueurs du stress oxydatif chez des femmes atteintes du cancer du sein et en santé.

Rodis P. S., Karathanos V. T., Mantzavinou A., « Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases ». *Journal of Agricultural and Food*

Chemistry, V.50, (2002), 596-601

Sadique J., Al-Rqobah W. A., Bughaith M. F., et El-Gindy A. R. (1989). The bio-activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia*, 60, 525-532.

Shahid P. Baba and Aruni Bhatnagar. (2018). Role of thiols in oxidative stress. *Curr Opin Toxicol*. 7, 133–139. doi: 10.1016/j.cotox.2018.03.005.

Sanchez M. (2018). Implication des radicaux libres dans l'efficacité et la toxicité des agents anti-cancéreux. *Sciences pharmaceutiques*. 1994. dumas-01875996.

Sarni-Manchado P et Cheynier V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Lavoisier: Paris,398.

Salah M. Ben Hafedh, A., Manef A. (2017). Anti-diabetic activity and oxidative stress improvement of Tunisian Gerboui olive leaves extract on alloxan induced diabetic rats. *J. Mater. Environ. Sci*. 8, 1359–1364.

Saleem F., Khan, M.T.J., Saleem, H., & al. (2017). Phytochemical, antimicrobial and antioxidant activities of *Pteris cretica* L. (Pteridaceae) extracts. *Acta Poloniae Pharmaceut Drug Res*, 73, 1397-1404.

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

Sindete M., Gbankoto A., Ganfon H., Osseni R., Yemoa. A, Laleye A. (2019). Safety assessment of the ethanol extract of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. Root in Wistar rats : Acute and subacute (28-day) oral toxicity studies. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 9(12). <http://dx.doi.org/10.5455/njppp.2019.9.1034131102019>

Senani, N & Moulti-Mati F. (2012). Etude du pouvoir antifongique des extraits phénoliques issus des margines de la variété chamlal (*olea europea*) sur deux souches, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. *Tunisian Journal Medicinal Plants and Natural Products*.8(1) : 44-48.

Sarr S.O., Fall A.D., Gueye R., Diop A., Sene B., Diatta K., Ndiaye B., Diop Y.M. (2016). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Aphania senegalensis* (Sapindaceae) et de *Saba senegalensis* (Apocynaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci*. 9. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i6.13>

Sun K., Ding M., Fu C., Li P., Li T., Fang L., Xu J., Zhao Y. (2023). Effects of dietary wild bitter melon (*Momordica charantia* var. *abbreviate* Ser.) extract on glucose and lipid metabolism in HFD/STZ-induced type 2 diabetic rats. *J. Ethnopharmacol*. 306, 116154.

Sundaram R., Nandhakumar E & Haseena Banu H. (2019). Hesperidin, a citrus flavonoid ameliorates hyperglycemia by regulating key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29:9, 644-653, DOI: 10.1080/15376516.2019.1646370.

Simon F.(2020). Impact de l'inflammation sur la pharmacocinétique des médicaments. Sciences pharmaceutiques. Université de Lyon, 2020. Français. NNT : 2020LYSE1246. tel-03612390.

Sinha R., Indu Sinha., Ana Calcagnotto., Neil Trushin, Jeremy S. Haley., Todd D. Schell, and John P. Richie Jr. (2018). Oral supplementation with liposomal glutathione elevates body stores of glutathione and markers of immune function. *Eur J Clin Nutr*: 72(1), 105–111. doi:10.1038/ejcn.2017.132.

Singleton VL., Rossi JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* 16:144–158.

Suzuki K, Ito Y, Inoue T, Hamajima N. (2018). Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. *Clin Nutr*. 30(3), 369-75.

Socrier L. (2017). Influence de la localisation d'antioxydants sur la peroxydation des lipides membranaires : étude du mode d'action de dérivés PBN et de composés phénoliques. These Biotechnologie : Unité de recherche Génie Enzymatique et Cellulaire - GEC (FRE-3580) D2382

Speroni E., Guerra MC., Minghetti A., Crespi-Perello N., Pasini P., Piazza F., Roda A .(1998). Oleuropein evaluated in vitro and in vivo as an antioxidant. *Phytotherapy Research*. 12 : 98–100.

Tabet A. (2019). Etude phytochimique et substances bioactives de la plante médicinale dans la région d'El Oued. Faculte des Sciences département de chimie. Universite Badji Mokhtar Annaba.

Tagliante E. (2022). Micronutriments et immunité. Sciences pharmaceutiques. 2022. ffdumas-03823944ff.

