

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DEL'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 08 MAI 1945 GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire : Biologie moléculaire des procaryotes

Thème

Contribution à l'étude de l'effet du magnésium sur les complications du diabète provoquées par la carence en zinc

Présenté par : M^{elle} NECER Ahlem

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme. BOUKAMARA H. M.A.A

Université de Guelma

Examineur : Mr. BOUDEN I. M.A.A

Université de Guelma

Encadreur : M^{elle}. HAMDIKEN M. M.A.A

Université de Guelma

JUIN 2013

Résumé

Dans la présente étude, nous avons essayé d'étudier l'effet du magnésium sur la carence en zinc et leurs troubles métaboliques dans le diabète expérimental chez les rats *Wistar albinos*. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 25 rats diabétiques sous deux régimes alimentaires l'un pauvre en zinc et l'autre normal. La moitié des rats dans chaque lots reçoivent une dose quotidienne de magnésium sous forme de sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) par voie orale (10g/1L). Le gain de poids corporel est mesuré. Après trois semaines du traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.

A partir de nos résultats, on observe que les rats diabétiques non traités ont subi une chute de poids corporel significative.

Après l'injection de la streptozotocine à raison de 50 mg / kg, nous avons constaté une augmentation significative de la concentration du glucose, de cholestérol, de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique et des triglycérides, dans le sérum des rats alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par un régime alimentaire normal, l'histologie du pancréas a montré une nécrose au niveau des ilots de Langerhans conduisant à leur disparition totale .

Egalement, il existe une diminution significative de l'activité enzymatique des rats diabétiques alimentés par un régime pauvre en zinc par rapport aux diabétiques normaux. Par contre les résultats de dosage de l'MDA montrent qu'il ya une augmentation remarquable de taux de l'MDA chez les diabétique pauvre en zinc comparativement aux diabétique normaux.

Par ailleurs, le traitement par le magnésium a amélioré tous les paramètres physiologiques et biochimiques approximativement à leurs niveaux normaux et surtout une activité cytoprotectrice vis à vis le pancréas en préservant la capacité de la sécrétion d'insuline.

Comme conclusion, nous pouvons dire que le magnésium a réduit la sévérité du développement de diabète provoquée par la carence en zinc.

Mots clés: Le magnésium, zinc, diabète expérimental, Rats, stress oxydant.

المخلص

في دراستنا الحالية، حاولنا دراسة تأثير المغنيسيوم على نقص الزنك والاضطرابات الأيضية في مرض السكري التجريبي على الجرذان البيضاء ويستار، تتبع نظاما غذائيا منخفض في الزنك. و هي دراسة تجريبية في المختبر على 25 من الجرذان المصابة بداء السكري في اثنين من الوجبات الغذائية، منخفضة في الزنك وأخرى تحتوي على غذاء عادي (100 ملغ / كلغ). نصف الفئران في كل مجموعة حيث يتم إعطاء جرعة يومية من المغنيسيوم في شكل كبريتات المغنيسيوم عن طريق الفم (10 غ\ل). يتم قياس زيادة الوزن. بعد ثلاثة أسابيع من العلاج، ثم ذبح الفئران وتحديد مختلف المعايير.

من نتائجنا، لوحظ أن الجرذان المصابة بداء السكري دون علاج قد تعرضت لانخفاض كبير في وزن الجسم. بعد الحقن بالستربتوزوتوسين بجرعة (50 مغ / كغ)، وجدنا زيادة كبيرة في تركيز الجلوكوز و الكوليسترول و اليوريا والكرياتينين وحمض اليوريك والدهون الثلاثية في مصل التي تغذت على حمية الزنك مقارنة مع الفئران التي تغذت على نظام غذائي عادي.

أيضا، هناك انخفاض ملحوظ في نشاط انزيم الكاتالاز في الجرذان المصابة بداء السكري و التي تتبع نظاما غذائيا منخفض في الزنك مقارنة بمرضى السكري و التي تتغذى بنظام غذائي عادي. في مقابل نتائج الفحص للمديا أكدت أن هناك زيادة ملحوظة في مستوياتها في الفئران من الزنك السكري مقارنة مع مرضى السكري والتي تتغذى على نظام عادي.

وعلاوة على ذلك، المعاملة بالمغنيسيوم حسنت جميع المستويات حوالي الفسيولوجية والكيموحيوية و الأنسجة. وختاما، يمكن القول أن المغنيسيوم خفض شدة الإصابة بمرض السكري وخاصة نشاط البنكرياس حيث أصبحت قادرة على إفراز الأنسولين.

كلمات البحث: المغنيسيوم، زنك، مرض السكري التجريبي، الجرذان، الاكسدة.

Abstract

In our present study, we tried to study the effect of magnesium on zinc deficiency and metabolic disorders in experimental diabetes in Wistar albino rats, fed a diet low in zinc. This is an experimental study in the laboratory on 25 diabetic rats in a two diets low in zinc and the other containing normal (100 mg / kg). Half of the rats in each batch are given a daily dose magnesium as magnesium sulfate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) orally (10g/1L). The weight gain is measured. After three weeks of treatment, the rats were sacrificed and the various parameters are determined. From our results, it is observed that the untreated diabetic rats have suffered a significant drop in body weight.

After injection of streptozotocin at 50 mg / kg, we found a significant increase in the concentration of glucose, cholesterol, urea, créatinine, uric acid and triglycerides in serum fed a diet zinc compared to fed a normal diet rats.

Also, there is a significant decrease in enzyme activity in diabetic rats fed a diet low in zinc from normal diabetics. As against the assay results of the MDA show that there is a remarkable increase of MDA levels in diabetic poor zinc compared to normal diabetic.

Furthermore, treatment with magnesium has improved all the physiological, biochemical and tissue parameters approximately normal levels.

As a conclusion, we can say that the magnesium reduced the severity of development of diabetes caused by zinc deficiency. In other words, magnesium can be increased zinc absorption which probably led to the synthesis and secretion of insulin.

Keywords: Magnesium, Zinc , experimental diabetes, Rats, oxidative stress.

Remerciements

Avant tous mes plus sincères remerciements à mon dieu qui ne cesse de faire ses merveilles dans ma vie, en me donnant la force et le courage pour réaliser ce travail.

Ce travail a été effectué au sein des laboratoires de département des sciences de la nature et de la vie, à l'université 08 Mai 1945 à Guelma. ; sous la direction des ingénieurs qui m'ont facilité le travail: Ratiba, Ghania, Asma, Leila et Houria.

Mes sincères remerciements vont à mon encadreur, M^{elle} HAMDIKEN Malika, qui m'a donné l'opportunité de réaliser ce projet de fin d'étude, je la remercie chaleureusement de la confiance qu'elle a toujours accordée durant ce mémoire, pour sa disponibilité sans faille, ses précieux conseils scientifiques et ses encouragements qui m'ont indiscutablement permis d'évoluer.

Je tiens à remercier Mme BOUKAMARA HANAN. M.A.A à l'université de Guelma, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce travail, recevez l'expression de mon plus profond respect et toute gratitude.

Tous mes remerciements à Mr BOUDENE Ismail. M.A.A à l'université de Guelma, de m'avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire. Tout l'honneur lui en revient.

Je tiens à remercier très chaleureusement Mr BELADDI Abdenour, technicien au niveau de la polyclinique d'Héliopolice Guelma, pour m'avoir aidé à la réalisation des tests biochimiques.

J'adresse également mes remerciements à M^{elle} BOUZITOUNA Amina. M.A.A à l'université de Badji Mokhtar Annaba, pour sa gentillesse et son aide durant toute la période d'étude.

Je tiens à remercier également M^{elle} DOUAOUYA Lilia. M.A.A à l'université d'El Hadj Lakhder Khenchela, pour ses conseils précieux. Je lui exprime mon profond respect.

Et enfin, à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, puissent trouver ici l'expression de ma haute gratitude.

DEDICACES

Louange à « Allah » maître de l'univers et paix de salut sur notre prophète « MOUHAMED » صلى الله عليه وسلم

Je dédie particulièrement ce travail à mes chers parents pour leurs appuis et leurs prières ; Mon père Louhaichi , qui s'est donné corps et âme pour moi, sans compter pour me permettre d'arriver à ce stade de réussite et de concrétiser mes rêves. Ma mère Noura, la fleur de ma vie et la clairance de mes yeux, le symbole de tendresse et de gentillesse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur.

A mes adorables frères : Nour El Houda , Khaled et surtout la petite princesse Imen ; tout en souhaitant davantage de succès dans leur études et leur vie.

Il n'y a pas point de mots capables de véhiculer et d'exprimer mes plus sincères sentiments à ma chère sœur Wafa.

A toute les familles : Necer, Ziani, Mourakèb, Nasri et Nimri.

A tous mes oncles : Mouhamed , Rahman, Ali , Hassnaoui , Houcine et Hacem.

A mes tentes : Khadra, Halima, Zahia et Zohra.

A ma proche et chère amie Djahida et toute sa famille.

A mes amies :

Hamida, Ghalia, Mounira, Nadia, Soraya, Houria, Dalila, Louiza, Hadda, Samiha, Hanna, Nour El houda, Ibtissem, Hannan, Aicha, Nada, Azhar, Nessrin, Naima, Aya, Takwa, Afef et Abir .

A mes collègues : Walid, Abed El nour, Riad, Sami, Houcine et Mouhamed, qui vont aider de mon travail.

A tous ceux que j'aime et que je tiens en estime.

A tous ceux qui sont pour la science, le savoir je dédie ce travail.

Ahlem

Liste des abréviations

AGE	Produits de glycation avancée
DID	Diabète insulino-dépendant
DNID	Diabète Non Insulino-Dépendant
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxydé
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HOCl	Acide hypochlorique,
O ₂	Oxygène
O ₂ ^{•-}	Radical Superoxyde.
OH [•]	Radical Hydroxyle.
ONOO ⁻	Peroxynitrites
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROO [•]	Radical peroxyde
ROS	Reactive oxygen species
RL	Radicaux Libres
STZ	Streptozotocine
GPx	Glutathion peroxydases
NO [•]	Monoxyde d'azote
SOD	Superoxyde dismutase
TRX	Thiorédoxine.

Sommaire

INTRODUCTION

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le diabète

1.1. Caractéristiques générales du diabète.....	01
1.2. Définitions du diabète.....	01
1.3. Classification du diabète.....	01
1.3.1. Le diabète de type 1 ou insulino-dépendant (DID)	01
1.3.2. Le diabète de type 2, ou non insulino-dépendant (DNID).....	02
1.3.3. Autres formes du diabète.....	02
1.4. Facteurs favorisant le diabète.....	04

2. Diabète et stress oxydant

2.1. Sources de radicaux libres au cours des états d'hyperglycémie	05
2.2. Traitement du diabète	08
2.2.1. Médicaments antidiabétiques.....	08
2.2.2. Les antioxydants	08

3. Diabète et zinc

3.1. Définition et rôle du zinc.....	09
3.2. Sources et apports alimentaires.....	10
3.3. Zinc et stress.....	10
3.4. Zinc et diabète.....	11

4. Le magnésium

4.1. Description du magnésium.....	11
4.2. Répartition du magnésium dans l'organisme.....	12

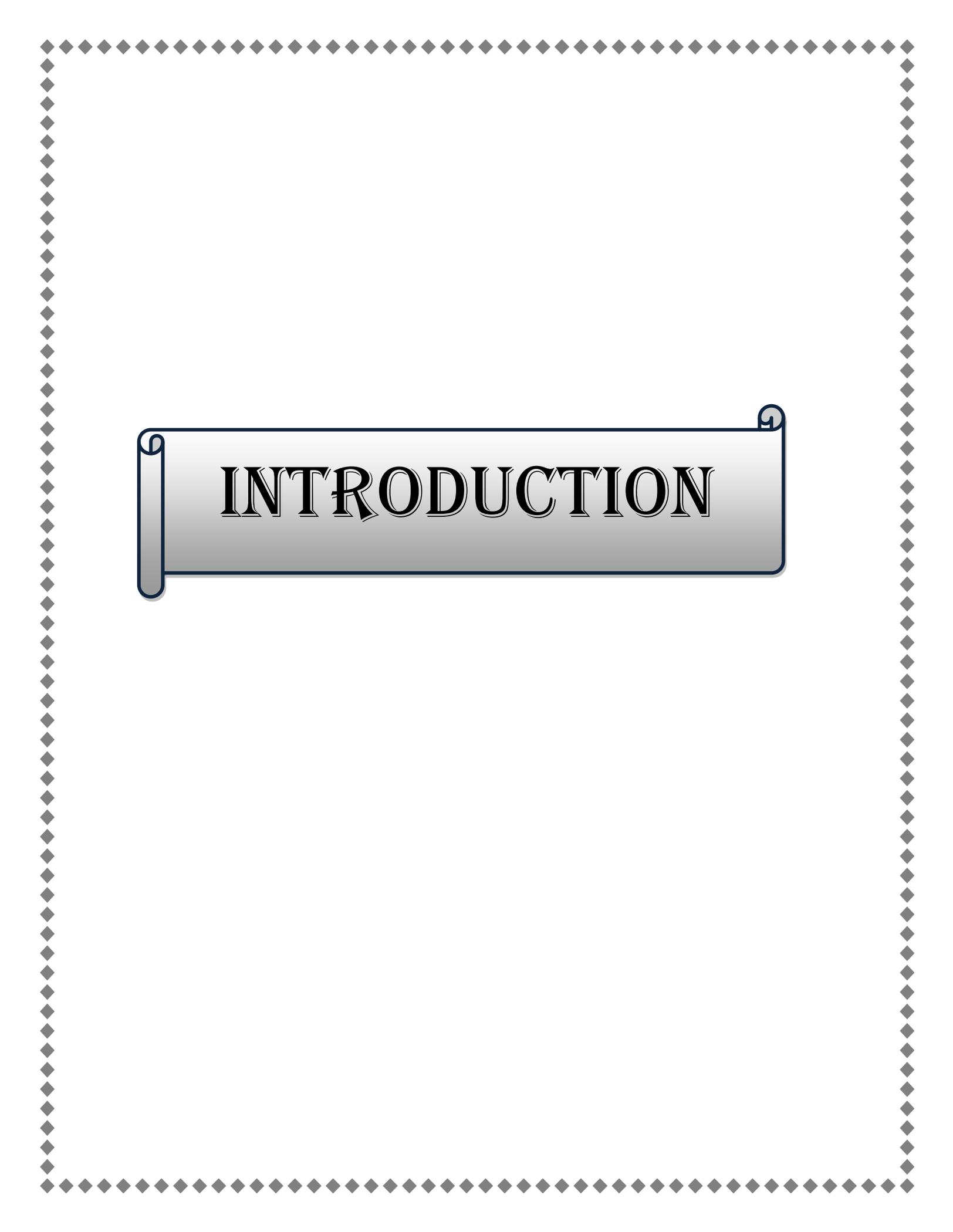
4.3. Actions cellulaires du magnésium.....	12
4.4. Magnésium et stress.....	13
4.5. Magnésium et diabète.....	13
MATERIEL ET METHODES.....	14
RESULTATS	32
DISCUSSION.....	45
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	

Liste des figures

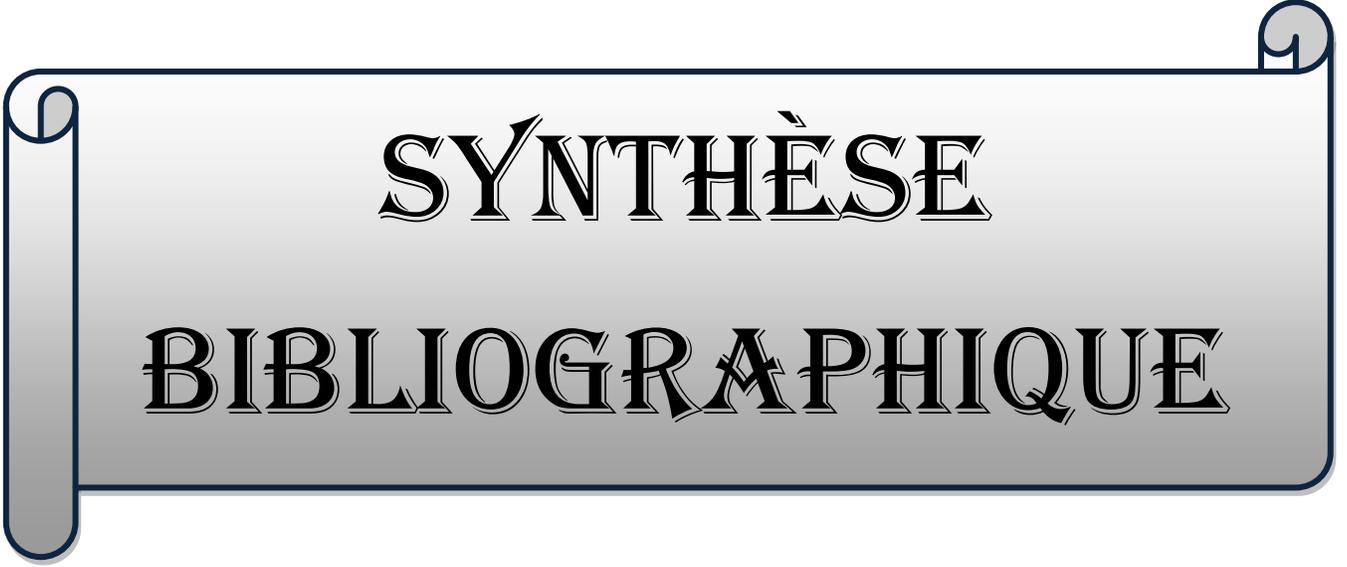
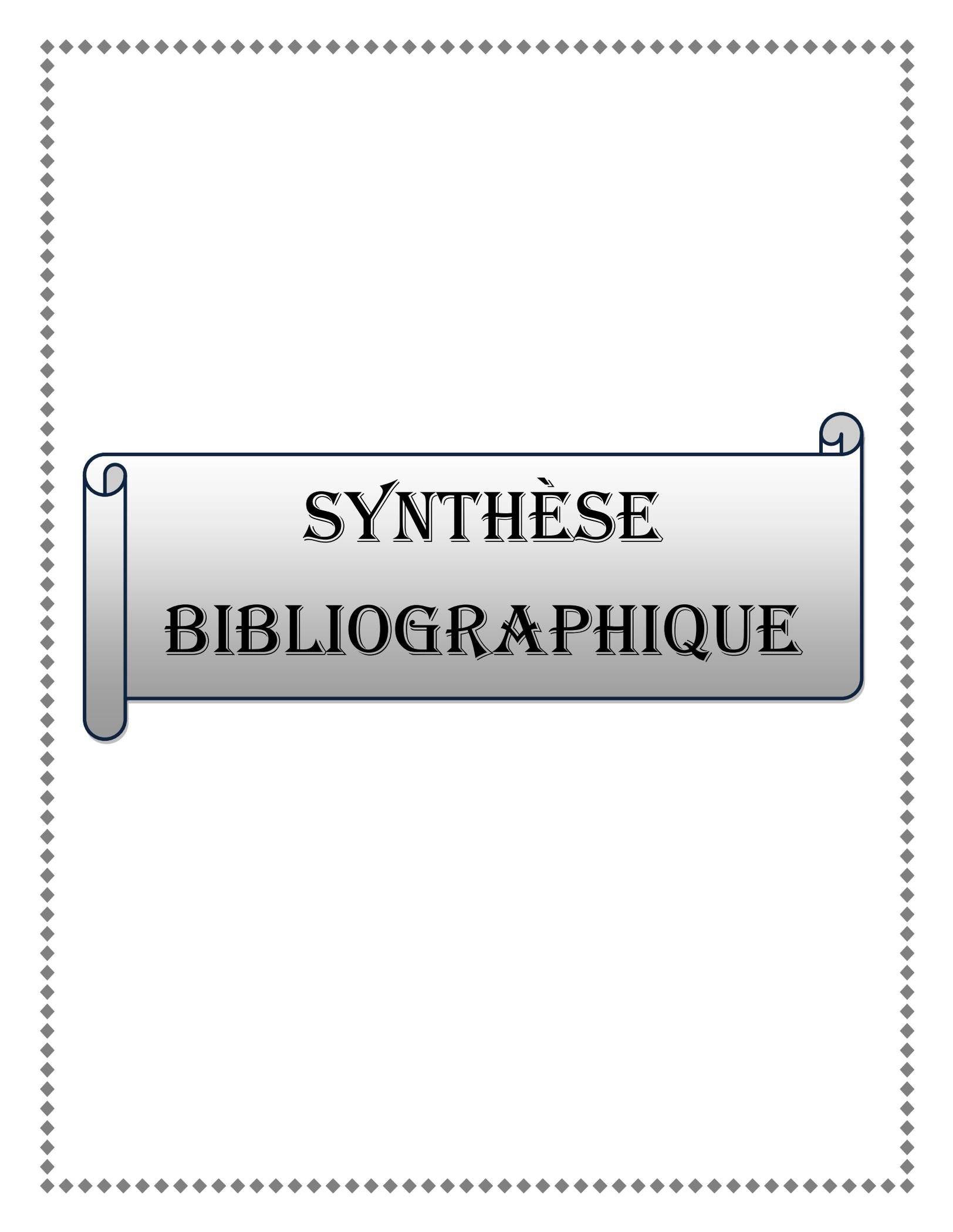
N°	Titre	Page
01	Voie des polyols induite par l'hyperglycémie	05
02	Contribution de l'angiotensine II dans la production de radicaux libres	07
03	Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire	08
04	Schéma récapitulatif du Protocole expérimental	18
05	Formation d'adduit MDA – TBA (1 :2)	28
06	Suivie du poids des rats durant le traitement (gramme).	33
07	Gain ou perte du poids.	33
08	Glycémie des rats de différents lots	35
09	Courbe du suivi de la glycémie durant la période du traitement.	35
10	Concentration sérique du cholestérol	36
11	Concentration sérique de la créatinine	37
12	Concentration sérique des triglycérides	37
13	Concentration sérique de l'urée	38
14	Concentration sérique de l'acide urique	38
15	Courbe de l'MDA	40
16	Taux de l'MDA dans le foie	40
17	Taux de l'MDA dans le rein	41
18	Taux de l'MDA dans le cœur	41
19	Taux de catalase dans le foie	42
20	Taux de catalase dans le rein	43
21	Taux de catalase dans le cœur	43
22	Photos des coupes histologiques du pancréas	44

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	La composition de la nourriture.	15
02	La quantité des métaux.	16
03	Effet de médicament antidiabétique (Glibenclamide) et le magnésium sur le gain du poids corporel.	32
04	Effet de médicament antidiabétique (Glibenclamide) et le magnésium sur la glycémie des rats.	34
05	L'évolution des paramètres biochimiques	36

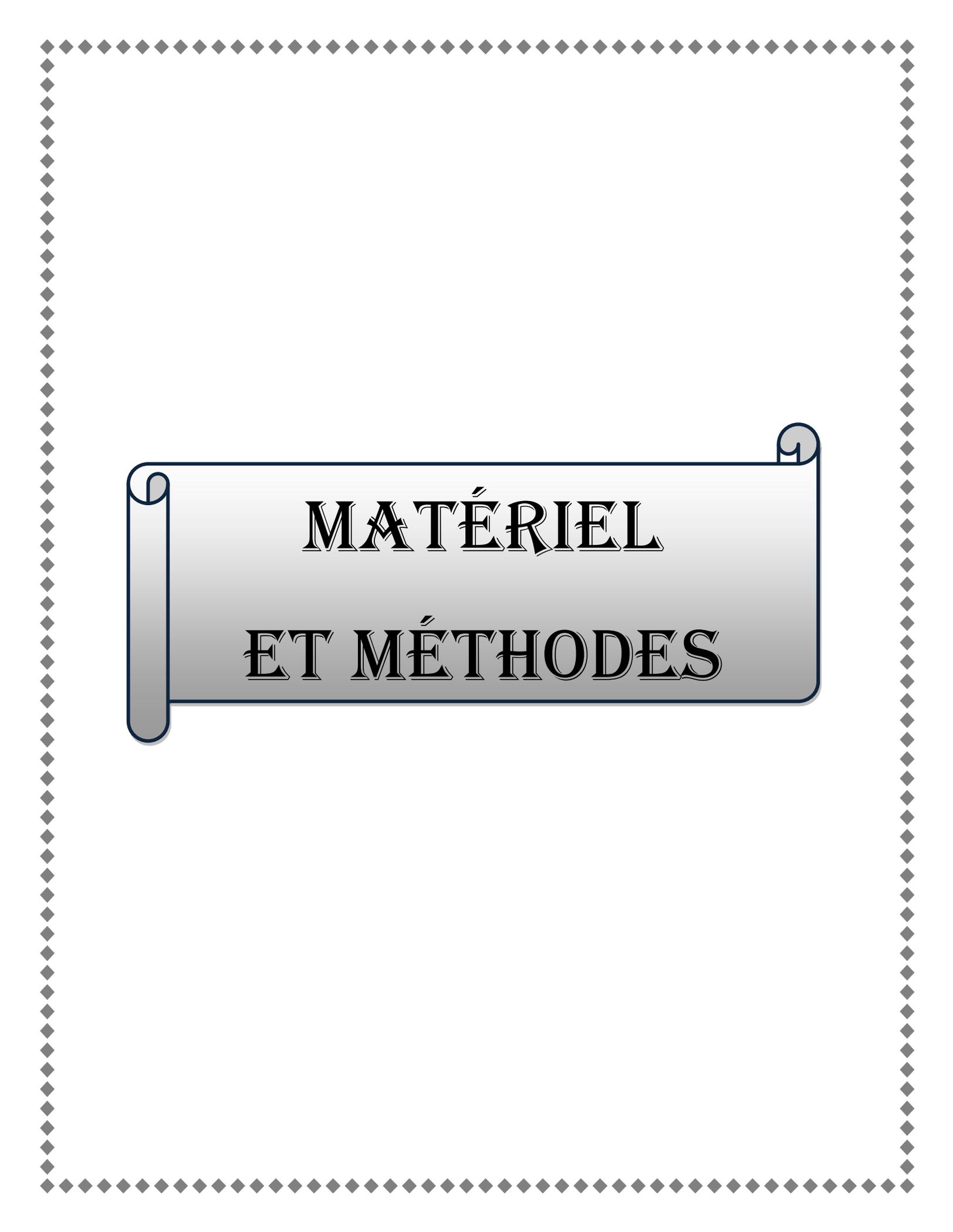


INTRODUCTION

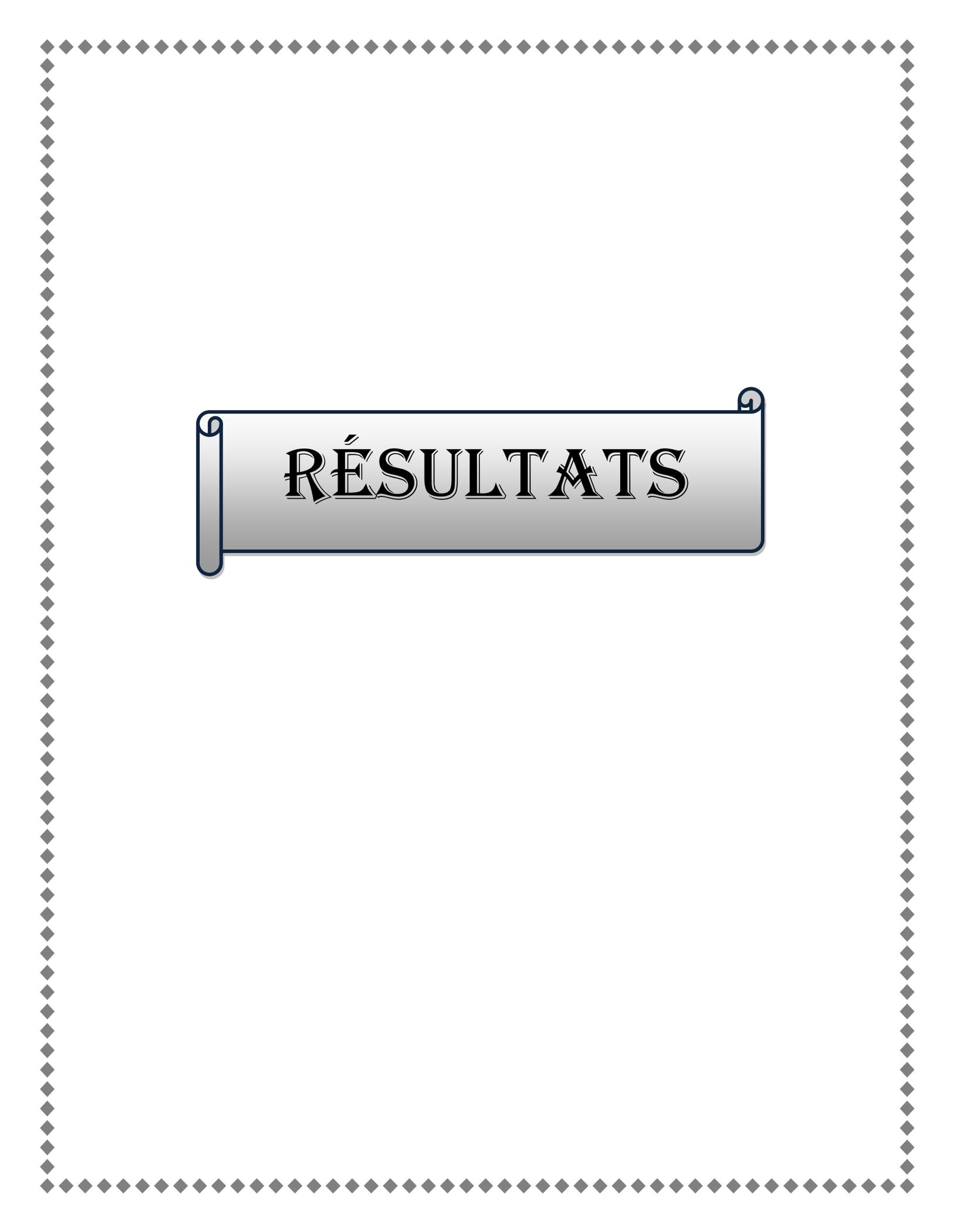


SYNTHÈSE

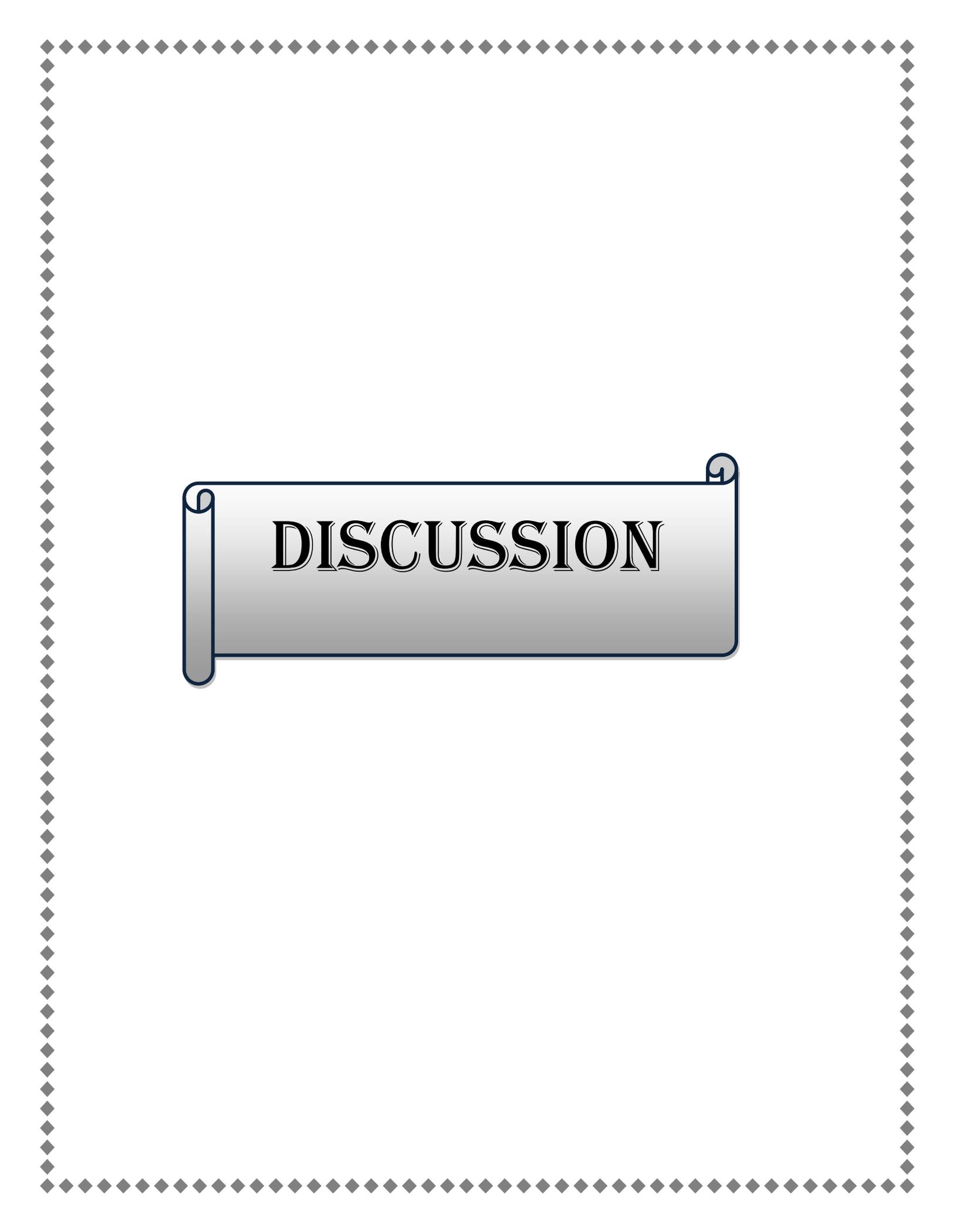
BIBLIOGRAPHIQUE



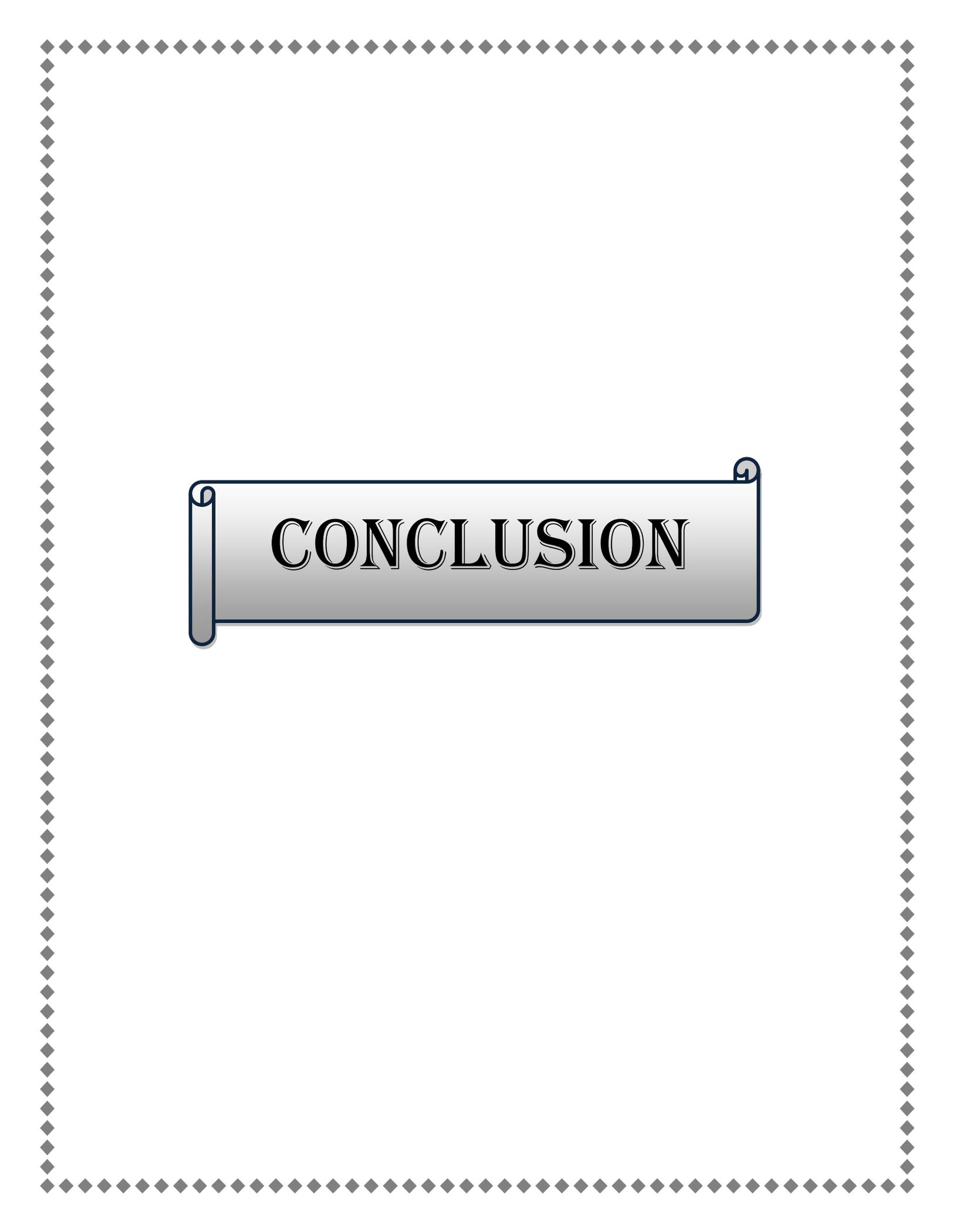
**MATÉRIEL
ET MÉTHODES**



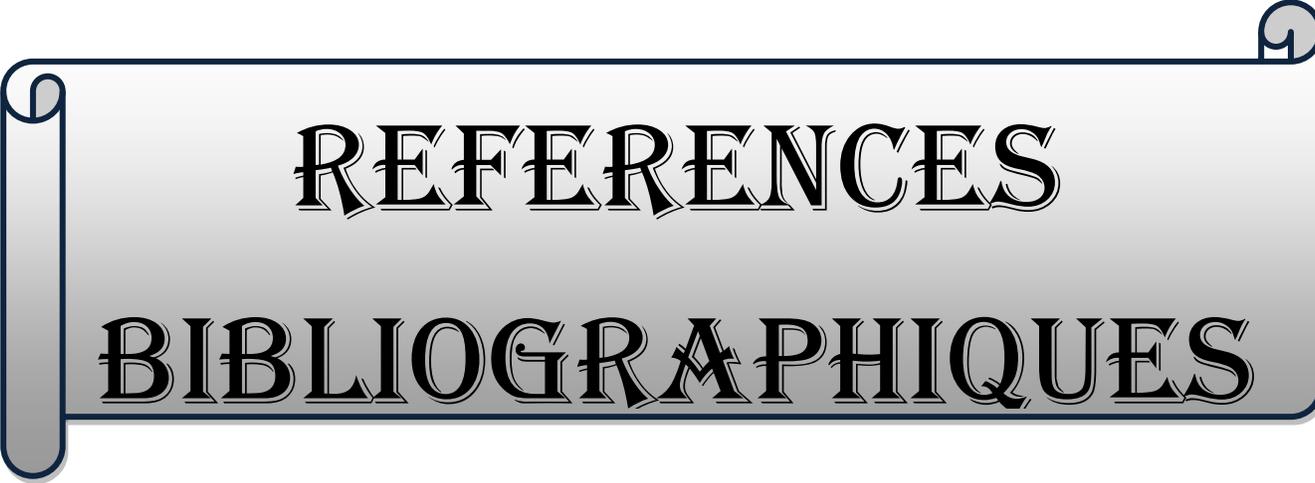
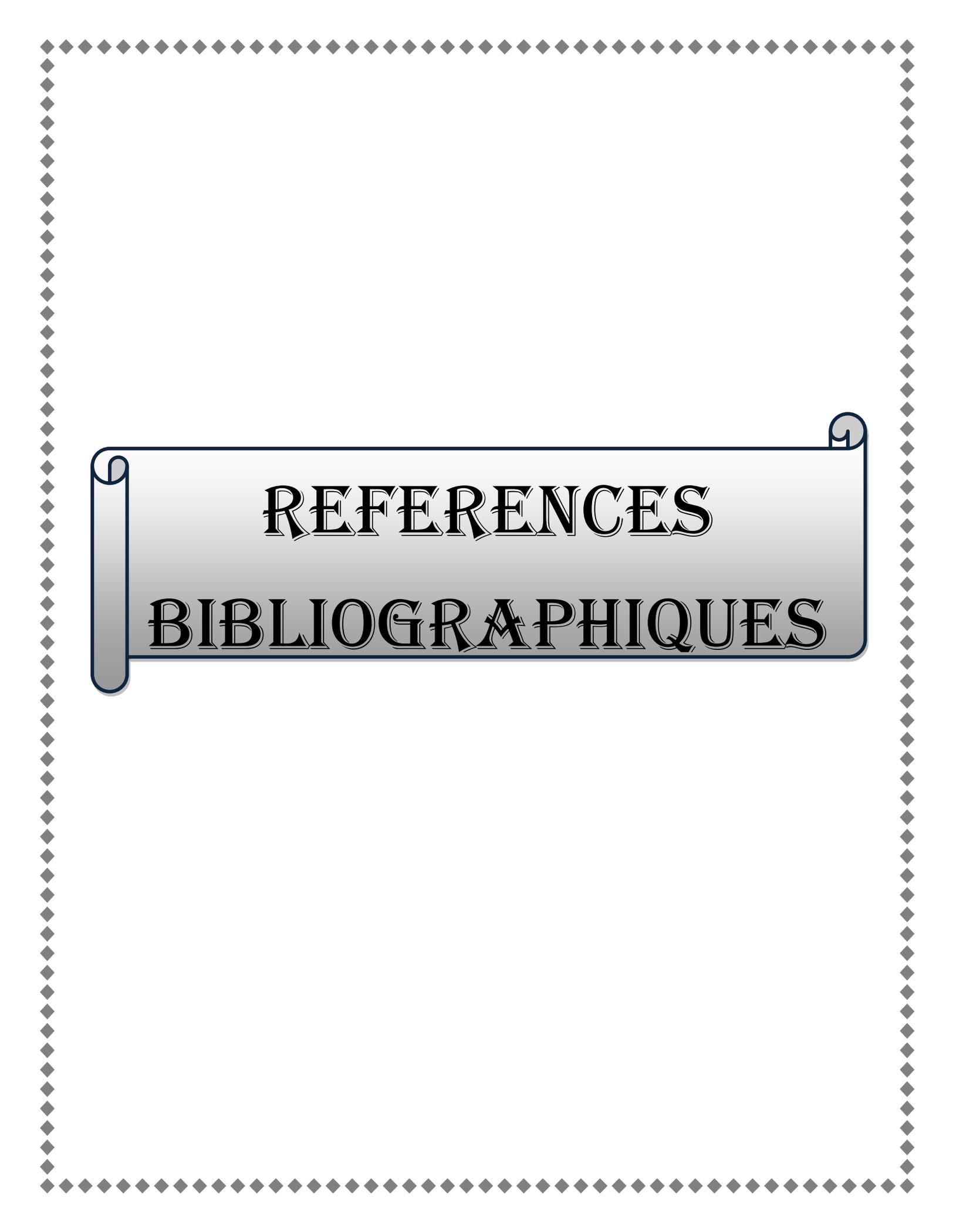
RÉSULTATS



DISCUSSION



CONCLUSION



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Introduction

Le diabète, ou diabète sucré, est un trouble du métabolisme du glucose qui perturbe le stockage et l'utilisation par l'organisme de ce carburant nécessaire à son énergie [18]. Ce trouble résulte soit d'un défaut, partiel ou complet, du pancréas à synthétiser l'insuline, soit d'une inaptitude des cellules à utiliser l'insuline pour absorber le glucose [18].

Comme il est mal absorbé par les cellules, le glucose s'accumule dans le sang et cause l'hyperglycémie. Les cellules étant privées de leur principale source d'énergie, il s'ensuit forcément des complications physiologiques et métaboliques importantes [18].

Le glucose constitue une source de carburant essentielle pour l'organisme. Il provient de deux sources : des aliments riches en glucides que l'on ingère et du foie (qui stocke le glucose après un repas et le déverse dans le sang au besoin). Une fois extrait des aliments par le système digestif, le glucose passe dans le sang. Pour que les cellules du corps puissent utiliser cette indispensable source d'énergie, elles ont besoin de l'intervention d'une hormone appelée insuline, qui est synthétisée par le pancréas. L'insuline permet au glucose de passer du sang aux cellules pour y jouer son rôle de carburant. C'est le point de départ du métabolisme normal du glucose [18].

Le zinc est un oligo élément essentiel, il joue un rôle important dans la plupart des métabolismes (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Il agit aussi au niveau du métabolisme hormonal, il intervient dans la sécrétion et le stockage d'insuline au niveau des cellules bêta du pancréas, et pourrait également jouer un rôle dans l'utilisation du glucose par les muscles et les cellules adipeux [18]. L'absence ou la carence de ce métal induit des troubles dans la synthèse, le stockage et la sécrétion d'insuline [18], et par conséquent des troubles dans la régulation de la concentration sérique du glucose. Celle-ci favorise les complications du diabète [18].

Le traitement de ces complications constitue une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Ceci est en vue de trouver de nouvelles solutions pour prévenir, voir ralentir la survenue des complications physiologiques et métaboliques résultantes de la carence en zinc.

De nombreuses études, ont montré que le magnésium est un élément essentiel depuis longtemps, en réglant beaucoup d'activités métabolique [19]. Il amélioré la sensibilité à l'insuline et diminué du stress oxydant [67].

A cet effet, nous avons étudié dans le cadre de cette étude, l'effet du magnésium sur les complications du diabète dans le cas d'une carence en zinc, par l'évaluation de quelques paramètres au niveau de l'aspect physiologique, biochimique et histologique.

La première section de ce travail s'attachera à donner quelques rappels bibliographiques sur le diabète, le stress oxydant, le zinc et le magnésium.

La deuxième section du mémoire présentera les résultats de l'effet du magnésium sur des rats diabétiques alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc, en évaluant les aspects suivants :

- Etude de la variation du poids corporel.
- Dosage des paramètres biochimiques et tissulaires.
- Etude histologique sur le pancréas.

Matériel et méthodes

1)-les animaux

Cette étude a été réalisée sur un échantillon de 25 rats males de la souche *Wistar albinos*, âgés d'environ 10 semaines et pesants 120– 200g. Ils sont ramenés de l'institut de *PASTEUR* d'Alger.

Les rats sont regroupés dans des cages collectives grillagées munies par une mangeoire et d'un biberon d'eau. Les cages sont nettoyées régulièrement et tapissées de litière qui est changée une fois tous les deux jours jusqu'à la fin du traitement.

Signalons que l'élevage des rats a été effectué au niveau de l'animalerie du département de biologie (université 08 Mai 1945 ; Guelma) où règne à une température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité. Ces mammifères ont librement accès à la nourriture spéciale aux rats et d'eau.

Quelques jours après, le diabète sucré est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit par une injection intra péritonéale unique d'une solution de streptozotocine à raison de 50mg/kg de poids. La solution de la streptozotocine est fraîchement préparée dans une solution froide de tampon citrate 4.5 mM. [4].

La streptozotocine est capable d'induire une hypoglycémie fatale résulte d'une sécrétion pancréatique massive de l'insuline. [26].

Après l'administration de la streptozotocine et pour prévenir son effet fatal, les rats reçoivent une solution glucosée à 5 % pendant 48 heures. Généralement, le diabète se stabilise chez les rats après trois jours de l'injection.

72 heures après l'injection, on a mesuré la glycémie des cinq lots à l'aide d'un glucomètre sur un intervalle de 30 minutes et quand on est sûr que le diabète est induit, on a réparti les rats en cinq groupes avec accès à un régime alimentaire expérimental.

2)- La préparation de la nourriture

La préparation de la nourriture est basée sur les matières premières mentionnées dans le tableau 01 selon la méthode suivante:

- ✓ Peser chaque métal seul et le broyer.
- ✓ Peser et mélanger les autres éléments alimentaires (mais, saccharose, cellulose, protéines et les vitamines) pendant 15 minutes.
- ✓ Ajouter les métaux avec les pourcentages mentionnés dans les tableaux (02-03).

La nourriture préparée est répartie en deux parties, ajouter le zinc dans la première partie (régime alimentaire normal) et la deuxième partie reste sans zinc (régime alimentaire pauvre en zinc).

Ajouter la quantité adéquate de l'huile de maïs dans chaque partie et mélanger pendant 15 minutes.

Tableau 01: La composition de la nourriture. [18].

Les matières premières	La quantité (g/kg nourriture)	Le pourcentage (%)
Mais	326	32,6
Saccharose	326	32,6
Protéines	168	16,8
Cellulose	40	04
Métaux	40	04
Vitamines	20	02
l'huile de maïs	80	08

Tableau 02 : la quantité des métaux [18].

Le métal	La quantité (mg/kg nourriture)
ZnCO ₃ (-)	100
FeSO ₄ (-)	144
CuSO ₄ , 5H ₂ O	23
KIO ₃ (-)	01
MnSO ₄ , H ₂ O	180
Le métal	La quantité (g/kg nourriture)
CaHPO ₄ (-)	13
Na ₂ HPO ₄	7,4
CaCO ₃ (-)	8,2
KCl	7,03
MgSO ₄ , H ₂ O	04

3)- Traitement des animaux

Les 25 rats sont répartis en cinq lots égaux (05 rats/lot).

- ❖ **1^{ère} Lot:** Des rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal.
- ❖ **2^{ème} Lot:** Des rats diabétiques sous un régime alimentaire normal.
- ❖ **3^{ème} Lot:** Des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc.
- ❖ **4^{ème} Lot:** Des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc et traités par un médicament antidiabétique (Glibenclamide).

❖ **5^{ème} Lot:** Des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc et traités avec par le magnésium.

- Le traitement par le Glibenclamide a été effectué par gavage avec une dose de 2.5 mg/kg de poids pendant 21 jours. [3].
- Le traitement par le magnésium a été effectué par voie orale une fois par jour pendant 3 semaines avec une dose de 10g de sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) dans 1L d'eau pour le 5^{ème} lot. [27].

L'évolution de la glycémie à jeun, ainsi le poids des rats de différents groupes est contrôlée dès le premier jour du traitement et hebdomadairement jusqu'à la fin du traitement.

4)- Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins se font par sacrifice à la fin du traitement (22^{ème} jour).

Les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes héparinés, puis centrifugés à 3000 tours / minute pendant 15 minutes .Le sérum est séparé en deux ou trois fractions dans des tubes Eppendorf, puis mis à (-20° C) jusqu' au moment de l'analyse des paramètres biochimiques.

5)- Prélèvement des organes

5-1)- Préparation des homogénats :

Après la dissection, des échantillons de foie, du cœur, des reins de tous les lots sont prélevés. Après le rinçage des échantillons dans une solution chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9 %. Un fragment de chaque organe doit être coupé en petits morceaux, pesé et enfin homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur dans une solution de KCl 1.15% à raison de 10% p/v. [4].

L'homogénat obtenu est centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes pour éliminer les débris cellulaires. Ensuite, le surnageant est récupéré dans des tubes secs est stocké à -20°C jusqu'à l'utilisation pour les dosages tissulaires. [4].

5-2)- Préparation des échantillons des coupes histologique :

Pour l'étude histologique, des échantillons de foie, et du pancréas doit être rapidement prélevés. Les organes doivent être rapidement prélevés notamment le pancréas pour éviter son

autolyse qui s'effectue après quelques instants de la mort de l'animal. Après le rinçage des échantillons avec l'eau physiologique froide, ils sont immédiatement fixés dans une solution de formol 10%.

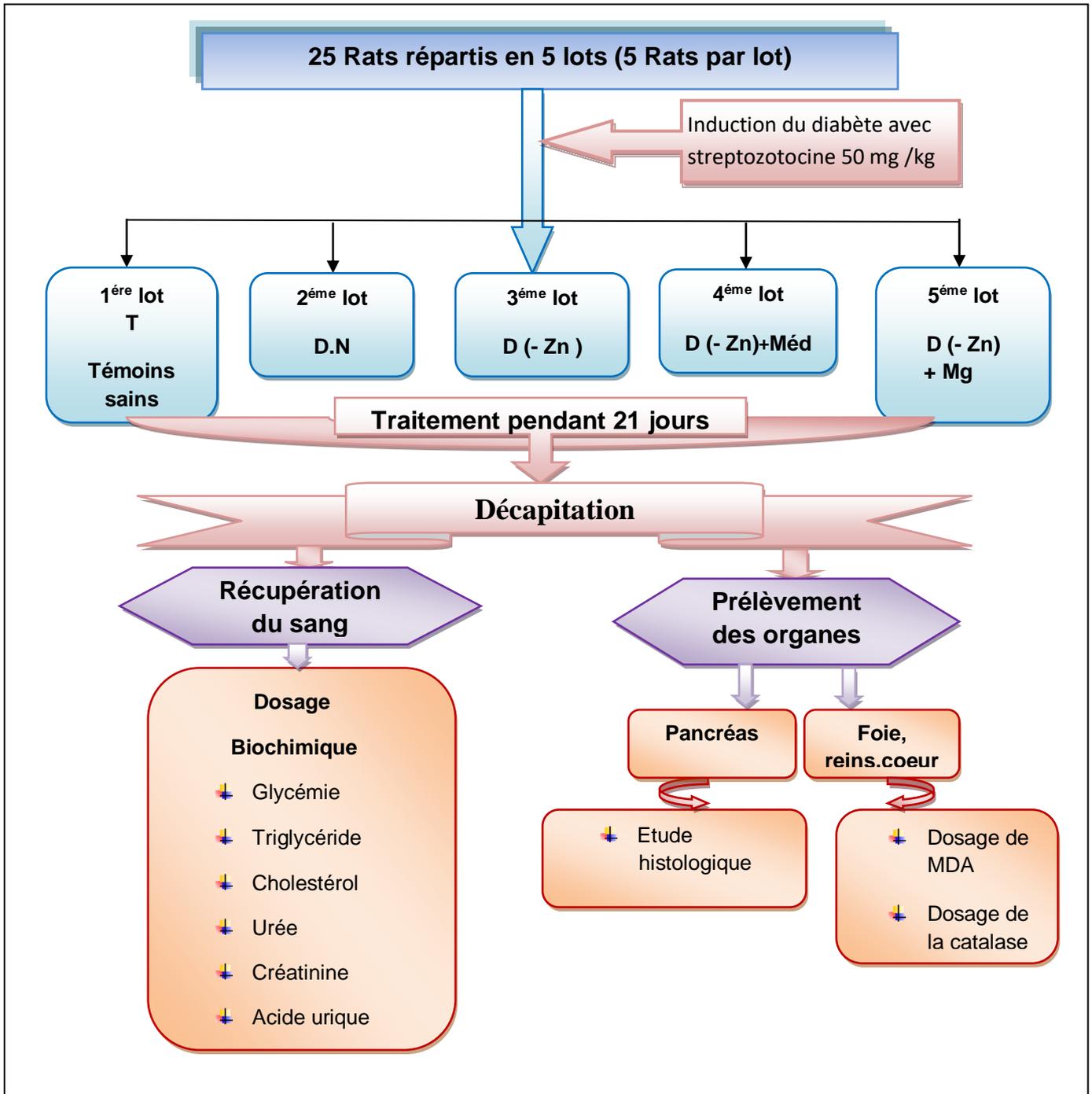


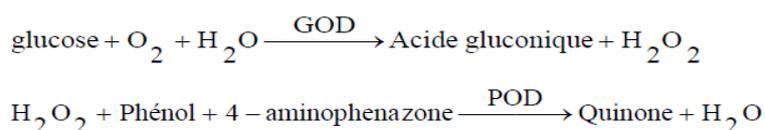
Figure 04 : Schéma récapitulatif du Protocole expérimental.

6)- L'analyse des paramètres biochimiques

6-1)- Dosage du glucose : Selon la fiche technique **Spinréact**. [28].

❖ **Principe :**

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase et la peroxydase, selon les réactions suivantes :



❖ **Echantillon :** sérum.

❖ **Les réactifs utilisés:**

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁) (Tampon)	-Tris pH = 7.4 -Phénol	92 mmol /l 0.3 mmol/l
Reactif (R ₂) (Enzymes)	- Glucose oxydase (GOD) - Peroxidase (POD) - 4- aminophenazone (4-AP)	15000 U/l 1000 U/l 2.6 mmol/l
Etalon	-Solution de Glucose	100 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète .Ce réactif de travail est stable un mois à 2-8 °C, ou 7 jours à 15-25 °C.

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT	1 ml	1 ml	1 ml
Etalon	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Agiter bien et incuber pendant 10 min à 37 °C ou 15 -20 min à 25 °C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et de standard à 505 nm contre le blanc, la couleur est stable pendant 30 min.

❖ **Calcul:**

La concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

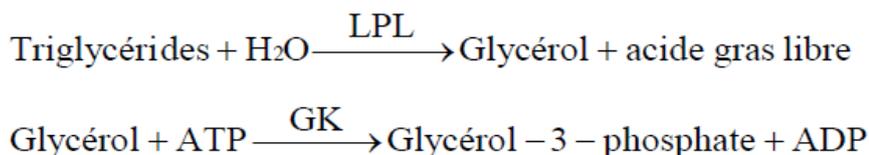
$$\text{Glucose (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ étalon}} \times 100$$

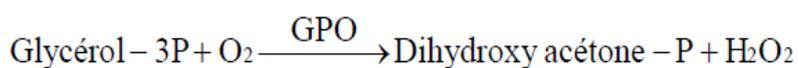
La concentration d'étalon = 100 mg/dl.

6-2)-Dosage des triglycérides : Selon la fiche technique **Spinréact** [29].

❖ **Principe :**

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres par la lipoprotéine-lipase (LPL) .Le glycérol sous l'effet du glycérol kinase forme le glycérol -3-phosphate (GTP) qui est oxydé en H₂O₂. Ce dernier forme avec le 4-aminophénozone et le p-chlorophenol en présence de peroxydase un complexe rouge, selon les quatre réactions suivantes:





L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans les échantillons.

❖ **Echantillon** : Sérum.

❖ **Les réactifs utilisés** :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁)	- GOOD pH=7.5	50 mmol /l
Tampon	-P-Chlorophenol	2 mmol /l
Réactif (R ₂) (enzymes)	- Lipoproteine lipase (LPL)	150000 U/l
	-Glycérol kinase (GK)	500 U/l
	-Glycérol-3-oxidase (GPO)	2500 U/l
	-Peroxidase (POD)	440 U/l
	-4-Aminophenazone (4-AP)	0.1 mmol/l
	-ATP	0.1 mmol /l
Etalon	-Triglycéride aqueux primaire standardisé	200 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devient homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant 6 semaines à 2-8 °C ou une semaine à 15-25 °C

❖ **Mode opératoire** :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (RT)	1ml	1ml	1ml
Etalon	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37°C ou 10 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc.

❖ **Calcul:**

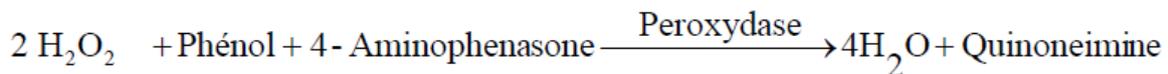
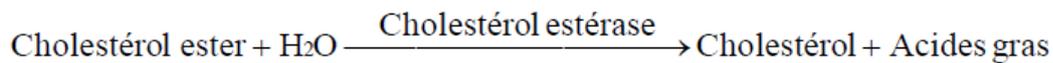
$$\text{Triglycérides (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

La concentration d'étalon = 200mg/dl.

6-3)- dosage du cholestérol : Selon la fiche technique **Spinréact.** [18].

❖ **Principe:**

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

❖ **Echantillon :** Sérum.

❖ **Les réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R1)	-Pipes pH=6.9	90 mmol /l
Tampon	-Phénol	26 mmol /l
Réactif (R2) (enzymes)	- Cholestérol estérase. -Cholestérol oxydase. -Peroxydase. -4-Aminophenasone (4-AP)	300 U/l 300 U/l 1250 U/l 0.4 mmol/l
Etalon	-Cholestérol aqueux primaire standardisé.	200 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R2) dans la fiole de réactif (R1).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devienne homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant 4 mois à 2-8 °C ou 40 jours à 15-25 °C.

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (RT)	1ml	1ml	1ml
Etalon	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc. La couleur est stable pendant 2 heures.

❖ **Calcul:**

$$\text{Cholestérol (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

La concentration d'étalon = 200mg/dl.

6-4)-Dosage de l'urée : Selon la fiche technique **Spinréact** . [30].

❖ **Principe:**

L'urée est hydrolysée enzymatiquement en ammonium (NH₃) et dioxyde de carbone (CO₂) selon la réaction suivante :



Les ions ammoniums formés réagissent avec α- céto glutarate dans une réaction catalysée par glutamate déhydrogénase (GLDH) avec oxydation simultanée de NADH à NAD.



La baisse dans la concentration de NADH, est proportionnelle à la quantité d'urée présentée dans l'échantillon.

- ❖ **Echantillon** : Sérum
- ❖ **Les réactifs utilisés** :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁) Tampon	-Tris pH=7.8 -α-cétoglutarate .	80 mmol /l 6 mmol /l
Réactif (R ₂) (enzymes)	- Uréase. -Glutamate dehydrogenase (GLDH). -NADH	3750 U/l 6000 U/l 0.32 U/l
Etalon	- Urée aqueux primaire standardisé.	50 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R2) dans la fiole de réactif (R1) .
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à la dissolution complète.

Ce réactif (RT) est stable pendant 6 semaines à 2-8 °C ou 7 jours à 15-25 °C

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (RT)	1ml	1ml	1ml
Etalon	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 340 nm contre le blanc après 30 s (A1) et après 90 s (A2).

Calculer: $\Delta A = A1 - A2$

❖ **Calcul:**

$$\text{Urée (mg / dl)} = \frac{(\Delta A) \text{ Echantillon}}{(\Delta A) \text{ Etalon}} \times 50$$

La concentration d'étalon = 50 mg/dl.

6-5)-Dosage de la créatinine : Selon la fiche technique **Spinréact.** [31].

❖ **Principe:**

La créatinine forme dans un milieu alcalin avec l'acide picrique, un complexe rouge.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.

❖ **Echantillon : Sérum.**❖ **Les réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁)	- Acide picrique.	17.5 mmol /l
Réactif (R ₂)	- Hydroxyde de sodium.	0.29 mmol/l
Etalon	- Créatinine (solution).	2 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

Mélanger bien un volume de (R1) avec le même volume de (R2).

Ce réactif (RT) est stable pendant 10 jours à 15-25 °C

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (RT)	1ml	1ml	1ml
Etalon	-----	100 µl	-----
Echantillon	-----	-----	100 µl

Mélanger et lire l'absorbance (A) de l'échantillon, de l'étalon et de blanc à 492 nm contre l'eau distillé après 30 s (A1) et après 90 s (A2).

Calculer: $\Delta A = A2 - A1$

❖ **Calcul :**

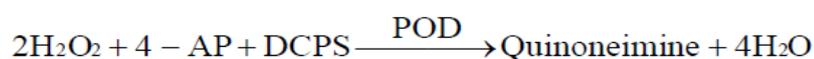
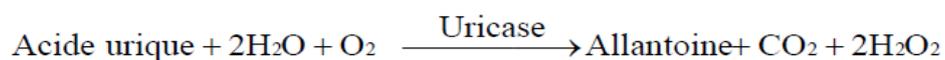
$$\text{Créatinine (mg / dl)} = \frac{\Delta A \text{ Echantillon} - \Delta A \text{ Blanc}}{\Delta A \text{ Etalon} - \Delta A \text{ Blanc}} \times 2$$

La concentration d'étalon = 2 mg/dl.

6-6)- Dosage de l'acide urique : Selon la fiche technique **Spinréact.** [32].

❖ **Principe:**

L'acide urique est oxydé par uricase à allantoïne et eau oxygénée (2H₂O₂) qui sous l'influence de peroxydase (POD), 4-Aminophenasone (4-AP) et le 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS) forme un complexe rouge (quinoneimine).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon.

❖ **Echantillon :** Sérum.

❖ **Les réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁) (Tampon)	- Phosphate pH = 7.4 -2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS)	50 mmol /l 4 mmol/l
Réactif (R ₂) (Enzymes)	- Uricase. -Peroxydase(POD). -Ascorbate oxydase. -4-Aminophenasone (4-AP)	60 U/l 660 U/l 200 U/l 1 mmol/l
Etalon	- Acide urique aqueux primaire standardisé.	6 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R2) dans la fiole de réactif (R1).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devienne homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant un mois à 2-8 °C ou 10 jours à 15-25 °C

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (RT)	1ml	1ml	1ml
Etalon	-----	25 µl	-----
Echantillon	-----	-----	25 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 520 nm contre le blanc. La couleur est stable pendant 30 min.

❖ **Calcul:**

$$\text{Acide urique (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 6$$

Concentration de l'étalon = 6 mg/dl.

7)- L'analyse des paramètres tissulaires**7-1)-Dosage des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS) :**

La quantité des TBARS est exprimée en terme d'un équivalent biochimique qui est le « Malonyl di aldéhyde MDA», un des produits terminaux formés lors de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditée par les radicaux libres. La mesure de l' MDA à l'aide du TBA permet la quantification de la peroxydation lipidique qui constitue le marqueur majeur du stress oxydant. [33].

❖ **Principe:**

Le dosage de l'MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100°C), entre une molécule d' MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique d'un pigment coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol.

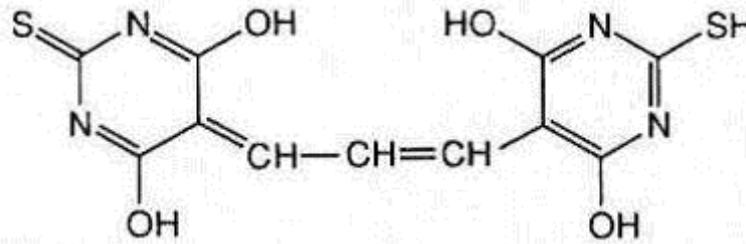


Figure 05 : Formation d'adduit MDA – TBA (1 :2)

❖ **Réactifs et solvants :**

- ✓ L'acide thiobarbiturique TBA 0.67 %.
- ✓ L'acide trichloroacétique TCA 20%.
- ✓ Le n-butanol.

❖ **Procédure :**

La quantité de l'MDA est évaluée au niveau du foie, des reins et du cœur de 0.5 ml de l'homogénat [33], nous avons ajouté 0.5ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67 %. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidis puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours /minutes, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm. Le MDA est exprimé en nmol/g de tissu de l'organe étudié et calculé à partir d'une gamme préparée sous les mêmes conditions avec une solution de « 1,1,3,3-tetraoxypropane » qui donne le MDA après son hydrolyse.

7-2)- Dosage de l'activité enzymatique du catalase :

L'activité enzymatique du catalase est déterminée dans les tissus du foie, des reins, du cœur [34].

❖ **Principe:**

Le dosage de l'activité enzymatique du catalase est basé sur la diminution de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du superoxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la catalase.

❖ **Réactifs et solvants :**

- ✓ Tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M).

✓ Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 19mmol/ml.

❖ **Procédure :**

Dans une cuvette en quartz de 3 ml, 50µl de l'homogénat sont mélangés avec 2.95 ml d'une solution de H₂O₂ à 19mmol/ml préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M). Le changement de l'absorbance est suivi pendant deux minutes en prenant les valeurs à t₀ et après chaque minute. L'activité enzymatique du catalase est exprimée en constante de vitesse de la réaction d'ordre 0 par gramme de tissu.

❖ **Méthode de calcul :** L'activité enzymatique du catalase est calculée selon la formule suivante :

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log (A_1/A_2)$$

Dont :

K : Constante de vitesse de la réaction d'ordre 1.

T : Interval de temps en minute.

A1 : Absorbance à t₀

A2 : Absorbance à t₁

L'activité enzymatique du catalase = K/n (K/g) où n représente la quantité de tissu en gramme dans le volume utilisé de l'échantillon testé.

8)- L'analyse histologique

Les techniques histologiques passent par plusieurs opérations qui s'enchaînent. La méthode qu'on a utilisée, avec inclusion à la paraffine comporte sept étapes principales [4] :

➤ **La fixation :**

Réalisée dans le formol à 10 % qui se polymérise avec les polypeptides entraînant leur insolubilité.

➤ **Lavage, déshydratation et éclaircissement :**

Le lavage est fait dans de l'eau courante, ensuite, on déshydrate les pièces en les amenant graduellement depuis le liquide de lavage jusqu'à l'alcool absolu par des bains successifs, puis on passe à l'éclaircissement en mettant les pièces dans un solvant de la paraffine qui est le xylène dans notre cas.

➤ **L'inclusion :**

Les pièces sont incluses dans un bain de paraffine fondue pendant deux heures. La paraffine va peu à peu pénétrer les tissus en remplaçant le solvant.

➤ **Construction des blocs :**

Après la saturation des pièces par la paraffine fondue, on passe à l'inclusion définitive dans de petits moules à fond plat qui servent à donner la forme du bloc. Ce dernier peut se conserver pendant des années sans dommage.

➤ **Préparation des coupes, étalement sur lame:**

Le bloc de paraffine est collé au porte-objet puis débité en tranches minces grâce à un microtome. Les coupes sont collées sur des lames de verre recouvertes d'un film de gélatine (liquide d'étalement). Ensuite, les lames sont séchées à l'étuve 37°C.

➤ **La coloration :**

Les coupes sont colorées par la méthode d'éosine et ématoxilne. Les coupes sont observées au microscope optique à différents grossissements.

9)- L'étude statistique :

- les calculs statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel d'analyse Microcal Origin-UNTITLED et de traitement statistique des données (Version 6).
- Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaires; les paramètres statistiques de base pondérale, biochimiques et tissulaires, pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA).

- Les résultats sont représentés sous la forme (moyenne \pm SEM) et en comparant les différents groupes où :
 - a : Comparaison du lots T avec le lot D.N.
 - b : Comparaison du lots D (-Zn) avec le lot D.N.
 - c : Comparaison du lot D (-Zn+Med) avec le lot D (-Zn) .
 - c : Comparaison du lot D (-Zn+Mg) avec le lot D (-Zn).

- Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :
 - ✓ N'est pas significative si $p > 0.05$ (NS).
 - ✓ Est significative si $0.05 > p > 0.01$ (*).
 - ✓ Est hautement significative si $0.05 > p > 0.01$ (**).
 - ✓ Est très hautement significative si $p < 0.001$ (***)

Discussion

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique qui touche 5 à 7% de la population mondiale [35]. Cette maladie est constituée un exemple des maladies associées au stress oxydant. Sa prévalence à travers le monde, et ses complications s'ajoutent à la nouvelle notion du stress oxydant et constituent un sujet d'actualité. Il est maintenant admis que des concentrations élevées en glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre les pro oxydants et les antioxydants et qui est considéré comme le moteur mobilisant des différents facteurs pathologiques vers les complications du diabète [36].

Le zinc est un oligo-élément important. Il est indispensable à un certain nombre de fonctions biochimiques et physiologiques, il intervient dans l'activité de près de 300 enzymes [37]. Il joue également un rôle dans la plupart des métabolismes (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Il agit aussi au niveau du métabolisme hormonal, il joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion d'insuline. La carence en zinc induit une augmentation des troubles métaboliques du diabète et favorise les complications de cette maladie.

Le traitement de ces complications constitue une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Ceci est en vue de trouver de nouvelles solutions pour prévenir, voir ralentir la survenue des complications organiques et métaboliques résultantes de l'hyperglycémie chronique.

Parmi les causes majeures de diabète, qui contribue lui-même de façon importante à l'évolution des complications diabétiques c'est le stress oxydatif. Des études variées ont montré que les suppléments antioxydants comme le magnésium peuvent aider à diminuer les marqueurs indicatifs du stress oxydant et de la peroxydation lipidique

A cet effet, nous avons testé, dans le cadre de cette étude, l'effet de l'administration du magnésium sur les complications du diabète provoquées par la carence en zinc au niveau de l'aspect physiologique, biochimique et histologique chez les rats diabétiques.

Plusieurs techniques sont couramment utilisées afin de produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelle thérapie. Le diabète sucré peut être induit chez une

variété large d'espèces animales par différentes techniques dont l'injection de la streptozotocine qui est abondamment utilisée [38]. Cet agent diabétogène entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans [39]. Bien étudié, son impact sur le métabolisme des hydrocarbures. La streptozotocine provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline [40]. De plus, l'injection de la streptozotocine est à l'origine d'une chute de poids comme a été vu dans nos résultats [41].

Dans la présente étude, nous avons injecté une dose de 50 mg/kg de la streptozotocine par voie intraperitonéale et une glycémie supérieure à 400 mg/dl était notée. Le diabète induit par cette substance a, également, entraîné chez les rats une polyphagie, polydipsie et une polyurie. Ces signes observés chez l'animal confirment l'installation du diabète sucré.

Dans nos conditions expérimentales, nous remarquons un déficit pondéral chez les rats diabétiques non traités (DN) . Cet effet peut être dû au manque d'insuline qui conduit à la dégradation des protéines structurales qui sont connus par ses contributions au poids corporel [42].

Nous avons remarqué aussi un déficit pondéral chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par une nourriture normale .Ceci est en accord avec les constatations de (Mc Nall et al.,1995).

Levin, (1992) [44] a justifié l'anorexie dans le cas d'une carence en zinc dans l'alimentation des rats par le rôle central du zinc dans l'activation des nombreux systèmes enzymatiques qui synthétisent et dégradent certains peptides biologiquement actifs, également appelés les neuropeptides qui sont impliqués dans le règlement de l'ingestion de la nourriture tels que (Choecystokinin(CCK), Ghrelin, sérotonine).Ces peptides sont synthétisés par l'hypothalamus [45] .Il a été signalé que l'hypophyse est responsable de moduler l'ingestion de la nourriture ; elle reçoit des signaux de l'hypothalamus et puis elle transmet ces signaux à d'autres tissus ou organes périphériques cibles [46].

L'administration du magnésium pendant trois semaines a permis de protéger les rats diabétiques de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis

d'augmenter d'une manière significative le poids corporel des rats diabétiques alimentés par un régime pauvre en zinc par rapport aux à ceux alimentés par un régime normale. Les résultats de poids corporel sont en accord avec ceux publiés par **Soltani et al., 2007** [47].

La capacité du magnésium de protéger les rats diabétiques de la perte massive du poids corporel semble être due premièrement, à sa capacité de réduire le taux des lipides, deuxièmement, à son effet hypoglycémique et donc à sa capacité de renverser la néoglucogenèse et de contrôler cette perte protéique.

Comme il a été décrit auparavant, la STZ inhibe la sécrétion de l'insuline par le pancréas, après destruction sélective et irréversible des cellules β pancréatique [48]. Deux mécanisme fondamentaux qui causerait une hyperglycémie lors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogenèse et la glycogénolyse), d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques [49].

L'analyse des résultats a montré que la carence en zinc a induit une augmentation plus élevée de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques. Cette hyperglycémie est due à des troubles dans l'utilisation du glucose par les tissus ce qui traduit l'effet positif du zinc sur le métabolisme glucidique [50]. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Fairweather et al., (1985)** [51], qui ont observé une augmentation de la concentration sérique du glucose chez des rats au cours de la gestation, après une consommation alimentaire pauvre en zinc.

Nous avons constaté aussi que l'administration du magnésium a pu jouer un rôle crucial dans la baisse de la concentration sérique de glucose, par son action sur les dommages des cellules bêta principalement liés aux lésions toxiques provoqués par l'agent diabétogène. Ces dommages peuvent être réparés par le traitement au magnésium Ce qui est confirme vraiment cette hypothèse c'est la constatation au niveau des coupes histologiques du pancréas endocrine conduisant à la libération de l'insuline. Ces résultats viennent donc confirmer les premières conclusions de **Paolisso et al., (1989)** [52], qui ont constaté que l'administration du magnésium provoque une diminution hautement significative de la glycémie chez les diabétiques influençant les cellules β pancréatique et stimulant la sécrétion de l'insuline par leur activités antioxydants.

Le diabète sucré est aussi associé avec une hyperlipidémie et provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides [53]. Ces anomalies représentent un important facteur de risque de maladies cardiovasculaires [54]. Il a été indiqué que l'élévation des lipides sérique chez les rats rendus diabétiques par STZ joue un rôle important dans la pathologie du diabète [55]. Dans notre étude, on a enregistré une augmentation significative de la concentration sérique du cholestérol et des triglycérides chez les rats rendus diabétiques par STZ.

Le niveau élevé du cholestérol total dans le sang représente un facteur de risque majeur dans le développement des maladies coronaires [56].

Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par **Eddouks et al., (2005), Ravi et al., (2005)** [57], et **Sharma et al., (2008)** où ils suggèrent que la forte concentration anormale des lipides sériques observée chez les sujets diabétiques est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras à partir des tissus adipeux. En effet, **Betteridge et al., (2002)** [58] indique que la carence en insuline ou l'insulinorésistance peut être responsable d'une hyperlipidémie, car l'insuline, a une action inhibitrice sur 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase (HMG-COA reductase), une enzyme clé pour la biosynthèse du cholestérol. D'autre part, le glucagon, la catécholamine ainsi que d'autres hormones augmentent la lipolyse. Au cours du diabète, l'hyperlipidémie peut être considérée comme un résultat de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques sur les tissus adipeux [59].

Nous avons constaté également une augmentation bien claire du cholestérol et des triglycérides chez les rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc. Cette augmentation peut s'expliquer par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux. D'autre part, l'hyperglycémie provoque un désordre métabolique traduit par des changements de la voie normale du glucose, où une partie du glucose est transformée en acides gras et glycérol et puis la synthèse des triglycérides et cholestérol [60]. Une autre étude a confirmé que la carence en zinc dans l'alimentation des rats a induit une augmentation de la pénétration de glucose marqué par le carbone radioactif (C^{14}) dans les tissus adipeux et transformé en acides gras [61].

Le traitement des rats diabétiques avec le magnésium a amélioré ces variables de profil lipidique altérées. Il est bien connu que l'hyperlipidémie qui caractérise les rats rendus diabétiques par STZ est la conséquence de la non-inhibition de l'action des

hormones lipolytiques sur les tissus adipeux. Étant donné que dans les tissus adipeux l'insuline a une action antilipolytique en inhibant la lipase hormonosensible, donc le magnésium peut soit imiter l'action de l'insuline, soit stimuler la synthèse de l'insuline. Il est également connu que le contrôle de la glycémie est le principal déterminant de la concentration sérique du cholestérol et des triglycérides [57]. Auparavant, nous avons signalé que le magnésium a produit une puissante activité hypoglycémiant chez les rats rendus diabétique par STZ, de sorte que ce puissant effet hypolipidémique du magnésium peut également être la conséquence de l'amélioration de la glycémie.

Anetor et al. (2002) Soltani et al., (2007) ont décrit que le magnésium est l'un des minéraux nutritifs qui jouent un rôle crucial dans la régulation de glucides et des lipides. [62], [47].

Comparant au témoin, les résultats concernant le taux sérique de l'urée, de l'acide urique et de la créatinine, qui sont considérés comme marqueurs significatifs du dysfonctionnement rénal [63], montrent une augmentation caractéristique chez le lot diabétique non traité. Ceci est expliqué par le fait que les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine. De plus, la glycation des protéines dans le diabète peut entraîner une atrophie musculaire et augmente la libération de la purine ; la principale source de l'acide urique [64]. Nos résultats suggèrent que l'augmentation de la concentration sérique de la créatinine, d'acide urique et d'urée causée par le diabète a été déclinée après l'administration du magnésium. Cet effet est lié à l'amélioration du métabolisme glucidique ainsi que la sécrétion de l'insuline.

Il n'est pas douteux que l'organisme humain s'efforce de maintenir l'homéostasie en inhibant l'effet nuisible d'origine endogène (métabolites actifs des hormones) et/ou exogène (métabolites toxiques des xénobiotiques), le système de défense endogène lié au glutathion est considéré comme un moyen très efficace pour combattre les dommages et les dysfonctionnements causés [65]. La présente étude a révélé une augmentation significative des TBARS au niveau du foie, des reins et du cœur chez les rats diabétiques avec réduction importante de l'activité enzymatique du catalase. Nos résultats sont en accord avec ceux présentés par **Kakkar R et al., 1998** [66]. chez des rats rendus diabétiques par la STZ ou l'alloxan. L'augmentation du taux des TBARS indique l'augmentation de la peroxydation lipidique et le degré des dommages au niveau de ces

organes . La diminution de l'activité enzymatique du catalase peut être due à son inhibition par les réactions de la glycation non enzymatique, Ces données supportent l'idée que l'hyperglycémie induit le stress oxydant chez les modèles animaux comme il était montré précédemment [55]. Le traitement des rats diabétiques par le magnésium a non seulement diminué la formation des TBARS au niveau du foie , des reins et du cœur mais aussi il a modifié positivement l'activité enzymatique du catalase. Ces résultats sont clairement indicatifs de l'effet modulateur du magnésium sur le stress oxydant.

En ce qui concerne l'histologie; le pancréas des rats rendus diabétiques présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules β . Ceci est dû, mentionné précédemment, à l'effet cytotoxique de la streptozotocine ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défécion apparue de la sécrétion insulinique. En revanche, l'histologie pancréatique des rats traités par le magnésium comparable à celle des rats non traités par la distribution et la forme intacte des îlots de Langerhans. Il est, peut-être, constatable que le magnésium possèdent des effets préventifs sur la dépréciation du pancréas.

Conclusion et perspectives

En conclusion, on constate que:

La carence en zinc dans l'alimentation est clairement diminuée le poids pondéral et la consommation alimentaire mais le traitement par le magnésium a amélioré ces paramètres d'aspect physiologique.

La carence en zinc dans l'alimentation a induit des troubles dans le métabolisme glucidique et lipidique traduisant par une augmentation de la concentration du glucose, du cholestérol et des triglycérides mais le traitement par le magnésium a réduit ces troubles.

Pour le métabolisme protéique et dans le cas d'une carence en zinc, une augmentation de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique est notée. Alors que le magnésium a joué un effet positif dans l'amélioration de ces paramètres.

La carence du zinc dans la nourriture des rats diabétiques a provoqué également des altérations histologiques du pancréas révélées par la dégénérescence des îlots de Langerhans et la mort cellulaire par nécrose due aux radicaux libres générés par la streptozotocine. Alors que le traitement des rats avec le magnésium a montré un remarquable effet cytoprotecteur du pancréas contre les radicaux superoxydes générés par la streptozotocine.

Enfin, nous pouvons confirmer que le magnésium joue un rôle préventif dans le développement du diabète sucré en cas d'une carence en zinc dans l'alimentation et ceci par l'amélioration des paramètres physiologiques et biochimiques résultant probablement de l'amélioration de synthèse et de sécrétion d'insuline.

Vu l'importance de ces résultats, il serait intéressant de développer la recherche afin de bien connaître le mécanisme réel par lequel agit le magnésium sur les complications du diabète.

Les résultats

Après l'installation du diabète, on a commencé le traitement des différents lots selon le protocole précédemment décrit. Durant les premiers jours du traitement, on a noté un état de polyurie chez tous les rats diabétiques par rapport aux rats normaux avec augmentation de la consommation de l'eau et de la nourriture. Après trois semaines de traitement, ces symptômes tendent à se diminuer chez les rats diabétiques traités avec le médicament et le magnésium alors qu'il n'y a aucune amélioration chez les rats diabétiques normaux et alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc. Les variations de la glycémie et du poids des rats des différents lots sont notées dès la première semaine, alors que les paramètres biochimiques et tissulaires ainsi que les coupes histologiques sont analysés après le sacrifice des animaux.

1)- Le suivi du poids des rats pendant le traitement :

Tableau 04: Effet de médicament antidiabétique (Glibenclamide) et du magnésium sur le poids corporel ($M \pm S.E.M$, n=5).

Paramètres Lots	Poids initial (g)	Gain ou perte du poids (g)
T	134 \pm 6,4	25,2*** \pm 5,44
DN	173,2 \pm 9,76	-18*** \pm -4
D (-Zn)	170 \pm 8,4	-36,4* \pm -6,88
D (- Zn+Med)	137,4 \pm 18,32	12,6 ^{NS} \pm 3,36
D (-Zn+Mg)	138,4 \pm 16,93	16 ^{NS} \pm 9,6

Ns : Différence non significative par rapport au poids initial du lot ($P < 0,05$).

* : Différence significative par rapport au poids initial du lot ($0,05 > P > 0,01$).

** : Différence hautement significative par rapport au poids initial du lot ($0,01 > P > 0,001$).

*** : Différence très hautement significative par rapport au poids initial du lot ($P < 0,001$).

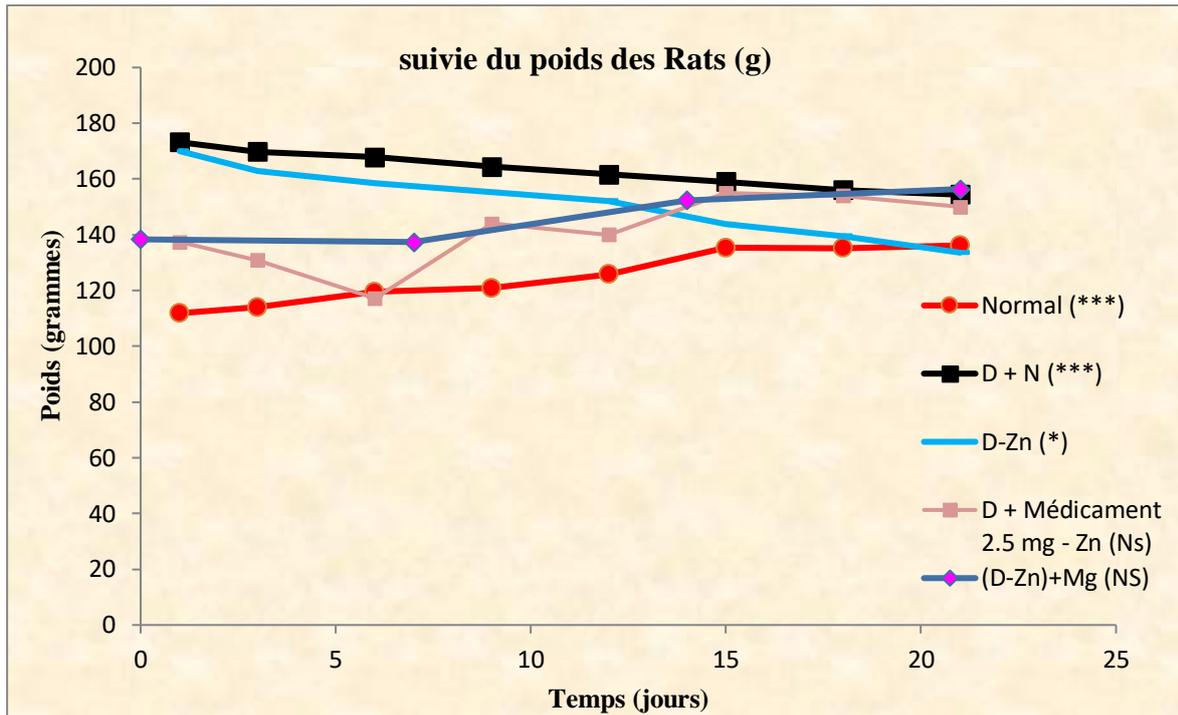


Figure 06 : Suivie du poids des rats durant le traitement (gramme).

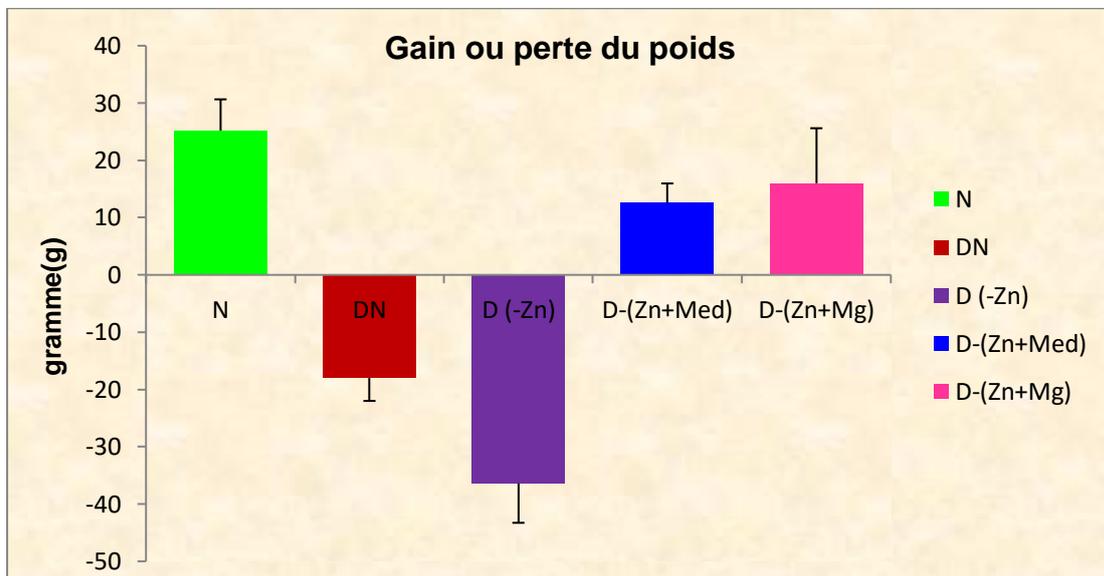


Figure07: Gain ou perte du poids.

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. Le suivi régulier des animaux nous a amené à obtenir les valeurs montrées au **tableau 04** et les **figures 06, 07**.

D'après les résultats obtenus, nous constatons un déficit pondérale (-18 g) chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire normal par rapport au poids initial.

La même chose chez les rats diabétique alimentés par une nourriture pauvre en zinc, on constate aussi un déficit pondéral (- 36,4). Alors que le traitement par le magnésium a induit une augmentation significative de poids corporel des rats (+16).

2)- L'évolution de la glycémie des rats :

Nous avons suivi les variations de la glycémie des rats qui sont montrées dans les **Figures 08,09** et le **Tableau 05**. Distinctement, une augmentation significative de la concentration sérique du glucose ($p < 0.001$) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par un régime alimentaire normal.

Les résultats obtenus révèlent également une augmentation très significative ($p < 0.001$) de ce paramètre chez les rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc et qui sont traités soit par le médicament Glibenclamide ou par le magnésium comparativement aux rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc.

Tableau 05 : Effet de médicament antidiabétique (Glibenclamide) et le magnésium sur le glycémie des rats ($M \pm S.E.M$; $n=5$).

Paramètres Lots	Glycémie initial (mg/dl)	Glycémie final (mg/dl)
T	100,4 ± 5,52	98,2 ± 2,56
DN	265 ± 32	287 ^{a***} ± 34,4
D (-Zn)	425 ± 163,6	491,4 ^{b***} ± 129,92
D (- Zn+Med)	340,6 ± 15,12	101,1 ^{c**} ± 12,56
D (-Zn+Mg)	362,2 ± 120,64	216,2 ^{c**} ± 100,24

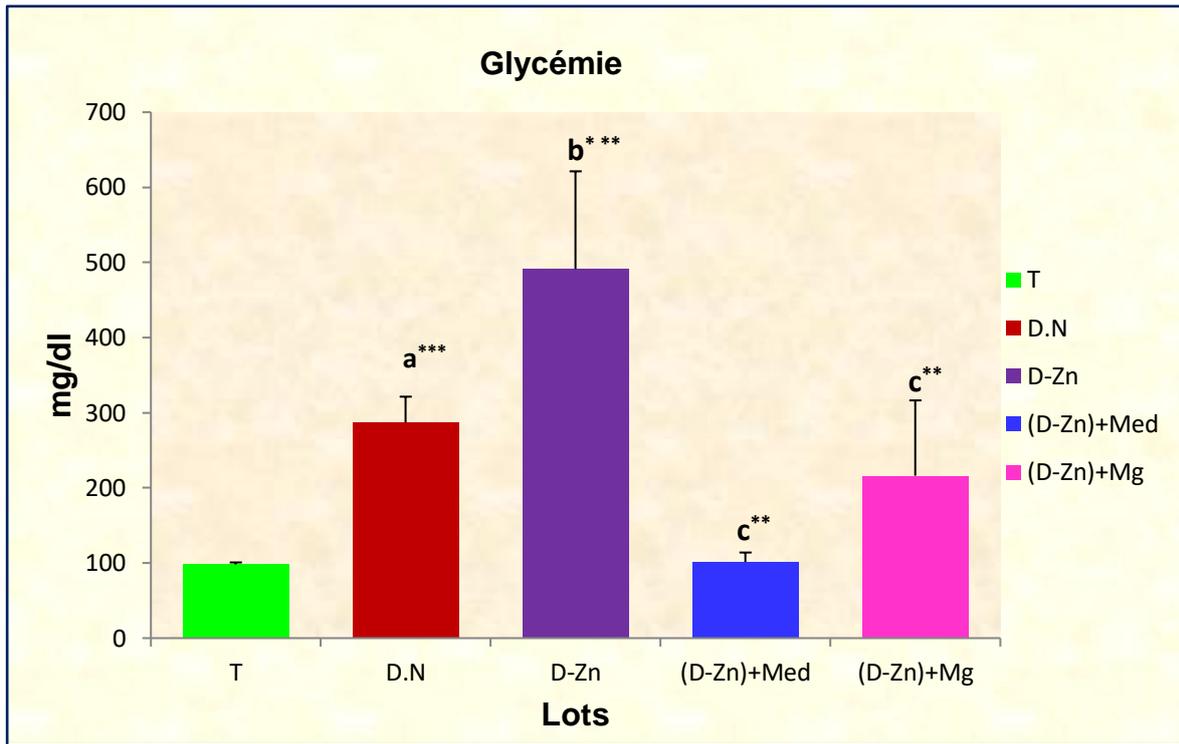


Figure 08 : Glycémie des rats de différent lots

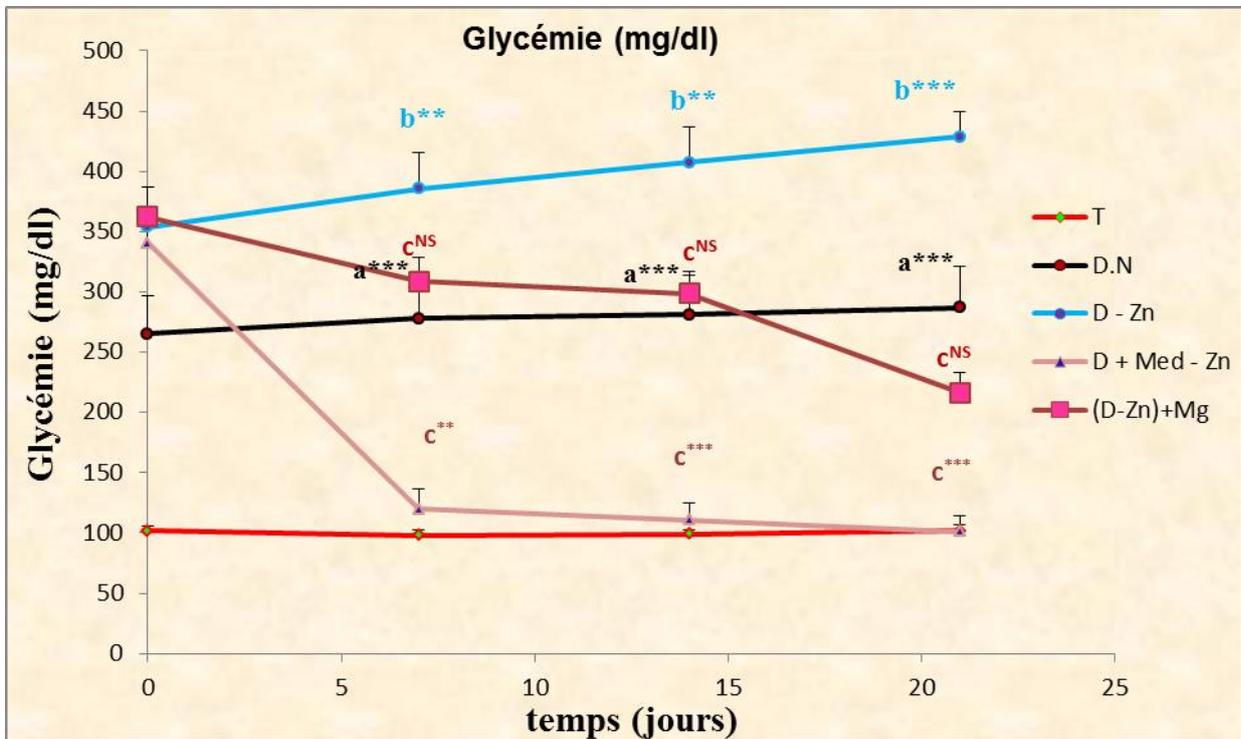


Figure 09 : Courbe du suivi de la glycémie durant la période du traitement.

3)- L'évolution des paramètres biochimiques

Tableau 06 : L'évolution des paramètres biochimiques

Paramètres Lots	Créatinine	Cholestérol	Acide urique	Urée	Triglycéride
T	0,66 ± 0,02	80 ± 4,8	2,4 ± 0,24	25,4 ± 0,48	56 ± 13,6
D.N	0,65 ^{aNS} ± 0,12	60,6 ^{a*} ± 4,72	3,18 ^{a*} ± 0,30	60,6 ^{a***} ± 4,72	73,2 ^{aNS} ± 8,64
D (-Zn)	1,25 ^{b**} ± 0,22	127 ^{b***} ± 10	3,9 ^{b*} ± 0,24	127 ^{b***} ± 10	96,4 ^{b*} ± 4,88
D (- Zn+Med)	0,73 ^{c*} ± 0,30	99 ^{c**} ± 3,6	1,22 ^{c***} ± 0,06	37,2 ^{c***} ± 5,76	48,2 ^{c***} ± 16,8
D (-Zn+Mg)	0,49 ^{cNS} ± 0,05	109,4 ^{c***} ± 2,88	2,12 ^{c**} ± 0,11	14 ^{c***} ± 3,2	86 ^{c***} ± 16,64

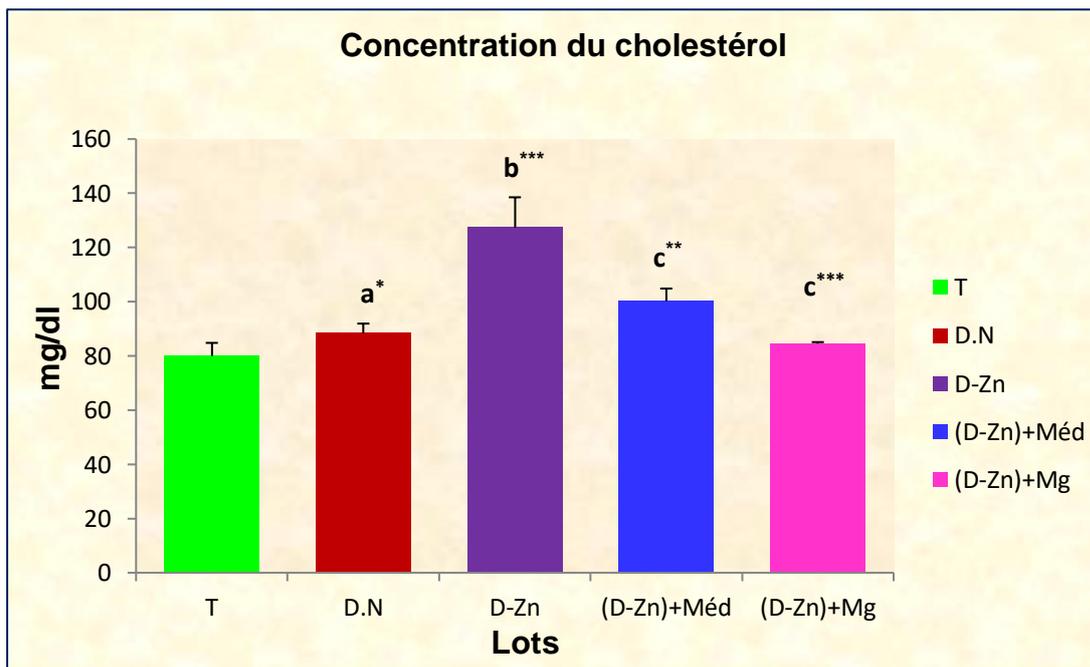


Figure 10 : concentration sérique du cholestérol

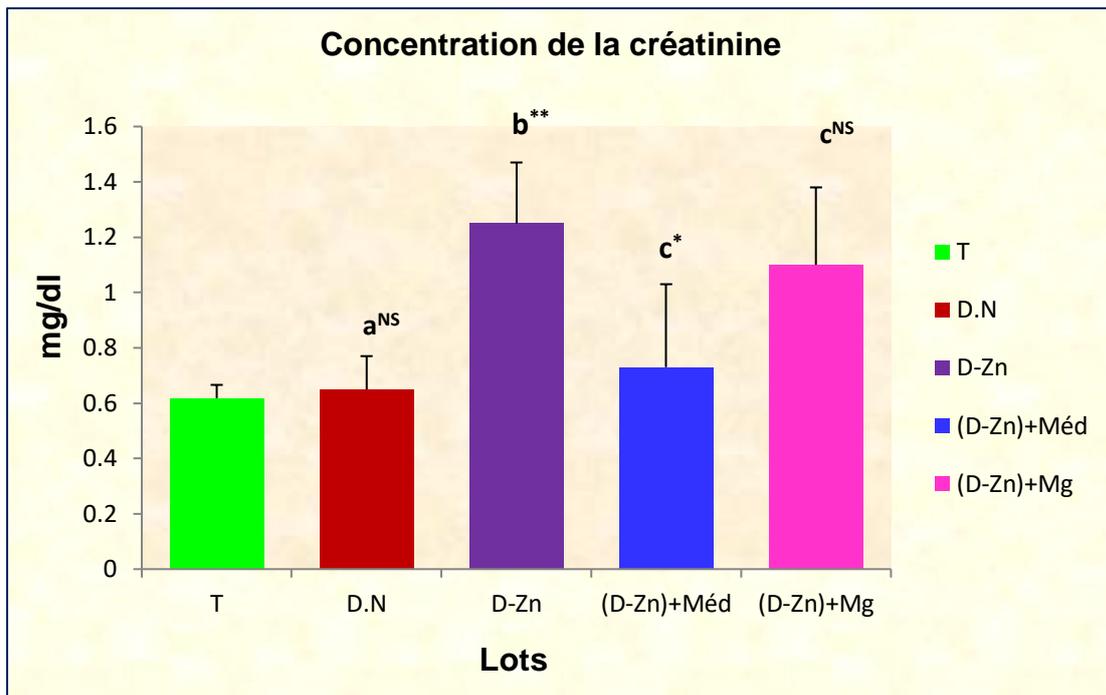


Figure 11 : concentration sérique de la créatinine

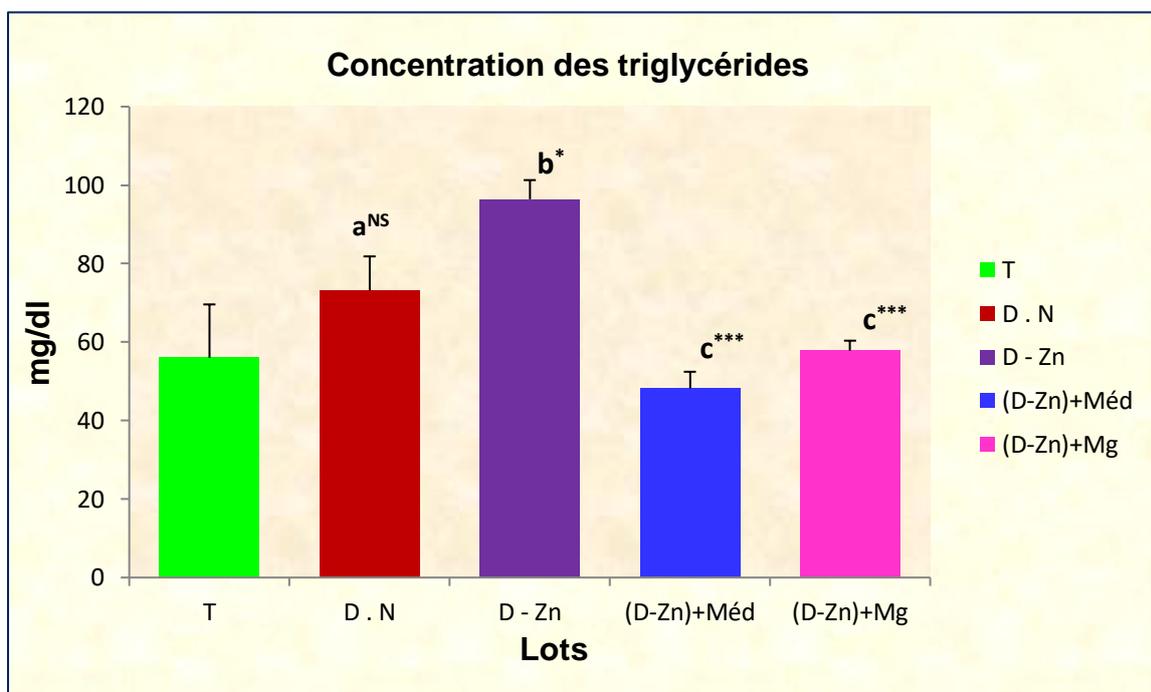


Figure 12 : concentration sérique des triglycérides

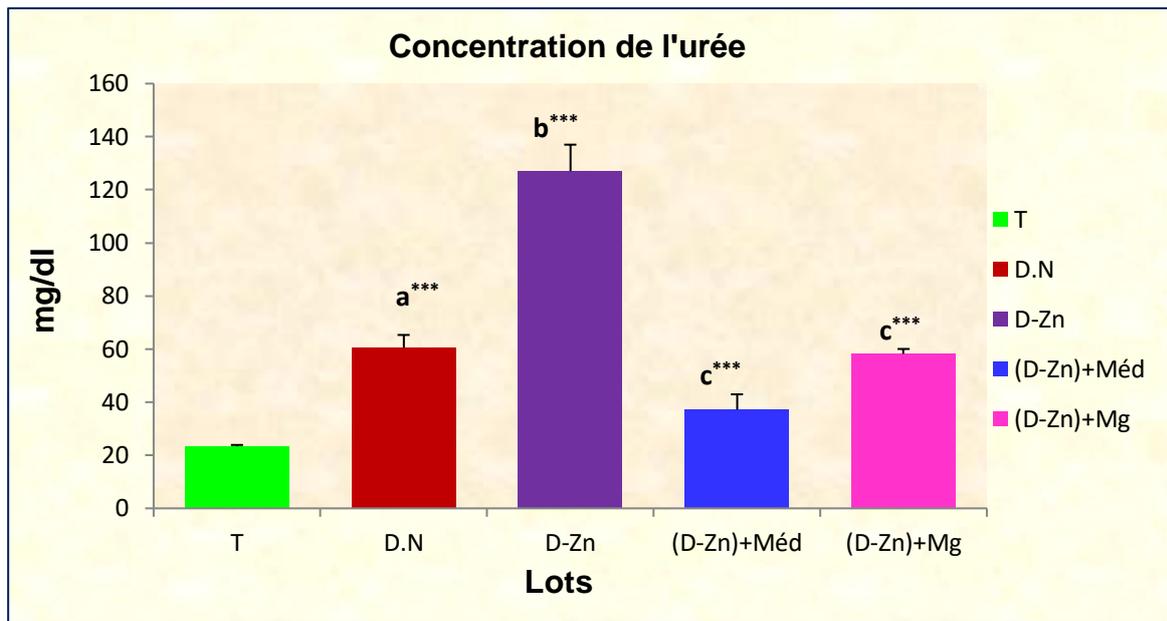


Figure 13 : concentration sérique de l'urée

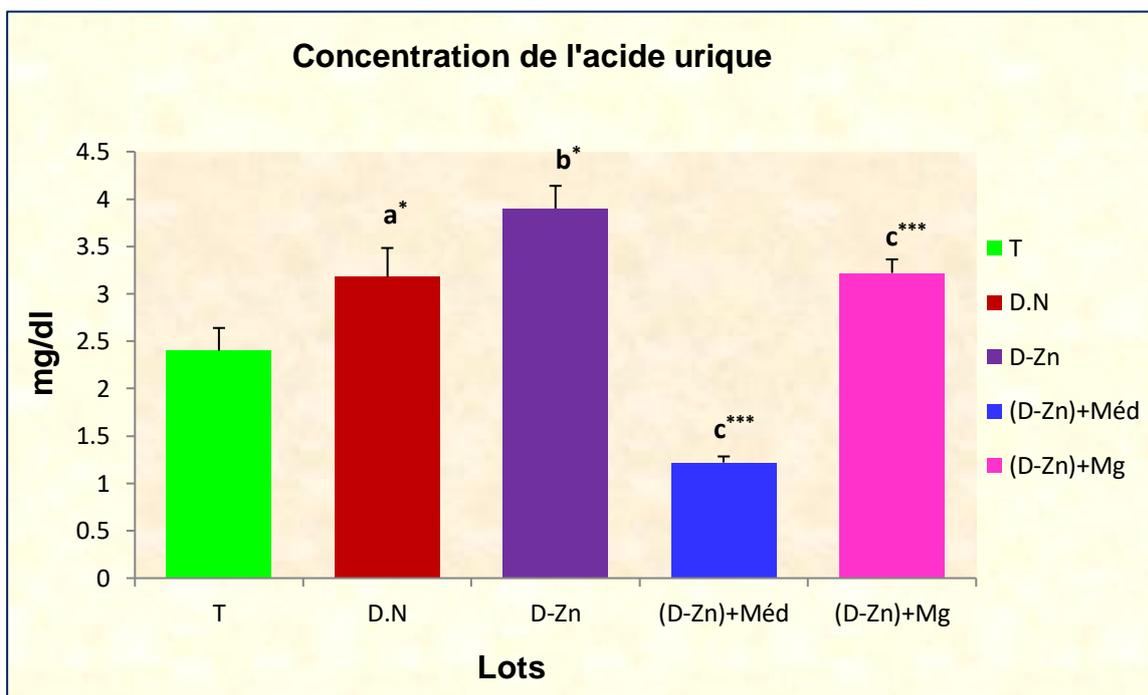


Figure 14 : concentration sérique de l'acide urique

Les résultats illustrés dans le **tableau 06** et les **figures (10, 11, 12,13 et 14)** montrent qu'il existe une augmentation très significative de la concentration sérique de l'urée, significative de l'acide urique et non significative du cholestérol, de la créatinine et des triglycérides chez les rats diabétiques alimentés par un régime normale par rapport au groupe normal.

Las résultats obtenus révèlent aussi que la carence du zinc dans l'alimentation a induit une augmentation de ces paramètres par rapport aux rats diabétiques alimentés par un régime normal, cette augmentation est statistiquement très hautement significative pour le cholestérol, l'urée et la créatinine et significative pour l'acide urique et les triglycérides.

D'autre part, le Glibenclamide et le magnésium ont amélioré ces paramètres presque aux normes.

4)- L'évolution des paramètres tissulaires

4-1)- Le dosage de l' MDA « Malonyl di aldéhyde »

Selon les résultats présentés dans les **figures (15, 16 et 17)**, nous avons consulté une élévation significative de l'MDA au niveau du foie(+33,26%) ,des reins(+17,88%) et du cœur(+16,15%) chez les rats diabétique alimentés par un régime normale par rapport au groupe témoin normal, les taux de l'MDA restent élevés au niveau de ces organes chez les rats diabétiques alimentés par un régime pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par un régime normal ; de foie (+22,84%) , des reins (+25,21%) et du cœur (+16,15%).

Cependant, une diminution remarquable de la peroxydation lipidique était évident au niveau du foie (- 60,76%),(-39,73%), des reins (-39,03%),(-38,59%),et du cœur (- 43,22%),(-36,85%) suite du traitement des rats diabétiques qui sont sous un régime pauvre en zinc par le Glibenclamide et le magnésium respectivement.

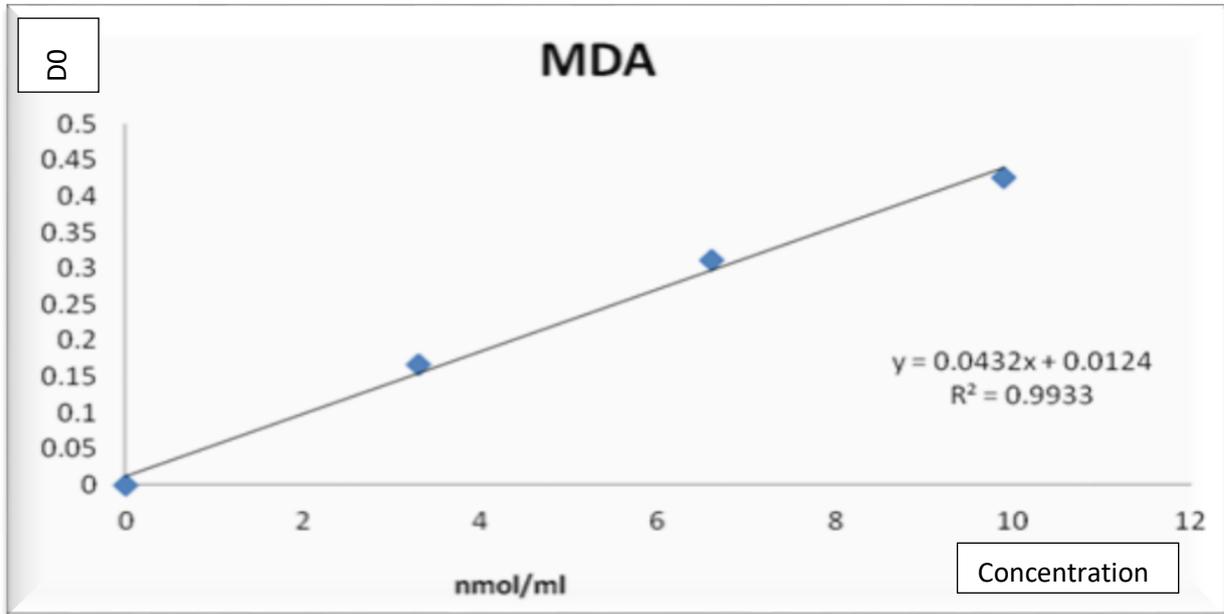


Figure 15 : Courbe de l'MDA

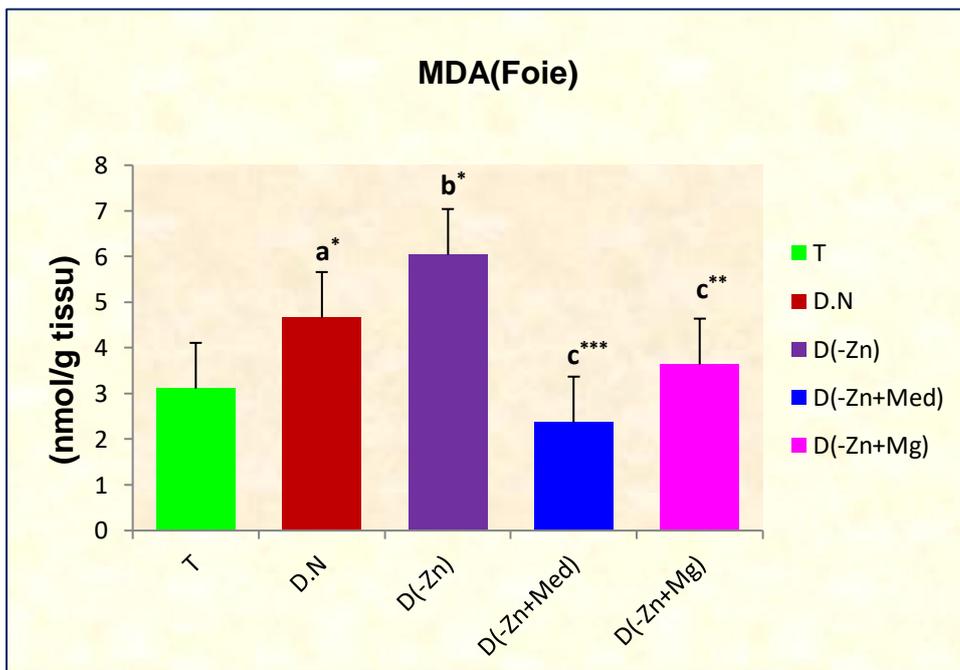


Figure 16 : Taux de l'MDA dans le foie

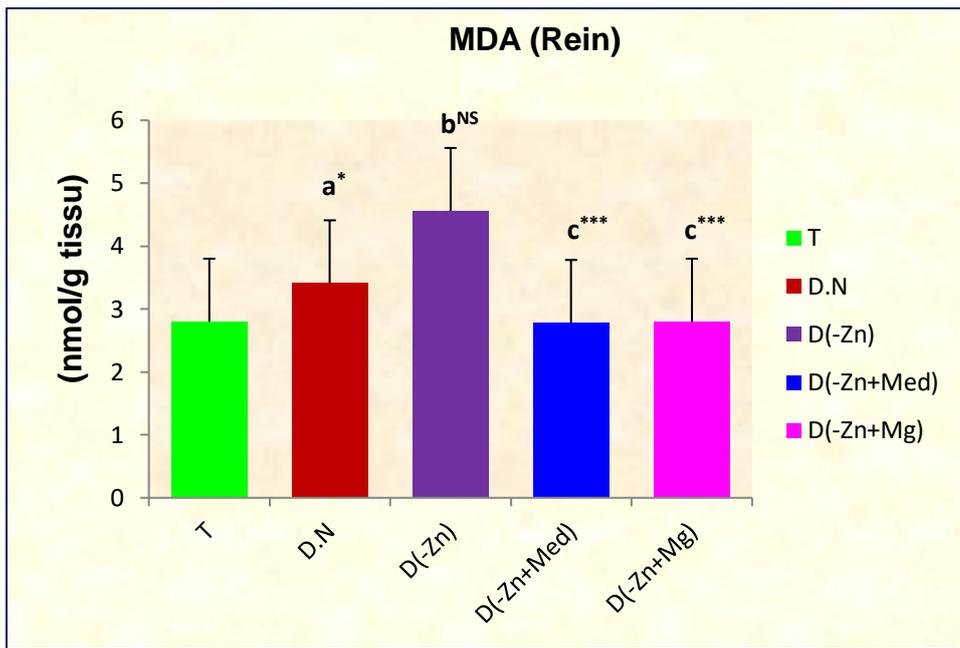


Figure 17 : Taux de l'MDA dans le rein

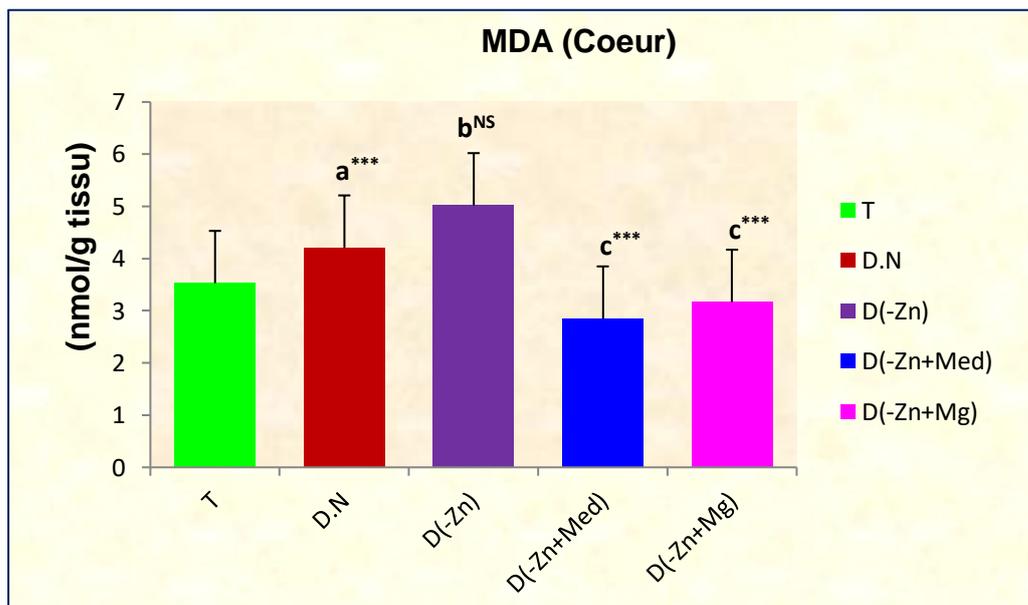


Figure 18 : Taux de l'MDA dans le Cœur

4-2)- Le dosage du catalase

Les figures 18, 19,20 montrent que l'activité enzymatique du catalase, est diminuée d'une façon significative au niveau du foie (-59,42%), des reins (-27,9%) et du cœur (-37,5%) chez les rats diabétiques par rapport aux rats du groupe normal contrôle.

Cette activité reste toujours basse au niveau de ces organes des rats diabétiques soumis a un régime pauvre en zinc ; foie (-17,85%), reins (-3,22%) et le cœur (-50,8 %).

Cependant, chez les groupes diabétiques traités, on constate une augmentation significative de l'activité du catalase au niveau du foie, des reins et du cœur comparativement aux rats diabétiques alimentés par régime pauvre en zinc.

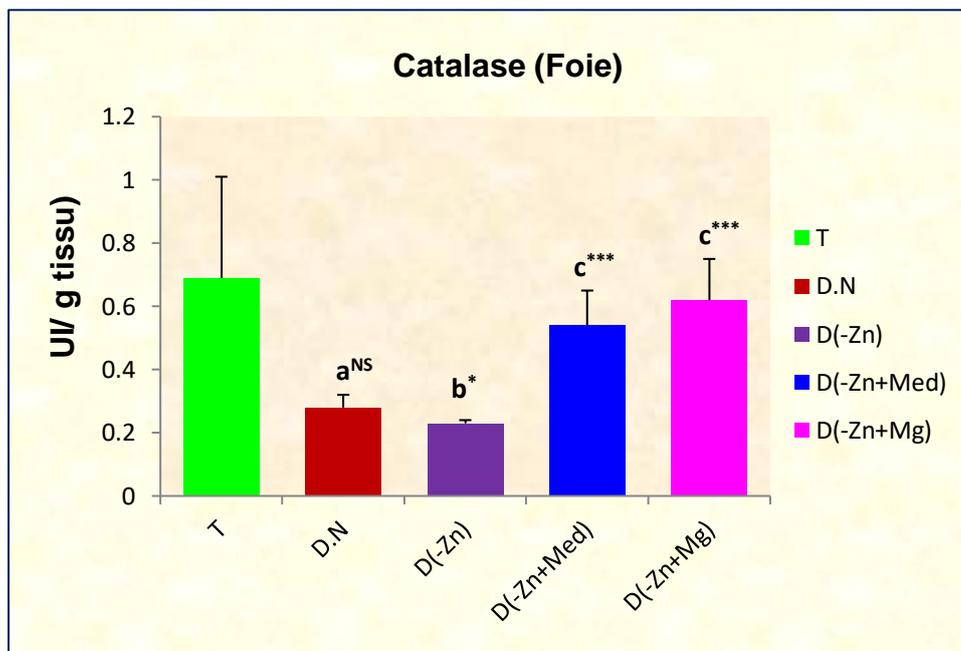


Figure 19 : Taux de catalase dans le foie

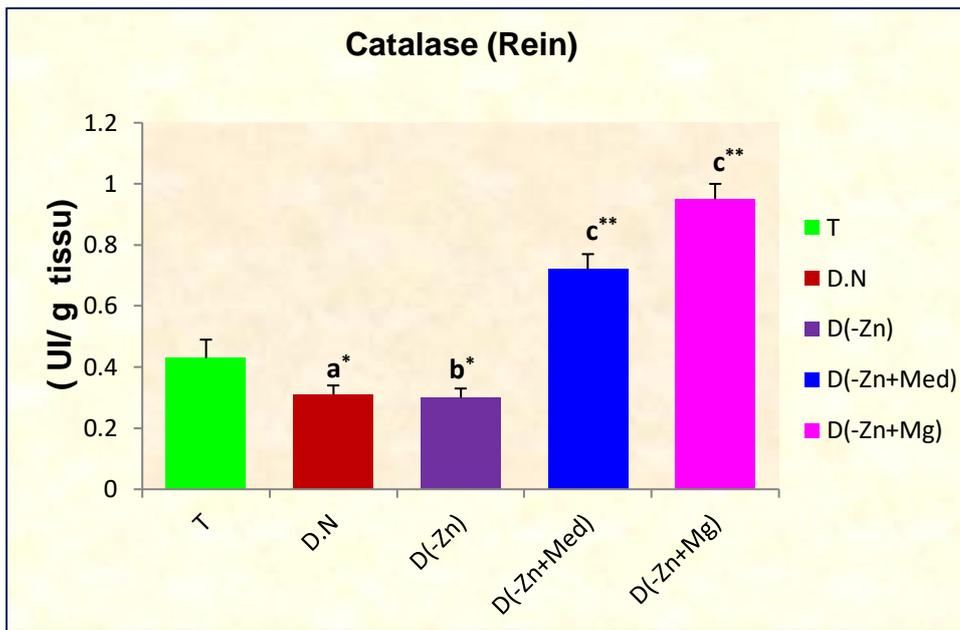


Figure 20 : Taux de catalase dans le rein

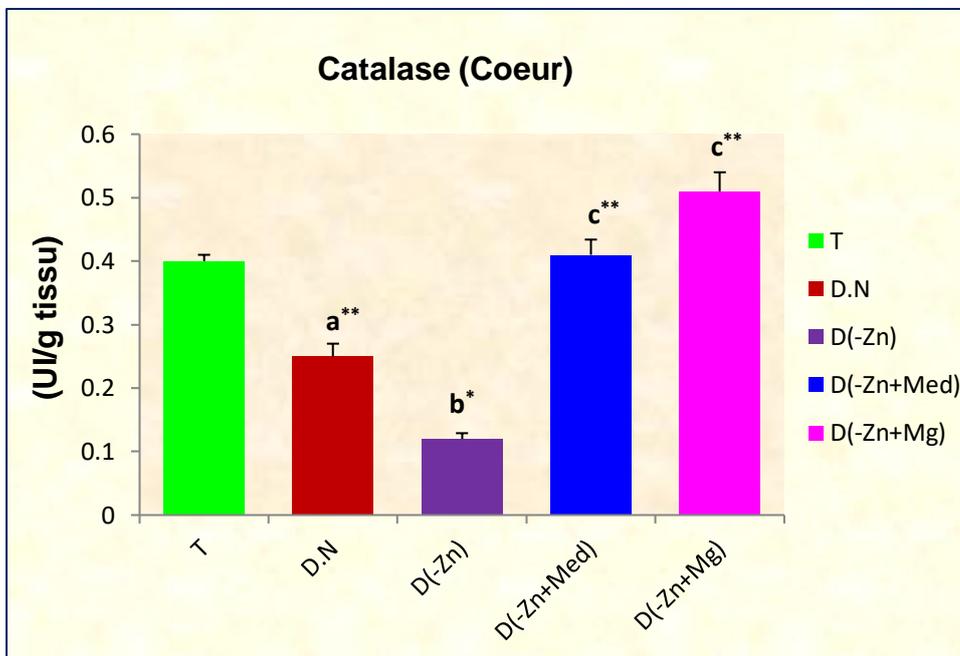


Figure 21 : Taux de catalase dans le Cœur

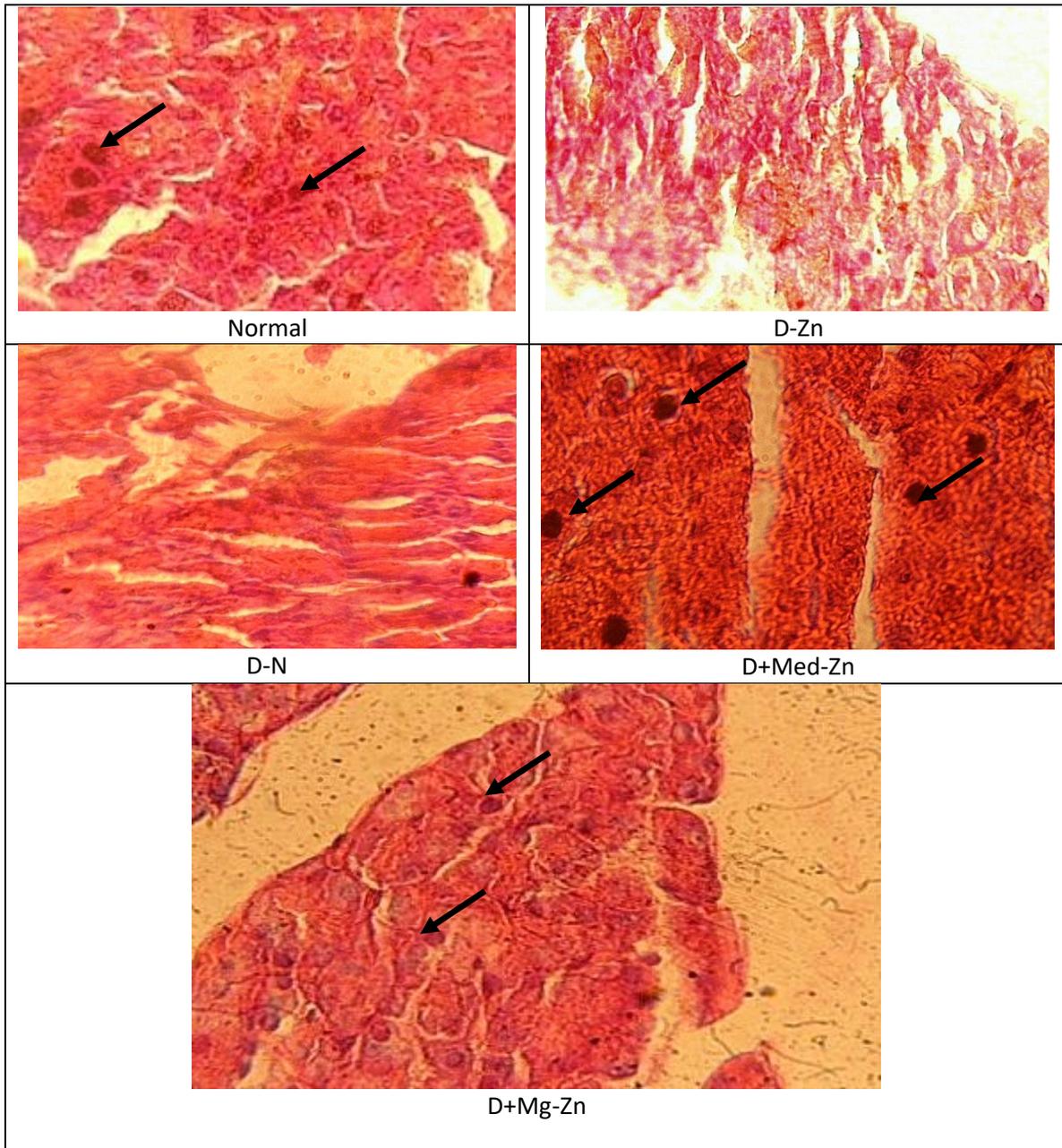


Figure 22: Photos des coupes histologiques du pancréas

↖ : Îlots de Langerhans

1. Le diabète

1.1. Caractéristiques générales du diabète

En médecine humaine, le diabète est une maladie connue depuis l'Antiquité égyptienne et gréco-romaine. Etymologiquement, « diabète » signifie « passe à travers » [1].

Ce n'est qu'en 1674 que Thomas Willis découvre la teneur sucrée de l'urine. L'origine pancréatique fut révélée en 1889 par Oskar Minkowski et Josef von Mering. Langerhans décrit la fonction sécrétoire des îlots pancréatiques en 1869, reprise ensuite par Gustave Edouard Laguesse en 1893 et Bernard Naunyn en 1898. Enfin, ce sont Frédéric Grant Banting et Charles Herbert Best qui découvrirent l'insuline en 1921 [1].

1.2. Définitions du diabète

Le diabète, autrefois défini comme une maladie, est aujourd'hui un syndrome en raison de la diversité de ses aspects étiologiques, physiopathogéniques et cliniques.

En 1979, l'(OMS) a défini le diabète sucré comme un état d'hyperglycémie chronique résultant de nombreux facteurs, qu'ils soient environnementaux ou génétiques, qui agissent le plus souvent ensemble [1].

Cet état résulte d'un défaut d'insuline ou d'un excès des facteurs s'opposant à son action. Le diabète est actuellement défini par deux glycémies à jeun supérieures à 1.26 g/l soit 7 Mm [2]. Cette physiopathologie est d'ailleurs à la base de la classification du diabète.

1.3. Classification du diabète

1.3.1. Le diabète de type 1 ou insulino-dépendant (DID) :

Concerne le plus souvent les enfants, mais il peut survenir à tout âge. Les cellules qui sécrètent l'insuline sont détruites jusqu'à 90% de leur quantité normale (causes auto-immunes ou idiopathiques). Il est lié à un déficit en insuline. [3].

1.3.2. Le diabète de type 2, ou non insulino-dépendant (DNID) :

Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux. Il résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline. L'insuline est soit basse ou soit élevée (insulinorésistance prédominante ou insulinopénie prédominante). [3].

1.3.3. Autres formes du diabète

❖ Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse (apparaissant entre la 24ème et la 28ème semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement) [4].

❖ Diabète secondaire

Est appelé "*spécifique*" : secondaire à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie, iatrogène ou encore liés à des anomalies génétiques [4].

❖ Diabète expérimental

Afin d'étudier l'étiologie de ce diabète et en raison de la gravité de ses nombreuses répercussions métaboliques et dégénératives, l'utilisation de modèles expérimentaux représente autant de voies d'accès dans la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie. Durant ces dernières années, les études entreprises visant à la mise au point de modèles adéquats de diabète chez l'animal, notamment dans le cas du diabète non insulino-dépendant (sans obésité associée) ont abouti à de différents types de modèles obtenus essentiellement chez le rat. L'exploitation de ces modèles de diabète apporte des confirmations en faveur de l'idée selon laquelle les anomalies de l'insulino-sécrétion et de la sensibilité à l'insuline seraient secondaires à une réduction plus ou moins marquée de la population de cellules β . [5].

L'installation du diabète chez les modèles animaux se fait par plusieurs méthodes [5] :

- ✓ **Diabète induit par inoculation de virus**
- ✓ **Diabète induit par pancréatectomie**
- ✓ **Diabète induits par modification génétique : Les “souris” transgéniques**
- ✓ **Modèle de diabète non insulino-dépendant induit par chirurgie**
- ✓ **Diabète induit par le régime alimentaire**
- ✓ **Diabète induit par les substances chimiques [5]**

L'induction du diabète expérimental chez les animaux par les substances chimiques qui détruisent sélectivement les cellules β pancréatiques est très commode et leur utilisation est simple. Les substances les plus habituelles pour induire le diabète chez le rat sont l'alloxane et la streptozotocine [5].

❖ **La streptozotocine**

La Streptozotocine (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) est un antibiotique, extrait de *Streptomyces acromogenes*, sélectivement toxique pour les cellules β du pancréas. Cette propriété a été décrite des 1963 par Rakieten et est depuis largement utilisée pour induire le diabète insulino-dépendant et non insuline dépendant chez les modèles animaux. Comme tous agents alkylants, la streptozotocine inhibe l'initiation de la synthèse de l'ADN et est faiblement active sur les synthèses de protéines et de l'ARN. Le mécanisme de l'action diabéto-gène est encore méconnu. La streptozotocine à forte dose, détruit les cellules β , à faible dose et répétée, elle induit une insulite suivie de la destruction des cellules β par un mécanisme immunitaire dépendant des cellules T. [5].

❖ **L'alloxane**

L'alloxane est un agent exerçant une activité cytotoxique sur les cellules bêta. Comme le produit de sa réduction nommé acide dialurique, l'alloxane établit un cycle d'oxydoréduction avec

formation de radicaux super oxydes. Associé à de fortes doses de calcium cytosolique, il provoque la destruction rapide de la cellule bêta . [5].

1.4. Facteurs favorisant le diabète

- ✓ Etat prédiabétique, prédisposition héréditaire: Un père et une mère diabétique de type II auraient cent pour cent de risque de faire des enfants diabétiques.
- ✓ Obésité et sédentarité: la suralimentation aggravée par une sédentarité sont des facteurs favorisant un diabète.
- ✓ Grossesse : la naissance de gros bébé de poids supérieur à 4,5kg doit faire

Craindre un diabète.

- ✓ Hypertension artérielle (PA supérieure ou égale 140/90mmHg) .
- ✓ Traitement par des diurétiques thiazidiques ou par des bêtabloquants.

(indépendamment de l'hypertension artérielle) .

- ✓ Hypertriglycéridémie (TG supérieure ou égale 2g/l) .
- ✓ Manifestations cliniques d'athérome . [6].

Parmi les causes majeures de diabète, qui contribue lui-même de façon importante à l'évolution des complications diabétiques c'est *le stress oxydatif* : Qui se définit classiquement comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses anti-oxydants et la production des ROS, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir, une origine endogène, telles que la surproduction d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants. Ou une origine exogène ; une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants comme le tabac, alcool, rayons gamma, rayons UV et les métaux lourds. [7].

2. Diabète et stress oxydant

L'exposition au stress oxydant est une partie de vie inévitable. Les ROS, des produits normaux l'hors de certaines réactions enzymatiques, sont continuellement formés in vivo et jouent un rôle vital dans la défense de l'hôte comme la phagocytose des substances et des organismes étrangers, la modulation des hormones et des facteurs de croissance ainsi que l'activité des cytokines [8].

Récemment, docteur Brownlee et ses collègues ont proposé une hypothèse unifiant le stress oxydant, l'hyperglycémie et les complications liées au diabète [8].

Alors, la question qui se pose concerne la source des ROS associées au diabète et les mécanismes par lesquels elles sont impliquées dans les complications qui en résultent.

2.1. Sources de radicaux libres au cours des états d'hyperglycémie :

Quatre hypothèses font toutes intervenir le déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants, sont maintenant avancées pour expliquer comment l'hyperglycémie conduit aux complications observées au cours du diabète.

❖ 1ère hypothèse : Augmentation de la voie des polyols :

Dans un état d'hyperglycémie, les deux voies du métabolisme de glucose – la voie de la glycolyse et la voie des pentose-phosphates – fonctionnent moins bien. Cette perturbation est due à la saturation de l'héxokinase qui permet la phosphorylation du glucose en vue son utilisation par ces deux voies, ce qui conduit à l'accumulation du glucose dans les tissus insulino-indépendants (reins, tissu rénal, microvaisseaux rétiens...etc.) et l'activation de la voie des polyols faisant intervenir une enzyme inductible : l'aldose réductase (AR) qui n'est active que pour des concentration élevées en glucose, et une autre enzyme qui est : la sorbitol déshydrogénase (SDH) [9].

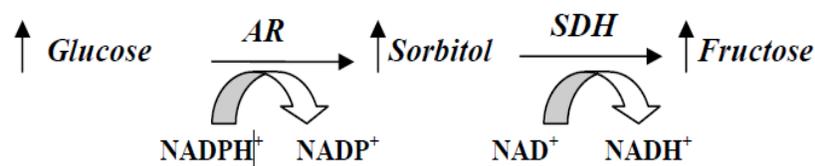


Figure 01 : Voie des polyols induite par l'hyperglycémie [9].

L'activation de la voie des polyols conduit à :

* L'accumulation du sorbitol (agent du stress osmotique très actif)

* L'accumulation du fructose (caractérisé par son grand pouvoir réducteur par rapport

au glucose) qui stimule la glycosylation non enzymatique des protéines

* La diminution du rapport NADPH, H⁺/NADP⁺ et NAD⁺/NADH, H⁺ (altération du potentiel redox) ce qui affecte la régénération du GSH en aboutissant à un stress oxydant et limite également certaines réactions enzymatiques, comme la formation du NO par la NO synthase .[4].

Ces conséquences sont directement impliquées dans la production des ROS et l'inhibition de certains antioxydants.

❖ *2ème hypothèse : Formation de protéines glyquées :*

L'hyperglycémie est une cause essentielle de la glycosylation non enzymatique ou la glycation des protéines qui résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines. Cette liaison donne naissance à des produits dits d'Amadori possédant un groupement Cétol qui forme, en présence de métaux de transition, de l'anion superoxyde O₂^{°-} [4].

Parmi les conséquences de la glycation des protéines :

- Glycation des protéines extracellulaires comme le collagène qui abouti à une modification des propriétés élastiques de la matrice extracellulaire, et l'albumine en diminuant sa capacité d'épuration des radicaux libres et de chélation des métaux de transition .
- Glycation des lipoprotéines notamment les LDL et les VLDL, ce qui augmente leur durée de vie plasmatique et par conséquent leur susceptibilité à l'oxydation qui se traduit par de fortes concentrations en TBARS .
- Glycation des protéines intracellulaires notamment les enzymes ayant une activité antioxydante telles que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase . [4].

❖ *3ème hypothèse : Activation de l'angiotensine :*

L'angiotensine II est un vasoconstricteur dont son activité augmente systématiquement lors d'une hyperglycémie. Il est considéré l'un des plus importants stimuli endogène pour la génération de l'anion superoxyde $O_2^{\circ -}$ - via la NAD(P)H oxydase endogène [9].

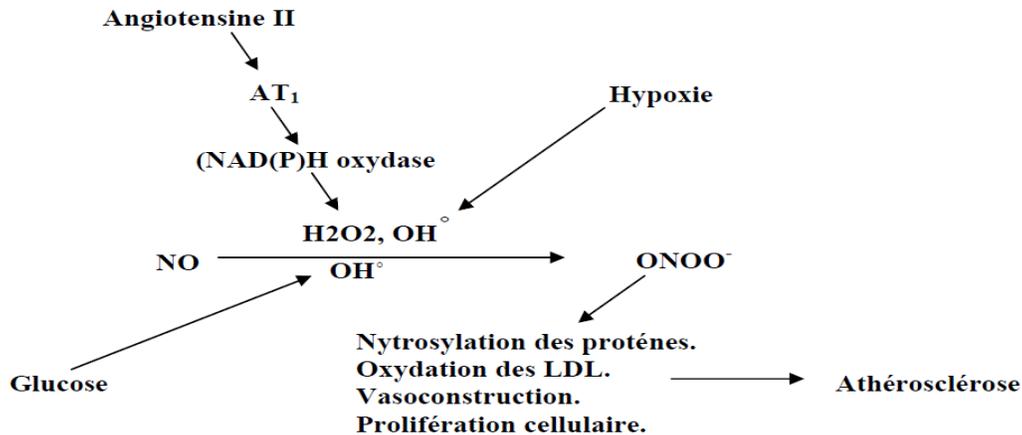


Figure 02 : Contribution de l'angiotensine II dans la production de radicaux libres [9].

❖ *4ème hypothèse : Production des radicaux libres par la mitochondrie:*

La source principale des radicaux libres au cours des états d'hyperglycémie est bien la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Le taux élevé du glucose favorise un gradient électrochimique (de protons) au niveau de la membrane interne mitochondriale suite à une activation des donneurs d'électrons du cycle des acides tricarboxyliques, ce qui induit une forte production de l'anion superoxyde. Elle produirait en effet 90 % des ROS cellulaires. Il existe deux sites de production de ROS : les complexes I et III [4].

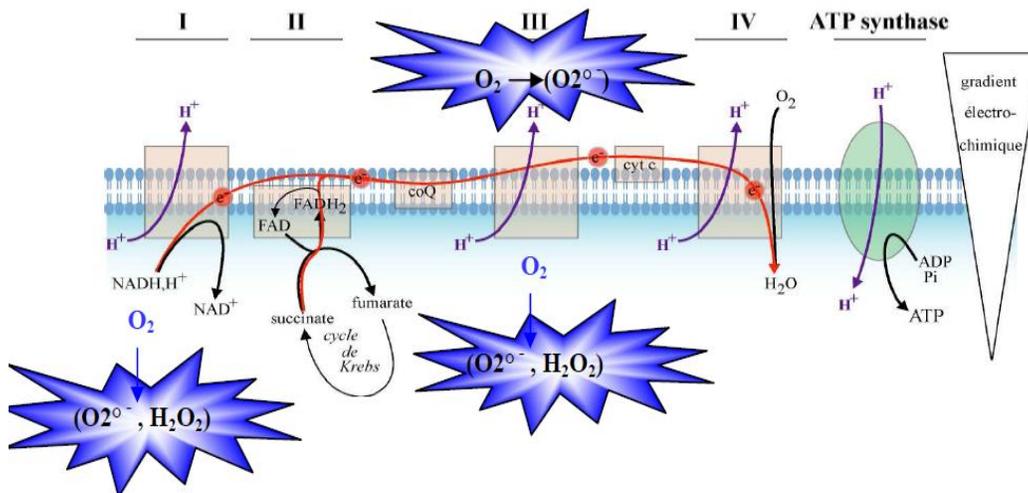


Figure 03 : Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire [4].

2.2. Traitement du diabète

2.2.1. Médicaments antidiabétiques :

Il est d'ailleurs à noter que certains antidiabétiques oraux utilisés dans le traitement du diabète possèdent, outre leurs effets normoglycémiants, des propriétés antioxydantes et /ou anti AGE. Par exemple : { Glibenclamide ,Allopurinol, Metformin, Troglitazone ...ect}. Généralement, tous ces agents antidiabétiques provoquent différents effets secondaires qui varient selon la classe, ce qui complique le traitement et accroît la souffrance des malades. A cause de leurs effets secondaires très graves, certains médicaments ont été éliminés du marché. Pour diminuer la souffrance des diabétiques, de nouvelles solutions font l'objet de recherche comme la transplantation des îlots ou bien d'autres analogues d'insuline...etc [10], ainsi que la phytothérapie qui occupe actuellement l'amont des recherches.

2.2.2. Les antioxydants :

Des études variées ont montré que les vitamines et les suppléments antioxydants peuvent aider à diminuer les marqueurs indicatifs du stress oxydant et de la peroxydation lipidique. Du fait que les antioxydants agissent en synergie et de façon à éviter un éventuel déséquilibre de la balance antioxydants/prooxydants, il est souvent souhaitable de les administrer en association. [4].

Parmi ces antioxydants étudiés avec le diabète on note la **vitamine E** qui baisse la glycosylation des protéines et l'insulino-résistance avec son effet préventif de l'athérosclérose, la **vitamine C** qui diminue le taux de l'hémoglobine glyquée et améliore l'action de l'insuline, le **vanadium** inhibant la peroxydation lipidique au niveau du pancréas, le **sélénium** qui fait augmenter l'activité des enzymes antioxydantes et le taux de GSH dans le foie et le cerveau et les β -carotènes qui diminuent la susceptibilité des LDL à l'oxydation, et améliore les taux de GSH et l'activité des GPx, et le **zinc** qui a un effet très important dans la synthèse d'insuline [4].

3. Diabète et zinc

3.1. Définition et rôle du zinc

Le zinc porte le numéro atomique 30 et se situe dans le groupe XII de la classification Périodique des Eléments. Le zinc est un métal de transition, caractérisé par une bonne conductivité électrique [11].

L'organisme humain contient entre 2,0 et 2,5 g de zinc, principalement lié à des protéines. Le foie, organe clé dans la régulation du métabolisme du zinc, contient environ 5% du zinc total de l'organisme. Le zinc intervient dans l'activité de près de 300 enzymes, dans l'expression des gènes, dans la stabilisation des structures nucléiques, protéiques et hormonales et a également un important rôle antioxydant. Au niveau des hormones et des neurotransmetteurs, le zinc peut agir sur leur synthèse, leur sécrétion, leur activité, leur stabilité ou leur fixation tissulaire. Le zinc intervient dans le métabolisme des vitamines, en particulier du rétinol, de la vitamine B₆ et des folates.

Le zinc joue également un rôle important sur les fonctions de reproduction et de gestation, au niveau des fonctions sensorielles (gustation, vision) et du système immunitaire. [12].

Le rôle antioxydant du zinc s'exerce grâce à ses interactions avec les groupements thiols, à l'existence d'une compétition avec le cuivre et le fer, à l'induction des métallothionéines, à son action au niveau d'enzymes clés (superoxyde dismutase et NADPH oxydase) et à la stabilisation des membranes [12].

3.2. Sources et apports alimentaires

Le zinc se trouve à des concentrations élevées dans les viandes et les poissons (0.03, mg/g de poids humide). Ainsi que dans les fruits de mer, les céréales et les légumes secs. Les huîtres constituent l'aliment le plus riche en zinc (1 mg/g de poids humide), les viandes rouges sont plus riches en zinc que les viandes blanches. La concentration en zinc du lait varie en fonction de l'espèce animale et de la durée de lactation. [13].

Les besoins en zinc, sont de 10 à 15 mg/jour chez l'enfant et l'adulte mais varient selon les circonstances physiologiques. Chez les nouveau-nés, les besoins sont estimés à 100 µg/kg/jour chez les prématurés, les besoins sont accrus lors de la grossesse (15 à 20 mg/jour), de lactation (25 mg/jour). [14].

3.3. Zinc et stress

Bien que le mécanisme, par lequel le Zn agit comme un antioxydant, reste imprécis, un statut altéré en cet élément-trace a clairement un impact sur les capacités antioxydantes de la cellule et, par conséquent, de l'organisme tout entier. De nombreuses équipes ont montré une augmentation de stress oxydant lors d'une concentration en zinc abaissée. La culture de cellules, en présence d'un milieu appauvri en Zn, entraîne une production accrue de molécules oxydantes. *In vivo*, l'augmentation des protéines oxydées et des dommages causés à l'ADN a été démontré chez des rats carencés en Zn. De plus, les animaux carencés en Zn sont plus sensibles à un accroissement de la production de radicaux libres et à une aggravation de leurs lésions que les animaux normo-nutris. Se demande si une carence modérée en Zn peut également dérégler le statut antioxydant. Quatre observations montrent que la réponse est « oui » : premièrement, une carence modérée produit une importante élévation de la céruloplasmine, une protéine de la phase aiguë. Une élévation de cette protéine est le signe d'une inflammation et est associée à une production de radicaux libres par les phagocytes ; deuxièmement, des rats modérément carencés en Zn, sont hautement vulnérables à une hépatite induite par des substances chimiques (galactosamine ou tétrachlorure de carbone) ; troisièmement, on assiste à une absence partielle de la réponse de phase aiguë, chez ces rats carencés. Celle-ci serait médiée par une élévation limitée de la

métallothionéine hépatique ; quatrièmement, les lipoprotéines plasmatiques LDL (Low Density Lipoproteins) et VLDL (Very Low Density Lipoproteins) font preuve d'une faible résistance à l'oxydation. [17].

3.4. Zinc et diabète

Le zinc joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion de l'insuline .Chez l'animal, la carence en zinc induit une diminution de la concentration de zinc du pancréas et du chélate insuline – zinc stocké dans les cellules bêta des îlots de Langerhans, de la sécrétion d'insuline et augmenterait soit la dégradation de l'insuline circulante, soit la résistance des tissus périphériques à l'insuline [18].

La baisse de la sécrétion insulinaire pourrait être secondaire à la perte d'appétence provoquée par la carence en zinc. Le zinc pourrait également jouer un rôle dans la synthèse de l'insuline. Il participe à la polymérisation de l'insuline au niveau des cellules bêta. [18].

La carence induirait des modifications structurales de l'insuline. La sécrétion de proinsuline ne semble pas être modifiée par la carence en zinc [18].

Le zinc interviendrait enfin dans la fixation de l'insuline à son récepteur. Le zinc pourrait également jouer un rôle dans l'utilisation du glucose par les Muscles et les cellules adipeux. Il intervient au niveau de la voie de la glycolyse, des pentoses, de la néoglucogenèse. L'absence ou la carence de ce métal favorise les complications du diabète. [18].

4. Le magnésium

4.1. Description du magnésium

Le magnésium se place au huitième rang parmi les éléments naturels les plus abondants. Il constitue 2,5 pour cent de la croûte terrestre et forme généralement des minéraux comme la giobertite ("magnésite"), ses principales sources alimentaires sont les céréales, les fruits secs, les oléagineux et le chocolat. Chez l'homme, les besoins sont évalués à environ 6 mg/kg/jour. [19].

4.2. Répartition du magnésium dans l'organisme

L'organisme contient environ 16 mmol.kg^{-1} de magnésium soit 24 g ; 60 à 70 % du magnésium total est situé dans l'os qui constitue une réserve mobilisable. Seul 1 % du contenu total en magnésium est présent dans les espaces extracellulaires ; sa concentration plasmatique est de $0,9 \pm 0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ dont 60 % correspond à la forme libre, non liée aux protéines, ni complexée avec des anions. L'équilibre entre les apports et les pertes de magnésium est assuré principalement par les variations de la réabsorption tubulaire rénale. [20].

4.3. Actions cellulaires du magnésium

Le magnésium est un cation ubiquitaire dans le corps humain. Il est impliqué comme cofacteur dans plus de 300 réactions enzymatiques différentes (métabolisme énergétique, synthèse des protéines et des acides nucléiques, par exemple). Il influence le métabolisme des cellules musculaires, myocardiques et nerveuses ainsi que les transferts ioniques transmembranaires et intracellulaires.

Le magnésium intervient dans le contrôle de la respiration mitochondriale ; il est indispensable aux réactions dépendantes de l'adénosine triphosphate (ATP) ; la forme intracellulaire active de l'ATP correspond en fait à un complexe Mg^{2+} -ATP. Le magnésium intervient aussi dans l'activité de nombreuses ATPases, en particulier la Na^+ - K^+ -ATPase de la membrane plasmique et les Ca_2^+ -ATPases membranaires. Un déficit cellulaire en magnésium aboutit à une inhibition de ces activités ATPasiques, entraînant une augmentation des concentrations cytosoliques de Na^+ et de Ca_2^+ , et une diminution de la concentration intracellulaire de K^+ . De même, l'activité adénylcyclase de la cellule, catalysant la synthèse d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) à partir de l'ATP, est dépendante du magnésium. L'AMPc en activant une protéine kinase joue un rôle majeur dans la modulation des phénomènes de contraction-relaxation du cardiomyocyte et de la cellule musculaire lisse vasculaire. [21].

4.4. Magnésium et stress

Le magnésium a aussi des propriétés anti oxydantes. Plusieurs études ont montré que le déficit magnésique induit une diminution du GSH cellulaire qui rend le tissu susceptible au dommage oxydatif. Toutefois, l'addition du magnésium a élevé la concentration plasmatique de l'acide ascorbique. Cette augmentation peut être expliquée par l'effet épargnant du magnésium sur l'empêchement de l'utilisation ou enhausse la synthèse de l'acide ascorbique. Auparavant, il a été démontré que l'administration intraveineuse du magnésium peut induire la production des radicaux libre *in vivo*. Réciproquement, la déficience magnésique peut rehausser les radicaux libres *in vivo*. . [19].

4.5. Magnésium et diabète

On associe la carence en magnésium à de nombreuses conditions allant de la nervosité, l'anxiété et la fatigue à l'artériosclérose [22]. Le syndrome métabolique et l'affaiblissement du système immunitaire [23]. L'administration quotidienne de magnésium, en rétablissant une concentration intracellulaire de magnésium plus appropriée, contribue à l'amélioration de la capture du glucose régulée par l'insuline [24]. De plus, une forte consommation quotidienne de magnésium laisse présager une faible incidence de diabète de type 2 [24] [25]. Le magnésium intracellulaire pourrait jouer un rôle clé dans la modulation de la capture du glucose régulée par l'insuline et le tonus vasculaire. Il est notamment essentiel à l'action de l'insuline, tout comme à la transformation du glucose en énergie.

Références bibliographiques

- [1]. **DEROT, M. (1985)**. Diabète, In: Encyclopaedia Universalis, Paris: Encyclopaedia Universalis France SA, **6**, 66-70.
- [2]. **Bouldjadj, R. (2009)**. Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant de L'extrait aqueux lyophilisé *d'artemisia herba alba asso* chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par Streptozotocine. Thèse de magister, Sciences de la nature et de la vie . Constantine, 111P.
- [3]. **Kebieche, M.(2009)**. Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* . Effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat, Sciences .Constantine, 143P.
- [4]. **Boumaza, A.(2009)**. Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum coss* contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse de magister , Sciences de la nature et de la vie .Constantine, 126P .
- [5]. **Bouzitouna, A.(2009)**. Contribution à l'étude de l'effet hypoglycémique des glycannes sur le diabète expérimental induit par l'alloxane chez les rats albino Wistar. Thèse de magister, Sciences. Annaba ,121P.
- [6]. **Sambo, M.H.(2005)**. Etude du traitement traditionnel du diabète par une recette et les écorces de tronc de *Manilkara multinervis Dub(Sapotaceae)*. Thèse de doctorat, Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Bamako, 125P.
- [7]. **Klibet ,F.(2009)**. Impact du sélénium sur le stress oxydatif induit par l'arsenic chez le rat wistar .Aspects Biochimique et Histologique. Thèse de magistère , Sciences. Annaba, 131P.
- [8]. **Jenkins A.J., Hill M.A. and Rowley K.G. (2007)**. Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed), p123-160.
- [9]. **Beaudeau J.L and Dominique B.R. (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. internationales p : 550.

[10]. **Gillard P., Lannoo M., Keymeulen B et Mathieu C. (2004).** Traitement du diabète par la greffe d'îlots. Flammarion Médecine-Sciences — Actualités Néphrologiques : 159-165

[11]. **Schlegel, P.(2010).** Facteurs de variation de la biodisponibilité du zinc, ajouté sous forme organique ou inorganique, chez deux espèces monogastriques en croissance (poulet et porcelet).Thèse de doctorat, Sciences et Industries du vivant et de l'environnement. Paris,177P.

[12]. **Lestienne ,I.(2004).** Contribution à l'étude de la biodisponibilité du fer et du zinc dans le grain de mil et conditions d'amélioration dans les aliments de complément. Thèse de doctorat, sciences et techniques du languedoc .Montpellier II, 245P.

[13]. **Arnoud, J. (1987).** Etude du zinc du lait maternel. Thèse de doctorat , Science pharmaceutiques. *Grenoble*.

[14]. **Bouhalit, S. (2009).** Etude du zinc sur la toxicité du nickel chez des rats albino Wistar (aspect biochimique, hématologique et histologique).Thèse de magister, Sciences. Annaba, 180P.

[15]. **Foure,H.(1986).** Dosage des fractions libre et liées du zinc sérique. Intérêt de ces fractions. Thèse de 3^e cycle en pharmacie. Grenoble.

[16]. **Cousins,R.J.(1996).** Zinc. In :Filer,L .Jand Ziegler,E.E.(eds) , present Knowledge in nutrition 7th dition,Washington .29:pp 293 - 307.

[17]. **Claeyssen, R. (2009).** Zinc et brûlure .Etude du statut en zinc et de l'influence de la supplémentation sur un modèle animal de brûlure sévère. Approche métabolique et moléculaire. Thèse de doctorat, la sante, La cognition et l'environnement. Grenoble, 308P.

[18]. **Hamdikene, M. (2009).** Etude de l'effet de la vitamine D sur le diabète induit chez des rats Wistar alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc. Thèse de magister, Sciences. Annaba, 149P.

- [19]. **Khiari, M.(2009)**. Etude de l'effet du magnésium sur la toxicité du nickel chez des rats Wistar .Aspect biochimique, hématologique et histologique. Thèse de magister, Sciences. Annaba, 146P.
- [20]. **Rouffignac C, Quamme G.(1994)**. Renal magnesium handling and its hormonal control. *Physiol Rev*;74:305-22
- [21]. **Rodriguez-Zavala JS, Moreno-Sanchez R.(1998)**.Modulation of oxidative phosphorylation by Mg²⁺ in rat heart mitochondria. *J Biol Chem* ;273:7850-5
- [22]. **Maier JA.(2003)**. Low magnesium and atherosclerosis: an evidence-based link. *Mol Aspects Med* ;Feb-Jun;24(1-3):137-46.
- [23].**Tam M, Gomez S, Gonzalez-Gross M, Marcos A.(2003)**. Possible roles of magnesium on the immune system.*Eur J Clin Nutr* 2003 Oct;57(10):1193-7.
- [24].**Barbagallo M, Dominguez LJ, Galioto A et al.(2003)**. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Mol Aspects Med* ;Feb-Jun;24(1-3):39-52.
- [25].**Bo S, Pisu E. .(2008)**. Role of dietary magnesium in cardiovascular disease prevention, insulin sensitivity and diabetes. *Curr Opin Lipidol*.Feb;19(1):50-6.
- [26].**Palsamy P and Subramanian S. (2008)**. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in STZ-nicotinamide induced experimental diabetic rats *biomedicine pharmacotherapy*.62:598-605.
- [27].**Hasanein P, Parviz M, Keshavarz M et al.(2006)**. Oral magnesium administration prevents thermal hyperalgesia induced by diabetes in rats,*Diabetes Research and Clinical Practice* 73 17–22
- [28]. **Kaplan, L.A. (1984)**. Glucose. *Clin. Chem.* 1032-1036.
- [29]. **Buccolo, G et al. (1973)**. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin. Chem.* **19(5)**: 476-482.

- [30].**Kaplan, L.A. (1984).**Urea. *Clin. Chem.*1257-1260 and 437 and 418.[31].**Murray, R.L.** (1984). Creatinine. *Clin. Chem.*1261-1266 and 418.
- [32].**Schultz, A. (1984).** Uric acid. *Clin. Chem.* 1261-1266 and 418.
- [33]. **Okhawa H., Ohishi N., Yagi K., (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Anal biochem*;95:351-8.
- [34]. **Clairborne A. (1985).** Catalase activity. In handbook of method for oxygen radical Research.Green world, R.A.ed: boca Raton .Fla CRC press,283-284.
- [35]. **Sharma A, Kharb S, Chungh SN, Kakkar R, Singh GP (2000).** Evaluation of oxidative stress befor and after control of glycemia and after Vitamin E supplementation in diabetic patients. *Metabolism*, **49** : 160 - 162.
- [36]. **Baynes JW (1991).** Perspectives in diabetes, role of oxidative stress on development of complications in diabetes. *Diabetes*, **40** : 405 - 412.
- [37]. **Mohora, M, Virgolici B, Paveliu F, Lixandru D, Muscurel C, Greabu M (2006).** Free radical activity in obese patients with type 2 diabetes mellitus, *Rom. J. Intern. Med.*, **1** : 69 - 78.
- [38].**Szkudelski T., (2001).**The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*; 50:537-546.
- [39].**Lenzen S., Panen V., (1988).**Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*; 31: 337-342.
- [40].**Liu Z., Li J., Zeng Z., Liu M., Wang M., (2007).**The antidiabetic effects of Cysteinyll Metformin, a newly synthesized agent, in alloxan- and streptozocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*.
- [41].**Chauddhry J., Ghosh N.N., Roy K., Chandra R.,(2007).**Antihyperglcemic effect of a new thiazolidinedione analogue and its role in ameliorating oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Life Sciences*; 80:1135-1142.
- [42].**Rajkumar L, Govindarajulu P., (1991).** Increased degradation of dermal collagen in diabetic rats. *Indian J Exp Biol*; 29:1081–3.
- [43]. **Mc Nall, A.D., Bherston, T.D and Fosmine, G.J.** (1995). The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression. *Nutr.* **125**: 874-879.

- [44]. **Levin, G., Cogan, V and Makady, S.** (1992). Food restriction and membrane fluidity. *Mech. Aging. Dev.* **62**: 137-141.
- [45]. **Williams, A.R and Mills, C.E.** (1970). The experimental production of zinc deficiency in the rats. *Brit. Nutr.* **24**: 989-1003.
- [46]. **Song, M.K., Rosenthal, M.J., Naliboff, B.D., Phanumas, L and Kang, K.W.** (1998). Effect of bovine prostate powder on zinc, glucose and insulin metabolism in old patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism.* **47(1)**: 39-43.
- [47]. **Nepton Soltani a,b, Manssor Keshavarz a, Ahmad Reza Dehpour** ,Effect of oral magnesium sulfate administration on blood pressure and lipid profile in streptozocin diabetic rat. *European Journal of Pharmacology* 560 (2007) 201–205
- [48]. **Zhang XF, Tan BK (2000).** Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **27** : 358 - 363.
90
- [49]. **Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, Bodla R (2004).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **91** : 171 - 175.
- [50]. **Hendricks, D.G and Mahoney, A.W.** (1972). Glucose tolerance in zinc loss, hypogeusia, anorexia and hyposmia. *Clin. Invest.* **51**: 44.
- [51]. **Fairweather-Tait, S.J., Wright, AJA., Cook, J et al.** (1985). Studies of zinc metabolism in pregnant and placating rats. *Brit. Nutr.* **54**: 401-413.
- [52]. Paolisso G, Sgambato S, Pizza G, Passariello N, Varricchio M, D’Onofrio F: Improved insulin responses and action by chronic magnesium administration in aged NIDDM subjects. *Diabetes Care* 12:265-269, 1989.
- [53]. **Cooperstin SJ and Watkin D (1981).** Action of Toxic Drugs on Islet Cells. In the Islets of Langerhans. *Academic Press, New York* : 387 – 425.
- [54]. **Al-Shamaony L, Al Khazraji MS, Twaij HA (1994).** Hypoglycemic effects of *Artemisia herba-alba* . II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *J Ethnopharmacol*, **43(3)** : 167 - 171.
- [55]. **Sharma SB, Balomajumder C, Roy P (2008).** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, **46** : 2376 - 2383.
- [56]. **Brown GB, Xue-Qiao Z, Soccoand DE, Albert JJ (1993).** Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical vents in

coronary disease. *Circulation*, **8** : 1781 - 1791.

[57].**Eddouks M, Lemhadri A, Michel JB (2005)**. Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **98** :345 - 350.

[58].**Betteridge J (2002)**. Lipid disorders in diabetes mellitus. In: Pickup J and Williams G. (eds.)*Textbook of Diabetes*. Blackwell Science, London : 551 - 553.

[59].**Goodman LS, Gilman A (1985)**. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Macmillan.*New York*, 1490 – 1510.

[60].**Patricia, I.O., Wtherine, L.O., Cesar, C.F and Carl, L.K.** (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to protein, lipids and DNA in rats testes. *Nutr.* **125**: 823-829.

[61].**O'Dell, B and Reervers, P.** (1982). The effect of zinc deficiency on glucose metabolism in meal-fed rats. *Brit. Nutr.* **49**: 441-452.

[62].**Anetor, J.I., Senjobi, A., Ajose, O.A., Agbedana, E.O.,** 2002. Decreased serum magnesium and zinc levels: atherogenic implications in type-2 diabetes mellitus in Nigerians. *Nutr. Health* 16, 291–300.

[63].**Almadal T.P and Vilstrup H., (1988)**. Strict insulin treatment normalizes the organic nitrogen contents and the capacity of urea-N synthesis in experimental diabetes in rats
Diabetologica; 31:114–11

[64].**Anwar M.M. and Meki A.R. (2003)**. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. Molecular and Integrative Physiology*; 135:347–539.

[65].**Soon, Y.Y., Tan, B.K.H. (2002)**. Evaluation of the hypoglycaemic and antioxidant activities of *Morinda officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal*; 43: 77–85.

[66].**Kakkar R., Mantha S.V., Radhi J., Prasad k., Kalra J. (1993)**. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *J Clin Sci*;94623-32.

[67].**Barbagallo M., Dominguez LJ, Galiotto A., Ferlisi A., Cani C, Malfa L, Pineo A, Busardo A , paolisso G.** Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic.