

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA - Béjaïa**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Physico-Chimique**  
**Spécialité : Biochimie Appliquée**



**Réf : .....**

**Mémoire de Fin de Cycle**  
**En vue de l'obtention du diplôme**

**MASTER**

***Thème***

**Caractérisation physico-chimique et activités  
biologiques d'un phytocomplexe**

Présenté par :

**BENALLAOUA Samah & HOCINA Djohra**

**Soutenu le : 09/07/2024**

Devant le jury composé de :

<b>Mme KADJI H</b>	Professeur	Président
<b>Mme DEBBACHE N</b>	Professeur	Encadrant
<b>Mme BOUDJOUAN A</b>	MCB	Examinatrice

**Année universitaire : 2023 / 2024**

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

## **Remerciements**

*Avant toute chose, nous remercions dieu, le tout puissant,  
de nous avoir donné la force et la patience de mener.*

*Nous avons la reconnaissance et la gratitude à remercier notre encadrante Mme  
**DEBBACHE Nadjet** et la doctorante Mlle **KADDOUR Taous**  
de nous avoir confié ce thème et de nous avoir orienté et conseillé afin de  
réaliser ce modeste pat de recherche.*

*On vous remercie infiniment pour votre encadrement, votre disponibilité et  
votre gentillesse.*

*Nos remerciements vont aussi aux*

*Mme **KADJI Hafsa** et Mme **OURABAH Asma** qui nous ont fait le grand  
honneur de présider ce jury et d'évaluer ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier l'équipe du laboratoire de PBC et laboratoire  
d'anatomopathologie de la faculté de médecine pour leur aide et leur  
chaleureux accueil.*

*Nous remercions également la **promo Biochimie Appliquée 2023/2024** et toute  
personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

**Samah & Djohra.**

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce mémoire*

***A ma chère mère***, la source de ma force, celle qui m'encourage d'être la meilleure version de moi-même. Pour ton amour inconditionnel, ton soutien indéfectible et tes prières tout au long de ce parcours.

*Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et de mon admiration pour tout ce que tu as fait pour moi.*

***A mon père***, qui a été toujours présent, sans ta confiance, ta compréhension, ton soutien et surtout la bonne éducation que tu m'as offert, je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui.

***A ma chère sœur bien aimée Célia.***

*A mes frères : **Fayçal, Yacine, Omar et Karim***

*Vous avez toujours été là pour m'encourager et me soutenir, je vous remercie infiniment.*

***A ma belle-sœur Zahra***, pour tes précieux conseils.

*A mes neveux : **Dylan et Aris** mes petits trésors qui m'inspirent par leur curiosité et leur joie de découvrir le monde à chaque instant.*

***A toute ma famille et mes amies***

*A mon binôme **Djohra**, laquelle j'ai partagé ce travail ainsi que les meilleurs moments de mon parcours universitaire.*

***À moi-même,***

*Pour la persévérance, le dévouement et les innombrables heures de travail acharné qui ont rendu ce mémoire possible. Pour les sacrifices consentis, les nuits blanches et les moments de doute surmontés. Que ce travail soit un témoignage de ma détermination et de ma passion pour l'apprentissage.*

***Samah.***

## ***Dédicaces***

*Je tien à dédier cette modeste œuvre :*

### ***A mes chers parents,***

*En témoignages de ma gratitude et reconnaissance, si grande qu'elle puisse être, pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon bien être et le soutien qu'ils m'ont prodigué tout long de mon éducation. Que Dieu le tout puissant, les préserve et les procure santé et longue vie.*

### ***A mes sœurs,***

*Pour leur encouragement et leur bonté qu'elles m'ont accordé, J'exprime ma profonde reconnaissance et mon grand respect.*

*Je vous aime.*

### ***A tous mes amis,***

*Qu'ils trouvent en ce travail, un grand hommage de ma gratitude et en témoignage de l'amitié qui nous unit et de tous les souvenirs passés Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine du bonheur.*

### ***A mon binôme SAMAH,***

*Avec laquelle j'ai partagé ce travail, pour tous les bons moments qu'on a passé.*

### ***A toute ma famille***

***Djohra.***

## *Sommaire*

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction.....1**

### **Chapitre I : Revue Bibliographique**

**I.1 Généralités sur l'olivier *Olea europaea* L.....2**

I.1.1 Définition.....2

I.1.2 Classification.....2

I.1.3 Description botanique.....3

I.1.4 Utilisation traditionnelle.....3

I.1.5 Composés phénoliques.....3

I.1.6 Activités biologiques .....5

I.1.6.1 Activité antioxydante.....5

I.1.6.2 Activité anti-inflammatoire.....5

I.1.6.3 Activité antimicrobienne.....5

I.1.6.4 Activité antidiabétique.....5

**I.2 Généralités sur le diabète.....5**

I.2.1 Diagnostic.....6

I.2.2 Diabète de type 1.....7

I.2.2.1 Définition.....7

I.2.2.2 Symptômes.....7

I.2.2.3 Physiopathologie.....7

I.2.3 Diabète de type 2.....8

I.2.3.1 Définition.....8

I.2.3.2 Facteurs de risques.....9

I.2.3.3 Physiopathologie.....9

I.2.3.4 Les complications associées au diabète.....	10
I.2.4 Prévention et traitement de diabète.....	11
I.2.4.1 Traitements pharmacologiques.....	11
I.2.4.2 Phytothérapie du diabète.....	12

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

II.1 Matériel.....	13
II.1.1 Matériel végétal.....	13
II.1.2 Animaux d'expérience.....	13
II.2 Méthode.....	13
II.2.1 Extraction des composés phénoliques.....	13
II.2.2 Dosage des polyphénols totaux.....	13
II.2.3 Evaluation de l'activité antioxydante.....	14
II.2.4 Etude de la toxicité aigüe de l'extrait brut de feuilles d' <i>Olea europaea</i> .....	15
II.2.5 Etude de l'activité antidiabétique de l'extrait brut de feuilles d' <i>Olea europaea</i> .....	16
II.2.5.1 Optimisation de l'induction du diabète.....	16
II.2.5.2 Suivi de la glycémie.....	16
II.2.6 Etude histologique du foie.....	17
II.2.7 Evaluation des homogénats.....	20
II.2.7.1 Dosage hépatique du malondialdéhyde (MDA).....	20
II.2.7.2 Estimation du taux de glutathion (GSH).....	21
II.2.8 Analyse statistique.....	21

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1 Caractérisation photochimiques globale des extraits phénoliques.....	22
III.1.1 Dosage de la teneur en composés phénoliques.....	22
III.1.2 Estimation de rendement d'extraction.....	22

III.1.3 Estimation de l'activité anti-radicalaire.....	22
III.2 Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> .....	23
III.2.1 Evolution pondéral .....	23
III.2.2 Effet des extraits sur la mortalité des rats.....	25
III.2.3 Test de comportement .....	25
III.3 Evaluation des homogénats hépatiques.....	26
III.3.1 Effets d'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur le glutathion (GSH).....	26
III.3.2 Effets d'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur le malondialdéhyde (MDA) .....	27
III.4 Evaluation de l'activité antidiabétique.....	28
III.4.1 Optimisation de l'induction du diabète.....	28
III.4.2 Suivi de la glycémie.....	29
III.5 Evaluation des homogénats hépatiques des rats diabétiques.....	30
III.5.1 Effets de l'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur les niveaux de glutathion (GSH) hépatique des rats diabétiques.....	30
III.5.2 Effets de l'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur les niveaux de malondialdéhyde (MDA) hépatique des rats diabétiques.....	32
III.6 Histologie hépatique.....	33
III.6.1 Coupes histologiques des rats traités avec l'extrait d' <i>Olea europaea</i> .....	33
III.6.2 Coupes histologiques des rats traités avec deux différentes molécules inductrices de diabète.....	35
III.6.3 Coupes histologiques du foie des rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> .....	36
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>41</b>



## *Liste des figures*

<b>Figure 01 :</b> <i>Olea europaea</i> L.....	<b>2</b>
<b>Figure 02 :</b> Principaux composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'olivier <i>Olea europaea</i> .....	<b>4</b>
<b>Figure 03 :</b> Modèles de la contribution de la masse et de la fonction des cellules $\beta$ à la pathogenèse du diabète de type 2.....	<b>10</b>
<b>Figure 04 :</b> Complications liées au DT2.....	<b>11</b>
<b>Figure 05 :</b> Mécanisme réactionnel de la méthode de Folin Ciocalteu et un antioxydant .....	<b>14</b>
<b>Figure 06 :</b> Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant.....	<b>14</b>
<b>Figure 07 :</b> Organigramme récapitulant le protocole expérimental de l'étude toxicologique.	<b>16</b>
<b>Figure 08 :</b> Organigramme récapitulant le protocole expérimental de l'évaluation de l'activité antidiabétique.....	<b>17</b>
<b>Figure 09 :</b> Coupe des échantillons de foie et placement dans des cassettes.....	<b>18</b>
<b>Figure 10 :</b> Automate de déshydratation.....	<b>19</b>
<b>Figure 11 :</b> Station d'enrobage.....	<b>19</b>
<b>Figure 12 :</b> Microtome à paraffine.....	<b>20</b>
<b>Figure 13 :</b> Principe du dosage du MDA.....	<b>21</b>
<b>Figure 14 :</b> Valeurs IC 50% des extraits de feuilles d'olivier et Acide gallique.....	<b>23</b>
<b>Figure 15 :</b> Variation du poids corporel des rats durant le test de toxicité.....	<b>24</b>
<b>Figure 16 :</b> Effets des différentes doses d'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur les taux hépatiques de glutathion.....	<b>26</b>
<b>Figure 17 :</b> Effets des différentes doses d'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur les taux hépatiques de MDA.....	<b>27</b>
<b>Figure 18 :</b> Graphique représentatif du taux de glycémie des différents lots.....	<b>29</b>

<b>Figure 19</b> : Effets de l'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur les niveaux de GSH hépatique des rats diabétiques.....	<b>31</b>
<b>Figure 20</b> : Effets d'extrait d' <i>Olea europaea</i> sur les taux de MDA hépatiques des rats diabétiques.....	<b>32</b>
<b>Figure 21</b> : Parenchyme hépatique d'un rat du groupe témoin.....	<b>34</b>
<b>Figure 22</b> : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 75mg/kg d'extrait.....	<b>34</b>
<b>Figure 23</b> : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 300mg/kg d'extrait.....	<b>34</b>
<b>Figure 24</b> : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 600mg/kg d'extrait.....	<b>34</b>
<b>Figure 25</b> : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 70mg/kg de STZ.....	<b>35</b>
<b>Figure 26</b> : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 80mg/kg de STZ.....	<b>35</b>
<b>Figure 27</b> : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 150mg/kg d'alloxane.....	<b>36</b>
<b>Figure 28</b> : Parenchyme hépatique d'un rat de groupe témoin.....	<b>37</b>
<b>Figure 29</b> : Parenchyme hépatique d'un rat diabétique non traité.....	<b>37</b>
<b>Figure 30</b> : Parenchyme hépatique d'un rat diabétique traité avec de la Glibenclamide.....	<b>37</b>
<b>Figure 31</b> : Parenchyme hépatique d'un rat diabétique traité avec 75mg/kg de l'extrait.....	<b>37</b>
<b>Figure 32</b> : Parenchyme hépatique d'un rat diabétique traité avec 350mg/kg de l'extrait.....	<b>38</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I :</b> Caractéristiques morphologiques d' <i>Olea europaea</i> L.....	<b>3</b>
<b>Tableau II :</b> Utilisation d' <i>Olea europaea</i> L. dans la médecine traditionnelle.....	<b>3</b>
<b>Tableau III :</b> Composés phénoliques d' <i>Olea europaea</i> .....	<b>4</b>
<b>Tableau IV :</b> Comparaison entre le normal, le prédiabète et le diabète basée sur trois méthodes de diagnostic.....	<b>6</b>
<b>Tableau V :</b> Mortalité après administration de différentes doses d'extrait de feuilles d' <i>Olea europaea</i> .....	<b>25</b>
<b>Tableau VI :</b> Signes de toxicité associée au diabète induit par différentes doses de streptozotocine et d'alloxane.....	<b>28</b>

## *Liste des abréviations*

**ADA** : Association Américaine du Diabète (American Diabetes Association)

**ANOVA** : Analyse de la variance (analysis of variance)

**AVC** : Accidents vasculaires cérébraux

**CI50** : Concentration Inhibitrice 50 %

**COX** : Cyclooxygénase

**DL50** : Dose Létale 50 %

**DM** : Diabète sucré (Diabetes Mellitus)

**DPP-4** : Dipeptidyl peptidase-4

**DPPH•+** : Radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

**DT1** : Diabète de Type 1

**DT2** : Diabète de type 2

**DTNB** : 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque)

**ERO** : Espèce réactive d'oxygène

**FPG** : Glycémie à jeun (Fasting Plasma Glucose)

**EAG** : Équivalent en Acide Gallique

**EAG/g MS** : Équivalent en Acide Gallique par gramme de Matière Sèche

**GLP-1** : Peptide-1 de type glucagon (Glucagon-like peptide-1)

**GSH** : Glutathione

**HbA1c** : Hémoglobine glyquée

**HGP** : Production hépatique de glucose (Hepatic Glucose Production)

**HIPs** : Peptides hybrides d'insuline

**HZ** : Hertz

**MCV** : Maladies cardiovasculaires

**MDA** : Malondialdéhyde

**MS** : Matière sèche

**NaCl** : Chlorure de sodium

**OGTT** : Test de tolérance au glucose par voie orale (Oral Glucose Tolerance Test)

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé

**P2C** : Protéine 2C

**PBS** : Solution saline tamponnée au phosphate (Phosphate Buffered Saline)

**PG** : Glycémie plasmatique (plasma glucose)

**pH** : Potentiel Hydrogène

**PTP1B** : Protéine tyrosine phosphatase 1B

**R%** : Rendement (pourcentage)

**rpm** : Tours par minute (Révolutions per minute)

**STZ** : Streptozotocine

**TBA** : Acide butyrique tert-butylique (tert-butylacetic acid)

**TCA** : Acide trichloroacétique (trichloroacetic acid)

**TPC** : Teneur en polyphénols totaux (Total Polyphenol Content)

**VP1, VP2, VP3** : Protéine d'enveloppe du virus Coxsackie B4

# *Introduction*

## *Introduction*

La médecine moderne a permis de traiter un grand nombre de maladies, malgré cela, les plantes médicinales et les remèdes traditionnels n'ont jamais été abandonnés. De nos jours, les personnes font toujours appel à la médecine traditionnelle.

Le foie est l'un des organes les plus importants du corps humain, ses fonctions cruciales telles que le métabolisme, la sécrétion, le stockage et la détoxification sont vitales au bon fonctionnement du corps humain. Ainsi, toute infection touchant le foie peut entraîner diverses complications et voir même la mort. Depuis des siècles, les plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter et prévenir les maladies du foie ainsi que de nombreuses autres maladies. Aujourd'hui, les approches phytothérapeutiques sont devenues populaires en raison des effets indésirables qu'engendrent les médicaments chimiques et le nombre d'études dans ce domaine a considérablement augmenté. Plusieurs investigations ethno-pharmacologiques ont rapporté à travers des études *in vivo* et *in vitro* l'efficacité des composés bioactifs d'origine végétale dans la suppression de l'inflammation qui est facteur de cause et de conséquence de plusieurs pathologies.

Ainsi, de nouveaux produits dérivés de plantes sont étudiés par plusieurs laboratoires pour leur potentiel antioxydant et anti-inflammatoire. Dans cette approche nous évaluons l'effet hépatoprotecteur des extraits de feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L) connu depuis l'antiquité et présente plusieurs vertus médicinales, antioxydant, anti-bactérien, anti-fongiques, anti-viral et antihypertenseur. Dans un premier temps après avoir introduit des généralités sur l'olivier, son utilisation traditionnelle, sa composition chimique et ses bioactivités, nous allons décrire la méthodologie suivie pour évaluer le potentiel hépatoprotecteur de l'extrait sur un modèle murin diabétique induit par la streptozotocine.

*Chapitre I*  
*Synthèse*  
*bibliographique*



## I.1 Généralités sur l'olivier *Olea europaea* L

### I.1.1 Définition

L'olivier (*Olea europaea* L.) est un arbre fruitier qui produit les olives, un fruit consommé sous diverses formes. Il appartient à la famille des Oléacées, comprenant 24 genres avec 600 différentes espèces. Le genre *Olea*, auquel appartient l'olivier, se compose de 33 espèces différenciées par des critères morphologiques et moléculaires.

*Olea europaea*, c'est une plante vivace connue depuis l'antiquité et présente plusieurs vertus médicinales. Elle est considérée comme plante dépolluante. Ainsi, elle est au vue de cette étude considérée comme une plante antioxydante.



**Figure 1 :** *Olea europaea* L (Originale)

### I.1.2 Classification

La classification botanique de l'olivier, selon Ghedira (2008) est la suivante :

**Embranchement :** Magnoliophyta.

**Classe :** Magnoliopsida.

**Sous classe :** Asteridae.

**Ordre :** Scrophulariales

**Famille :** Oleaceae.

**Genre :** *Olea* L.

**Espèces :** *Olea europaea* L.

### I.1.3 Description botanique

**Tableau I** : Caractéristiques morphologiques d'*Olea europaea* L, selon (Garcia-Gonzalez et al., 2010).

Caractéristique	Valeur
Hauteur	5 à 15 m
Largeur	4 à 12 m
Feuillage	Persistant
Floraison	Avril à Juin
Fructification	Juin à Aout
Origine	Asie, bassin méditerranéen

### I.1.4 Utilisation traditionnelle

L'*Olea europaea* L., communément connue sous le nom d'olivier, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour un large éventail de maladies dans divers pays.

Les différentes parties de l'olivier, telles que l'écorce, les fruits, les feuilles, le bois, les graines et l'huile, sont utilisées sous différentes formes, seuls ou parfois en combinaison avec d'autres herbes.

Les feuilles d'olivier sont principalement utilisées en phytothérapie pour leurs propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydantes. Elles sont également utilisées pour lutter contre les infections virales, bactériennes ou fongiques.

**Tableau II** : Utilisation d'*Olea europaea* L. dans la médecine traditionnelle.

Partie/préparation utilisation	Maladie/utilisation	Référence
Décoction des feuilles	Antidiabétique, antihypertenseur	(Tahraoui et al., 2007)
Feuilles d' <i>Olea europaea</i>	Antibactérien	(Haloui et al., 2010)

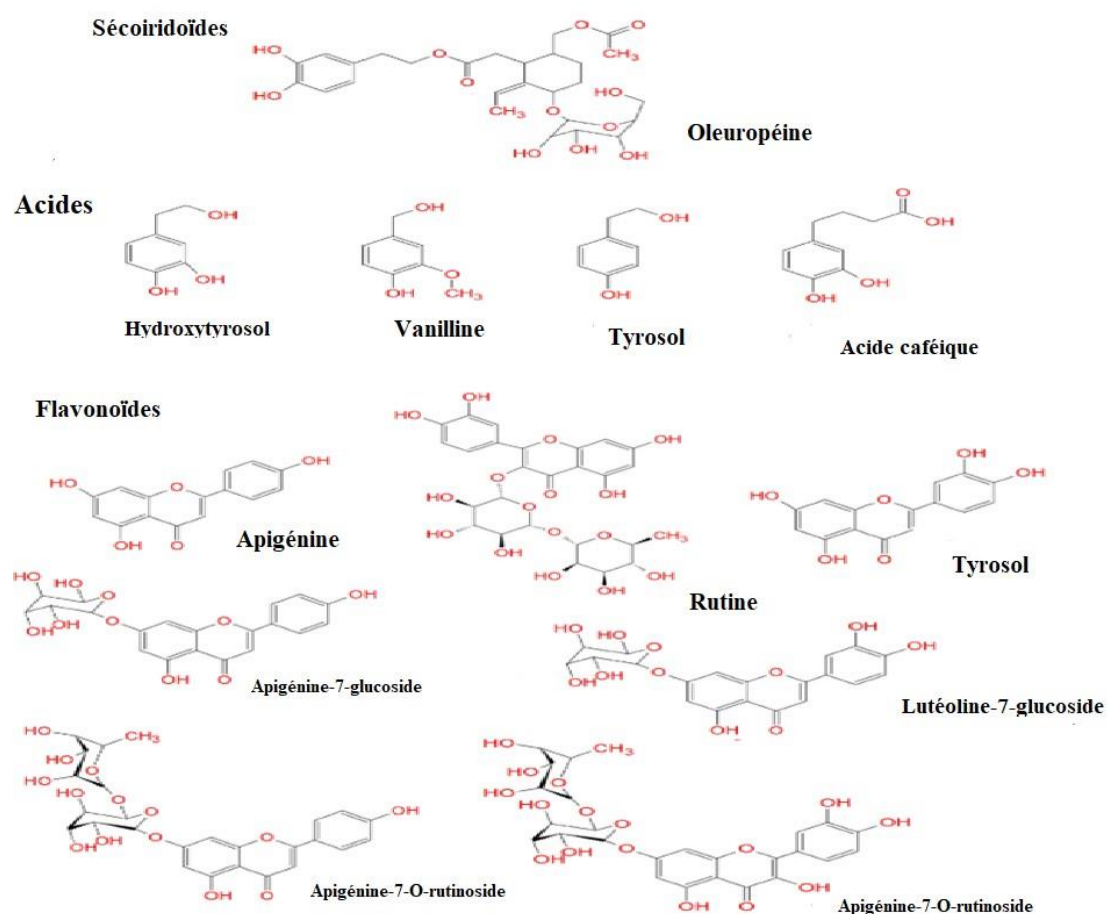
### I.1.5 Les composés phénoliques

Le profil phénolique des feuilles et des fruits de l'olivier est principalement composé d'acides phénoliques, d'alcools phénoliques, de flavonoïdes et de sécoiridoïdes.

Ces composés, tels que l'acide férulique, le tyrosol, la lutéoline et l'oleuropéine, varient selon le cultivar de l'olivier (Tableau III, Figure 2). Ils agissent comme des défenses naturelles contre les herbivores et les agents pathogènes (Charoenprasert et Mitchell, 2012 ; Ye, 2014).

**Tableau III :** Composés phénoliques d'*Olea europaea*

Catégorie	Composés
Acides phénoliques	Acide férulique, acide vaillique, acide coumarique
Alcools phénoliques	Tyrosol, hydroxytyrosol
Flavonoïdes	Lutéoline-7-glucoside, cyanidine-3-glucoside, cyanidine-3-rutinoside, rutine, apigénine-7-glucoside, quercétine 3-rhamnoside, lutéoline
Sécoiridoïdes	Oleuropéine, ligstroside



**Figure 2 :** Principaux composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'olivier *Olea europaea* (Kountouri et al., 2010)

## **I.1.6 Activités biologiques**

L'huile d'olive et ses produits dérivés possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé grâce à leurs composés antioxydants, antimicrobiens et anti-inflammatoires. Ils pourraient notamment jouer un rôle dans la prévention de certaines maladies.

### **I.1.6.1 Activité antioxydante**

Les feuilles d'olivier présentent une forte activité antioxydante due à leur teneur élevée en composés phénoliques, tels que l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et la tyrosol, protégeant contre les dommages oxydatifs (**Owen et al., 2000**).

### **I.1.6.2 Activité anti-inflammatoire**

L'olive s'est révélée être un substitut fiable pour diminuer l'inflammation et contribue à maintenir ou à réguler les gènes impliqués dans ce processus. Selon **Lucas et al. (2011)**, l'huile d'olives inhibe la cyclooxygénase et la lipoxygénase. La présence de l'oléocanthal dans l'huile d'olive vierge a révélé des propriétés anti-inflammatoires remarquables (**Hashmi et al., 2015**).

### **I.1.6.3 Activité antimicrobienne**

*Olea europaea* a été couramment employée comme un remède pour traiter de nombreux problèmes infectieux causés par des bactéries, des fongiques et des virus. Plusieurs recherches ont confirmé le potentiel antimicrobien et antiviral de la plante (**Adnan et al., 2014**).

### **I.1.6.4 Activité antidiabétique**

Plusieurs études expérimentales ont confirmé l'utilisation ethnomédicale d'*Olea europaea* dans le traitement du diabète (**M. El Amin et al., 2013**). La résistance à l'insuline est la cause de l'apparition et de l'évolution du diabète type 2, principalement due à un surpoids et à un manque d'activité physique. Le stress oxydatif généré provoque une diminution des cellules  $\beta$ , un indicateur de la sensibilité à l'insuline, ce qui accroît les risques de diabète type 2. Les olives non mûres contiennent de l'oleuropéine, un ester hétérosidique d'hydroxytyrosol, qui a une activité hypoglycémique (**Hussain et al., 2021**). La teneur en graisses monoinsaturées des olives joue également un rôle dans la diminution de l'indice glycémique en diminuant l'absorption du glucose (**Chandler et al., 2010**).

## **I.2 Généralités sur le diabète**

Le diabète sucré (DM) est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologies diverses, caractérisé par une hyperglycémie chronique, accompagnée par une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de sécrétion et/ou

d'action de l'insuline. Cette hyperglycémie chronique est associée, à des complications à long terme, touchant en particulier les yeux, les reins, les nerfs et le cœur (**Bédou, 2019**).

Cependant, selon l'OMS (**Organisation mondiale de la Santé, 2016**) le diabète est classé en :

1. Diabète de type 1 : dû à la destruction auto-immune des cellules  $\beta$  pancréatiques.
2. Diabète de type 2 : dû à une perte progressive non auto-immune de la sécrétion adéquate de l'insuline, souvent sur fond de résistance à l'insuline et de syndrome métabolique.
3. Diabète gestationnel : diabète diagnostiqué au cours du deuxième ou du troisième trimestre de la grossesse et le diabète de type 1.
4. Types spécifiques dus à d'autres causes (**Altman et al., 2012**).

### I.2.1 Diagnostic

Selon l'American Diabetes Association (ADA), il existe quatre méthodes pour le diagnostic du diabète, et les même sont utilisées pour le dépistage de prédiabète :

-Test de glycémie à jeun (FPG) : l'absence de consommation d'aliments et de boissons, à l'exception de l'eau, pendant au moins 8 h avant le test.

-Test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT) : lorsqu'un patient consomme une solution de sirop de glucose (75 g de glucose), avant laquelle un test sanguin est effectué pour déterminer la glycémie (PG) sur 2 heures ; ou

-Le taux d'HbA1c (hémoglobine glyquée ou hémoglobine liée au glucose) ; ou

-La glycémie plasmatique (PG) aléatoire supérieure ou égale à 200 mg/dL ou 11,1 mmol/L chez les patients présentant des symptômes d'hyperglycémie.

La mesure de la glycémie plasmatique lors du test de tolérance au glucose oral (OGTT) est une méthode plus précise que la mesure de la glycémie à jeun et de l'HbA1c pour le diagnostic du diabète. Cependant, une PG dans l'OGTT  $\geq$  200 mg/dL peut aussi suggérer une intolérance au glucose plutôt qu'un diabète manifeste. Il est donc conseillé d'effectuer plusieurs tests pour confirmer le diagnostic de diabète (**ADA, 2024**) (Tableau IV).

**Tableau IV** : Une comparaison entre le normal, le prédiabète et le diabète basée sur trois méthodes de diagnostic (**Khan et al., 2019**).

	FPG	PG dans OGTT	A1C
<b>Normal</b>	<100 mg/dL ou 5.5 mmol/L	<140mg/dL ou 7.8 mmol/L	<5.7% ou 39 mmol/mol

<b>Prédiabète</b>	$\geq 100$ mg/dL ou 5.5 mmol/L	$\geq 140$ mg/dL ou 7.8 mmol/L	$\geq 5.7\%$ ou 39 mmol/mol
<b>Diabète</b>	$\geq 126$ mg/dL ou 7.0 mmol/L	$\geq 200$ mg/dL ou 11.1 mmol/L	$\geq 6.5\%$ ou 48 mmol/mol

**FPG** : glycémie à jeun ; **PG** : Glucose plasmatique ; **OGGT** : Test de tolérance au glucose oral ; **A1C** : Hémoglobine glyquée

## I.2.2 Diabète de type 1

### I.2.2.1 Définition

Le diabète de type 1, également appelé diabète « insulino-dépendant » ou « diabète juvénile » représente environ 5 à 10 % des cas de diabète, c'est une maladie auto-immune qui se caractérise par la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques productrices d'insuline par les cellules immunitaires (lymphocytes T  $CD^{4+}$  et  $CD^{8+}$  et les macrophages). Cette destruction est médiée par des auto-anticorps dirigés contre les îlots pancréatiques et d'autres cibles spécifiques, tels que l'acide glutamique décarboxylase ( $GAD_{65}$ ), l'insuline, les tyrosines phosphatases antigènes IA-2 et IA-2 $\beta$ , ainsi que le transporteur de zinc 8. Le développement d'au moins deux de ces auto-anticorps marque un point de non-retour à partir duquel 70% des enfants progressent vers le diabète au cours des 10 années suivantes. Ce type de diabète peut dans des cas très rares être d'origine idiopathique (**American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2022; Gillespie, 2006**).

### I.2.2.2 Symptômes

La destruction de 70-80% des cellules  $\beta$  entraîne un déficit absolu de la sécrétion d'insuline ce qui induit l'apparition clinique d'une hyperglycémie, ainsi d'autres symptômes tels que la polydipsie, polyurie, polyphagie, cétonurie, perte de poids inexplicée, fatigue extrême... (**Bédou, 2019**)

### I.2.2.3 Physiopathologie

La cause principale du diabète de type 1 est encore inconnue. Cependant, l'auto-immunité se déclenche lorsqu'une interaction complexe de facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques conduit à la destruction des cellules bêta productrices d'insuline dans le pancréas (**Acharjee et al., 2013**).

Les principaux mécanismes impliqués dans cette destruction incluent :

- **Facteurs génétiques**

Le diabète de type 1, caractérisé par une forte prédisposition génétique, présente une incidence plus élevée parmi les proches des patients atteints. Le complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) sur le chromosome 6 et la région du gène de l'insuline sur le chromosome 11 sont les principaux loci génétiques impliqués. Les gènes HLA, en particulier les variants HLA-DQ et DR, jouent un rôle clé dans la réceptivité. Des études génomiques ont identifié d'autres loci de susceptibilité, incluant CTLA-4, PTPN22 et IL-2RA. Le modèle immunologique montre que la destruction des cellules  $\beta$  induit une réponse auto-immune, où les cellules T reconnaissent les auto-antigènes comme étrangers, provoquant ainsi le diabète de type 1 (**Acharjee et al., 2013**).

- **Les infections virales**

Des recherches ont révélé un rapport entre le diabète de type 1 et certaines infections virales. Cependant, les entérovirus en particulier le Coxsackie B4, se trouvent parmi les principaux suspects capables d'induire le DT1. Ce virus contient la protéine 2C(P2C) similaire à l'enzyme acide glutamique décarboxylase présente sur les îlots de Langerhans. Cette ressemblance, due au mimétisme moléculaire, fait que le système immunitaire confond la protéine P2C avec une molécule du soi, évitant ainsi de l'attaquer (**Tenenbaum et al., 2018**).

- **Facteurs environnementaux**

Des études épidémiologiques ont démontré l'impact de l'environnement et du mode de vie dans le développement de diabète de type 1. Le surpoids, la croissance rapide, les infections, les carences alimentaires ou le stress psychologique peuvent épuiser les cellules  $\beta$  pancréatiques, conduisant à leur destruction auto-immune. En complément de ces observations, la découverte des peptides hybrides d'insuline (HIPs) révèle un lien entre le stress des cellules  $\beta$  et l'auto-immunité. Produits sous stress, ces peptides agissent comme néoantigènes, déclenchant une réponse immunitaire spécifique contre les cellules  $\beta$ . Chez les individus prédisposés, cette réponse peut entraîner la destruction des cellules  $\beta$ , contribuant au développement du diabète de type 1 (**Rewers & Ludvigsson, 2016**).

### **I.2.3 Diabète de type 2**

#### **I.2.3.1 Définition**

Le diabète de type 2 est l'un des troubles métaboliques les plus courants, touchant environ 3 % de la population mondiale (**Kalin et al., 2016**). Il représente également 90 à 95 % de tous les

cas de diabète (**Bellary et al., 2021**). Ce type de diabète est principalement causé par une combinaison de deux facteurs : une sécrétion d'insuline défectueuse et l'incapacité des tissus sensibles à l'insuline tels que le foie, les muscles et le tissu adipeux de répondre à cette hormone (**Galicia-Garcia et al., 2020**). Cette condition conduit à une hyperglycémie chronique (**ADA, 2024**).

### **I.2.3.2 Facteurs de risques**

Les principaux facteurs de risque du diabète de type 2 sont divers et souvent interconnectés, incluant des aspects du mode de vie, des antécédents génétiques, et des influences environnementales.

L'obésité, particulièrement l'obésité abdominale, est un facteur crucial, l'excès de tissu adipeux viscéral contribue à la libération d'acides gras libres et de cytokines pro-inflammatoires qui interfère avec la signalisation de l'insuline au niveau cellulaire. (**Kahn et al., 2006**). D'autres facteurs peuvent également participer au développement du diabète de type 2, tels que le **manque d'activité physique**, une **alimentation déséquilibrée**, les **antécédents familiaux de diabète**, **l'âge avancé**, la **résistance à l'insuline**, le **stress chronique**, et l'utilisation de **certains médicaments** (**American Diabetes Association, 2024**).

### **I.2.3.3 Physiopathologie**

La physiopathologie de diabète de type 2 est marquée par plusieurs anomalies métaboliques.

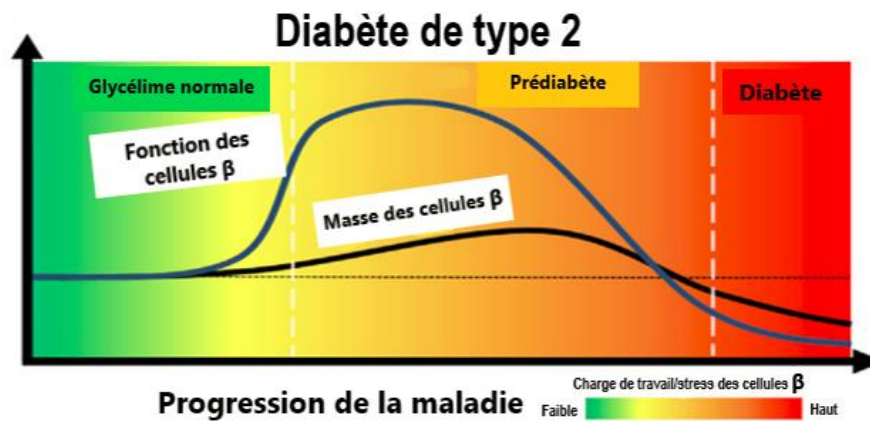
- **Insulinorésistance**

L'insulinorésistance est définie comme l'incapacité des tissus cibles (muscles, foie et tissu adipeux) à répondre à des niveaux normaux de l'insuline, ce qui nécessite des concentrations plus élevées pour répondre à l'action de l'insuline et maintenir sa fonction (**Bellary et al., 2021**). Notamment, les effets régulateurs du glucose par l'insuline, tels que la suppression de l'HGP et de la lipolyse, l'absorption cellulaire du glucose plasmatique et la synthèse du glycogène, ne sont pas observés dans les tissus résistants à l'insuline à des niveaux plasmatiques normaux (**Lee et al., 2022**).

- **Dysfonctionnement des cellules  $\beta$  pancréatiques**

Le dysfonctionnement des cellules  $\beta$  pancréatiques est souvent attribué à l'hyperinsulinémie prolongée en raison de la sécrétion excessive de l'insuline. Cette condition impose un stress chronique sur les cellules  $\beta$ , conduisant à leur épuisement et à une perte progressive de leur fonction, et une réduction significative de leur masse allant de 24% à 65% (**Chen et al., 2017**).



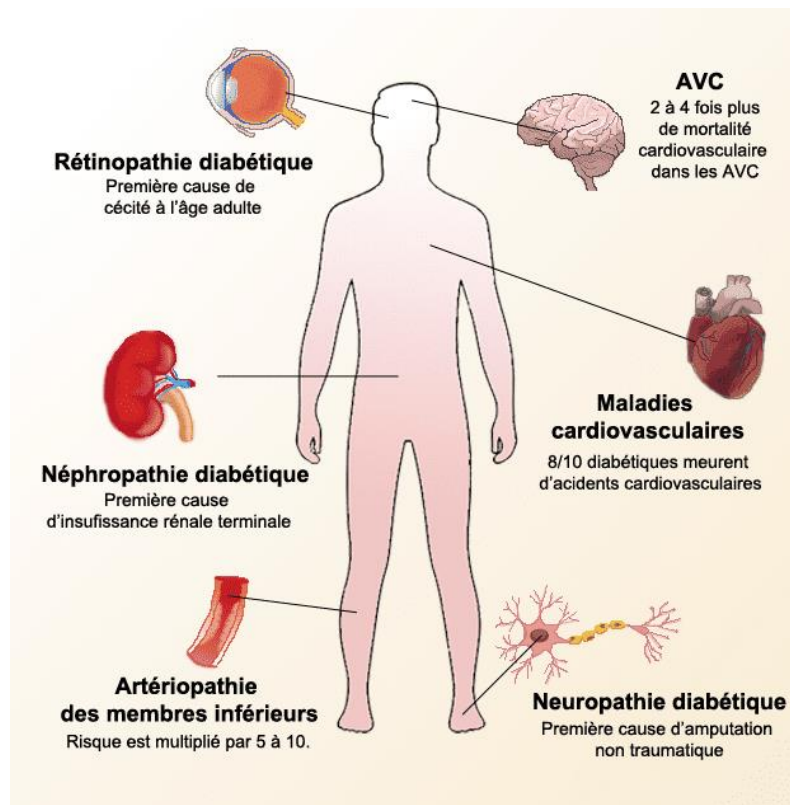


**Figure 3 :** Modèles de la contribution de la masse et de la fonction des cellules  $\beta$  à la pathogenèse du diabète de type 2 (Chen et al., 2017).

Ce dysfonctionnement peut aussi être une conséquence d'autres facteurs, comme l'obésité et les prédispositions génétiques, en effet, la lipotoxicité, la glucotoxicité et la glucolipotoxicité survenant dans l'obésité induisent un stress métabolique et oxydatif qui entraîne des dommages aux cellules  $\beta$  (Galicia-Garcia et al., 2020).

#### I.2.3.4 Les complications associées au diabète

Les complications du diabète de type 2 sont très fréquentes, le plus souvent vasculaires, elles ont été divisées en complications macro-vasculaire, tels que les maladies cardiovasculaires (MCV), accidents vasculaires cérébraux (AVC) et les maladies artérielles périphériques, et en complications micro-vasculaire qui affectent les reins, la rétine et le système nerveux. En plus des complications vasculaires, le diabète de type 2 peut aussi augmenter les risques de troubles musculo-squelettiques, hépatiques, digestifs, cognitifs et de santé mentale, ainsi que de certains cancers, comme ceux du foie, du pancréas et de l'endomètre. Des comorbidités telles que la stéatose hépatique non alcoolique, l'apnée obstructive du sommeil et la dépression sont couramment associées au DT2, souvent en lien avec l'obésité (Zheng et al., 2018).



**Figure 4 :** Complications liées au DT2 (Foussier & Zergane, 2021)

#### I.2.4 Prévention et traitement de diabète

La prise en charge du diabète repose initialement sur la modification du mode de vie, y compris la perte de poids, l'augmentation de l'activité physique et l'adoption d'une alimentation saine. En cas d'insuffisance, le traitement médicamenteux peut être envisagé pour assurer une gestion efficace et la protection des patients des complications à long terme (Zheng et al., 2018).

##### I.2.4.1 Traitements pharmacologiques

- **Traitement pharmacologique de diabète de type 1**

. Il existe divers types d'insuline, classés en fonction de leur début d'action, du moment de leur intensité maximale et de leur durée d'effet.

- **Traitement pharmacologique de diabète de type 2**

Actuellement, il existe cinq principales options thérapeutiques pour le traitement du diabète de type 2 (Dardari, s. d.) :

- Augmenter la sécrétion d'insuline avec les sulfonylurées ou les glitinides.
- Améliorer la sensibilité à l'insuline en utilisant un biguanide ou une thiazolidinedione.
- Modifier l'absorption intestinale des glucides.

- Combiner ces médicaments ou utiliser de nouveaux agents thérapeutiques, tels que les analogues de la Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) ou les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).
- Administrer de l'insuline exogène.

#### **I.2.4.2 Phytothérapie du diabète**

La phytothérapie est depuis longtemps une source précieuse de traitements médicaux, exploitant les propriétés thérapeutiques des plantes pour soigner diverses affections. Dans le cas de diabète de nombreuses plantes ont été étudiées pour leurs effets potentiels sur la régulation de la glycémie et la gestion des complications associées à cette maladie (**Pulipaka et al., 2022**). Parmi les mécanismes d'action des produits naturels, l'inhibition de la  $\alpha$ -glucosidase et de la  $\alpha$ -amylase, les effets sur l'absorption du glucose et les transporteurs de glucose, l'augmentation de la sécrétion de l'insuline et de la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatiques, l'inhibition de l'activité de la protéine tyrosine phosphatase 1B et l'activité antioxydante ont été étudiés (**Governa et al., 2018**).

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

## II.1 Matériel

### II.1.1 Matériel végétal

L'étude a été menée sur les feuilles d'olivier (*Olea europaea*) récoltées en mois de décembre 2023, dans la région d'Aghbalou – Bouira (Algérie). Les feuilles récoltées ont été lavées puis séchées à l'aire libre et à l'abri de la lumière jusqu'à ce que leur poids soit stabilisé. Les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un blender électrique et soumises à une série de tamisage à 63µm. la poudre est stockée à 4°C.

### II.1.2 Animaux d'expérience

Des rats mâles adultes de souche Wistar albinos (250 et 350g) provenant du laboratoire de l'Institut Pasteur d'Algérie ont été utilisés. L'élevage des animaux était réalisé au niveau de l'animalerie de l'université de Béjaïa, où la température était maintenue entre 28 et 30°C, et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12H, avec un accès libre à la nourriture (granulés d'origine commerciale) et de l'eau. Les rats étaient logés par paires dans des cages en plastique ayant un couvercle en acier inoxydable et une épaisse couche en sciure était utilisée comme litière, renouvelée tous les 2 jours.

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Extraction des composés phénoliques

La poudre des feuilles d'olivier a été mélangée avec de l'éthanol (70%) selon un ratio de 1:25 (g/ml), le mélange a été soumis à une extraction assistée aux ultrasons à une fréquence de 40000 HZ pendant 20 min à 50 °C. Après l'extraction, le mélange a été centrifugé à 5000 rpm pendant 10 minutes afin d'éliminer le culot, et le surnageant a été récupéré et l'extrait sec a été préparé en éliminant l'éthanol par rotavapor et l'eau par lyophilisation.

Les conditions ont été optimisées selon la polarité des composés phénoliques des feuilles d'olivier, ce qui permet d'augmenter la quantité et l'activité des composés extraits et de diminuer la consommation de solvant.

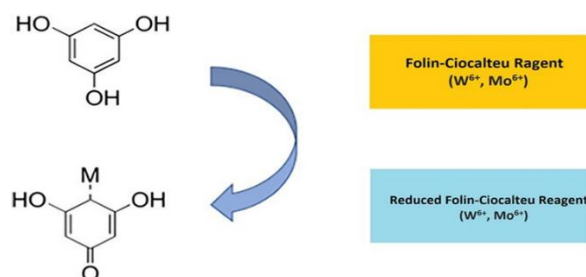
Le rendement (R%) de l'extrait est déterminé par la formule :

$$R(\%) = \frac{\text{Masse de l'extrait sec}(g)}{\text{Masse de matrice végétale}(g)} * 100$$

### II.2.2 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des composés phénoliques a été réalisé par la méthode Folin-Ciocalteu.

Le principe repose sur l'oxydation des composés phénoliques présents dans l'échantillon par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique présents dans réactif de Folin-Ciocalteu. Ce mélange est constitué d'acides colorés qui, lors de l'oxydation des composés phénoliques, forment un complexe coloré, mesurable par spectrophotométrie. Cette approche permet d'estimer la concentration en composés phénoliques de l'échantillon en se référant à une courbe standard établie à partir de composés phénoliques de référence.

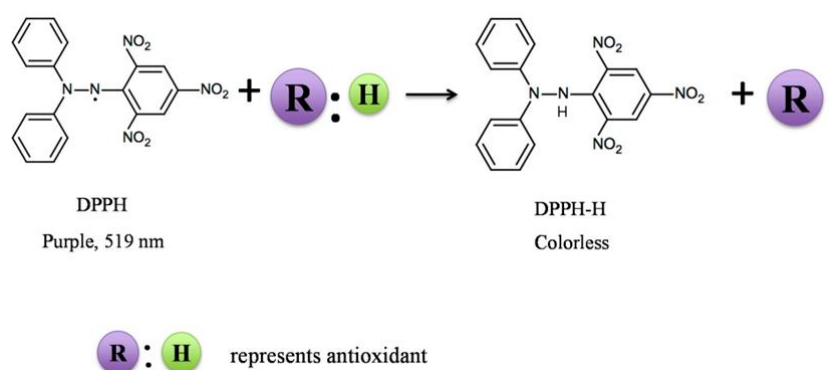


**Figure 5** : Mécanisme réactionnel de la méthode de Folin Ciocalteu (Shi et al., 2022)

Pour effectuer le dosage, 20  $\mu\text{L}$  d'extrait brut dilué (1/40) ont été mélangés avec 100  $\mu\text{L}$  du réactif Folin (10%), après agitation d'une minute, 80  $\mu\text{L}$  de carbonate de sodium (7,5%) ont été ajoutés. L'incubation a été réalisée à une température de 35°C, la réaction entre les composés phénoliques de l'échantillon et le réactif est achevée après 30 minutes. La quantification des composés est réalisée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (31,25 à 1000  $\mu\text{g/ml}$ ), à une longueur d'onde de 760 nm, en utilisant une microplaque.

### II.2.3 Evaluation de l'activité antioxydante

Le principe de la méthode repose sur la réduction du radical libre DPPH<sup>•+</sup> de couleur violette, en (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), de couleur jaune, lorsqu'il est réduit par des antioxydants. La diminution de la couleur violette du radical DPPH<sup>•+</sup> est proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon testé.



**Figure 6** : Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant.

R:H = piègeur de radicaux antioxydants ; R = radical antioxydant. (Liang & Kitts, 2014)

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait, 20  $\mu$ L de l'extrait ont été mélangés avec 180  $\mu$ L d'une solution méthanolique fraîchement préparée de DPPH à une concentration de 7 mM, présentant une absorbance de  $0,7 \pm 0,5$ . La capacité antioxydante est estimée à 517 nm en référence à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (31,25 à 1000  $\mu$ g/ml).

La concentration inhibitrice 50 % (CI<sub>50</sub>) a été calculée pour évaluer l'efficacité de l'extraction et la capacité antioxydante de l'extrait optimisé.

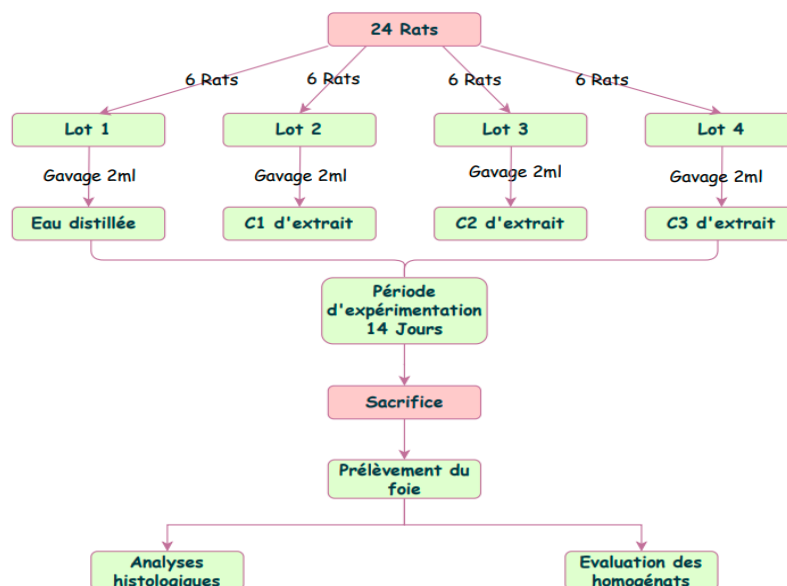
#### **II.2.4 Etude de la toxicité aigüe de l'extrait brut de feuilles d'*Olea europaea***

Les animaux ont été répartis selon l'homogénéité de leur poids en quatre lots de six rats chaque un

-Lot 1 : Groupe control ou le témoin négatif, ce groupe de rats ont reçu uniquement de l'eau distillée.

-Lot 2,3 et 4 (lots traités) : Ces groupes de rats ont reçu respectivement une dose faible (75mg/kg), moyenne (300mg/kg) et forte (600mg/kg) de l'extrait brut des feuilles d'*Olea europaea*.

Après un jeûne de 16 heures, les extraits solubilisés dans de l'eau distillée ont été administrés par gavage intra-gastrique aux lots 2,3 et 4 à l'aide d'une sonde. Les rats témoins ont reçu uniquement de l'eau distillée de la même manière. La même procédure a été répétée quotidiennement pendant une période de 14 jours (schéma 1). Les rats ont été soumis à une surveillance régulière tout au long des 14 jours de traitement, incluant des pesées et des observations visuelles pour détecter la mortalité, surveiller les changements de comportement, de phénotype, ainsi que toute indication de douleur ou de maladie. A la fin de l'étude, les rats ont été mis à jeûne la veille du sacrifice, leurs foies ont été prélevés directement pesés et observés dans une loupe binoculaire. La moitié des foies a été conservée dans du formol à 10% pour des études histologiques, et une autre partie a été conservée à 4°C pour des études enzymatiques.



**Figure 7 :** Organigramme récapitulant le protocole expérimental de l'étude toxicologique

## II.2.5 Etude de l'activité antidiabétique de l'extrait brut de feuilles d'*Olea europaea*

### II.2.5.1 Optimisation de l'induction du diabète

Pour induire le diabète chez les rats, des tests d'optimisation ont été effectués en utilisant deux molécules à différentes doses : la streptozotocine (60 mg/kg, 70 mg/kg et 80 mg/kg) et l'alloxane (100 mg/kg, 120 mg/kg, 150 mg/kg et 180 mg/kg).

Le choix de la molécule et de la dose efficace a été basé sur les critères suivants : les signes de toxicité visuelle, l'installation du diabète et la mortalité.

Pour l'étude, la dose de 70 mg/kg de streptozotocine a été choisie pour l'induction du diabète chez les rats, en raison de son efficacité à induire le diabète avec une toxicité relative plus faible et sans mortalité.

### II.2.5.2 Suivi de la glycémie

La streptozotocine a été solubilisée dans une solution physiologique (NaCl 0,9%) et injectée directement aux animaux par voie intrapéritonéale à une dose unique de 70 mg/kg. Le diabète s'est stabilisé chez les rats trois jours après l'injection. Les rats du groupe témoin ont reçu une injection équivalente d'eau physiologique.

Pour cette étude, les rats ont été répartis en 5 lots de 6 rats chacun.

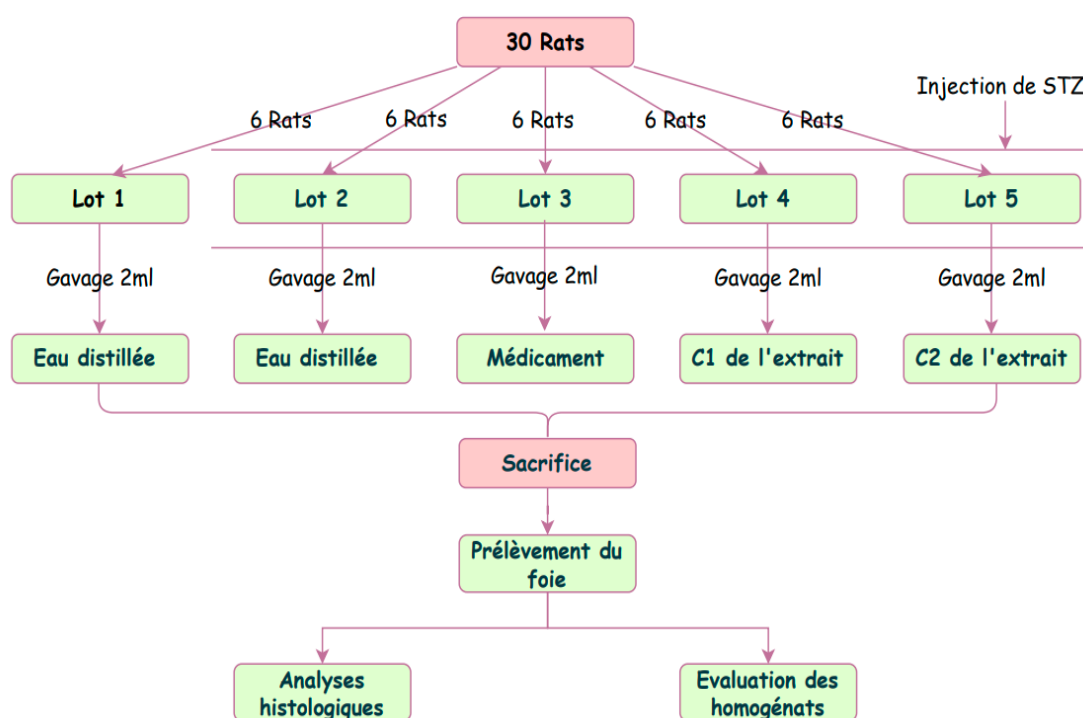
- Lot 1 : Témoin négatif non diabétique, a reçu de l'eau distillée par gavage.
- Lot 2 : Témoin positif diabétique, a reçu de l'eau distillée par gavage.



- Lot 3 : Lot référence, a reçu un médicament hypoglycémiant (Glibenclamide 5mg/kg) par gavage.
- Lot 4 et 5 (lots traités) : Ces groupes de rats ont reçu respectivement une dose faible (75mg/kg) et une dose forte (350mg/kg) de l'extrait brut de feuilles d'*Olea europaea* par gavage.

Après l'installation du diabète, les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures avant de recevoir les traitements. Les substances ont été administrées par gavage intra-gastrique. Les rats ont été soumis toutes les 30 minutes pendant trois heures au test de la glycémie. Ce test a été effectué en récupérant une goutte de sang au niveau de la veine caudale des queues de rats, puis en le déposant sur une bandelette d'un glucomètre de marque Check 3.

A la fin de l'étude, la même démarche de sacrifice, ainsi que les prélèvements histologiques décrits dans l'étude toxicologique ont été suivis.



**Figure 8** : Organigramme récapitulant le protocole expérimental de l'évaluation de l'activité antidiabétique

### II.2.6 Etude histologique du foie

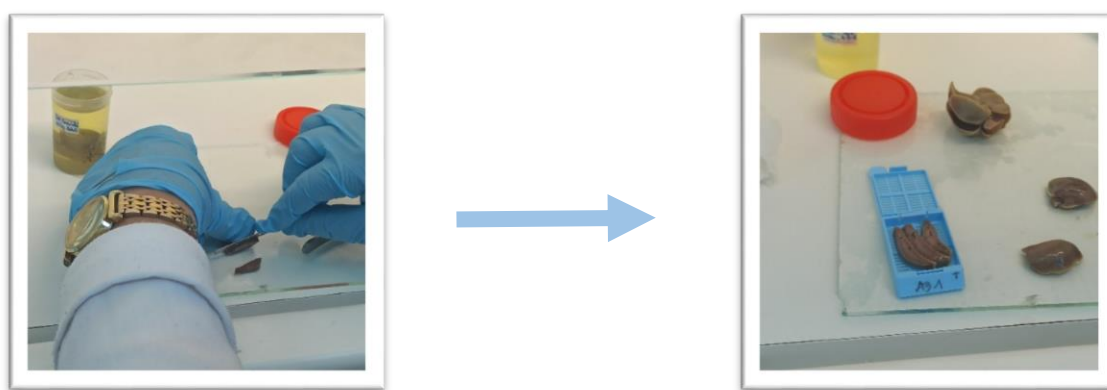
L'étude histologique a été réalisée au niveau de laboratoire de la faculté médecine de l'université de Béjaïa.

### II.2.6.1 Prélèvement et fixation

Après sacrifice des rats, le foie a été prélevé, lavé avec de l'eau physiologique, immédiatement pesé et conservé dans du formol 10% (fixateur).

### II.2.6.2 Prélèvements des sections tissulaires

Après une fixation initiale de quelques jours dans du formol, des coupes de 1 à 2 cm d'épaisseur ont été réalisées sur les échantillons de foie. Ces sections plus petites permettent une meilleure pénétration du fixateur et une fixation plus uniforme des tissus. Une fois les sections découpées, elles ont été placées dans des cassettes identifiées pour la déshydratation et l'inclusion en paraffine.



**Figure 9** : Coupe des échantillons de foie et placement dans des cassettes (Originale)

### II.2.6.3 Déshydratation, éclaircissement et l'imprégnation en paraffine

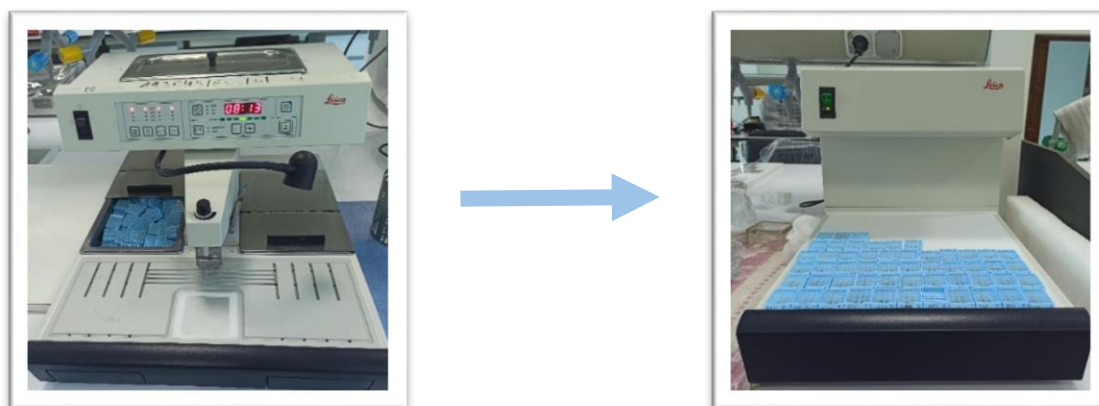
Pour la déshydratation des tissus, les échantillons de foie placés dans des cassettes ont été plongés dans huit bains d'éthanol à concentrations croissantes, allant de 70% à 100%, afin d'éliminer progressivement toute l'eau présente dans les tissus. Les échantillons ont été ensuite transférés dans deux bains de xylène qui est utilisé pour remplacer l'alcool car il est miscible avec la paraffine. Enfin, l'étape d'imprégnation dans la paraffine a été réalisée en plongeant les échantillons dans de la paraffine fondue, qui pénètre les tissus déshydratés et remplace progressivement les solvants, assurant ainsi une infiltration complète. Ces étapes ont été réalisées à l'aide d'un automate de déshydratation.



**Figure 10 :** Automate de déshydratation (Originale)

#### II.2.6.4 Enrobage à la paraffine

Cette étape a été réalisée sur une station d'enrobage qui comporte deux plaques : une plaque de travail à 70°C et une plaque de refroidissement à 15°C. Les fragments de foie ont été placés dans des moules métalliques remplis de paraffine fondue, puis recouverts d'une cassette. Ensuite, les cassettes ont été mises dans la plaque réfrigérante jusqu'à refroidissement et durcissement de la paraffine.



**Figure 11 :** Station d'enrobage (Originale)

#### II.2.6.5 Réalisation des coupes

Après refroidissement complet des blocs de paraffine, ils ont été placés dans un microtome pour produire des sections extrêmement minces, mesurant de 2 à 5 microns d'épaisseur. Ces sections ont été récupérées sur des lames de verre après avoir été étalées dans un bain-marie à 69°C, puis laissées sécher dans l'étuve pendant une nuit à 60°C.



**Figure 12 :** Microtome à paraffine (Originale)

### **II.2.6.6 Déparaffinage**

Pour éliminer les débris de paraffine, les lames ont été immergées dans un bain de xylène (30 minutes), puis un bain d'éthanol (10 minutes), et enfin plongés (10 min) dans l'eau.

### **II.2.6.7 La coloration**

Cette étape consiste à révéler de manière précise les différentes structures tissulaires et cellulaires. Dans ce but, les lames ont été placées dans un bain d'hématoxyline pendant deux minutes, puis rincées à l'eau courante, suivies d'un bain d'éosine pendant une minute, et rapidement rincées à l'eau. Ensuite, les échantillons ont été déshydratés en les exposant à l'éthanol à des concentrations croissantes pendant deux minutes, avant d'être placés dans un bain de xylène pendant trois minutes. Pour finir, quelques gouttes de résine (Eukitt) ont été ajoutées à la surface, puis laissées sécher à l'air libre.

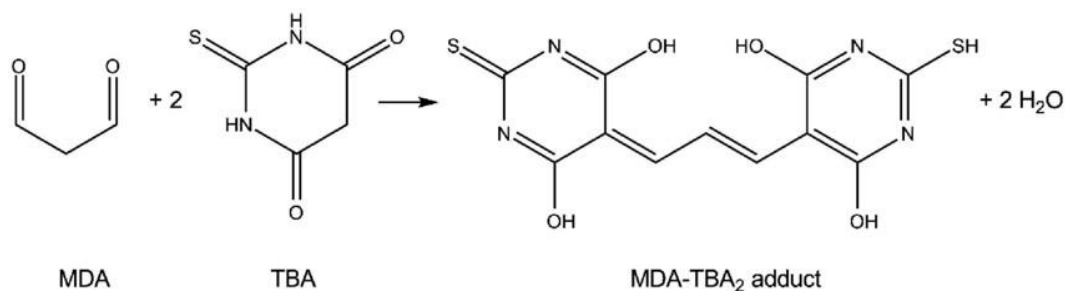
### **II.2.6.8 Observations microscopiques**

La visualisation microscopique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique, avec le grossissement de ( $G \times 10$ ).

## **II.2.7 Evaluation du potentiel antioxydant**

### **II.2.7.1 Dosage hépatique du malondialdéhyde (MDA)**

Le dosage hépatique du malondialdéhyde (MDA) est une méthode couramment utilisée pour évaluer le stress oxydatif dans les tissus, notamment le foie. Le MDA est un marqueur de la peroxydation lipidique, et sa quantification permet de mesurer l'importance des dommages oxydatifs subis par les lipides cellulaires.



**Figure 13** : Principe du dosage du MDA (Mehenni et al., 2016)

Le protocole expérimentale décrit par (Mehenni et al., 2016) a été suivi avec de légères modifications. Les échantillons du foie ont été homogénéisés avec de TCA (20%), et le TBA (0,67%) a été ajouté et incubé à 95°C pendant une heure, puis refroidi 10 minutes dans la glace, par de suite de n-butanol a été ajouté et centrifugé pendant 15 minutes à 1000 tr/min. La mesure de l'absorbance a été réalisée à 530nm sur lecture microplaque.

### II.2.7.2 Estimation du taux de glutathion (GSH)

L'estimation du taux de glutathion (GSH) dans les tissus biologiques est une pratique essentielle pour évaluer l'état antioxydant.

Le protocole expérimental décrit par Yous et al. (2018) a été suivi avec de légères modifications. Les échantillons du foie ont été homogénéisés avec du tampon PBS pH 7,4. Ensuite, une quantité égale de TCA (5%) a été ajoutée. L'homogénat a été centrifugé à 10000 tr/min pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant a été collecté, et une solution de DTNB (0,6 mM) dans du tampon phosphate PBS pH 8,0 a été ajoutée. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 minutes à l'abri de la lumière. La mesure de l'absorbance a été réalisée à 530 nm en utilisant un lecteur de microplaque.

### II.2.8 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée pour évaluer la significativité des résultats et pour interpréter les données obtenues. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel STATISTICA (StatSoft Inc., version 10). Pour évaluer la significativité des différences entre les 5 groupes établis, un test d'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisé pour établir la significativité des différences entre les groupes, suivant le test de Tukey pour identifier les différences spécifiques entre les valeurs obtenues pour chaque lot.

# *Chapitre III*

## *Résultats et discussions*

### III.1 Caractérisation photochimiques des extraits phénoliques

#### III.1.1 Dosage de la teneur en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques totaux (TPC) des feuilles d'*Olea europaea* a été déterminée et exprimée en équivalence d'acide gallique (EAG) par gramme de matière sèche (MS). Les résultats obtenus montrent une teneur de 89,76 mg EAG/g MS. Ces résultats indiquent une concentration élevée en composés phénoliques dans les feuilles d'olivier. Comparativement à d'autres études, la valeur de TPC obtenue est supérieure à celles rapportées dans la littérature, où les valeurs varient souvent entre 11 et 80 mg EAG/g MS (Nicolò et al., 2019). Une étude réalisée par Sánchez-Gutiérrez et al. (2021), Falleh et al. (2012) ont rapporté des teneurs de 76 et 74 mg EAG/g MS respectivement, tandis qu'une autre étude menée par Kalsi et al. (2023) a rapporté une valeur de 56,98 mg EAG/g MS.

La méthode d'extraction utilisée dans notre étude, (extraction assistée par ultrasons), pourrait expliquer cette teneur élevée (Giacometti et al., 2018). Cette technique est connue pour augmenter l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques en améliorant la rupture des parois cellulaires et en facilitant la libération des métabolites secondaires (Yusoff et al., 2022).

Le solvant utilisé peut encore expliquer la teneur élevée, l'éthanol s'est avéré être le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques ayant une capacité antioxydante (Khelouf et al., 2023).

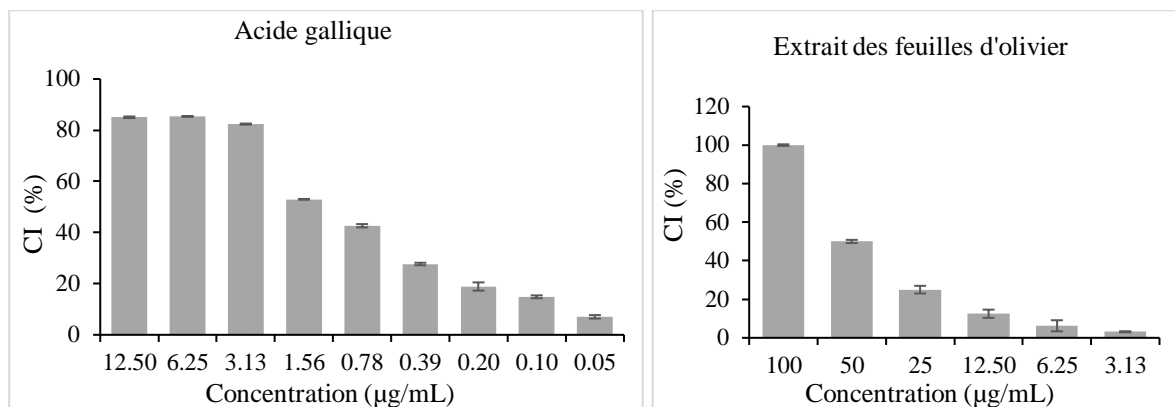
#### III.1.2 Estimation de rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est un paramètre crucial qui influence l'efficacité globale de la méthode d'extraction utilisée. Dans cette étude, le rendement d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles d'*Olea europaea* est de 30%.

Ce rendement peut être comparé favorablement aux études antérieures, où des rendements variants entre 5% et 33,33% ont été rapportés pour des extraits de feuilles d'olivier (Kouamé et al., 2021), ce qui met en évidence que le rendement est dans la fourchette supérieure, ce qui peut être attribué à l'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons. Cette technique est reconnue pour sa capacité à améliorer la libération des composés bioactifs en rompant efficacement les parois cellulaires des plantes (Jose et al., 2019).

#### III.1.3 Estimation de l'activité anti-radicalaire

Dans cette étude, les valeurs de  $CI_{50}$  de l'extrait de feuilles d'olivier ont été comparées à celles de l'acide gallique, qui a été utilisé comme standard, (Figure 12).



**Figure 14** : Les valeurs  $IC_{50}\%$  des extraits de feuilles d'olivier et acide gallique.

Les valeurs de  $CI_{50}$  montrent une tendance dose-dépendante, avec des concentrations plus élevées de l'extrait entraînant une plus grande inhibition. À la concentration la plus élevée testée de 100  $\mu\text{g/ml}$ , l'inhibition a atteint 87,38 %. Pour la concentration en acide gallique, la  $CI_{50}$  était de 1,45  $\mu\text{g/ml}$ , ce qui est en dessous de celle de l'extrait de feuilles d'olivier. À mesure que la concentration diminuait, l'inhibition est restée relativement élevée dont la  $CI_{50}$  de l'extrait des feuilles d'olivier est de  $25,14 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$ .

Ces résultats démontrent que les molécules responsables des activités antioxydantes, telles que l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine et les flavonoïdes, sont effectivement présentes dans l'extrait, lequel a préservé la majorité de ces antioxydants naturellement présents dans les feuilles d'olivier (Pérez-Bonilla et al., 2006; Cho et al., 2020; Nikou et al., 2022).

En comparant à la bibliographie, il ressort que l'extrait testé a révélé des valeurs de  $CI_{50}$  plus faibles que celles d'autres extraits de feuilles d'olivier, suggérant ainsi une activité antioxydante plus élevée (Alshaal et al., 2019). D'autres études ont révélé des valeurs plus élevées allant de  $30,27 \pm 3,31 \mu\text{g/ml}$  à  $38,9 \pm 2,03 \mu\text{g/ml}$  selon (Yuan et al., 2015), et de 41 à 63  $\mu\text{g/ml}$  selon (Essafi et al., 2019) et (Mansour et al., 2023).

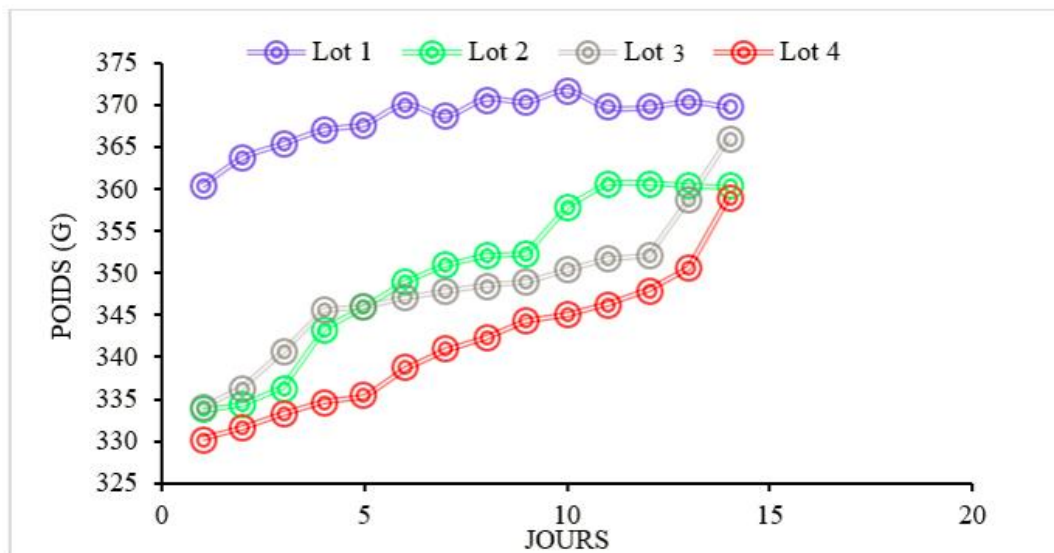
### III.2 Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea*

#### III.2.1 Evolution pondéral

L'observation de l'évolution du poids des rats lors d'une étude toxicologique peut fournir des indications précieuses sur la santé et la réaction des animaux à la substance testée.

La figure 13 illustre les variations du poids des rats de chaque lot durant 14 jours de traitement avec les extraits de feuilles d'*Olea europaea*.





**Figure 15 :** Variation du poids corporel des rats durant le test de toxicité

Lot1 : groupe témoin ; Lot2 : groupe traité avec 75mg/kg d'extrait ; Lot3 : groupe traité avec 300mg/kg d'extrait ; Lot4 : groupe traité avec 600mg/kg d'extrait

Après 14 jours d'étude, une augmentation du poids corporel a été observée dans tous les lots. Le groupe témoin a montré une augmentation régulière et stable de son poids. Les groupes traités avec 75 mg/Kg et 300 mg/Kg ont montré une augmentation du poids comparable à celle du groupe témoin, voire légèrement supérieure. En revanche, le groupe traité avec 600 mg/Kg a montré une augmentation plus lente du poids corporel.

L'administration de l'extrait éthanolique de feuilles d'*Olea europaea* à une dose de 225 mg/kg pendant 30 jours a pu prévenir la perte de poids chez les rats diabétiques, comme observé dans l'étude réalisée par **Aggul et al. (2021)**. Cela montre un effet bénéfique potentiel de l'extrait à haute dose sur la gestion du poids chez les rats atteints de diabète. Ces résultats renforcent nos observations, suggérant que l'extrait de feuilles d'*Olea europaea*, à des doses allant de 75 mg/kg à 600 mg/kg, peut avoir des effets modulateurs sur la prise de poids, même pour des périodes courtes. En particulier, les doses plus élevées pourraient être bénéfiques dans des conditions métaboliques altérées comme le diabète.

Ces résultats sont cohérents avec les observations de **Chaker. (2021)**, qui a montré que l'administration par gavage de l'extrait de feuilles d'olivier contribue à un gain de poids corporel, suggérant que cet extrait peut avoir des effets positifs sur la croissance corporelle.

L'augmentation du poids corporel observée chez les rats pourrait être attribuée aux effets métaboliques et alimentaires des extraits de feuilles d'*Olea europaea*, ainsi qu'à leurs potentiels effets sur le métabolisme lipidique et la régulation hormonale (**Singh et al., 2008**).

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes sous-jacents de cette augmentation de poids et clarifier l'impact spécifique des extraits de feuilles d'*Olea europaea* sur le métabolisme et la régulation pondérale.

### III.2.2 Effet d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur la mortalité des rats

L'observation des rats traités avec différentes doses d'extraits de feuilles d'*Olea europaea* a été effectuée chaque jour pendant toute la période de l'étude toxicologique, soit 14 jours. Les résultats sont présentés dans le Tableau V.

**Tableau V** : Mortalité après administration de différentes doses d'extrait de feuilles d'*Olea europaea*.

Dose (mg/Kg)	Mortalité	Latence de mortalité
0 mg/kg	0/6	0
75 mg/kg	0/6	0
300 mg/kg	0/6	0
600 mg/kg	0/6	0

D'après les résultats obtenus, aucune mortalité n'a été enregistrée dans tous les groupes, y compris ceux traités avec des doses de 75 mg/kg, 300 mg/kg et 600 mg/kg d'extrait de feuilles d'*Olea europaea*, ce qui indique que les doses administrées sont inférieures à la DL<sub>50</sub> (75mg/kg<300mg/kg<600mg/kg<DL<sub>50</sub>).

Dans la littérature, il n'y a pas de données disponibles sur la dose létale médiane par voie orale (DL<sub>50</sub>) et la dose toxique des extraits de feuilles d'olivier (Aggul et al., 2020). D'après cet auteur la DL<sub>50</sub> est supérieure à 1000mg/kg. D'autres études ont démontré que l'administration des doses de 2000mg/kg, 4000mg/kg et 5000mg/kg n'ont provoqué aucune toxicité ni mortalité sur les rats (Misganaw et al., 2019), (Lakache et al., 2021), (Hinad et al., 2021), (Elhrech et al., 2024). Ce que signifie que les doses utilisées dans cette étude sont largement inférieurs à la DL<sub>50</sub>

### III.2.3 Test de comportement

Au cours de cette étude, l'administration de différentes doses d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* par gavage n'a provoqué aucun changement significatif dans l'activité physique et le comportement des rats par rapport au groupe témoin sur une période de 14 jours de suivi. Aucune observation de vomissements, de chute de poil, de perturbation du comportement,

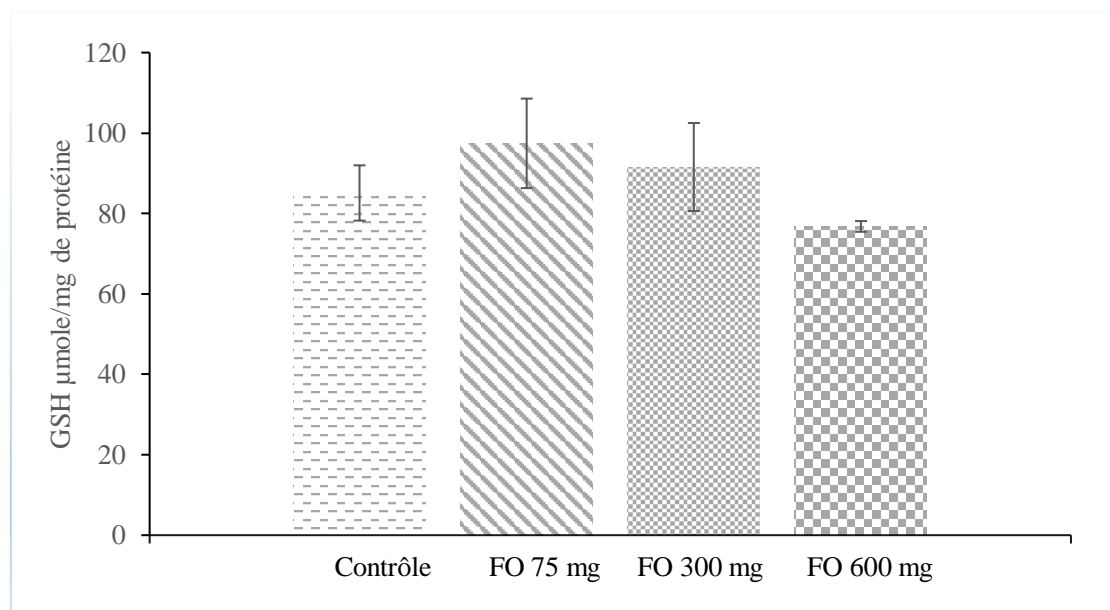
d'agressivité, de tremblements, de diarrhées, de respirations anormales ou d'autres signes de toxicité n'ont été observées.

L'étude réalisée par **Guex et al. (2018)** a montré que l'administration orale de l'extrait éthanolique de feuilles d'olivier à une dose de 2000mg/kg aux rats Wistar pendant une période de 14 jours n'a provoqué aucun signe de toxicité ni des changements de comportement. Cela renforce les résultats obtenus et confirme l'innocuité de l'extrait éthanolique de feuilles d'*Olea europaea* administré par voie orale et à des doses élevées.

### III.3 Evaluation des homogénats hépatiques

#### III.3.1 Effets d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur le glutathion (GSH)

Les résultats de variation du taux de GSH hépatique chez les rats témoins et les rats traités par différentes concentrations de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sont présentés dans la figure 14.



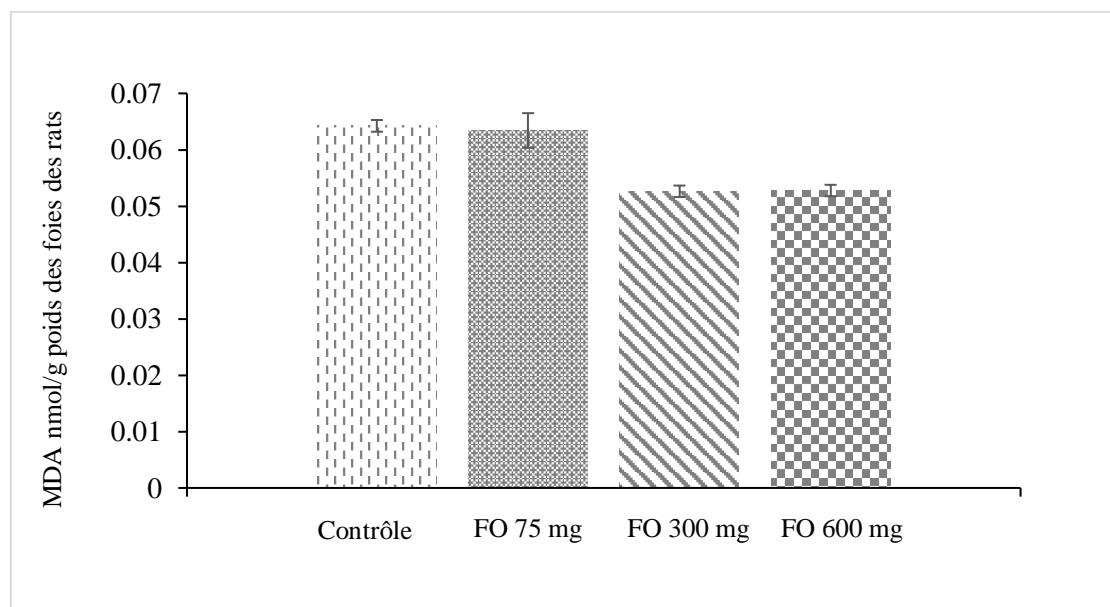
**Figure 16 :** Effets des différentes doses d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur les taux hépatiques de glutathion

Les niveaux de GSH, un antioxydant endogène crucial pour la défense cellulaire contre le stress oxydatif, ont été mesurés après l'administration de l'extrait de feuilles d'olivier. Les résultats montrent une légère augmentation des niveaux de GSH dans les groupes traités par rapport au groupe témoin. Cependant, cette augmentation n'était pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ). Cela suggère que bien que l'extrait de feuilles d'olivier puisse favoriser une augmentation des niveaux de GSH, cette tendance n'est pas suffisamment marquée pour être considérée comme significative sur le plan statistique.

Les résultats obtenus suggèrent que l'extrait de feuilles d'olivier peut avoir un effet modérateur sur les niveaux de GSH. Le GSH est un tripeptide crucial pour la neutralisation des radicaux libres et la prévention des dommages oxydatifs. L'absence de différence statistiquement significative entre les groupes traités et le groupe témoin indique que l'extrait de feuilles d'olivier, à différentes concentrations, n'entraîne pas de modifications importantes des réserves de GSH. Cela pourrait être interprété comme un signe que l'extrait n'exerce pas d'effet toxique ou perturbateur sur le système antioxydant endogène des rats.

### III.3.2 Effet d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur le malondialdéhyde (MDA)

La figure 15 illustre la variation du taux de MDA hépatique chez les rats témoins et les rats traités avec différentes doses de l'extrait des feuilles d'*Olea europaea*.



**Figure 17 :** Effets des différentes doses d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur les taux hépatiques de MDA

Les variations des taux de MDA, marqueur de la peroxydation lipidique et donc du stress oxydatif, ont également été mesurées. Les résultats ont montré une tendance à la diminution des niveaux de MDA dans les groupes traités par rapport au groupe témoin. Cependant, cette diminution n'était pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ). Ces résultats indiquent que l'extrait de feuilles d'olivier pourrait réduire la peroxydation lipidique, mais cette réduction n'est pas suffisamment prononcée pour être statistiquement significative.

Les résultats montrent une tendance à la baisse dans les groupes traités. Cette observation est cohérente avec l'hypothèse que l'extrait de feuilles d'olivier ne présente pas un effet toxique et

pourrait avoir des propriétés antioxydants, en réduisant les dommages oxydatifs aux lipides membranaires.

### III.4 Evaluation de l'activité antidiabétique

#### III.4.1 Optimisation de l'induction du diabète

Pour induire le diabète chez les rats, différentes doses de deux molécules, la streptozotocine et l'alloxane ont été testées. Les résultats des signes de toxicité observés et leurs comportements sont illustrés dans le tableau VI :

**Tableau VI :** Signes de toxicité associée au diabète induit par différentes doses de streptozotocine et d'alloxane.

Signes de toxicité	STZ 60mg/kg	STZ 70mg/kg	STZ 80mg/kg	Alloxane 100mg/kg	Alloxane 120mg/kg	Alloxane 150mg/kg	Alloxane 180mg/kg
Chute du poil	-	+	++	-	-	++	+++
Perte du poids	-	-	++	-	-	++	+++
Respiration anormale	-	-	-	-	-	+	+++
Faiblesse	-	+	+	-	-	++	+++
Diarrhée	-	-	+	-	-	+	+++
Yeux hérités	-	-	-	-	-	+	+++
Diabète induit	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
Mortalité	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui

(+ : Légère) (++ : Moyenne) (+++ : Sévère)

D'après les résultats obtenus dans le tableau, dans le cas de la streptozotocine, la dose de 60 mg/kg n'induit aucun effet diabétique, contrairement aux doses de 70 mg/kg et 80 mg/kg. La dose de 70 mg/kg provoque le diabète avec moins de signes de toxicité par rapport à la dose de 80 mg/kg.

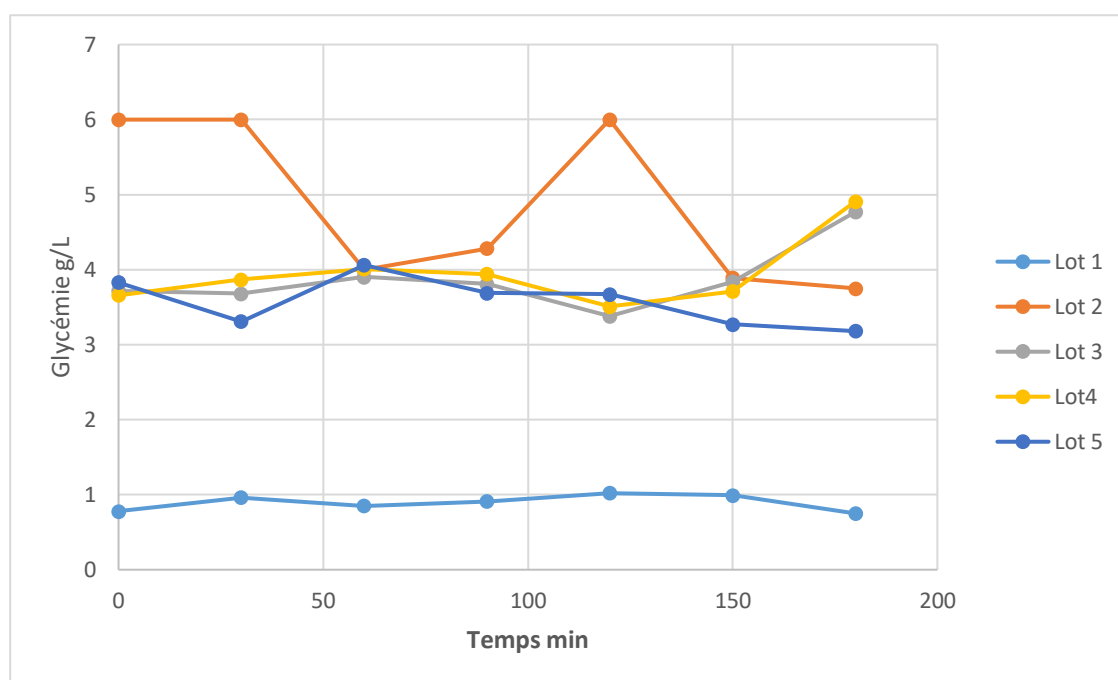
Dans le cas de l'alloxane, et d'après les résultats pour les doses de 100 mg/kg et 120 mg/kg, aucun effet diabétique n'a été enregistré. En revanche, la dose de 150 mg/kg induit le diabète avec des signes de toxicité, mais ceux-ci sont moins sévères comparés aux signes de toxicité de la dose de 180 mg/kg, qui a même provoqué une mortalité.

La dose de 70 mg/kg de streptozotocine a efficacement induit un diabète expérimental chez les rats, avec une toxicité moins prononcée comparée aux autres doses et molécules testées.

Plusieurs études ont mis une préférence pour la STZ pour induire le diabète qu'à l'alloxane. La streptozotocine est connue pour son mécanisme de diabétogénicité qui n'est pas principalement associé à une toxicité cellulaire directe, ce qui limite la mortalité animale à des doses efficaces pour l'induction du diabète. En revanche, l'alloxane provoque le diabète en entraînant une toxicité cellulaire prononcée, ce qui peut conduire à une mortalité animale plus élevée comparée à la streptozotocine (Ighodaro et al., 2018).

### III.4.2 Suivi de la glycémie

Les résultats de la glycémie pour les différents rats sont présentés dans la figure 16 pour chaque intervalle de 30 minutes sur une période de 3 heures.



**Figure 18 :** Graphique représentatif du taux de glycémie des différents lots

Lot1 : témoin négatif ; Lot2 : témoin positif ; Lot3 : groupe référence ; Lot4 : groupe traité avec 75mg/kg d'extrait ; Lot5 : groupe traité avec 350mg/kg d'extrait

Les résultats de suivi de la glycémie indiquent des variations significatives entre les groupes de rats. Le groupe témoin négatif non diabétique (lot 1) maintient une glycémie stable, typique d'une régulation normale, avec des valeurs variant entre 0,75 et 1,02 g/L. En revanche, le groupe témoin positif diabétique (lot 2) présente une hyperglycémie non traitée, avec des valeurs élevées de 4 à 6 g/L, parfois dépassant la capacité de mesure de l'appareil (>6 g/L).

Les lots 3, 4 et 5, incluant un médicament de référence et différents dosages d'extrait de feuilles d'*Olea europaea*, montrent une stabilité glycémique comparable au groupe témoin non diabétique. Notamment, le lot 5, recevant la dose élevée d'extrait (350mg/kg), présente une

diminution significative de la glycémie à 180 minutes, suggérant un effet hypoglycémiant prononcé et une régulation similaire au groupe témoin non diabétique. Ces observations soulignent l'efficacité potentielle de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* dans la gestion de la glycémie, avec une stabilité qui reflète celle du groupe témoin non diabétique, de manière dose-dépendante.

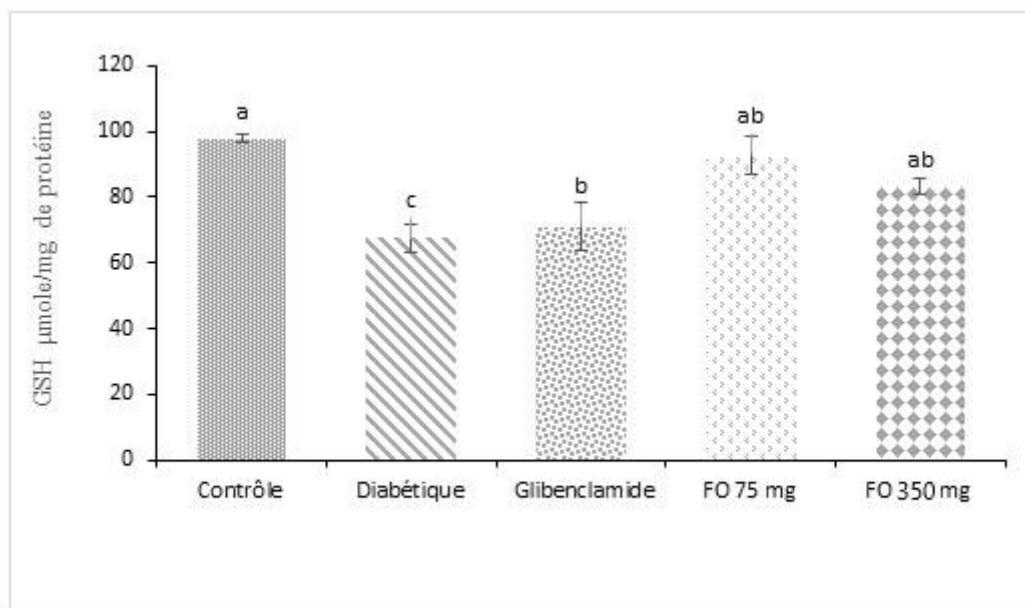
Les extraits de feuilles d'*Olea europaea* ont été étudiés pour leur capacité à influencer positivement la régulation de la glycémie chez les rats diabétiques (Elhrech et al., 2024). Les composés bioactifs présents dans les feuilles de l'*Olea europaea* ont montré des propriétés hypoglycémiantes potentielles, agissant souvent par divers mécanismes biochimiques tels que l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, l'inhibition de l'absorption de glucose, ou encore la régulation de la production et de la libération d'insuline (Mansour et al., 2023).

L'étude menée par Mansour et al. (2023) a montré que l'administration orale d'extrait éthanolique de feuilles d'olivier pendant 28 jours à des rats injectés avec 55 mg/kg de streptozotocine (STZ) a des effets significatifs sur plusieurs aspects de la santé des rats. Une réduction notable de la glycémie a été observée, comparable à celle obtenue avec le médicament hypoglycémiant. Les niveaux d'insuline plasmatique ont augmenté chez les rats traités. Une réduction des niveaux de malondialdéhyde (MDA), indiquant une diminution du stress oxydatif. L'extrait a modifié l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose. Enfin, l'extrait a montré un effet protecteur sur les cellules bêta pancréatiques et les cellules hépatiques, améliorant leur fonction et leur survie. Ces résultats suggèrent que l'extrait éthanolique de feuilles d'olivier pourrait être efficace pour la gestion du diabète en améliorant la régulation de la glycémie, augmentant l'activité antioxydante, et protégeant les cellules bêta pancréatiques et les cellules hépatiques.

### **III.5 Evaluation des homogénats hépatiques des rats diabétiques**

#### **III.5.1 Effets de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur les niveaux de glutathion (GSH) hépatique des rats diabétiques**

Les résultats des variations de taux de glutathion hépatique chez les rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sont représentés dans la figure 17.



**Figure 19 :** Effets d'extrait d'*Olea europaea* sur les taux de GSH hépatiques des rats diabétiques

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type ( $n = 6$ ). Les barres portant des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les groupes ( $p < 0,05$ ). Les groupes des rats sont : Contrôle : Rats non traités ; Diabétiques : Rats diabétiques non traités ; Glibenclamide : Rats diabétiques traités avec le Glibenclamide (5 mg/kg) ; FO 75 mg : Rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'olivier (75 mg/kg) ; FO 350 mg : Rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'olivier (350 mg/kg).

Les niveaux de GSH hépatique montrent une tendance significative en fonction du traitement administré. Les rats du groupe contrôle présentent les niveaux les plus élevés de GSH, atteignant environ 100  $\mu\text{mol/mg}$  de protéine. En revanche, les rats diabétiques non traités montrent une réduction notable de GSH, avec des niveaux autour de 60  $\mu\text{mol/mg}$  de protéine, indiquant un stress oxydatif accru dû au diabète.

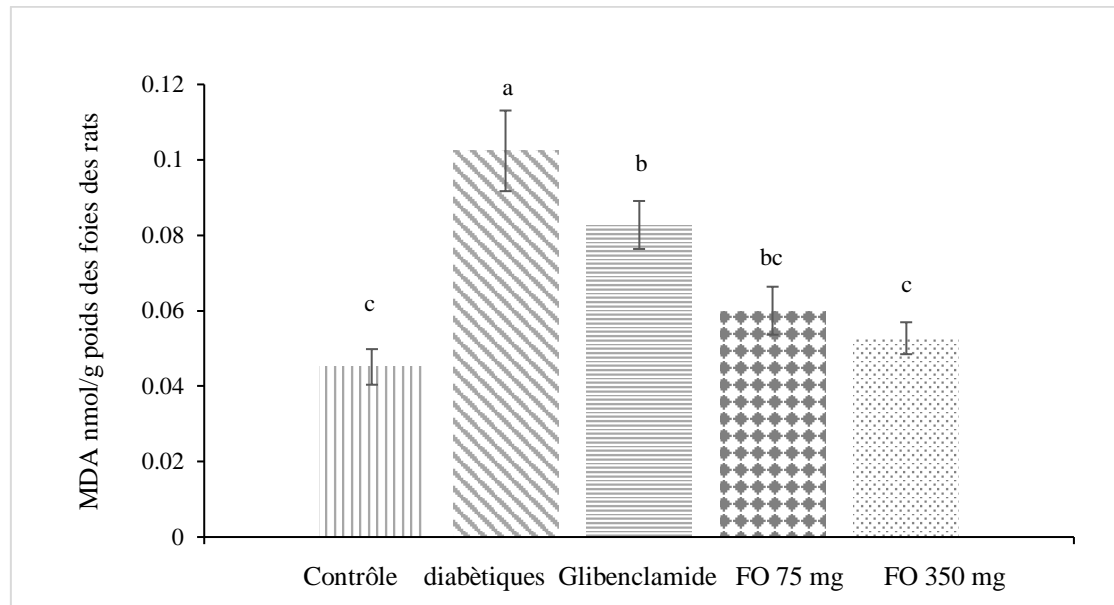
Les rats traités avec le Glibenclamide affichent une augmentation des niveaux de GSH à environ 75  $\mu\text{mol/mg}$  de protéine, démontrant l'effet antioxydant du médicament antidiabétique standard. Les rats traités avec 75 mg et 350 mg d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* montrent des niveaux de GSH de 85  $\mu\text{mol/mg}$  de protéine et 80  $\mu\text{mol/mg}$  de protéine respectivement.

Ces résultats indiquent que l'extrait de feuilles d'*Olea europaea*, à des doses de 75 mg et 350 mg, améliore significativement les niveaux de GSH chez les rats diabétiques. Les niveaux de GSH chez les rats traités avec l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sont comparables à ceux des rats traités avec le Glibenclamide, ce qui suggère que l'extrait possède des propriétés antioxydant efficaces.



### III.5.2 Effets de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sur les niveaux de malondialdéhyde (MDA) hépatique des rats diabétiques

Les résultats des taux de MDA hépatiques chez les rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* sont illustrés dans la figure 18.



**Figure 20 :** Effets d'extrait d'*Olea europaea* sur les taux de MDA hépatiques des rats diabétiques

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type ( $n = 6$ ). Les barres portant des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les groupes ( $p < 0,05$ ). Les groupes des rats sont : Contrôle : Rats non traités ; Diabétiques : Rats diabétiques non traités ; Glibenclamide : Rats diabétiques traités avec le Glibenclamide (5 mg/kg) ; FO 75 mg : Rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'olivier (75 mg/kg) ; FO 350 mg : Rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'olivier (350 mg/kg).

Les rats de groupe contrôle ont montré des niveaux de MDA les plus bas, indiquant un faible stress oxydatif (environ 0,045 nmol/g).

Contrairement, les rats diabétiques ont les niveaux de MDA les plus élevés (environ 0,11 nmol/g), indiquant un stress oxydatif significativement accru par rapport au groupe contrôle.

Les rats traités avec un Glibenclamide (médicament hypoglycémiant) montrent une réduction des niveaux de MDA par rapport au groupe diabétique (environ 0,08 nmol/g), mais ces niveaux restent plus élevés que ceux du groupe contrôle.

Les rats traités avec 75 mg d'extrait de feuilles d'*Olea europaea* montrent une diminution des niveaux de MDA par rapport au groupe diabétique (environ 0,06 nmol/g), ce qui suggère une réduction du stress oxydatif.

Les rats traités avec 350 mg d'extrait ont des niveaux de MDA plus faibles (environ 0,05 nmol/g), similaires à ceux du groupe contrôle.

Ces résultats suggèrent que l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* pourrait avoir des propriétés antioxydants en réduisant les dommages oxydatifs aux lipides membranaires chez les rats diabétiques, avec une efficacité à doses élevées.

Ces observations réalisées sur les homogénats hépatique des rats diabétiques, confirment que les composants bioactifs de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea*, comme l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine, sont présents en quantité suffisante pour exercer des effets protecteurs contre le stress oxydatif induit par la STZ. Comparé à d'autres traitements antioxydants, l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* démontre une efficacité dans la modulation des niveaux de MDA et de GSH, contribuant ainsi à une meilleure gestion du stress oxydatif chez les rats diabétiques.

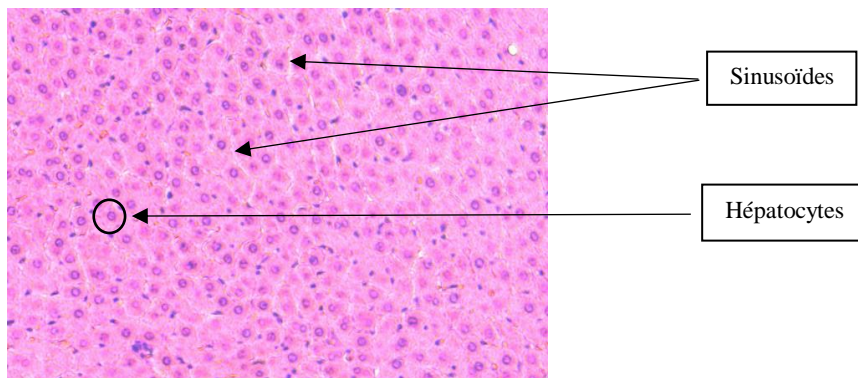
Selon l'étude de **Ustuner et al. (2018)**, l'administration par voie orale d'extrait de feuilles d'olivier, pendant une durée de 14 jours, a démontré une capacité significative à augmenter les niveaux de GSH et à réduire les niveaux de MDA hépatiques, dans un modèle de stress oxydatif induit par l'injection intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone. Une autre étude similaire mené par **Soliman et Soliman, (2019)**, a déterminé les même résultats.

Une étude menée par **Al-Attar & Alsalmi. (2019)**, sur l'effet antioxydant de l'extrait aqueux de feuilles d'*Olea europaea* sur des rats diabétiques induit par une dose de 60mg/kg de streptozotocine, montre que l'administration par voie orale d'une dose faible (200 mg/kg) et d'une autre forte (400 mg/kg) de l'extrait entraine la augmentation des taux de GSH, et une diminution des niveaux de MDA chez les rats diabétique, avec une grande efficacité observé a 400mg/kg.

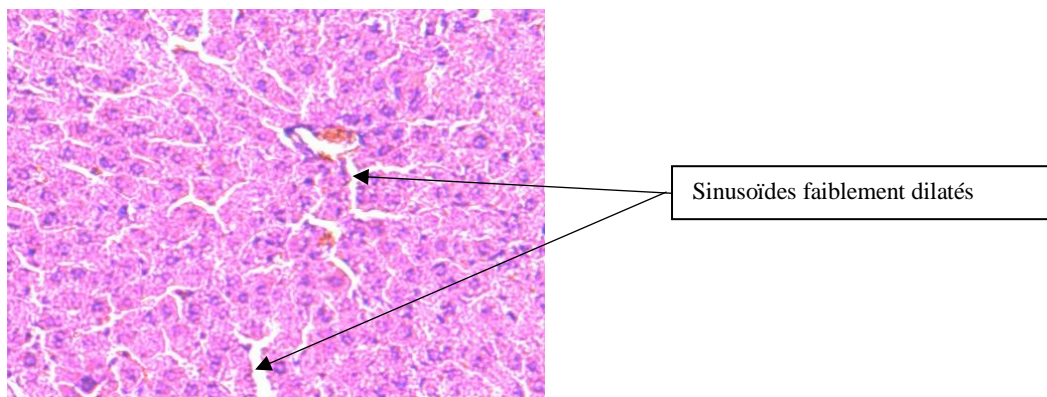
### **III.6 Histologie hépatique**

#### **III.6.1 Coupes histologiques des rats traités avec l'extrait d'*Olea europaea***

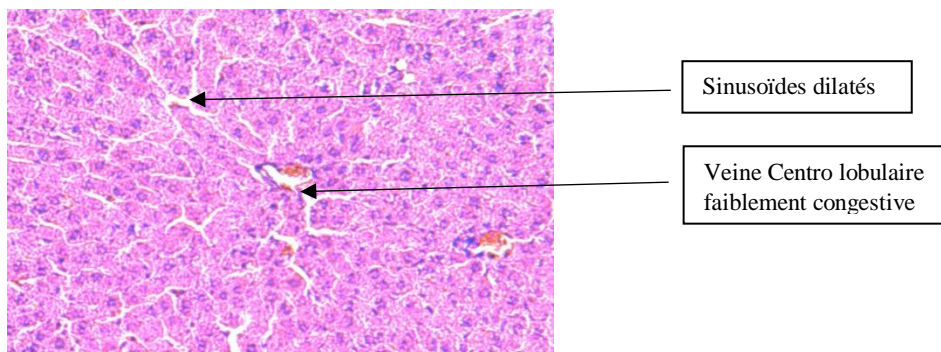
Les figures 19, 20, 21 et 22 montrent les résultats des coupes histologiques réalisées sur les rats traités avec différentes dose d'extrait d'*Olea europaea*.



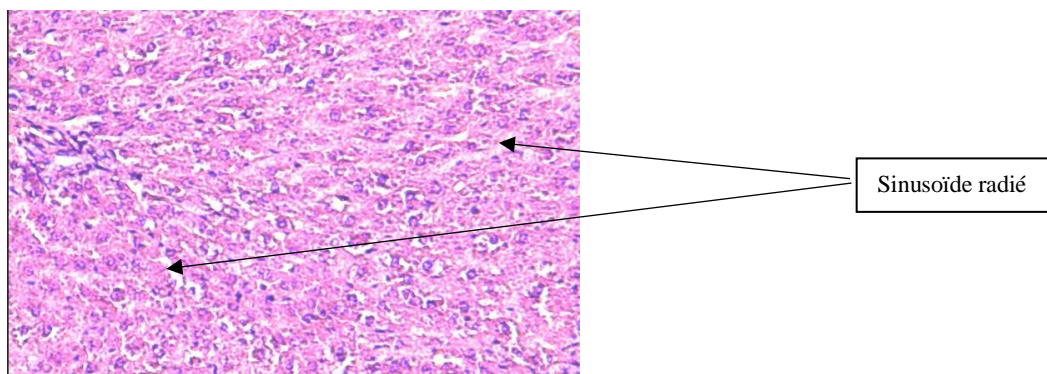
**Figure 21 :** Parenchyme hépatique d'un rat du groupe témoin (Gx10)



**Figure 22 :** Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 75mg/kg d'extrait (Gx10)



**Figure 23 :** Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 300mg/kg d'extrait (Gx10)



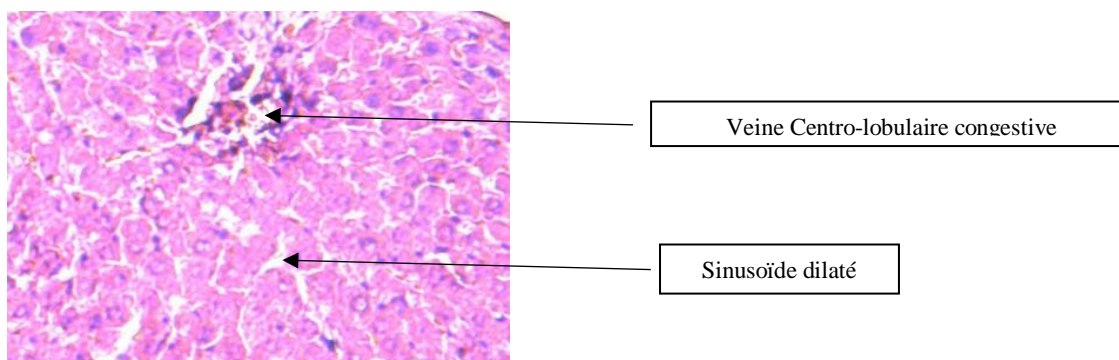
**Figure 24 :** Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 600mg/kg d'extrait (Gx10)

D'après les résultats, il a été observé que le foie des rats témoins est normal, sans modification hépatique, avec un parenchyme lobé. Les hépatocytes de chaque lobe sont organisés en travées de Remak autour d'une veine centrale appelée veine centrolobulaire, qui reçoit le sang à partir du parenchyme hépatique au contact des sinusoides. Les travées de Remak se composent d'hépatocytes regroupés en lames épithéliales d'une seule cellule d'épaisseur, tandis que les sinusoides occupent les espaces entre les travées (Figure 19).

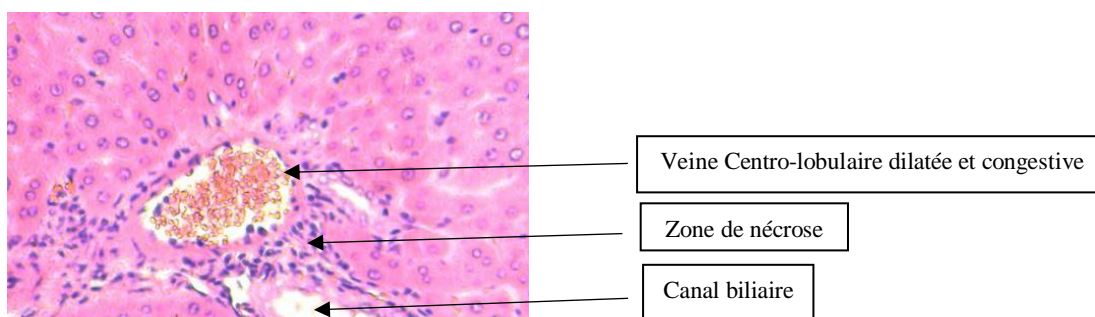
L'examen microscopique des foies des rats traités par les différentes doses de l'extrait d'*Olea europaea*, montre quelques légers changements, mais en absence de signes de pathologie (comme une inflammation, une fibrose ou une dégénérescence des hépatocytes), le tissu pourrait être considéré comme sain.

### III.6.2 Coupes histologiques des rats traités avec deux différentes molécules inductrices de diabète

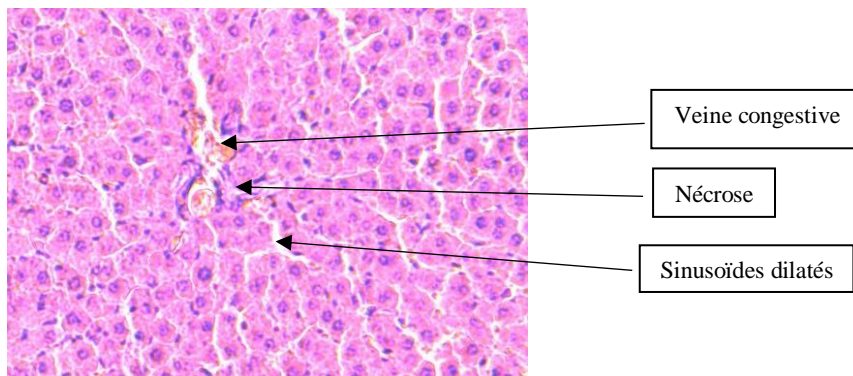
Les figures 23, 24 et 25 montrent les résultats des coupes histologiques du foie des rats traité avec injection intrapéritonéal de STZ 70mg/kg, STZ 80mg/kg et alloxane 150mg/kg.



**Figure 25 :** Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 70mg/kg de STZ (Gx10)



**Figure 26 :** Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 80mg/kg de STZ (Gx10)



**Figure 27** : Parenchyme hépatique d'un rat traité avec 150mg/kg d'alloxane (Gx10)

L'alloxane et la STZ sont connus pour leurs effets cytotoxiques principalement sur les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas, mais ils peuvent également provoquer un stress oxydatif et des dommages dans d'autres organes comme le foie.

D'après les observations, les deux agents inducteurs de diabète provoquent des altérations histologiques similaires dans le parenchyme hépatique à savoir des congestions des veines et des Sinusoïdes, des infiltrations inflammatoires et des nécroses des hépatocytes avec des dommages plus sévères remarquées chez l'alloxane par rapport à la STZ.

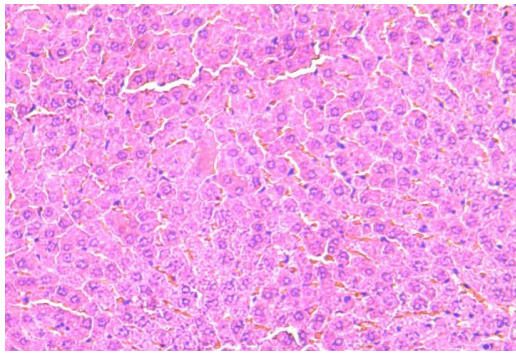
Comparant les deux doses de STZ, la dose de 80mg/kg a entraîné des lésions plus graves que la dose de 70mg/kg, ce qui met en évidence l'aggravation des dommages hépatocellulaires avec l'augmentation de la dose.

Ces résultats soulignent l'importance de la gestion de la toxicité dans les modèles expérimentaux utilisant la STZ et l'alloxane, ainsi que la nécessité de surveiller attentivement les effets secondaires systémiques et de trouver un équilibre entre l'induction efficace du diabète et la minimisation de la toxicité hépatique.

Pour cela la dose 70mg/kg de STZ a été choisie dans cette étude pour induire un diabète expérimentale chez les rats.

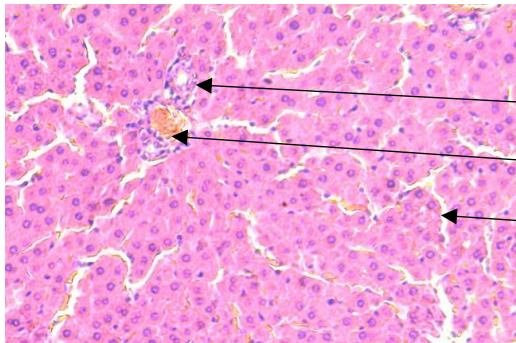
### **III.6.3 Coupes histologiques du foie des rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'*Olea europaea***

Les figures 25, 26, 27, 28 et 29 représentent les coupes histologiques du foie des rats diabétiques traités avec l'extrait de feuilles d'*Olea europaea*.



Tissu sain

**Figure 28 :** Parenchyme hépatique d'un rat de groupe témoin (Gx10)

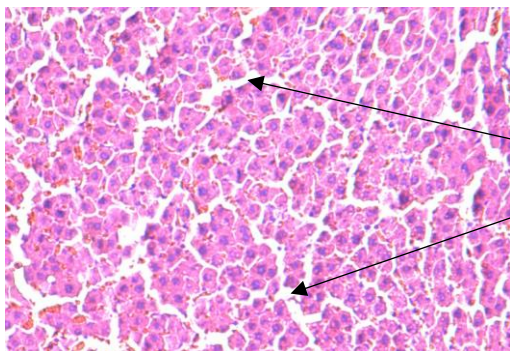


Zone de nécrose

Veine centrolobulaire congestive

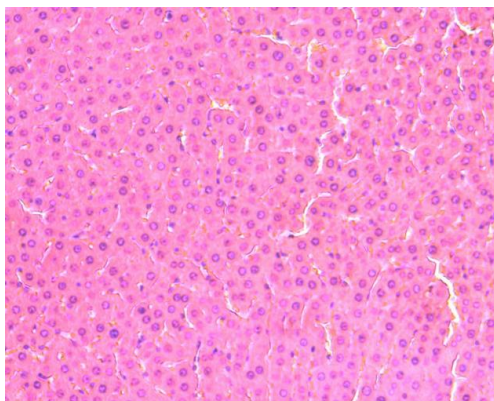
Sinusoides dilatés

**Figure 29 :** Parenchyme hépatique d'un rat diabétique non traité (Gx10)



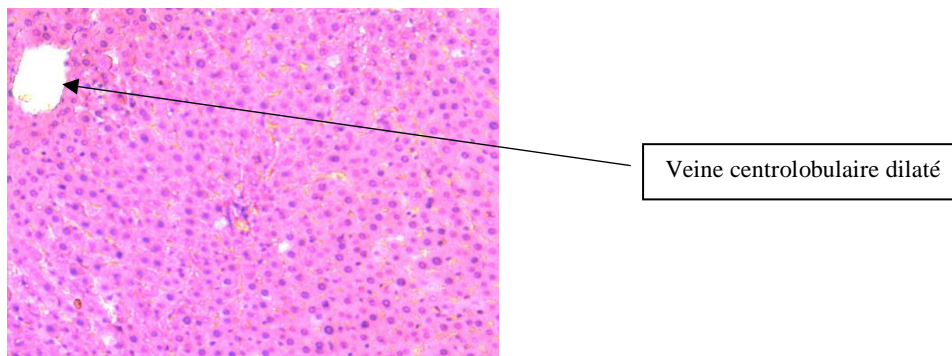
Sinusoides dilatés

**Figure 30 :** Parenchyme hépatique d'un rat diabétique traité avec de la Glibenclamide (Gx10)



Tissu sain

**Figure 31 :** Parenchyme hépatique d'un rat diabétique traité avec 75mg/kg de l'extrait (Gx10)



**Figure 32 :** Parenchyme hépatique d'un rat diabétique traité avec 350mg/kg de l'extrait (Gx10)

Le foie du rat témoin montre un tissu hépatique sain avec des hépatocytes séparées par des sinusoides étroite et disposé d'une veine centrolobulaire normale.

Le rat diabétique non traité montre une architecture modifié du parenchyme hépatique, des veines centrolobulaires congestives, des sinusoides dilatées et la présence des zones de nécrose légères ; signes de toxicité provoquée par la streptozotocine comme démontré précédemment.

Le parenchyme hépatique du rat diabétique traité avec la Glibenclamide montre des caractéristiques proches du tissu hépatique sain, avec une absence des signes de toxicité sévères observés chez le rat diabétique non traité, malgré la présence de sinusoides dilatées. Cela suggère que la Glibenclamide pourrait avoir un effet protecteur sur le foie dans le cadre de la toxicité induite par la streptozotocine.

Les rats diabétiques traités avec des doses de 75 mg/kg et 350 mg/kg d'extrait de feuilles d'olivier montrent des parenchymes hépatiques présentant des caractéristiques proches de celles d'un foie sain. Dans les deux cas, les tissus hépatiques sont bien organisés, sans signes de toxicité sévère. L'absence de signes de dégénérescence cellulaire et la bonne organisation des hépatocytes suggèrent un effet protecteur potentiel de l'extrait sur le foie contre la toxicité induite par la streptozotocine. Ces résultats indiquent que les deux doses de l'extrait sont efficaces et bien tolérées, avec un effet protecteur significatif sur le parenchyme hépatique.

Une étude similaire menée par **Mansour et al. (2023)** a démontré l'effet régénératif de l'extrait éthanolique de feuilles d'*Olea europaea* sur les tissus hépatiques dégénérés par la streptozotocine.

*Conclusion et  
perspectives*



## Conclusion et perspectives

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie est d'un grand intérêt en recherche biomédicale pour éviter les effets secondaires des médicaments de synthèse. L'olivier (*Olea europaea*), utilisé en médecine traditionnelle, présente des propriétés bénéfiques notables.

Dans la présente étude, l'extraction des composés phénoliques des feuilles d'olivier par ultrasons a révélé une teneur élevée de 89,76 mg GAE/g MS et un rendement de 30%, démontrant l'efficacité de cette méthode. L'extrait a montré une forte activité antioxydante (CI50 de  $25,14 \pm 0,41$  µg/ml), peut-être due à des composés comme l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine et les flavonoïdes.

En termes de toxicité, les tests effectués n'ont montré aucun signe de toxicité aiguë ni de mortalité chez les rats, même à des doses allant jusqu'à 600 mg/kg, qui sont bien estimées en dessous de la DL<sub>50</sub>. De plus, les rats traités ont montré une augmentation de poids comparable, voire supérieure, à celle du groupe témoin, suggérant des effets potentiellement bénéfiques sur la croissance corporelle.

Les résultats des taux de glutathion (GSH) et de malondialdéhyde (MDA) suggèrent que l'extrait de feuilles d'olivier pourrait jouer un rôle protecteur contre les dommages oxydatifs des lipides membranaire, sans perturber le système antioxydant endogène des rats.

Concernant l'activité antidiabétique, l'extrait a montré un effet hypoglycémiant significatif, surtout à la dose de 350 mg/kg, avec une réduction notable des niveaux de glycémie chez les rats traités. Les niveaux de MDA et de GSH chez les rats diabétiques traités ont montré une amélioration du stress oxydatif, avec une efficacité comparable à celle du Glibenclamide. Ces résultats suggèrent que l'extrait de feuilles d'olivier pourrait être une alternative potentielle pour la gestion du diabète et du stress oxydatif associé.

L'étude histologique a révélé que l'administration orale d'extrait d'olivier ne provoque aucun dommage ou toxicité sur les tissus hépatiques, mais exerce plutôt un effet régénératif sur les parenchymes hépatiques des rats diabétiques induits par la streptozotocine (STZ).

L'ensemble de ces résultats met en évidence le potentiel thérapeutique de l'extrait de feuilles d'olivier, notamment en tant qu'agent antidiabétique et antioxydant.

À la lumière des résultats prometteurs obtenus dans cette étude sur l'extrait de feuilles d'olivier (*Olea europaea*), plusieurs avenues de recherche futures peuvent être envisagées pour

approfondir notre compréhension de ses effets bénéfiques. Premièrement, des études approfondies pourraient explorer l'impact de cet extrait sur d'autres organes cibles du diabète, tels que le pancréas, en évaluant son potentiel régénératif et protecteur. Des analyses biochimiques avancées pourraient également être entreprises, incluant la mesure de paramètres comme l'insuline sérique et l'hémoglobine glyquée, afin de mieux caractériser les mécanismes moléculaires sous-jacents à l'effet antidiabétique de l'extrait. Par ailleurs, des études sur l'échelle moléculaire pourraient explorer les interactions intermoléculaires entre les composés bioactifs de l'extrait et les voies métaboliques impliquées dans la régulation du glucose. Ces approches multidisciplinaires pourraient non seulement élargir notre compréhension des applications thérapeutiques de l'extrait de feuilles d'olivier, mais aussi ouvrir la voie à de nouvelles stratégies pharmacologiques dans la gestion du diabète et du stress oxydatif associé.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

- **Aggul, A. G., Gulaboglu, M., Cetin, M., Ozakar, E., Ozakar, R. S., & Aydin, T. (2020).** Effects of Emulsion Formulations of Oleuropein Isolated from Ethanol Extract of Olive Leaf in Diabetic Rats. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 92(4), e20190810.
- **Al-Attar, A. M., & Alsalmi, F. A. (2019).** Effect of *Olea europaea* leaves extract on streptozotocin induced diabetes in male albino rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(1), 118-128.
- **Al-Attar, A. M., & Alsalmi, F. A. (2019).** Influence of olive leaves extract on hepatorenal injury in streptozotocin diabetic rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1865-1874.
- **AlShaal, S., Karabet, F., & Daghestani, M. (2019).** *Determination of the Antioxidant Properties of the Syrian Olive Leaves Extracts and Isolation Oleuropein by HPLC Techniques*. 6(1).
- **Altman, J.-J., Ducloux, R., & Lévy-Dutel, L. (2012).** *Le grand livre du diabète*. Eyrolles.
- **American Diabetes Association Professional Practice Committee (2024).** 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: *Standards of Care in Diabetes—2024*. *Diabetes Care*, 47(Supplement\_1), S20-S42.
- **American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2022).** 6. Glycemic Targets: *Standards of Medical Care in Diabetes—2022*. *Diabetes Care*, 45(Supplement\_1), S83-S96.
- **American Diabetes Association. (2011).** Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 34(Supplement\_1), S62-S69.

### B

- **Bédou, K. D. (2019).** Evaluation de l'activité inhibitrice des fruits de *Bauhinia thonningii* (fabaceae) sur deux glycosidases et essai de traitement du diabète chez le rat Wistar (Thèse de doctorat). Université Félix Houphouët-Boigny Abidjan.
- **Bonilla, J. C., Bernal-Crespo, V., Schaber, J. A., Bhunia, A. K., & Kokini, J. L. (2019).** Simultaneous immunofluorescent imaging of gliadins, low molecular weight

glutenins, and high molecular weight glutenins in wheat flour dough with antibody-quantum dot complexes. *Food Research International*, 120, 776-783.

### C

- **Chaker, R. (2021).** Evaluation des bienfaits d'Olea europaea L. dans la prévention de la toxicité du cadmium chez le rat Wistar mâle. (Thèse de doctorat). UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA.
- **Chen, C., Cohrs, C. M., Stertmann, J., Bozsak, R., & Speier, S. (2017).** Human beta cell mass and function in diabetes : Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Molecular Metabolism*, 6(9), 943-957.
- **Cho, W.-Y., Kim, D.-H., Lee, H.-J., Yeon, S.-J., & Lee, C.-H. (2020).** Journal of Food Quality Evaluation of Effect of Extraction Solvent on Selected Properties of Olive Leaf Extract. *Journal of Food Quality*, 2020, 1-7.

### D

- **Dardari, D. (2021).** Impact of the rapid normalization of hyperglycemia in the pathophysiology of Charcot's neuroarthropathy. (Thèse de doctorat). Université Paris-Saclay.

### E

- **Eidi, M. Eidi et R. Darzi. (2009).** « Effet antidiabétique d'Olea europaea L. chez les rats normaux et diabétiques », *Phytotherapy Research*, vol. 23, non. 3, pages 347 à 350.
- **Elhrech, H., Aguerd, O., El Kourchi, C., Gallo, M., Naviglio, D., Chamkhi, I., & Bouyahya, A. (2024).** Comprehensive Review of *Olea europaea*: A Holistic Exploration into Its Botanical Marvels, Phytochemical Riches, Therapeutic Potentials, and Safety Profile. *Biomolecules*, 14(6), 722.
- **Essafi, H., Trabelsi, N., Benincasa, C., Tamaalli, A., Perri, E., & Zarrouk, M. (2019).** Phytochemical profile, antioxidant and antiproliferative activities of olive leaf extracts from autochthonous Tunisian cultivars. *Acta Alimentaria*, 48(3), 384-390.

### F

- **Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.-E., Abdely, C., & Magné, C. (2012).** Ultrasound-Assisted Extraction : Effect of Extraction Time and Solvent Power on the Levels of Polyphenols and Antioxidant Activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae Shoots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(2), 243-249.
- **Foussier, L., & Zergane, L. (2021).** Le diabète, une pathologie chronique. *L'Aide-Soignante*, 35(224), 10-12.

### G

- **Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020).** Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6275.
- **Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020).** Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6275.
- **Garcia-Gonzalez, DL, Morales, MT et Aparicio, R. (2010).** Olive et huile d'olive. Dans YH Hui, F. Chen et LML Nollet (Eds.), Manuel des arômes de fruits et légumes (pp. 822-823). Wiley
- **Ghedira, K. (2008).**L'olivier phytothérapie.6 : 83-89.
- **Giacometti, J., Žauhar, G., & Žuvić, M. (2018).** Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Major Phenolic Compounds from Olive Leaves (*Olea europaea* L.) Using Response Surface Methodology. *Foods*, 7(9), 149.
- **Gillespie, K. M. (2006).** Type 1 diabetes : Pathogenesis and prevention. *Canadian Medical Association Journal*, 175(2), 165-170.
- **Governa, P., Baini, G., Borgonetti, V., Cettolin, G., Giachetti, D., Magnano, A., Miraldi, E., & Biagi, M. (2018).** Phytotherapy in the Management of Diabetes : A Review. *Molecules*, 23(1), 105.
- **Guex, C. G., Reginato, F. Z., Figueredo, K. C., Da Silva, A. R. H. D., Pires, F. B., Jesus, R. D. S., Lhamas, C. L., Lopes, G. H. H., & Bauermann, L. D. F. (2018).** Safety assessment of ethanolic extract of *Olea europaea* L. leaves after acute and subacute administration to Wistar rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 95, 395-399.
- **Guex, C. G., Reginato, F. Z., De Jesus, P. R., Brondani, J. C., Lopes, G. H. H., & Bauermann, L. D. F. (2019).** Antidiabetic effects of *Olea europaea* L. leaves in diabetic rats induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin. *Journal of Ethnopharmacology*, 235, 1-7.

## H

- **Harreiter, J., & Roden, M. (2023).** Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2023). *Wiener klinische Wochenschrift*, 135(S1), 7-17.
- **Hashmi, M. A., Khan, A., Hanif, M., Farooq, U., & Perveen, S. (2015).** Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Olea europaea* (Olive).1-29.
- **Hinad, I., S'hih, Y., El Gui, R., Elhessni, A., Mesfioui, A., & Ouahidi, M. L. (2021).**

Acute and subacute toxicity study of the methanolic extract of *olea europaea.L* leaves in Wistar rat. *E3S Web of Conferences*, 319, 01094.

- **Hussain, S. Z., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T., & Bhat, T. A. (2021).** Olive (*Olea europaea* L.)—Morphology, Taxonomy, Composition and Health Benefits.117-129.

### K

- **Kahn, S. E., Hull, R. L., & Utzschneider, K. M. (2006).** Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840-846.
- **Kalin, M. F., Goncalves, M., & Fonseca, V. (2016).** Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. In L. Poretsky (Éd.), *Principles of Diabetes Mellitus* (p. 1-11). Springer International Publishing.
- **Kalsi, B. S., Singh, S., Alam, M. S., & Bhatia, S. (2023).** Microwave Drying Modelling of Stevia rebaudiana Leaves Using Artificial Neural Network and Its Effect on Color and Biochemical Attributes. *Journal of Food Quality*, 2023, 1-12.
- **KamiLoğlu, N. N., Yildiz, B., Merhan, O., Ögün, M., Güven, A., Erkiliç, E. E., MeciT, T., ŞahiN, P., & Hastürk, H. (2019).** Effects of Oleuropein on Nitric Oxide, Glutathione, Malondialdehyde Levels and Glutathione Peroxidase Activities in Various Tissues of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Treated with Metformin and Insulin. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 10(1), 1-10.
- **Khan, R., Chua, Z., Tan, J., Yang, Y., Liao, Z., & Zhao, Y. (2019).** From Pre-Diabetes to Diabetes : Diagnosis, Treatments and Translational Research. *Medicina*, 55(9), 546.
- **Khelouf, I., Karoui, I. J., Lakoud, A., Hammami, M., & Abderrabba, M. (2023).** Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves *Olea europaea* L. of Tunisian and Algerian varieties. *Heliyon*, 9(12), e22217.
- **Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., & Soro, Y. (2021).** Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1), 97-105.
- **Kountouri A.M., Mylona A., Kaliora A.C. (2007).** Bioavailability of the phenolic compounds of the fruits (drupes) of *olea europaea* (olives) : Impact on plasma antioxidant status in humans. *Phytomedicine*.14 : 659–667.

### L

- **Lakache, Z., Tigrine, C., Aliboudhar, H., & Kameli, A. (2021).** Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait

méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*. *Phytothérapie*, 19(2), 83-92.

- **Lee, S.-H., Park, S.-Y., & Choi, C. S. (2022).** Insulin Resistance : From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes & Metabolism Journal*, 46(1), 15-37.
- **Lucas, L., Russell, A. et Keast, R. (2011).** Mécanismes moléculaires de l'inflammation. Bienfaits anti-inflammatoires de l'huile d'olive vierge et du composé phénolique oléocanthal. *Conception pharmaceutique actuelle*, 17(8), 754-768.

### M

- **M. Adnan, R. Bibi, S. Mussarat, A. Tariq et ZK Shin-wari. (2014).** « Revue ethnométrique et phytochimique des plantes médicinales pakistanaises utilisées comme agents antibactériens contre *Escherichia coli* », *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobiens*, vol. 13, non. 1, article 40.
- **M. de Bock, JGB Derraik, CM Brennan et al. (2013).** « Les polyphénols des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) améliorent la sensibilité à l'insuline chez les hommes d'âge moyen en surpoids : un essai croisé randomisé, contrôlé par placebo », *PLoS UN*, vol. 8, 622.
- **M. El Amin, P. Virk, M. Abdel-Rahman et coll. (2013).** « Anti-diabetic effet des extraits de feuilles de *Murraya koenigii*(L) et *Olea europaea* (L) sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine », *Pakistan Journal of Sciences pharmaceutiques*, vol. 26, 359-365.
- **Mansour, H. M. M., Zeitoun, A. A., Abd-Rabou, H. S., El Enshasy, H. A., Dailin, D. J., Zeitoun, M. A. A., & El-Sohaimy, S. A. (2023).** Antioxidant and Anti-Diabetic Properties of Olive (*Olea europaea*) Leaf Extracts : In Vitro and In Vivo Evaluation. *Antioxidants*, 12(6), 1275.
- **Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., & Atmani, D. (2016).** Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 653-669.
- **Misganaw, D., Engidawork, E., & Nedi, T. (2019).** Evaluation of the anti-malarial activity of crude extract and solvent fractions of the leaves of *Olea europaea* (Oleaceae) in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 171.

### N

- **Nicoli, F., Negro, C., Vergine, M., Aprile, A., Nutricati, E., Sabella, E., Miceli, A., Luvisi, A., & De Bellis, L. (2019).** Evaluation of Phytochemical and Antioxidant Properties of 15 Italian *Olea europaea* L. Cultivar Leaves. *Molecules*, 24(10), 1998.



- **Nikou, T., Sakavitsi, M. E., Kalampokis, E., & Halabalaki, M. (2022).** Metabolism and Bioavailability of Olive Bioactive Constituents Based on In Vitro, In Vivo and Human Studies. *Nutrients*, 14(18), 3773.

### O

- **Omar SH. (2010).** Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci. Pharm.*78 :133–154.
- **Organisation mondiale de la Santé. (2016).** *Rapport mondial sur le diabète.* Organisation mondiale de la Santé.
- **Owen, RW, Mier, W., Giacosa, A., Hull, WE, Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. (2000).** Composés phénoliques et squalène dans les huiles d'olive : concentration et potentiel antioxydant des phénols totaux, phénols simples, sécoiridoïdes, lignanes et squalène. *Toxicologie alimentaire et chimique*, 38(8), 647-659.

### P

- **Pérez-Bonilla, M., Salido, S., Van Beek, T. A., Linares-Palomino, P. J., Altarejos, J., Noguera, M., & Sánchez, A. (2006).** Isolation and identification of radical scavengers in olive tree (*Olea europaea*) wood. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 311-318.
- **Pulipaka, S. ., Suttee, A. ., Kumar, M. R. ., & Sriram, P. . (2022).** Effective use of Phytotherapy in the Management of Diabetes by Plant-based Medicine : A Review. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL QUALITY ASSURANCE*, 13(03), 15-23.

### R

- **Rewers, M., & Ludvigsson, J. (2016).** Environmental risk factors for type 1 diabetes. *The Lancet*, 387(10035), 2340-2348.

### S

- **Sánchez-Gutiérrez, M., Bascón-Villegas, I., Rodríguez, A., Pérez-Rodríguez, F., Fernández-Prior, Á., Rosal, A., & Carrasco, E. (2021).** Valorisation of *Olea europaea* L. Olive Leaves through the Evaluation of Their Extracts : Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Foods*, 10(5), 966.
- **Singh, I., Mok, M., Christensen, A. M., Turner, A. H., Hawley, J. A., & Cameron-Smith, D. (2008).** The effects of polyphenols in olive leaves on metabolic function and glucose homeostasis: A review. *Nutrients*, 10(10), 1334.
- **Soliman, S. S., & Soliman, A. E. M. (2019).** Protective Activities of Some Extracts from *Olea europaea* Leaves towards CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Egyptian*

Journal of Chemistry, 62(1), 1-10.

- **Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & Van Haefen, T. W. (2005).** Type 2 diabetes : Principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365(9467), 1333-1346.

### T

- **Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., & Abderrahmani, A. (2018).** Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(502), 26-32.

### U

- **Ustuner, D., Colak, E., Dincer, M., Tekin, N., Burukoglu Donmez, D., Akyuz, F., Colak, E., Kolaç, U. K., Entok, E., & Ustuner, M. C. (2018).** Posttreatment Effects of *Olea Europaea* L. Leaf Extract on Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury and Oxidative Stress in Rats. *Journal of Medicinal Food*, 21(9), 899-904.

### Y

- **Yous, F., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Cherift, N., Sebaihi, S., Saidene, N., Benloukil, M., & Atmani, D. (2018).** Anti-ulcerogenic and proton pump (H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. *South African Journal of Botany*, 119, 390-399.
- **Yuan, J.-J., Wang, C.-Z., Ye, J.-Z., Tao, R., & Zhang, Y.-S. (2015).** Enzymatic Hydrolysis of Oleuropein from *Olea europaea* (Olive) Leaf Extract and Antioxidant Activities. *Molecules*, 20(2), 2903-2921.
- **Yusoff, I. M., Taher, Z. M., Rahmat, Z., & Chua, L. S. (2022).** A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds : Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*, 157, 111268.

### Z

- **Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018).** Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), 88-98.

## Résumé

*Olea europaea* (l'olivier) est une plante couramment utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies. Le but de la présente étude était de caractériser les activités biologiques *in vitro* et *in vivo* d'extrait éthanolique de feuilles d'*Olea europaea*.

L'extraction des composés phénoliques par ultrasons a révélé une teneur élevée de 89,76 mg EAG/g MS et un rendement de 30%. L'extrait a montré une forte activité antioxydante avec une CI50 de  $25,14 \pm 0,41$  µg/ml, attribuée à des composés tels que l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine et les flavonoïdes. Les tests de toxicité n'ont révélé aucun signe de toxicité aiguë ni de mortalité chez les rats, même à des doses allant jusqu'à 600 mg/kg. Les rats traités ont montré une augmentation de poids comparable à celle du groupe témoin, suggérant des effets bénéfiques sur la croissance corporelle. Les niveaux de glutathion (GSH) et de malondialdéhyde (MDA) ont montré que l'extrait pourrait protéger contre les dommages oxydatifs des lipides membranaires sans perturber le système antioxydant endogène des rats. L'extrait a démontré un effet hypoglycémiant significatif à la dose de 350 mg/kg, avec une réduction notable des niveaux de glycémie chez les rats traités, comparable à celle du Glibenclamide. L'étude histologique a révélé que l'extrait d'olivier n'endommage pas les tissus hépatiques et exerce un effet régénératif et protecteur sur les parenchymes hépatiques des rats diabétiques induits par la streptozotocine (STZ).

L'extrait de feuilles d'olivier présente un potentiel thérapeutique notable en tant qu'agent antidiabétique et antioxydant, justifiant des investigations biopharmaceutiques futures.

**Mots clés :** *Olea europaea*, Streptozotocine, antidiabétique, antioxydant, hépatoprotecteur.

## Abstract

*Olea europaea* (the olive tree) is a plant commonly used in traditional medicine to treat various diseases. The aim of the present study was to characterize the *in vitro* and *in vivo* biological activities of ethanolic extract of *Olea europaea* leaves.

Ultrasonic extraction of phenolic compounds revealed a high content of 89.76 mg GAE/g DM and a yield of 30%. The extract showed strong antioxidant activity with an IC50 of  $25.14 \pm 0.41$  µg/ml, attributed to compounds such as hydroxytyrosol, oleuropein and flavonoids. Toxicity tests revealed no signs of acute toxicity or mortality in rats, even at doses up to 600 mg/kg. Treated rats showed an increase in weight comparable to that of the control group, suggesting beneficial effects on body growth. Glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels showed that the extract could protect against oxidative damage of membrane lipids without disrupting the endogenous antioxidant system of rats. The extract demonstrated a significant hypoglycemic effect at a dose of 350 mg/kg, with a notable reduction in blood glucose levels in treated rats, comparable to that of Glibenclamide. The histological study revealed that olive extract does not damage liver tissues and exerts a regenerative and protective effect on the liver parenchyma of streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats.

Olive leaf extract shows notable therapeutic potential as an antidiabetic agent and antioxidant, warranting future biopharmaceutical investigations.

**Key words:** *Olea europaea*, Streptozotocin, antidiabetic, antioxidant, hepatoprotective.

## ملخص

الزيتون هو نبات يُستخدم بشكل شائع في الطب التقليدي لعلاج مختلف الأمراض. كان هدف الدراسة الحالية هو تحديد الأنشطة البيولوجية في المختبر وفي الجسم الحي لمستخلص أوراق الزيتون الكحولي.

كشف استخراجه المركبات الفينولية بواسطة الموجات فوق الصوتية عن محتوى عالٍ قدره 89.76 ملغم مكافئ حمض الجاليك/جم مادة جافة وعائد قدره 30%. أظهر المستخلص نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً مع تركيز مثبط نصف أقصى (IC50) قدره  $25.14 \pm 0.41$  ميكروجرام/مل، وهذا يُعزى إلى مركبات مثل الهيدروكسي تيروسول والأولوروبين والفلافونويدات. لم تكشف اختبارات السمية عن أي علامة على السمية الحادة أو الوفاة لدى الفئران، حتى عند الجرعات التي تصل إلى 600 ملغم/كغم. أظهرت الفئران المعالجة زيادة في الوزن مشابهة لمجموعة الشاهد، مما يشير إلى تأثيرات مفيدة على النمو الجسدي. أظهرت مستويات الجلوتاثيون (GSH) والمالونديالدهيد (MDA) أن المستخلص قد يحمي من الأضرار التأكسدية للدهون الغشائية دون التأثير على النظام المضاد للأكسدة الذاتي لدى الفئران. أظهر المستخلص تأثيراً مخفضاً لمستوى السكر في الدم بشكل ملحوظ عند جرعة 350 ملغم/كغم، مع انخفاض واضح في مستويات السكر في الدم لدى الفئران المعالجة، يُقارن ذلك بالتأثيرات الخاصة بالغلبيبيكلاميد. كشفت الدراسة النسجية أن مستخلص الزيتون لا يضر بأنسجة الكبد ويمارس تأثيراً تجديدياً ووقائياً على الحمة الكبدية للفئران المصابة بالسكري الناتج عن الستربتوزوتوسين (STZ).

يظهر مستخلص أوراق الزيتون إمكانات علاجية ملحوظة كعامل مضاد للسكري ومضاد للأكسدة، مما يبرر إجراء تحقيقات صيدلانية حيوية مستقبلية.

**الكلمات المفتاحية:** الزيتون، الستربتوزوتوسين، مضاد للسكري، مضاد للأكسدة، واقي للكبد.