Taleb, S. (2021). Valorisation de la pollution engendrée dans la production d'huile d'olive : Une résurrection bénéfique à notre environnement. <https://www.researchgate.net/publication/328320144>.

Taleb-Senouci D., Ghomari H., Krouf, D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois, M.A., Bouchenak, M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *phytomedicine* 16, 623–31.

Telli A. (2017). Activités anti-oxydante, antimicrobienne et antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse de Doctorat des sciences En Biologie. Université KASDI Merbah-Ouargla.

Tichati, L & Fouzia Trea & Kheireddine Ouali. (2019). Potential Role of Selenium Against Hepatotoxicity Induced by 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Albino Wistar Rats. *Biological Trace Element Research*. Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01773-9>.

Trigui S. Dr, F. Boubaker, Dr, H. Mrabet, Dr, N. Lassoued, Dr, W. Alaya, Pr, B. Zantour, Pr, M.H. Sfar, Pr Hôpital Taher Sfar Mahdia, Mahdia, Tunisie. (2022). Prévalence des maladies auto-immunes chez les patients diabétiques de type 2. 84 (1): 206-207 Doi: 10.1016/j.ando.2022.12.341.

Tripoli E., Giammanco M., Tabacchi G., Di Majo D., Giammanco S et La Guardia M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*. 18, 98-112.

Ukwuani A. N., Hassan, I. B. (2015). In vitro anti-inflammatory activity of hydromethanolic seed, fruit and leave extracts of *Capsicum chinense* (Red pepper). *EJBPS*, 2(2), 57-65

Vandjiguiba Diaby, Urbain Paul Gnonsoro, Konan Jean-Marie Kouakou, Ardjouma Dembele and Albert Trokourey. 2020. Evaluation of the self-ignition point of hydro- alcoholic gels sold in supermarkets in Abidjan (Côte d'Ivoire), 7(10):33-39.

Vanel C. (2023). Prise en charge du syndrome inflammatoire inexpliqué: état des lieux des connaissances et des pratiques des médecins généralistes des Pyrénées-Orientales. *Médecine humaine et pathologie*. dumas-04128780.

Vermerris W., Nicholson R. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands.

Visioli F. and C. Galli. (1998). The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings." *Nutr Rev* 56(5 Pt 1), 142-147.

Vuolo M. M., Lima V. S. And Maróstica Junior M. R. (2019). Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds*. M. R. S. Campos, Woodhead Publishing: 33-50.

Williams L.A.D., ConnarA. O., Latore L., Dennis, O., Ringer S., Whittaker J.A., Conrad, J., Vogler B., Rosner H et Kraus W. (2008). The in vitro Anti-Denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-Steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum

Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *West Indian Med J*, 57 (4): 327- 331.

Wojtunik-Kulesza K., Oniszczu A., Oniszcuk T., Combrzyński M., Nowakowska D., Matwijczuk A. (2020). Influence of In Vitro Digestion on Composition, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Food Polyphenols-A Non-Systematic Review. *Nutrients*. 12, 1401. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>. Lyse intermédiaire. Gynécologie et obstétrique. ffdumas-03767871ff.

Wang L.L., Zhang Z.C., Hassan W ; LiY., Liu J., Shang J. (2016). Amelioration of Free Fatty Acid-Induced Fatty Liver by Quercetin-3-O-β-DGlucuronide through Modulation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha/Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1cSignaling. *Hepatol. Res*, 46, 225–238. [CrossRef]

Wallis R. H., Wang K., Marandi L., Hsieh E., Ning T., Chao G. Y., et al. (2009). Type 1 diabetes in the BB rat: a polygenic disease. *Diabetes*, 58, 1007–1017. doi: 10.2337/db08-1215.

Wong, J. W., Hashimoto, K., & Shibamoto, T. (1995). Antioxidant activity of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707± 2712.

Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., & Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *Journal of Nutrition*, 134(3), 489-492.

Williams L.A.D., ConnarA. O., Latore L., Dennis, O., Ringer S., Whittaker J.A., Conrad, J., Vogler B., Rosner H et Kraus W. (2008). The in vitro Anti-Denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-Steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *West Indian Med J*, 57 (4): 327- 331.

Wojtunik-Kulesza K., Oniszczu A., Oniszcuk T., Combrzyński M., Nowakowska D., Matwijczuk A. (2020). Influence of In Vitro Digestion on Composition, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Food Polyphenols-A Non-Systematic Review. *Nutrients*. 12, 1401. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>. Lyse intermédiaire. Gynécologie et obstétrique. ffdumas-03767871ff.

Wang L.L., Zhang Z.C., Hassan W ; LiY., Liu J., Shang J. (2016). Amelioration of Free Fatty Acid-Induced Fatty Liver by Quercetin-3-O-β-DGlucuronide through Modulation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha/Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1cSignaling. *Hepatol. Res*, 46, 225–238. [CrossRef]

Wallis R. H., Wang K., Marandi L., Hsieh E., Ning T., Chao G. Y., et al. (2009). Type 1 diabetes in the BB rat: a polygenic disease. *Diabetes*, 58, 1007–1017. doi: 10.2337/db08-1215.

Wong, J. W., Hashimoto, K., & Shibamoto, T. (1995). Antioxidant activity of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707± 2712.

Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., & Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *Journal of Nutrition*, 134(3), 489-492.

Xiao Fan Song. (2013). Plantes médicinales chinoises introduites dans la pharmacopée française. *Sciences pharmaceutiques*. ffdumas-01044517ff.

Yakhlef W., Arhab R., Romero C., Brenes M., de Castro A., Medin E. (2018). Phenolic composition and antimicrobial activity of Algerian olive products and by-products. *LWT* 93. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.044>.

Yang J., Zhang H., Wang, Y., & Wang, Z. (2019). The role of liver function in the pathogenesis of chronic liver diseases. *Journal of Hepatology*, 71(3), 523-536.

Zaidi F., Hassissene N., Allouache H., Kichou M., Ourdani S., Rezki K., Bellal M.M., Grongnet J.F., Youyou A. (2009). Les composés phénoliques, facteur limitant du grignon d'olive chez les ruminants. *Rev. Médecine Vétérinaire* 160, 67–73.

Zerriouh M.(2015). Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de Hammada scoparia (Pomel), « Remth ».These de Doctorat en Biologie Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen.

Zghari B., Benyoucef F., and Boukir A. (2018). Impact environnemental des margines sur les eaux d'oued oussefrou : caracterisation physico-chimique et evaluation par chromatographie gazeuse couplee a la spectrometrie de masse (cpg-sm) *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. ISSN 2429-5396 I www.american-jiras.com.

Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999). The determination of favonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555–559.



Annexes



Tableau A 1. Variation de la glycémie et du poids glucose sanguin et du poids corporel chez les rats traités ou non avec l'EHE et la FAq des grignons d'olive dans le cadre de diabète

Groupe de rats	Poids corporel (g)					Glycémie (g/L)				
	J ₀	J ₇	J ₁₄	J ₂₁	J ₂₈	J ₀	J ₇	J ₁₄	J ₂₁	J ₂₈
Contrôle	209,6	224	232	241	246,5	0,72	0,8	0,78	0,75	0,79
DTrAq	237,66 ^{***}	204,66 [*]	199,66	207,66	224,66	3,02	3,78 ^{***}	3,44 ^{***}	2,47 ^{***}	1,67
DTrMref	236,5 [*]	192 [*]	207,5	230,5	241	2,98	3,9 ^{***}	2,79 ^{***}	2,84 ^{***}	2,65 ^{***}
DnTr	218	202,33	189,33	161,9 ^{***}	158,66 ^{***}	2,96	3,77 ^{***}	3,8 ^{***}	3,64 ^{***}	3,71 ^{***}
DTrEHE1	285,33	270,4	261,33	233	238,33	2,81	3,59	3,17 ^{***}	2,71 ^{***}	2,53 ^{***}
DTrEHE2	234,5	178	183,33 ^{**}	189,66 [*]	203,66	2,69	3,4 ^{***}	2,82 ^{***}	2,28 ^{***}	1,69 [*]
DTrEHE3	237,66 [*]	204,66	200 ^{**}	207,7 ^{***}	218,67 [*]	1,85	2,56 ^{***}	2,04 ^{***}	2,8 ^{**}	1,65

DTrFAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétiques traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Tableau A 2. Evaluation du poids relatif des organes des rats expérimentées cas de diabète

Poids(g)	Cœur	Foie	Cerveau	Pancréas	Rein	Rate
C	0,68±0,06	7,12±0,45	1,34±0,04	1,41±0,04	1,61±0,13	0,78±0,20
DTrFAq	0,60±0,02	7,10±0,48	1,31±0,14	1,07±0,21	1,57±0,06	0,74±0,06
DTrEHE1	0,78±0,15	8,73±1,59 ^{**}	1,39±0,12 [*]	0,72±0,18 ^{**}	1,86±0,13 ^{**}	0,81±0,21
DTrEHE2	0,71±0,16	6,89±0,44	1,28±0,03	0,58±0,09 ^{**}	1,028±0,06 ^{**}	0,59±0,11
DTrEHE3	0,65±0,14	8,41±1,70 [*]	1,57±0,26 ^{**}	0,85±0,34 [*]	1,48±0,37 [*]	0,83±0,32
DTrMref	0,78±0,06	8,17±0,05 [*]	1,53±0,02 ^{**}	1,31±0,18 [*]	1,71±0,09 [*]	0,90±0,08
DnTr	0,8±0,02	8,90±0,91 ^{**}	1,80±0,02 ^{**}	0,01±0,32 ^{**}	1,81±0,05 ^{**}	0,82±0,13

DTrFAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétique traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose3.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à P < 0,05 ; *** : différence très significative à P < 0,001, ** : différence très significative à P < 0,01. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

Tableau A 3. Impact des grignons d'olive sur les paramètres biochimiques chez les rats dans le cadre de diabète

Paramètres Sanguins	C	DnTr	DTrFAq	DTrEHE ₂	DTrMref	DTrEHE ₁	DTrEHE ₃
Urée (mg/dL)	45,85±0,91	49,73±5,44	46,47±1,06	36,84±5,8*	41,75±2,40	55,15±4,53*	37,11±1,54*
Créatinine (mg/L)	4,25±0,2	2,66±0,22	4,82±2,19	3,6±0,7	4,41±0,45	3,31±0,94	4,46±0,71
AST (UI/L)	75,42±0,76	108,93±2,89***	74,37±3,77	79,19±1,85	80,94±2,30	85,5±2,35*	77,24±2,73
ALT (UI/L)	34,37±0,84	76,12±4,43***	44,18±1,94**	36,31±2,46	35,68±1,31	66,34±5,04***	50±3,24***
TOTAL Prot (g/dL)	4,54±0,35	8,78±0,58***	5,08±0,28	6,99±0,4**	4,31±0,26	8,18±0,7**	5,25±0,19
Cholestérol(mg/dL)	30,86±3,45	88,47±3,82***	64,54±3,36*	69,6±5,54**	64,84±1,6***	72,79±3,59***	37,87±1,30
HDL-c (mg/dL)	41,54±0,92	28,07±0,27*	52,11±1,35**	68,51±3,49*	33,67±2,24	39,81±3,25*	35,79±5,49
TG (mg/dL)	66,41±4,30	93,28±11,28***	45,028±3,60	66,33±4,98***	78,12±5,3	75,69±2,30*	75,13±3,64
Glucose (g/dl)	1,59±0,41	4,91±0,07***	1,91±0,22	1,82±0,58***	2,52±0,13*	2,90±1,54	1,80±0,07
Insuline(μU/mL)	240±4,06	228±0,89***	298,01±0,71***	229,33±0,62***	231,33±2,26**	224,66±1,30***	230±3,91***

ALT : alanine aminotransférase, AST : aspartate aminotransférase, TG : triglycérides, HDLc : Lipoprotéine de haute densité, DTrFAq : Rats diabétiques traités avec la fraction aqueuse ; DTrEHE1 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 1 ; DTrMref : Rats diabétique traités avec la molécule de référence metformine ; DnTr : Rats diabétique non traités ; C : Rats témoins traités avec de l'eau physiologique ; DTrEHE2 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 2 ; DTrEHE3 : Rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique dose 3.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à P < 0,05 ; *** : différence très significative à P < 0,001, ** : différence très significative à P < 0,01. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

Tableau A 4. Effet de la fraction aqueuse et l'extrait hydro-éthanolique des GO sur les paramètres du statut oxydant anti oxydant au niveau du pancréas, foie et lysat

Pancréas	Cat (U/min/g)	GSH (μMOL /G)	SOD (μMOL /min/g)	MDA (μmol/g)	PC (μmol /g)	O₂[•] (μmol/g)
C	26,55±4,11	6,29±0,56	0,64±0,2	0,31±0,01	0,149±0,035	10,69±0,26
DTrFAq	25,83±0,87	3,88±0,34*	0,59±0,05	1,52±0,5*	0,25±0,027 *	13,39±0,41***
DnTr	15,83±0,31*	2,62±0,04**	0,254±0,01**	2,14±0,03**	0,436±0,09***	20,74±0,40***
DTrMref	21,57±1,27	4,04±1,17	0,58±0,1	0,85±0,36	0,295±0,031**	11,37±0,43*
DTrEHE ₁	22,125±4,67	4,29±0,064	0,28±0,06**	2,085±1,45**	0,27±0,024*	13,62±0,1***
DTrEHE ₂	62,03±1,16***	6,79±1,21	0,68±0,04	1,053±0,31	0,263±0,01*	12,11±0,35***
DTrEHE ₃	69,39±0,55***	7,1±0,04	0,64±0,18	1,102±0,13	0,26±0,023*	12,07±0,08**
Foie	Cat (U/min/g)	GSH (μmol /g)	SOD (μmol/min/g)	MDA (μmol/g)	PC (μmol /g)	O₂[•] (μmol/g)
C	15,45±0,11	4,83±0,02	0,69±0,05	0,77±0,02	0,28±0,02	6,71±0,33
DTrFAq	24,43±2,5**	3,67±0,51	0,24±0,01***	2,31±0,83	0,28±0,03	8,28±0,01***
DnTr	12,09±0,5***	2,95±0,37*	0,129±0,03***	4,97±0,6***	0,33±0,02***	15,76±0,1***
DTrMref	20,99±2,3*	3,45±0,11*	0,59±0,04**	0,44±0,15	0,26±0,05	11,44±0,12***
DTrEHE ₁	45,32±3,17***	3,566±0,22	0,38±0,01***	3,47±2,07**	0,31±0,12**	13,28±0,31***
DTrEHE ₂	48,40±2,33***	4,76±1,04	0,56±0,03***	2,03±0,43	0,26±0,13	9,15±0,5***
DTrEHE ₃	57,18±0,65***	5,81±0,073*	0,54±0,04***	1,97±0,55	0,28±0,02	9,79±0,26***
Lysat	Cat (U/min/ml)	GSH (μmol /g)	SOD (μmol/min/g)	MDA (μmol/g)	PC (μmol/g)	O₂[•] (μmol/g)
C	25,51±0,03	1,70±0,31	0,238±0,05	1,08±0,12	1,955±0,213	14,306±0,09
DnTr	13,03±2,38***	0,26±0,39***	0,162±0,13***	2,53±0,04***	5,587±0,30***	20,583±0,16***
DTrFAq	15,41±2,13***	0,21±0,03***	0,247±0,04	0,86±0,16	3,44±0,9**	14,18±0,18
DTrMref	25,19±0,56	1,12±0,23*	0,297±0,30**	0,89±0,06	2,52±0,09*	13,86±0,72
DTrEHE ₁	13,96±1,02***	0,103±0,023***	0,231±0,04	2,1±0,7**	3,466±1,8**	18,24±0,91***
DTrEHE ₂	20,83±2,01*	0,85±0,13***	0,25±0,04	1,53±0,41*	3,2±0,35*	15,20±2,73*
DTrEHE ₃	18,36±1,61*	0,71±0,04***	0,27±0,12	1,136±0,04	2,137±0,45	15,437±1,98*

DTrFAq : Diabétique traité avec fraction aqueuse ; DTrEHE : Diabétique traité avec extrait hydro-éthanolique ; DTrMref : Diabétique traité avec molécule de référence de metformine ; C : Rat traité avec de l'eau physiologique ; DnTr : Diabétique non traité ; Cat : Catalase ; SOD : superoxyde dismutase ; GSH : glutathion réduit ; PC : protéines carbonylées ; O₂[•] : anion superoxyde ; MDA : malondialdéhyde. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à P < 0,05 ; *** : différence extrêmement significative à P < 0,001 et ** : différence très significative à P < 0,01.

Tableau A 5. Évolution de la croissance pondérale des mâles et des femelles dans le cadre de toxicité aigue

Groupes de rats	Poids corporel en (g)							
	J ₀	J ₂	J ₄	J ₆	J ₈	J ₁₀	J ₁₂	J ₁₄
Mâles								
Control	175,5	177	179,5	192,53	197,67	200	207,4	209,63
Ext 125	184,33	197,32 ^{***}	202,6 ^{***}	205,3	207,15	213,54 ^{***}	223,56 ^{**}	224,5 [*]
Ext 500	190,59 ^{**}	193 ^{***}	207,11 ^{***}	210,43	210,59	212,95	223,14 ^{***}	228,33 ^{***}
Ext 2000	206,66 ^{***}	210,22 ^{***}	214,1 ^{***}	216,1 ^{***}	221,1 ^{***}	224,4 ^{***}	230 ^{***}	235,33 ^{***}
Ext 5000	184,3 ^{***}	201,23 ^{***}	219,62 ^{***}	220,85 ^{***}	225,17 ^{***}	226,15 ^{***}	229 ^{***}	230 ^{***}
Femelles								
Control	156	157	160	173,3	175	180	185,33	190,5
Ext 125	151,33	152,06	149,55	141,03	146 ^{***}	149,66 ^{***}	149,66 ^{***}	150 ^{***} 150
Ext 500	165	167,66	163	165,66	169,25	170,33	163,3 ^{***}	165,66 ^{***}
Ext 2000	205,7 ^{***}	217,65 ^{***}	218,57 ^{***}	216,03 ^{***}	217,3 ^{***}	208,43 ^{***}	208,98 ^{***}	210,33 ^{**}
Ext 5000	182,6 ^{***}	191,84 ^{***}	202,96 ^{***}	198,64 ^{**}	193,85	194,96	193,64	184,3

Tableau A 6. Poids des organes des mâles et femelles traités par l'extrait hydro-éthanolique dans le cadre de toxicité aigue

Groupe de rats	Poids des organes en(g)					
	Cœur	Foie	Cerveau	Pancréas	Reins	Rate
Males						
Control	0,66	6,71	1,32	0,75	1,74	1,54
Ext 125	0,64	6,58 [*]	1,31	0,66	1,74	0,756 ^{**}
Ext 500	0,72	8,05 ^{**}	1,26	0,77	1,64	0,78 ^{**}
Ext 2000	0,76	8,05 ^{**}	1,36	0,76	1,66	0,66 ^{**}
Ext 5000	0,83 [*]	9,26 ^{**}	1,4	1	1,6	1,2 ^{**}
Femelles						
Control	0,68	6,71	1,62	0,9	1,74	1,54
Ext 125	0,66 [*]	6,64 ^{**}	1,53	0,88	1,52	0,96 ^{**}
Ext 500	0,67 [*]	7,58 ^{**}	1,51	0,99	1,25	0,72 ^{**}
Ext 2000	0,84 [*]	9,81 ^{**}	1,48	1,4	1,72	1,1 ^{**}
Ext 5000	0,6 [*]	5,93 ^{**}	1,13	1,03	1,23	0,7 ^{**}

Tableau A 7. Effets de l'extrait hydro-éthanolique sur les paramètres biochimiques chez les mâles et les femelles dandy le cadre de toxicité aiguë

Paramètres	Sexe	Contrôle	125mg/kg	500mg/kg	2000mg/kg	5000mg/kg
Urée (mg/dL)	Males	45,85±1,58	46,56±4,04**	48,33±4,72**	54,10±0,68***	72,14±1,42***
	Femelles	30,2±1,053	51,43±1,25***	45,23±4,34**	52,964±1,04***	57,53±1,18***
Creatinine (mg/L)	Males	4,25±0,10	0,63±0,05***	0,42±0,12**	4,01±0,61**	1,63±0,2**
	Femelles	5,80±0,424	1,6±0,02***	0,12±0,06***	1,73±0,256***	2,73±0,55***
AST (U/L)	Males	49,58±3,93	16,73±0,83***	16,95±0,82**	65,96±5,676**	164,5±1,75***
	Femelles	45,73±0,64	16,5±1,32***	83,3±4,24	116,08±1,00***	171,5±1,75***
ALT (U/L)	Males	34,36±0,42	23,4±3,29	132,61±2,17***	35,58±1,01***	42,58±2,67***
	Femelles	34,8±0,43	108,9±2,74***	143,6±3,67***	114,9±2,63***	266±2,02***
Protéines totales (g/dL)	Males	6,58±0,24	6,72±0,24	4,67±1,03**	4,17±0,44**	3,72±0,59**
	Femelles	5,73±0,09	6,25±1,08	4,69±0,88**	4,34±0,59**	5,699±3,05***
Cholestérol total (mg/dL)	Males	30,85±1,71	18,26±0,73***	18,35±0,65***	62,53±5,22	77,63±6,37
	Femelles	34,94±0,196	21,48±2,53**	39,86±0,26**	78,48±4,384***	81,012±3,8***
HDL-cholestérol (mg/dL)	Males	63,29±0,83	52,77±3,86*	260,47±0,43***	60,68±9,27	71,9±1,39*
	Femelles	63,35±0,99	53,09±0,59**	254,78±0,29***	102,78±0,56***	60,15±3,3***
TG (mg/dL)	Males	53,26±2,15	24,8±1,49***	18,99±2,6***	47,34±2,5***	36,34±1,12***
	Femelles	58,41±0,912	42,96±2,89**	22,533±1,755***	41,998±3,05**	47,343±4,1**
Glucose (mg/dL)	Males	1,59 ±0,17	1,059±2,2***	0,96,86±4,84***	1,61±3,065***	2,77±4,99***
	Femelles	1,25±0,76	1,44±1,45**	1,22±2,16	1,56±3,58**	1,42±4,2

AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferases; HDL: high density lipoprotein; TG: triglycerides.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à P < 0,05 ; *** : différence très significative à P < 0,001, ** : différence très significative à P < 0,01. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

Tableau A 8. Effets de l'extrait hydro-éthanolique sur les paramètres hématologiques chez les mâles et les femelles dans le cadre de toxicité aiguë

Paramètres	Sexe	Contrôle	125mg/kg	500mg/kg	2000mg/kg	5000mg/kg
HGB (g/dL)	Males	16,27±0,91	13±2,92*	14,63±0,03	14,45±0,03	14,3±,0,2
	Femelles	13,41±1,05	11,4±0,86	14 ±0,5	11,6±1,21	13,96±2,12
GR (10⁶/uL)	Males	8,89±0,16	6,93±1,72	6,71±1,59	7,58±0,23	7,67±0,25
	Femelles	8,24±0,03	7,13±0,41	7,11± 0,57	6,25±0,41*	6,95±0,93**
GB (10³/µL)	Males	7,29±0,85	5,39±20,05	4,23±0,51**	1,44±0,17***	6,22±0,75
	Femelles	6,35±2,23	4,13± 0,12	5,85± 2,38	4,36±0,06	4,12±0,1
HCT %	Males	44,28±0,47	43,27±0,59*	43,21±0,54*	43±0,01*	42,91±0,08*
	Femelles	42,33±0,56	31,4±0,86*	38,16±3,66	32,05±3,25*	34,45±4,6
Eosinophiles %	Males	0,95±0,54	1,47±1,96	3,3,15±3,22	1±0,97	0,93±0,7
	Femelles	1,41±0,14	1,63±0,66	0,63±0,12	1,33±1,15	1,13±1,02
Lymphocytes %	Males	60,35±2,27	60,33± 1,58	62,17±0,15	61,96±0,58	61,33± 3,15
	Femelles	57,37±3,44	51,85±0,63	59,43±4,82	50,8±0,14	55,8±0,71
Neutrophiles %	Males	12,87±1,91	12,9±0,84	13,53±1,26	14,33±01,8	11,56±3,82
	Femelles	10,06 ±0,13	8,65±0,49	8,7±0,28	17,44±3,57**	7,36±2,59
Monocytes %	Males	20,82±0,57	26,66±0,63	27,11±5,52	27,4±0,8	26,62±4,33
	Femelles	23,33±3,78	16,32±0,4	22,33±5,83	21,37±3,71	20,03±1,61
Basophiles%	Males	1,8±1,77	2,42±0,7	0,35±0,05	0,6±0,15	0,7±0,2
	Femelles	1,3±0,03	1±0,1	1,06±1,05	0,5±0,2	0,6±0,4
MCH (p g)	Males	18,27±0,36	18,83±0,56	18±0,1	19,43±0,07*	18,46±0,11
	Femelles	16,21±0,36	17,9±0,793	18,9±1,27*	18,93±1,55*	18,46±0,37*
MCHC (g/dL)	Males	29,16±0,94	27,13±1,47	27,33±0,31	26,23±0,21*	26,23±0,81*
	Femelles	35,21±0,71	36,55±0,11	37,06± 2,4	36,26±0,8	36,13±0,65
VGM	Males	51,86±2,52	49±0,05	48,16±0,2	52,4±2,17	50,86±2,12
	Femelles	51,96±0,5	49,97±0,93*	49,66±0,57*	51,33 ±1,15	50,13±0,32*
Platelet (10³/µL)	Males	695±30,51	710±5	688±1,00	574,5±1,5*	669,66±1,53
	Femelles	675,13±8,97	641,33±4,24	685,5±38,89	368,5±0,71*	725,5±54,5

MCH : Hémoglobine Corpusculaire Moyenne ; MCHC : Hémoglobine Corpusculaire Moyenne, HCT : Hématocrite, VGM : Volume Globulaire Moyen ; GR : globules rouges ; GB : globules blancs.

Les valeurs marquées d'un astérisque (*) sont significatives par rapport au lot témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. * : différence significative à P < 0,05 ; *** : différence très significative à P < 0,001, ** : différence très significative à P < 0,01. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA), suivies de tests post hoc établis par Tukey.

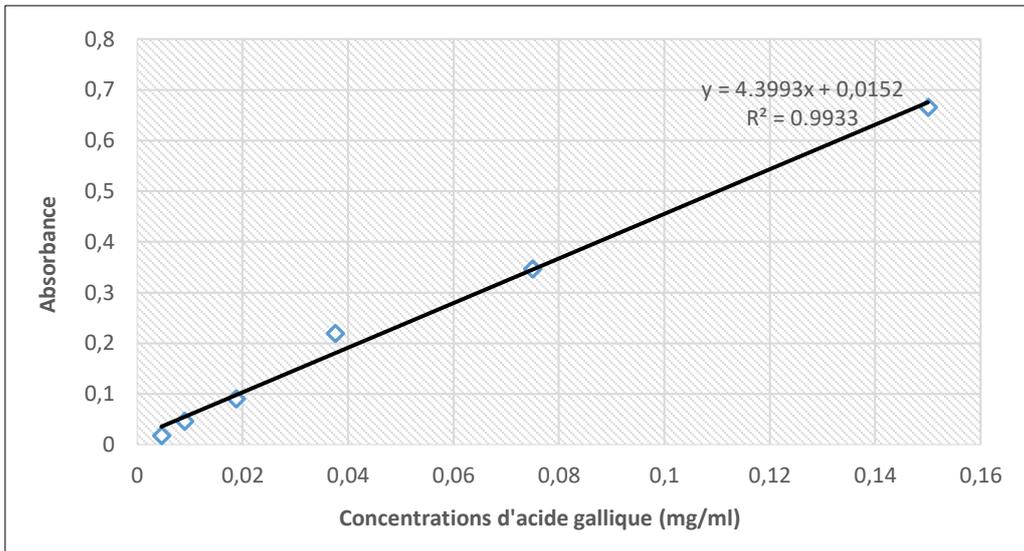


Figure A 1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des phénols totaux

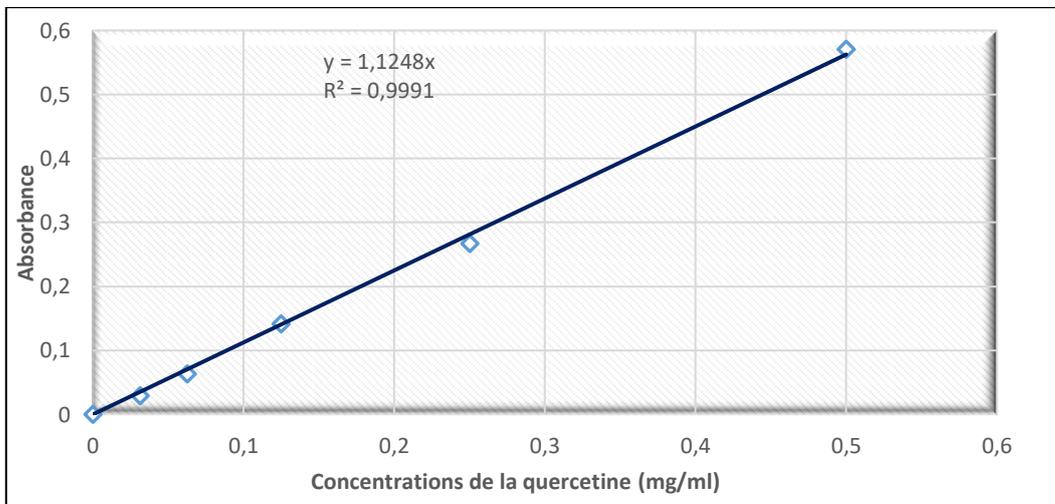


Figure A 2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

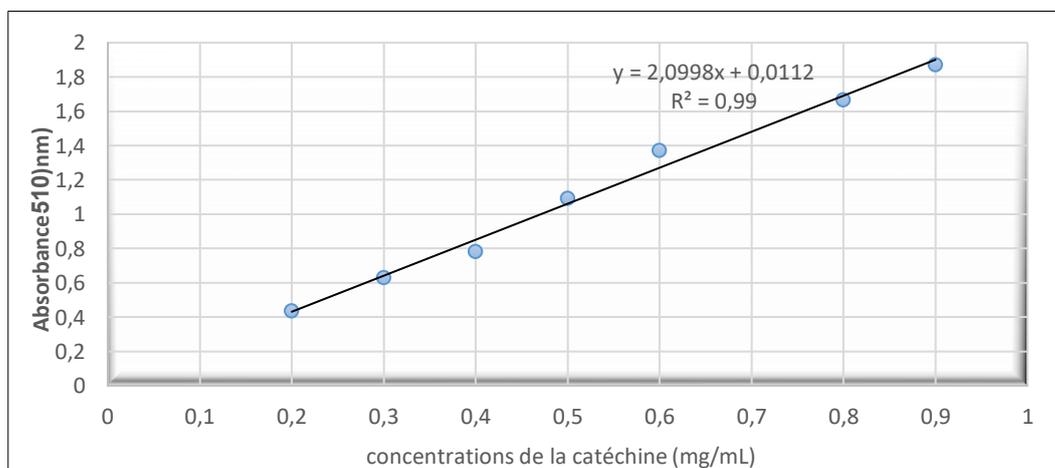


Figure A 3. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés