

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix - Travail - Patrie

UNIVERSITE DE DOUALA

**ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES
FONDAMENTALES ET APPLIQUEES**

**Unité de Formation Doctorale de
Chimie et Biochimie**



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace - Work - Fatherland

THE UNIVERSITY OF DOUALA

**POSTGRADUATE SCHOOL FOR
PURE AND APPLIED SCIENCES**

**Postgraduate Training Unit for
Chemistry and Biochemistry**

LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

LABORATORY OF BIOCHEMISTRY

**ACTIVITÉS ANTIOXYDANTE, HYPOGLYCEMIANTE ET
ANTIHYPERGLYCEMIANTE D'UN MELANGE DE TROIS CHAMPIGNONS
PLEUROTES ET INFLUENCE DE SA SUPPLÉMENTATION SUR LES RATS
SOUMIS A UN REGIME HYPERCALORIQUE**

Thèse rédigée et présentée en vue de l'obtention du

Doctorat / PhD en Biochimie

Option : Sciences Alimentaires et Nutrition

Par

MBANG MBARGA Audrey Judith

Matricule: 10S11889

DEA ès Sciences

Sous la Co-Direction de :

ETOUNDI OMGBA Cunégonde Blanche
Maître de Conférences

KANA SOP Marie Modestine
Maître de Conférences

Année 2023/2024



LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022/2023

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 17 Mars 2023

ADMINISTRATION

DOYEN : NIDA Marie Joseph épse NTAMAK (Professeur)
VICE DOYEN/ PSAA : AZEBAZE Anatole Guy Blaise (Professeur)
VICE DOYEN/ SSE : PRISO Richard (Maître de Conférences)
VICE DOYEN/ RC : ATANGANA ATEBA (Professeur)
DAASR : EBOUMBOU MOUKOLO ELSE (Professeur)

1. DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES ORGANISMES ANIMAUX (BA) (25)				
N°		Noms et Prénoms	Grade	Observations
1	1	DONGMO Alain Bertrand	Professeur (Pr)	En poste
2	2	LEHMAN Léopold	Professeur (Pr)	En poste
3	3	MANDENGUE Samuel Honoré	Professeur (Pr)	En poste
4	4	MASSOMA LEMBE Dieudonné	Professeur (Pr)	Chef de Département
5	5	AKONO NTONGA Patrick	Professeur (Pr)	SD/ MINESUP
6	6	KENNE Martin	Maître de Conférences (MC)	En poste
7	7	MBIDA MBIDA Jean Arthur	Maître de Conférences (MC)	En poste
8	8	MISSOUP Alain Didier	Maître de Conférences (MC)	Chef de Div/ ISH
9	9	TINDO Maurice	Maître de Conférences (MC)	En poste
10	10	AYINA A. C. Noel épse LISSOCK	Maître de Conférences (MC)	En poste
11	11	NACK Jacques	Maître de Conférences (MC)	Chef de Département ISH
12	12	WANKEU NYA Modeste	Maître de Conférences (MC)	En poste
13	13	AHMADOU	Chargé de Cours (CC)	En poste
14	14	ENDOUGOU EFFA Anne Marie	Chargé de Cours (CC)	En poste
15	15	KOJI Ernest	Chargé de Cours (CC)	En poste
16	16	TCHAMADEU Marie Claire	Chargé de Cours (CC)	En poste
17	17	ATEBA Sylvain Benjamin	Chargé de Cours (CC)	En poste
18	18	BIKA LELE Elysée Claude	Chargé de Cours (CC)	En poste
19	19	BOGNING Zangueu Calvin	Chargé de Cours (CC)	En poste
20	20	KAPSO TCHOUANKEP Mireille	Chargé de Cours (CC)	En poste
21	21	MEKOULOU NDONGO Jerson	Chargé de Cours (CC)	En poste
22	22	Aïcha De NKAINSA LINDOUX II	Assistant	En poste
23	23	FEIGNI YOUPI Marcelle Olga	Assistant	En poste
24	24	MBOUMWA Paul Valérie G	Assistant	En poste
25	25	YOUSSEU NANA William	Assistant	En poste

2. DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES ORGANISMES VEGETAUX (B.V) (18)				
26	1	NDONGO DIN	Professeur (Pr)	En poste

27	2	TAFFOUO Victor Désiré	Professeur (Pr)	En poste
28	3	NGO N. Laurette épouse EKOUE	Maître de Conférences (MC)	Chef de Département
29	4	ASSENG Charles Carnot	Maître de Conférences (MC)	En poste
30	5	BETTY Jean Lagarde	Maître de Conférences (MC)	Bertoua
31	6	PRISO Richard	Maître de Conférences (MC)	Vice Doyen/VDS
32	7	SIMO Claude	Maître de Conférences (MC)	En poste
33	8	NDIANG Zenabou	Chargé de Cours (CC)	En poste
34	9	NGOTTA BIYON Jacques Bruno	Chargé de Cours (CC)	En poste
35	10	TCHIAZE Alice épouse GOUADO	Chargé de Cours (CC)	En poste
36	11	Séraphine EBENGNE MOKAKE	Chargé de Cours (CC)	En poste
37	12	LADOH YEMEDA Christelle F.	Chargé de Cours (CC)	En poste
38	13	MADOUNTSAP T. Nadège	Chargé de Cours (CC)	En poste
39	14	MFONKA Zakari	Chargé de Cours (CC)	En poste
40	15	MVOGO OTTOU Patrice Brice	Chargé de Cours (CC)	En poste
41	16	WAMBA FOTSO Oscar Simple	Chargé de Cours (CC)	En poste
42	17	PHARAON MBIANDA Auguste	Chargé de Cours (CC)	En poste
43	18	SEMBOUNG LANG Firmin	Chargé de Cours (CC)	En poste
3. DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (29)				
44	1	NGONO NGANE Rosalie Annie	Professeur (Pr)	Chef de Département
45	2	GOUADO Innocent	Professeur (Pr)	En poste
46	3	JAZET DONGMO Pierre Michel	Professeur (Pr)	En poste
47	4	SAMEZA Modeste Lambert	Professeur (Pr)	En poste
48	5	KANA M. Modestine épouse SOP	Maître de Conférences (MC)	En poste
49	6	KOANGA MOGTOMO Martin L.	Maître de Conférences (MC)	En poste
50	7	KORO KORO Francioli	Maître de Conférences (MC)	En poste
51	8	LENG Marlyse Solange	Maître de Conférences (MC)	Chef de Département /ISH
52	9	MINYAKA Emile	Maître de Conférences (MC)	DFI/IUT
53	10	NDOMOU Mathieu	Maître de Conférences (MC)	En poste
54	11	TAVEA Frédéric Marie	Maître de Conférences (MC)	En poste
55	12	TCHAMENI NGUEMEZI Severin	Maître de Conférences (MC)	En poste
56	13	EBELLE ETAME Rebecca M.	Maître de Conférences (MC)	S.G MINRESI
57	14	ETOUNDI O. Cunégonde Blanche	Maître de Conférences (MC)	En poste
58	15	NGUIKWIE KWANGA Sylvie épouse MEKONDANE	Chargé de Cours (CC)	En poste
59	16	NOAH MBOENE Alexandre	Chargé de Cours (CC)	En poste
60	17	TAMGUE Ousman	Chargé de Cours (CC)	En poste
61	18	AKAMI Mazarin	Chargé de Cours (CC)	En poste
62	19	DEMASSE M. Adelaide	Chargé de Cours (CC)	En poste
63	20	DONGHO DONGMO Fabrice F.	Chargé de Cours (CC)	En poste
64	21	FOGANG MBA Aymar Rodrigue	Chargé de Cours (CC)	En poste
65	22	LIENOU LIENOU Landry	Chargé de Cours (CC)	En poste
66	23	NOLLA Nicolas Policarpe	Chargé de Cours (CC)	En poste
67	24	SOH OUMBE Aimé Valère	Chargé de Cours (CC)	En poste
68	25	MBOCK Arnaud Michel	Assistant	En poste
69	26	NTAH A AYONG Moise	Assistant	En poste
70	27	FOUELIFACK NZEKO Eric	Assistant	En poste
71	28	ABOUDI ETONO Colette Elysée	Assistant	En poste
72	29	MANZ KOULE Jules	Assistant	En poste

4. DEPARTEMENT DE CHIMIE (CH) (31)				
73	1	MBAZE MEVA'A Luc Leonard	Professeur (Pr)	DAASR/UY1/FS
74	2	KAMDEM WAFFO Alain François	Professeur (Pr)	En poste
75	3	WANSI Jean Duplex	Professeur (Pr)	En poste
76	4	AZEBAZE Anatole Guy Blaise	Professeur (Pr)	Vice Doyen / VDP
77	5	NDOM Jean Claude	Professeur (Pr)	Vice Doyen/FMSB
78	6	ETOH Marie Annie	Professeur (Pr)	Chef de Département
79	7	BIKELE MAMA Désiré	Maître de Conférences (MC)	En poste
80	8	CONDE Mariam épouse ASSENG	Maître de Conférences (MC)	En poste
81	9	DIKA MANGA Joseph Marchand	Maître de Conférences (MC)	En poste
82	10	DINA David John Daniel	Maître de Conférences (MC)	En poste
83	11	NGUEFA HAPPI Emmanuel	Maître de Conférences (MC)	En poste
84	12	NOUGA BISSOUE Achille	Maître de Conférences (MC)	Chef de Dept/ ENSET
85	13	TOZE Flavien Aristide Alfred	Maître de Conférences (MC)	Chef de service à la DAAC
86	14	KEDE Charles Melea	Maître de Conférences (MC)	En poste
87	15	LOBE SONGUE Jules	Maître de Conférences (MC)	En poste
88	16	KENMOGNE Sidonie Béatrice épouse TAVEA	Maître de Conférences (MC)	En poste
89	17	BANENZOUE Charles	Maître de Conférences (MC)	En poste
90	18	AKONE Hervé Sergi	Chargé de Cours (CC)	En poste
91	19	BASSOMO Monique Yolande épouse EWONKEM	Chargé de Cours (CC)	En poste
92	20	MAKOTA Suzanne épouse NDI	Chargé de Cours (CC)	En poste
93	21	TCHIETA Pierre Gérard	Chargé de Cours (CC)	En poste
94	22	ATEBA AMANA Baruch	Chargé de Cours (CC)	En poste
95	23	AWAZI TENGU épouse NYONGHA	Chargé de Cours (CC)	En poste
96	24	LONGUE EKON Jean Pierre	Chargé de Cours (CC)	En poste
97	25	MAZA DJONKAM Hermine L.	Chargé de Cours (CC)	En poste
98	26	NGASSA PIEGANG Guy bertrand	Chargé de Cours (CC)	En poste
99	27	NOUDOU Soilitaire Bodrix	Chargé de Cours (CC)	En poste
100	28	MABOU LEUNA Jules Blaise	Assistant	En poste
101	29	NGO HANNA Joelle	Assistant	En poste
102	30	ABEGA Aimé Victoire	Assistant	En poste
103	31	DIPITA KOLYE Ernest Yves H.	Assistant	En poste
5. DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE (MI) (20)				
104	1	BOWONG TSAKOU Samuel	Professeur (Pr)	Chef de Département
105	2	FONO Louis Aime	Maître de Conférences (MC)	En poste
106	3	NGAKEU Ferdinand	Maître de Conférences (MC)	En poste
107	4	DONFACK V épouse KOMMOGNE	Chargé de Cours (CC)	En poste
108	5	MBAMA ENGOULOU Bertrand	Chargé de Cours (CC)	En poste
109	6	NOUMSI WOGUIA V. Auguste	Chargé de Cours (CC)	En poste
110	7	TAGNE WAFO Roger	Chargé de Cours (CC)	En poste
111	8	TSIMI JEAN Armand	Chargé de Cours (CC)	En poste
112	9	DJIKEN Guy Lahlou	Chargé de Cours (CC)	En poste
113	10	OUMAROU NGOUTE Charly	Chargé de Cours (CC)	En poste
114	11	FOTSING TETSING Hans	Chargé de Cours (CC)	En poste
115	12	MOSKOLAI NGASSAHA Justin	Chargé de Cours (CC)	En poste
116	13	PEMHA Gabriel Cedric	Chargé de Cours (CC)	En poste
117	14	UM Laurence Emilie	Chargé de Cours (CC)	En poste
118	15	DJEUMEN D. Rodrigue Aime	Assistant	En poste
119	16	NDJE Yves Jonathan	Assistant	En poste
120	17	ONANA NDZANA Maximilien D.	Assistant	En poste
121	18	DJOUKWE TAPI Myriam Sonia	Assistant	En poste

122	19	DZUCHE Justin	Assistant	En poste
123	20	NFONGOURAIN MOUGNUTOU Rémy	Assistant	En poste
6. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (23)				
124	1	NGUENANG Jean Pierre	Professeur (Pr)	Chef de Département
125	2	LENOUO Andre	Professeur (Pr)	En poste
126	3	MOHAMADOU Alidou	Professeur (Pr)	Directeur ENSP/ Université Maroua
127	4	MOTAPON Ousmanou	Professeur (Pr)	DAAF/Université Maroua
128	5	YAMAPI Rene	Professeur (Pr)	En poste
129	6	NANA Laurent	Maître de Conférences (MC)	En poste
130	7	NDONTCHEUNG MOYO Maurice	Maître de Conférences (MC)	Chef Service/ MINRESI
131	8	WEMBE TAFO Evariste	Maître de Conférences (MC)	En poste
132	9	DAFOUNANSOU Ousmanou	Maître de Conférences (MC)	En poste
133	10	EYIKE Albert	Maître de Conférences (MC)	Chef de division/ MINRESI
134	11	LISSOUK Daniel	Maître de Conférences (MC)	S.G/ENS Kumba
135	12	EKOE A AkATA Aloys Martial	Chargé de Cours (CC)	En poste
136	13	EPEE EPEE Michel Douglas	Chargé de Cours (CC)	En poste
137	14	KENGANG KANA Lucas Z.	Chargé de Cours (CC)	En poste
138	15	MBIAKE Robert	Chargé de Cours (CC)	En poste
139	16	NGWA EBONGUE Alexandre	Chargé de Cours (CC)	Chef de service/FS
140	17	ZANGA AMOUGOU Alain	Chargé de Cours (CC)	En poste
141	18	LEKEUFACK TIOKENG Olivier	Chargé de Cours (CC)	En poste
142	19	MENYE Cyrille	Chargé de Cours (CC)	En poste
143	20	ONDOUA Rodrigue Yanick	Assistant	En poste
144	21	ATANGANA NKENE épse NDOP	Assistant	En poste
145	22	BELL Jean Pierre	Assistant	En poste
146	23	YOUSOUFA MATI	Assistant	En poste

7. DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (22)				
147	1	NIDA Marie J. épse NTAMAK	Professeur (Pr)	Doyen/ FS
148	2	ETAME Jacques	Professeur (Pr)	Directeur IUT Douala
149	3	OWONA Sebastien	Professeur (Pr)	En poste
150	4	MVONDO OWONO François	Maître de Conférences (MC)	Chef de Département/ST
151	5	BAYIGA ELIE Constantin	Maître de Conférences (MC)	En poste
152	6	NGON NGON Gilbert	Maître de Conférences (MC)	Directeur Adjoint EGEM Ngaoundéré
153	7	BASSEKA Charles Antoine	Maître de Conférences (MC)	En poste
154	8	NKOUE NDONDO Gustave Raoul	Chargé de Cours (CC)	Chargé d'étude N ^o 1 MINESUP
155	9	Christophe WONKAM	Chargé de Cours (CC)	En poste
156	10	IBOUM KISSAANKA Joseph B	Chargé de Cours (CC)	En poste
157	11	NGO BOUM Suzane épse NKOT	Chargé de Cours (CC)	En poste
158	12	OUAFO M. Marie épse LEUMBE	Chargé de Cours (CC)	En poste
159	13	EMVOUTOU Huguette Christiane	Chargé de Cours (CC)	En poste
160	14	ITIGA Zenon	Chargé de Cours (CC)	En poste
161	15	NJO MBIE W. Patrick Merlin	Chargé de Cours (CC)	En poste
162	16	NSANGO NGAPNA Moussa	Chargé de Cours (CC)	En poste
163	17	TCHEUMEUNACK KOUOMO J.	Chargé de Cours (CC)	En poste
164	18	FOWE KWETCHE Paul Gustave	Chargé de Cours (CC)	En poste

165	19	TCHUIMEGNIE N. Nicaise Blaise	Chargé de Cours (CC)	En poste
166	20	BINYET NDJEBAKAL Joseph L.	Assistant	En poste
167	21	NYEMB BAYAMACK Joël Fabrice	Assistant	En poste
168	22	NLEND Bertil Yvon	Assistant	En poste
8. CEPAMOQ (9)				
169	1	KWATO NJOCK Moise G.	Professeur (Pr)	Chef de Centre
170	2	KENFACK ASSONGO Cyril	Maître de Conférences (MC)	En poste
171	3	BONGUE Daniel	Chargé de Cours (CC)	Chef de service
172	4	BOURI Celsus	Chargé de Cours (CC)	En poste
173	5	DJIEUDEU Nicodème	Chargé de Cours (CC)	En poste
174	6	NKEM Christophe	Chargé de Cours (CC)	Chef de Service/DAC
175	7	SILENOU MENGOUE Marius	Chargé de Cours (CC)	En poste
176	8	TETCHOU NGANSO Hugues M.	Chargé de Cours (CC)	En poste
177	9	MBOGNING FEUDJIO William	Chargé de Cours (CC)	En poste

RÉPARTITION CHIFFRÉE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS PAR DÉPARTEMENT

Départements	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
BA	5 (0)	7 (1)	9 (3)	4 (2)	25 (6)
BV	2 (0)	5 (1)	11 (4)	0 (0)	18 (5)
BC	4 (1)	10 (4)	10 (2)	5 (1)	29 (8)
CH	6 (1)	11 (3)	10 (4)	4 (3)	31 (10)
MI	1 (0)	2 (0)	11 (1)	6 (1)	20 (2)
PH	5 (0)	6 (0)	8 (0)	4 (2)	23 (2)
ST	3 (1)	4 (0)	12 (2)	3 (2)	22 (5)
CEPAMOQ	1 (0)	1 (0)	7 (0)	0 (0)	9 (0)
Total	27 (3)	47 (9)	78 (16)	27 (11)	177 (38)

Soit un total de : **177 (38) dont**

- Professeurs 27 (3)
- Maître de Conférences 47 (9)
- Chargés de Cours 78 (16)
- Assistants 27 (11)
- () = Nombre de femmes.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

DEDICACE

**A MA MAMAN CHERIE Mme
Pauline AMOUGOU ASSOMO
Epouse MBARGA**

LISTE DES ABREVIATIONS

- ACD** : Association Canadienne du Diabète
- ADA** : American Diabetes Association
- AIEA** : Agence Internationale de l'Energie Atomique
- ANOVA** : *Analysis of Variance*
- AOAC** : *Association of Official Analytical Chemists*
- DHG** : Diète Hypercalorique Grasse
- DHS** : Diète Hypercalorique Sucrée
- DID** : Diabète Insulino-dépendant
- DN** : Diète normale
- DNID** : Diabète Non Insulino-dépendant
- DT1** : Diabète de type 1
- DT2** : Diabète de type 2
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- FASA** : Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles
- FID** : Fond International du Diabète
- GPx** : Glutathions Peroxydase
- GSH** : Glutathion réduit
- GSSG** : Glutathion oxydé
- HbA1c** : Hémoglobine glyquée
- HDL** : *High Density Lipoprotein*
- HGPO** : hyperglycémie provoquée par voie orale
- IC₅₀** : Concentration inhibitrice 50
- IL-1** : Interleukine 1
- IRS** : Substrats du récepteur de l'insuline
- LABPMAN** : Laboratoire de Biochimie des Plantes Médicinales, des Sciences Alimentaires et Nutritions
- M1aq** : Extrait aqueux du mélange 1
- M1et** : Extrait éthanolique du mélange 1
- M1heth** : Extrait hydroéthanolique du mélange 1
- M1hex** : Extrait hexanique du mélange 1
- M2aq** : Extrait aqueux du mélange 2

M2et : Extrait éthanolique du mélange 2
M2heth : Extrait hydroéthanolique du mélange 2
M2hex : Extrait hexanique du mélange 2
M3aq : Extrait aqueux du mélange 3
M3et : Extrait éthanolique du mélange 3
M3heth : Extrait hydroéthanolique du mélange 3
M3hex : Extrait hexanique du mélange 3
M4aq : Extrait aqueux du mélange 4
M4et : Extrait éthanolique du mélange 4
M4heth : Extrait hydroéthanolique du mélange 4
M4hex : Extrait hexanique du mélange 4
MDA : Malonyldialdéhyde
MnSOD : Superoxyde Dismutase à manganèse
OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique
PC: Poids Corporel
PPARg : *Peroxisomes Proliferator Activated Receptors*
SOD : Superoxyde Dismutase
TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique
TN : Témoin Négatif
TNF α : *Tumor Necrosis Factor α*
TP : Témoin Positif
VCAM-1 : *Vascular Cell Adhesion protein 1*

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans l'intervention de certaines personnes qui, d'une manière ou d'une autre contribuent chaque jour à mon éducation.

Je tiens ainsi à remercier le Seigneur DIEU Tout Puissant qui a toujours bien veillé sur moi et qui a permis la réalisation de ce travail.

Je remercie sincèrement et infiniment le Pr Cunégonde Blanche ETOUNDI OMGBA épouse SAPE de m'avoir toujours encouragée et soutenue dans le travail. Plus qu'un encadreur, vous êtes devenue une mère ; toujours disponible, à l'écoute et toujours prête à aider quand il le faut. Je vous remercie très sincèrement maman pour vos conseils, votre sympathie, votre patience et la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ce parcours.

Je tiens à adresser mes profonds remerciements au Pr Marie Modestine KANA SOP. Professeur, merci beaucoup pour votre soutien et vos encouragements. Vous n'avez pas seulement veillé de près sur l'évolution de ce travail, mais vous avez également été un accompagnateur spirituel. Merci beaucoup Professeur pour vos conseils et votre disponibilité.

Je tiens également à adresser mes profonds remerciements au Pr Hassan AGUENAOU et au Dr Khalid EL KARI pour leur encadrement technique et leur soutien dans l'obtention du financement des publications des articles de ce travail de thèse.

Je remercie sincèrement l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) pour leur soutien financier dans la réalisation de ce travail de thèse.

Je remercie le Pr Annie Rosalie NGONO NGANE, Chef du Département et Chef de Laboratoire de Biochimie pour l'appareillage de Laboratoire mis à notre disposition afin de bien mener ce travail et pour ses encouragements tout le long de ces travaux de recherches.

Je remercie le Pr Marie Joseph NIDA épouse NTAMACK, Doyen de la Faculté des Sciences et tout son personnel administratif d'avoir permis que ce travail s'effectue dans leur établissement.

Je voudrais remercier :

➤ Tous les autres Enseignants du Département de Biochimie à savoir Pr Inocent GOUADO, Pr Michel JAZET DONGMO, Pr Frédéric Marie TAVEA, Pr Modeste Lambert SAMEZA, Pr Mathieu NDOMOU, Pr Marlyse Solange LENG, Pr Martin Luther KOANGA MOKTOMO, Pr Emile MINYAKA, Pr Francioli KORO KORO, Pr Jean Paul ASSAM

ASSAM, Pr Severin TCHAMENI GUEMEZI, Pr Rebecca Madeleine EBELLE ETAME, Dr Adélaïde DEMASSE MAWAMBA, Dr Alexandre NOAH MBOENE, Dr Ousman TAMGUE, Dr Landry LIENOU LIENOU, Dr Nicolas Policarpe NOLLA, Dr Mazarin AKAMI, Dr Aymar Rodrigue FOGANG MBA, Dr Eric FOUELIFACK NZEKO, Dr Sylvie NGUIKWIE KWANGA épouse MEKONDANE, Dr Aimé Valère SOH OUMBE, Dr Moïse NTAH AYONG, Dr Arnaud Michel MBOCK, Dr Elysée ABOUDI et le Dr Jules MANZ KOULE, pour leurs enseignements et leur encadrement tout au long de ma formation académique ;

➤ Le Dr Fabrice Fabien DONGHO DONGMO pour son soutien, sa disponibilité dans l'élaboration de ce document de thèse ;

➤ Tous mes aînés académiques en particulier Joseph HAWADAK, Dr Merlin NCHOUTPOUEN NGAFON, Roméo FOBASSO TAGNIKEU, Dr Francis MOUNBAIN, Balbine ADANDE, Idriss NTATOU LEMOUCHELE, Apollin FOUFFOUO et Joël Styve TCHEUGOUE pour leur assistance, leur disponibilité et leurs conseils tout au long de ce travail ;

➤ Tous mes camarades de promotion de thèse en particulier Régine TUEM SOMON, Pascal TOBIT, Tanguy Armand NGANGUE, Yves Olivier YOUASSI, Dr Davy Victor MOUSSANGO, Monique Liliane SEN, Fabrice TENGNA YONKEU, Cédric Laurel CIDJEU, Frank Steve MONTHE, Franklin Redon NGOUSSEU, Francine Pamela KAMSU, Noel ETAGA et Patience EMAMBO pour leur fraternité ;

➤ Tous les cadets académiques particulièrement Rodolphe DJESSISSEM, Jean-Antoine TSALA MESSI, Charlotte Laurelle NGO MALANG, Ines CHIEGUEN TCHIEGUEN, Cynthia Valère KAYO TAYOU, Henri Tibo AMBATA AMBATA, Joël William NANDAH KAMASSOP, Kevine FANDIO MOUBE, Raïssa MAGNI PAFEUT, Distelle EMANI, Alvine Joëlle SIMO, Lolita Kafelle NGO'O PANYERE, Alvine Dorgelette GAMGO et Lucinda MAFFO MOMO NGUENA ;

➤ Mr. Simon NYOBE et Mr. Rodrigue KAYO pour leur aide dans l'obtention des champignons.

Je remercie ma camarade de promotion de Master Emilie Danielle MBOCK épouse NGAMENI et son mari Mr Pierre NGAMENI pour leurs encouragements.

Je remercie le Laboratoire :

➤ De Biochimie de l'Université de Douala pour le plateau technique ;

- De Chimie, de Biologie Animale et de Biologie Végétale de l'Université de Douala pour la collaboration lors de la phase pratique de ce travail ;
- LABPMAN de l'Université de Dschang pour le dosage des macronutriments ;
- Des Sciences du sol et de la terre de la FASA de l'Université de Dschang pour le dosage des minéraux.

Je tiens également à remercier certaines personnes dont sans leur affection, leur soutien moral et financier je n'aurais pas pu arriver en thèse et donc ce travail de thèse n'aurait jamais pu être achevé.

Je remercie ainsi mon feu papa Vincent de Paul MBARGA MESSI qui a toujours voulu que je fasse de bonnes études, sans son soutien initial je ne serais jamais arrivée à ce niveau ; repose en paix papa.

Je remercie toutes mes sœurs Bénédicte Aimée AMOUGOU MACKENZIE, Geneviève ASSOMO OWONA, Suzanne Angeline OMGBA, Nathalie Charlotte MBARGA NGONO, Marie Esther ATSAMA, Pauline Lyse ASSOMO MBARGA et feu Béatrice Valérie ABOMO MBARGA, pour tout leur amour depuis ma petite enfance.

Je remercie également tous mes frères Max Apollinaire NOAH MBARGA, Thomas Michel MVOGO et Michel Marie MBARGA NBINDZI pour leur soutien et leur encouragement ainsi qu'à feu Basile MBARGA MESSI qui du haut du ciel m'accompagne.

Je témoigne ma gratitude à Mr Pierre Rodrigue DON NZIMA d'avoir toujours été là pour me relever quand parfois je baissais les bras.

Je témoigne ma profonde gratitude à ma meilleure amie Fanny Estelle NANA NGUETANG qui a toujours cru en moi.

J'adresse mes remerciements à toute personne qui a eu à participer de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières

DEDICACE.....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	viii
REMERCIEMENTS	x
LISTE DES FIGURES.....	xix
LISTE DES PHOTOGRAPHIES.....	xxi
LISTE DES TABLEAUX.....	xxii
LISTE DES ANNEXES.....	xxiv
RESUME	xxv
ABSTRACT.....	xxvii
INTRODUCTION GENERALE.....	xxix
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I-1- Hyperglycémie.....	5
I-1-1- Généralités.....	5
I-1-1-1- Etiologie de l’hyperglycémie	5
I-1-1-2- Symptômes de l’hyperglycémie	5
I-1-1-3- Physiologie de l’hyperglycémie	5
I-1-1-4- Traitement de l’hyperglycémie	6
I-1-1-5- Complications de l’hyperglycémie : hyperglycémie chronique	7
I-1-2- Aspects physiologiques des thérapeutiques à propriétés hypoglycémiantes	13
I-1-2-1- Inhibiteurs des enzymes digestives	13
I-1-2-2- Anti-inflammatoires	18
I-1-2-3- Antioxydants	20
I-1-2-4- Apport des médicaments pharmaceutiques hypoglycémiantes dans le traitement de l’hyperglycémie voire hyperglycémie chronique	24
I-1-2-5- Aliments fonctionnels dans le traitement de l’hyperglycémie.....	29
I-2- Champignons comestibles	31
I-2-1- Généralités sur les champignons comestibles	31

I-2-2- Classification simple des carpophores	32
I-2-3- Cycle de reproduction des carpophores	33
I-2-4- Toxicité des champignons	33
I-2-4-1- Toxicité innée	33
I-2-4-2-Toxicité acquise	34
I-2-5- Champignons expérimentaux : les pleurotes (<i>Pleurotus pulmonarius</i> , <i>Pleurotus floridanus</i> et <i>Pleurotus sajor caju</i>).....	34
I-2-5-1- Généralités sur les pleurotes	34
I-2-5-2- Taxonomie des pleurotes	35
I-2-5-3- Caractéristiques biologiques des pleurotes	36
I-2-5-4- Caractéristiques nutritionnelles et propriétés médicinales des pleurotes.....	38
I-2-5-5- Travaux antérieurs déjà effectués sur les champignons pleurotes	39
CHAPITRE II : Activité ANTIOXYDANTE et effet inhibiteur sur les ENZYMES DIGESTIVES des extraits de CHAMPIGNONS MELANGÉS.....	41
II-1- Introduction partielle	42
II-2- Matériel et méthodes	42
II-2-1-Préparation du matériel expérimental fongique.....	42
II-2-1-1-Récolte et obtention des différentes poudres de champignons	42
II-2-1-2- Préparation.....	43
II-2-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés par les tests DPPH, FRAP et ABTS	44
II-2-2-1- Evaluation de l'activité.....	44
II-2-2-2- Activité réductrice du fer (FRAP)	45
II-2-3- Détermination de la teneur en polyphénols totaux par la méthode de Folin.	47
II-2-4- Evaluation de l'effet des extraits sur les principaux enzymes digestifs associés au métabolisme des glucides et des lipides (alpha amylase, alpha glucosidase et la lipase) ...	48
II-2-4-1- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha amylase pancréatique.....	48
II-2-4-2- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha glucosidase	49

II-2-4-3- Effet des extraits sur l'activité de la lipase pancréatique	51
II-2-5- Analyses statistiques	51
II-3- Résultats	52
II-3-1- Rendement d'extraction.	52
II-3-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés	52
II-3-2-1- Activité DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) antiradicalaire	52
II-3-2-2- Activité réductrice du fer (FRAP)	51
II-3-3- Teneur en composés phénoliques totaux par la méthode du Folin.	55
II-3-4- Evaluation de l'effet des extraits de champignons sur les enzymes digestives	56
II-3-4-1- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha amylase.....	56
II-3-4-2- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha glucosidase.	57
II-3-5- Corrélation entre les tests antioxydants - teneurs en composés phénoliques et l'inhibition des activités enzymatiques	61
II-4- Discussion	61
II-4-1- Rendement d'extraction et choix des solvants d'extractions	62
II-4-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés	63
II-4-3- Teneur en composés phénoliques totaux des extraits de champignons mélangés ...	64
II-4-4- Effet bénéfique premier des mélanges de champignons pleurotes	64
II-4-5- Evaluation de l'effet des extraits de champignons mélangés sur les enzymes digestives	65
II-5- Conclusion partielle.....	66
CHAPITRE III : SCREENING PHYTOCHIMIQUE QUALITATIF, TOXICITE ET ACTIVITES ANTIHYPERGLYCEMIANTE ET HYPOGLYCEMIANTE DES EXTRAITS AQUEUX ET HYDROETHANOLIQUES	68
III-1- Introduction partielle	69
III-2- Matériel et méthodes.....	69
III-2-1-Etudes <i>in vitro</i> : évaluation du screening phytochimique qualitatif des meilleurs extraits antioxydants et inhibiteurs du glucose	69
III-2-2-Etudes <i>in vivo</i>	70

III-2-2-1- Choix de l'animal	70
III-2-2-2- Evaluation de la toxicité des extraits aqueux et hydroéthanoliques	71
III-2-2-3- Evaluation de l'activité antihyperglycémique et hypoglycémique des extraits après surcharge orale en glucose des rats normaux.....	77
III-2-3- Analyses statistiques	79
III-3-Résultats.....	79
III-3-1- Etude <i>in vitro</i> : screening phytochimique qualitatif des extraits aqueux et hydroéthanoliques.....	79
III-3-2- Etudes <i>in vivo</i>	80
III-3-2-1- Résultats des paramètres de la toxicité des meilleurs extraits	80
III-3-2-2- Evaluation de l'activité antihyperglycémique des extraits	84
III-3-2-3- Evaluation de l'activité hypoglycémique des extraits.....	85
III-3-3- Corrélation entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et les tests hypoglycémique et antihyperglycémique	87
III-4- Discussion.....	87
III-4-1- Screening phytochimique qualitatif des extraits aqueux et hydroéthanoliques.....	88
III-4-2- Toxicité des extraits aqueux et hydroéthanoliques.....	89
III-4-3- Evaluation de l'activité antihyperglycémique des extraits aqueux et hydroéthanoliques.....	90
III-4-4- Effet bénéfique deuxième des mélanges de champignons pleurotes.....	91
III-4-5- Evaluation de l'activité hypoglycémique des extraits aqueux et hydroéthanoliques	91
III-5- Conclusion partielle	92
CHAPITRE IV : TENEUR EN NUTRIMENTS ET INFLUENCE DU MELANGE 3 SUR LES RATS SOUMIS A UN REGIME HYPERCALORIQUE (ALIMENTATION RICHE EN SUCRE ET EN GRAISSE).....	94
IV-1- Introduction partielle	95
IV-2- Matériel et méthodes.....	95

IV-2-1- Evaluation de la teneur en quelques nutriments du mélange 3 sous sa forme crue et cuite	95
IV-2-1-1- Teneur en eau et en matières sèches	95
IV-2-1-2- Teneur en lipides	96
IV-2-1-3- Teneur en protéines : dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl	97
IV-2-1-4- Teneur en cendre	98
IV-2-1-5- Teneur en glucides totaux	99
IV-2-1-6 - Teneur en fibres dans les glucides totaux	99
IV-2-1-7- Détermination de quelques minéraux dans les cendres : Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, k, Na et P	100
IV-2-2- Effet de la supplémentation journalière du meilleur mélange des champignons (mélange 3) sur les rats ayant une alimentation hypercalorique sur un mois.....	102
IV-2-2-1- Effet de la supplémentation sur le poids et la glycémie des rats soumis à un régime hypercalorique	102
IV-2-2-2- Effet de la supplémentation sur quelques paramètres biochimiques	103
IV-2-3-Analyses statistiques	112
IV-3-Résultats.....	112
IV-3-1- Rappel du choix du meilleur mélange de champignons pour la suite des travaux.	112
IV-3-2- Teneur en quelques nutriments du mélange 3 sous sa forme crue et cuite	113
IV-3-3- Effet de la supplémentation journalière du mélange 3 sur le poids des rats ayant une alimentation hypercalorique sur un mois	114
IV-3-4- Effet de la supplémentation journalière du mélange 3 sur la glycémie des rats soumis à un régime hypercalorique sur un mois	115
IV-3-5- Effet de la supplémentation sur quelques paramètres biochimiques des rats ayant reçu une alimentation hypercalorique.....	116
IV-3-5-1- Dosage de quelques marqueurs du profil lipidique.....	116
IV-3-5-2- Dosage de quelques marqueurs de la fonction rénale	119
IV-3-5-3- Dosage de quelques marqueurs du stress oxydant	121

IV-4-Discussion.....	124
IV-4-1- Choix de l'utilisation de la poudre et de l'extrait de champignons mélangés pour le test de supplémentation	125
IV-4-2- Teneur en quelques nutriments du mélange 3	125
IV-4-3- Effet de la supplémentation sur le poids des rats soumis à un régime hypercalorique	127
IV-4-4- Effet de la supplémentation sur la glycémie des rats soumis à un régime hypercalorique	128
IV-4-5- Effet de la supplémentation sur le profil lipidique des rats soumis à un régime hypercalorique	129
IV-4-6- Effet de la supplémentation sur quelques marqueurs de la fonction rénale des rats soumis à un régime hypercalorique	131
IV-4-7- Effet de la supplémentation sur quelques marqueurs du stress oxydant des rats soumis à un régime hypercalorique	133
IV-5- Conclusion partielle	135
CONCLUSION GENERALE, SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES.....	137
CONCLUSION GENERALE	138
SUGGESTIONS	139
PERSPECTIVES.....	139
REFERENCES.....	140
ANNEXES	164

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Différentes pistes de traitement de l'hyperglycémie	13
Figure 2 : Représentation du salacinol	14
Figure 3 : Représentation de la deoxynojirimycine	15
Figure 4 : Représentation de la castanospermine	15
Figure 5 : Représentation d'une molécule de Tris	16
Figure 6 : Représentation de l'acarbose	16
Figure 7 : Déséquilibre du statut pro/ antioxydant favorisant l'état de stress oxydant	20
Figure 8 : Différentes parties du champignon	32
Figure 9 : Classification simple des carpophores.....	32
Figure 10 : Cycle de reproduction des carpophores	33
Figure 11 : Différentes couleurs des champignons pleurotes	35
Figure 12: <i>Pleurotus pulmonarius</i>	37
Figure 13 : <i>Pleurotus floridanus</i>	37
Figure 14 : <i>Pleurotus Sajor caju</i>	38
Figure 15 : Champignons étudiés sous forme fraîche après récolte.....	43
Figure 16 : Réaction de piégeage des radicaux libres : test DPPH	44
Figure 17 : Génération du radical-cation ABTS ^{•+} avec le persulfate de potassium et sa réaction avec l'antioxydant	46
Figure 18 : Rendement d'extraction des différents extraits de champignons mélangés	52
Figure 19 : Paramètres biochimiques de toxicité chez les rates	83
Figure 20 : Evolution du poids au cours de la supplémentation journalière du mélange 3 sur les rats nourris à une alimentation riche en sucres et en graisses.....	114
Figure 21 : Evolution de la glycémie au cours de la supplémentation journalière du mélange 3 sur les rats nourris à une alimentation riche en sucres et en graisses.....	115
Figure 22 : Taux de cholestérol total chez les différents groupes de rats	116
Figure 23 : Taux de cholestérol LDL chez les différents groupes de rats.....	117
Figure 24 : Taux de cholestérol HDL chez les différents groupes de rats	118
Figure 25 : Taux de triglycérides chez les différents groupes de rats	119
Figure 26: Taux de créatinine chez les différents groupes de rats.	120
Figure 27: Taux d'urée chez les différents groupes de rats.....	120
Figure 28 : Taux de protéines chez les différents groupes de rats.	121

Figure 29 : Taux de TBARS chez les différents groupes de rats.	122
Figure 30 : Activité de la catalase chez les différents groupes de rats étudiés.....	123
Figure 31 : Activité de la SOD chez les différents groupes de rats étudiés	123

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1 : Rats albinos de souche <i>wistar</i>	71
Photographie 2 : Organes des rates à la fin de l'étude de toxicité aiguë	82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Obtention des différents mélanges et extraits de champignons mélangés	43
Tableau II : Expérimentation du protocole d'inhibition de l' α amylase	49
Tableau III : Concentration inhibitrice 50 (IC_{50}) (en mg/mL) des différents extraits de champignons mélangés pour le test de DPPH.....	50
Tableau IV : Concentration inhibitrice 50 (IC_{50}) (en mM) des différents extraits de champignons mélangés pour le test de FRAP	52
Tableau V : Concentration inhibitrice 50 (IC_{50}) (en mg/mL) des différents extraits de champignons mélangés pour le test ABTS	54
Tableau VI : Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits en mg EC/g de champignon	55
Tableau VII : Concentration inhibitrice 50 (en mg/ml) des extraits sur l'activité de l' α amylase.....	56
Tableau VIII : Concentration inhibitrice 50 (en mg/ml) des extraits sur l'activité de l' α glucosidase	58
Tableau IX : Concentration inhibitrice 50 (en mg/ml) des extraits sur l'activité de la lipase pancréatique	60
Tableau X : Corrélation entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et l'inhibition des activités enzymatiques	61
Tableau XI : Méthodologie de dosage des protéines plasmatiques.....	75
Tableau XII : Méthodologie de dosage de l'urée sérique	76
Tableau XIII : Répartition des animaux pour le test antihyperglycémique	77
Tableau XIV : Répartition des animaux pour le test hypoglycémique	78
Tableau XV : Screening phytochimique qualitatif.....	79
Tableau XVI : Variation de quelques signes de toxicité chez les différents groupes de rates .	79
Tableau XVII : Variation du poids des rates dans les différents lots durant les deux semaines d'observation de la toxicité des extraits	80
Tableau XVIII: Résultats de l'activité antihyperglycémique.....	85
Tableau XIX : Résultats de l'activité hypoglycémique.....	86
Tableau XX : Corrélation entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et les tests hypoglycémique et antihyperglycémique.....	87
Tableau XXI : Différents régimes alimentaires (exprimés en g/ 100 g de repas) :	103

Tableau XXII : Méthodologie de dosage du cholestérol total	104
Tableau XXIII : Méthodologie de dosage du cholestérol-HDL.....	105
Tableau XXIV : Méthodologie de dosage des triglycérides	106
Tableau XXV : Méthodologie de dosage de l'urée sérique	108
Tableau XXVI : Méthodologie de dosage des protéines totales plasmatiques	109
Tableau XXVII : Méthodologie de dosage de la SOD.....	110
Tableau XXVIII : Méthodologie de dosage de la catalase.....	111
Tableau XXIX : Choix du meilleur mélange de champignons	112
Tableau XXX : Teneur en nutriments pour 100g d'aliments sec du mélange 3 sous la forme crue et cuite	113

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Pourcentage d'inhibition des extraits de chaque mélange et du standard (vitamine C) en fonction de la concentration	a
Annexe 2 : Pouvoir réducteur du fer des extraits de chaque mélange et du standard (BHT) en fonction de la concentration.	a
Annexe 3 : Pourcentage d'inhibition des extraits de chaque mélange et du standard (la vitamine C) en fonction de la concentration.	b
Annexe 4 : Mode de cuisson des champignons pour l'étude du potentiel nutritionnel :	c
Annexe 5 : Présentation des substrats de champignons dans une myciculture à Yassa (dans la région du littoral) et récolte des champignons	c
Annexe 6 : Champignons étudiés après séchage.....	d
Annexe 7 : Macéras des différents extraits de champignons mélangés	d
Annexe 8 : Dissection du rat pour le test de toxicité.....	f

RESUME :

Contexte : L'hyperglycémie sévère est un réel problème de santé publique à l'origine du développement de nombreuses maladies métaboliques en occurrence du diabète de type 2, de l'obésité, de l'insuffisance rénale... pouvant conduire au décès du malade. Cependant, un bon contrôle de l'hyperglycémie permettrait de limiter un grand nombre de ces décès. Bien qu'il existe des pistes de traitements permettant de pallier à ces désordres métaboliques, ceux-ci présentent néanmoins des limites. D'où, notre intérêt pour des sources naturelles à l'instar des champignons pleurotes. En effet, dans le souci d'apporter notre contribution dans la lutte contre l'hyperglycémie, nous nous sommes proposé pour objectif de mélanger trois espèces de champignons pleurotes. Puis, d'étudier leurs capacités à prévenir ou à traiter l'hyperglycémie par différentes activités biologiques.

Méthodologie : Les champignons après récolte, séchage et broyage ont été mélangés à des proportions différentes afin d'obtenir des différents mélanges de champignons. Ces mélanges ont été chacun macérés dans quatre solvants différents : eau distillée, mélange eau/éthanol 1 : 1, éthanol et hexane afin d'obtenir des extraits de champignons mélangés. Ces extraits ont été ensuite soumis à des études *in vitro* telles que les tests antioxydants (DPPH, FRAP et ABTS), potentiel inhibiteur des extraits sur quelques enzymes digestives (alpha amylase, alpha glucosidase et lipase pancréatique) et à des études *In vivo*. Pour ce dernier il s'agissait des études sur la toxicité des extraits, des tests antihyperglycémique et hypoglycémique à court terme suivi de l'influence de la supplémentation du meilleur mélange sur les rats soumis à un régime hypercalorique.

Résultats : Comme résultats, nous avons obtenu 4 mélanges : M1, M2, M3 et M4 et 16 extraits. Quel que soit le type de mélange, les extraits aqueux suivis des extraits hydroéthanoliques avaient les meilleurs rendements d'extraction et les meilleurs potentiels antioxydants. Le mélange 3 (M3) étant le meilleur mélange de ces tests. Pour l'inhibition des enzymes digestives, les meilleurs extraits ont été les extraits aqueux avec le mélange 2 comme meilleur mélange. Pour ce qui est de la toxicité de ces extraits, aucun signe notable d'intoxication n'a été observé. Concernant le test antihyperglycémique, 30 mn après ingestion des extraits et du glucose, tous les groupes d'extraits ont présenté une glycémie inférieure à celle du témoin positif. Le meilleur extrait ayant limité l'augmentation de la glycémie postprandiale était l'extrait aqueux du mélange 3 (M3aq) où on a juste observé une augmentation de la glycémie de 0,3 g/L contre une augmentation significative de 0,62 g/L chez le témoin positif. S'agissant du test hypoglycémique, 120 mn après ingestion du glucose et des extraits, les extraits ont présenté une capacité à baisser la glycémie postprandiale

comparé au témoin positif. Les meilleurs extraits étant les extraits hydroéthanoliques des mélanges 1 et 3 (M1heth et M3heth) avec respectivement une baisse significative de la glycémie de 0,23 g/L et 0,22 g/L contre 0,07 g/L chez le groupe témoin positif. Le M3 étant le meilleur mélange de tous ces différents tests. En ce qui concerne la supplémentation journalière du M3 sur les rats soumis à une alimentation hypercalorique, les groupes de rats tests dont l'un était supplémenté journalièrement à l'extrait de M3 et l'autre à la poudre de M3 ont permis de limiter au mieux la prise de poids que le groupe de rats témoins positifs (TP) et le groupe de rats témoins négatifs (TN). De même, concernant la glycémie, le mélange 3 chez les groupes de rats tests a permis de stabiliser ou de baisser la glycémie contrairement au groupe de rats TP. Les mêmes tendances de résultats ont été observées sur l'évaluation des paramètres biochimiques où comparé au groupe TN, les groupes tests ont permis de réguler ces paramètres contrairement au groupe TP. Toutefois, on note que le groupe test supplémenté à l'extrait a mieux agi que le groupe test supplémenté à la poudre.

Conclusion : Au terme de ces travaux, nous pouvons dire que les mélanges de champignons pleurotes pourraient être une alternative dans la prévention et le traitement de l'hyperglycémie afin de prévenir de nombreuses maladies métaboliques à l'instar du diabète de type 2, de l'obésité, de l'insuffisance rénale...

Mots clés : Glycémie, mélange de champignons pleurotes, antioxydant.

ABSTRACT:

Background: Severe hyperglycemia is a real public health problem causing the development of numerous metabolic diseases including type 2 diabetes, obesity, renal failure, etc. which can lead to the death of the patient. However, good control of hyperglycemia would limit a large number of these deaths. Although there are treatment options to overcome these metabolic disorders, they nevertheless have limits. Hence our interest in natural sources like oyster mushrooms. Indeed, in order to make our contribution in the fight against hyperglycemia, we set ourselves the objective of mixing three species of oyster mushrooms. Then, to study their abilities to prevent or treat hyperglycemia through different biological activities.

Methodology: The mushrooms after harvesting, drying and grinding were mixed in different proportions in order to obtain different mixtures of mushrooms. These mixtures were each macerated in four different solvents: distilled water, 1:1 water/ethanol mixture, ethanol and hexane in order to obtain mixed mushroom extracts. These extracts were then subjected to in vitro studies such as antioxidant tests (DPPH, FRAP and ABTS), inhibitory potential of the extracts on some digestive enzymes (alpha amylase, alpha glucosidase and pancreatic lipase) and in vivo studies. For the latter these were studies on the toxicity of extracts, short-term antihyperglycemic and hypoglycemic tests followed by the influence of supplementation of the best mixture on rats subjected to a hypercaloric diet.

Results: We obtained 4 mixtures: M1, M2, M3 and M4 and 16 extracts. Regardless of the type of mixture, aqueous extracts followed by hydroethanolic extracts had the best extraction yields and the best antioxidant potentials. Mixture 3 (M3) being the best mixture in these tests. For inhibition of digestive enzymes, the best extracts were the aqueous extracts with blend 2 as the best blend. As for the toxicity of these extracts, no notable signs of intoxication were observed. Concerning the antihyperglycemic test, 30 minutes after ingestion of the extracts and glucose, all groups of extracts presented a lower blood sugar level than the positive control. The best extract having limited the increase in postprandial blood sugar was the aqueous extract of mixture 3 (M3aq) where we just observed an increase in blood sugar of 0.3 g/L compared to a significant increase of 0.62 g/L. L in the positive control. Regarding the hypoglycemic test, 120 minutes after ingestion of glucose and extracts, the extracts showed an ability to lower postprandial blood sugar compared to the positive control. The best extracts being the hydroethanolic extracts of mixtures 1 and 3 (M1heth and M3heth) with respectively a significant drop in blood sugar levels of 0.23 g/L and 0.22 g/L compared to 0.07 g/L in the control group. positive. The M3 being the best mix of all these different tests. Regarding the

daily supplementation of M3 on rats subjected to a hypercaloric diet, the groups of test rats, one of which was supplemented daily with M3 extract and the other with M3 powder, made it possible to limit the weight gain better than the group of positive control rats (TP) and the group of negative control rats (TN). Likewise, regarding blood sugar, mixture 3 in the groups of test rats made it possible to stabilize or lower blood sugar unlike the group of TP rats. The same trends of results were observed on the evaluation of biochemical parameters where compared to the TN group, the test groups made it possible to regulate these parameters unlike the TP group. However, we note that the test group supplemented with the extract acted better than the test group supplemented with the powder.

Conclusion: At the end of this work, we can say that mixtures of oyster mushrooms could be an alternative in the prevention and treatment of hyperglycemia in order to prevent many metabolic diseases such as type 2 diabetes, obesity, kidney failure...

Keywords: Blood sugar, oyster mushroom mixture, antioxidant.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'hyperglycémie se caractérise par un taux élevé de glucose sanguin à jeun et postprandial. Une hyperglycémie non traitée devient chronique et fait place à de nombreuses maladies métaboliques notamment le diabète. En effet, le diabète qui est la forme chronique de l'hyperglycémie résulte d'une sécrétion insuffisante d'insuline et/ou d'une diminution de son action (**OMS, 2015**). Il est présent dans le monde sous trois principales formes notamment : le diabète de type 1 qui est insulino-dépendant ou diabète infantile, le diabète de type 2 qui est non insulino-dépendant ou diabète adulte et le diabète gestationnel. Accessoirement il existe d'autres types de diabète rares à l'instar du diabète MODY, lipoatrophiques et autres (**Song et al., 2018**). Le diabète de type 2 est le plus répandu dans le monde et cause ainsi un problème de santé publique. C'est une maladie potentiellement mortelle qui ne cesse de prendre de l'ampleur (**Saeedi et al., 2019**). Prévenir l'hyperglycémie contribuerait ainsi à résoudre un grand problème dans le cadre de la santé.

En effet, d'après la **FID (2019)**, le diabète de type 2 est grandissant dans le monde. En 2000, on note que près de 151 millions d'adultes vivent avec le diabète, et en 2009, ce chiffre a augmenté pour une prévalence de 8,8 % soit 285 millions. En 2019, c'est près de 9,3 % des adultes âgés de 20 à 79 ans (soit 463 millions de personnes) qui vivent avec le diabète. Au regard de ces chiffres, la FID estime que 578 millions d'adultes dans le monde seront atteints du diabète d'ici 2030 et 700 millions d'ici 2045. Malheureusement, le diabète est de plus en plus grandissant et sa prévalence est en voie de déborder ces prévisions faites par la **FID (2019)**. En effet, en 2021, le diabète affecte déjà plus de 537 millions de personnes dans le monde (soit une prévalence de 10 %), ce qui fait une augmentation de 74 millions en 2 ans (**FID, 2021**). En Afrique, d'après la **FID (2021)**, environ 24 millions de personnes vivent avec le diabète. Ce continent devrait connaître la plus forte augmentation du nombre de cas de diabète dans le monde. La FID estime que le nombre d'africains souffrant de cette maladie devrait atteindre 55 millions d'ici 2045, soit une augmentation de 134 % par rapport aux données disponibles en 2021. D'après les études faites par la FID, l'Afrique est le continent comptant le plus grand nombre de personnes qui ne connaissent pas leur statut pour le diabète : on estime à 70 % le taux de personnes diabétiques qui ne savent pas qu'elles sont touchées par cette maladie (**FID, 2021**). Face à cette pandémie, le Cameroun en est aussi une victime. En effet, d'après les statistiques de l'OMS en 2016, le Cameroun a enregistré 2340 décès dû au diabète chez les adultes âgés de 30 à 69 ans et 2060 décès chez des adultes de plus de 70 ans, avec un pourcentage de 9,2 % d'adultes souffrant de diabète (**OMS, 2016**).

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine du déclenchement d'une hyperglycémie à savoir: l'urbanisation, une mauvaise alimentation, une prédisposition génétique, l'obésité, le stress oxydant, etc. Par ailleurs, il existe divers médicaments pharmaceutiques à propriétés hypoglycémiantes, antioxydantes, anti-inflammatoires, etc. capables de réguler ou de traiter cette hyperglycémie. Mais, le taux de décès dûs aux maladies métaboliques suite à une hyperglycémie qui ne cesse d'augmenter chaque année dans le monde laisse croire que ces médicaments pharmaceutiques présenteraient des limites. Ces limites pourraient être : le coût élevé, la présence des effets secondaires, la non accessibilité... (**Dey et al., 2002**). Il serait ainsi important d'étudier de nouvelles sources naturelles qui auraient peu ou pas d'effets secondaires à l'instar de la nutrithérapie qui est un traitement par les aliments fonctionnels (**OMS, 2013**).

Dans ce sens, les champignons comestibles contiennent de grandes quantités de mycochimiques qui possèdent des propriétés antioxydantes et jouent un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies chroniques (**Yashvant et al., 2012**). En effet, les travaux antérieurs réalisés par **Etoundi et al. (2017)** sur les champignons comestibles précisément le genre pleurote qui fait l'objet d'une myciculture au Cameroun ont montré que ces champignons pleurotes précisément *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus floridanus* présentaient des propriétés antiradicalaires et hypoglycémiantes. Ces propriétés permettraient de pallier à certains désordres métaboliques tels que l'hyperglycémie voire l'hyperglycémie chronique, l'obésité, les accidents cardiovasculaires qui sont des pathologies pouvant conduire à la mort du patient (**GBD, 2013**). Mais, la limite de ces travaux a été de constater que les propriétés bénéfiques de ces champignons ne s'observaient qu'à de fortes concentrations. Par ailleurs, une autre étude faite par **Kayo et al. (2019)** a montré qu'un mélange de trois espèces de champignons pleurotes à savoir *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju* à faible concentration avait des effets sur le stress oxydant induit sur les rats. Ainsi donc, dans le souci d'apporter une contribution dans la lutte contre l'hyperglycémie via l'utilisation optimale des champignons pleurotes, nous nous sommes proposés de mélanger ces trois espèces de champignons pleurotes à différentes proportions. Puis, d'étudier leurs capacités à prévenir ou à traiter l'hyperglycémie par différentes activités.

Ceci avait pour objectif général :

Objectif général : Evaluer les activités antioxydante, hypoglycémiante et antihyperglycémiante d'un mélange de trois champignons pleurotes et l'influence de sa supplémentation sur les rats soumis à un régime hypercalorique.

Pour ce faire, nous avons émis les hypothèses suivantes :

Hypothèse 1 : Les extraits de champignons mélangés auraient de fortes propriétés antioxydantes et un potentiel à inhiber quelques enzymes digestives.

Hypothèse 2 : Les meilleurs extraits de l'hypothèse 1 seraient riches en métabolites secondaires avec des capacités à prévenir et à traiter une hyperglycémie à court terme chez les rats.

Hypothèse 3 : Le meilleur mélange de champignons sous forme crue aurait une teneur en nutriments similaire à la forme cuite avec des capacités à réguler le contrôle pondéral, glycémique et les paramètres biochimiques des rats soumis à une diète hypercalorique (alimentation riche en sucre et en graisse).

De ces hypothèses en découlent les objectifs spécifiques suivants :

Objectif spécifique 1 : Etudier l'activité antioxydante des extraits aqueux, éthanoliques, hydroéthanoliques et hexaniques des champignons mélangés ainsi que l'effet inhibiteur de ces extraits sur les enzymes digestives.

Objectif spécifique 2 : Déterminer le profil phytochimique qualitatif, la toxicité et les activités antihyperglycémiante et hypoglycémiante à court terme des meilleurs extraits de l'objectif spécifique 1 sur des rats normaux.

Objectif spécifique 3 : Déterminer la teneur en nutriments du meilleur mélange et l'influence de sa supplémentation sous forme d'extrait et de poudre sur les rats soumis à un régime hypercalorique sur une durée d'un mois.

Cette thèse est structurée en quatre chapitres encadrés par une introduction générale et une conclusion générale suivie des suggestions et perspectives. Le chapitre I présente la synthèse bibliographique, les chapitres II, III et IV visent à répondre aux objectifs spécifiques : Ils sont structurés en introduction partielle, méthodologie, résultats, discussion et conclusion partielle.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I-1- Hyperglycémie:

I-1-1- Généralités

L'hyperglycémie est un excès de sucre dans le sang caractérisé par une glycémie supérieure à 7 mmol/L à jeun et/ou 11,1 mmol/L 2h après un repas. Les symptômes apparaissent en général dès que la glycémie dépasse 12 mmol/L. L'hyperglycémie se produit lorsque la quantité d'insuline dans le sang est insuffisante ou inefficace. Le glucose (sucre) ne pouvant entrer dans les cellules par manque d'insuline, s'accumule dans le sang et fait monter la glycémie (**Villegas-Valverde et al., 2018**). L'hyperglycémie peut s'observer autant chez les patients diabétiques que chez les non diabétiques.

I-1-1-1- Etiologie de l'hyperglycémie :

Les causes de l'hyperglycémie sont multiples mais les principales sont entre-autres :

- Une alimentation riche en glucides,
- Une diminution de l'activité physique,
- Une insuffisance d'insuline et/ou de médicaments antidiabétiques (erreur de dosage ou oubli d'une dose),
- Un stress physique (maladie, chirurgie, infection, etc.) ou psychologique (deuil, nouvel emploi, déménagement, etc.),
- La prise de certains médicaments (ex.: la cortisone). (**Imran et al., 2018**).

I-1-1-2- Symptômes de l'hyperglycémie :

Chez certaines personnes, l'hyperglycémie peut passer inaperçue. Cependant, au-delà d'un certain seuil, une glycémie trop élevée peut conduire à l'apparition des symptômes suivants :

- Fatigue,
- Urines abondantes,
- Soif intense,
- Faim exagérée,
- Perte de poids involontaire,
- Irritabilité,
- Etourdissements etc. (**Geoffroy et Gonthier, 2012**).

I-1-1-3- Physiologie de l'hyperglycémie :

L'hyperglycémie résulte d'une carence aiguë en insuline qui peut être absolue (arrêt d'un traitement par insuline chez un patient diabétique de type 1 par exemple) ou relative en

regard d'une augmentation des besoins insuliniques lors d'un stress physiologique générateur d'hormones de contre-régulation (cortisol, glucagon, catécholamines) **(Wellen et Hotamisligil, 2005)**. L'hyperglycémie résulte alors de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse induites, ainsi que du défaut d'utilisation périphérique du glucose. La principale conséquence de l'hyperglycémie est l'hyperosmolarité du secteur extracellulaire induisant une diffusion d'eau et donc une déshydratation intracellulaire **(Simon et Wittmann, 2019)**. Lorsque la concentration de glucose filtré au niveau glomérulaire dépasse les capacités de réabsorption tubulaire, il apparaît une glycosurie et une perte urinaire d'eau et d'électrolytes. L'ensemble aboutit à une déshydratation globale intra- et extracellulaire et à une perte d'électrolytes (sodium, potassium, phosphore, magnésium). La déshydratation, lorsque le stimulus de soif est fonctionnel et que le patient a accès à l'eau, induit une augmentation des apports hydriques : c'est le syndrome polyuro-polydipsique. Dans la mesure où les apports hydriques sont généralement pauvres en sodium, ils limitent essentiellement la déshydratation intracellulaire **(Ingels et al., 2006)**.

A l'hyperglycémie, s'ajoute en cas de déséquilibre hormonal majeur (observé par exemple dans les carences absolues en insuline), une augmentation de la lipolyse libérant des acides gras, secondairement oxydés en corps cétoniques au niveau hépatique. Les corps cétoniques sont des acides faibles. Leur accumulation plasmatique (cétonémie), après épuisement des capacités d'élimination urinaire (cétonurie) induit une acidose **(Ling et al., 2005)**.

En résumé, la principale conséquence de l'hyperglycémie aiguë est la déshydratation. En cas de carence majeure en insuline s'ajoute une acidose par accumulation de corps cétoniques. Selon la durée d'évolution de la glycosurie et sa compensation par des apports hydriques exogènes (conditionnant la déshydratation et l'hyperosmolarité) et le degré de carence insulinique (conditionnant la cétonogénèse), divers tableaux cliniques intermédiaires entre les formes typiques isolées de l'état hyperglycémique hyperosmolaire et de l'acidocétose peuvent s'observer **(Simon et Wittmann, 2019)**.

I-1-1-4- Traitement de l'hyperglycémie :

Les objectifs et stratégies de traitement doivent être individualisés. Ils visent l'élimination des symptômes d'hyperglycémie et la réduction des complications à long terme **(Yari et al., 2020)**. Chez les personnes chez qui le diabète de type 1 est soupçonné, les tests de confirmation ne doivent pas retarder le début du traitement pour éviter une détérioration rapide **(Shakya, 2020)**. En présence de symptômes d'hyperglycémie, le patient doit prendre les mesures suivantes :

- Mesurer sa glycémie plus fréquemment ;
- Boire régulièrement de l'eau pour prévenir la déshydratation ;
- Ajuster l'insuline selon la prescription médicale ;
- Identifier la cause de l'hyperglycémie et prendre les mesures appropriées, si possible ;
- Pour la personne diabétique de type 1 : si la glycémie est supérieure à 14 mmol/L, vérifier la présence de corps cétoniques dans l'urine ou dans le sang (**Imran et al., 2018**).

I-1-1-5- Complications de l'hyperglycémie : hyperglycémie chronique

L'hyperglycémie mal contrôlée peut entraîner les complications suivantes (**Hammer et al., 2019**):

- Infections ;
- Guérison lente des plaies ;
- Allongement du séjour hospitalier ;
- Complications microvasculaires (néphropathie, rétinopathie, neuropathie) et macrovasculaires (coronaropathies, cardiomyopathies, arythmies, maladie artérielle périphérique et maladies cérébrovasculaires)...

En effet, l'hyperglycémie mal traitée peut devenir chronique et entraîner des maladies telles que le diabète, l'obésité, la perte de vision, l'insuffisance rénale, la dyslipidémie, les maladies cardiovasculaires, l'amputation d'un membre inférieur...

I-1-1-5-1- Diabète : Généralités

Le diabète est une hyperglycémie chronique qui survient lorsque l'organisme est incapable de produire suffisamment d'insuline ou d'utiliser l'insuline de manière efficace (**Buse, 2006**). L'insuline est une hormone fabriquée dans le pancréas, qui permet au glucose contenu dans les aliments de pénétrer dans les cellules de l'organisme, où il est transformé en énergie nécessaire au bon fonctionnement des muscles et des tissus. Chez une personne atteinte de diabète, le glucose n'est pas absorbé correctement et continue de circuler dans le sang (un trouble connu sous le nom d'hyperglycémie), endommageant ainsi peu à peu les tissus. Ces dommages peuvent entraîner des complications invalidantes mettant la vie de la personne en danger. Le diabète est actuellement défini par deux glycémies à jeun supérieures à 1,26 g/l soit 7 mM (**André et al., 2001**). Ce chiffre a été retenu par le corps médical parce que c'est à partir de cette valeur seuil qu'apparaît le risque de survenue de complications microvasculaires, et en particulier la rétinopathie (**André et al., 2001**).

L'insuline est en effet la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme ; elle est produite par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (**Girardin, 2007**). L'insuline stimule l'absorption du glucose sanguin par les tissus dits insulino-dépendants (foie, muscles squelettiques et tissu adipeux) et assure le stockage du glucose sous forme de glycogène. De plus, elle inhibe les voies de production hépatique de glucose (néoglucogenèse et glycogénolyse). Elle intervient enfin dans la régulation du métabolisme lipidique en inhibant la lipolyse des triglycérides adipocytaires et en facilitant leur synthèse, ainsi que celle des protéines dans le foie et le tissu adipeux (**Girardin, 2007**). Dans les tissus non insulino-dépendants comme le cerveau ou la rétine, l'absorption et le métabolisme glucidique sont au contraire proportionnels à la concentration sanguine en glucose et sont donc plus élevés au cours du diabète.

Il existe deux principales formes cliniques de diabète correspondant à deux mécanismes pathogéniques différents : le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 et le diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2.

I-1-1-5-1-1- Principaux types de diabète

I-1-1-5-1-1-1- Diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète sucré de type 1

Le diabète de type 1 (DT1), représente environ 10 % des cas de diabète dans le monde (**Peter-Riesch et al., 2002**). Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte. C'est pourquoi il est encore appelé « diabète juvénile ». Les symptômes classiques les plus manifestés sont une sécrétion excessive d'urines (polyurie), une sensation de soif (polydipsie) ainsi qu'une perte de poids (**André et al., 2001**).

C'est une maladie auto-immune conduisant à une destruction sélective et progressive des cellules β pancréatiques, productrices de l'insuline (**Boitard, 2002 ; Thivolet, 2002**). Le processus auto-immun des cellules β débute plusieurs années (5 à 10 ans voir plus) avant le début du diabète. L'évaluation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90 des cellules β (**André et al., 2001**).

Cette destruction résulte de la production d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes des cellules β (**Boitard, 2002**). Elle semble apparaître chez des sujets génétiquement prédisposés, c'est-à-dire possédant des gènes de susceptibilité liés au système HLA mais le processus auto-immun serait déclenché par un facteur environnemental encore mal connu (**Boitard, 2002**). Il pourrait correspondre à une infection virale (**Horwitz, 2002**). Ce processus de destruction entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique permanente.

Le pancréas étant incapable de produire l'insuline, la survie de ces malades dépend entièrement d'injection quotidienne de cette hormone, d'où son nom de diabète insulino-dépendant. Son traitement est associé à un régime alimentaire en glucose finement contrôlé (**André et al., 2001**).

I-1-1-5-1-1-2- Diabète non insulino-dépendant (DNID) ou diabète sucré de type 2

Le diabète de Type 2 (DT2) est de loin la forme de la maladie la plus fréquente puisqu'elle présente 90% des cas dans le monde (**Buse, 2006**). Le diabète de type 2 est également appelé « diabète mature » car il survient le plus souvent chez l'adulte, autour de la cinquantaine, sa prévalence augmente avec l'âge (**Peter-Riesch et al., 2002**). Les sujets atteints sont généralement en surcharge pondérale. L'installation de la maladie est en effet insidieuse et les symptômes sont souvent moins marqués que dans le diabète de type 1 pouvant même être inexistants au début (**Girardin et Schwitzgebel, 2007**).

Les causes initiales de ce diabète sont mal connues et certainement multiples : les facteurs génétiques et environnementaux agissant de concert (**Almind et al., 2002 ; Féry et Paquot, 2005**). L'obésité favorise l'insulino-résistance et ainsi l'apparition du diabète qui est d'ailleurs la complication la plus répandue de l'obésité (**Féry et Paquot, 2005 ; Samaan et al., 2008**). Dans la plupart des pays, l'augmentation du nombre de personnes diabétiques résulte de changements sociaux, tels que la sédentarisation, la baisse d'activité physique, et une alimentation déséquilibrée particulièrement riche en graisses et en sucres raffinés...etc. (**Peter-Riesch et al., 2002**).

Le traitement de ces malades passe tout d'abord par une réduction de charge pondérale grâce à un régime alimentaire approprié et un exercice physique accru. Il peut être associé à la prise d'antidiabétiques oraux (**Peter-Riesch et al., 2002**).

I-1-1-5-1-2- Complications liées au diabète

Malgré le développement des molécules normalisant la glycémie et l'amélioration de schémas thérapeutiques, le diabète reste soumis à une surmorbidity et à une surmortalité liées essentiellement à des atteintes dégénératives tissulaires notamment au niveau des nerfs, des reins, de la rétine et du cœur. Le diabète sucré induit fréquemment l'apparition des complications aiguës ou chroniques (**Jakuš et Rietbrock, 2004**). Les principales complications diabétiques aiguës sont un coma causé soit par une hyperglycémie (acido-cétose) soit par une hypoglycémie due par exemple à une prise trop importante d'un médicament hypoglycémiant.

Dans pratiquement tous les pays à revenu élevé, le diabète est l'une des premières causes de maladies cardiovasculaires, de cécité, d'insuffisance rénale et d'amputation des membres inférieurs. Par ailleurs, dans les pays à faible et moyen revenu, l'augmentation de la prévalence du diabète de type 2 se double d'une multiplication de l'impact de ces complications coûteuses. Le maintien de la glycémie, de la tension artérielle et du cholestérol à un niveau proche de la normale peut contribuer à retarder ou à prévenir les complications du diabète. Les personnes atteintes de diabète doivent faire l'objet d'un dépistage régulier des complications (**Jakuš et Rietbrock, 2004**).

I-1-1-5-1-3- Physiopathologie du diabète :

L'hyperglycémie des diabétiques de type 2 est la conséquence de deux grands mécanismes physiopathologiques. Le premier correspond à une diminution de la sensibilité tissulaire à l'action de l'insuline (insulino-résistance) touchant les tissus périphériques que sont le muscle, le tissu adipeux et le foie (**Féry et Paquot, 2005 ; Hoa, 2007**). Cette résistance découle d'une altération de la signalisation de l'insuline qui toucherait notamment le nombre de récepteurs à insuline et/ou leur affinité pour l'hormone et le nombre de transporteurs membranaires dépendants de l'insuline qui permettent l'entrée du glucose dans les cellules (**Féry et Paquot, 2005 ; Hoa, 2007**). Le deuxième phénomène consiste en une anomalie de l'insulino-sécrétion. La production de l'insuline est tout d'abord augmentée pour pallier son efficacité et l'hyperinsulinémie permet dans un premier temps de maintenir une glycémie normale (**Féry et Paquot, 2005**). Plus la maladie progresse et plus la sensibilité à l'insuline baisse (**Ferrannini et al., 2005**). L'hypersécrétion d'insuline ne suffit alors plus à compenser l'insulino-résistance ce qui se manifeste à la fois par une hyperinsulinémie et une hyperglycémie. Peu à peu, les cellules β deviennent moins sensibles au stimulus du glucose. De plus, leur nombre et leur masse diminuent à cause de la toxicité du glucose. La sécrétion d'insuline finit alors par diminuer et les diabétiques de type 2 deviennent à terme, comme les diabétiques de type 1, insulinopénique (**Guillausseau et Laloï-Michelin, 2003**). Avec cette baisse de l'insulino-sécrétion, l'hyperglycémie se fait plus sévère. Ces désordres du métabolisme glucidique sont associés à des troubles importants du métabolisme lipidique résultant à une dyslipidémie avec augmentation des triglycérides, d'acides gras libres, de LDL et une baisse du cholestérol HDL (**Vergès, 2007**).

I-1-1-5-2- Obésité : facteur de morbidité et de mortalité

D'une manière générale, l'obésité et le surpoids augmentent les risques de morbidité et de mortalité notamment par les maladies cardiovasculaires qui leurs sont associés (**Féry et**

Paquot, 2005). Selon une étude chez des adolescents obèses, portant sur une période de près de 55 années, un risque accru de morbidité et de mortalité par les maladies cardio-vasculaires ainsi que par la mort d'un cancer colorectal a été observé, indépendamment du poids à l'âge adulte (**Samaan et al., 2008**).

Plus l'obésité est développée à un âge précoce, plus le risque de morbidité qui lui est associé est élevé. Le fait d'être obèse durant l'enfance est un facteur prédictif de morbidité plus significatif qu'être obèse à l'âge adulte (**Must et Sarah, 2003**). Selon une autre étude réalisée sur une population d'adolescents, les individus en surpoids ont eu un risque de mortalité à l'âge adulte deux fois supérieur à celui de leurs homologues non obèses (**Must et Sarah, 2003**).

I-1-1-5-3- Perte de vision

La rétinopathie diabétique était responsable de 1,9 % des troubles visuels modérés ou graves dans le monde et de 2,6 % des cas de cécité en 2010 (**Bourne et al., 2013**). Des études indiquent que la prévalence de toutes les rétinopathies chez les diabétiques est de 35 % tandis que celle de la rétinopathie proliférative (qui menace la vision) est de 7 % (**Yau et al., 2012**). Les taux de rétinopathie sont cependant plus élevés : chez les diabétiques de type 1 ; les personnes atteintes d'hyperglycémie chronique depuis plus longtemps ; les populations caucasiennes (ou asiatiques) ; voire chez les personnes de statut socioéconomique inférieur (**Yau et al., 2012**).

I-1-1-5-4- Insuffisance rénale terminale

Les données totalisées de 54 pays montrent qu'au moins 80 % des cas d'insuffisance rénale terminale sont dus à l'hyperglycémie chronique, à l'hypertension ou à un ensemble des deux affections (**USRDS, 2014**). La proportion des cas d'insuffisance rénale terminale imputable au seuil diabète se situe entre 12 et 55 %. L'incidence de l'insuffisance rénale terminale est jusqu'à 10 fois plus élevée chez les adultes atteints d'hyperglycémie chronique que chez les adultes non diabétiques. La prévalence de l'insuffisance rénale terminale dépend fortement de l'accès à la dialyse et au traitement de suppléance rénale – très variable selon les pays (dans certains cas au sein d'un même pays).

I-1-1-5-5- Dyslipidémie

La dyslipidémie est une des principales complications métaboliques associées à l'obésité (**OMS, 2016**). Elle est caractérisée par une élévation des triglycérides (hypertriglycéridémie), une hypercholestérolémie totale, une baisse des lipoprotéines du

cholestérol à haute densité (HDL-cholestérol ou cholestérol utile) et une augmentation des lipoprotéines du cholestérol à faible densité (LDL-cholestérol) (**Vergès, 2007**).

Plusieurs études ont montré l'évidence accrue que l'obésité et la dyslipidémie chez les enfants et les adolescents est associée à un risque considérable pour la morbidité et la mortalité accrues due à l'athérosclérose à l'âge adulte (**Vergès, 2007 ; Féry et Paquot, 2005**).

I-1-1-5-6- Maladies cardiovasculaires

Les adultes atteints d'hyperglycémie chronique ont toujours eu un taux de maladies cardiovasculaires de deux à trois fois plus élevé que les adultes non diabétiques (**Sarwar et al., 2010**). Le risque cardiovasculaire augmente parallèlement à la hausse des taux de glycémie à jeun, même avant que soient atteints les seuils de diagnostic du diabète (**Singh et al., 2013**). Les quelques pays d'Amérique du nord, la Scandinavie et le Royaume-Uni de Grande Bretagne et d'Irlande du Nord qui ont étudié les tendances temporelles de l'incidence des maladies cardiovasculaires (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral ou mortalité par maladie cardiovasculaire) font état d'importantes réductions, ces 20 dernières années, chez les diabétiques de type 1 et de type 2 (**Singh et al., 2013**), toutefois moins importantes que la réduction dans la population non diabétique. Ce recul a été imputé à la baisse de la prévalence du tabagisme et à l'amélioration de la prise en charge de l'hyperglycémie chronique et des facteurs de risque cardiovasculaire associés.

I-1-1-5-7- Amputations des membres inférieurs

L'hyperglycémie chronique semble accroître sensiblement le risque d'amputation des membres inférieurs lié à des ulcérations des pieds qui s'infectent et ne guérissent pas (**Moxey et al., 2011**). Les taux d'amputation dans les populations chez lesquelles une hyperglycémie chronique a été diagnostiquée sont généralement de 10 à 20 fois plus élevés que dans les populations non diabétiques. Et, cette dernière décennie, ils ont oscillé entre 1,5 et 3,5 cas pour 1000 personnes par an dans les populations chez lesquelles une hyperglycémie chronique avait été diagnostiquée. Il est encourageant de noter que, selon plusieurs études, une réduction de 40 à 60 % des taux d'amputation chez les adultes diabétiques au cours de ces 10 à 15 dernières années a été observée au Royaume-Uni, en Suède, au Danemark, en Espagne, aux Etats-Unis d'Amérique et en Australie (**Moxey et al., 2011, Grimaldi et al. 2009**). Il n'existe pas de données de ce type pour les pays à revenu faible ou intermédiaire.

I-1-2- Aspects physiologiques des thérapeutiques à propriétés hypoglycémiantes :

Que ce soit à titre préventif ou curatif, plusieurs modes de traitements peuvent être utilisés dans la lutte contre l'hyperglycémie voire l'hyperglycémie chronique (figure 1).

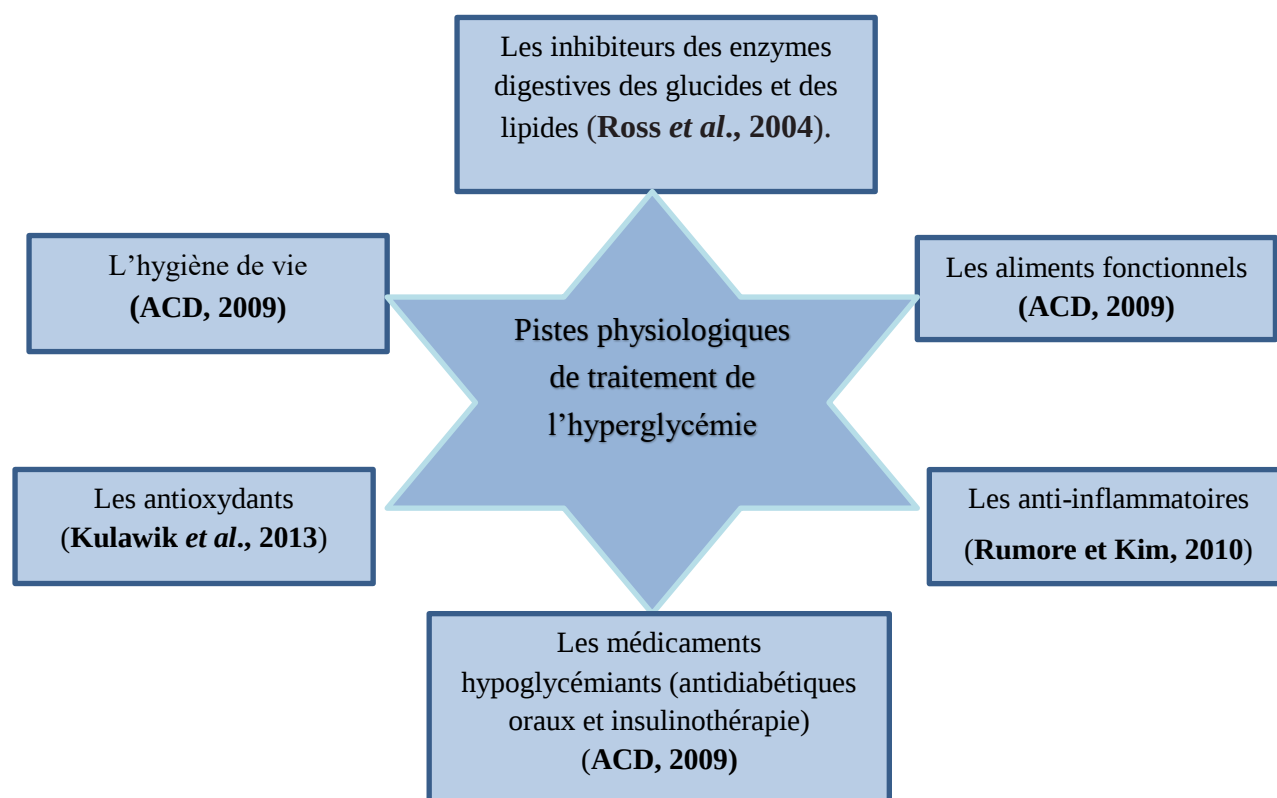


Figure 1 : Différentes pistes de traitement de l'hyperglycémie

I-1-2-1- Inhibiteurs des enzymes digestives :

Il existe plusieurs types d'enzymes intervenant dans la digestion des aliments ou dans le métabolisme des nutriments. Toutefois, l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase sont les plus impliqués dans l'hydrolyse des glucides et la lipase pancréatique est le plus impliqué dans la digestion des lipides (Quezada-Calvillo *et al.*, 2008).

I-1-2-1-1- Inhibiteurs de L' α -amylase et l' α -glucosidase :

L' α -amylase et l' α -glucosidase ont un rôle majeur dans l'hydrolyse et l'absorption des carbohydrates. L' α -amylase est une enzyme permettant la digestion de l'amidon. Il est généralement reconnu que les glucides sont digérés en oligosaccharides par l' α -amylase, puis en maltose par des enzymes sécrétées par le tube digestif. Le maltose est ensuite transformé en glucose par la maltase située dans la muqueuse de l'intestin grêle (Takahashi *et al.*, 2003). L'inhibition de l'activité de ces enzymes permet de retarder et de réduire l'absorption des

sucres alimentaires, ce qui empêche l'élévation excessive de la glycémie postprandiale. Par conséquent, le contrôle de la libération du glucose à partir de l'alimentation en utilisant un inhibiteur de l' α -amylase et de l' α -glucosidase par voie orale serait un traitement efficace chez les patients hyperglycémiant ou atteints de diabète sucré non insulino-dépendant (**Ross et al., 2004**).

Il existe différents types chimiques d'inhibiteurs pour les α -glucosidases et les α -amylases comme les thiosucres, les iminosucres et les carbasucres.

I-1-2-1-1-1- Thiosucres

Ces composés s'obtiennent par remplacement de l'atome d'oxygène cyclique par un atome de soufre (figure 2). Le salacinol qui est un composé naturel de cette famille, a été isolé de la plante *Salacia reticulata* et est traditionnellement utilisé en Inde et au Sri Lanka pour traiter le diabète (**Fujisawa et al., 2005**).

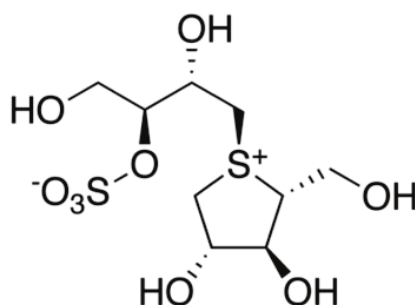


Figure 2 : Représentation du salacinol

I-1-2-1-1-2- Iminosucres

Les iminosucres, isolés de plantes ou de microorganismes, sont capables de mimer l'état de transition des substrats naturels des glycosidases. En effet, ils peuvent imiter la conformation et la charge de l'intermédiaire oxocarbenium (**Fujisawa et al., 2005**).

I-1-2-1-1-3- Déoxynojirimycine

Historiquement, le premier analogue du glucose découvert fut la nojirimycine en 1966. Cette molécule issue d'une souche de *Streptomyces sp* comprend un atome d'azote endocyclique à la place de l'atome d'oxygène pyranosique (**Zhou et al., 2009**). Toutefois, il s'agit d'un composé très instable du fait de la présence d'un groupement hydroxyle au niveau du carbone C-1 (**Zhou et al., 2009**) (figure 3). La synthèse d'un composé plus stable, dérivé de celui-ci, auquel manque cet hydroxyle a donc été réalisée par Paulsen et collaborateurs (**Shim et al., 2003**). Il s'avère que cette molécule appelée déoxynojirimycine est également

naturellement présente dans les racines de murier (**Forlié, 2011**). Un dérivé de cet inhibiteur, le miglitol est commercialisé comme antidiabétique.

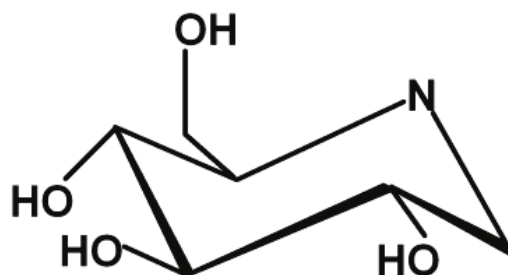


Figure 3 : Représentation de la deoxynojirimycine

I-1-2-1-1-4- Castanospermine

Cette molécule trouvée dans l'arbre *Castanospermum australe* consiste en la fusion de cycles pipéridine et pyrrolidine. Plus schématiquement, il s'agit d'un dérivé de la deoxynojirimycine associé à un cycle à 5 atomes avec l'atome d'azote en commun à la jonction (figure 4), et présentant des propriétés structurales et biologiques similaires. Cette structure engendre une certaine rigidité expliquant son activité anti-glucosidase (**Borges de Melo et al., 2006**).

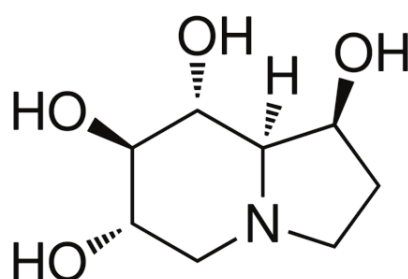


Figure 4 : Représentation de la castanospermine

I-1-2-1-1-5- Tris

Les molécules présentées jusqu'alors possédaient une structure relativement proche des substrats naturels des α -glucosidases avec certaines modifications chimiques leur conférant leurs propriétés inhibitrices. Le Tris (Tris (hydroxyméthyl) aminométhane) est un exemple radicalement différent d'inhibiteur. Il a été rapporté à plusieurs reprises que ce composé inhibait de façon compétitive des α -glucosidases (**Bravo-Torres et al., 2004 ; Kitamura et al., 2008**) (figure 5).

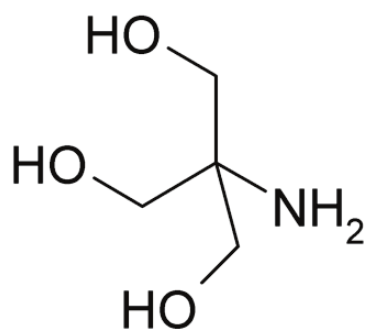


Figure 5 : Représentation d'une molécule de Tris

I-1-2-1-1-6- Carbasucres

Il s'agit d'analogues de sucres dont l'oxygène intracyclique est remplacé par un atome de carbone ; l'exemple le plus connu étant l'acarbose. Il est possible de traiter des patients diabétiques avec ce composé qui peut être industriellement produit chez les actinomycètes (**Wehmeier et Piepersberg, 2004**). L'acarbose est un pseudotétrасaccharide dont l'acarviosine est lié à un maltose (**Forlié, 2011**) (figure 6). L'acarviosine est composée d'une unité de valiénamine (le carbasucre) lié à un didéoxyglucose par une liaison *N*-glycosidique qui mime la liaison *O*-glycosidique des substrats naturels. Il s'agit d'une molécule capable d'inhiber des α -glucosidases d'origines diverses : bactériennes (**Kitamura et al., 2008**) ou mammifères (**Sim et al., 2008**) par exemple.

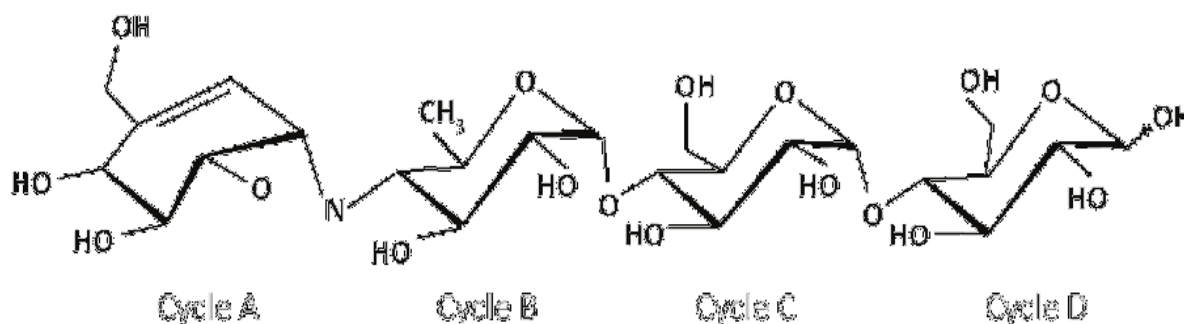


Figure 6 : Représentation de l'acarbose

L'inhibition des α -glucosides et α -amylase montre une stratégie importante pour contrôler la glycémie postprandiale. Mais, selon **Apostolidis et al. (2010)**, les médicaments de lutte contre le DT2, tel que l'acarbose qui est un inhibiteur de l' α -amylase, a plusieurs effets secondaires, en particulier des troubles digestifs, ballonnements, gaz, douleurs abdominales, diarrhées, nausées, etc. (**Dey et al., 2002**). Il a été suggéré que ces effets néfastes peuvent être

causés par l'inhibition excessive de l' α -amylase pancréatique aboutissant à la fermentation bactérienne anormale des hydrates de carbone non digérés dans le côlon.

Divers chercheurs focalisent ainsi leurs études sur les extraits des plantes contenant des inhibiteurs de l' α -glucosidase et l' α -amylase sans effets secondaires (**Ramírez et al., 2012**).

I-1-2-1-2- Inhibiteur de la lipase pancréatique :

La lipase pancréatique est l'enzyme responsable de la digestion de 50 à 70% des lipides provenant de la diète. La lipase est hydrosoluble et s'associe principalement à des molécules de triglycérides et d'acides gras (**Mendes et al., 2012**). Chez l'homme, les lipides de la diète sont solubilisés à l'aide des sels biliaires, formant des micelles de gras dans un solvant de nature hydrique. Cette formation permet à l'enzyme hydrophile de s'attaquer aux molécules lipidiques pour catalyser la réaction de lipolyse (**Mendes et al., 2012**). Une inhibition de cette enzyme résulterait donc au passage direct des molécules lipidiques de la diète (qui n'ont pas été hydrolysées par d'autres enzymes lipolytiques au cours de la digestion) vers l'excrétion. Une molécule de tétrahydrolipstatine (isolée de la bactérie *Streptomyces toxytricini*) a démontré une inhibition irréversible de la lipase pancréatique. Un des seuls médicaments pharmacologiques mis en marché pour le traitement de l'obésité à long terme se compose de cette molécule inhibitrice et se nomme commercialement OrlistatTM. Des études cliniques ont démontré qu'Orlistat diminue les taux lipidiques sanguins (LDL, HDL, VLDL, cholestérol et apolipoprotéines A et B), diminue les pressions sanguines systoliques et diastoliques, et favorise aussi la perte de poids corporel (**Padwal et Majumdar, 2007**). Par contre, puisqu'il s'agit d'une molécule unique à action ciblée, ce traitement entraîne également des effets secondaires indésirables. Les effets secondaires observés peuvent être des selles grasses ou huileuses, une urgence fécale et parfois une incontinence fécale. Les effets indésirables qui peuvent être de nature systémique sont minimes puisqu'il y a très peu d'absorption systémique d'Orlistat, et c'est pourquoi la plupart des effets secondaires indésirables se limitent au système gastro-intestinal (**Padwal et Majumdar, 2007**).

En 2014, l'OMS constate que plus de la moitié de la population mondiale était en surpoids ou obèse. Pour ces raisons, il stipula que la prévention du gain de poids ou la perte de poids chez les individus atteints de diabète de type 2 (DT2) devrait être la cible thérapeutique principale car le DT2, encore appelé diabète gras est dû à une accumulation d'énergie ou de masse grasse. En effet, chez un individu prédiabétique, une perte de poids de

1 kg correspondrait à une baisse de risque de développer le DT2 de 16% (**Franz et al., 2017**). D'où l'usage de l'orlistat qui est un tétrahydrolipstatine dont l'activité consiste à provoquer l'inhibition des lipases gastriques et pancréatiques (**Padwal et Majumdar, 2007**).

I-1-2-2- Anti-inflammatoires :

I-1-2-2-1- Salicylés

Les salicylés sont parmi les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens les plus utilisés. Le bénéfice des salicylés dans le traitement de l'hyperglycémie est déjà reconnu depuis longtemps et de nombreuses études pharmacologiques *in vitro* et *in vivo* ont démontré un effet bénéfique des salicylés sur le contrôle glycémique (**Rumore et Kim, 2010**). Parmi les salicylés on distingue le salicylate de sodium et l'acide acétylsalicylique (aspirine).

I-1-2-2-2- Agents anti-interleukine 1 :

De nombreuses études ont mis en évidence les effets cytotoxiques de l'interleukine 1 β (IL-1 β), une cytokine pro-inflammatoire, sur la production d'insuline par les cellules β du pancréas (**Maedler et al., 2011 ; Ehses et al., 2008 ; Carstensen et al., 2010**). En réponse à l'hyperglycémie chronique et aux acides gras libres, les îlots pancréatiques produiraient de l'IL-1 β , menant à une diminution de la prolifération des cellules β , à leur dysfonction, voire leur apoptose, et dès lors, à un déficit de sécrétion d'insuline (**Schroder et al., 2010**). De plus, la production d'IL-1 β par les macrophages des tissus sensibles à l'insuline mène à la progression de l'inflammation et l'induction d'une résistance à l'insuline dans l'obésité (**Maedler et al., 2011**). Par ailleurs, il a également été mis en évidence que l'expression de l'antagoniste naturel du récepteur de l'IL-1, un inhibiteur naturel compétitif de l'IL-1, est réduite dans les cellules β des patients atteints d'un DT2 et que son taux diminue déjà plusieurs années avant l'apparition de ce diabète (**Carstensen et al., 2010 ; Larsen et al., 2007**). Enfin, il a été rapporté récemment, dans une analyse post hoc de deux grandes études observationnelles, que le taux de l'antagoniste naturel du récepteur de l'IL-1 prédit la progression d'un syndrome métabolique vers un DT2 et qu'une variation génétique du polymorphisme du locus codant pour cet antagoniste naturel est associée au risque de développer un DT2 (**Luotola et al., 2011**).

Ainsi, l'antagoniste de l'IL-1 β pourrait représenter une nouvelle cible thérapeutique pour la préservation de la masse et de la fonction des cellules β du pancréas des patients atteints du DT2 et pour l'amélioration de leur sensibilité à l'insuline.

I-1-2-2-3- Agents anti-TNF α (*Tumor Necrosis Factor α*):

Le TNF α a été le premier des marqueurs de l'inflammation pour lequel une implication dans la pathogenèse de la résistance à l'insuline a été mise en évidence. De nombreuses données suggèrent que le TNF α est surexprimé dans le tissu adipeux et le muscle strié squelettique des sujets obèses avec une résistance à l'insuline et que la production cellulaire de TNF α et son taux plasmatique sont accrus dans l'obésité et le DT2 (Ursini *et al.*, 2010). Cette cytokine pro-inflammatoire détériore l'action de l'insuline dans les tissus sensibles, tels que le foie, le muscle strié squelettique et le tissu adipeux. Toutefois, même si des études ont montré que la neutralisation de l'activité du TNF α chez les rongeurs obèses améliore leur sensibilité à l'insuline cet effet reste controversé chez l'homme (Araujo *et al.*, 2007).

I-1-2-2-4- Agents anti-inflammatoires et antioxydants : le Succinobucol

Il est établi que le stress oxydatif joue également un rôle dans la pathogenèse du DT2 et il existe des relations étroites entre l'inflammation et le stress oxydatif. Le succinobucol est un dérivé du probucol doté de propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Une vaste étude randomisée, en double aveugle, avec un groupe contrôle placebo, a étudié les effets du succinobucol chez 6144 patients dans les suites d'un syndrome coronarien aigu (Shoelson *et al.*, 2006 ; Evans *et al.*, 2003). De façon intéressante, et ce malgré l'absence d'effet bénéfique au niveau cardiologique, elle a mis en évidence que le traitement par succinobucol à la dose journalière de 300 mg durant 24 mois en moyenne (de 12 à 36 mois) diminue le risque de développement d'un DT2 et améliore le contrôle glycémique des patients diabétiques connus. Néanmoins, le succinobucol augmente le taux de cholestérol LDL et la pression artérielle systolique, et diminue le taux de cholestérol HDL et ce, de façon significative ($p < 0,0001$ pour tous) (Tardif *et al.*, 2008). Cette étude est en accord avec d'autres réalisées chez l'animal ayant montré que le probucol prévenait le développement d'une hyperglycémie chronique en préservant la fonction des cellules β du pancréas (Gorogawa *et al.*, 2002).

Ainsi, le développement de dérivés du probucol et du succinobucol, qui sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, pourrait s'ajouter à l'arsenal des agents actuels utilisés dans le traitement et la prévention du DT2, à condition de trouver des molécules dépourvues d'effets métaboliques (lipidiques notamment) délétères (Stocker, 2009).

I-1-2-3- Antioxydants :

I-1-2-3-1- Définitions :

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses appelé antioxydants très efficaces contre la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) encore appelés radicaux libres. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Defraigne et Pincemail, 2008**). En d'autres termes, les antioxydants ont pour but d'inhiber les effets toxiques des ERO afin d'éviter l'apparition d'un stress oxydant.

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des ERO (figure 7), en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (**Favier, 2006**). Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques. Ces derniers s'observent au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique.



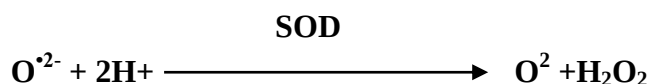
Figure 7 : Déséquilibre du statut pro/ antioxydant favorisant l'état de stress oxydant

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Delattre et al., 2005**). Parmi les antioxydants on distingue les antioxydants endogènes qui peuvent être enzymatiques ou pas et les antioxydants exogènes.

I-1-2-3-1-1- Système antioxydant enzymatique

I-1-2-3-1-1-1- Superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions peroxydes en oxygènes moléculaires et en peroxydes d'hydrogène qui sont des composés stables et moins toxiques (**Maneesh et Jayalekshmi, 2006**) selon la réaction suivante :

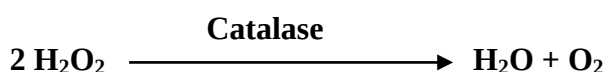


Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathions peroxydases.

I-1-2-3-1-1-2- Catalase

La catalase est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (**El-Mustafa et El-Tunibat, 2008**).

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Baudin, 2006**).

I-1-2-3-1-1-3- Glutathions peroxydases

Les GPx constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en leurs composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme co-substrats (**Salvayre et Salvayre, 2005 ; Baudin, 2006**). Il existe des GPx avec ou sans résidu sélénio-cystéine dans leur site actif mais les plus

courantes sont celles possédant une sélénio-cystéine. Jusqu'à présent 5 GPx sélénio-cystéine ont été identifiées GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 et GPx5 (**Maneesh et Jayalekshmi, 2006**).

L'ensemble des GPx sélénio-cystéine catalyse la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organiques en eau et en alcool lipidique respectivement, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG). Toutes ces enzymes contiennent dans leurs sous-unités un à quatre atomes de sélénium selon l'isoenzyme (**Delattre et al., 2005**).

I-1-2-3-1-2- Systèmes antioxydant endogène non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles: le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, les hormones sexuelles, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque et le coenzyme Q. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le $\cdot\text{NO}$ (**Fokou et al., 2008**).

I-1-2-3-1-3- Molécules antioxydantes exogènes

I-1-2-3-1-3-1- Vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et pyroxyles, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (**Delattre et al., 2005**).

I-1-2-3-1-3-2- Vitamine E

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' α -tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. Situé dans les lipoprotéines et dans les membranes, l' α -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$). Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former un radical tocophéryl (**Léger, 2006**).

I-1-2-3-1-3-3- β -carotène

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (**Wang et Mazza, 2002**).

I-1-2-3-1-3-4- Sélénium

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases séléno-dépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénoprotéines (**Burk, 2002**).

I-1-2-3-1-3-5- Zinc

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD. Cependant, au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (**Hu et al., 2008**):

- Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de Fenton.
- Le zinc protège les groupements thiols (-SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfures intramoléculaires.
- L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (**Delattre et al, 2005**).

I-1-2-3-1-3-6- Polyphénols

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont également capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Delattre et al, 2005**).

I-1-2-3-2- Apport des thérapeutiques antioxydants dans le traitement de l'hyperglycémie

Les antioxydants agissent en synergie et de façon à éviter un éventuel déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydants, il est souvent souhaitable de les administrer en association. Une supplémentation par la vitamine E permet d'améliorer les effets de l'insuline

et l'équilibre glycémique, ce qui se traduit par l'abaissement de la glycémie, de l'hémoglobine glyquée, et de la fructosamine (**Kulawik et al., 2013**) ; elle conduit également à une diminution de la peroxydation lipidique plasmatique et l'oxydabilité des LDL, ce qui serait favorable à la réduction du risque cardiovasculaire. Toutefois, les résultats des études cliniques utilisant une supplémentation par la vitamine E restent divergents, rapportant parfois une absence d'effet (**Jain et al., 2000**).

Un autre antioxydant, l'acide α -lipoïque, a montré un effet bénéfique sur la peroxydation lipidique et la glycation des protéines dans les hématies soumises à de fortes concentrations de glucose ainsi que dans le traitement de la neuropathie diabétique chez l'animal (**Kocak et al., 2000**). Par ailleurs, une étude clinique menée chez des sujets diabétiques de type 2 a montré que la N-acétylcystéine pourrait ralentir la progression des dommages vasculaires en diminuant les concentrations de VCAM-1 soluble au niveau plasmatique (**Tanaka et al., 2000**).

D'une façon générale, il est particulièrement difficile de tirer des conclusions claires à partir des études cliniques utilisant des supplémentations en antioxydants du fait de plusieurs facteurs : la diversité des populations de patients, la variabilité du contrôle glycémique, les variations concernant la dose et la forme des suppléments utilisés, la difficulté à évaluer l'apport alimentaire d'antioxydants et l'utilisation de différents marqueurs biochimiques pour rendre compte de l'efficacité de la supplémentation (**Jain et al., 2000**).

I-1-2-4- Apport des médicaments pharmaceutiques hypoglycémiants dans le traitement de l'hyperglycémie voire hyperglycémie chronique :

Lorsque le diabète (de type 2) est diagnostiqué suffisamment tôt, le contrôle de l'alimentation et des mesures d'hygiène de vie peuvent suffire à réduire la glycémie (taux de sucre dans le sang). Le diabète est souvent diagnostiqué tard, quand il n'est plus possible d'atteindre les objectifs glycémiques uniquement par une modification de l'alimentation, une augmentation de l'activité physique et d'autres modifications du mode de vie. La gestion de la maladie et l'atteinte des objectifs de glycémie exigent alors la prise de médicaments. Au départ, un médicament antidiabétique oral peut suffire à maintenir la glycémie dans des valeurs normales (monothérapie) (**ACD, 2009**). Quand la prise d'un seul médicament à dose maximale combinée avec une thérapie diététique ne suffit plus, il faut passer à la bithérapie, qui combine deux médicaments. Parfois, on préfère associer plus rapidement deux médicaments réduisant la glycémie, à la dose sous-maximale, afin de réduire les effets secondaires et de se rapprocher plus rapidement d'une valeur glycémique normale. Les

médicaments à disposition sont la metformine, les sulfamides, les glinides, les glitazones et les gliptines. Si la combinaison de deux médicaments ne permet pas d'atteindre l'objectif de baisse de la glycémie, il faut intensifier le traitement en ajoutant un troisième. Quand les médicaments oraux ne parviennent plus à réduire suffisamment le taux de sucre dans le sang, il convient de passer à un traitement à base d'insuline en monothérapie ou combinant l'insuline et un antidiabétique oral. Avec l'évolution de la maladie, l'augmentation de la dose d'insuline peut devenir nécessaire. Comme les personnes atteintes de l'hyperglycémie chronique vivent des situations très diverses au moment du diagnostic, il arrive que le traitement à l'insuline soit utilisé dès que la maladie est diagnostiquée. Lorsque le diagnostic intervient tardivement, des complications micro et macrovasculaires sont souvent présentes quand le patient découvre sa maladie (20 à 50 % des cas), complications qui nécessitent la prise de médicaments spécifiques (ACD, 2009).

I-1-2-4-1- Traitement par les médicaments pharmaceutiques hypoglycémiants :

I-1-2-4-1-1- Antidiabétiques oraux :

Ils ne sont utilisés qu'après échec ou insuffisance des mesures hygiéno-diététiques. La stratégie consiste en une monothérapie initiale adaptée au profil du patient qui, selon les résultats obtenus, sera progressivement majorée par une thérapie combinée. Actuellement, on retrouve cinq classes d'agents antidiabétiques oraux que l'on divise en deux groupes : les hypoglycémiants et les antihyperglycémiants (Levasseur, 2003).

I-1-2-4-1-1-1- Hypoglycémiants (qui augmentent la sécrétion de l'insuline)

Les hypoglycémiants se divisent en deux classes : les sulfonylurées et les analogues des méglitinides. Ces médicaments agissent en stimulant la libération d'insuline préformée par le pancréas. La production endogène d'insuline n'est pas augmentée, mais sa sécrétion est accélérée. Ce mécanisme permet de renverser la sécrétion insuffisante d'insuline associée au diabète de type 2, mais ne permet probablement pas de diminuer la résistance à l'insuline (Levasseur, 2003).

I-1-2-4-1-1-1-1- Sulfamides hypoglycémiants (SH ou Sulfonylurées)

L'activité hypoglycémiante de certains sulfamides a été mise en évidence en 1942. Le premier sulfamide hypoglycémiant est le Tulbutamide qui a été commercialisée en 1956. Les sulfonylurées sont les médicaments les plus utilisés pour le traitement du diabète de type II (Ducobu, 2003). Le récepteur aux sulfonylurées est une composante du canal ATP dépendant du potassium dans les cellules β du pancréas. La liaison des sulfonylurées conduit à

l'inhibition de ces canaux qui modifient le potentiel de repos de la cellule, induisant un influx de calcium et une stimulation de la sécrétion d'insuline. Mais ils peuvent agir aussi par des effets extra pancréatiques, en particulier en réduisant la libération hépatique du glucose et en diminuant la résistance à l'insuline. Les sulfonylurées sont donc uniquement utiles chez les patients qui ont encore une fonction résiduelle des cellules β (**Ducobu, 2003**). L'effet hypoglycémique des SH est rapide et efficace, et permet une diminution absolue de 1 à 1,5 % de HbA1c (**Girard, 2001**).

I-1-2-4-1-1-1-2- Analogues des méglitinides: répaglinide et natéglinide

Ce sont des médicaments hypoglycémiants, de très courte durée d'action et leur action réduit le risque hypoglycémique. Utilisés soit seuls, soit en combinaison, ils sont différents structurellement des sulfonylurées (**Ducobu, 2003**). Ils amènent à la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants en se fixant sur le même récepteur, mais dans un site de liaison distinct de celui des autres sulfamides. Ils se fixent avec une très grande affinité et se détachent très rapidement de leur liaison, ce qui explique qu'ils stimulent plus vite la sécrétion d'insuline pendant un temps plus court.

I-1-2-4-1-1-2- les antihyperglycémiants (Augmente la sensibilité à l'insuline) :

Contrairement aux hypoglycémiants qui diminuent la glycémie, les antihyperglycémiants exercent leur action antidiabétique en empêchant la glycémie d'augmenter sans toutefois la faire chuter (**Ross et al., 2004**).

I-1-2-4-1-1-2-1- Biguanides :

Les biguanides représentent une des classes pharmacologiques d'antidiabétiques oraux qui agissent en luttant contre l'insulino-résistance. La metformine (Glucophage®) est le seul biguanide qui est actuellement disponible. Les biguanides sont utilisés depuis les années 50. Contrairement aux sulfamides hypoglycémiants, les biguanides n'ont aucune action insulino-sécrétrice. Ils sont utilisés chez les DNID obèses et non obèses lorsque l'équilibre glycémique n'a pu être obtenu avec un régime bien suivi. C'est pour cela qu'ils peuvent être indiqués soit en première intention, ou après échec des sulfamides hypoglycémiants, ou en association avec ces derniers. Ils agissent principalement en augmentant l'action de l'insuline au niveau du foie et en diminuant ainsi la production hépatique de glucose (**Ducobu, 2003**). Ils sont contre indiqués en cas d'insuffisance rénale, même modérée (créatine plasmatique ≥ 15 mg/l), et chez les sujets très âgés à la fonction cardiaque ou hépatique altérée. En début de traitement, les biguanides sont associés, dans 15 à 20% des cas, à des troubles digestifs à type diarrhéique

dont le malade doit être prévenu ; habituellement, ces troubles disparaissent malgré la poursuite du traitement.

I-1-2-4-1-1-2-2- Thiazolidinedione ou glitazones:

Les glitazones sont des antidiabétiques oraux de la famille des Thiazolidinediones qui sont indiqués dans le traitement du diabète de type II. Ils ont été retirés du marché européen pour leurs effets secondaires graves et leur risque carcinogène (**Allain, 2008**). Ces médicaments agissent comme des insulinosensibilisateurs du tissu adipeux, musculaire et hépatique par son action agoniste des PPAR γ . (Peroxisomes Proliferator Activated Receptors). Ils Améliorent le fonctionnement des cellules β et augmentent l'utilisation périphérique du glucose, ils interviennent également dans :

- La diminution des triglycérides plasmatiques et de l'acide gras libre circulante, entraînant une augmentation du HDL cholestérol ;
- La diminution de la production hépatique de glucose (**Haslett et al., 2002**).

Ces médicaments présentent un mécanisme d'action : ils activent des récepteurs nucléaires qui sont les PPAR γ et diminuent ainsi la résistance tissulaire à l'insuline. Ils sont indiqués dans le diabète de type II en association avec la metformine ou un sulfamide hypoglycémiant (**Allain, 2008**).

I-1-2-4-1-2- Insulinothérapie :

Une insulinothérapie est fréquemment proposée chez le diabétique âgé de type 2 du fait des limites à l'utilisation des antidiabétiques oraux (**Tournant et al., 2004**).

I-1-2-4-2- Limite du traitement par les médicaments pharmaceutiques hypoglycémiants:

Les médicaments antidiabétiques causent généralement différents effets secondaires qui varient selon la classe et la génération du médicament, les sulfamides par exemple provoquent un état d'hypoglycémie (**Dey et al, 2002**). A cause de leurs effets secondaires très graves, certains Biguanides ont été éliminés du marché. La metformine, le biguanide le plus commercialisé dans le monde, n'est plus disponible aux Etats Unies car il provoque des états d'acidose lactique, fatigues, nausées ainsi qu'une toxicité rénale (**Dey et al., 2002**).

Similairement, tous les autres antidiabétiques oraux provoquent des effets secondaires néfastes pour le patient diabétique, ce qui complique le traitement et accroît la souffrance des malades (**Halimi, 2003 ; Fujisawa et al., 2005**). Pour diminuer ces maux des diabétiques, de nouvelles solutions font l'objet de recherches, à savoir : transplantation des îlots, l'insuline administrée par voie nasale ou à travers l'œil, les analogues de l'insuline pouvant être pris par voie orale et les agents bloquant les dommages de l'auto-immunité (**Barrou et al., 2004**).

En parallèle, toujours dans le but d'apporter de meilleures solutions dans les traitements par les médicaments, les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'usage des extraits et des poudres issues soit des plantes médicinales, soit des aliments fonctionnels qui peuvent être des sources alternatives de traitements par les médicaments (Schauemberg et al., 2005).

I-1-2-4-3- Autres types de traitements de l'hyperglycémie: traitement par les extraits et les poudres de plantes

I-1-2-4-3-1- Présentation des extraits et des poudres de plantes :

I-1-2-4-3-1-1- Présentation des extraits de plantes :

Un extrait végétal est une préparation naturelle à base de plantes. Le but d'un extrait végétal est d'extraire les oligo-éléments et les principes actifs de certaines plantes pouvant avoir un effet bénéfique sur les plantes et le sol du jardin. Les principes actifs d'une plante sont les composants présents dans cette plante qui lui confèrent des propriétés intéressantes au jardin (insecticides, fongicides, stimulatrices de compost ...). La concentration en principe actif peut varier très fortement selon le mode de préparation du produit utilisé. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faibles dans la plante, ils représentent seulement quelques pourcentages de son poids total (Lehmann, 2013 ; Limonier, 2018).

Le terme « extrait végétal » englobe quatre principaux types de préparations naturelles constituées d'extraits de plantes : les fermentations (purins), les macérations, les décoctions et les infusions. La principale différence entre les purins, les macérations, les infusions et les décoctions réside dans leur mode de préparation. Les purins et les macérations sont des préparations à froid tandis que les décoctions et les infusions nécessitent que la préparation soit portée à ébullition (Chabrier, 2010).

I-1-2-4-3-1-2- Présentation des poudres de plantes :

Entre les extraits, les comprimés/gélules et les ampoules, les poudres comptent parmi les formes galéniques des remèdes à base de plantes médicinales. Ces différentes formes de préparations ont toutes pour objectif d'extraire les molécules actives des végétaux et de les mettre à profit pour la personne qui les consomme. Les composants actifs des plantes étant très différents selon les espèces et leurs origines, certaines formes galéniques sont plus indiquées que d'autres pour certains végétaux. Les poudres de plantes médicinales disponibles chez les herboristes sont classifiées en différentes catégories, en fonction de leur granulométrie, mais aussi de leurs teneurs en composants actifs. La concentration des

substances actives dans les poudres de plantes médicinales permet à l'herboriste d'indiquer le dosage adéquat à respecter pour un remède utilisant la préparation en question (**Council, 2009 ; Chabrier, 2010**).

I-1-2-4-3-2- Extraits et poudres de plantes dans le traitement de l'hyperglycémie:

Plusieurs modes d'action des plantes médicinales ayant un effet sur l'hyperglycémie ont été rapportés suite à des études pharmacologiques. Les plantes médicinales préparées sous forme d'extraits ou de poudres peuvent être utilisées dans le traitement de l'hyperglycémie et peuvent agir par différents mécanismes :

- Elles peuvent avoir une action sur les enzymes hépatiques en stimulant la glycogénogenèse et/ou l'inhibition de la glycogénolyse (**Shim et al., 2003**).

- D'autres ont une action sur le pancréas par stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β et/ou induisent également la régénération de l'insuline par l'apport d'éléments nécessaires (Cu^{++} , Mg^{++} , Ca^{++}) au fonctionnement des cellules β ; Elles peuvent également assurer la revitalisation et/ou l'hyperplasie de ces cellules β (**Al-Achi, 2005**).

- D'autres encore agissent par inhibition des transporteurs du glucose au niveau de la barrière intestinale limitant ainsi l'absorption intestinale du glucose. Ou encore, elles peuvent agir par stimulation de la captation du glucose par les adipocytes ou les cellules musculaires ou par diminution de la sécrétion du glucagon en induisant une diminution de l'absorption intestinale du glucose et/ou une réduction de l'utilisation périphérique du glucose (**Dedola et al., 2010**).

I-1-2-5- Aliments fonctionnels dans le traitement de l'hyperglycémie :

Le concept de "produits fonctionnels" est né au Japon dans les années 1980. Ce sont des aliments qui ont été développés spécifiquement pour promouvoir la santé ou réduire les risques de maladies. Ils sont généralement considérés comme étant des aliments qui doivent être consommés dans le cadre d'une alimentation équilibrée, tout en apportant des molécules bioactives ayant un bénéfice sur la santé (**Salmerón 2017; Serafini et al., 2012**). Les produits fonctionnels pourraient ainsi être représentés par la phrase suivante, énoncée par Hippocrate (environ 460 - 377 av. J-C) "*Que ton aliment soit ton médicament, que ton médicament soit ta nourriture*". A l'origine, c'est un terme marketing qui se rapporte à une certaine synergie entre santé et régime alimentaire (**Serafini et al., 2012**).

Un aliment ne peut être considéré comme fonctionnel que si, associé à l'impact nutritionnel de base, il a des effets bénéfiques sur une ou plusieurs fonctions de l'organisme

humain, améliorant ainsi les conditions générales et physiques et/ou réduisant le risque d'évolution de maladies (**Prado et al. 2008**).

I-1-2-5-1- Choix des aliments :

Les aliments contiennent des éléments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme : des protéines, des lipides (graisses) et des glucides (sucres alimentaires). Le plus important est de limiter les aliments gras : huile, beurre, fromage, charcuteries, etc. afin de contrôler son poids. En effet, la surcharge pondérale est la principale cause de l'hyperglycémie chronique, sur un terrain déterminé. Si le poids monte, la glycémie monte, et perdre du poids en cas de surcharge permet d'améliorer, voire de corriger, les glycémies. Sur une journée, les aliments contenant des glucides ont une incidence directe sur la glycémie. Une consommation massive de glucides provoquera donc une hyperglycémie. De même l'absence de glucides au cours du repas peut provoquer un déséquilibre alimentaire, voire provoquer parfois une hypoglycémie si l'absence est prolongée (**ACD, 2009**). D'où, il est recommandé de consommer en moyenne 50-55% des glucides, 30-35% des lipides et 12-15% des protéines (**Volek et al., 2009**).

I-1-2-5-2- Aliments à index glycémique bas :

En 1981, Jenkins a développé le concept d'index glycémique, qui avait, en théorie, une application chez le patient diabétique : il permettait de nuancer l'élargissement de la ration glucidique grâce à la prise en compte de l'aspect qualitatif de l'apport en glucides. En effet, réduire la glycémie postprandiale dépend essentiellement de l'index glycémique des aliments, et peut-être plus précisément encore de la charge glycémique, c'est-à-dire du produit de l'index glycémique par l'apport glucidique. Un repas avec un index glycémique bas peut entraîner une glycémie postprandiale plus basse (**Salas-Salvadó et al., 2011**)

Toutefois, bien que les études montrant l'intérêt d'une alimentation avec un index glycémique bas pour la prévention du DT2 abondent, celles montrant son intérêt dans la prise en charge du DT2 sont peu nombreuses, surtout sur le long terme (**Sievenpiper et al., 2009**). Les effets des légumes secs ont cependant été étudiés dans une méta-analyse, et dans un mode alimentaire global, ainsi, le régime méditerranéen, qui a fait l'objet de plusieurs études a prouvé qu'il pouvait entraîner une baisse de l'HbA1c (**Itsipoulos et al., 2011**). Aussi, très récemment, l'étude *Melbourne Collaborative Cohort Study* a montré que l'alimentation méditerranéenne était associée à une réduction de la mortalité chez les sujets diabétiques (**Hodge et al., 2011**). On peut donc recommander certains aliments tels que les légumineuses, qui ont un index glycémique toujours bas, ainsi que les fruits, sans excès cependant. La

rétrogradation de l'amidon telle qu'elle est obtenue avec le refroidissement (ou la congélation du pain) diminue aussi l'index glycémique en augmentant l'amidon résistant (**Lecerf et al., 2008**): c'est le cas avec les pommes de terre, le riz, les pâtes cuites et refroidies pour une salade. Aussi, le vinaigre ralentit la vidange gastrique et donc l'index glycémique, ce que plusieurs études ont bien montré. Et enfin, malgré un index insulinémique élevé, les produits laitiers ont un index glycémique bas.

I-1-2-5-3- Apport des champignons comestibles dans le traitement de l'hyperglycémie :

Plusieurs études ont montré que les champignons comestibles avaient des propriétés dans le traitement de l'hyperglycémie chronique. En effet, des études récentes réalisées par **Khatun et al. (2007)** ont montré que les champignons *Pleurotus ostreatus* diminuent le cholestérol total, les triglycérides plasmatiques, le glucose et la pression artérielle chez les sujets diabétiques. Des chercheurs pensent que ces effets observés pourraient être dûs à la présence de la lovastatine (**Deepalakshmi et Mirunalini, 2014**). De plus, des études réalisées par **Etoundi et al (2017)** ont montré que les extraits de champignons de *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus floridanus* ont des propriétés hypoglycémiantes sur des rats dont on avait induit le diabète au moyen de la streptozotocine.

I-2- Champignons comestibles :

I-2-1- Généralités sur les champignons comestibles :

Les champignons ont longtemps été classés parmi les végétaux, ce qui n'est plus le cas aujourd'hui. Ils s'en différencient par plusieurs caractéristiques :

- Tout d'abord ils ne possèdent pas de chlorophylle, et par conséquent ne peuvent pas utiliser la lumière du soleil comme source d'énergie.
- La deuxième chose, qui est une conséquence de la première, c'est qu'ils doivent utiliser de la matière organique pour se nourrir (comme les animaux). Une plante, quant à elle, utilise de la matière minérale. Pour trouver cette matière organique les champignons sont le plus souvent des décomposeurs c'est-à-dire qu'ils se nourrissent de la matière en décomposition (litière forestière, aliments en décomposition) (**Essartier et Roux, 2011**).

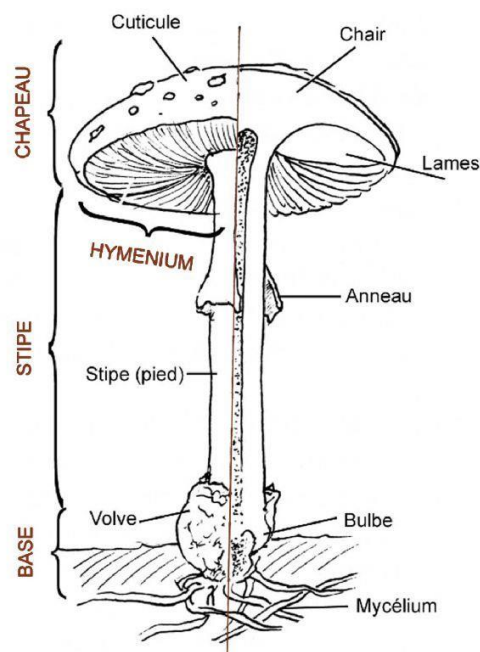


Figure 8 : Différentes parties du champignon (Courtecuisse et Duhem, 2011).

Le mot "champignon" est utilisé par les gastronomes car en réalité, ce que nous appelons communément champignon est en fait l'organe reproducteur : le fruit du champignon. Son vrai nom est : le carpophore ou sporophore. Le champignon proprement dit est un enchevêtrement de filaments microscopiques, très minces et souvent cachés. Il se nomme : le mycélium (Courtecuisse et Duhem, 2011) (figure 8).

Il y a plus ou moins 80 000 espèces différentes de champignons actuellement connues mais plus ou moins 10 000 seulement possèdent un carpophore ou sporophore visible.

I-2-2- Classification simple des carpophores :

En fonction du type de chapeau, on distingue quatre types de carpophores : les carpophores à chapeau bombé, mamelonné, conique et déprimé (figure 9).

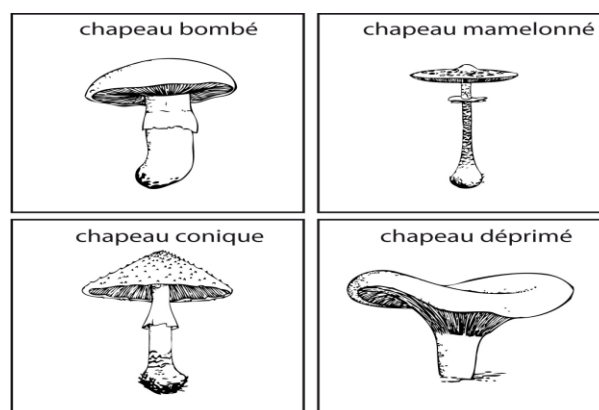


Figure 9 : Classification simple des carpophores (Courtecuisse et Duhem, 2011).

I-2-3- Cycle de reproduction des carpophores :

Lorsque les carpophores sont matures, des millions de spores sont emportées dans la nature par le vent. Certaines, mais celles-ci sont bien rares, tombent sur un substrat intéressant dans la nature, au moment opportun et dans des conditions de température et d'humidité idéales. Puis elles "germent" et un mycélium primaire se développe. Ensuite, toujours dans des conditions idéales de température et d'humidité, les mycéliums primaires issus de spores différentes se rencontrent et fusionnent pour donner un mycélium secondaire qui lui seul, peut donner naissance aux fructifications. Ces dernières prospèrent ensuite pour offrir de magnifiques champignons qui largueront leurs spores et le cycle reprendra (Vertil, 2012) (figure 10).

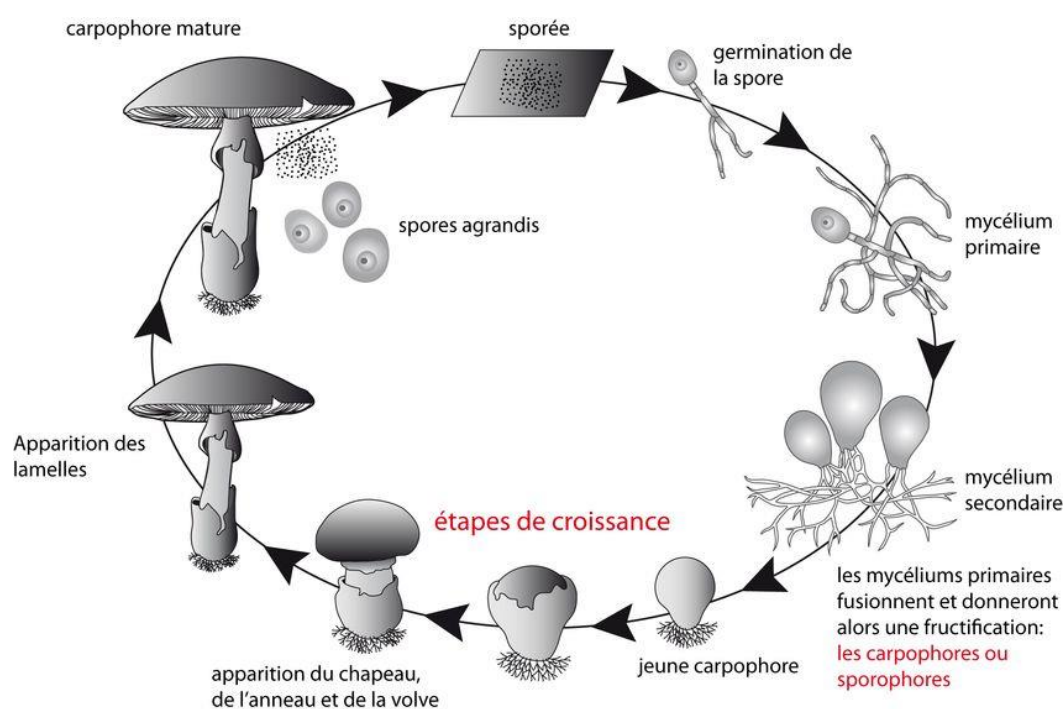


Figure 10 : Cycle de reproduction des carpophores (Courtecuisse et Duhem, 2011).

I-2-4- Toxicité des champignons :

Il faut savoir qu'il n'existe aucune recette miracle ni aucun test pratique qui permette de dire si un champignon est toxique ou comestible. Seule la reconnaissance de l'espèce à partir de caractères botaniques est valable. Aussi, améliorer ses connaissances au sujet des champignons et développer ses capacités à identifier les principales espèces comestibles et toxiques, c'est se prémunir contre les risques d'intoxication (Ninkwango, 2007).

I-2-4-1- Toxicité innée :

C'est la toxicité naturelle d'une espèce donnée, due aux substances nocives qu'elle contient. Il existe plusieurs syndromes et chacun doit être traité spécifiquement. D'une

manière générale, les intoxications à incubation courte (inférieure à 6 heures) ne sont habituellement pas mortelles. Elles demandent néanmoins un traitement approprié. Les intoxications à incubation longue (supérieure à 6 heures et jusqu'à plusieurs jours pour certaines espèces) indiquent un empoisonnement grave à l'issue souvent mortelle. Lorsque les premiers symptômes apparaissent, il est souvent trop tard car les toxines responsables ont déjà commencé leur travail de destruction d'organes essentiels tels le foie ou les reins. (Ninkwango, 2007).

I-2-4-2-Toxicité acquise :

Elle n'est pas due au champignon lui-même, mais aux produits toxiques que celui-ci est capable d'emmagasinier. Ainsi, un champignon parfaitement comestible peut être rendu nocif par une pollution par des pesticides et des radioéléments.

- Les métaux lourds sont extérieurs. Ils sont généralement captés par les champignons qui poussent aux abords des routes, des aéroports ou à proximité des zones industrielles et des usines polluantes.
- Les pesticides, mais aussi les engrais qui proviennent de l'agriculture sont une source de contamination importante. Ainsi, les agarics et autres lépiotes qui viennent habituellement dans les prés ou les champs de maïs peuvent être à l'origine de graves intoxications.
- Les radioéléments proviennent de sources diverses comme la catastrophe de Tchernobyl, les essais nucléaires, la radioactivité naturelle... (Ninkwango, 2007).

Parmi les 80000 espèces de champignons qui existent nous nous sommes attardés pour notre étude au genre *Pleurotus* précisément *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju* car en plus de faire l'objet d'une myciculture dans notre pays, elles peuvent être cultivées à toute période de l'année. Mais surtout, d'après la littérature, ce genre présente des propriétés intéressantes dans la lutte contre l'hyperglycémie chronique.

I-2-5- Champignons expérimentaux : les pleurotes (*Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju*)

I-2-5-1- Généralités sur les pleurotes :

Le champignon pleurote est généralement appelé le champignon d'huîtres parce que le pileus ou le capuchon est coquillage, spatulé et le stipe est excentrique ou latéral. Les espèces de pleurotes ont été utilisées comme aliments ou à des fins médicales depuis longtemps et jouent actuellement un rôle important en tant que champignon comestible commercial. Plus de 1000 espèces de champignons d'huîtres ont été décrites dans le monde entier, dans plus de 25 genres apparentés. Cependant, seulement environ 50 espèces valides sont reconnues dans

le genre *Pleurotus* (Guzman *et al.*, 2000). L'espèce *Pleurotus ostreatus* est l'une des espèces les plus connues, mais ils existent d'autres espèces couramment cultivées incluant : *P. sajor-caju*. (champignons d'huîtres gris ou champignon à queue de phoenix), *P. cystidiosus* (champignons d'ormeaux), *P. pulmonarius* (champignons d'huîtres blanches), *P. citrinopileatus* Sing. (champignons d'huîtres d'or), *P. flabellatus* (champignons d'huîtres roses) et *P. sapidus* (champignon noir d'huîtres) ...

Les pleurotes poussent naturellement et principalement dans les zones tempérées ou dans les saisons plus fraîches, dans les zones subtropicales sur des arbres en décomposition (Boa, 2006).



Figure 11 : Différentes couleurs des champignons pleurotes (Wurth, 2016).

I-2-5-2- Taxonomie des pleurotes

Règne	Fungi
Division	Basidiomycota
Classe	Agaricomycetes
Sous-classe	Agaricomycetidae
Ordre	Agaricales
Clade	Pluteoïde
Famille	Pleurotaceae
Genre	<i>Pleurotus</i>

Espèce *pulmonarius, floridanus, sajor-caju, ostreatus, eryngii* ... (Wanga, 2002).

I-2-5-3- Caractéristiques biologiques des pleurotes

I-2-5-3-1- Morphologie des pleurotes en général

Les champignons pleurotes encore appelés champignons d’huîtres sont doux et sont colorés de diverses manières (Figure 11) : le gris, le bleu foncé, le blanc, le crème-brun, le jaune et le rose. L'intensité de la couleur peut se modifier en fonction des changements dans les facteurs environnementaux, par exemple, la lumière et la température. En général, la couleur sera plus foncée dans des conditions plus légères et plus froides, et la couleur sera plus légère dans une faible lumière et un temps chaud. Le pileus est habituellement en forme de coquille et en forme de langue. La taille de champignon peut varier de 5 à 30 cm de diamètre. Le champignon est généralement plus petit sur le bois et plus grand sur les substrats de déchets de coton de paille. Les branchies sont blanchâtres ou grises. Le stipe est généralement excentrique ou latéral (Wurth, 2016).

I-2-5-3-2- Morphologie des pleurotes étudiés

I-2-5-3-2-1- *Pleurotus pulmonarius*:

Le pleurote pulmonaire (*Pleurotus pulmonarius*) est une espèce de champignons du genre *Pleurotus* très proche de *Pleurotus ostreatus* mais il y a malgré tout quelques différences notables. Le chapeau du pleurote pulmonaire est plus pâle et plus petit que celui du pleurote *ostreatus* et son pied est plus développé. Il préfère aussi des climats plus chauds et apparaît plus tardivement durant l'été. Par ailleurs, le goût et la culture des deux espèces sont généralement considérées identiques (Pavlík et Pavlík, 2013). En Amérique du Nord, il ressemble beaucoup à *Pleurotus populinus*, qui se développe uniquement sur les trembles et les peupliers (Trudell et Ammirati, 2009). Ces principales caractéristiques sont :

- Son chapeau fait de 5 à plus de 20 cm, il est d'abord convexe avant de s'aplatir.
- Les lamelles sont décurrentes.
- Le stipe est court et nu, légèrement décalé du centre du chapeau et est monomitique
- Les spores sont soit de couleur blanche, soit de couleur jaunâtre ou soit gris-lavande lorsqu'elles sont compactées, plus ou moins cylindriques, d'une dimension de 7,5 à 11 sur 3 à 4 μm (Pavlík et Pavlík, 2013) (figure 12).



Figure 12: *Pleurotus pulmonarius* (Atri et al, 2012).

I-2-5-3-2-2- *Pleurotus floridanus* :

Pleurotus floridanus a des caractéristiques presque semblables à ceux de *P. pulmonarius* mais *P. floridanus* présente un pied plus court et un chapeau plus ouvert que celui de *P. pulmonarius* (Pavlík et Pavlík, 2013) (figure 13).



Figure 13 : *Pleurotus floridanus* (Atri et al, 2012).

I-2-5-3-2-3- *Pleurotus Sajor caju*:

Le *Pleurotus sajor caju* (huître grise) est un champignon charnu comestible typique. Il a des organes de fructification en forme d'huître qui contiennent beaucoup de nutriments tels que des glucides, des protéines, des graisses, des minéraux et des multivitamines. En raison de ces valeurs nutritionnelles élevées, la demande de pleurotes gris ne cesse d'augmenter (Chuanyun et al., 2004). Il a un voile distinct, un anneau persistant sur le stipe et une chair composée d'hyphes trimitiques ou dimitiques (Stamets, 2000) (figure 14).



Figure 14 : *Pleurotus Sajor caju* (Atri et al, 2012)

I-2-5-4- Caractéristiques nutritionnelles et propriétés médicinales des pleurotes

I-2-5-4-1- Valeurs nutritionnelles

La teneur en protéines est variée selon les espèces de *Pleurotus*. Elle est exprimée en pourcentage de poids sec et varie de 10 à 30 %. Cette teneur peut atteindre 40 %. *Pleurotus* contient tous les acides aminés essentiels, qui représentent 40 % de la teneur totale en acides aminés.

Par ailleurs, la teneur en lipides est d'environ 3 à 5 % sur la base du poids sec et est généralement plus élevée dans la tige que dans le capuchon. Les champignons frais contiennent généralement 3 à 28 % de glucides et 3 à 32 % de fibres sur une base de poids sec (Ireng, 2002).

I-2-5-4-2- Valeurs médicinales

Guzman a rapporté que les espèces du genre *Pleurotes* sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour prévenir ou aider dans plus de 30 maladies ou troubles (Guzman, 2000 ; Bruhn et al., 2010). En effet, une activité anti tumorale a été trouvée dans les fractions polysaccharidiques des corps fruitiers de presque toutes les espèces *Pleurotus*. Ces polysaccharides appartiennent à (1 →3) -β-D-glucanes. Les recherches ont prouvé que les différents glucanes de *Pleurotus* augmentaient l'activité des cellules tueuses naturelles (Natural killer) et des cellules tueuses activées par les Lymphokines (Caralyne et al., 2008).

En plus de moduler le système immunitaire, les *Pleurotus sp.* ont une activité hypoglycémique, des effets anti thrombotiques, inhibent la croissance tumorale, réduisent l'inflammation et réduisent la pression artérielle et la concentration lipidique plasmatique (Holzer, 2011). En outre, ils ont une activité antioxydante. En effet, les différentes fractions d'extraits - acide, phénolique, alcalin, neutre ont montré que le niveau d'activité le plus élevé est présent dans la fraction phénolique. Il a également été démontré que les extraits de corps fructifères avaient une activité antioxydante plus élevée que le mycélium et les extraits liquides cultivés. La différence d'activité antioxydante entre les échantillons d'extraits peut être liée à une composition différente d'acides gras de leurs lipides. Ainsi, la teneur en acides gras insaturés dans les extraits de corps fructifères est plus élevée que dans le mycélium et les extraits liquides cultivés (Sánchez, 2010).

I-2-5-5- Travaux antérieurs déjà effectués sur les champignons pleurotes :

Dans nos travaux antérieurs, nous avons pu montrer que deux espèces de champignons pleurotes à savoir *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus floridanus* avaient des propriétés antiradicalaires et hypoglycémiantes sur des rats dont on avait induit l'hyperglycémie chronique par injection intrapéritonéale de la streptozotocine (Etoundi *et al.*, 2019). Mais, ces travaux présentaient une limite: ces propriétés ne pouvaient s'observer qu'à partir de fortes doses ou fortes concentrations.

I-2-5-6- Choix des espèces de champignons pleurotes étudiés et des proportions de mélanges des champignons :

De la revue qui précède, nous constatons que l'hyperglycémie peut être prévenue ou contrôlée par plusieurs mécanismes ou composés à l'instar des médicaments oraux ou sulfamides hypoglycémiantes, des antioxydants, des anti-inflammatoires, des inhibiteurs d'enzymes digestives, des aliments fonctionnels à index glycémique bas... Mais, parti du constat que ces différentes pistes de traitements présentaient des limites, nous avons voulu apporter notre contribution dans la lutte contre l'hyperglycémie par l'usage d'une source naturelle, reconnue comme ayant moins ou pas d'effets secondaires. Aussi, nous avons voulu une source naturelle qui pourrait combiner à la fois plusieurs mécanismes dans le traitement de l'hyperglycémie car les traitements pharmacologiques en plus des effets secondaires indésirables ne ciblent souvent qu'une seule voie thérapeutique à la fois. Ainsi, les champignons pleurotes (particulièrement *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus floridanus*), qui sont des aliments comestibles étudiés dans nos travaux antérieurs et qui avaient présenté un index glycémique bas et un aspect thérapeutique sur l'hyperglycémie et le diabète ont retenu notre attention et ont fait l'objet de notre étude.

Il était tout d'abord question pour nous d'augmenter l'efficacité de ces champignons pleurotes. D'où, nous nous sommes proposés de mélanger trois espèces de champignons pleurotes (*Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju*) à des proportions différentes et évaluer par la suite leur capacité à développer des propriétés hypoglycémiantes au moyen de différents tests. Ceci dans le but de prévenir ou de traiter l'hyperglycémie et par conséquent prévenir l'hyperglycémie chronique qui est la forme pathologique de l'hyperglycémie.

En effet, pour la préparation des mélanges de champignons, le choix des espèces de champignons et les différentes proportions qui constituaient nos différents mélanges de champignons n'ont pas été choisies au hasard. Lors de nos différents travaux antérieurs, nous

avons eu à évaluer l'effet des mélanges de champignons constitués de trois espèces de champignons pleurotes (*Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju*) sur le stress oxydant induit sur les rats. Et, ces mélanges de champignons étaient obtenus à partir de trois proportions à savoir 1 :1 :1, 2 :0,5 :0,5 et 1,5 :1 :0,5. Puis, suivant une théorie mathématique à savoir la méthode des arrangements, de la proportion 1 :1 :1 on a obtenu une seule possibilité d'arrangement faisant ainsi un mélange, de la proportion 2 :0,5 :0,5 on a obtenu trois possibilités d'arrangements faisant ainsi trois autres mélanges. Et, de la proportion 1,5 :1 :0,5 on a obtenu six possibilités d'arrangements faisant ainsi six autres mélanges. En sommes, de ces trois proportions nous avons obtenu au total dix mélanges. Et, suivant les précédents travaux sur le stress oxydant, les mélanges issus des proportions 1 :1 :1 et 2 :0,5 :0,5 ont été les meilleurs mélanges avec de meilleures activités. D'où, pour notre étude qui consistait à évaluer les capacités des champignons mélangés à développer des propriétés hypoglycémiantes, nous nous sommes proposé de nous appesantir non seulement sur le choix de ces trois espèces de champignons pleurotes. Mais aussi, nous avons opté pour le choix de ces deux proportions 1 :1 :1 et 2 :0,5 :0,5 faisant ainsi quatre mélanges de champignons pour cette étude de thèse.

**CHAPITRE II : Activité
ANTIOXYDANTE et effet inhibiteur sur
les ENZYMES DIGESTIVES des extraits
de CHAMPIGNONS MELANGÉS.**

II-1- Introduction partielle

Les champignons plus précisément le genre pleurote sont de plus en plus sollicités sur le plan nutritionnel et thérapeutique grâce aux composés qu'ils renferment (**Holzer, 2011**). Toutefois, peu d'études mettent en exergue le potentiel thérapeutique des mélanges de champignons pleurotes. Pourtant, la synergie des différents composés présents dans ces champignons pleurotes pourrait booster leurs activités et conduire à de meilleurs résultats. En effet, une étude faite par **Kayo et al. (2019)** a montré qu'un mélange de trois espèces de champignons pleurotes avait des activités à de faibles concentrations sur le stress oxydant induit sur les rats. Ainsi, dans l'optique d'apporter notre contribution dans la lutte contre l'hyperglycémie, nous nous sommes proposé de mélanger trois espèces de champignons pleurotes et d'étudier leur potentiel antioxydant ainsi que leur capacité à inhiber les enzymes digestives. Il a donc été question dans ce chapitre :

- De préparer des mélanges de champignons à base de trois espèces de champignons pleurotes : *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor-caju* et de déterminer le rendement d'extraction des extraits issus de ces champignons mélangés.
- De déterminer le potentiel antioxydant des extraits aqueux, éthanolique hydroéthanolique et hexanique des champignons mélangés.
- D'étudier le potentiel de ces extraits à inhiber les enzymes digestives à savoir l'alpha amylase, l'alpha glucosidase et la lipase pancréatique.

II-2- Matériel et méthodes :

II-2-1-Préparation du matériel expérimental fongique

II-2-1-1-Récolte et obtention des différentes poudres de champignons :

Les champignons frais : *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju* (figure 15) ont été récoltés à Douala dans une myciculture à Yassa puis séchés (annexes 5 et 6) et écrasés afin d'obtenir des poudres de champignons.



Pleurotus pulmonarius



Pleurotus floridanus



Pleurotus sajor caju

Figure 15 : Champignons étudiés sous forme fraîche après récolte

II-2-1-2- Préparation des mélanges, des extraits bruts de champignons mélangés et détermination du rendement d'extraction :

Les différentes poudres obtenues de chaque champignon (*Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor-caju*) ont été réparties pour 100 g de poudre totale dans les proportions suivantes afin d'obtenir les mélanges de champignons : 1/1/1 ; 2/0,5/0,5 ; 0,5/2/0,5 et 0,5/0,5/2 (tableau I).

Puis, les extraits aqueux, hydroéthanoliques, éthanoliques et hexaniques des champignons mélangés ont été préparés au Laboratoire de Biochimie de l'Université de Douala. En effet, les différentes poudres de mélanges de champignons ont été macérées dans les proportions 1/8 respectivement avec les solvants suivants : l'eau distillée, mélange eau/éthanol 1 : 1, éthanol et l'hexane puis séchées à l'étuve pendant 4 jours à température de 45° C.

Le rendement d'extraction a été calculé suivant la formule ci-contre :

$$r = \frac{\text{Masse de l'extrait obtenue}}{\text{Masse de l'échantillon du départ}} \times 100$$

Tableau I : Obtention des différents mélanges et extraits de champignons mélangés

Type de Mélanges	Proportions	Combinaisons	Types d'extraits de chaque mélange	Codification des extraits
M1	1 : 1 : 1	A : B : C	Aqueux	M1aq
			Ethanolique	M1et
			Hydroethanolique	M1heth
			Hexanique	M1hex
M2	2 : 0,5 : 0,5	A : B : C	Aqueux	M2aq
			Ethanolique	M2et
			Hydroethanolique	M2heth
			Hexanique	M2hex
M3	0,5 : 2 : 0,5	A : B : C	Aqueux	M3aq
			Ethanolique	M3et
			Hydroethanolique	M3heth
			Hexanique	M3hex
M4	0,5 : 0,5 : 2	A : B : C	Aqueux	M4aq

				Ethanolique	M4et
				Hydroethanolique	M4heth
				Hexanique	M4hex
Total	4Mélanges	4proportions	1 combinaison	16 extraits	16 codifications

Où A= *Pleurotus pulmonarius*, B= *Pleurotus floridanus* et C= *Pleurotus sajor-caju*

II-2-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés par les tests DPPH, FRAP et ABTS :

II-2-2-1- Evaluation de l'activité antiradicalaire DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) :

II-2-2-1-1- Principe :

L'activité antiradicalaire DPPH est basée sur la décroissance de l'absorbance. Cette dernière est mesurée à 517 nm et résulte du changement de la couleur initiale (violette) au jaune au fur et à mesure que le radical est piégé par les antioxydants contenus dans les échantillons à analyser. Au cours du processus, il y a transfert de l'atome d'hydrogène pour former le DPPH-H stable (Katalinić *et al.*, 2004).

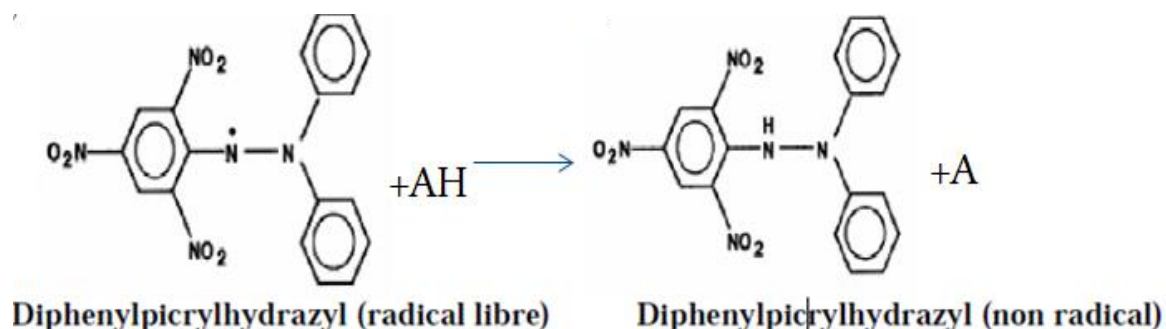


Figure 16 : Réaction de piégeage des radicaux libres : test DPPH (Congo, 2012)

II-2-2-1-2- Mode opératoire :

Une prise de 1mL d'une solution DPPH (de concentration 0,11 mg/mL) préparée dans le méthanol absolu est ajoutée à 50 µL d'extrait à des concentrations de 1 ; 3 ; 5 ; 7 ; 10 ; 15 ; 20 et 25 mg/mL. L'acide ascorbique préparé dans les mêmes concentrations que les extraits a servi de standard.

Les absorbances sont mesurées à 517 nm après incubation des solutions pendant 30 minutes à l'obscurité. Le contrôle est la solution DPPH sans antioxydant.

Le pourcentage de piégeage a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de piégeage} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

Avec :

A1 : Absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : Absorbance en présence d'extrait.

A partir des pourcentages d'inhibitions obtenus, le graphique de la variation du pourcentage de piégeage en fonction de la concentration a été tracé pour chaque extrait et standard. Cette courbe nous a permis de déterminer la SC₅₀ (*scavenging concentration* 50%) autrement appelée IC₅₀ qui est la concentration en antiradicalaire permettant de piéger 50% de radicaux libres. Il s'obtient à partir du graphe représentant le pourcentage de piégeage (%SC) en fonction de la concentration finale de l'extrait dans chaque tube test (en g/L).

II-2-2-2- Activité réductrice du fer (FRAP : *Ferric reducing antioxidant power*).

II-2-2-2-1- Principe

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe³⁺ présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe²⁺, l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm. Ce mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols (Yildirim *et al.*, 2001).

II-2-2-2-2-Méthodologie

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode d'Oyaisu (1986) et modifié par Bakchiche *et al* (2013). Dans chaque tube à essai contenant 0,1 mL de solution d'échantillon (extraits ou BHT) préparés aux concentrations 1 ; 5 ; 10 ; 15 ; et 20 mg/mL, ont été ajoutés 2 mL d'eau distillée puis 2 mL d'hexacyanoferrate de potassium [K₃Fe (CN)₆] (10g/L). L'ensemble a été incubé au bain marie à 50°C pendant 30 mn. Un volume de 2 mL d'acide trichloracétique (100 g/L) a ensuite été ajouté et le mélange a été centrifugé à 3000 tours/mn pendant 10 mn.

Après centrifugation, 2 mL du surnageant sont récupérés et mélangés avec 2 mL d'eau distillée et 0,4 mL de chlorure ferrique [FeCl₃] (1g/L). La lecture a été mesurée à 700 nm. Le contrôle négatif est préparé dans les mêmes conditions que les tubes tests à la seule différence que la solution d'échantillon a été remplacée par le méthanol. Le BHT a été utilisé pour le contrôle positif.

Le pourcentage de piégeage a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de piégeage} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

Avec :

A1 : Absorbance du contrôle (solution de FRAP sans extrait).

A2 : Absorbance en présence d'extrait.

A partir des pourcentages d'inhibitions obtenus, la IC_{50} de chaque extrait a été déterminé tel que décrit au test du DPPH.

II-2-2-3-Activité ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) antiradicalaire.

II-2-2-3-1- Principe

Le radical cationique $ABTS^{\bullet+}$ est formé par perte d'un électron (e^-) d'un atome d'azote de l'ABTS en présence du persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) (Figure 16). Cette méthode est basée sur la capacité de l'antioxydant contenu dans l'échantillon à piéger le radical cationique $ABTS^{\bullet+}$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonique) de coloration bleu-verte en donnant son H, le transformant ainsi en $ABTS^+$ incolore (**Beddou, 2015**). La décoloration du radical, mesurée par spectrométrie à 734 nm, est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Lien et al., 1999**).

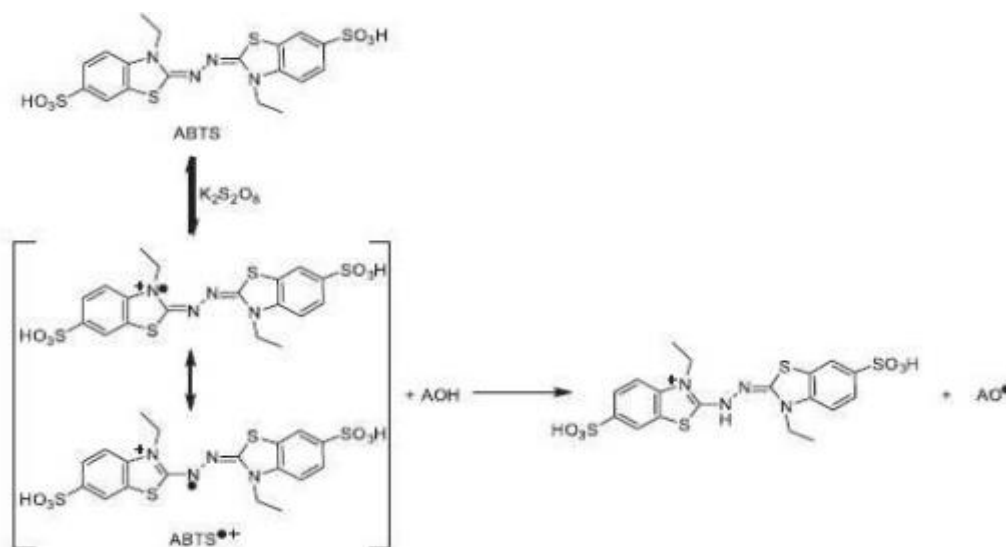


Figure 17 : Génération du radical-cation $ABTS^{\bullet+}$ avec le persulfate de potassium et sa réaction avec l'antioxydant (**Beddou, 2015**).

II-2-2-3-2- Méthodologie.

II-2-2-3-2-1- Préparation de la solution d'ABTS

L'activité ABTS antiradicalaire a été déterminée selon la méthode décrite par **Leong et Shui (2002)**. Le radical cation ABTS est généré en mélangeant à volume égal une solution de 4,9 mM de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) et une solution stock d'ABTS à 7 mM, le tout

est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 15h avant utilisation. La solution obtenue est diluée 20 fois avec de l'eau distillée.

II-2-2-3-2-2- Protocole de dosage :

Pour le dosage, à 1 mL de cette solution fraîchement préparée ont été ajoutées 10 µL de solutions d'extrait et d'acide ascorbique (Vit. C) préparées aux concentrations 5 ; 10 ; 15 et 20 mg/mL. Après incubation à la température ambiante et à l'obscurité pendant 30 mn, la lecture de la densité optique a été faite au spectrophotomètre à 734 nm pour chaque série d'analyse. L'acide ascorbique est utilisé pour le contrôle positif.

Tout comme le DPPH, le pouvoir inhibiteur de l'extrait a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de piégeage} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

Avec :

A1 : absorbance du contrôle (solution d'ABTS sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait.

A partir des pourcentages d'inhibitions obtenus, la IC₅₀ de chaque extrait a été déterminé tel que décrit au test du DPPH.

II-2-3- Détermination de la teneur en polyphénols totaux par la méthode de Folin.

II-2-3-1- Principe :

Cette méthode est basée sur la réduction d'un chromogène phosphomolybdique – tungstique qui, en milieu alcalin (carbonate de sodium), développe une coloration bleue dont l'absorption est mesurée à 750 nm (Singleton et Rossi, 1965).

II-2-3-2- Préparation des réactifs

II-2-3-2-1- Préparation du réactif Folin- ciocalteu dilué 10 fois :

Pour la préparation du réactif, 7 mL de Folin ont été prélevés de la solution stock de concentration 2 N et introduit dans une fiole jaugée de 100 mL. Le volume a ensuite été complété à 70 mL avec de l'eau distillée pour obtention d'une solution 0,2 N.

II-2-3-2-2- Préparation du standard catéchine

La préparation de la catéchine s'est faite en dissolvant 2 mg de catéchine dans 10 mL de méthanol pour obtention d'une solution de concentration 1 mM à partir de laquelle des solutions de diverses concentrations ont été préparées.

II-2-3-3-Mode opératoire

La concentration polyphénolique de l'extrait a été mesurée en utilisant le réactif Folin-ciocalteu dilué 10 fois avant utilisation.

Pour la détermination de la concentration polyphénolique totale, après l'ajout de 30 μ L de solution de chaque extrait préparé à la concentration de 100 mg/mL dans des tubes à essai, 1 mL de solution de Folin diluée 10 fois a été introduit, l'absorbance a été mesurée à 750 nm après 30 mn de réaction à l'aide d'un spectrophotomètre. La catéchine a été utilisée comme standard.

II-2-4- Evaluation de l'effet des extraits sur les principaux enzymes digestifs associés au métabolisme des glucides et des lipides (alpha amylase, alpha glucosidase et la lipase)

II-2-4-1- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha amylase pancréatique.

II-2-4-1-1- Principe :

L'activité inhibitrice de l'extrait sur l' α -amylase a été réalisée selon le procédé standard avec modification mineure (**Sudha et al., 2011**). L'activité enzymatique est mesurée par une technique colorimétrique, basée sur la disparition du substrat. Dans ce travail on s'intéresse à l'évaluation de l'effet des extraits sur l'inhibition de l'activité de l'alpha amylase pancréatique. Elle hydrolyse l'amidon (ce dernier existe sous forme de granules qui se composent de plusieurs molécules d'amylopectine ainsi qu'un nombre encore plus grand de molécules d'amylose) et le substrat restant est alors quantifié par ajout d'une solution d'iode dans le milieu réactionnel. Le développement d'une coloration bleue est observé et est fonction de la quantité de substrat restant (**Komaki et al., 2003**).

II-2-4-1-2- Mode opératoire :

Dans des tubes à essais, 100 μ l d'aliquotes d'extrait et d'acarbose préparés à des concentrations de 1 ; 5 ; 10 ; 15 et 20 mg/mL ont été ajoutés dans le milieu réactionnel ; le milieu réactionnel étant un mélange de 20 μ L d'enzyme (30 μ g/mL) et de 1380 μ L de tampon tris-HCl pH 6,8. L'ensemble a été ensuite préincubé à 30° C pendant 20mn. La réaction a ensuite été initiée par ajout de 100 μ L d'amidon (1 %) en solution. Après 20 mn d'incubation, la réaction enzymatique a été arrêtée par ajout de 2 mL d'iode acidifié, l'absorbance a été lue à 500 nm. Ce protocole a été représenté suivant le tableau II ci-dessous :

Tableau II : Expérimentation du protocole d'inhibition de l'α amylase

Extraits	Tube 1 :20 µL		Tube 2 :40 µL		Tube 3 :60 µL		Tube 4 :80 µL		Tube 5 :100µL	
	Essai	Blanc	Essai	Blanc	Essai	Blanc	Essai	Blanc	Essai	Blanc
Tampon (µL)	1360	1460	1340	1440	1320	1420	1300	1400	1280	1380
Enzyme (µL)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Préincubation à 30° C. pendant 20mn										
Amidon (µL)	100		100		10		10		100	
					0		0			
Incubation à 30° C. pendant 20mn										
Iode acidifié (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

L'activité inhibitrice a été mesurée à l'aide de la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition} = [1 - (A / B)] \times 100$$

Où A = Absorbance du puits d'essai (extrait de champignon ou acarbose)

B = Absorbance du contrôle enzymatique

A partir des pourcentages d'inhibitions obtenus, la IC₅₀ a été déterminée.

IC₅₀ : concentration de l'échantillon inhibant 50 % de l'activité enzymatique est calculée graphiquement selon la fonction des pourcentages d'inhibition en fonction du logarithme de concentrations des échantillons (pourcentage d'inhibition = f (log concentration échantillon))

II-2-4-2- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha glucosidase :

II-2-4-3-1- Solution d'α glucosidase :

À partir d'extrait enzymatique brut (activité spécifique moyenne de 50 U/mg protéine) des solutions d'enzyme sont préparées par dilution dans le tampon phosphate (pH 6,8 ; 50 mM) afin d'atteindre une activité de 1 U/ mL.

II-2-4-3-2- Solution de substrat :

Le substrat utilisé est le 4-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (pNPG) un glycoside de synthèse, (Sigma. Aldrich), préparé dans le tampon phosphate (50 mM, pH 6,8) à une concentration de 1 mM.

II-2-4-3-3- Solution d'acarbose :

L'acarbose inhibiteur spécifique de l'α glucosidase, est utilisé comme témoin positif

(molécule de référence). Des solutions d'acarbose (Bayer) sont préparées à différentes concentrations notamment 1, 3, 7, 10, 13, 16 et 20 mg/ mL dans le tampon phosphate (50 mM, pH 6,8).

II-2-4-3-4- Solution d'extrait :

Différentes concentrations de chaque extrait sont préparées à partir d'extrait sec dissout dans le tampon phosphate (50 mM, pH 6,8) afin d'évaluer leur effet sur l'activité de l' α -Glucosidase. Les concentrations utilisées sont les mêmes que celles du standard.

II-2-4-3-5- Solution de carbonate de sodium :

Le carbonate de sodium est utilisé à la concentration de 0,1 M, dissout dans le tampon phosphate.

II-2-4-3-6- Mode opératoire :

Le protocole suivi est celui de **Deguchi et Miyazaki (2010)**, avec quelques modifications mineures. Le milieu réactionnel est composé de :

- 20 μ L de solution d'extrait (échantillon) ou solution d'acarbose (témoin positif) ou solution de tampon phosphate (contrôle : activité enzymatique total sans inhibiteur) ;
- 10 μ L de la solution d'enzyme dans tous les tubes ;
- 20 μ L d'une solution de substrat (pNPG 1 mM) dans tous les tubes sauf dans le blanc ou solution de substrat est remplacée par le tampon phosphate ;
- 50 μ L d'une solution de tampon phosphate (50 mM, pH 6,8) est ajouté à tous les tubes ;
- Les tubes sont mis à incuber à 37 °C pendant 40 mn, à l'issue de laquelle la réaction est stoppée par l'addition de 50 μ L de Na_2CO_3 (0,1 M) ;
- Enfin, l'absorbance du para-nitrophénol libéré est mesurée au spectrophotomètre à 405 nm.

Les essais ont été répétés trois fois.

II-2-4-3-7- Expression des résultats :

Le calcul du pourcentage d'inhibition se fait selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A \text{ contrôl} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôl} \times 100$$

Où $A \text{ contrôl}$ = Absorbance de l'activité enzymatique sans inhibiteur

$A \text{ échantillon}$ = Absorbance de l'activité enzymatique en présence d'extrait ou d'acarbose

Puis, la IC_{50} a été déterminée à partir des pourcentages d'inhibitions obtenus.

II-2-4-3- Effet des extraits sur l'activité de la lipase pancréatique :

II-2-4-3-1- Principe :

L'activité inhibitrice vis-à-vis de la lipase pancréatique a été mesurée en utilisant du p-nitrophényl butyrate (p-NPB) comme substrat avec un procédé modifié de **Zhang *et al.* (2008)**. La trioléine est hydrolysée par la lipase avec formation de monoglycérides et d'acide oléique. Cette méthode est basée sur la vitesse de décroissance de la densité optique d'une émulsion de triglycéride (Trioléine) en présence de lipase.

II-2-4-3-2- Mode opératoire :

L'activité de la lipase pancréatique a été légèrement modifiée selon une méthode précédemment décrite par **Sugiyama *et al.*, (2007)**. Un volume de 25 mL de la solution d'échantillon dissoute dans de l'eau distillée et 25 µL de la solution de lipase pancréatique (50 U/mL) ont été mélangés dans le puits d'une plaque de microtitration. Ensuite, un volume de 50 mL d'ester oléique de la 4-méthylumbelliférone fluorescente (4-MUO) (0,1 mM) dissous dans une solution phosphate saline tamponnée (PBS) a été ajouté pour initier la réaction enzymatique. Après une incubation à 37 °C pendant 20 mn, 100 µL de citrate de sodium 0,1 M (pH=4,2) ont été ajoutés pour arrêter la réaction. La quantité de 4-MUO libérée par la lipase a été mesurée à l'aide d'un détecteur de fluorescence à une longueur d'onde d'excitation de 320 nm et une longueur d'onde d'émission de 450 nm. L'orlistat a été utilisé comme contrôle positif dans cette étude.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = [1 - (A / B)] \times 100.$$

Où A = absorbance du puits d'essai (extrait de plante ou orlistat)

B = Absorbance du contrôle enzymatique

Puis, la IC₅₀ a été déterminée à partir des pourcentages d'inhibitions obtenus.

II-2-5- Analyses statistiques :

Les données ont été introduites dans une feuille de calcul Excel (Microsoft Office 2007) puis ont été soumises à une analyse ordonnée de variances à deux facteurs (ANOVA) et les résultats ont été exprimés, sous forme de moyenne ± écart-type. Les corrélations ont été faites à l'aide du test de Pearson. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel graphpad prism pour Windows, et, le seuil de significativité a été fixé à P < 0,05.

II-3- Résultats

II-3-1- Rendement d'extraction.

La figure 17 ci-dessous présente le rendement d'extraction de quatre mélanges de champignons : M1, M2, M3 et M4. Chacun de ces mélanges a été macéré dans quatre solvants distincts à savoir l'eau distillée, l'éthanol, mélange eau/éthanol (1/1) et l'hexane donnant ainsi lieu respectivement aux extraits suivants : extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique. Il ressort de cette figure que les extraits aqueux (Maq), quel que soit le type de mélange, présentent les meilleurs rendements suivis respectivement des extraits hydroéthanoliques (Mheth), éthanoliques (Met) et hexaniques (Mhex). On observe aussi sur la figure 17 que le mélange 3 (M3) constitué de *P. pulmonarius*, *P. floridanus* et *P. sajor caju* respectivement à la proportion 0,5/2/0,5 apparaît comme étant le meilleur mélange suivi du mélange 4.

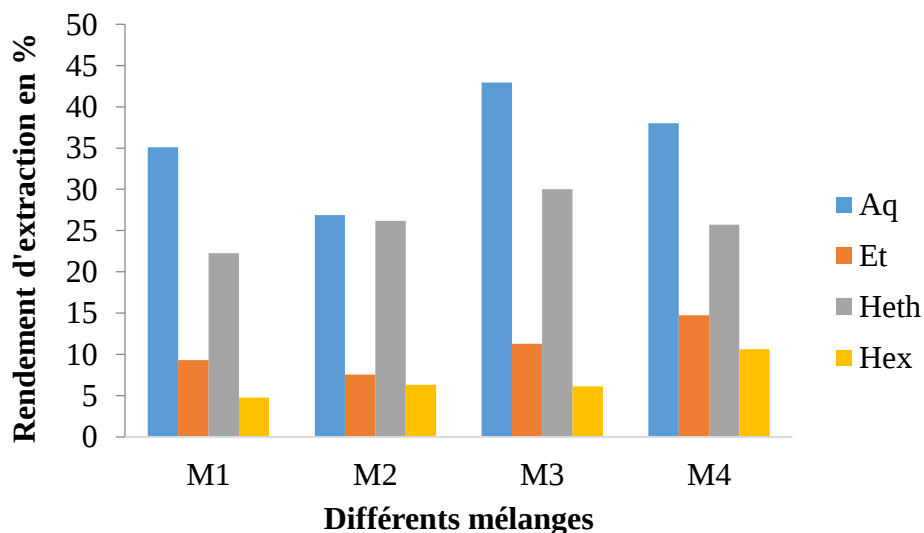


Figure 18 : Rendement d'extraction des différents extraits de champignons mélangés

Légende : M1, M2, M3, et M4 = différents mélanges de champignons ; Maq, Met, Mheth et Mhex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange

II-3-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés

II-3-2-1- Activité DPPH (2,2 – diphényl -1- picrylhydrazyl) antiradicalaire

Le tableau III ci-dessous présente les concentrations inhibitrices 50 (IC_{50}) : concentration pour laquelle les antioxydants présents dans les extraits inhibent 50 % des radicaux libres. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa IC_{50} est petite. Tout comme le rendement d'extraction, il ressort de ce tableau que, quel que soit le

mélange utilisé, les extraits aqueux apparaissent comme étant les extraits ayant l'activité la plus inhibitrice, suivis des extraits hydroéthanoliques et des extraits éthanoliques. Les extraits hexaniques quant à eux ont présenté une activité plus faible. Comparé au standard qui a présenté une IC_{50} de $0,61 \pm 0,38$ mg/mL, le meilleur extrait de ce test de DPPH a été l'extrait aqueux du mélange 3 (M3aq) avec une IC_{50} de $4,77 \pm 0,09$ mg/mL.

L'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dans ce test de DPPH. Les solvants d'extraction ont influencé à 70,25 % ($p < 0,0001$), les mélanges ont influencé à 7,33 % ($p < 0,0001$) et l'interaction entre les deux a été à 21,75 % ($p < 0,0001$). Ce qui signifie que le solvant d'extraction a impacté sur ces résultats plus que le type de mélange. On note également qu'il existait des variations significatives ($p < 0,05$) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau III : Concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) (en mg/mL) des différents extraits de champignons mélangés pour le test de DPPH

Mélanges	M1	M2	M3	M4	P1
Extraits					
Aq.	7,70 ± 0,56 ^{αα}	11,34 ± 0,55 ^{ααγ}	4,77 ± 0,09 ^{αβ}	11,74 ± 0,24 ^{αγ}	<0,0001
Heth.	29,13 ± 1,06 ^{ααα}	39,06 ± 4,82 ^{αβ}	14,81 ± 0,41 ^{αγ}	18,99 ± 1,08 ^{αγ}	<0,0001
Et.	66,69 ± 27,82 ^{bcαβ}	91,38 ± 4,69 ^{αα}	45,48 ± 12,02 ^{αβ}	40,73 ± 2,56 ^{αβ}	<0,05
Hex.	656,79 ± 53,66 ^{δα}	1749,50 ± 174,44 ^{ββ}	2166,18 ± 148,91 ^{βγ}	545,27 ± 98,02 ^{βα}	<0,0001
P2	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	<0,0001	

Standard = 0,61 ± 0,38 mg/mL

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné, exprimé par les symboles α, β, γ et ω. P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné, exprimé par les lettres a, b, c et d, p < 0,05 : significatif.

II-3-2-2- Activité réductrice du fer (FRAP).

Le tableau IV ci-dessous présente les IC_{50} du pouvoir réducteur du fer. Tout comme l'activité inhibitrice du test de DPPH, il ressort de ce tableau que, quel que soit le mélange utilisé, les extraits aqueux apparaissent comme étant les extraits ayant un pouvoir réducteur du fer le plus élevé, suivis des extraits hydroéthanoliques et des extraits éthanoliques. Les extraits hexaniques ont présenté les plus faibles activités. A l'exception de l'extrait hydroéthanolique du mélange 1 (M1heth), tous les extraits aqueux et hydroéthanoliques des différents mélanges ont présenté une activité supérieure à celle du standard qui avait une IC_{50} de $606,20 \pm 45,74$ mM. Le meilleur mélange de ce tableau a été le mélange 3 (M3) où l'extrait aqueux a présenté la plus faible IC_{50} ($414,00 \pm 9,01$ mM) et donc la plus forte activité.

L'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dont les solvants d'extraction ont influencé à 70,86 % ($p < 0,0001$), les mélanges ont influencé à 6,82 % ($p < 0,0001$) et l'interaction entre les deux a été à 19,54 % ($p < 0,0001$). Ce qui signifie une fois de plus que le solvant d'extraction a impacté plus que le type de mélange. On note aussi des variations significatives ($p < 0,05$) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau IV : Concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) (en mM) des différents extraits de champignons mélangés pour le test de FRAP

	M1	M2	M3	M4	P1
Mélanges Extraits					
Aq.	415,28 ± 27,19 ^{αα}	458,78 ± 15,45 ^{ααβ}	414,00 ± 9,01 ^{αα}	491,25 ± 21,41 ^{αβ}	<0,01
Heth.	616,58 ± 19,19 ^{αβα}	549,14 ± 16,75 ^{αββ}	458,69 ± 16,75 ^{αγγ}	492,73 ± 12,13 ^{αγγ}	<0,0001
Et.	764,61 ± 36,91 ^{αβα}	735,29 ± 26,55 ^{βα}	1201,95 ± 32,26 ^{ββ}	1721,21 ± 101,76 ^{βγγ}	<0,0001
Hex.	953,03 ± 263,35 ^{βα}	1769,34 ± 157,60 ^{ββ}	1649,64 ± 235,62 ^{ββ}	1487,77 ± 15,83 ^{ααβ}	<0,01
P2	< 0,01	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	

Standard = 606,20 ± 45,74 mM

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné, exprimé par les symboles α, β, γ et ω. P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné, exprimé par les lettres a, b, c et d, p < 0,05 : significatif.

II-3-2-3- Activité ABTS antiradicalaire

Le tableau V ci-dessous présente les IC_{50} des différents extraits de chaque mélange en rapport avec le test de l'ABTS. Comme précédemment sur les autres tests antioxydants, on constate sur le tableau ci-dessous que les mêmes tendances de résultats ont été observées. En effet, quel que soit le type de mélange, les extraits aqueux apparaissent comme étant les meilleurs extraits suivis des extraits hydroéthanoliques et des extraits éthanoliques. Les extraits hexaniques ont présenté les plus faibles activités. Au regard de la Vit. C utilisée ici comme standard où la IC_{50} a été de $0,61 \pm 0,01$ mg/mL, le meilleur extrait de ce tableau a été l'extrait aqueux du mélange 2 avec une IC_{50} de $8,26 \pm 0,13$ mg/mL.

De même, l'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dans ce test. En effet, les solvants d'extraction ont influencé à 21,16 % ($p < 0,0001$), les mélanges ont influencé à 19,70% ($p < 0,0001$) et l'interaction entre les deux a été à 59,13 % ($p < 0,0001$). Ce qui signifie que le solvant d'extraction a impacté plus sur ces résultats que l'aspect type de mélange bien que l'interaction entre les deux soit élevée. On note également qu'il existait des variations significatives ($p < 0,05$) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau V : Concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) (en mg/mL) des différents extraits de champignons mélangés pour le test ABTS

Mélanges	M1	M2	M3	M4	P1
Extraits					
Aq.	9,07 ± 0,17 ^{aα}	8,26 ± 0,13 ^{aβ}	9,38 ± 0,28 ^{aα}	8,92 ± 0,26 ^{aα}	< 0,01
Heth.	11,22 ± 0,77 ^{aα}	10,09 ± 0,31 ^{aα}	10,09 ± 0,39 ^{aα}	14,38 ± 0,61 ^{aβ}	<0,0001
Et.	20,71 ± 0,24 ^{aαβ}	24,45 ± 3,10 ^{bα}	19,20 ± 0,43 ^{aβ}	23,73 ± 1,78 ^{aαβ}	<0,05
Hex.	13493,33 ± 159,84 ^{bα}	57,22 ± 7,57 ^{cβ}	182,66 ± 32,26 ^{bβ}	164,85 ± 19,54 ^{bβ}	<0,0001
P2	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	

Standard = 0,61 ± 0,01 mg/mL

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné, exprimé par les symboles α, β, γ et ω. P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné, exprimé par les lettres a, b, c et d, p < 0,05 : significatif.

II-3-3- Teneur en composés phénoliques totaux par la méthode du Folin.

Le tableau VI ci-dessous présente les teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits de chaque mélange. De ce tableau, il en ressort que les extraits renferment un taux considérable de composés phénoliques, en particulier les extraits éthanoliques, puis s'en suit les extraits aqueux et hydroéthanoliques. Tout comme pour les tests antioxydants, on constate ici que les extraits hexaniques ont renfermé les teneurs les plus faibles en composés phénoliques. On relève aussi du tableau VI que les meilleurs mélanges ont été les mélanges 1 et 2 où on a respectivement des moyennes de $37,89 \pm 1,48$ mg EC/g (milligramme équivalent catéchine par gramme de champignons) et de $36,66 \pm 0,46$ mg EC/g pour les extraits les plus riches en composés phénoliques de ces mélanges.

L'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dans ce test dont les solvants d'extraction ont influencé à 79,47 % ($p < 0,0001$), les mélanges ont influencé à 5,17 % ($p < 0,0001$) et l'interaction entre les deux a été à 12,72 % ($p < 0,0001$). Ici également, le solvant d'extraction a impacté davantage sur les résultats plus que l'aspect type de mélange. De plus, on note qu'il existait des variations significatives ($p < 0,05$) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau VI : Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits en mg EC/g de champignon

Mélanges	M1	M2	M3	M4	P1
Extraits					
Aq.	$23,84 \pm 1,35^{a\alpha}$	$36,66 \pm 1,48^{a\beta}$	$32,61 \pm 1,23^{a\gamma}$	$28,42 \pm 0,56^{a\omega}$	$< 0,0001$
Heth.	$33,69 \pm 2,27^{ba}$	$26,21 \pm 2,30^{b\beta}$	$25,16 \pm 1,10^{a\beta}$	$17,85 \pm 1,42^{b\gamma}$	$< 0,0001$
Et.	$37,89 \pm 0,47^{ca}$	$36,20 \pm 1,68^{a\alpha\beta}$	$30,24 \pm 4,42^{a\beta}$	$32,88 \pm 2,38^{ca\beta}$	$< 0,05$
Hex.	$6,65 \pm 0,94^{da}$	$14,57 \pm 3,05^{c\beta}$	$12,55 \pm 2,47^{c\beta\gamma}$	$8,59 \pm 0,61^{da\gamma}$	$< 0,01$
P2	$< 0,0001$	$< 0,0001$	$< 0,0001$	$< 0,0001$	

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes $\pm$ l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné, exprimé par les symboles α , β , γ et ω . P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné, exprimé par les lettres a, b, c et d, $p < 0,05$: significatif.

II-3-4- Evaluation de l'effet des extraits de champignons sur les enzymes digestives:

II-3-4-1- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha amylase :

L'effet des extraits de champignons mélangés sur l'activité de l'alpha amylase a été représenté dans le tableau VII ci-dessous. En effet, ce tableau présente les concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) des différents extraits de chaque mélange qui sont les concentrations pour lesquelles les extraits inhibent 50 % de l'activité enzymatique. Ainsi, il en ressort que, quel que soit le type de mélange, les extraits hexaniques ont présenté les IC₅₀ les plus faibles comparés aux autres extraits. De même, comparé au standard représenté ici par l'acarbose qui a présenté une IC₅₀ de 184,11 ± 0,89 mg/mL, les extraits hexaniques au regard du tableau VII ont présenté des IC₅₀ inférieures à celles du standard et donc ont mieux agi que le standard. Les extraits hexaniques ont présenté ainsi les meilleures activités à inhiber l'activité enzymatique de l'alpha amylase. L'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dans ce test dont les solvants d'extraction ont influencé à 80,90 % (p < 0,0001), les mélanges ont influencé à 5,81 % (p < 0,01) et l'interaction entre les deux a été à 9,45 % (p < 0,01). Ce qui signifie que le solvant d'extraction a beaucoup plus impacté sur ces résultats. On note aussi des variations significatives (p < 0,05) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau VII : Concentration inhibitrice 50 (en mg/ml) des extraits sur l'activité de l'alpha amylase

Mélanges	M1	M2	M3	M4	P1
Extraits					
Aq.	232,31 ± 2,51 ^{aa}	188,35 ± 1,22 ^{ab}	218,93 ± 11,57 ^{aa}	224,77 ± 2,81 ^{aa}	< 0,01
Heth.	221,64 ± 28,28 ^{aa}	247,24 ± 9,26 ^{ba}	251,25 ± 2,21 ^{aa}	255,19 ± 1,92 ^{ba}	0,2492
Et.	230,80 ± 17,58 ^{aa}	241,31 ± 5,57 ^{ba}	239,37 ± 7,88 ^{aa}	265,08 ± 9,76 ^{ba}	0,1303
Hex.	166,93 ± 0,55 ^{aa}	161,00 ± 5,99 ^{aa}	181,06 ± 5,93 ^{ba}	170,31 ± 0,93 ^{ca}	< 0,05
P2	< 0,05	< 0,001	< 0,01	< 0,001	

Standard = 184,11 ± 0,89 mg/mL

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné, exprimé par les symboles α, β, γ et ω. P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné, exprimé par les lettres a, b, c et d ; p < 0,05 : significatif ; p > 0,05 : non significatif.

II-3-4-2- Effet des extraits sur l'activité de l'alpha glucosidase.

Le tableau VIII ci-dessous présente l'effet des extraits de champignons mélangés sur l'activité de l'alpha glucosidase. Il en ressort de ce tableau que les extraits ayant les plus faibles IC_{50} ont été les extraits éthanoliques et aqueux, ils ont présenté ainsi les meilleures activités comparativement aux autres extraits. Par ailleurs, comparé au standard (acarbose) qui a présenté une IC_{50} de $35 \pm 23,78$ mg/mL, on constate que tous les extraits à l'exception de l'extrait hexanique du mélange 3 ont présenté une capacité plus élevée que le standard à inhiber l'activité enzymatique de l'alpha glucosidase. En effet, leur IC_{50} a été plus faible que celui du standard. Aussi, du tableau VIII il en ressort que les mélanges ayant les plus faibles IC_{50} ont été les mélanges 2 et 4 qui ont représenté donc les meilleurs mélanges à l'issue de ce test.

L'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dans ce test : les solvants d'extraction ont influencé à 19,55 % ($p < 0,0001$), les mélanges ont influencé à 10,96 % ($p < 0,001$) et l'interaction entre les deux a été à 53,36 % ($p < 0,0001$). Ce qui signifie que le solvant d'extraction a impacté sur ces résultats plus que le type de mélange bien que l'interaction entre les deux soit élevée. On note également qu'il existait des variations significatives ($p < 0,05$) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau VIII : Concentration inhibitrice 50 (en mg/mL) des extraits sur l'activité de l'alpha glucosidase

Mélanges	M1	M2	M3	M4	P1
Extraits					
Aq.	10,86 ± 4,39 ^{αα}	2,85 ± 0,45 ^{αβ}	5,32 ± 1,18 ^{ααβ}	23,46 ± 0,48 ^{a γ}	<0,0001
Heth.	19,40 ± 5,01 ^{αα}	14,46 ± 6,23 ^{ba}	14,5 ± 8,51 ^{αα}	10,34 ± 2,11 ^{ba}	0,3797
Et.	9,51 ± 4,40 ^{αα}	8,18 ± 5,55 ^{ba}	6,24 ± 4,02 ^{αα}	5,06 ± 2,72 ^{ca}	0,6105
Hex.	10,55 ± 5,08 ^{αα}	10,93 ± 5,65 ^{αα}	65,7 ± 12,65 ^{bb}	14,71 ± 0,01 ^{ba}	<0,0001
P2	0,1075	< 0,001	<0,0001	< 0,0001	

Standard = 35 ± 23,78 mg/mL

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné exprimé par les symboles α, β, γ et ω. P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné exprimé par les lettres a, b, c et d ; p < 0,05 : significatif ; p > 0,05 : non significatif.

II-3-4-3- Effet des extraits sur l'activité de la lipase pancréatique.

Le tableau IX ci-dessous présente l'effet des extraits de champignons mélangés sur l'activité de la lipase pancréatique. Il ressort de ce tableau que les extraits ayant les plus faibles IC_{50} ont été les extraits aqueux suivis des extraits éthanoliques. Ils ont présenté ainsi les meilleures activités comparées aux autres extraits. Les extraits hexaniques ont présenté les plus faibles activités. Une comparaison avec le standard représenté ici par l'orlistat qui a présenté une IC_{50} de $5,05 \pm 0,11$ mg/mL, montre que les extraits aqueux ont présenté des IC_{50} inférieures à celui du standard et donc inhibent mieux l'activité de la lipase que celui-ci. Aussi, du tableau IX on peut constater que les extraits ayant les plus faibles IC_{50} appartiennent aux mélanges 1 et 2, lesquels représentent les meilleurs mélanges à l'issue de ce test.

L'analyse ANOVA bidimensionnelle a montré qu'il existe une différence significative globale entre les différents échantillons analysés dans ce test dont les solvants d'extraction ont influencé à 46,99 % ($p < 0,0001$), les mélanges ont influencé à 12,68 % ($p < 0,0001$) et l'interaction entre les deux a été à 40,14 % ($p < 0,0001$). Ici également le solvant d'extraction a impacté sur les résultats plus que le type de mélange bien que l'interaction entre les deux soit élevée. On note aussi qu'il existait des variations significatives ($p < 0,05$) entre les solvants et entre les extraits.

Tableau IX : Concentration inhibitrice 50 (en mg/ml) des extraits sur l'activité de la lipase pancréatique

Mélanges	M1	M2	M3	M4	P1
Extraits					
Aq.	3,25 ± 0,10 ^{aa}	4,54 ± 0,13 ^{ab}	4,20 ± 0,06 ^{ab} _γ	3,90 ± 0,19 ^a _γ	<0,0001
Heth.	62,14 ± 2,71 ^{bα}	53,96 ± 2,03 ^{bβ}	23,54 ± 2,34 ^a _γ	23,06 ± 1,21 ^b _γ	<0,0001
Et.	5,06 ± 0,42 ^{aa}	3,63 ± 1,65 ^{aa}	5,23 ± 0,05 ^{aa}	5,61 ± 0,17 ^{aa}	0,0908
Hex.	64,82 ± 8,71 ^{bα}	389,30 ± 14,47 ^{cβ}	618,28 ± 30,87 ^b _γ	36,55 ± 2,33 ^{cα}	<0,0001
P2	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Standard = 5,05 ± 0,11 mg/mL

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type. P1 représente l'analyse statistique entre les différents mélanges pour un solvant d'extraction donné exprimé par les symboles α, β, γ et ω. P2 représente l'analyse statistique entre les différents solvants d'extraction pour un mélange donné exprimé par les lettres a, b, c et d ; p < 0,05 : significatif ; p > 0,05 : non significatif.

II-3-5- Corrélation entre les tests antioxydants - teneurs en composés phénoliques et l'inhibition des activités enzymatiques :

Le tableau X présente la corrélation de Pearson entre les différents paramètres étudiés ci-dessus. Il ressort de ce tableau qu'il existe une corrélation positive et significative entre les tests antioxydants - teneurs en composés phénoliques et l'inhibition des activités enzymatiques : alpha glucosidase et lipase. Toutefois, ce tableau montre également qu'il existe une corrélation négative et significative entre les tests antioxydants - teneurs en composés phénoliques et l'inhibition de l'activité de l'alpha amylase.

Tableau X : Corrélation entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et l'inhibition des activités enzymatiques

	Inhibition activité alpha amylase	Inhibition activité alpha glucosidase	Inhibition activité lipase
Test DPPH	** -0,535	** 0,257	** 0,445
Sig. (bilatérale)	0,000	0,000	0,000
Test FRAP	** -0,591	** 0,258	** 0,478
Sig. (bilatérale)	0,000	0,000	0,000
Test ABTS	** -0,575	** 0,237	** 0,395
Sig. (bilatérale)	0,000	0,003	0,000
Teneur en composés phénoliques	** -0,529	0,050	0,097
Sig. (bilatérale)	0,000	0,726	0,500

**. La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral).

II-4- Discussion

Les champignons ont un grand potentiel pharmacologique et les recherches dans cette voie sont assez nombreuses, bien qu'encore insuffisantes. Les domaines médicaux dans lesquels les champignons sont utilisés sont nombreux : antibiothérapie, cancérologie, parasitologie, cardiologie, dermatologie, endocrinologie, diabétologie, gastroentérologie, gynécologie, hématologie, neuropsychiatrie, pneumologie, oto-rhino-laryngologie, traumatologie, urologie, vénérologie, etc. (**Courtecuisse et Duhem, 2011**).

Dans le cadre de nos travaux, c'est l'activité hypoglycémiante des champignons qui est mise en exergue. Il était précisément question de mettre en évidence le potentiel thérapeutique des mélanges de champignons pleurotes dans le but de prévenir et ou de traiter l'hyperglycémie qui est le précurseur de nombreuses maladies métaboliques.

: II-4-1- Rendement d'extraction et choix des solvants d'extractions:

Concernant les résultats sur le rendement d'extraction, les différents solvants d'extraction utilisés n'ont pas été choisis au hasard. En effet, les études menées par **Sahreem et al. (2010)** et **Xia et al. (2010)** ont montré que l'alcool (méthanol ou éthanol) et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (**Barros et al., 2010**). D'où le choix des solvants aqueux, éthanolique et hydroéthanolique. Par ailleurs, le solvant hexanique a été choisi parce qu'il présentait des résultats intéressants lors de nos travaux antérieurs sur le diabète de type 1 induit sur les rats.

En effet, les résultats issus des rendements d'extraction montrent que les rendements d'extraction des champignons mélangés ont varié en fonction du type de solvant d'extraction. Que ce soit pour les mélanges 1, 2, 3 ou 4, les extraits aqueux ont présenté les meilleurs rendements d'extraction que tous les autres extraits. Suivis des extraits hydroéthanoliques, éthanoliques et enfin des extraits hexaniques. En effet, au cours de l'extraction, les solvants diffusent dans la matière végétale solide et solubilisent les composés avec une polarité similaire (**Ncube et al., 2008**). La sélection du solvant d'extraction dépend ainsi de la nature du composé phytochimique recherché, de sa solubilité dans ce solvant, de sa polarité et de sa taille. Les rendements plus élevés observés chez les extraits aqueux pourraient s'expliquer par le fait que le champignon étant constitué de près de 90 % d'eau, la plupart de ses composés bioactifs seraient hydrophiles, d'où les extraits aqueux de part leur polarité ont fixé plus de composés actifs ; ce qui leur confèrent un rendement plus élevé que les autres extraits. Des résultats similaires ont été également obtenus par **Hip et al. (2009)** qui ont travaillé sur l'extraction des champignons pleurotes avec deux types d'extraits : l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique et ont montré que le rendement d'extraction avec l'eau distillée était plus élevé que le rendement d'extraction avec le mélange eau/ éthanol. Le fait que les extraits hexaniques aient présenté les plus faibles rendements d'extraction pourrait signifier la présence dans les champignons de faibles composés apolaires.

II-4-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés:

Les antioxydants peuvent atténuer, inhiber, ou retarder l'effet délétère des radicaux libres sur les macromolécules et organes de l'organisme par le piégeage des radicaux libres. Les produits naturels issus des champignons ou des plantes notamment possédant cette propriété ont été démontrés comme jouant un rôle bénéfique protecteur contre le stress oxydatif engendré dans de nombreuses maladies chroniques et dégénératives (**Kaur et Arora, 2009**). En effet, selon **Ceriello (2003)**, certaines plantes hypoglycémiantes agissent sur le fonctionnement des cellules du pancréas et sur la sécrétion d'insuline via la suppression du stress oxydatif consécutif au diabète. Ce serait l'un des mécanismes d'action potentiel de champignons ou plantes médicinales antidiabétiques.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante des mélanges de champignons étudiés montrent que les extraits aqueux présentent un effet antioxydant remarquable que tous les autres extraits, ceci a été observé avec le test de DPPH, FRAP et ABTS. Cela indiquerait la présence dans les extraits analysés des molécules antioxydantes pouvant intervenir par ces trois types de mécanismes d'actions. Par contre la capacité antiradicalaire des extraits hexaniques est très faible. Ces différences de potentiel antioxydant entre les extraits peuvent être dues à la variation de la composition des extraits en molécules anti-oxydantes (**Gulcin, 2006**). En d'autres termes, ces différences d'activités pourraient être attribuées aux divers composés extraits par les solvants de polarité différente. En effet, tel qu'observé pour le rendement d'extraction, le champignon étant très riche en eau aurait pour la plupart de composés bioactifs, des composés polaires. Ainsi, les extraits aqueux de part leur polarité ont donc fixé plus de composés actifs et donc plus de composés phénoliques d'où leur pouvoir inhibiteur est plus élevé que celui des autres extraits.

En outre **Kintzios et al. (2010)** ont montré que les extraits aqueux sont supposés contenir des composés polaires tels que les flavonoïdes et les glycosides qui peuvent être responsables de leur activité antioxydante. Ces résultats suggèrent que les extraits de champignons contiennent des agents piégeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants primaires. L'action de ces antioxydants est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogènes ou d'électrons dérivés principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (**Le et al., 2007**). De plus, d'après **Amarowicz (2004)**, le pouvoir réducteur des extraits ou encore le potentiel des extraits à pouvoir réduire l'ion Fe^{3+} en ion Fe^{2+} pourrait s'expliquer par la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques des extraits qui peuvent servir comme donneurs d'électrons. D'où, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants.

Les processus oxydatifs sont multiples et la nature de l'activité antioxydante peut être multiforme et attribuée à différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres, la chélation des ions métalliques de transition, la prévention de l'initiation d'une chaîne de réactions productrice des espèces réactives de l'oxygène et la décomposition des peroxydes (**Ozen, 2009**). Ainsi, la combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (**Ksouri et al., 2009**).

II-4-3- Teneur en composés phénoliques totaux des extraits de champignons mélangés:

Le dosage des polyphénols totaux a été fait par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est considérée comme la meilleure méthode de détermination du taux des polyphénols totaux des extraits de plantes (**Djeridane et al., 2010**). En effet, elle est standardisée, simple, reproductible et les interférences avec la matrice de l'échantillon qui est souvent colorée sont minimisées à la grande longueur d'onde d'absorption (765 nm) utilisée (**Huang et al., 2005**). Pour ce test, les extraits aqueux sont en compétition avec les extraits éthanoliques. En effet, pour ce qui est des mélanges 2 et 3, les extraits aqueux renferment les meilleures teneurs en composés phénoliques, alors que pour les mélanges 1 et 4 ce sont plutôt les extraits éthanoliques qui renferment les meilleurs teneurs en composés phénoliques. D'après **Spigno et al. (2007)**, les solvants alcooliques sont ceux couramment utilisés pour l'extraction phénolique, car ils donnent des rendements plus élevés d'extrait total bien qu'ils ne soient pas très sélectifs pour les phénols. Toutefois, cette hypothèse n'est pas toujours évidente, puisqu'elle peut être non justifiée dans certains cas. Tel est le cas des mélanges 2 et 3 où les meilleurs extraits sont plutôt les extraits aqueux et non éthanoliques. De ce fait, d'après **Goli et al. (2005)**, les meilleurs rendements des phénols totaux sont obtenus en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol et l'éthanol. Entre autres, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques des plantes (**Pietrzak et al., 2014**). Les extraits hexaniques comparés aux autres extraits apparaissent comme étant les extraits ayant la plus faible teneur en composés phénoliques, cela pourrait être dû à leur caractère apolaire.

II-4-4- Effet bénéfique premier des mélanges de champignons pleurotes:

Comparativement aux travaux effectués par **Etoundi et al. (2017)** sur l'activité antiradicalaire via le test de DPPH et sur la teneur en composés phénoliques totaux des extraits individuels de *Pleurotus pulmonarius* et de *Pleurotus floridanus*, nous constatons ici que le mélange de champignons pleurotes a permis d'obtenir des taux plus élevés en composés

phénoliques totaux et des résultats similaires pour le test de DPPH. En effet, en 2017, il ressortait de ces travaux que les extraits les plus riches en composés phénoliques avaient des taux de $22,35 \pm 8,83$ mg EC/g et de $17,28 \pm 4,75$ mg EC/g (**Etoundi et al, 2017**). Par contre, avec les mélanges, tel que étudiés dans ce travail, on observe clairement des extraits qui avoisinent un taux de 40 mg EC/g avec plusieurs extraits au-dessus de 30 mg EC/g (tableau VI). Le mélange de champignons pleurotes a ainsi permis de doubler la teneur en composés phénoliques.

A la lumière des données ethnopharmacologiques et des travaux expérimentaux de différents auteurs, les plantes médicinales peuvent également exercer leurs activités hypoglycémiantes par l'inhibition des enzymes digestives diminuant ainsi l'hyperglycémie postprandiale (**kaleem et al., 2006**).

II-4-5- Evaluation de l'effet des extraits de champignons mélangés sur les enzymes digestives:

Les résultats *in vitro* sur l'inhibition des enzymes digestives obtenues lors de cette étude révèlent que parmi les extraits de champignons étudiés pour l'évaluation de l'effet hypoglycémiant, certains montrent bien leur efficacité en inhibant l'enzyme digestive hydrolysant les sucres alimentaires (amidon) en glucose. En effet, en fonction du test d'inhibition de l'enzyme, chacun des extraits de champignons mélangés a présenté une action inhibitrice sur l'activité de l'enzyme. Toutefois, les extraits aqueux et éthanoliques apparaissent comme étant les meilleurs extraits avec parfois même des IC_{50} supérieures à ceux du standard.

L'inhibition de l'alpha amylase par les extraits pourrait s'expliquer d'après **Hsiu et Fischer (2012)** par le fait que l'alpha-amylase étant une métallo-enzyme calcique, une inhibition ou une absence du calcium par un composé présent dans l'extrait contribuerait à l'inactivation de cette enzyme. Aussi, d'après **Faiveley (2010)**, la non dégradation de l'amidon par l'enzyme serait plutôt dû à l'absence de la formation du complexe enzyme/substrat due aux composés phénoliques des extraits qui ont empêché la formation de la liaison hydrogène entre les acides aminés du site de fixation de l'enzyme et les groupements polaires (OH) de la chaîne carbonée de l'amidon.

L'effet inhibiteur des extraits sur les enzymes digestives des glucides pourrait également être dû à la présence des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins cathechiques. En effet, **Hanhineva et al. (2010)** ont prouvé que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins empêchent l'activité des enzymes telles que l' α -amylase et l' α -glucosidase qui sont des enzymes clés dans le métabolisme des glucides.

Ce résultat pourrait expliquer la corrélation positive et significative observée entre l'inhibition de l'activité de l'alpha glucosidase et les composés phénoliques. Toutefois, cette corrélation est négative avec l'inhibition de l'activité de l'alpha amylase, ce qui pourrait simplement dire que l'inhibition de l'activité de l'alpha amylase serait due à d'autres composés présents dans les champignons. De plus, **Boudjelthia et al. (2017)** ont suggéré que l'effet inhibiteur des enzymes ou par ricochet antidiabétique serait lié à la richesse des extraits en tanins et saponines.

Aussi, **Lee et al. (2010)** ont démontré que les composés phénoliques avaient un pouvoir inhibiteur sur l'activité de la lipase pancréatique. Ils ont observé que plus il y'avait de groupements hydroxyles libres dans les extraits, plus l'IC₅₀ était petite et plus l'effet inhibiteur sur les enzymes était élevé. Ce qui a également été confirmé par la corrélation positive et significative observée entre l'inhibition de l'activité de la lipase et les composés phénoliques.

II-5- Conclusion partielle:

Au terme de ces travaux dont l'objectif était d'évaluer l'activité antioxydante des extraits de champignons mélangés suivie de leur influence sur les activités des enzymes digestives, il en ressort que :

- Les extraits aqueux ont présenté un rendement d'extraction plus élevé que les autres extraits quel que soit le type de mélange, suivis des extraits hydroéthanoliques, éthanoliques et hexaniques. Le mélange M3 étant le meilleur mélange.
- Les extraits de champignons mélangés ont présenté un potentiel antioxydant et les extraits aqueux quel que soit le type de mélange ont présenté une activité antioxydante plus élevée que celle des autres extraits suivis des extraits hydroéthanoliques. Le mélange M3 apparaît comme étant le meilleur mélange des tests antioxydants.
- Les extraits de champignons mélangés ont présenté un potentiel à inhiber l'activité des enzymes digestives du glucose au regard du standard. Les meilleurs extraits étant les extraits aqueux et le mélange M2 étant le meilleur mélange des tests enzymatiques.

Au regard de ces conclusions, nous pouvons dire que les champignons mélangés pourraient renforcer les antioxydants endogènes et limiter la quantité de glucose et d'acides gras libérés dans le sang grâce à leur potentiel inhibiteur sur les enzymes digestives. Ce qui pourrait contribuer à prévenir ou à contrôler l'hyperglycémie. Aussi, au regard de tous les différents tests qui précèdent, nous avons constaté que le type de solvant impacte beaucoup sur les résultats que le type de mélange avec les extraits aqueux comme meilleurs extraits suivis des extraits hydroéthanoliques. Ainsi, ayant apprécié leurs effets *in vitro*, nous nous

sommes interrogés sur leurs effets *in vivo*. Mais également, de ce chapitre 2, nous avons constaté que les composés phénoliques pouvaient être à l'origine du potentiel antioxydant et inhibiteur des enzymes digestives des extraits de champignons mélangés. Il était ainsi nécessaire pour nous de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires pouvant être à l'origine des effets observés *in vitro* chez les meilleurs extraits du chapitre 2 de cette thèse (extraits aqueux et hydroéthnoilques). Ces différents travaux ont fait l'objet du 3^{ème} chapitre qui suit.

**CHAPITRE III : SCREENING
PHYTOCHIMIQUE QUALITATIF,
TOXICITE ET ACTIVITES
ANTIHYPERGLYCEMIANTE ET
HYPOGLYCEMIANTE DES EXTRAITS
AQUEUX ET HYDROETHANOLIQUES**

III-1- Introduction partielle :

Les antioxydants endogènes sont des molécules naturellement produites par l'organisme pour inhiber les effets nocifs des radicaux libres. Ces derniers sont également produits par l'organisme mais deviennent toxiques à de fortes doses pouvant conduire à de nombreux désordres métaboliques à l'instar de l'hyperglycémie (**Delattre et al., 2005**). Une supplémentation en antioxydants endogènes permettrait ainsi de limiter ces désordres métaboliques et de prévenir ainsi un état d'hyperglycémie dans l'organisme (**Sharma et al., 2000**). Or, dans le 2^{ème} chapitre de ce document, il a été montré que les extraits de champignons mélangés avaient des propriétés antioxydantes. Cela supposerait que les champignons mélangés permettraient de renforcer les antioxydants endogènes et de prévenir l'hyperglycémie. Aussi, il a été démontré dans le chapitre 2 que les extraits de champignons avaient des capacités à inhiber les enzymes digestives, ce qui supposerait encore que ces extraits permettraient de limiter la quantité de glucose libérée dans le sang et de prévenir aussi de ce fait l'hyperglycémie. Dans le but de pouvoir confirmer ces hypothèses, il a été question dans ce chapitre d'étudier le potentiel hypoglycémiant et antihyperglycémiant des meilleurs extraits issus du chapitre précédent. Plus spécifiquement il a été question :

- D'évaluer *in vitro* le screening phytochimique des meilleurs extraits : extraits aqueux et hydroéthanoliques des tests antioxydants et inhibiteurs du glucose ;
- D'étudier *in vivo* la toxicité de ces meilleurs extraits sur des rates albinos de type *Wistar* ;
- D'évaluer *in vivo* l'effet antihyperglycémiant et hypoglycémiant des meilleurs extraits sur des rats de type *Wistar* dont on a provoqué l'hyperglycémie à court terme.

III-2- Matériel et méthodes

III-2-1-Etudes *in vitro*: évaluation du screening phytochimique qualitatif des meilleurs extraits antioxydants et inhibiteurs du glucose :

III-2-1-1- Test de mise en évidence des Saponines

Il a été réalisé selon la méthode décrite par **Harbone (1967)**. Un gramme d'extrait concentré a été ajouté à 10 mL d'eau distillée. Après une homogénéisation, le mélange a été rigoureusement chauffé jusqu'à ébullition. L'apparition d'une mousse persistante après 20 mn a été considérée comme indiquant la présence des saponines.

III-2-1-2- Test de mise en évidence des Tanins

Il a été réalisé selon la méthode décrite par **Harbone (1967)**. A 100 mg de chaque extrait concentré, 2 mL d'eau distillée ont été ajoutées. Chacune des solutions obtenues a été mélangée avec du chlorure ferrique à 3%. La formation d'un précipité bleu-noir, vert ou bleu-vert a été considérée comme révélatrice de la présence des tanins.

III-2-1-3- Test de mise en évidence des Flavonoïdes

Il a été réalisé selon la méthode décrite par **Harbone (1967)**. Cinquante mg (50 mg) d'extrait concentré ont été dissous dans 1mL de soude normale. L'apparition d'une couleur jaune est une évidence préliminaire de la présence des flavonoïdes. La décoloration de cette couleur après addition de quelques gouttes d'HCl a été considérée comme une confirmation de la présence des flavonoïdes.

III-2-1-4- Test de mise en évidence des Anthocyanes

Il a été réalisé selon la méthode décrite par **Harbone (1967)**. Deux cent mg (200 mg) de chaque extrait ont été mélangés avec 3 mL de HCl 1 %. Le mélange obtenu a été porté à ébullition. La variation de coloration du rouge orangé au bleu orangé pendant l'ébullition a caractérisé la présence des anthocyanes.

III-2-1-5- Test de mise en évidence des Terpénoïdes

Il s'agit du test de Slakowki réalisé selon la méthode décrite par **Khan et al. (2011)**. Dans un tube à essai, ajouter 2,5 mL d'extrait, 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

III-2-2-Etudes *in vivo* :

III-2-2-1- Choix de l'animal

Pour l'étude *in vivo*, nous avons choisi de travailler avec des rats albinos de type *Wistar* encore appelé *Rattus norvegicus*. Ce sont des rongeurs nocturnes, omnivores et coprophages. Après la souris d'expérimentation, le rat rongeur d'expérimentation est le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de rongeurs utilisés en recherche (**Omari et al., 2011**).

Le choix de ce modèle animal a été fait pour les raisons suivantes :

- Ces rats sont des animaux dociles et faciles à manipuler ;
- Ils sont peu agressifs ;

- Leur facilité d'entretien ;
- Leur résistance vis-à-vis de diverses contaminations ;
- C'est le modèle animal le mieux adapté et le plus utilisé pour des études similaires citées par la littérature et leur physiologie se rapproche à celle de l'homme.



Photographie 1 : Rats albinos de souche wistar (Cliché de l'auteur, 2020)

Pour l'évaluation de la toxicité, des rates ont été utilisées au détriment des rats car elles sont beaucoup plus sensibles. En effet, si l'extrait s'avère toxique, les femelles peuvent vite manifester que les mâles au vue de leur sensibilité. Par contre, pour l'évaluation de l'activité antihyperglycémique et hypoglycémique, nous avons utilisé des rats et non des rates afin d'éviter l'influence des sécrétions hormonales femelles (Soltésova *et al.*, 2011).

III-2-2-2- Evaluation de la toxicité des extraits aqueux et hydroéthanoliques :

III-2-2-2-1- Principe de la méthode

Le protocole proposé par l'Organisation de Coopération et de Développement Économique (OCDE, 2008) a été utilisé pour évaluer la toxicité aigüe des extraits. En effet ce protocole recommande l'administration d'une dose unique de 2000 mg/kg de poids corporel (PC) de substance à un premier animal expérimental suivie d'une observation des variations physiologiques de l'animal pendant 48 heures. S'il survit, 04 animaux supplémentaires sont ajoutés et reçoivent chacun une dose de substance de 2000 mg/kg de poids corporel.

III-2-2-2-2- Mode opératoire

Les rates albinos de souche *Wistar*, âgées d'un mois et demi, pesant en moyenne $101,62 \pm 2,67$ g et réparties en 9 groupes de 4 rates chacun ont été utilisées. Douze heures

(12h) de temps après que les rates aient été à jeun, elles ont été gavées avec des extraits suivant la répartition ci-contre :

- Le groupe 1 recevant l'extrait aqueux du mélange 1 (M1aq) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 2 recevant l'extrait hydroéthanolique du mélange 1 (M1Heth) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 3 recevant l'extrait aqueux du mélange 2 (M2aq) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 4 recevant l'extrait hydroéthanolique du mélange 2 (M2Heth) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 5 recevant l'extrait aqueux du mélange 3 (M3aq) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 6 recevant l'extrait hydroéthanolique du mélange 3 (M3Heth) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 7 recevant l'extrait aqueux du mélange 4 (M4aq) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 8 recevant l'extrait hydroéthanolique du mélange 4 (M4Heth) à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel ;
- Le groupe 9 ou témoin négatif (TN) recevant de l'eau distillée à la dose de 10 ml/kg de poids corporel.

Une observation comportementale a été réalisée 3 heures après administration des extraits. Durant les 14 jours qui suivaient l'administration des extraits, les rates ont été soumises à une alimentation standard de Laboratoire accompagnée d'hydratation et quelques signes de toxicité ont été étudiés durant cette même période notamment la locomotion, la réactivité, l'aspect des fèces, des urines, la sensibilité au bruit après un choc, l'appétit, la difficulté de respiration, la modification du pelage, ainsi que le nombre de décès.

Au bout des 14 jours et après 12 h de jeun, les rates ont été pesées, anesthésiées à la kétamine (50 mg/Kg de poids corporel) puis sacrifiées. Le sang a été prélevé dans la trachée artérielle. Le sang prélevé a été récupéré dans des tubes secs et centrifugé à 3000 tr/mn pendant 15 mn. Le sérum obtenu a permis de doser les paramètres biochimiques de toxicité suivants : ALAT, ASAT, créatinine, protéine et urée. Le dosage de ces paramètres biochimiques a permis d'évaluer les fonctions métaboliques hépatiques et rénales.

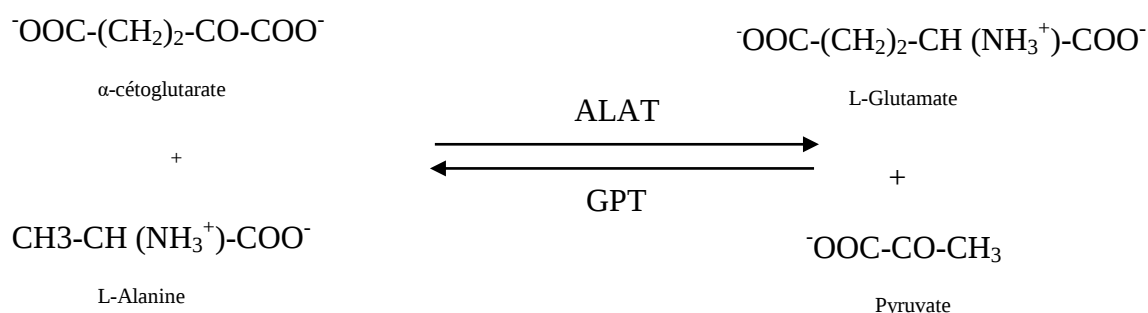
III-2-2-2-3- Dosage de quelques marqueurs biochimiques de toxicité :

III-2-2-2-3-1- Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase :

III-2-2-2-3-1-1- Principe :

L'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) a été déterminée par la méthode cinétique décrite par **Kaplan et Pesce (1996)** avec le kit Hospitex Diagnostics.

L'enzyme ALAT, encore appelée glutamate pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert du groupement aminé de l'alanine sur l' α -cétooglutarate pour former le pyruvate et le glutamate. Cette réaction s'accompagne d'une oxydation du NADH en NAD^+ qui absorbe à 340 nm. La densité optique mesurée à cette longueur d'onde est proportionnelle à l'augmentation de NAD^+ qui est proportionnelle à l'activité de l'ALAT.



III-2-2-2-3-1-2- Mode opératoire :

Le réactif de travail a été préparé selon les instructions du kit, en mélangeant un volume de réactif R2 à 4 volumes du réactif R1. Le mélange a été agité avant utilisation. Un mL de cette solution a été mélangé à 100 μL de sérum et une première lecture de densité optique a été faite après 90 secondes, en incubant à 37°C. Trois autres lectures ont été ensuite faites à 60 secondes d'intervalle. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à 340 nm. La formule suivante a été utilisée pour déterminer l'activité de l'enzyme.

$$\text{Activité ALAT (UI/L)} = \Delta A / mn \times 1769$$

$\Delta A / mn$ = variation de l'absorbance par minute

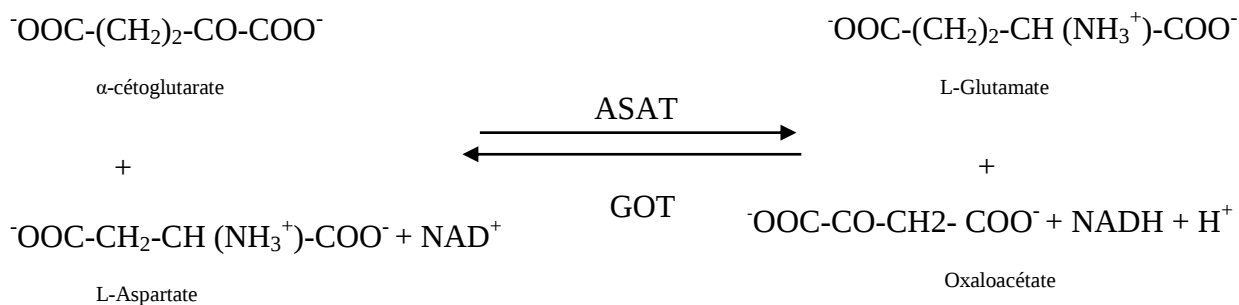
III-2-2-2-3-2- Détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase

III-2-2-2-3-2-1- Principe

L'activité sérique de l'aspartate aminotransférase (ASAT) a été déterminée par la méthode cinétique décrite par **Kaplan et Pesce (1996)** avec le kit commercial de Hospitex

Diagnostics.

L'enzyme ASAT encore appelée glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert du groupement aminé de l'aspartate vers l' α -cétooglutarate pour former de l'oxaloacétate et du glutamate. Cette réaction s'accompagne d'une oxydation du NADH en NAD^+ qui absorbe à 340 nm. La densité optique mesurée à cette longueur d'onde est proportionnelle à l'augmentation de NAD^+ qui est proportionnelle à l'activité de l'ASAT.



III-2-2-2-3-2-2- Mode opératoire

Le réactif de travail a été préparé suivant les indications du kit, en mélangeant un volume de réactif R2 à 4 volumes du réactif R1. Le mélange a été agité avant utilisation. Un ml de cette solution a été mélangé à 100 μL de sérum et une première lecture de densité optique a été faite après 90 secondes, en incubant à 37°C. Trois autres lectures ont été faites ensuite à 60 secondes d'intervalle. Les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm. La formule suivante a été utilisée pour déterminer l'activité de l'enzyme.

$$\text{Activité ASAT (UI/L)} = \Delta A / mn \times 1769$$

$\Delta A / mn$ = variation de l'absorbance par minute

III-2-2-2-3-3- Dosage de la créatinine sérique

Le dosage de la créatinine a été fait par méthode colorimétrique telle que décrite par **Young (2001)** en utilisant le kit Cypress Diagnostics.

III-2-2-2-3-3-1- Principe

En milieu basique, la créatinine réagit avec le picrate pour former un complexe jaune rouge dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de créatinine en solution. Elle est mesurée par lecture de la densité optique à 510 nm.

III-2-2-3-3-2- Protocole

Le réactif de travail a été préparé tel que décrit sur la notice du kit. Un volume de NaOH 0,30 mM a été ajouté à un volume d'acide picrique 18 mM puis le mélange a été agité avant utilisation. Un mL de cette solution a été mélangé à 200 µL de sérum et les densités optiques ont été lues à 30 s et à 2 mn après au spectrophotomètre à 510 nm contre le blanc. La formule suivante a été utilisée pour déterminer la concentration en créatinine dans le sérum.

$$\text{Créatininémie (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ standard}} \times C. \text{ std}$$

Cstd = concentration du standard

ΔA = variation de l'absorbance

III-2-2-3-4- Détermination des protéines totales plasmatiques

III-2-2-3-4-1- Principe

Les protéines totales ont été dosées par la méthode de **Gornall et al (1949)**. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec les ions Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré donc l'absorbance est proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen et est mesurée à 550 nm. Le réactif de biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions Cu^{2+} et maintiennent leur solubilité en solution alcaline.

III-2-2-3-4-2- Protocole de dosage des protéines plasmatiques

Tableau XI : Méthodologie de dosage des protéines plasmatiques

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Eau distillée	20 µL	-	-
Echantillon	-	-	20 µL
Standard	-	20 µL	-

Les différents tubes ont été bien mélangés et incubés pendant 10 mn à température ambiante. Puis les absorbances des échantillons et de l'étalon ont été lues à 550 nm contre le blanc. La concentration en protéines a été calculée par la formule suivante :

$$\text{Protéïnémie (mg/dl)} = \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ standard}} \times C. \text{ standard}$$

DO échantillon : densité optique de l'échantillon

DO étalon : densité optique de l'étalon

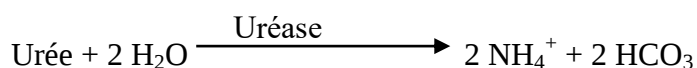
C. standard : concentration du standard

III-2-2-3-5- Dosage de l'urée sérique

Le taux d'urée a été déterminé par la méthode cinétique décrite par **Thomas (1998)** avec le kit Diagnostic System

III-2-2-3-5-1- Principe

L'urée est d'abord hydrolysée en carbonate et en ammoniac en présence de l'uréase. L'ammoniac libéré réagit avec l'acide α cetoglutarique en présence de NADH pour donner le glutamate et le NAD⁺. Le NADH présente un maximum d'absorbance à 340 nm.



GLDH : Glutamate déshydrogénase

III-2-2-3-5-2- Mode opératoire

La solution de travail a été préparée en mélangeant 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2. Le tableau suivant présente le protocole de dosage de l'urée.

Tableau XII : Méthodologie de dosage de l'urée sérique

	Standard	Echantillon
Solution de travail	1000 μL	1000 μL
Echantillon	-	10 μL
Standard	10 μL	-
Total	1010 μL	1010 μL

Les différents tubes ont été mélangés et incubés pendant environ 60 secondes à +25°C/ +30 °C, puis l'absorbance A1 a été lue. Après exactement 60 secondes, l'absorbance A2 a également été lue.

La formule suivante est utilisée pour déterminer la concentration en urée dans le sérum

$$\text{Urée (g/l)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ standard}} \times \text{C. std}$$

C. std = concentration du standard

ΔA = variation de l'absorbance

III-2-2-3- Evaluation de l'activité antihyperglycémique et hypoglycémique des extraits après surcharge orale en glucose des rats normaux.

Cette étude a permis d'évaluer la capacité régulatrice des extraits de champignons dans l'organisme vis-à-vis d'une surcharge glucidique.

III-2-2-3-1- Evaluation de l'activité antihyperglycémique

Les rats de type *Wistar* ont été gavés avec une solution de glucose à une dose de 2g/kg de PC trente minutes après administration des extraits (extraits aqueux et hydroéthanoliques) à une dose de 400 mg/kg de PC d'après le protocole décrit par (**Bechiri- abbes *et al.*, 2016**) et légèrement modifié.

Quarante rats normaux ont été mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation et répartis en 10 groupes de 4 rats, suivant le tableau ci-contre:

Tableau XIII : Répartition des animaux pour le test antihyperglycémique

GROUPE	DESCRIPTION
1-Groupe A	Rats normaux traités avec l'extrait M1aq + glucose
2-Groupe B	Rats normaux traités avec l'extrait M1heth + glucose
3-Groupe C	Rats normaux traités avec l'extrait M2aq + glucose
4-Groupe D	Rats normaux traités avec l'extrait M2heth + glucose
5-Groupe E	Rats normaux traités avec l'extrait M3aq + glucose
6-Groupe F	Rats normaux traités avec l'extrait M3heth + glucose
7-Groupe G	Rats normaux traités avec l'extrait M4aq + glucose
8-Groupe H	Rats normaux traités avec l'extrait M4heth + glucose
9-Groupe I ou Témoin Positif	Rats normaux traités avec l'eau distillée + glucose
10-Groupe J ou Témoin Négatif	Rats normaux traités avec l'eau distillée

Après une légère ponction du bout distal de la queue à l'aide d'un autopiqueur, le sang a été recueilli sur des bandelettes pour la détermination de la glycémie. La première glycémie (glycémie de base) a été déterminée après 12 heures de jeun avant l'administration des différents produits. Juste après la glycémie de base, les extraits ont été administrés par gavage 30 mn avant l'administration du glucose. Par la suite, la glycémie a été observée pendant 1h de temps à des intervalles de 30 mn ceci afin d'observer si les extraits préalablement administrés empêcheraient une élévation de la glycémie après ingestion du glucose.

III-2-2-3-1-1- Principe de la prise de la glycémie par l'utilisation des bandelettes :

Les bandelettes de test SD CodeFree comportent une électrode qui mesure le taux de glucose. Le glucose de l'échantillon sanguin se mélange avec les réactifs de la bandelette produisant un léger courant électrique. L'intensité du courant produit dépend de la quantité de glucose contenu dans l'échantillon sanguin.

III-2-2-3-1-2- Mode opératoire de la prise de la glycémie :

Le lecteur SD CodeFree et SD LipidoCare analyseur mesure le courant créé et le convertit en une mesure glycémique qui s'affiche sur l'écran du lecteur. Le contact d'une goutte de sang (de l'extrémité de la queue) avec l'extrémité de la bandelette de test entraîne automatiquement la migration du sang le long de la bandelette par capillarité vers la cellule de réaction.

III-2-2-3-2- Evaluation de l'activité hypoglycémique

Elle est l'inverse de l'activité antihyperglycémiant. Les rats albinos de type *Wistar* ont d'abord été gavés avec une solution de glucose à une dose de 2 g/kg de PC, puis 30 mn après, ils ont été gavés avec des extraits (extraits aqueux et hydroéthanoliques) à une dose de 400 mg/kg de PC d'après le protocole décrit par (**Bechiri- abbes *et al.*, 2016**) et légèrement modifié.

Quarante rats normaux ont été répartis en 10 groupes de 4 rats et mis à jeun 12 h avant l'expérimentation. Ils ont été répartis comme suit :

Tableau XIV : Répartition des animaux pour le test hypoglycémique

GROUPE	DESCRIPTION
1-Groupe A	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M1aq
2-Groupe B	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M1heth
3-Groupe C	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M2aq
4-Groupe D	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M2heth
5-Groupe E	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M3aq
6-Groupe F	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M3heth
7-Groupe G	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M4aq
8-Groupe H	Rats normaux traités avec du glucose + l'extrait M4heth
9-Groupe I ou Témoin Positif	Rats normaux traités avec du glucose + l'eau distillée
10-Groupe J ou Témoin Négatif	Rats normaux traités avec l'eau distillée

Après une légère ponction du bout distal de la queue à l'aide d'un autopiqueur, le sang a été recueilli sur des bandelettes pour la détermination de la glycémie. La première glycémie (glycémie de base) a été déterminée après 12 heures de jeun avant l'administration des différents produits. Juste après la glycémie de base, le glucose a été administré par gavage 30 mn avant l'administration des extraits. Par la suite, la glycémie a été observée pendant 2h de temps à des intervalles de 30 mn, ceci afin d'observer si les extraits permettraient d'empêcher une élévation importante de la glycémie postprandiale comparativement au témoin positif. Le mode opératoire de la prise de la glycémie a été fait de la même façon que chez le test antihyperglycémique.

III-2-3- Analyses statistiques :

Les données ont été introduites dans une feuille de calcul Excel (Microsoft Office 2007) puis soumises à une analyse ordonnée de variance (ANOVA) à un facteur et les résultats ont été exprimés, sous forme de moyenne $\pm$ écart-type. La normalité de la distribution des valeurs a été évaluée avec le test de Shapiro-Wilk. Les différences entre les moyennes des échantillons ont été comparées et discriminées à l'aide du test de Tukey lorsque les valeurs avaient une distribution normale ou le test de Games-Howell si non. Les corrélations ont été faites à l'aide du test de Pearson. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel SPSS version 20.0 pour Windows, et le seuil de significativité a été fixé à $P < 0,05$.

III-3-Résultats

III-3-1- Etude *in vitro*: screening phytochimique qualitatif des extraits aqueux et hydroéthanoliques:

Les résultats du screening phytochimique qualitatif des meilleurs extraits issus du 2^{ème} chapitre de ce travail ont permis d'obtenir le tableau ci-dessous.

Tableau XV : Screening phytochimique qualitatif

Mélanges	Saponines	Tanins	Flavonoïdes	Anthocyanines	Terpénoïdes
M1aq	+	+	+	+	-
M1heth	+	+	+	+	+
M2aq	+	+	+	+	-
M2heth	+	+	+	+	+
M3aq	+	+	+	+	+
M3heth	+	+	+	+	+
M4aq	+	+	+	+	+
M4heth	+	+	+	+	+

Légende : + = Présence ; - = Absence

M1aq, M1heth, M2aq, M2heth, M3aq, M3heth, M4aq et M4heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique des mélanges 1, 2, 3 et 4.

De ce tableau nous pouvons déjà dire que les extraits de champignons mélangés sont riches en composés phénoliques étudiés.

III-3-2- Etudes *in vivo* :

III-3-2-1- Résultats des paramètres de la toxicité des meilleurs extraits :

III-3-2-1-1- Observation des signes d'intoxications

L'administration d'une dose de 2000 mg/kg de PC des différents extraits sur les rates de type *Wistar* a permis durant une période de deux semaines d'étudier quelques signes de toxicité. Cela a été représenté dans le tableau XVI ci- dessous.

Tableau XVI : Variation de quelques signes de toxicité chez les différents groupes de rates

Signes d'intoxications	M1aq	M1heth	M2aq	M2heth	M3aq	M3heth	M4aq	M4heth	Témoin négatif
Locomotion	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Activité réduite	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspect des fèces	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Aspect urines	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Sensibilité aux bruits	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Appétit	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Difficulté de respiration	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pelage	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Nombre de mort	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Légende : + : affirmative ou oui : - : infirmatif ou non

M1aq, M1heth, M2aq, M2heth, M3aq, M3heth, M4aq et M4heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique des mélanges 1, 2, 3 et 4.

Ce tableau XVI présente les aptitudes comportementales des rats. Il en ressort qu'aucun signe particulier d'intoxication n'a été relevé car les attitudes observées ont été les mêmes dans tous les différents groupes de rates aussi bien chez les rates ayant ingéré les extraits que chez les rates témoins. Il ressort également que durant cette période de toxicité, aucun décès n'a été enregistré.

De plus, le tableau XVII ci-dessous montre une prise de poids observée chez tous les différents lots de rates au bout des 14 jours d'expérimentation, on peut ainsi dire que pour une dose d'extrait de 2000 mg/kg de poids corporelle (PC), les extraits ingérés n'inhibent pas la croissance des rates.

Tableau XVII : Variation du poids des rates dans les différents lots durant les deux semaines d'observation de la toxicité des extraits

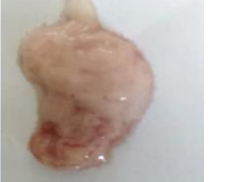
Différents lots de rates	Début toxicité (poids en g)	Fin toxicité (poids en g)	Gain de poids (poids en g)	Taux de croissance (%)
M1aq	404	515	111	27,48
M1heth	402	546	144	35,82
M2aq	401	525	124	30,92
M2heth	400	546	146	36,50
M3aq	409	507	98	23,96
M3heth	402	516	114	28,36
M4aq	398	515	117	29,40
M4heth	417	475	58	13,91
TN	396	528	132	33,33

M1aq, M1heth, M2aq, M2heth, M3aq, M3heth, M4aq et M4heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique des mélanges 1, 2, 3 et 4 et TN= témoin négatif

Toutefois, d'autres paramètres ont été évalués afin de pouvoir confirmer la non toxicité des extraits, il s'agit de l'observation des organes et le dosage de quelques paramètres de toxicité.

III-3-2-1-2- Observation macroscopique des organes :

L'observation macroscopique des différents organes (photographie 2) prélevés après sacrifice des différents groupes de rates au bout des deux semaines d'expérimentations a permis de dire qu'aucun signe d'inflammation des organes chez les rates tests comparativement aux rates témoins négatifs n'a été relevé. Ce qui suggère que les extraits n'ont pas endommagé les organes.

	Reins	Foie	Cœur	Poumon	Pancréas
M1aq					
M1et					
M2aq					
M2et					
M3aq					
M3et					

M4aq



M4et



TN



Photographie 2 : Organes des rates à la fin de l'étude de toxicité aiguë (cliché de l'auteur, 2021)

Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq et heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique dont M1aq correspond à l'extrait aqueux du mélange 1, M1heth correspond à l'extrait hydroéthanolique du mélange 1 ainsi de suite, TN étant le témoin négatif.

III-3-2-1-3- Dosage de quelques marqueurs biochimiques de toxicité

La figure 18 ci-dessous présente les résultats issus du dosage de quelques paramètres de toxicité. Les valeurs usuelles recommandées pour ces paramètres étant : protéinémie 60,1 – 79,1 g/L, créatinémie 36 - 59,2 mg/L, ASAT 6- 25 UI/L, ALAT 6 – 25 UI/L et urémie 38 – 72 mg/dL (Garthoff, 2005).

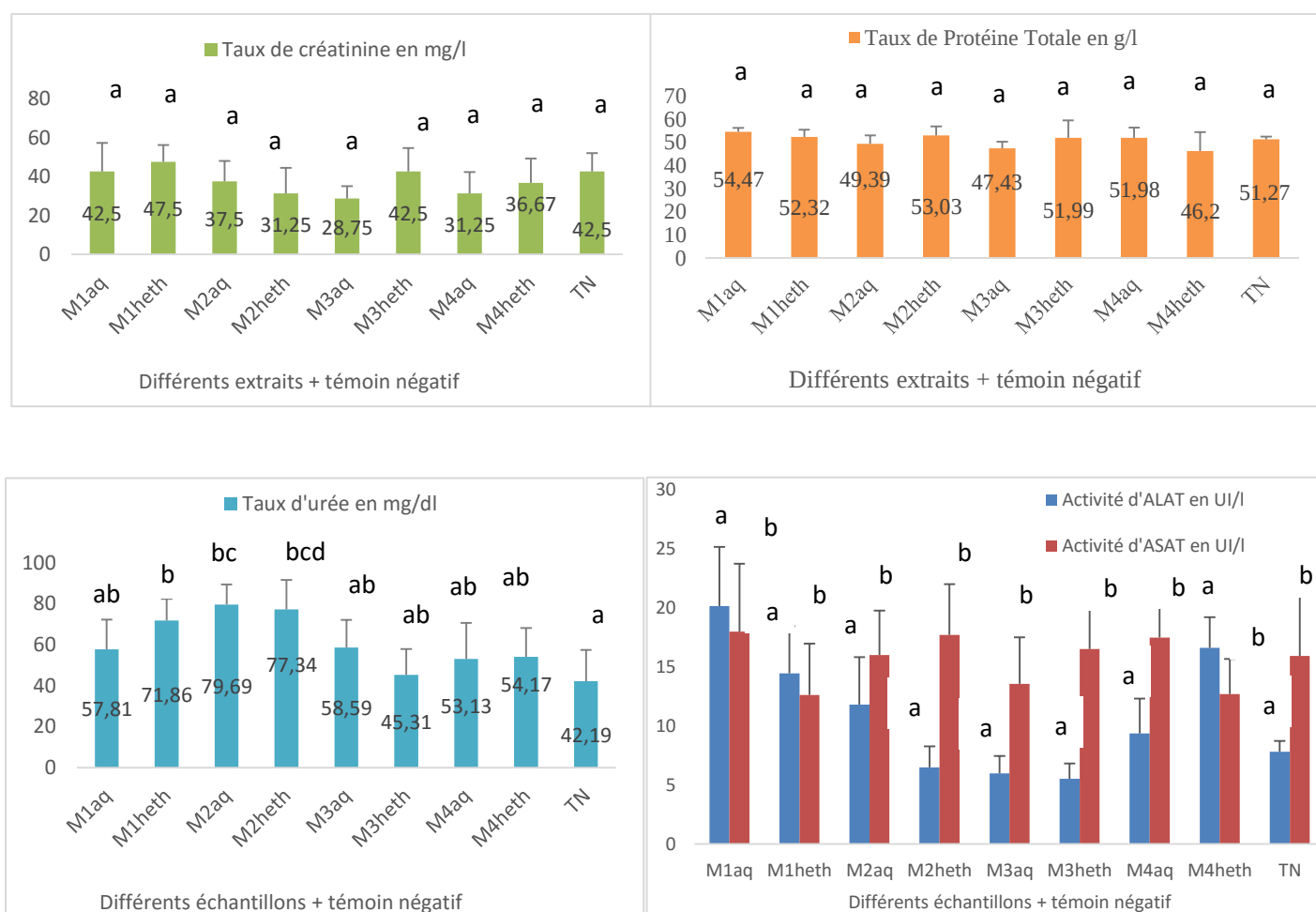


Figure 19 : Paramètres biochimiques de toxicité chez les rates

Légende: M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq et heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique dont M1aq correspond à l'extrait aqueux du mélange 1, M1heth correspond à l'extrait hydroéthanolique du mélange 1 ainsi de suite, TN étant le témoin négatif. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n = 4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative et les lettres différentes représentent une variation significative ($p < 0,05$: significatif ; $p > 0,05$: non significatif).

Au regard de la figure 18 et des valeurs usuelles des différents paramètres biochimiques, on constate qu'aucun groupe (ni les groupes de rats essais ni le groupe de rats témoin négatif) n'a présenté un taux normal de protéines dans le sang. Concernant le taux d'urée, seuls deux groupes n'ont pas présenté un taux normal d'urée, il s'agit de l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique du mélange 2. Pour la créatinémie, on note que trois groupes n'ont pas présenté un taux normal de créatinine, il s'agit des extraits aqueux des mélanges 3 et 4 et l'extrait hydroéthanolique du mélange 2. Par ailleurs, s'agissant des activités de l'ASAT et de l'ALAT, tous les différents groupes ont présenté une activité normale d'ASAT et seuls deux groupes ont présenté une activité anormale de l'ALAT,

notamment les extraits aqueux et hydroéthanolique du mélange 3. Toutefois, que ce soit le taux de protéinémie, de créatinémie, d'ASAT ou d'ALAT, il n'existe pas de variation significative ($p>0,05$) entre les différents groupes essais et le groupe témoin négatif. Juste chez le taux d'urémie qu'on a observé une variation significative ($p<0,05$) entre le groupe témoin négatif et quelques groupes essais : l'extrait hydroéthanolique du mélange 1, l'extrait aqueux du mélange 2 et l'extrait hydroéthanolique du mélange 2.

III-3-2-2- Evaluation de l'activité antihyperglycémique des extraits :

Le tableau XVIII ci-dessous présente l'évolution de la glycémie pendant une heure après ingestion des extraits de champignons mélangés par les rats suivie d'un gavage avec une solution de surcharge de glucose. En effet, ce tableau nous présente 10 essais parmi lesquels 8 représentent les meilleurs extraits sélectionnés à l'issue du chapitre précédent et les 2 autres représentent le témoin positif (TP) et le témoin négatif (TN). Sur le tableau XVIII, 30 mn après ingestion des extraits et du glucose, on a observé une augmentation de la glycémie chez tous les essais. L'essai TN ayant la glycémie la plus basse car les rats de ce groupe ont ingéré uniquement de l'eau. Pour ce qui est des autres essais, nous avons constaté à T_{30} que tous les extraits présentent une augmentation de la glycémie mais qui est inférieure à l'augmentation observée chez le témoin positif : les extraits ont présenté ainsi une capacité à limiter l'augmentation de la glycémie après un repas, le meilleur extrait étant l'extrait aqueux du mélange 3 (M3aq) où on a observé juste une augmentation de la glycémie de 0,3 g/L contre une augmentation de 0,62 g/L chez le témoin positif.

A l'exception de l'extrait hydroéthanolique du mélange 2, on n'a pas observé de variation significative ($p>0,05$) entre les différents groupes à T_0 . Mais à T_{30} , on a observé une augmentation significative ($p<0,001$) de la glycémie entre le groupe TN et les autres différents groupes (extraits et TP). Aussi, à T_{60} , on a observé une baisse significative ($p<0,001$) de la glycémie entre le groupe TN et les autres groupes et une baisse significative entre le groupe TP et les groupes M1heth + Glu, M2aq + Glu et M2heth + Glu.

Tableau XVIII: Résultats de l'activité antihyperglycémique

Temps	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	Augmentation de la glycémie de T ₀ à T ₃₀
Extraits				
M1aq + Glu	0,85±0,21 ^a	1,43±0,07 ^a	1,11±0,16 ^a	0,58
M1heth + Glu	0,92±0,17 ^a	1,34±0,12 ^a	1,19±0,05 ^b	0,42
M2aq + Glu	0,88±0,14 ^a	1,49±0,22 ^a	1,18±0,09 ^c	0,61
M2heth + Glu	1,10±0,13 ^b	1,46±0,09 ^a	1,28±0,07 ^d	0,36
M3aq + Glu	1,00±0,09 ^a	1,3±0,20 ^a	1,04±0,10 ^a	0,3
M3heth + Glu	0,93±0,13 ^a	1,52±0,12 ^a	1,07±0,08 ^a	0,57
M4aq + Glu	0,81±0,05 ^a	1,35±0,14 ^a	0,98±0,13 ^a	0,54
M4heth + Glu	0,85±0,1 ^a	1,37±0,1 ^a	0,95±0,22 ^a	0,52
Eau + Glu (TP)	0,85±0,13 ^a	1,47±0,15 ^a	0,97±0,05 ^a	0,62
Eau (TN)	0,71±0,13 ^a	0,82±0,11 ^b	0,65±0,01 ^e	0,11

Légende : M1aq, M1heth, M2aq, M2heth, M3aq, M3heth, M4aq et M4heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique des mélanges 1, 2, 3 et 4, Glu = glucose, TP = témoin positif et TN= témoin négatif. Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type, n = 4. Les moyennes rangées par colonne affectées des lettres différentes sont significatives (p<0,05 : Significatif).

III-3-2-3- Evaluation de l'activité hypoglycémique des extraits

Après administration d'une dose de 2000 mg/kg de PC du glucose suivie 30 mn après d'un gavage par des extraits à une dose de 400 mg/kg de PC sur des rats albinos normaux mâles, les résultats obtenus ont été consignés dans le tableau XIX ci-dessous. De ce tableau, il en ressort que, comparé au témoin positif où on a observé de T₀ à T₃₀ une élévation de la glycémie de 0,17 g/L, le meilleur extrait a été l'extrait M3heth. En effet, chez ce dernier, après ingestion du glucose, au lieu d'observer une augmentation de la glycémie on a plutôt une diminution de la glycémie à T₃₀ de 0,06 g/L. Ce qui montre que cet extrait a empêché une élévation de la glycémie postprandiale. Puis, nous avons l'extrait M4heth où à T₃₀ on a juste une augmentation de la glycémie de 0,06 g/L, ensuite l'extrait M1heth avec à T₃₀ une augmentation de la glycémie de 0,11 g/L et enfin les extraits M2heth et M3aq où à T₃₀ on a une augmentation de 0,13 g/L. Les trois autres extraits restants à savoir M1aq, M2aq et M4aq ont présenté à T₃₀ une élévation de la glycémie supérieure au témoin positif. On constate ainsi que de T₀ à T₃₀, les meilleurs extraits capables d'inhiber l'augmentation de la glycémie après ingestion d'une solution en surcharge de glucose ont été les extraits hydroéthanoliques avec le mélange 3 comme meilleur mélange de tous.

Aussi, de ce tableau il en ressort également que, comparé au début de l'expérimentation (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_{120}), la glycémie des rats témoins positif était au départ de $0,89 \pm 0,14$ g/L et à la fin de l'expérimentation, elle a été de $0,82 \pm 0,08$ g/L; donc elle oscille toujours autour de 0,8. On a observé juste une différence de glycémie de 0,07 g/L. Par contre, chez les extraits, on a observé une différence considérable de la glycémie à la fin de l'expérimentation, les meilleurs extraits étant respectivement M1heth, M3heth, M4aq, M2heth, M1aq, M3aq et M4heth avec une différence de glycémies respectivement de 0,23 g/L, 0,22 g/L, 0,21 g/L, 0,18 g/L, 0,15 g/L et de 0,11 g/L pour les deux derniers extraits. L'extrait M2aq étant l'extrait ayant la plus faible activité car à la fin de l'expérimentation on a observé une différence de la glycémie de 0,04 g/L: inférieure à celle du témoin positif qui est de 0,07 g/L. Les meilleurs mélanges étant les mélanges 1 et 3. Par ailleurs, le tableau XIX ci-dessous a permis également de constater que, bien qu'à T_{30} on observe une augmentation de la glycémie chez les différents lots essais et témoin positif, on constate tout de même qu'à T_{120} tous les différents lots essais et témoin positif sont revenus à une glycémie inférieure à celle de départ (T_0).

L'analyse statistique montre que 30 mn (T_{30}) après ingestion des extraits et du glucose, on a observé une augmentation significative ($p < 0,05$) entre le groupe témoin positif et le groupe ayant ingéré l'extrait M2aq, ainsi qu'une augmentation significative ($p < 0,05$) entre le groupe témoin positif et le groupe témoin négatif. De même, à la fin de l'expérimentation (T_{120}), les mêmes tendances de variations significatives ont été observées entre ces différents groupes.

Tableau XIX : Résultats de l'activité hypoglycémique

Temps	T0	T30	T60	T90	T120	Différence de variation de la glycémie de T0 à T120
Extraits						
M1aq	$0,91 \pm 0,05^a$	$1,17 \pm 0,08^a$	$0,98 \pm 0,05^a$	$0,76 \pm 0,05^b$	$0,76 \pm 0,02^a$	0,15
M1heth	$1,04 \pm 0,08^a$	$1,15 \pm 0,09^a$	$0,97 \pm 0,08^a$	$0,85 \pm 0,02^a$	$0,81 \pm 0,05^a$	0,23
M2aq	$0,95 \pm 0,1^a$	$1,26 \pm 0,06^b$	$0,92 \pm 0,03^a$	$0,87 \pm 0,05^a$	$0,91 \pm 0,01^a$	0,04
M2heth	$1,02 \pm 0,13^a$	$1,15 \pm 0,10^a$	$0,91 \pm 0,06^a$	$0,87 \pm 0,039^a$	$0,84 \pm 0,03^a$	0,18
M3aq	$0,98 \pm 0,2^a$	$1,11 \pm 0,07^a$	$0,91 \pm 0,13^a$	$0,86 \pm 0,18^a$	$0,87 \pm 0,12^a$	0,11
M3heth	$1,02 \pm 0,08^a$	$0,96 \pm 0,1^a$	$0,89 \pm 0,02^a$	$0,83 \pm 0,06^a$	$0,80 \pm 0,03^a$	0,22
M4aq	$0,97 \pm 0,14^a$	$1,24 \pm 0,15^c$	$1,13 \pm 0,38^a$	$0,81 \pm 0,19^a$	$0,76 \pm 0,00^a$	0,21
M4heth	$1,00 \pm 0,1^a$	$1,06 \pm 0,04^a$	$0,96 \pm 0,03^a$	$0,86 \pm 0,02^a$	$0,89 \pm 0,03^a$	0,11
TP	$0,89 \pm 0,14^a$	$1,06 \pm 0,08^a$	$0,93 \pm 0,12^a$	$0,89 \pm 0,11^a$	$0,82 \pm 0,08^a$	0,07
TN	$1,00 \pm 0,05^a$	$0,89 \pm 0,09^d$	$0,74 \pm 0,13^a$	$0,74 \pm 0,08^c$	$0,67 \pm 0,13^a$	0,33

Légende : M1aq, M1heth, M2aq, M2heth, M3aq, M3heth, M4aq et M4heth sont respectivement les différents extraits aqueux et hydroéthanolique des mélanges 1, 2, 3 et 4, Glu= glucose, TP= témoin positif et TN= témoin négatif. Les valeurs sont les moyennes $\pm$ l'écart type, n=4. Les moyennes rangées par colonne affectées des lettres différentes sont significatives ($p < 0,05$: Significatif).

III-3-3- Corrélation entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et les tests hypoglycémique et antihyperglycémique :

Le tableau de corrélation de Pearson ci-dessous (tableau XX) nous montre qu'il existe une corrélation positive mais non significative entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et les tests hypoglycémique et antihyperglycémique.

Tableau XX : Corrélation entre les tests antioxydants - teneur en composés phénoliques et les tests hypoglycémique et antihyperglycémique

	Test Hypoglycémique	Test Antihyperglycémique
Test DPPH	0,051	0,035
Sig. (bilatérale)	0,393	0,598
Test FRAP	0,042	-0,063
Sig. (bilatérale)	0,573	0,450
Test ABTS	0,054	0,066
Sig. (bilatérale)	0,529	0,486
Teneur en composés phénoliques	0,106	0,032
Sig. (bilatérale)	0,511	0,863

**. La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral).

III-4- Discussion

Les plantes médicinales sont une importante source thérapeutique partout dans le monde. En effet, près de la moitié des médicaments utilisés aujourd'hui a une composition d'origine végétale et le quart renferme des extraits de plantes ou des molécules actives provenant directement des plantes. Cependant il est à noter qu'à peine 2000 à 3000 plantes ont fait l'objet d'études scientifiques, chimiques ou pharmacologiques (**Sen et Chakraborty, 2011**). Les champignons comestibles, bien qu'ils n'appartiennent pas au règne des végétaux, constituent tout de même des légumes à part entière avec des propriétés thérapeutiques et sont utilisés sur le plan médicinal comme les plantes (**Holzer, 2011**).

III-4-1- Screening phytochimique qualitatif des extraits aqueux et hydroéthanoliques:

Le screening phytochimique est une étape primordiale qui permet de détecter la présence dans les plantes médicinales des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs. Les extraits des végétaux comme les huiles essentielles et les extraits bruts de plantes sont connus pour leurs nombreuses propriétés biologiques (activité antibactérienne, anti-oxydante, anti-inflammatoire, analgésique...) (**Sen et Chakraborty, 2011**).

Aussi, de nombreux chercheurs stipulent que l'utilisation traditionnelle des plantes aide à soigner de nombreuses maladies telles que les céphalées, le diabète, la fièvre, la migraine, les œdèmes, le rhumatisme, l'ulcère gastrique...(**Allali et al., 2008**). Il a été démontré par plusieurs travaux réalisés que les métabolites secondaires sont des indicateurs importants pour certaines activités pharmacologiques. Les flavonoïdes sont doués de propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et analgésiques (**Du et al., 2002 ; Lyu et Park, 2005**) ; les tannins possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et ont une fonction de protection contre le rayonnement UV et le stress oxydatif (**Scalbert et al., 2002**) ; les saponines sont utilisées en thérapie pour leurs effets anti-inflammatoires, antioxydants et anti-cancéreux... (**Franchomme et al, 2001**).

C'est dans ce sens que le screening phytochimique des meilleurs extraits (extraits aqueux et hydroéthanoliques) du 2^{ème} chapitre de ce document a été évalué afin de confirmer tout d'abord le test de Folin qui montrait déjà la présence des composés phénoliques dans les extraits. Puis il était question de savoir quels métabolites secondaires et donc quels composés phénoliques étaient présents dans les meilleurs extraits et qui pourraient être à l'origine de l'activité antioxydante et de la capacité de ces extraits à inhiber les enzymes digestives du glucose. Il en ressort donc que les extraits renferment effectivement les métabolites secondaires dont les composés phénoliques évalués ici sont les saponines, les tanins, les anthocyanes, les flavonoïdes et les terpénoïdes. Ces composés pourraient donc être à l'origine du pouvoir antioxydant des extraits de champignons mélangés et pourraient contribuer à l'inhibition des enzymes digestives du glucose.

L'hyperglycémie postprandiale se manifeste par des excursions glycémiques excessives après le repas qui par contre reste limités chez les sujets sains. La dégradation du contrôle glycémique post prandial est une première étape vers l'intolérance au glucose qui augmente le risque de développer ultérieurement un diabète de type 2. Une des approches thérapeutiques importantes pour prévenir l'hyperglycémie postprandiale est le ralentissement de la digestion et l'absorption intestinale des glucides alimentaires après un repas par

l'inhibition des enzymes digestives ceci par l'usage des médicaments hypoglycémiantes (**Ali et al., 2006 ; Lee et al., 2010**). Mais, ces derniers ont généralement des effets secondaires notamment une diminution de l'efficacité au fil du temps, une inefficacité contre les complications diabétiques à long terme et un faible rapport coût-efficacité (**Grover et al., 2002**). Par conséquent, la découverte et le développement de nouveaux médicaments hypoglycémiantes sont encore plus indispensables. En effet, Les plantes sont une source inépuisable de nouvelles substances à potentialité thérapeutique. D'où l'utilisation de leurs extraits comme une pratique courante en médecine traditionnelle. La majorité des médicaments actuels sont d'origine végétale (extraits) ou bien sont fabriqués à partir de leur modèle par une synthèse chimique des principes actifs (**Bnouham et al., 2002**). Dans le cadre de la lutte contre l'hyperglycémie voire l'hyperglycémie chronique, il était question pour ce chapitre de mettre en évidence le potentiel hypoglycémiant et antihyperglycémiant des mélanges de champignons pleurotes. L'hyperglycémie pouvant être induit soit temporairement à partir d'une solution de glucose soit définitivement par contact avec des agents tel que l'alloxane ou la streptozotocine (**Wolfraun et al., 2007 ; Hanhineva et al., 2010**). Pour ce chapitre, il s'agissait d'une induction temporaire par une solution de glucose.

Toutefois, avant la mise en évidence de l'activité hypoglycémique et antihyperglycémique des extraits retenus au chapitre précédent, il était nécessaire d'évaluer leur toxicité.

III-4-2- Toxicité des extraits aqueux et hydroéthanoliques:

Le test de toxicité n'a présenté aucun signe véritable de toxicité tant sur le plan physique, comportemental et physiologique des animaux. En effet, durant les deux semaines d'observation de la toxicité des extraits, on a constaté un gain de poids chez tous les différents lots de rates tout comme chez le lot de rates témoins négatifs. Ce qui pourrait s'expliquer par le fait que, pour une dose d'extrait à 2000 mg/kg de PC administrée aux rates, celles-ci manifestent une réponse normale d'adaptation physiologique (**Rhiouani et al., 2008**). Ce résultat pourrait encore signifier que les extraits n'entraînent pas une perte d'appétit chez les rates qui pourrait occasionner une diminution de l'apport nutritionnel et par voie de conséquence, une perte de poids. De même, pour les paramètres biologiques étudiés, bien qu'on observe une différence significative du taux d'urée entre les différents lots extraits et le lot témoin négatif, il n'en est pas le cas pour les quatre autres paramètres biologiques étudiés où on n'observe pas de variation significative entre les différents lots. Ce qui confirmerait davantage le fait que les extraits ne présentent aucune toxicité.

En effet, l'ALAT et l'ASAT sont des marqueurs de la toxicité hépatique et leurs taux sériques élevés renseignent sur une lésion des hépatocytes (**Kumar et al., 2004**), mais étant donné qu'aucune différence significative n'a été observée entre le groupe témoin négatif et les essais, on peut dire que pour une dose d'extrait administrée à 2000 mg/kg PC, les extraits n'ont pas perturbé les taux sériques de ces transaminases bien que les valeurs seuils n'aient pas été atteintes. En effet le fait que le groupe témoin négatif ne présente pas également la valeur seuil pourrait s'expliquer par le fait que ce n'est pas l'ingestion de l'extrait qui serait à l'origine de cela mais un autre paramètre qui pourrait être propre à tous les différents groupes de rates, soit l'habitat, soit l'alimentation ou autres, et donc par rapport au groupe témoin négatif, aucun dommage du foie n'a été causé. Aussi, les concentrations sériques de l'urée, de la protéine et de la créatinine qui sont les marqueurs d'atteinte de la fonction rénale (**Hilaly et al., 2004**) n'ont pas varié significativement en présence des extraits. L'administration des extraits n'a pas modifié significativement les valeurs sériques de l'ensemble des paramètres biochimiques des marqueurs d'atteinte du rein, du cœur et du foie par rapport aux rates du lot témoin négatif, ce qui suggère que les extraits n'ont pas affecté ces organes vitaux.

III-4-3- Evaluation de l'activité antihyperglycémique des extraits aqueux et hydroéthanoliques:

S'agissant du test antihyperglycémique, il apparaît qu'au vue du témoin positif où on a à T₃₀ une augmentation de la glycémie de 0,62 g/L, les différents extraits présentent une capacité à limiter l'augmentation de la glycémie car ils présentent à T₃₀ une augmentation de la glycémie inférieure à celle du témoin positif (tableau XVIII). Cette capacité des extraits à limiter l'augmentation de la glycémie pourrait être due à leur potentiel antioxydant. En effet, d'après **Pyo et al. (2004)**, les antioxydants sont susceptibles de détruire les radicaux libres et d'améliorer la sécrétion de l'insuline. En effet, les antioxydants peuvent agir par divers mécanismes notamment permettre une meilleure absorption du glucose dans les tissus périphériques, permettre la stimulation de la sécrétion de l'insuline des cellules β du pancréas, favoriser une diminution de la glycation des protéines circulantes, telle que l'hémoglobine glyquée (**Kulawik et al., 2013**). Cette capacité des extraits à limiter l'augmentation de la glycémie pourrait également s'expliquer selon **Mangano et Williamson (2010)** par le fait que les polyphénols et l'acide phénolique sont utiles dans la prévention de l'hyperglycémie chronique. En effet, ils provoquent la réduction de l'absorption intestinale du glucose qui réduit ainsi les pics de glycémie qui suivent les repas. Ainsi donc la faculté des extraits à limiter le pic de glycémie pourrait être due aux composés phénoliques qu'ils renferment.

Ces hypothèses de l'inhibition et de la baisse de la glycémie par les antioxydants pourraient être confirmées par la corrélation positive observée entre les tests antioxydants-teneurs en composés phénoliques et les tests hypoglycémique et antihyperglycémique. Par ailleurs, la non significativité de cette corrélation pourrait être due à la présence d'autres composés qui seraient aussi présents dans les champignons et qui auraient des propriétés hypoglycémique et antihyperglycémique.

III-4-4- Effet bénéfique deuxième des mélanges de champignons pleurotes:

L'efficacité des extraits à la dose de 400 mg/kg de PC pourrait aussi être attribuée à l'effet synergique des champignons mélangés. En effet, les études menées par **Etoundi et al. (2018)**, sur l'activité antihyperglycémiant des extraits individuels de *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus pulmonarius* montraient que ces deux extraits de champignons présentaient une activité à la dose de 800 mg/Kg de PC et aucune activité à la dose de 400 mg/Kg de PC. Dans ces travaux de 2018, à T₃₀, tous les extraits présentaient une augmentation de la glycémie supérieure à celle du témoin positif. Par contre, nous constatons ici que le mélange des champignons produit l'effet inverse : à 400 mg/kg de PC, tous les extraits présentent une glycémie inférieure au témoin positif à T₃₀ (tableau XVIII) et donc présentent une activité antihyperglycémiant à cette dose. D'où l'efficacité et l'utilité du mélange. On constate également de ce test qu'à T₆₀ la glycémie de tous les rats a diminué (tableau XVIII). Ceci pourrait s'expliquer par le bon fonctionnement d'un organisme qui, 1h après ingestion d'un aliment transforme cet aliment en nutriment et précisément en glucose qui est ensuite transporté du sang vers les différents organes cibles où il sera utilisé pour les différentes réactions métaboliques de l'organisme.

III-4-5- Evaluation de l'activité hypoglycémique des extraits aqueux et hydroéthanoliques:

On constate du test hypoglycémique que les extraits présentent une capacité à limiter l'augmentation de la glycémie. En effet, à T₃₀, les extraits M3heth, M4heth, M1heth, M2heth et M3aq présentent une glycémie inférieure au TP (tableau XIX). De même, au vue des glycémies à T₁₂₀, on constate que les extraits à l'exception de M2aq présentent un potentiel hypoglycémiant. En effet, au bout de 2h de temps après ingestion d'une solution saturée en glucose, la glycémie des rats ayant ingéré les extraits n'est pas seulement retournée à la normale, mais elle est devenue considérablement inférieure à la glycémie de départ contrairement aux rats témoins positif. Pour ces derniers, la glycémie est juste retournée à la normale au bout de 2 h de temps. Ceci étant, pour des sujets présentant une hyperglycémie

chronique et non traités, au bout de 2 h de temps après consommation d'un repas riche en glucides, la glycémie sera tout simplement retournée à la glycémie de départ (qui est une glycémie supérieure à la normale car la glycémie diabétique à jeun est supérieure à 1,26 g/L). Par contre, pour des sujets présentant une hyperglycémie chronique et traités ou ayant consommé les mélanges de champignons, leur glycémie pourrait au bout de 2 h de temps après un repas revenir à la glycémie normale. D'où, les champignons pourraient aider à traiter l'hyperglycémie mais également pourraient aider les diabétiques à réguler leur glycémie tout en évitant les complications associées au diabète.

L'hypoglycémie et la réduction de l'hyperglycémie observées chez les rats traités avec les extraits de champignons mélangés pourraient alors s'expliquer par une stimulation de la sécrétion de l'insuline par le pancréas et/ou, probablement, par une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose en présence des extraits (Yasodha *et al.*, 2008).

III-5- Conclusion partielle

Au terme des travaux de ce chapitre dont le but après évaluation du screening phytochimique des meilleurs extraits du chapitre précédent était d'une part d'étudier la toxicité de ces meilleurs extraits sur des rates saines suivi d'autres part de l'étude de leur effet sur des rats dont on a provoqué un état d'hyperglycémie, il en ressort de ces études que :

- Les extraits aqueux et hydroéthanoliques qui ont été les meilleurs extraits du chapitre précédent sont riches en métabolites secondaires précisément en saponines, en tanins, en anthocyanes, en flavonoïdes et en terpénoïdes ;
- Ces extraits ne présentent aucun signe notable de toxicité tant sur le plan comportemental que physiologique ;
- A une dose de 400 mg/kg de PC, ces extraits de champignons inhibent et diminuent significativement la glycémie postprandiale avec le mélange 3 comme meilleur mélange.

Des conclusions qui précèdent, nous constatons que les champignons mélangés peuvent aider à prévenir l'hyperglycémie et à baisser la glycémie après une alimentation riche en glucides. Ce qui pourrait contribuer à prévenir et/ou à traiter une hyperglycémie voire une hyperglycémie chronique. De même, des tests qui précèdent, il ressort que le meilleur mélange a été le mélange 3. Ainsi, ayant apprécié les effets de ce mélange sur la glycémie post prandiale, nous nous sommes posés la question de savoir quel serait son effet à long terme ? Plus précisément, quel serait l'effet de la supplémentation journalière en ce mélange sur les rats ayant une alimentation hypercalorique sur une durée d'un mois ? Mais avant de répondre à cette question, il était nécessaire pour nous d'étudier la teneur en quelques

nutriments de ce mélange 3 afin de savoir ce qu'il en est de sa composition nutritionnelle. Ces différents travaux ont fait l'objet du chapitre qui suit.

**CHAPITRE IV : TENEUR EN
NUTRIMENTS ET INFLUENCE DU
MELANGE 3 SUR LES RATS SOUMIS A
UN REGIME HYPERCALORIQUE
(ALIMENTATION RICHE EN SUCRE ET
EN GRAISSE).**

IV-1- Introduction partielle

L'hyperglycémie est généralement la résultante d'une mauvaise alimentation c'est-à-dire d'une alimentation hypercalorique (**IDF, 2009**). Toutefois, la revue a permis de constater que ces désordres métaboliques peuvent être remédiés par plusieurs pistes de traitements à l'instar des antioxydants, des inhibiteurs des enzymes digestives des glucides et lipides, des hypoglycémisants... Par ailleurs, ces différentes pistes renvoient aux différentes propriétés que renferment les mélanges de champignons tels qu'étudiés dans les chapitres 2 et 3. Ainsi, si le mélange de champignons à lui seul renferme plusieurs pistes de traitements, cela supposerait qu'il pourrait aider dans la prévention et le traitement de l'hyperglycémie : à prévenir de ce fait l'hyperglycémie chronique qui est la forme pathologique de l'hyperglycémie. Afin de confirmer cette hypothèse, il a été question dans ce chapitre d'étudier l'effet de la supplémentation journalière du meilleur mélange des champignons issu du chapitre précédent sur les rats ayant une alimentation hypercalorique (alimentation riche en aliments sucrés et en graisse) sur un mois. Il s'agissait plus précisément :

- De déterminer la teneur en quelques nutriments du meilleur mélange : mélange 3 sous sa forme crue et cuite ;
- D'étudier l'influence de la supplémentation journalière en extrait (extrait aqueux) et en poudre du mélange 3 sur l'évolution du poids et de la glycémie des rats soumis à une diète hypercalorique ;
- D'étudier l'influence de la supplémentation journalière en extrait (extrait aqueux) et en poudre du mélange 3 sur quelques paramètres biochimiques des rats soumis à un régime hypercalorique.

IV-2- Matériel et méthodes

IV-2-1- Evaluation de la teneur en quelques nutriments du mélange 3 sous sa forme crue et cuite :

Les champignons cuits ont été préparés tel que décrit à l'annexe 5, puis ont été séchés à l'étuve et broyés dans un robot mixeur afin d'évaluer la teneur en quelques nutriments dans la poudre (le broyat) obtenue. Les champignons crus quant à eux ont été simplement séchés et broyés.

IV-2-1-1- Teneur en eau et en matières sèches :

IV-2-1-1-1- Principe

La méthode de référence pour la détermination de la teneur en eau dans les aliments

est la méthode thermogravimétrique. Elle consiste à l'élimination de l'eau par application de fortes températures de séchage en nécessitant l'usage d'une étuve ventilée ou d'un four à vide ainsi que d'un dessiccateur contenant un agent desséchant (UIPAC, 1979).

IV-2-1-1-2- Mode opératoire

Dans des creusets préalablement tarés, on pèse environ 3 g (M_1) de poudre de champignons qu'on introduit dans ces creusets, l'ensemble creuset et poudre donne une nouvelle masse : M_2 . Puis, ces creusets sont soumis à une élimination de l'eau par chauffage à 105°C pendant 12h sous pression atmosphérique dans une étuve ventilée de marque « Venticell (MM-group) » jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante. Après séchage, les creusets sont retirés de l'étuve, refroidis dans un dessiccateur, et pesés (M_3).

La teneur en eau (TE) et en matière sèche (MS) ont été déterminée comme suit :

$$TE (\%) = \frac{M_2 - M_3}{M_1} \times 100$$

Avec M_2 étant la masse du creuset et de l'échantillon avant séchage.

M_3 étant la masse du creuset et de l'échantillon après séchage.

M_1 la masse de l'échantillon pesée.

La matière sèche a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$MS (\%) = 100 - TE$$

IV-2-1-2- Teneur en lipides :

IV-2-1-2-1- Principe

Les lipides des champignons séchés ont été extraits à chaud par reflux dans un appareil nommé Soxhlet. L'extraction est basée sur la solubilité différentielle des lipides pendant une durée de 4 heures environ dans un solvant organique tel que l'hexane. (Bourelly, 1982).

IV-2-1-2-2- Mode opératoire :

Cinq grammes de poudre (masse échantillon soit $M_{ech.}$) de chaque mélange de champignons ont été pesés et introduits dans la cartouche, l'ensemble cartouche plus poudre a donné une masse M_1 . Pour chaque mélange de champignons, la pesée a été faite en triplicate. Les cartouches de celluloses ont ensuite été introduites dans l'extracteur avec 100 ml d'hexane. A la base de l'extracteur l'on a fixé un ballon contenant 200 ml d'hexane et, sur l'orifice supérieur de l'extracteur un réfrigérant où circule l'eau glacée permettant la condensation rapide du solvant. Ensuite, le ballon a été chauffé de sorte que l'hexane bouillonne et ce durant 4 heures minimum pour que le solvant contenant la matière grasse

dans l'extracteur retourne dans le ballon par déversement successif causé par un effet de siphon dans le coude latéral. La matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Après extraction le chauffage a été arrêté, les cartouches de cellulose ont été récupérées et séchées pendant environ 10 mn à l'étuve à une température de 45°C et pesées (M_2).

La teneur en lipide a été calculée suivant la formule suivante :

$$\% L = \frac{M_1 - M_2}{M_{ech}} \times 100$$

Avec M_1 : masse de l'échantillon + cartouche avant extraction.

M_2 : masse de l'échantillon + cartouche après extraction et séchage.

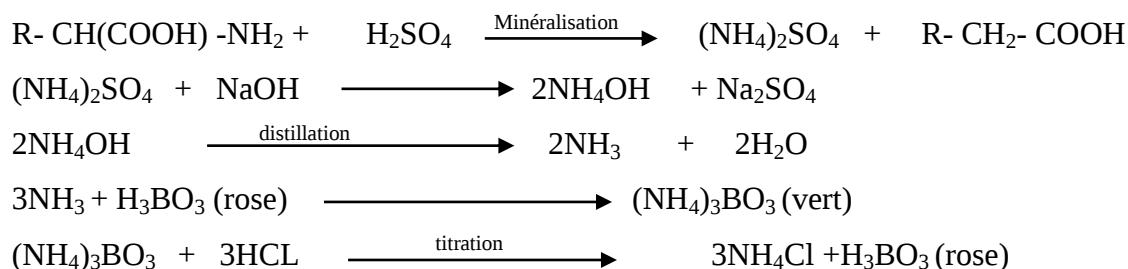
M_{ech} : masse de l'échantillon pesée.

IV-2-1-3- Teneur en protéines : dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl :

IV-2-1-3-1- Principe

Il est basé sur la détermination de la teneur en azote par minéralisation. L'oxydation de la matière organique azotée par l'acide sulfurique concentré à chaud libère l'azote qui est fixé sous forme de sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$. Après alcalinisation par la soude (NaOH 40%), l'ammoniac (NH_3) formé est distillé, capté par l'acide borique et dosé par titrimétrie.

(AOAC, 1980)



IV-2-1-3-2- Mode opératoire :

IV-2-1-3-2-1- Minéralisation

Dans des tubes de minéralisation, 0,1 g (M_s) d'échantillon de poudre de champignon, 7 mL d'un mélange d'acide sulfurique concentré et d'acide salicylique et 0,2 g de catalyseur Merk (sulfate de cuivre, sulfate de potassium et sélénium) ont été respectivement introduits. Ce mélange a ensuite été chauffé sur une plaque de minéralisation (BÜCHI ROTAVAPOR R-124 : BÜCHI WATER BATH B 480) sous une hotte ventilée jusqu'à l'obtention d'une solution de couleur incolore de volume (V).

IV-2-1-3-2-2- Distillation.

Le produit issu de la minéralisation a été placé à l'entrée d'un distillateur automatique de type micro Kjeldahl (BÜCHI 315). Puis 20 mL de NaOH 40 % y a été ajouté (jusqu'à apparition de la couleur cuivrique) pour neutraliser l'acidité due à l'acide sulfurique, et surtout augmenter le pH au-dessus de 9 afin de faciliter l'évaporation de l'ammoniac. A la sortie de cet appareil, un erlenmeyer contenant 20 mL d'acide borique et quelques gouttes d'indicateurs colorés (rouge de méthyle et le vert de bromocrésol) a été placé de façon à immerger la sortie du réfrigérant pour capter l'ammoniac distillé. La distillation a été arrêtée lorsque le distillat a atteint un volume de 200 mL dans l'erlenmeyer présentant la coloration verte.

IV-2-1-3-2-3- Titration

Elle a été réalisée en notant le volume (V_1) de HCl 0,01N qui fait virer la coloration vert clair du distillat au rose violacé.

Parallèlement, un essai à blanc a été réalisé dans les mêmes conditions et (V_0) noté. Ceci pour déceler les traces d'azote provenant des réactifs. La teneur en azote dans l'échantillon a été déterminée par la formule ci-après :

$$\% N = \frac{(V_1 - V_2) \times 0,14}{V \times MS} \times 100$$

Où V est le volume de la solution minéralisée utilisé.

MS est la masse de l'échantillon utilisée.

La teneur en protéine est déduite de celle de la teneur en azote par la formule :

$$\% \text{ protéines} = \% N \times 6,25$$

IV-2-1-4- Teneur en cendre :

IV-2-1-4-1- Principe

Les cendres totales sont les résidus obtenus après incinération de l'échantillon et représentent la partie minérale de ce dernier. Cette méthode consiste à incinérer l'échantillon à 550°C et en atmosphère oxydante jusqu'à l'obtention d'un résidu de masse constante (AOAC, 1980).

IV-2-1-4-2- Mode opératoire

Cinq grammes (M) environ de poudre de champignons ont été pesé à 1 mg près dans un creuset à incinération préalablement taré (P_1). Ce creuset contenant l'échantillon a ensuite été placé dans une étuve et séché à 105°C pendant 24 heures. Après séchage, l'ensemble a été

refroidi dans un dessiccateur. Le creuset est ensuite introduit dans un four à moufle réglé à $550^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Cette température a été maintenue pendant au moins 3 heures jusqu'à obtention de cendres gris clair dépourvues de particules charbonneuses. Puis, le creuset a de nouveau été placé dans un dessiccateur pour refroidissement et puis a été pesé (P_2).

La teneur en cendre a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Cendres} = \frac{P_2 - P_1}{M} \times 100$$

Où : P_1 : Masse du creuset vide

P_2 : Masse du creuset contenant les cendres

M : masse de l'échantillon.

IV-2-1-5- Teneur en glucides totaux :

La teneur en glucides totaux a été obtenue par différence d'après la formule suivante :

$\% \text{ glucides} = 100 - (\% \text{ protéines} + \% \text{ lipides} + \% \text{ cendres} + \text{Teneur en fibre})$ (AOAC, 1980).

IV-2-1-6 - Teneur en fibres dans les glucides totaux :

La teneur en fibres brutes des échantillons a été déterminée par la méthode de Weender (Wolff, 1968).

IV-2-1-6-1- Principe

Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction des substances solubles dans l'acide sulfurique dilué et ensuite dans la solution de soude. La différence entre la masse du résidu séchée et celle incinérée représentent les fibres brutes présentes dans l'échantillon.

IV-2-1-6-2- Mode opératoire :

Dans un bécher contenant de l'acide sulfurique 0,255 N, 1g de poudre (M) de champignons a été introduit. Le mélange est ensuite porté à ébullition pendant 30 mn et filtré. Au résidu obtenu, la soude 0,313 N a été ajouté puis le mélange a été porté à nouveau à ébullition pendant 30 mn. Après filtration, le résidu est lavé trois fois à l'eau distillée chaude (avec 5 mL) et deux fois à l'acétone (5mL), l'insoluble est séché à 105°C pendant 8 h et pesé (M_1). Le résidu sec est ensuite soumis à une incinération à 500°C pendant 3 h et les cendres pesées (M_2).

La teneur en fibres brute g/100g MS est donnée par la relation

$$FB(\%) = \frac{(M_1 - M_2)}{M \times MS} \times 100$$

Où MS est le pourcentage en matière sèche des échantillons.

IV-2-1-7- Détermination de quelques minéraux dans les cendres : Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, k, Na et P

IV-2-1-7-1- Principe

Il s'agit de la méthode décrite par l'**AOAC (1990)**. Lorsque les atomes d'un élément sont en contact avec une flamme, ils émettent des radiations de longueur d'onde déterminée et dont l'intensité peut être mesurée par spectrophotométrie. La concentration du cation à doser est calculée à partir des valeurs d'absorbance par des équations linéaires de régression.

IV-2-1-7-2- Minéralisation et préparation des solutions d'échantillon :

Une quantité de 0,4 g d'échantillon broyé est pesée dans un creuset en porcelaine puis mis au four (PROLABO) à 650°C pendant 5 h. Après refroidissement, 5 mL d'acide nitrique 1 mol.L⁻¹ est ajouté à la cendre obtenue puis porté à évaporation totale sur un bain de sable. Au résidu est ajouté 5 mL d'acide chlorhydrique 0,1 mol.L⁻¹ qui est remis au four à 400°C pendant 30 min. Le résidu final est récupéré avec 10mL d'acide chlorhydrique 1 mol.L⁻¹ puis versé dans une fiole de 50 mL. Le creuset est rincé deux fois avec 10 mL de l'acide chlorhydrique. La fiole est complétée à 50mL avec l'acide chlorhydrique. Dans les mêmes conditions, un essai à blanc est réalisé (**AOAC ,1990**)

IV-2-1-7-3- Préparation des gammes d'étalonnage (Pinta, 1973) :

Pour le magnésium, des volumes de 0, 0,5, 1, 1,5, 2,5 et 3 mL de solution à 100 µg/mL de magnésium sont introduits successivement dans six fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite des volumes de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré et 10 mL sont ajoutés dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le manganèse, des volumes de 0, 2,5, 5, 7,5, 10 et 20 mL de solution à 100 µg/mL de manganèse sont introduits successivement dans six fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite un volume de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le potassium, des volumes de 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3 et 4 mL de solution à 100 µg/mL de potassium sont introduits successivement dans sept fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite un volume de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le sodium, des volumes de 0, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6 et 2 mL de solution à 100 µg/mL de sodium sont introduits successivement dans six fioles jaugées différentes de 100 mL

chacune. Ensuite un volume de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le calcium, des volumes de 0, 2,5, 5, 7,5 et 10 mL de solution à 100 µg/mL de calcium sont introduits successivement dans cinq fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite des volumes de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré et 10 mL de solution de lanthane à 3 % sont ajoutés dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le fer, des volumes de 0, 2,5, 5, 7,5, 10 et 20 mL de solution à 100 µg/mL de fer sont introduits successivement dans six fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite un volume de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le cuivre, des volumes de 0, 0,1, 0,25, 0,5, 1, 1,25 et 2 mL de solution à 100 µg/mL de cuivre sont introduits successivement dans sept fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite un volume de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le zinc, des volumes de 0, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6 et 2 mL de solution à 100 µg/mL de zinc sont introduits successivement dans six fioles jaugées différentes de 100 mL chacune. Ensuite un volume de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 mL avec de l'eau déminéralisée.

Pour le phosphore, dans quatre fioles jaugées de 25 mL on introduit successivement 3, 5, 7 et 10 mL de la solution aqueuse de phosphate monopotassique (à partir de KH_2PO_4 séché pendant deux heures à 105°C, préparée en pesant 4,393 g de KH_2PO_4 qu'on a dissout dans de l'eau distillée et complété à 1 000 mL ; puis on a prélevé 10 mL de cette solution qu'on a dilué à 1 000 mL : 1 mL de la solution de phosphate monopotassique obtenue = 10 microgrammes de P). Les quantités de phosphore ainsi introduites dans ces fioles sont égales à 30, 50, 70, 100 microgrammes de phosphore. Puis, successivement 2 mL d'acide perchlorique, 2 mL de la solution d'amidol, 1 mL de la solution de molybdate d'ammonium sont ajoutés et complétés à 25 mL avec de l'eau distillée. L'ensemble est mélangé. Puis après 5 minutes d'attente, la densité optique est mesurée en utilisant une cuve de 1 cm dans un spectrophotocolorimètre à 750 nm. Sur un graphique les densités optiques obtenues sont reportées en fonction des quantités de phosphore présentes dans les fioles et la courbe standard (qui est une droite) est tracée.

IV-2-1-7-4- Dosage au spectrophotomètre d'absorption atomique :

Le spectrophotomètre utilisé dans le cadre de cette étude pour le dosage des minéraux Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, K et Na est le spectrophotomètre d'adsorption atomique à flamme air-acétylène de marque VARIAN et de type AA20. Le phosphore (P) quant à lui a été dosé par colorimétrie.

IV-2-1-7-5- Mode opératoire :

Les longueurs d'ondes des éléments à analyser sont d'abord définies sur l'appareil (285,2 nm pour le magnésium ; 766,5 nm pour le potassium ; 279,5 nm pour le manganèse ; 589,0 nm pour le sodium ; 424,7 nm pour le calcium ; 324,8 nm pour le cuivre ; 248,3 nm pour le fer et 213,9 nm pour le zinc). Ensuite, les différentes lectures des gammes d'étalonnage permettent d'établir la courbe d'étalonnage traduisant l'absorbance en fonction de la concentration. Enfin, les solutions contenant la cendre sont présentées à l'appareil afin de déterminer l'absorbance. Notons qu'il faut obligatoirement faire passer le blanc entre le passage de deux solutions différentes.

IV-2-1-7-6- Dosage colorimétrique du phosphore

On prélève 5 mL de la solution obtenue après minéralisation qu'on introduit dans une fiole jaugée de 25 mL. Puis, successivement 2 mL d'acide perchlorique, 2 mL de la solution d'amidol, 1 mL de la solution de molybdate d'ammonium sont ajoutés et complétés à 25 mL avec de l'eau distillée. L'ensemble est mélangé. Après 5 minutes d'attente, la densité optique est mesurée en utilisant une cuve de 1 cm dans un spectrophotocolorimètre à 750 nm.

IV-2-2- Effet de la supplémentation journalière du meilleur mélange des champignons (mélange 3) sur les rats ayant une alimentation hypercalorique sur un mois

IV-2-2-1- Effet de la supplémentation sur le poids et la glycémie des rats soumis à un régime hypercalorique :

Le protocole utilisé a été celui de **René et al. (2006)** avec quelques modifications. Les rats âgés de 2 mois (~170g) ont été répartis au hasard dans quatre lots différents de quatre rats chacun. Le 1^{er} lot constitué des rats du groupe témoin négatif a été nourri durant un mois d'expérimentation par une diète normale (alimentation standard), le 2^{ème} lot constitué des rats du groupe témoin positif a reçu à la fois une diète hypercalorique sucrée (DHS) et une diète hypercalorique grasse (DHG). Les deux autres lots étaient des lots tests qui, en plus d'une diète hypercalorique sucrée et une diète hypercalorique grasse, l'un recevait une supplémentation journalière de 12 g de poudre du meilleur mélange de champignons et l'autre

recevait journalièrement un gavage à l'extrait aqueux à une dose de 400 mg/kg de PC. En plus de ces aliments et de l'eau, les rats du groupe témoin positif et des groupes tests ont reçu de façon hebdomadaire une dose de D-glucose (0,8 g/ kg P.C.) et du sucrose (4 g/ kg P.C.) après un jeun de 12 heures.

La composition des diètes a été faite suivant le tableau XXI ci-dessous :

Tableau XXI : Différents régimes alimentaires (exprimés en g/ 100 g de repas) :

Diètes	DN	DHS	DHG
Maïs	25	29	8
Blé	40	20	11
Soja	15	10	28
Farine de poisson	10	3	3
Saccharose	-	20	5
Huile de palme	-	6	20
Farine d'os	1	1	2
Tourteau	8	-	-
de palmiste			
Manioc	-	10	22
Complexe de	1	1	1
vitamines			
Energie kcal /kg	340	430	473

Légende : DN= diète normale, DHS= diète hypercalorique sucrée, DHG= diète hypercalorique grasse.

Le poids corporel et la glycémie ont été évalués tous les sept jours durant la période d'expérimentation.

Au bout d'un mois d'expérimentation, et après 12 h de jeûne, les rats ont été pesés, et anesthésiés avec la kétamine (50 mg/Kg de poids corporel) puis sacrifiés. Les échantillons de sang recueillis ont été centrifugés à 3000 tours/mn pendant 10 minutes. Puis, le surnageant (sérum) a été recueilli dans deux aliquotes codés, conservés et congelés dans des tubes *Eppendorf* à -80°C pour l'analyse de quelques paramètres biochimiques.

IV-2-2-2- Effet de la supplémentation sur quelques paramètres biochimiques :

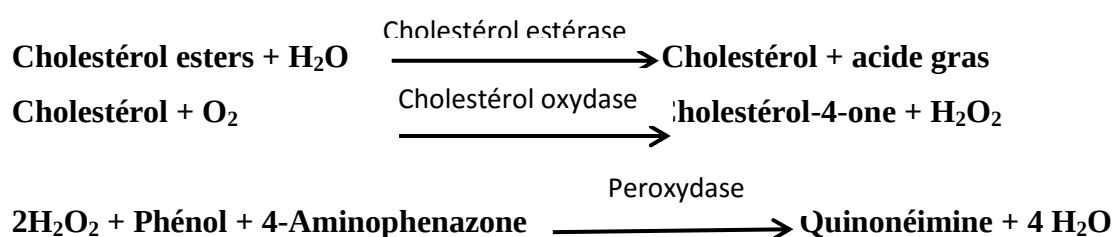
IV-2-2-2-1- Effet sur le profil lipidique

IV-2-2-2-1-1- Dosage du cholestérol total

IV-2-2-2-1-1-1- Principe :

Le cholestérol est dosé par la méthode enzymatique. Les esters de cholestérols de l'échantillon sont hydrolysés par la cholestérol estérase (CHE). Le cholestérol libre produit, est oxydé par la cholestérol oxydase (CHO) pour former du cholestène-4-one, avec production simultanée d'eau oxygéné (H₂O₂) qui s'allie par oxydation avec la 4-aminophenazone (4-AA) et le phénol en présence de la peroxydase (POD) dont le produit est un groupement chromophore (la quinonéimine) dont l'augmentation de l'absorbance à 510 nm peut être mesurée par spectrophotométrie (Allain *et al.*, 1974).

La réaction de dosage étant la suivante :



IV-2-2-2-1-1-2- Mode opératoire :

Tableau XXII : Méthodologie de dosage du cholestérol total

	Blanc	Standard	Sérum
Sérum	-	-	10µL
Standard	-	10µL	-
Réactif	1000µL	1000µL	1000µL

Les différents tubes sont mélangés et incubés pendant 5 mn à 37°C. Puis, l'absorbance du sérum et du standard est mesurée contre le blanc. La valeur de référence dans le sérum et le plasma est comprise entre 150-220 mg/dL.

La formule utilisée pour le calcul du taux de cholestérol total plasmatique a été la suivante :

$$\text{Taux de cholestérol total plasmatique (mg/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{C. standard}$$

DO échantillon : densité optique de l'échantillon

DO standard : densité optique du standard

C. standard : concentration du standard

IV-2-2-2-1-2- Dosage du cholestérol-HDL

IV-2-2-2-1-2-1- Principe :

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et les chylomicrons du sérum sont précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium. Le cholestérol-HDL obtenu dans le surnageant après centrifugation est ensuite dosé par le réactif du dosage du cholestérol total. Les densités optiques (DO_{510nm}) ont été lues au spectrophotomètre et les quantités de cholestérol-HDL évaluées selon les prescriptions du fabricant du kit. (Friedewald *et al.*, 1972)

IV-2-2-2-1-2-2- Mode opératoire

Tableau XXIII : Méthodologie de dosage du cholestérol-HDL

Tubes	Tests
Plasma	300 µL
Réactif de précipitation	300 µL

Les tubes sont homogénéisés à température ambiante comprise entre 15-30°C pendant 10 mn puis centrifugés pendant 15 minutes à 2000 tours par minute. Le surnageant est récupéré pour le dosage du cholestérol HDL comme suit :

	Blanc	Standard	Sérum
Surnageant	-	-	50µL
Standard	-	50µL	-
Réactif cholestérol	1000µL	1000µL	1000µL

Les tubes sont mélangés et incubés pendant 5 mn à 37°C. Puis, l'absorbance du sérum et du standard est mesurée contre le blanc à 510 nm. La valeur de référence dans le sérum et le plasma : « homme : 35-55 mg/dL ; femme : 45-65 mg/dL »

La formule utilisée pour le calcul du taux de cholestérol HDL plasmatique a été la suivante :

$$\text{Taux de cholestérol HDL plasmatique (mg/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{C. standard}$$

DO échantillon : densité optique de l'échantillon

DO étalon : densité optique de l'étalon

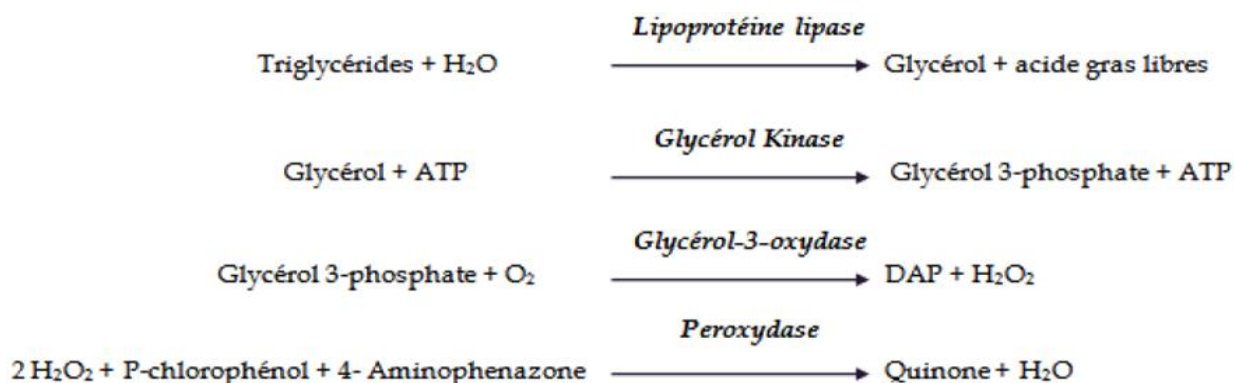
C. standard : concentration du standard

IV-2-2-2-1-3- Dosage des Triglycérides

IV-2-2-2-1-3-1- Principe

Les triglycérides (TG) ont été déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipases.

L'indicateur coloré a été une quinone formée d'après les quatre réactions (**Kaplan et Pesce, 1996**) suivantes :



Les densités optiques (DO_{510 nm}) ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre et les quantités de triglycérides ont été évaluées selon les prescriptions du fabricant du kit.

IV-2-2-2-1-3-2- Mode opératoire

Tableau XXIV : Méthodologie de dosage des triglycérides

	Blanc	Standard	Sérum
Réactif de travail	1000µL	1000µL	1000µL
Eau distille	10µL	-	-
Sérum	-	-	10µL
Standard	-	10µL	-

Les tubes sont mélangés et incubés pendant 5 mn à température ambiante. Puis, l'absorbance du sérum et du standard est mesurée contre le blanc à 510 nm. Valeurs de référence dans le sérum et le plasma : « homme : 60-165 mg/dL ; femme : 40-140 mg/dL »

La formule utilisée pour le calcul du taux des triglycérides a été la suivante :

$$\text{Taux de triglycéride plasmatique (mg/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{C. standard}$$

DO échantillon : densité optique de l'échantillon

DO standard : densité optique du standard

C. standard : concentration du standard

IV-2-2-2-1-4- Mesure de la concentration de cholestérol LDL

Le dosage des LDL se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de **Friedewald et al., (1972)**.

$$\text{LDL-C (mg/dL)} = \text{Cholesterol total (mg/dL)} - [\text{HDL-C (mg/dL)} + \text{TG/5}] \text{ (mg/dL)}.$$

IV-2-2-2-2- Effet sur les paramètres de la fonction rénale

IV-2-2-2-2-1- Dosage de la créatinine sérique

Le dosage de la créatinine s'est fait par méthode colorimétrique telle que décrite par **Young (2001)** en utilisant le kit Cypress Diagnostics.

IV-2-2-2-2-1-1- Principe

En milieu basique, la créatinine réagit avec le picrate pour former un complexe jaune rouge dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de créatinine en solution. Elle est mesurée par la lecture de la densité optique à 510 nm.

IV-2-2-2-2-1-2- Protocole

Le réactif de travail a été préparé tel que décrit sur la notice du kit. Un volume de NaOH 0,30 mM a été ajouté à un volume d'acide picrique 18 mM puis le mélange a été agité avant utilisation. Un mL de cette solution a été mélangé à 200 µL de sérum et les densités optiques ont été lues à 30 s et à 2 mn au spectrophotomètre à 510 nm contre le blanc.

La formule suivante a été utilisée pour déterminer la concentration en créatinine dans le sérum.

$$\text{Créatininémie (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ standard}} \times \text{C. std}$$

Cstd = concentration du standard

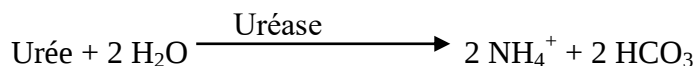
ΔA = variation de l'absorbance

IV-2-2-2-2-2- Dosage de l'urée sérique

Le taux d'urée est déterminé par la méthode cinétique décrite par **Thomas (1998)** en utilisant le kit Diagnostic Systems.

IV-2-2-2-2-1- Principe :

L'urée est d'abord hydrolysée en carbonate et en ammoniac en présence de l'uréase. L'ammoniac libéré réagit avec l'acide α cétoglutarique en présence de NADH pour donner le glutamate et le NAD⁺. Le NADH présente un maximum d'absorbance à 340nm.



GLDH : Glutamate déshydrogénase

IV-2-2-2-2-2- Mode opératoire

La solution de travail est préparée en mélangeant 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2. Le tableau suivant présente le protocole de dosage de l'urée.

Tableau XXV : Méthodologie de dosage de l'urée sérique

	Standard	Echantillon
Solution de travail	1000 μL	1000 μL
Echantillon	-	10 μL
Standard	10 μL	-
Total	1010 μL	1010 μL

Les tubes sont mélangés et incubés pendant environ 60 secondes à +25°C/ +30 °C ou environ 30 à 40 secondes à +37 °C, puis l'absorbance A1 est lue. Après exactement 60 secondes. L'absorbance A2 est également lue.

La formule suivante est utilisée pour déterminer la concentration en urée dans le sérum

$$\text{Urée (g/l)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ standard}} \times \text{C. std}$$

C. std = concentration du standard

ΔA = variation de l'absorbance

Le dosage de ces paramètres biochimiques permet d'évaluer les fonctions métaboliques, hépatiques et rénales.

IV-2-2-2-2-3- Détermination des protéines totales plasmatiques

Les protéines totales sont dosées par la méthode de **Gornall et al (1949)**. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec les ions Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré donc l'absorbance est proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, il est mesuré à 550nm. Le réactif de biuret contient du sodium potassium tartrate

qui complexe les ions Cu^{2+} et maintient leur solubilité en solution alcaline. Le protocole de dosage des protéines plasmatiques est le suivant :

Tableau XXVI : Méthodologie de dosage des protéines totales plasmatiques

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif 1	1000 μL	1000 μL	1000 μL
Eau distillée	20 μL	-	-
Echantillon	-	-	20 μL
Standard	-	20 μL	-

Les tubes sont mélangés et incubés pendant 10 mn à température ambiante. Puis les absorbances des échantillons et de l'étalon sont lues contre le blanc à 550 nm. La concentration en protéines est calculée par la formule suivante :

$$\text{Protéïnémie (mg/dl)} = \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ standard}} \times C. \text{ standard}$$

DO échantillon : densité optique de l'échantillon

DO étalon : densité optique de l'étalon

C. standard : concentration du standard

IV-2-2-2-3- Effet sur quelques marqueurs biologiques du stress oxydant

IV-2-2-2-3-1- Marqueur de la peroxydation lipidique : dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

IV-2-2-2-3-1-1- Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde (MDA) issu de la décomposition des hydroperoxydes d'acides gras, réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm. Ces complexes colorés rendent compte de la quantité de malondialdéhyde présent dans le milieu (**Wilbur et al., 1949**).

IV-2-2-2-3-1-2- Préparation de la solution de MDA

Les solutions d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,37 %, d'acide trichloroacétique (TCA) 15 % et de HCl 0,25 N ont été initialement préparées et mélangées dans les proportions 1 :1 :1 pour obtenir la solution de MDA.

IV-2-2-2-3-1-3- Protocole de dosage

Dans une série de tube en verre, ont été introduits 50 µL de sérum pour les essais. Le tube témoin a reçu 50 µL d'eau distillée. Dans chaque tube a été ajouté 1mL de la solution de MDA. Les tubes ont été bouchés puis chauffés au bain marie à 100 °C pendant 15 mn. Ils ont ensuite été refroidis puis centrifugés à 3000 tours/mn pendant 15 mn à température ambiante. Le surnageant a été décanté et la DO a été lue à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre le blanc. La concentration en MDA exprimée en µmol/L a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire $\epsilon = 1,56.105 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ comme suit :

$$\text{TBARS} = \text{DO} \times 10^6 / \epsilon \times L \times m$$

DO : densité optique

ϵ : coefficient d'extinction molaire ($\epsilon = 1,56.105 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$),

TBARS : concentration en MDA (nM MDA/mg de prot)

L : trajet optique de la cuve (1cm).

m : quantité de protéine (mg)

IV-2-2-2-3-2- Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase

IV-2-2-2-3-2-1- Principe (Misra et Fridovich, 1972)

L'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome dans un milieu est inhibée en présence de la superoxyde dismutase (SOD). La variation de l'absorbance, qui est proportionnelle à l'activité de la SOD, est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm.

IV-2-2-2-3-2-2- Protocole de dosage

Le dosage de la SOD a été réalisé comme décrit dans le tableau ci-dessous

Tableau XXVII : Méthodologie de dosage de la SOD

Echantillon	Blanc	Echantillon
Sérum/Homogénats (µL)	-	134
Tampon carbonate 0,05 M, pH 10,2 (µL)	1800	1666
Adrénaline 0,3 mM (µL)	200	200
Après homogénéisation, l'absorbance des tubes tests à 480 nm a été mesurée à 20 et à 80 secondes contre le blanc.		

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

La variation de l'absorbance : $\Delta A \text{ (mn)} = A_{20S} - A_{80S}$

% d'inhibition = $100 - (\Delta A_{\text{essai}} \times 100 / \Delta A_{\text{blanc}}) = n \text{ unités de SOD}$.

L'activité de la SOD a été exprimée en $\mu\text{mol de SOD/mn/mg de protéine}$

A_{20S} = Absorbance mesurée à 20 secondes ; A_{80S} = Absorbance mesurée à 80 secondes ;

ΔA_{essai} = Variation de l'absorbance de l'échantillon ; ΔA_{blanc} = Variation de l'absorbance du blanc ; f = facteur de dilution ; 50 % d'inhibition équivaut à une unité de SOD.

IV-2-2-2-3-3- Mesure de l'activité de la catalase

IV-2-2-2-3-3-1- Principe (Sinha, 1972) :

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase (CAT). Le résidu se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert.

IV-2-2-2-3-3-2- Protocole de dosage

Le protocole utilisé pour réaliser la courbe d'étalonnage est décrit dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXVIII : Méthodologie de dosage de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H_2O_2 (50 mM) (μL)	0	20	40	80	160
$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ /acide acétique glacial (μL)	2000	2000	2000	2000	2000
Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 mn (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante.					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
Concentration de H_2O_2 (mM)	0	2	4	8	16
Absorbances obtenues	-	-	-	-	-

Le dosage colorimétrique de la catalase est réalisé comme indiqué ci-dessous.

Tubes	Blanc réactif	Echantillon
Eau distillée (μL)	50	-
Homogénats (μL)	-	50
Tampon phosphate 0,1 mM ; pH 7,5 (μL)	750	750
Peroxyde d'hydrogène 50 mM (μL)	200	200
Incubation pendant 1 mn à température ambiante		
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000

Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et les solutions ont été chauffées à 100°C pendant 10 mn. Après refroidissement, l'absorbance des échantillons a été lue contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 570 nm.

L'activité spécifique de la catalase est déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{Act CAT} = \Delta\text{DO} / a \times t \times m$$

Act CAT = Activité de la catalase (μM de H_2O_2 /mn/mg de protéine) ; ΔDO = DO essai - DO blanc ; a = Pente de la courbe d'étalonnage ; t = durée de la réaction (1 mn) ; m : quantité de protéine (mg).

IV-2-3-Analyses statistiques :

Les données ont été introduites dans une feuille de calcul Excel (Microsoft Office 2016) puis ont été soumises à une analyse avec le test de student pour échantillons indépendants pour les analyses extra-groupes et un test de student pour échantillons appariés pour les analyses intragroupes. Les différences entre les moyennes des échantillons ont été comparées et discriminées à l'aide du test de Levene. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel SPSS version 20.0 pour Windows, et le seuil de significativité a été fixé à $P < 0,05$.

IV-3-Résultats

IV-3-1- Rappel du choix du meilleur mélange de champignons pour la suite des travaux.

Le tableau XXIX ci-dessous présente le meilleur mélange obtenu à l'issu des chapitres précédents. De ce tableau il en ressort que ce meilleur mélange de champignons a été le mélange 3 constitué de *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju* dans les proportions 0,5 ; 2 ; 0,5 respectivement.

Tableau XXIX : Choix du meilleur mélange de champignons

Différents tests	Rendement	Test antioxydant	Test enzymatique	Test hypoglycémique	Tests antihyperglycémique
Meilleurs mélanges des différents test	Mélange 3 et 4	Mélange 3 et 1	Mélanges 2 et 1	Mélange 1 et 3	Mélange 3
Meilleur mélange final	Mélange 3				

IV-3-2- Teneur en quelques nutriments du mélange 3 sous sa forme crue et cuite

Le tableau ci-dessous présente la teneur en quelques nutriments du meilleur mélange de champignons sous sa forme crue et cuite. On peut dire de ce tableau que le mélange de champignons pleurotes est assez riche en nutriments particulièrement en minéraux potassium et calcium que ce soit sous sa forme cuite ou crue. Par contre, le manganèse et le cuivre ne sont presque pas présents sous ces deux formes. Aussi, que ce soit en minéraux ou en macronutriments, il ressort de ce tableau que le mélange de champignons pleurotes est plus riche en nutriments sous sa forme crue que cuite. Toutefois, l'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) entre les teneurs en nutriments obtenus sur ces deux formes.

Tableau XXX : Teneur en quelques nutriments pour 100 g d'aliments sec du mélange 3 sous la forme crue et cuite

	Mélange de champignons crus		Mélange de champignons cuits	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
Macronutriments en %				
Protéines	23,01 ^a	0,27	13,68 ^a	0,25
Lipides	4,25 ^b	0,35	9,25 ^b	0,21
Glucides	68,74 ^c	0,41	67,83 ^c	0,32
Fibres	5,35 ^d	0,49	9,25 ^d	0,35
Cendres	4 ^e	0	3,9 ^e	0
Teneur en eau	8,90 ^f	0,45	21,73 ^f	10,63
Minéraux en (mg/100g)				
P	503,56 ^h	0,91	279,52 ^h	1,27
K	1691,61 ⁱ	0,92	1061,78 ⁱ	1,27
Na	283,66 ^j	1,77	592,23 ^j	0,32
Ca	1542,5 ^k	2,12	1302,5 ^k	3,54
Mg	55,90 ^l	0,01	46,12 ^l	0,07
Fe	12,98 ^m	0,04	6,8 ^m	0,14
Zn	5,21 ⁿ	0,14	5,36 ⁿ	0,28
Mn	0,01 ^o	0	0,01 ^o	0
Cu	0,01 ^p	0	0,01 ^p	0

Légende : Les valeurs sont les moyennes affectées de leur écart type. Les moyennes rangées par ligne affectées des lettres différentes sont non significatives à $p > 0,05$.

IV-3-3- Effet de la supplémentation journalière du mélange 3 sur le poids des rats ayant une alimentation hypercalorique sur un mois :

Durant le mois d'expérimentation, nous avons constaté une prise de poids chez les lots témoin positif (TP), témoin négatif (TN) et chez le lot de rats tests supplémenté à la poudre de champignons (figure 19). Pour le lot de rats tests gavé à l'extrait de champignons, on a constaté plutôt une baisse du poids tout le long de la période d'expérimentation. En effet, le groupe de rats témoins positifs (TP) nourri à une alimentation riche en sucres et en graisses (ou à une alimentation hypercalorique) a présenté un gain de poids plus élevé que tous les autres groupes de rats tests suivi du groupe de rats témoins négatifs (TN). Les groupes de rats tests qui, en plus de l'alimentation riche en graisses et en sucres étaient supplémentés journalièrement de champignons du mélange 3 (poudre et extrait) ont présenté les plus faibles poids.

Selon l'analyse intra groupe, on n'a pas relevé une variation significative ($p > 0,05$) du poids entre le début et la fin de l'étude chez les groupes de rats tests mais on a relevé une augmentation significative ($p < 0,001$) du poids entre ces deux temps chez le groupe de rats témoins négatifs et aussi une augmentation significative ($p < 0,05$) entre ces deux temps chez le groupe de rats témoins positifs. Et, selon une analyse extra groupe, on a noté aux jours 21 et 28 une variation significative ($p < 0,05$) entre le groupe TP et le groupe test gavé avec de l'extrait.

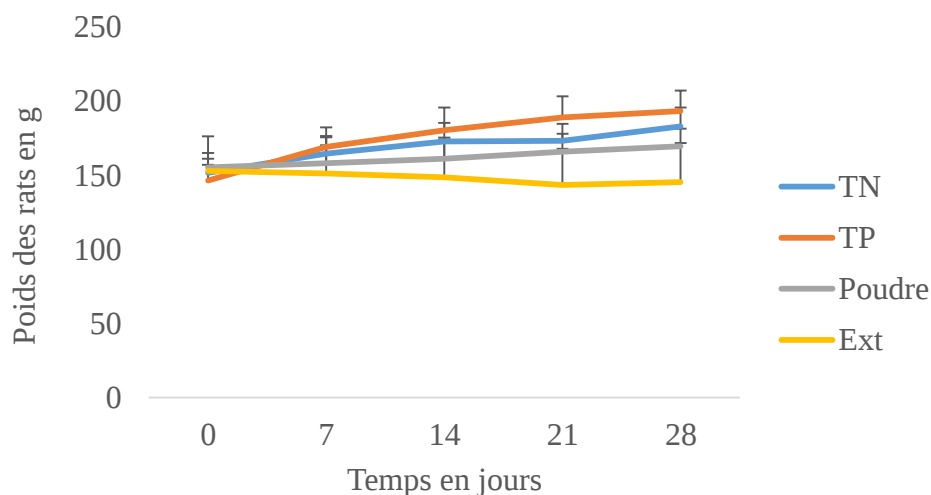


Figure 20 : Evolution du poids au cours de la supplémentation journalière du mélange 3 sur les rats nourris à une alimentation riche en sucres et en graisses.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait

IV-3-4- Effet de la supplémentation journalière du mélange 3 sur la glycémie des rats soumis à un régime hypercalorique sur un mois:

Au cours de la supplémentation du mélange 3 sur les rats ayant une alimentation riche en sucres et en graisses, durant la 1^{ère} semaine d'expérimentation, on a constaté une augmentation significative ($p < 0,05$) de la glycémie chez le groupe TP mais non significative ($p > 0,05$) chez le groupe test supplémenté journalièrement de 12 % de poudre de champignons. Puis, durant la deuxième semaine, nous avons constaté une baisse de la glycémie dans ces deux groupes avec une baisse significative ($p < 0,05$) chez le groupe de rats tests ayant ingéré la poudre. Puis, la glycémie a fini par se stabiliser chez ce groupe de rats tests, ce qui n'était pas le cas pour le groupe de rats TP où on a observé après la deuxième semaine une augmentation progressive de la glycémie jusqu'à la fin de l'étude. Le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait du mélange 3 a par ailleurs présenté une baisse progressive de la glycémie durant toute la période d'expérimentation. En effet, on a constaté que ce groupe test supplémenté à l'extrait a mieux agi que le groupe TN avec de faibles glycémies que le groupe TN (figure 20). Que ce soit chez le groupe test supplémenté à la poudre, le groupe TP ou le groupe TN, on n'a pas observé selon une analyse intra groupe une variation significative ($p > 0,05$) entre le début et la fin de l'étude. Mais, chez le groupe test supplémenté au gavage de l'extrait, on a observé une variation significative ($p < 0,01$) entre le début et la fin de l'étude. L'analyse extra groupe quant à lui a présenté au jour 28 une variation significative ($p < 0,001$) entre le groupe TP et les autres différents groupes.

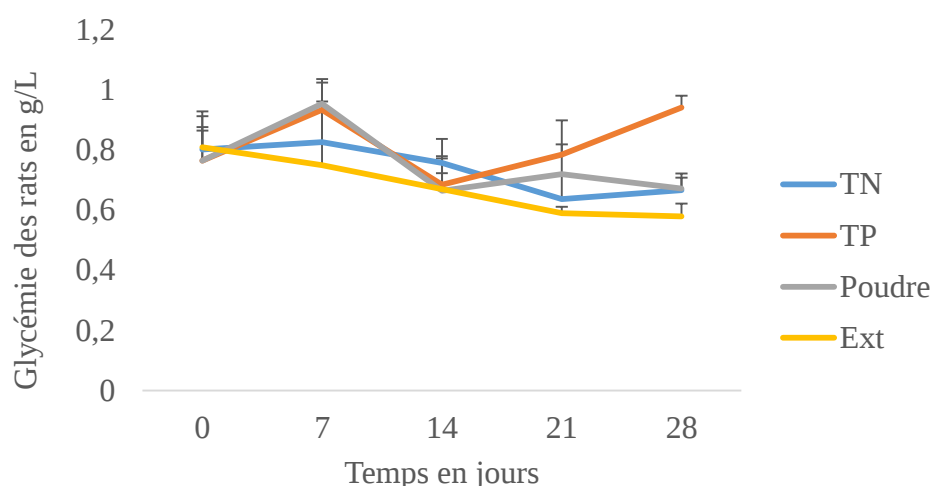


Figure 21 : Evolution de la glycémie au cours de la supplémentation journalière du mélange 3 sur les rats nourris à une alimentation riche en sucres et en graisses.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait

IV-3-5- Effet de la supplémentation sur quelques paramètres biochimiques des rats ayant reçu une alimentation hypercalorique

IV-3-5-1- Dosage de quelques marqueurs du profil lipidique

L'évaluation du profil lipidique a permis d'observer si la supplémentation journalière en mélange de champignons (poudre et extrait) permettrait de réguler les paramètres du profil lipidique chez les rats ayant une alimentation hypercalorique.

La figure 21 ci-dessous présente ainsi le taux de cholestérol total des différents groupes de rats. Il en ressort que le groupe de rats TN a présenté le taux de cholestérol total le plus bas, suivi des groupes de rats tests. Le groupe de rats TP a présenté le taux de cholestérol total le plus élevé. Comparé aux rats du groupe TP, on constate que lorsque les rats ont été supplémentés aux mélanges de champignons, leur organisme a présenté une résistance à l'élévation du taux de cholestérol total. On note tout de même pour ce qui est des groupes tests que le groupe supplémenté à la poudre a permis de limiter l'augmentation du taux de cholestérol total mieux que le groupe test supplémenté à l'extrait. Par ailleurs, que ce soit chez le groupe de rats TP, le groupe de rats TN ou chez les groupes de rats tests, le taux de cholestérol total se trouve dans la valeur normale c'est-à-dire inférieure à 200 mg/dL. Du point de vue statistique, on n'a pas observé de variation significative ($p > 0,05$) du taux de cholestérol total entre ces quatre groupes de rats.

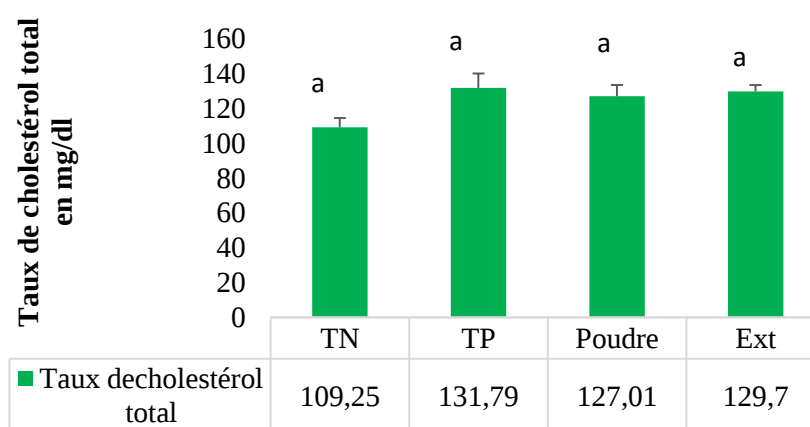


Figure 22 : Taux de cholestérol total chez les différents groupes de rats

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n=4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative ($p > 0,05$: non significatif)

La figure 22 ci-dessous présente l'évolution du taux de cholestérol LDL chez les quatre groupes de rats étudiés. On relève ici la même observation faite avec le cholestérol

total. En effet, le groupe de rats TN a présenté le plus faible taux de cholestérol LDL, le groupe de rats TP a présenté le taux le plus élevé et aussi, la supplémentation en mélange de champignons a permis de limiter l'augmentation du mauvais cholestérol chez les rats ayant une alimentation hypercalorique comparé au groupe de rats TP. Toutefois, de cette figure, on note un taux de cholestérol LDL se trouvant dans la valeur normale c'est à dire inférieur à 150 mg/dL chez ces quatre groupes de rats. Et de plus, le groupe de rats traités à l'extrait a mieux agi que le groupe de rats traités à la poudre.

L'analyse statistique a montré une variation significative ($p < 0,01$) entre le groupe de rats TN et le groupe de rats TP et une variation significative ($p < 0,05$) entre le groupe de rats TN et le groupe de rats tests supplémenté à la poudre. Il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) entre le groupe de rats TN et le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait.

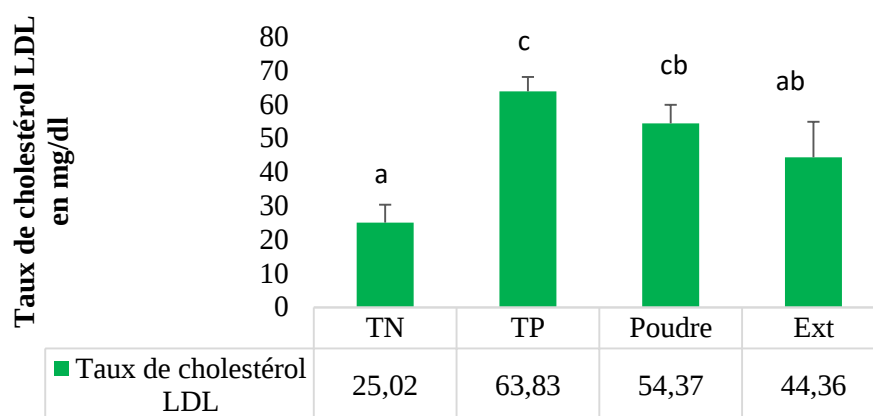


Figure 23 : Taux de cholestérol LDL chez les différents groupes de rats.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n = 4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative et les lettres différentes représentent une variation significative ($p < 0,05$: significatif ; $p > 0,05$: non significatif).

La figure 23 ci-dessous quant à elle nous présente le taux de cholestérol HDL. Il est plus élevé chez le groupe de rats TN suivi des groupes de rats tests. Le groupe de rats TP présente le taux de cholestérol HDL le plus bas. En effet, le groupe de rats TP et le groupe de rats tests supplémentés à la poudre ont présenté des taux de cholestérol HDL inférieurs à la normale c'est-à-dire inférieur à 45 mg/dL. Toutefois, comparé au groupe de rats TP, on constate de cette figure que la supplémentation en mélange de champignons permet de limiter la baisse du bon cholestérol chez les rats ayant une alimentation hypercalorique. S'agissant des groupes tests entre eux, le groupe traité à l'extrait a mieux agi que le groupe supplémenté à la poudre.

L'analyse statistique a montré qu'il existe une variation significative ($p < 0,05$) entre le groupe de rats TP et le groupe de rats TN et entre le groupe de rats TP et le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait. Mais il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) entre le groupe de rats TN et les groupes de rats tests.

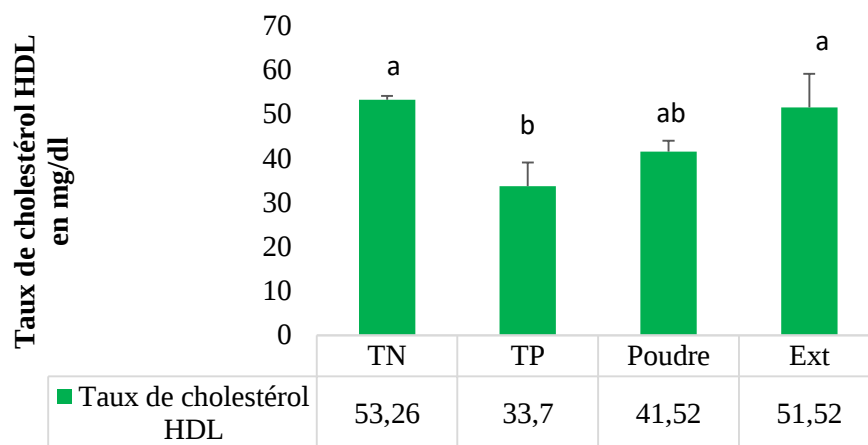


Figure 24 : Taux de cholestérol HDL chez les différents groupes de rats

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n = 4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative et les lettres différentes représentent une variation significative ($p < 0,05$: significatif ; $p > 0,05$: non significatif).

La figure 24 ci-dessous présente le taux de triglycérides chez les quatre différents groupes de rats. Tout comme observé avec le taux de cholestérol LDL, le groupe de rats TP a présenté le taux de triglycérides le plus élevé. On a constaté de cette figure que l'organisme des rats ayant une alimentation hypercalorique et supplémenté en mélange de champignons a tendance à se comporter comme l'organisme des rats ayant une alimentation saine avec un taux de triglycérides presque similaire et même plus bas chez le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait. Le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait a une fois de plus mieux agi que le groupe de rats tests supplémenté en poudre. Toutefois, le taux de triglycérides chez ces quatre groupes de rats se trouve dans les valeurs limites recommandées car nous avons des taux compris entre 150 et 199 mg/dL.

L'analyse statistique a montré qu'il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) entre ces différents groupes de rats.

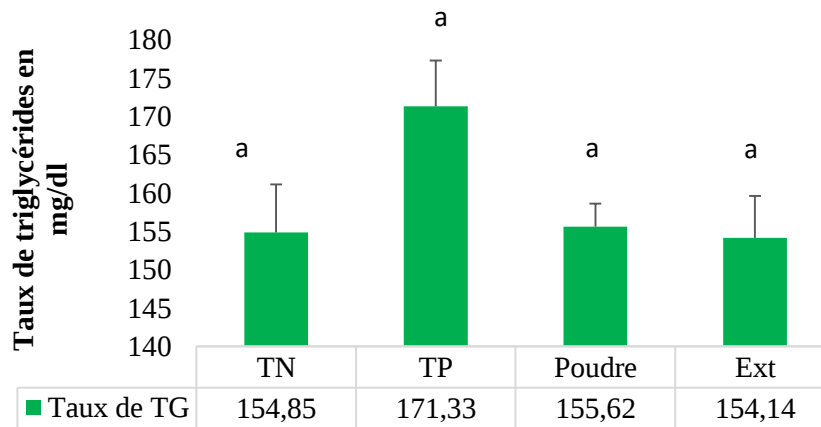


Figure 25 : Taux de triglycérides chez les différents groupes de rats

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, n = 4. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative ($p > 0,05$: non significatif)

IV-3-5-2- Dosage de quelques marqueurs de la fonction rénale

Le dosage de quelques marqueurs de la fonction rénale a permis de savoir si le mélange de champignons pourrait aussi aider à prévenir l'insuffisance rénale qui est une des complications de l'hyperglycémie chronique.

Ainsi, la figure 25 ci-dessous présente le taux de créatinine chez les différents lots de rats. De cette figure, on constate que le groupe TP a présenté le taux de créatinine le plus élevé et le groupe test supplémenté à la poudre a présenté le taux de créatinine le plus bas. Comparé au groupe TP, la supplémentation en mélange de champignons a tendance à baisser le taux de créatinine chez les rats ayant une alimentation hypercalorique entraînant ainsi chez le groupe test supplémenté à l'extrait un taux de créatinine à la limite de la valeur normale ([7- 13] mg/L) tout comme chez le groupe de rats TN. Chez le groupe de rats tests supplémenté à la poudre on note par contre un taux de créatinine inférieur à la valeur normale : le groupe de rats tests supplémenté en extrait a agi mieux que le groupe de rats tests supplémenté en poudre. On n'observe pas de variation significative ($p > 0,05$) entre ces quatre différents groupes de rats du point de vue statistique.

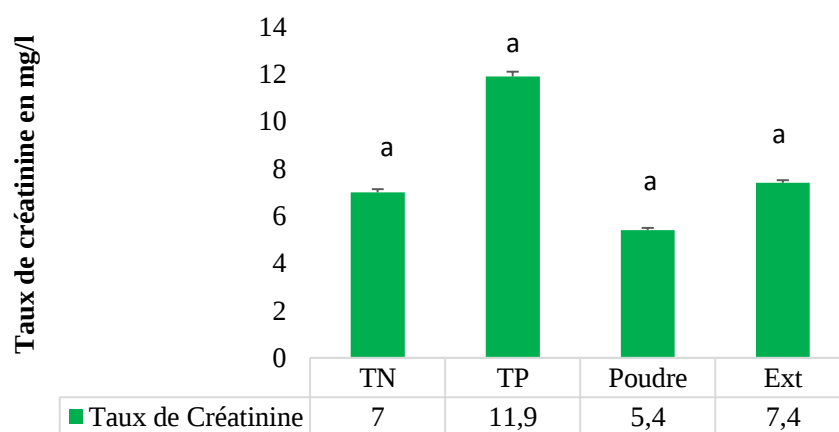


Figure 26: Taux de créatinine chez les différents groupes de rats.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, n = 4. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative ($p > 0,05$: non significatif)

La figure 26 ci-dessous présente le taux d'urée des différents groupes de rats. De cette figure, on a constaté que le groupe test supplémenté à l'extrait présente le taux le plus élevé et le groupe test supplémenté en poudre a présenté le taux le plus bas. En effet, pour une valeur normale du taux d'urée, la valeur devrait être comprise entre 18 et 45 mg/dL. Or, on a constaté de la figure 26 que le taux d'urée du groupe TN et du groupe test supplémenté à l'extrait est plus élevé que la normale. Ici, le groupe test supplémenté à la poudre a mieux agi que le groupe test supplémenté à l'extrait. Il existe une variation significative ($p < 0,05$) entre le taux d'urée obtenu chez le groupe test supplémenté à la poudre et celui du groupe test supplémenté à l'extrait. On note également une variation significative ($p < 0,01$) entre le groupe test supplémenté à la poudre et le groupe TN.

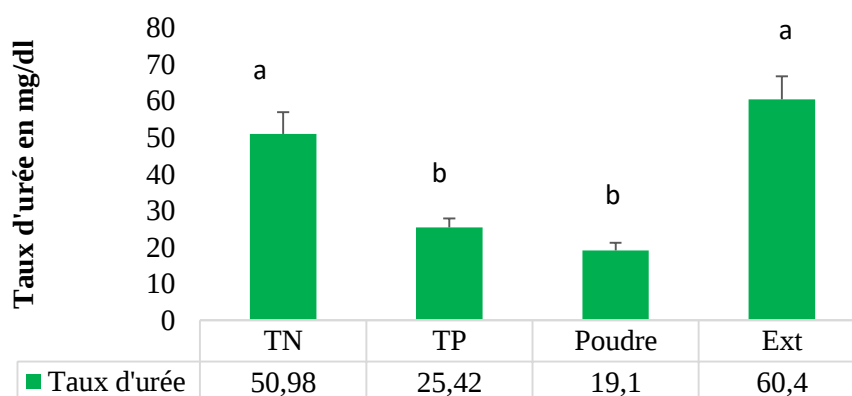


Figure 27: Taux d'urée chez les différents groupes de rats.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, n = 4. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une

absence de différence significative et les lettres différentes représentent une variation significative ($p < 0,05$: significatif ; $p > 0,05$: non significatif).

La figure 27 ci-dessous présente le taux de protéines. On a observé un taux de protéines plus bas chez le groupe de rats TP et un taux plus élevé chez le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait. De cette figure, on a observé la même observation faite avec le taux de triglycérides chez le groupe de rats TN et chez le groupe de rats tests supplémenté à la poudre : le taux de protéines est presque similaire chez ces deux groupes. Aussi, on a constaté de cette figure que le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait a permis de mieux réguler le taux de protéines que le groupe de rats tests supplémenté à la poudre. Par ailleurs, on peut noter de cette figure 27 que le taux de protéines chez ces quatre groupes de rats ne se trouve pas dans la valeur normale, c'est-à-dire n'est pas comprise dans l'intervalle [60-80] g/L bien que chez le groupe test supplémenté à l'extrait, le taux de protéines soit très proche de cet intervalle. Statistiquement, on n'a pas observé de variation significative ($p > 0,05$) entre ces quatre différents groupes de rats.

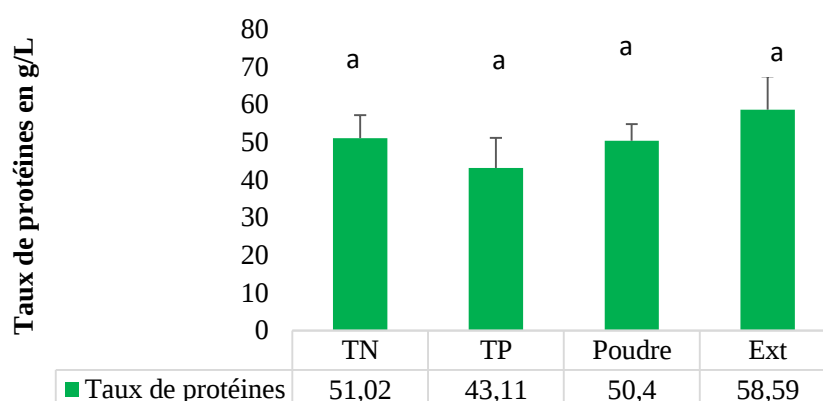


Figure 28 : Taux de protéines chez les différents groupes de rats.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n = 4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative ($p > 0,05$: non significatif)

IV-3-5-3- Dosage de quelques marqueurs du stress oxydant

Evaluer les marqueurs du stress oxydant permettait ici de voir si la supplémentation en mélange de champignons permettrait de réguler les antioxydants enzymatiques chez les rats ayant une alimentation hypercalorique. Dans le chapitre deux de ce document, il a été démontré que les extraits issus des champignons mélangés avaient un potentiel antioxydant *in vitro*, pour cela, il était question de savoir si la supplémentation en mélange de champignons permettrait de maintenir constante l'activité des enzymes antioxydantes chez les rats soumis à

un régime hypercalorique *in vivo*. Ou du moins, permettrait d'éviter une baisse importante de l'activité de ces enzymes chez les rats soumis à un régime hypercalorique afin de pouvoir prévenir la survenue d'un stress oxydant. Eviter l'apparition d'un stress oxydant permettrait ainsi de prévenir les maladies métaboliques telles que l'hyperglycémie chronique et l'obésité.

La figure 28 ci-dessous présente le taux de TBARS (malonyldialdéhyde) chez les différents groupes de rats étudiés. On constate de cette figure que le groupe TN a présenté le taux de TBARS le plus bas et le groupe TP a présenté le taux de TBARS le plus élevé. On relève aussi de cette figure que, le taux de TBARS des groupes tests se rapproche plus du taux de TBARS du groupe TN que du groupe TP. Donc, la supplémentation en mélange de champignons permet d'éviter l'augmentation du taux de TBARS qui est un marqueur de la peroxydation lipidique en comparaison au groupe TP. Les résultats concernant les groupes tests entre-eux ont révélé que le groupe test supplémenté à l'extrait a mieux agi que le groupe test supplémenté à la poudre.

L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) du taux de TBARS entre ces quatre groupes de rats.

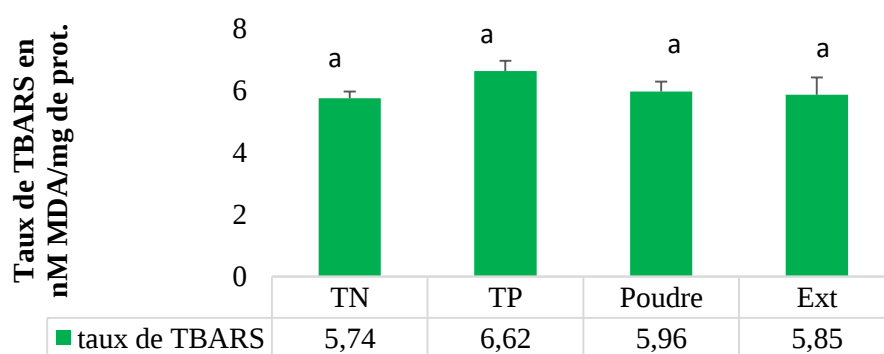


Figure 29 : Taux de TBARS chez les différents groupes de rats.

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n = 4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative ($p > 0,05$: non significatif)

Par ailleurs, s'agissant de l'activité de la catalase, la figure 29 ci-dessous présente une activité de la catalase plus élevée chez le groupe de rats TN et une activité plus faible chez le groupe de rats TP. Comparé au lot de rats TP, l'organisme des rats tests a présenté une résistance à la baisse de cette activité. Tout de même, on note que le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait a présenté une résistance à la baisse de l'activité de la catalase mieux que le groupe de rats tests supplémenté à la poudre.

L'analyse statistique a révélé qu'il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) de

l'activité de la catalase entre ces quatre groupes de rats.

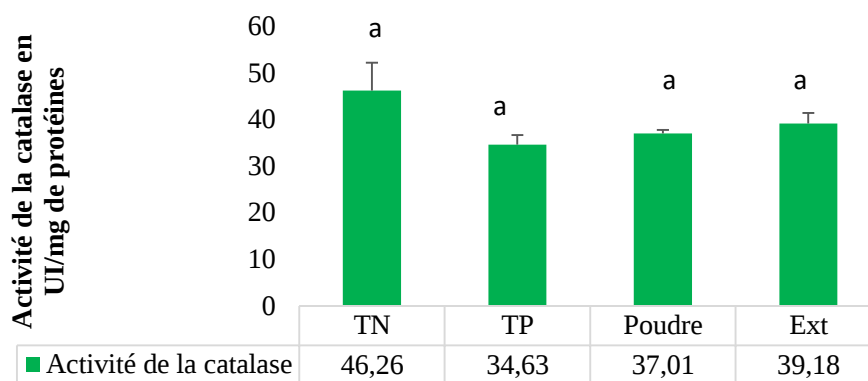


Figure 30 : Activité de la catalase chez les différents groupes de rats étudiés

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, $n = 4$. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative ($p > 0,05$: non significatif).

La figure 30 ci-dessous présente l'activité de la SOD (Super Oxyde Dismutase) chez les différents groupes de rats. On relève de cette figure une faible activité de la SOD chez le groupe de rats TP et une forte activité de ce paramètre chez le groupe de rats TN ayant ingéré une alimentation saine. Chez les groupes de rats tests ayant été supplémenté en mélange de champignons, on a constaté que l'activité de la SOD dans ces groupes se rapproche plus à celle observée chez le groupe TN qu'à celle observée chez le groupe TP. La supplémentation en mélange de champignons a donc permis de limiter la baisse de l'activité de la SOD comparé au groupe TP. On note ici que le groupe test supplémenté à la poudre a mieux agi que le groupe test supplémenté à l'extrait.

L'analyse statistique a révélé qu'il existe une variation significative ($p < 0,05$) entre le groupe TP et le groupe TN, et entre le groupe TP et le groupe test supplémenté à la poudre. Il n'existe pas de variation significative ($p > 0,05$) entre le groupe TN et les différents groupes tests.

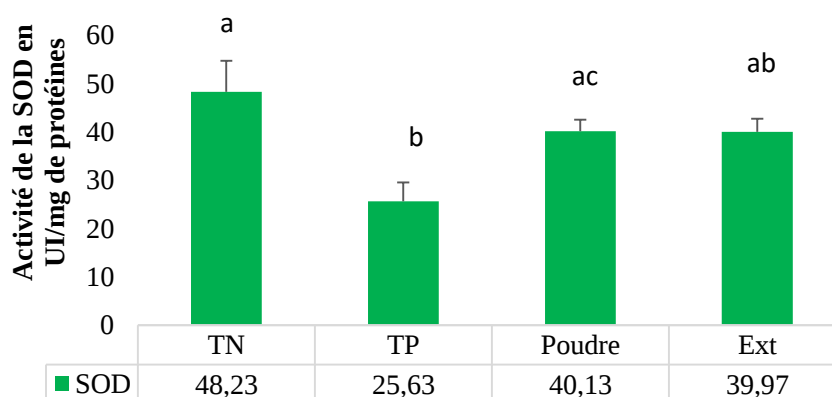


Figure 31 : Activité de la SOD chez les différents groupes de rats étudiés

Légende : TN= témoin négatif ; TP= témoin positif, Ext = extrait. Les graphiques représentent les moyennes affectées de leur écart type au-dessus, n=4. Les mêmes lettres au-dessus des écarts types représentent une absence de différence significative et les lettres différentes représentent une variation significative ($p < 0,05$: significatif ; $p > 0,05$: non significatif).

IV-4-Discussion

L'hyperglycémie est un désordre métabolique qui survient lorsque l'organisme est incapable de produire suffisamment l'insuline ou d'utiliser l'insuline de manière efficace (**Buse, 2006**). Actuellement, il existe 5 classes de médicaments hypoglycémisants classiques. Mais, compte tenu des divers effets secondaires qui sont associés à ces médicaments (**Chakrabarti et Rajagopalan, 2002**), il existe un besoin urgent d'identifier et d'explorer les sources naturelles avec moins d'effets secondaires. En effet, selon **Tundis et al. (2010)**, les inhibiteurs naturels des enzymes digestives du glucose ont moins d'effets secondaires ou pas. Outre l'effet inhibiteur des sources naturelles telles que les plantes médicinales et les aliments fonctionnels, ces dernières peuvent également exercer leurs effets antidiabétiques à plusieurs niveaux notamment :

- Au niveau intestinal, par l'inhibition des transporteurs de glucose SGLT1 et GLUT2 de la muqueuse, réduisant ainsi son absorption ;
- Au niveau pancréatique, par la stimulation de la sécrétion d'insuline ou régénération des cellules β ;
- Au niveau des tissus périphériques, la potentialisation de l'action de l'insuline par : stimulation de la captation de glucose en agissant sur GLUT4, stimulation de la glycogénogenèse et la glycolyse hépatique, inhibition de la néoglucogenèse, et aussi l'inhibition de la réabsorption rénale de glucose (**Fehrest-Sani et al., 2012**).

Ces propriétés sont attribuées aux plantes médicinales et aux aliments fonctionnels en fonction de leurs variétés et de leurs diversités en composés bioactifs, capables d'agir sur différentes voies métaboliques : transcription des gènes, effecteurs d'enzymes, d'hormones et processus biologiques multiples, contribuant en définitif à rétablir l'homéostasie glucidique perturbée par l'état diabétique.

C'est dans ce sens que nous nous sommes intéressés aux aliments fonctionnels c'est-à-dire au traitement par les aliments qui est aussi l'une des méthodes thérapeutiques que préconise l'OMS dans le traitement de l'hyperglycémie (**OMS, 2013**).

IV-4-1- Choix de l'utilisation de la poudre et de l'extrait de champignons mélangés pour le test de supplémentation:

S'agissant de la supplémentation des mélanges de champignons plus précisément du mélange 3 qui était notre meilleur mélange, nous disposions de ce mélange sous deux formes : la forme extrait et la forme poudre. Ces deux formes ont été choisies parce qu'elles représentent les méthodes les plus courantes de consommation des champignons. En effet, l'extrait a été choisi parce que le champignon peut être consommé sous forme de thé et d'infusion et la poudre parce que le champignon peut être consommé sous la forme fraîche ou sèche. Pour cette dernière forme de consommation des champignons (fraîche ou sèche), nous avons opté pour les champignons secs à cause d'un problème de conservation avec les champignons frais. Et, pour les champignons secs, les rats n'étant pas habitués à leur consommation, cela aurait été difficile pour leur consommation d'où nous avons opté de broyer les champignons secs afin de pouvoir les mixer dans l'aliment des rats. Concernant cette expérimentation de la supplémentation qui s'étendait sur un mois, on disposait de quatre lots de rats ; le lot témoin négatif (TN) était nourri journalièrement durant toute la période d'expérimentation avec 100 g d'aliments standard. Le lot témoin positif (TP) était nourri journalièrement avec 100 g d'aliments hypercaloriques. Les lots tests quant à eux, en plus de l'alimentation hypercalorique, l'un d'eux était supplémenté journalièrement d'un gavage à l'extrait à une dose de 400 mg/kg de PC qui est la dose ayant montré des capacités à limiter et à baisser la glycémie à court terme et l'autre groupe test était supplémenté journalièrement de 12 g de poudre de champignons. Pour ce dernier groupe, le choix des 12 g de poudre de champignons a été fait sur la base des travaux antérieurs (**Ongba et al., 2023**). En effet, nos études antérieures ont montré que le plat de champignons avait un index glycémique bas à 120 g. Sachant qu'un kilogramme de champignons frais équivaut à 100 g de champignons séchés, pour 120 g de champignons cuisinés cela correspondrait à environ 12 g de champignons séchés.

Avant le test de la supplémentation en poudre de champignons proprement dit, une étude sur la teneur en nutriments du mélange 3 a été menée. Ceci était dans le but de voir l'effet du mélange de champignons sur la teneur en quelques nutriments des champignons pleurotes.

IV-4-2- Teneur en quelques nutriments du mélange 3:

Il ressort donc de cette étude que le mélange 3 de champignons pleurotes constitué de *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor-caju* à une proportion de

0,5/2/0,5 respectivement est particulièrement riche en nutriments. Ces travaux corroborent avec ceux de **Mbang (2017)** qui avait évalué la teneur en nutriments des champignons pris individuellement c'est-à-dire *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus floridanus* et a trouvé que ces champignons renfermaient un potentiel nutritionnel considérable. Plus précisément, **Mbang (2017)** a montré que les champignons *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus floridanus* en plus de leur potentiel en macronutriments renfermaient également des minéraux tels que le calcium, le potassium, le sodium, le magnésium, le fer et le phosphore. Ce qui a également été montré dans ces travaux, que le mélange de champignons pleurotes était particulièrement riche en ces minéraux (tableau XXX). De plus, **Irengé (2002)** définit les champignons pleurotes comme étant des aliments constitués à l'état frais de beaucoup d'eau (82 % à 92 %), des protéines (27 % à 48 %), des lipides (2 % à 8 %), des hydrates de carbone (60 %), des cendres (7 % à 11 %), des vitamines (B3, B2, B5, B1, B6 et B9) et des minéraux tels que le cuivre, le phosphore, le potassium, le fer et le zinc. On constate ainsi que, de l'analyse faite par **Irengé (2002)** sur la valeur nutritionnelle des champignons pleurotes, notre mélange de champignons pleurotes se rapproche de cette valeur nutritionnelle. De ce constat, on pourrait dire que le mélange de champignons n'a pas affecté la valeur nutritionnelle qu'ont en général les champignons pleurotes et dont la teneur en nutriments obtenue dans ce mélange de champignons compétit avec la teneur en nutriments des champignons pleurotes présents sur le marché.

On constate également de ces résultats qu'il n'existe pas de différence significative entre les valeurs obtenues sous la forme crue et les valeurs obtenues sous la forme cuite. Ceci étant, les propriétés observées avec la forme crue qui était la forme administrée aux rats pourraient aussi s'observer avec la forme cuite qui est la forme consommée par les êtres humains. Néanmoins, bien qu'il n'existe pas de différence significative entre ces deux formes, on constate tout de même que lorsque le mélange de champignons est sous la forme cuite, on observe une perte nutritionnelle plus précisément au niveau des minéraux. En effet, les méthodes de cuisson contribuent à améliorer la qualité organoleptique des aliments, permettant de les rendre plus digestes et d'améliorer la qualité microbiologique de ces aliments. Autrement dit, elles permettent de détruire différentes toxines et autres contaminants en augmentant la sécurité sanitaire et la durée de conservation des denrées alimentaires (**Boeing, 2012**). Cependant, les méthodes de traitements de cuisson ont également cette particularité de conduire parfois à une dégradation de la qualité nutritionnelle des aliments. Ainsi, pour les macronutriments, ce sont principalement les protéines et les lipides qui sont affectés par le traitement thermique. Les protéines sont considérées comme hautement

réactives et principalement altérables par la réaction de Maillard, et les lipides quant à eux sont plutôt sensibles à une oxydation d'autant plus facile que leur degré d'insaturation est grand (**Boeing, 2012**). Pour les minéraux, ils peuvent être soit éliminés par lessivage, soit dégradés par des conditions physicochimiques défavorables telles que le pH, la chaleur, la lumière et l'oxygène (**Oude, 2011**).

La perte en certains nutriments observée ici pourrait ainsi être considérée comme n'étant pas un phénomène péjoratif mais pourrait être vue comme étant l'une des réactions que subit un aliment lorsqu'il est transformé.

Après évaluation de la teneur en nutriments du mélange 3, il était question dans la suite de ce travail d'étudier l'effet de la supplémentation de ce mélange de champignons proprement dit sur des rats soumis à un régime hypercalorique. L'effet de ces mélanges allait être apprécié ou pas en les comparant aux effets observés chez les rats ayant un régime hypercalorique mais non traités et à ceux des rats ayant une alimentation standard.

IV-4-3- Effet de la supplémentation sur le poids des rats soumis à un régime hypercalorique:

Durant la période d'expérimentation, les courbes d'évolution du poids nous montrent que, à l'exception du groupe test supplémenté à l'extrait où le poids baissait progressivement au fil du test, chez les trois autres groupes de rats on observait plutôt un gain progressif du poids (figure 19). Toutefois, bien qu'on observe un gain de poids chez ces trois groupes de rats, on constate que le groupe de rats tests supplémenté à la poudre présentait une limite à la prise de poids comparé au groupe de rats TP et au groupe de rats TN.

En effet, alors qu'on observe un gain de poids chez les autres groupes, la perte de poids observé chez le groupe test supplémenté à l'extrait pourrait être dûe au fait que le concentré de principes actifs qui est l'extrait a inhibé fortement les enzymes de la digestion telles que l'alpha glucosidase et la lipase. Ces enzymes étant inhibées, la dégradation des aliments aurait été que partielle avec une faible production d'acides gras et du glucose dans le sang (**Tundis et al., 2010**). Aussi, au sujet du gain de poids observé chez le groupe test supplémenté à la poudre, ce gain pourrait s'expliquer d'après **Kabadi et al. (2000)** je cite : « D'un contrôle glycémique adéquat découle certains avantages et inconvénients dont notamment la réduction des complications micro-et macrovasculaires mais également la prise de poids et l'incidence augmentée d'hypoglycémie ». De même, certains auteurs pensent qu'une conséquence potentielle de l'amélioration du contrôle glycémique s'avère être le gain de poids qui peut varier de 1 à 10 kg (**Rigalleau, 2004**). Toutefois, nous constatons que bien

qu'on observe un gain de poids dans ce groupe, celui-ci est néanmoins plus bas que le gain observé chez le groupe TN et chez le groupe TP. De ces résultats sur l'évolution du poids, on pourrait dire que, le fait que les groupes tests présentent les plus faibles poids montre que le mélange de champignons pourrait aider à prévenir certaines maladies métaboliques telles que l'obésité, l'hyperglycémie et par conséquent le diabète de type 2 chez les personnes saines mais ayant une alimentation hypercalorique. Aussi, pour des sujets déjà malades, on pourrait dire de ces résultats que, la forme de consommation des champignons par les thés et les infusions qui représentent ici la forme par l'extrait pourrait être plus adéquate aux patients en surpoids ou obèses développant ou pas un diabète de type 2. Et, la forme de consommation directe des champignons représentée ici par les poudres pourrait être plus adéquate aux patients diabétiques de type 2 ayant une IMC en-dessous de la valeur normale ou comprise dans la valeur normale.

IV-4-4- Effet de la supplémentation sur la glycémie des rats soumis à un régime hypercalorique:

Les résultats sur la glycémie montrent une baisse de la glycémie observée chez les groupes de rats tests suite à une supplémentation en mélange de champignons au regard du groupe TP. En effet, au bout de l'expérimentation, on constate que la glycémie chez le groupe test supplémenté à l'extrait est plus basse que celle observée chez le groupe TP et même que celle du groupe TN. La glycémie chez le groupe test supplémenté à la poudre quant à elle se stabilise au bout du temps et est similaire à celle du groupe de rats TN ayant ingéré une alimentation standard (figure 20). Chez le groupe TP, on observe au jour 28, une augmentation significative de la glycémie comparée aux autres groupes. La baisse de la glycémie ou la stabilisation de la glycémie au bout du temps chez les groupes tests montre que les champignons pleurotes semblent se comporter pareillement que les antidiabétiques oraux (metformine, glybenglamide, amarel, diamicron...). L'effet hypoglycémiant des champignons pleurotes pourrait à priori être attribué à celui des sulfamides hypoglycémians. Les molécules présentes dans les champignons se seraient liées à un récepteur spécifique de la membrane des cellules β pancréatiques au voisinage du canal potassique ATP dépendant et auraient provoqué la fermeture de ce dernier. Ce qui aurait entraîné une dépolarisation membranaire des cellules β avec ouverture des canaux calciques voltage dépendant et un influx de Ca^{2+} , déclenchant ainsi par exocytose l'extrusion des granules de sécrétion d'insuline (Grimaldi *et al.*, 2009).

D'après d'autres auteurs, l'effet hypoglycémiant des champignons pleurotes pourrait s'expliquer par le fait que plusieurs molécules bioactives isolées des plantes telles que les terpènes et les flavonoïdes influencent les cellules β pancréatiques et stimulent la sécrétion de l'insuline par leurs activités antioxydantes (Jang *et al.*, 2004 ; Sarkhail *et al.*., 2007). En effet, au cours de l'hyperglycémie, les radicaux libres affectent et détruisent les cellules β , et donc les plantes via leur activité antioxydante, vont renforcer les antioxydants endogènes en inhibant ainsi les radicaux libres et pourront agir sur les cellules β et augmenter la sécrétion de l'insuline (Waltner-law *et al.*, 2002 ; El-Alfy *et al.*, 2005). Or, il a été montré dans le chapitre 3 de ce document que les champignons pleurotes renfermaient également ces deux métabolites secondaires que sont les terpènes et les flavonoïdes et donc l'effet hypoglycémiant des champignons observé pourrait encore être attribué à ces deux composés.

Par ailleurs, pour d'autres auteurs, l'effet hypoglycémiant des plantes pourrait être assimilé à la fois aux constituants organiques qu'aux constituants inorganiques. En outre, pour ces auteurs il est important de noter que les constituants inorganiques que les plantes médicinales contiennent jouent parfois un rôle primordial dans l'amélioration de leurs propriétés médicinales y compris l'activité hypoglycémiante. En effet, Bhaskar *et al.* (2008), qui ont étudié l'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux de *Mucuna pruriens* « 200 mg/kg » chez des rats rendus diabétiques par streptozotocine, indiquent qu'un certain nombre de minéraux essentiels (Na, K, Ca, Zn, Mg, Fe, Cu et Mn) peuvent être associés à un mécanisme de libération de l'insuline et de son activité. Les champignons étudiés étant ainsi riches en ces minéraux auraient également pu manifester leur effet hypoglycémiant aux travers de ces minéraux.

Les différents mécanismes par lesquels les mélanges de champignons pourraient développer un potentiel hypoglycémiant montrent que les champignons mélangés pourraient aider à prévenir l'hyperglycémie et à éviter ainsi de nombreuses maladies métaboliques face à un régime hypercalorique.

IV-4-5- Effet de la supplémentation sur le profil lipidique des rats soumis à un régime hypercalorique:

Plusieurs études ont prouvé que l'obésité est un réel facteur de risque pour les maladies chroniques en l'occurrence le diabète de type 2, l'hypertension, l'hyperlipidémie, l'apnée du sommeil, certains types de pathologies cancéreuses et articulaires (Cabrinety *et al.*, 2002, Kavey *et al.*, 2003). Chez les enfants et les adolescents, les risques liés à l'obésité sont les plus à craindre dans la mesure où cette dernière est un facteur déterminant de morbidité et de

mortalité qui apparaît au jeune âge et persiste généralement à l'âge adulte, ce qui augmente fortement le risque de maladies cardiovasculaires (**Kavey et al., 2003 ; Gunczler et al., 2002**). En effet, l'obésité étant l'une des principales complications de l'hyperglycémie chronique qui entraîne généralement la mort de l'individu (**Eliza, 2008**), évaluer l'effet de la supplémentation des mélanges de champignons chez les rats soumis à un régime hypercalorique ne devrait donc pas seulement se limiter à un contrôle glycémique mais également à un suivi des paramètres du profil lipidique. Ainsi, évaluer le profil lipidique ici nous permettrait de savoir si la supplémentation à base de mélanges de champignons permettrait de réguler le profil lipidique afin de prévenir l'obésité qui est non seulement une des causes de l'hyperglycémie mais également une conséquence de l'hyperglycémie chronique.

S'agissant donc de l'évaluation du profil lipidique, bien qu'on note un taux de cholestérol total, un taux de cholestérol LDL et un taux de triglycérides se trouvant dans les valeurs normales, le groupe TP présente néanmoins les taux les plus élevés de ces trois paramètres. Aussi, en plus d'une augmentation importante de ces taux chez le groupe TP, la différence significative observée entre le groupe TP et le groupe TN sur le taux de cholestérol LDL nous montre la facilité qu'a l'organisme des rats du groupe TP à augmenter ce paramètre du profil lipidique face à un régime hypercalorique. En effet, comparé au groupe TN, bien qu'on observe une augmentation du taux de cholestérol LDL et du cholestérol total chez les groupes tests, on note qu'il n'existe pas tout de même une différence significative de ces deux paramètres entre le groupe TN et les groupes tests. Ces résultats pourraient suggérer que l'organisme des groupes tests présente une résistance à l'augmentation du mauvais cholestérol et du cholestérol total face à une alimentation hypercalorique. Le mécanisme sous-jacent par lequel les champignons pleurotes ont exercé leur effet à inhiber l'augmentation de la cholestérolémie semble être par une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol, par liaison avec des acides biliaires dans l'intestin et par augmentation d'excrétion biliaire (**Guzman, 2000 ; Sánchez, 2010**). Les champignons pleurotes ont pu également agir en diminuant la biosynthèse du cholestérol spécifiquement par diminution de l'activité de la HMG-CoA réductase (**Sharma et al., 2003**).

Par ailleurs, l'hyperglycémie s'associe souvent à une hyperlipidémie et provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides. Ces anomalies représentent un important facteur de risque de maladies cardiovasculaires (**Eliza, 2008**). Ainsi, le fait que les champignons pleurotes ont permis d'inhiber l'augmentation ou de maintenir à la normale le taux de cholestérol total, le taux de cholestérol LDL et les

triglycérides pourrait ainsi signifier que les champignons aideraient à prévenir les maladies coronaires. D'après **Baudin (2006)**, le niveau élevé du cholestérol total dans le sang représente un facteur de risque majeur dans le développement des maladies coronaires. De même, plusieurs auteurs rapportent que la baisse ou la régulation de la concentration sérique des lipides par un régime ou des médicaments thérapeutiques diminue fortement les risques de maladies coronaires (**Eddouks et al., 2007, ADA, 2011**).

Pour le taux de cholestérol HDL par contre, entre le groupe TN et les groupes tests on n'observe pas de différence significative sur ce paramètre mais entre le groupe TN et le groupe TP on observe une différence significative. Ainsi, comparé au groupe TP, nous pouvons dire de ces résultats que la supplémentation en mélange de champignons permet de limiter la baisse du bon cholestérol dans l'organisme. Le rapport cholestérol LDL sur cholestérol HDL qui exprime le risque artérogénique nous donne les valeurs de 0,47 ; 0,86 ; 1,31 et 1,89 respectivement chez le groupe TN, le groupe test supplémenté à l'extrait, le groupe test supplémenté à la poudre et le groupe TP. Ces résultats montrent un faible risque de développer une artériosclérose car ils présentent des rapports LDL sur HDL inférieurs à 2,5 (**Pattabiraman et Muthukumaran, 2011**). Tout de même, bien que ce risque soit faible chez ces différents groupes de rats, il est plus avancé chez le groupe de rats TP.

A l'issue de ces résultats sur le profil lipidique et comparé au groupe TP, nous pouvons dire que la supplémentation en mélange de champignons permet de réguler les paramètres du profil lipidique. Ce qui éviterait d'observer une dyslipidémie et donc une obésité. Ces résultats montrent également que le mélange de champignons pourrait contribuer à prévenir l'hyperglycémie mais aussi certains désordres métaboliques associés à l'hyperglycémie telle que l'obésité. Par conséquent, le mélange de champignons permet aussi de prévenir l'hypertension, les maladies cardiovasculaires... qui sont les facteurs de risques de l'obésité.

IV-4-6- Effet de la supplémentation sur quelques marqueurs de la fonction rénale des rats soumis à un régime hypercalorique:

Le rein fait partie des cibles privilégiées des complications liées à l'hyperglycémie. En effet, l'élévation du taux de sucres dans le sang ou hyperglycémie altère le fonctionnement des petits vaisseaux sanguins et le fonctionnement du rein (**ADA, 2014**). On parle de complication rénale de l'hyperglycémie ou de néphropathie diabétique. Si le rein est atteint, il y a, d'une part, un risque de maladie rénale chronique avec, à terme, une insuffisance rénale, et à un stade avancé le besoin d'être dialysé (pratiquer une épuration artificielle du sang).

D'autre part, les reins ne fonctionnant plus correctement le risque de maladies cardiovasculaires augmente. Le développement de la maladie rénale est insidieux; il y a peu, voire aucun symptôme avant une atteinte sévère des reins, d'où l'importance du dépistage et du contrôle régulier. Si des mesures de prévention et de protection sont prises suffisamment tôt, les complications rénales de l'hyperglycémie ou de l'hyperglycémie chronique peuvent être retardées, voire évitées (**Rutter et Nesto, 2011**). En effet, les reins ont pour fonction de filtrer le sang, et jouent entre autre un rôle essentiel de régulation, d'élimination des toxines, de production et de sécrétion d'hormones. Il est crucial de rester aux aguets en ce qui concerne tous les signes pouvant annoncer une maladie rénale, afin d'empêcher une destruction définitive de ces organes dont le dysfonctionnement peut se révéler fatal sans transplantation ou dialyse (**Pierre et al., 2010**).

C'est dans ce sens que nous avons dosé le taux de créatinine, d'urée et de protéines qui sont quelques marqueurs du bon déroulement de la fonction rénale. S'agissant donc du taux de créatinine, nous avons observé un taux anormalement bas de ce paramètre chez le groupe test supplémenté à la poudre. Ce qui pourrait relever d'un dysfonctionnement dans la physiologie rénale des animaux de ce groupe. Toutefois, on constate également qu'il n'existe pas de différence significative du taux de créatinine entre ce groupe et celui du groupe TN. Ce qui permet de lever le doute d'un dysfonctionnement rénal dans ce groupe. La même tendance de résultat a été obtenue avec les résultats issus du taux d'urée. Chez ce dernier, nous avons obtenu un taux anormalement élevé de ce paramètre chez le groupe TN et chez le groupe test supplémenté à l'extrait avec une différence non significative entre ces deux groupes. Ce qui implique que l'anomalie observée chez le groupe supplémenté à l'extrait ne relève pas d'un dysfonctionnement rénal. En effet, le taux anormalement élevé d'urée chez le groupe TN et chez le groupe supplémenté à l'extrait pourrait s'expliquer par le fait que le taux sanguin d'urée peut être influencé par des facteurs extra-rénaux contrairement à la production de la créatinine sanguine qui est relativement constante chez un individu et ne dépend que de sa masse musculaire (**Seronie et al., 2004**). Et donc, le taux sanguin de la créatinine est un meilleur marqueur de la fonction rénale que le taux d'urée (**Lagrange, 2010**).

Par ailleurs, le taux normal de créatinine observé chez le groupe test supplémenté à l'extrait et le taux normal d'urée observé chez le groupe test supplémenté à la poudre peuvent permettre de dire que les champignons pourraient assurer la régulation de la fonction rénale. En d'autres termes, le mélange de champignons permettrait d'éviter certains désordres métaboliques associés à l'hyperglycémie à l'instar de l'insuffisance rénale, ceci face à une alimentation hypercalorique.

Concernant les résultats issus du taux de protéines, aucune différence significative chez ces quatre différents groupes de rats n'a été observée mais, on note que le groupe TP a présenté le taux de protéines le plus bas. Ainsi, les protéines assurant plusieurs rôles dans l'organisme tel qu'un rôle structural et caractérisant le bon déroulement de la fonction hépatique et rénale, le faible taux de protéines ($43,11 \pm 4,38$ g/l) observé chez le groupe TP (figure 27) pourrait rendre l'organisme de ces derniers à être sujet à développer un dysfonctionnement cellulaire (**Levine, 2002**). Comparé au groupe TP, nous pouvons dire que la supplémentation en mélange de champignons permet d'inhiber l'oxydation des protéines. En effet, bien qu'on n'a pas observé un taux de protéine normal chez ces différents groupes de rats, on constate néanmoins que le groupe de rats TN présente un taux de protéines ($51,02 \pm 6,17$ g/l) presque similaire au groupe de rats tests supplémenté à la poudre ($50,4 \pm 4,37$) et le groupe de rats tests supplémenté à l'extrait quant à lui présente un taux de protéines ($58,59 \pm 8,91$ g/l) très proche de la valeur normale ($[60 - 80$ g/l]). Les champignons mélangés pourraient ainsi être propices à une régulation des protéines face à une alimentation hypercalorique. De ce fait, les champignons pouvant inhiber l'oxydation des protéines pourraient ainsi une fois de plus empêcher un dysfonctionnement rénal dû à une hyperglycémie.

IV-4-7- Effet de la supplémentation sur quelques marqueurs du stress oxydant des rats soumis à un régime hypercalorique:

L'augmentation du niveau de glucose peut induire un stress oxydatif par l'intermédiaire de la formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Prakasam et al., 2005**). Ces ERO sont très toxiques pour les cellules, particulièrement pour les membranes cellulaires. Les ERO vont interagir avec la bicouche lipidique et provoquer la production des lipoperoxydes (**Sivajothi et al., 2008**). Toutefois, des antioxydants endogènes enzymatiques tels que la SOD, la CAT, le GPx et non enzymatique comme le GSH sont responsables de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères (**Cho et al., 2002**). Dans le cas de l'hyperglycémie chronique, l'élévation des marqueurs du stress oxydant entraîne une diminution de ces systèmes de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Mazunder et al., 2005**). On assiste ainsi à une augmentation des produits de la peroxydation lipidique (MDA), une diminution du GSH et une inhibition de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD et CAT).

En effet, plusieurs études réalisées sur l'homme et sur des modèles animaux utilisant le dosage de la TBARS qui représente la concentration en MDA ont constaté une

augmentation du malonyldialdéhyde (MDA) dans le sang et les tissus (le foie, les reins et le cerveau) des sujets hyperglycémiques et diabétiques (**Pavlovic et al., 2000; Flourie et al., 2006**). Ces constats sont adéquats avec nos résultats où on a relevé un taux plus élevé de la concentration du MDA dans le sang des rats du groupe TP ayant des glycémies plus élevées avec de faibles activités de la catalase et de la SOD. L'augmentation de la concentration du MDA suggère une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (**Delattre et al., 2005**) qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (**Khan and Chakrabarti, 2007**). L'augmentation de la peroxydation lipidique quant à elle affaiblit le fonctionnement des membranes par la baisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes et des récepteurs liés aux membranes. Ces produits de la peroxydation lipidique sont nocifs pour les cellules de l'organisme et sont associés à l'athérosclérose, les dommages des reins ainsi que plusieurs autres dommages tissulaires (**Delattre et al., 2005**).

Par ailleurs, la SOD est l'une des plus importantes enzymes antioxydantes du système de défense de l'organisme. La fonction majeure de la SOD est de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et donc réduire les effets toxiques dû à ce radical libre ou des autres radicaux qui dérivent des réactions secondaires (**Yue et al., 2005**). Et, la catalase (CAT) quant à elle est une hémoprotéine qui catalyse la réduction des peroxydes d'hydrogène en H_2O et en oxygène et protège les tissus des radicaux hydroxyles qui sont très réactifs (**Sathishsekar et Subramanian, 2005**).

Ainsi, de nombreuses études expérimentales ont montré les effets bénéfiques de l'administration des extraits de plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hyperglycémie, sur la balance oxydant/antioxydant ainsi que leurs capacités de prévenir le développement des complications liées à cette hyperglycémie (**Cho et al., 2002, Bouzabata et al., 2013; Benderradji et al., 2014**). C'est dans ce sens que nous avons dosé quelques marqueurs du stress tels que La SOD, la catalase et le TBARS afin de voir si notre mélange de champignons pleurotes permettrait de réguler ces marqueurs dans l'organisme. C'est-à-dire, il était question d'évaluer la capacité du mélange de champignons pleurotes à protéger les tissus hépatiques et rénaux des dommages tissulaires qui peuvent être causés par une peroxydation lipidique lors d'une hyperglycémie due à un régime hypercalorique.

Au bout de l'expérimentation, on constate donc un taux de TBARS plus élevé chez le groupe TP avec des activités de la catalase et de la SOD plus bas. Comparé au groupe TP, les résultats nous montrent une fois de plus que l'organisme des rats ayant été supplémenté en mélange de champignons se comporte mieux que celui des rats à régime hypercalorique non

traité. De plus, s'agissant de la baisse de l'activité de la SOD chez le groupe TP, les résultats nous montrent une différence significative entre l'activité de la SOD chez le groupe TP et l'activité de la SOD chez le groupe TN. Entre le groupe TN et les groupes tests, on ne note pas de différence significative. Ces résultats pourraient traduire chez les groupes tests une capacité à détoxifier l'organisme des effets dû aux radicaux libres ou à la peroxydation lipidique. Chez le groupe TP, on noterait plutôt une capacité qu'a l'organisme à développer une peroxydation lipidique.

Autrement dit, comparé au groupe TP, la baisse du taux de TBARS et l'augmentation des activités de la SOD et de la CAT chez les groupes tests (figures 28, 29 et 30) laissent penser que la défense oxydante pourrait être régulée par les principes actifs présents dans les champignons. Ceux-ci auraient provoqué une augmentation de la capacité de détoxification de l'organisme par l'amélioration de la capture des radicaux libres (**Bouldjadj, 2009**). Ce qui contribuerait ainsi à prévenir la survenue d'un stress oxydant dû à une hyperglycémie.

Ces résultats suggèrent aussi que les champignons ont pu protéger les tissus hépatiques et rénaux : ils ont pu contrôler l'état pathologique que pouvait entraîner une alimentation hypercalorique par inhibition de la peroxydation lipidique. En outre, l'inhibition de la peroxydation lipidique chez les groupes tests peut être due au potentiel antioxydant du mélange de champignons et à l'amélioration du contrôle de la glycémie par inhibition des activités des enzymes digestives (**Bouldjadj, 2009**).

A l'issu de ces travaux de la supplémentation des mélanges de champignons sur les rats ingérant un régime hypercalorique, nous pouvons aussi dire que les extraits ont présenté une meilleure activité que les poudres. Le mélange de champignons pleurotes pourrait ainsi avoir plus d'effets à prévenir l'hyperglycémie et les désordres métaboliques qui lui sont associés s'il est consommé sous forme de thé ou sous forme d'infusion. En effet, sous ces formes, les principes actifs des champignons étant davantage concentrés, permettent aux champignons de mieux ressortir leurs propriétés thérapeutiques.

IV-5- Conclusion partielle

A l'issu de ce 4^{ème} chapitre qui avait pour objectif de déterminer la teneur en quelques nutriments du meilleur mélange (mélange 3) et d'étudier l'influence de sa supplémentation journalière (en poudre et en extrait) sur les rats soumis à un régime hypercalorique sur une période d'un mois, il en ressort que :

- Le mélange 3 de champignons constitué de *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju* renferme une teneur en nutriments non négligeable tant

sous sa forme crue que sous sa forme cuite : nous avons les macronutriments et les micronutriments tels que le Fe, le Cu, le Zn, le Mn, le Ca, le Na, le P, le Mg et le K.

- La supplémentation en ce mélange de champignons permet de limiter la prise de poids et de stabiliser la glycémie chez les rats soumis à un régime hypercalorique avec l'extrait agissant mieux que la poudre ;
- La supplémentation en ce mélange de champignons permet de réguler les paramètres biochimiques des rats (les paramètres du profil lipidique : Cholestérol total, cholestérol HDL, LDL et triglycéride, du stress oxydant : MDA, catalase, SOD et quelques paramètres de la fonction rénale : créatinine, urée, protéine) soumis à une diète hypercalorique avec l'extrait agissant mieux que la poudre.

CONCLUSION GENERALE, SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE

Au terme de cette étude qui avait pour but d'évaluer les activités antioxydante, hypoglycémiant et antihyperglycémiant d'un mélange de trois champignons pleurotes ainsi que l'influence de sa supplémentation sur les rats soumis à un régime hypercalorique, il en ressort que :

➤ Les extraits de champignons mélangés présentent une activité antioxydante plus précisément les extraits aqueux et hydroéthanoliques avec les mélanges 1 et 3 comme meilleurs mélanges. De plus, les extraits de champignons mélangés présentent une capacité à inhiber les enzymes digestives (alpha amylase et alpha glucosidase) du glucose particulièrement les extraits aqueux.

➤ Les extraits aqueux et hydroéthanoliques qui ont présenté les meilleures activités antioxydantes et inhibitrices des enzymes digestives renferment les composés phénoliques tels que les saponines, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes et les terpénoïdes. Ces extraits ne présentent aucun signe notable de toxicité tant sur le plan comportemental que physiologique et présentent à court terme une capacité à limiter et à baisser l'hyperglycémie postprandiale précisément les extraits du mélange 3.

➤ Le mélange 3 constitué de *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* et *Pleurotus sajor caju* dans les proportions 0,5 ; 2 ; 0,5 respectivement présente une teneur en nutriments considérable. Ce mélange de champignons contribue à long terme dans l'organisme à la régulation du contrôle pondéral, glycémique et au contrôle des paramètres biochimiques (profil lipidique, quelques marqueurs de la fonction rénale et du stress oxydant) chez les rats soumis à un régime hypercalorique avec l'extrait agissant mieux que la poudre.

SUGGESTIONS :

A l'issue de ce travail, nous pouvons conseiller à la population d'intégrer dans leurs habitudes alimentaires une consommation des champignons pleurotes et particulièrement le mélange des espèces : *Pleurotus floridanus*, *Pleurotus pulmonarius* et *Pleurotus sajor caju*.

PERSPECTIVES:

- ❖ Evaluer l'effet de la consommation journalière du mélange 3 (sous forme de plat cuisiné et de tisane) sur le statut nutritionnel des patients diabétiques de type 2.
- ❖ Effectuer une HPLC couplée à la SM de l'extrait aqueux du meilleur mélange de champignons pleurotes pour une meilleure caractérisation des composés actifs présents dans ce mélange.
- ❖ Etablir les mécanismes de contrôle de la glycémie par lesquelles les champignons pleurotes agissent.

REFERENCES

REFERENCES

- ACD (Association canadienne du diabète). (2009).** « Lignes directrices de pratique clinique 2008 de l'Association canadienne du diabète pour la prévention et le traitement du diabète au Canada », *Canadian Journal of Diabetes*, 32, supplément 1, p. S 1 – S 4.
- ADA (American Diabetes Association). (2014).** Standards of medical care in diabetes-2014. *Diabetes Care* ; 37 (Suppl.): S 14 – S 80.
- ADA (American Diabetes Association). (2008).** « Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2007 », *Diabetes Care*, 31(3), p. 596-615.
- Al-Achi, A. (2005).** Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care* 8 (7), 325-330.
- Ali, H., Houghton, P., & Soumyanath, A. (2006).** α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of ethnopharmacology*, 107 (3), 449-455.
- Allain, C., Poon, S., Chan, C., Richmond, W., & Fu, C. (1974).** Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry* 20 : 470-475.
- Allain, P. (2008).** Les médicaments, 3^{ème} édition. N°123.
- Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M., Tabti, B., Ghalem, S., & Benabadji, N. (2008).** Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry*; 20 (04) : 2701-2710.
- Almind, K., Doria, A., & Kahn, C. (2002).** Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nature Medicine*, 7 (3) : 277 - 276.
- Amarowicz, R., Pegg, R., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. (2004).** Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84 : 551–562.
- André, G. (2001).** Guide pratique du diabète, édition Masson. Paris, 1 - 415.
<https://www.bookinbar.com/livre/9782901227670-guide-pratique-du-diabete-2e-edition-andre-grimaldi/>
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990).** Official method of Analysis, food composition, Official Analytical Chemists, additives natural contaminant, *Adrich RC éd.*, Vol 2, 15^{ème} édition, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1980).** Official and tentative methods of analysis. 13th edition William Horwitz edr, Washington, 978 p.
- Araujo, E., De Souza, C., ... & Ueno, M. (2007).** Infliximab restores glucose homeostasis in an animal model of diet-induced obesity and diabetes. *Endocrinology* ; 148:5991-7.

- Assah, F., Atanga, E., Enoru¹, S., Sobngwi, E., & Mbanya, J. (2015).** Short Report: Care Delivery Community-based peer support significantly improves metabolic control in people with Type 2 diabetes in Yaounde, Cameroon. *Diabetic Medicine* ; 4 : 3– 4.
- Atri, N., Sharma, S., Joshi, R., Ashu, G., & Arvind, G. (2012).** Amino Acid Composition of Five Wild *Pleurotus* Species Chosen from North West India. *European Journal of Biological Sciences*, 4 (1): 31-34, 2012.
- Bakchiche, B., Gherib, A., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. (2013).** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Producis*. 46 : 85- 96.
- Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3):266-272.
- Barros, L., Heleno, S., Carvalho, A., & Ferreira, I. (2010).** Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: vitamins and phenolics. *Lebensmittel-Wissenschaft and Tectnologie*, 43 : 544-550.
- Barrou, B., Bitker, M., Grimaldi, A., Debré, P., & Richard F. (2004).** Transplantation pancréatique: indications résultats et perspectives. *EMC-Endocrinology*; 1 : 43-53.
- Baudin, B. (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Médecine Thérapeutique Cardiologie*, 2 (1) : 43-52.
- Bechiri-abbes, A., ... (2016).** Contribution à l'étude de l'effet de plantes médicinales sur l'hyperglycémie postprandiale chez le rat Wistar. Thèse soutenue en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie. 141p.
- Beddou, F. (2015).** Etude phytochimique et activité biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid. 143 p.
- Benderradji, L., Rebbas, K., Ghadbane, M., Bounar, R., Brini, F., & Bouzerzour, H. (2014).** Ethnobotanical study of medicinal plants in Djebel messaad region (M'sila, Algeria). *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 3(12), 445.
- Bhaskar, A., Vidhya, V., & Ramya, M. (2008).** Hypoglycemic effect of *Mucuna pruriens* seed extract on normal and streptozotocin-diabetic rats. *Fitoterapia*, 79 : 539 - 543.
- Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., & Ziyyat, A. (2002).** Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Journal of Ethnopharmacology Forum*, 10 : 33-50.
- Boa, E. (2006).** Champignons comestibles sauvages : vue d'ensemble sur leurs utilisations et leur importance pour les populations. FAO, Rome, Italie, 157 p.

- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., ... & Kroke, A. (2012).** Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases, *European Journal of Nutrition*; 51 : 637-663.
- Boitard, C. (2002).** THE origin of type 1 diabetes: an autoimmune disease? *Diabetes and Metabolism Journal (Paris)*, 28 : 263 - 265.
- Bonnefont-Rousselot, D. (2002).** Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5 : 561-68.
- Borges de Melo, E., Da Silveira Gomes, A., & Carvalho, I. (2006).** Alpha-and beta-Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62 : 10277-10302.
- Boudjelthia, K., Hammadi, K., Kouidri, M., & Djebli, N. (2017).** - Evaluation of antidiabetic activity of two plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*. *Journal of Physical Chemistry and Biophysics*, 7 : 236.
- Bouldjadj, R. (2009).** Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia Herba Alba Asso* chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Mémoire soutenu en vue de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie Cellulaire et Moléculaire. 111 p : 64.
- Bourelly, D. (1982).** Observation sur le dosage de l'huile des graines de cotonnier. *Coton et Fibres Tropicales*. 27 (2) : 183 – 196.
- Bourne, R., Stevens, G., White, R., Smith, J., Flaxman, S., ... & Price, H. (2013).** Causes of vision loss worldwide, 1990–2010: a systematic analysis. *Lancet Global Health*. 1:(6) e339-e349.
- Bouzabata, A. (2013).** Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(1), 12-20.
- Bravo-Torres, J., Villagomez-Castro, J., Calvo-Mendez, C., Flores-Carreón, A., & Lopez-Romero, E. (2004).** Purification and biochemical characterisation of a membrane-bound alpha-glucosidase from the parasite *Entamoeba histolytica*. *International Journal for Parasitology*, 34 (4) : 455-462. Doi : 10.1016/j.ijpara.2003.11.015.
- Broisat, A., Riou, L., Fagret, D., & Ghezzi, C. (2005).** Physiopathologie de la plaque d'athérome vulnérable. *Médecine Nucléaire - Imagerie Fonctionnelle et Métabolique*, 29 (4) : 198-202.
- Bruhn, J., Abright, N., & Mihail, J. (2010).** Forest farming of wine-cap *Stropharia* mushrooms. *Agroforestry Systems*, 79 (2) : 267-275.

- Burk, R. (2002).** Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutrition in Clinical Care*, 5 : 47-49.
- Buse, M. (2006).** Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *American Journal of Physiology-Endocrinol and Metabolism*, 290 : 1-8.
- Cabrinety, N., Pisonero, M., ... & Ajram, J. (2002).** Lipoprotein (a) in obese children with a family history of cardiovascular disease. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 15 : 77-80.
- Cadet, J., Bellon, S., Berger, M., Bourdat, A., Douki, T., Duarte, V., Frelon, S., Gasparutto, D., Muller, E., Ravanat, J., & Sauvaigo, S. (2002).** Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biological Chemistry*, 383 (6) : 93 - 100.
- Caralyne, G., Sheila, A., Joseph, C., & Charles, O. (2008).** « Mushroom polysaccharide extracts delay progression of carcinogenesis in mice », *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, 7 (2) : 147–152.
- Carstensen, M., Herder, C., ... & Kivimäki, M. (2010).** Accelerated increase in serum interleukin-1 receptor antagonist starts 6 years before diagnosis of type 2 diabetes: Whitehall II prospective cohort study. *Diabetes*, 59 : 1222-7.
- Ceriello, A. (2003).** New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes care*, 26 (5), 1589-1596.
- Ceriello, A., Mercuri, F., Quagliaro, L., Assaloni, R., Motz, E., Tonutti, L., & Taboga, C. (2001).** Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*, 44 : 834 - 838.
- Chabrier, J. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie. Thèse de Pharmacie, Sciences du Vivant [q-bio] / Sciences Pharmaceutiques, Université Henri Poincare, Nancy 1, 184.
- Chakrabarti, R., & Rajagopalan, R. (2002).** Diabetes and insulin resistance associated disorders: Disease and the therapy. *Current Science*, 83 : 1533-1538.
- Cho, S., Park, J., Park, E., Choi, M., Lee, M., Jeon, S., Jang, M., Kim, M., & Park, Y. (2002).** Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in 74 streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, 317 : 109 - 117.
- Chuanyun, D., Bochu, W., Huan, Z., Conglin, H., Chuanren, D., Wangqian, L., ... & Sakanishi, A. (2004).** Effect of low frequency ultrasonic stimulation on the secretion of siboflavin produced by *Ecemothecium Ashbyii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 34 (1) : 7-11.

- Congo, M. (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso: 42p.
- Council UEAS. (2009).** Potential of traditional medicine should be fostered, Economic and Social Council President tells panel on attaining Millennium Development Goals in public health. ECOSOC/6385, Department of Public Information, News and Media Division, New York.
- Courtecuisse, R., & Duhem, B. (2011).** Guide des champignons de France et d'Europe. 1752 espèces décrites et illustrées. Paris : Delachaux et Niestlé, 544p.
- Dedola, S., Hughes, D., Nepogodiev, S., Rejzek, M., & Field, R. (2010).** Synthesis of α - and β -d-glucopyranosyl triazoles by CuAAC 'click chemistry': reactant tolerance, reaction rate, product structure and glucosidase inhibitory properties. *Carbohydrate research*, 345: 1123-1134.
- Deepalakshmi, K., & Mirunalini, S. (2014).** *Pleurotus ostreatus*: An Oyster Mushroom with Nutritional and Medicinal Properties. *Journal of Biochemical Technology*, 5 : p. 718-726.
- Defraigne, J., & Pincemail, J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue Médicale de Liège*, 63 : 10 – 19.
- Deguchi, Y., & Miyazaki, K. (2010).** Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of guava leaf extract. *Nutrition and metabolism*, 7 (1), 1.
- Delattre, J., Beaudeau, J., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 1 - 405.
- Detaille, D., Guigas, B., Leverve, X., Wiernsperger, N., & Devos, P. (2002).** Obligatory role of membrane events in the regulatory effect of metformin on the respiratory chain function. *Biochem Pharmacol*, 63 : 1259-127.
- Dey Lucey, M., Anaja, S., Attele, D., & Chun-SuYuan, M. (2002).** Alternative therapy for type 2 diabetes. *Alternative Medecine Review*, 7(1). PP:45-48.
- Dinarello, C. (2011).** Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 117 : 3720-32.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J., & Stocker, P. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2599-2606.

- Du, X. (2001).** Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 97 : 12222 - 12226.
- Ducobu, J. (2003).** Oral ant diabetic drugs in 2003. *Medical Journal of Brussels*, 24, pp. 361-368.
- Duren, D., Sherwood, R., Czerwinski, S., Lee, M., Choh, A., Siervogel, R., Eddouks, M., Ouahidi, M., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5: 194 - 203.
- Ehses, J., Böni-Schnetzler, M., Faulenbach, M., & Donath, M. (2008).** Macrophages, cytokines and beta-cell death in type 2 diabetes. *Biochemical Society Transactions*, 36 : 340-2.
- El-Alfy, A., Ahmed, A., & Fatani, A. (2005).** Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. *Pharmacological Research*, 52 : 264 - 270.
- Eliza, J., Daisy, P., Ignacimuthu, S., & Duraipandiyan, V. (2008).** Normo-glycemic and hypolipidemic effect of costunolide isolated from *Costus speciosus* (Koen ex. Retz.) Sm. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 68 : 211-223.
- El-Mustafa, A., & El-Tunibat, O. (2008).** Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 (3) : 351 - 358.
- Essartier, G., & Roux, P. (2011).** Le guide des champignons – Editions Belin.
- Etoundi, O., Kayo, T., Mbang, M., & Pième, C. (2019).** Study of Acute Toxicity and the Effect of the Aqueous Extract of a Formulation of Three Edibles Mushrooms on Oxidative Stress Induced in Rats. *World Journal of Food Science and Technology*, 3(1):6-13.
- Etoundi, O., Kuaté, D., Ngondi, J. L., & Oben, J. (2010).** Anti-amylase, anti-lipase and antioxidant effects of aqueous extracts of some Cameroonian spices. *Journal of Natural Products*, 3 : 165-171.
- Etoundi, O., Mbang, M., Kayo, T., & Gouado, I. (2018).** Study of antiradical and antihyperglycemic activities of mushrooms *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus*

floridanus currently consumed in Cameroon. *Journal de sciences, technologies et développement*, 20 : 19-25.

- Etoundi, O., Mbang, M., Tuem, S., & Gouado, I. (2017).** Study of Toxicity and Antidiabetic Activity of Ethanolic and Hydroethanolic Extracts of *Pleurotus pulmonarius* and the Aqueous Extract of *Pleurotus floridanus*. *Journal of Food, Nutrition and Population Health*, 1 (2) :19.
- Evans, J., Goldfine, I., Maddux, B., & Grodsky, G. (2003).** Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*, Vol 52:1–8.
- Faiveley, M. (2010).** Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire. Produits d'origine végétale. Fabrication des bières. Techniques-ingénieur. Enilbio poligny, France.
- Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 (6), pp. 390-396.
- Fehrest, S., Montasser, K., & Morad, A. (2012).** Effects of three medicinal plants extracts in experimental diabetes: antioxidant enzymes activities and plasma lipids profiles in comparison with metformin. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 11(3) : 897-903.
- Ferrannini, E., Gastaldelli, A., & Miyazaki, Y. (2005).** Betacell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90 : 493 - 500.
- Féry, F., & Paquot, N. (2005).** Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *La revue de médecine interne*, 24 : 730 - 737.
- FID (Fédération internationale du Diabète). (2019).** Atlas du diabète de la FID, 9^e édition.
- FID (Fédération internationale du Diabète). (2021).** Atlas du diabète de la FID, 10^e édition.
- Flourie, F., Arab, K., Rossary, A., & Steghens, J. (2006).** Effets de différents antioxydants sur la lipoperoxydation *in vitro* initiée par le radical OH[•]. *Immuno-analyse et Biologie Spécialisée*, 21 : 229–233.
- Fokou, E., Ponka, R., Tchegnimba, A., Ngu, B., & Tchouanguep, M. (2008).** Alimentation et statut en deux micronutriments antioxydants (zinc et vitamine C) de quelques patients camerounais hypertendus. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 22 : 4-9.
- Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel, C., & Leverve, X. (2002).** Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation*, 11 : 411-420.

- Forlié, C. (2011).** Des exemples de plantes dans le diabète de type II: activité et prévention. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, No 288-229.
- Friedewald, W., ... (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18 : 499.
- Fujisawa, T., Ikegami, H., Inoue, K., Kawabata, Y., & Ogihara, T. (2005).** Effect of two alpha glucosidase inhibitors, voglibose and acarbose, on postprandialhyperglycemia correlates with subjective abdominal symptoms. *Metabolism*. 54 : 387–90.
- Garthoff, B. (2005).** Alternatives à l'expérimentation animale : Le cadre réglementaire ; 207 (2) : 388-392.
- GBD (Global Burden of Disease). (2013).** Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 2015 ; 386 (10010) : 2287–323.
- Geoffroy, L., & Gonthier, M. (2012).** L'hyperglycémie et l'acidose diabétique. Dans le diabète chez l'enfant et l'adolescent, 2e édition. Montréal: *Éditions du CHU Ste-Justine*, p.355-364.
- Girard, J. (2001).** Fondements, physiologiques du diabète du type II, in. *La revue de praticiens*. 49, 22-9.
- Girardin, C., & Schwitzgebel, V. (2007).** Diabète de type 2 en pédiatrie : diagnostic et prise en charge. *Revue Médicale Suisse*, 3 : 1001 - 1006.
- Goli, A., Barzegar, M., & Sahari, M. (2005).** Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry* 92 : 521-525.
- Gornall, A., Bardawill, C., & David, M. (1949).** Determination of serum proteins by means of the Biüret reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 177, 751-766.
- Gorogawa, S., Kajimoto, Y., Umayahara, Y., & al., (2002).** Probucol preserves pancreatic beta-cell function through reduction oxydative stress in type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* ; 57 :1-10.
- Grimaldi, A., Hartemann-Heurtier, A., Jacqueminet, S., Bosquet, F., Masseboeuf, N., Halbran, M., & Sachon, C. (2009).** *Guide Du Diabete. 4e édition. Elsevier Masson*, 313 p. ISBN 2294704894.
- Grover J., Yadav S., & Vats, V. (2002).** Medicinal plants of india with antidiabetic potential. *J Ethnopharmacol*. 81 : 81-100.

- Guillausseau, P., & Laloi-Michelin, M. (2003).** Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Revue de Medecine Interne*, 24 (11) : 730-737.
- Gulcin, I. (2006).** Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217: 213-220.
- Gunczler, P., Lanes, R., ... & Lopez, E. (2002).** Cardiac mass and function, carotid artery intima-media thickness and lipoprotein (a) levels in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus of short duration. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 15 : 181-6.
- Guzman, G. (2000).** Genus *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetideae): diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses, *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2 : 95–123.
- Halimi, S. (2003).** Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID), 223b.
- Hammer, M., Storey, S., Hershey, D., Brady, V., Davis, E., Mandolfo, N., Bryant, A., & Olausson, J. (2019).** Hyperglycemia and Cancer: A State-of-the-Science Review. *Oncology Nursing Forum*, 46 (4) : 459-472.
- Hanhineva, K., Torronen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkanen, H., & Poutanen, K. (2010).** Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 1365-1402.
- Harbone, J. (1967).** Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York, 1-130p.
- Haslett, H., Chilver, E., & Nicolas, A. (2002).** Médecine interne principe et pratique. Ed Maloine, Vol : 18. P : 473- 500.
- Henriksen, T., Mahoney, E., & Steinberg, D. (1983).** Enhanced macrophage degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 3 (2) : 149-159.
- Hilaly, J., Israili, Z., & Lyouss, B. (2004).** *Journal of Ethnopharmacology*, 91 : 43 - 50.
- Hip, S., Fook, Y., Swee, K., & Chun, W. (2009).** Phenolic profiles of selected edible wild mushrooms as affected by extraction solvent, time and temperature. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(03): 392-401.
- Hoa, N., Norberg, A., Sillard, R., Van Phan, D., Thuan, N., ... & Dzung, D. (2007).** The possible mechanisms by which phanoside stimulates insulin secretion from rat islets. *Journal of Endocrinology*, 192 : 389 - 394.

- Hodge, A., English, D., ... & Itsiopoulos, C. (2011).** Does a Mediterranean diet reduce the mortality risk associated with diabetes: evidence from the Melbourne Collaborative Cohort Study? *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 21 : 733-9.
- Holzer, S. (2011).** La permaculture de Sepp Holzer : guide pratique pour jardins et productions agricoles diversifiées. *éditions imagine un colibri*, 220 p.
- Horwitz, M., Ilic, A., Fine, C., Rodriguez, E., & Sarvetnick, N. (2002).** Presented antigen from damaged pancreatic beta cells activates autoreactive T cells in virus-mediated autoimmune diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 109 : 79 - 87.
- Hsiu, J., Fischer, E., & Stein, E. (2012).** *Biochemistry* 3 : 61.
- Hu, C., Lin, J., Lu, J., Chou, F., & Yang, D. (2008).** Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract. *Food Chemistry*, 109 : 439-446.
- Huang, D., Ou, B. & Prior, R. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- IDF (International Diabetes Federation. (2009).** *IDF Diabetes Atlas*. Fourth Edition. Brussels.
- Imran, S., ... (2018).** Diabetes Canada 2018 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Targets for Glycemic Control. *Canadian Journal of Diabetes*, 42 (Suppl 1) : S42-S46.
- Ingels, C., Vanhorebeek, I., Langouche, L., & Van den Berghe, G (2006).** Rôle de l'insuline et du contrôle de la glycémie en réanimation. *Réanimation*, 15 : 474-80.
- Inoguchi, T., Sonta, T., Tsubouchi, H., Etoh, T., Kakimoto, M., Sonoda, N., Sato, N., Sekiguchi, N., Kobayashi, M., Sumimoto, H., Utsumi, H., & Nawata, H. (2003).** Protein Kinase C– Dependent Increase in Reactive Oxygen Species (ROS) Production in Vascular Tissues of Diabetes: Role of Vascular NAD(P)H Oxidase. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14 : 227 - 232.
- Irengé, K. (2002).** Etude comparative des rendements de trois souches de *Pleurotus* (cas de Hk7, Hk51 et *Pleurotus floridanus*) culture sur les rafles de maïs, paille de sansevière, paille de chaume et leur mélange.
- Itsiopoulos, C., Brazionis, L., ... & Kaimakamis, M. (2011).** Can the Mediterranean diet lower HbA1c in type 2 diabetes? Results from a randomized cross-over study. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 21 : 740-7.

- Jain, S., Mc Vie, R., & Smith, T. (2000).** Vitamin E supplementation restores glutathione and molondialdehyde to normal concentration in erythrocytes of type 1diabetic children. *Diabetes Care*, 23 : 1389 - 1394.
- Jakuš, V., & Rietbrock, N. (2004).** Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiological Research*, 53 : 131 - 142.
- Jang, Y., Song J., Shin, Y., Han, E., & Lee, C. (2004).** Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in STZ-induced diabetic rats. *Pharmacological Researc*, 42 : 361 -371.
- Kabadi, U., Vora, A., & Kabadi, M. (2000).** Hyperinsulinemia and central adiposity: influence of chronic insulin therapy in type 1 diabètes. *Diabètes Care*, 23 : 1024-1025.
- Kaleem, M., Kirmani, D., Asif, M., Ahmed, Q., & Bano, B. (2006).** Biochemical effects of Nigella sativa L seeds in diabetic rats. *Indian journal of experimental biology*, 44(9): 745-150.
- Kaplan, L., & Pesce, A., (1996).** Clinical chemistry, Mosby Ed. Cité par fiche technique SGM ITALIA. Ref : 20360.
- Katalinié, V., Milos, M., Modun, D., Musi, I., & Boban, M. (2004).** Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*. 86. 593–600.
- Kaur, R., & Arora, S. (2009).** Chemical constituents and biological activities of Chukrasia tabularis A. Juss. -A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3 (4) : 196-216.
- Kavey, R., Daniels, S., ... & Lauer, R. (2003).** American Heart Association. American Heart Association guidelines for primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Journal of Pediatrics*; 142 : 368-72.
- Kayo, T. (2019).** Etude du potentiel antiradicalaire des formulations de trois champignons comestibles et leur influence sur le stress oxydant induit chez les rats. Mémoire soutenu en vue d’obtention du master II en Biochimie. Bibliothèque de la Faculté des Sciences, Université de Douala (Cameroun), 118 pages.
- Ketan, P., Santosh, L., Ramesh, K., & Parloop, A. (2007).** Effects of Coenzyme Q10 On Lipid Levels And Antioxidant Defenses In Rats With Fructose Induced Hyperlipidemia And Hyperinsulinaemia. *The Internet Journal of Pharmacogy*.Vol 5 : 1531-2976.

- Khan, A., Qureshi, R., Ullah, F., Gilani, S., Nosheen, A., & Sahreen, S. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 6017-6023.
- Khan, Z., & Chakrabarti, S. (2007).** Cellular Signaling and Potential New Treatment Targets in Diabetic Retinopathy. *Experimental Diabetes Research*, 10 : 1 - 12.
- Khatun, K., Mahtab, H., Khanam, P., Sayeed, M., & Khan, K. (2007).** Mymensingh Medical, 16 : p. 94-9.
- Kintzios, S., Papageorgiou, K., Yiakoumettis, I., Baricevic, D., & Kusar, A. (2010).** Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53 : 773-776.
- Kitamura, M., Okuyama, M., Tanzawa, F., Mori, H., Kitago, Y., Watanabe, N., Kimura, A., Tanaka, I., & Yao, M. (2008).** Structural and functional analysis of a glycoside hydrolase family 97 enzyme from *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Journal of Biological Chemistry*, 283(52) : 36328-36337. Doi : 10.1074/jbc.M806115200
- Kocak, G., Aktan, F., Canbolat, O., Ozogul, C., Elbeg, S., Yildizoglu-Ari, N., & Karasu, C. (2000).** The ADIC study group- antioxidants in diabetes- induced complication. Alpha lipoic acid ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes*, 13 : 308 - 318.
- Komaki, E., Shinya, Y., Isafumi, M., Mitsuhiro, K., Kazuaki, K., Yasuhiro, O., & Yoji, T. (2003).** Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. *Food Science and Technology Research*, 9 (1), 35–39, 2003.
- Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C., & Abdelly, C. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2083-2091.
- Kulawik, P., Özogul, F., Glew, R., & Özogul, Y. (2013).** Significance of antioxidants for seafood safety and human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (3) : 475-491.
- Kumar, B., Sharmila, P., Vanithapappa, M., Sundararajan, M., & Rajasekara, P. (2004).** *Journal of ethnopharmacology*, 92 : 37 - 40.
- Lagrange, A. (2010).** “Microangiopathies thrombotiques, une urgence diagnostique,” Option/Biological, vol. 21, no. 446, pp. 16-17.

- Larsen, C., Faulenbach, M., ... & Vaag, A. (2007).** Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 356 : 1517-26.
- Le, K., Chiu, F., & Ng, K. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105 : 353-363.
- Lecerf, J., Borgies, B., Boukandoura, B., Cayzele, A., Robin, J., & Grivet, D. (2008).** Influence du procédé de fabrication sur la qualité nutritionnelle du pain de campagne. *Sciences des aliments* ; 28 : 431-49.
- Lee, O., & Lee, B. (2010).** Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource technology*, 101 (10) : 3751-3754.
- Léger, C. (2006).** Anti-oxydants d'origine alimentaire: diversité, mode d'action antioxydante, interactions. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 13 : 2-3.
- Leong, L., & Shui, G. (2002).** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.*, 76 (1): 69-75.
- Levasseur, P. (2003).** Les antidiabétique oraux dans le traitement du diabète de type 2 *in pharmas- tu lu* ? Volume 6 Numéro 1.
- Lien, E., Ren, S., Bui, H., & Wang, R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (3-4) : 285-294.
- Ling, P., Smith, R., & Bistrrian, B. (2005).** Hyperglycemia enhances the cytokine production and oxidative responses to a low but not high dose of endotoxin in rats. *Critical Care Medicine*, 33 : 1084-9.
- Lu, M., & Chen, C. (2008).** Enzymatic modification by tannase increases the antioxidant activity of green tea. *Food Research International*, 41: 130–137.
- Luotola, K., Pietilä, A., ... & Zeller, T. (2011).** Associations between interleukin-1 (IL-1) gene variations or IL-1 receptor antagonist levels and the development of type 2 diabetes. *Journal of Internal Medicine* ; 269 : 322-32.
- Lyu, S., & Park, W. (2005).** Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC in vitro incubation with flavonoids. *Archives of Pharmaceutical Research*, 5: 537-81.
- Maedler, K., Dharmadhikari, G., Schumann, D., & Størling, J. (2011).** Interleukin-targeted therapy for metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 203:257-78.

- Maneesh, M., & Jayalekshmi, H. (2006).** Role of reactive oxygen species and antioxidants on pathophysiology of male reproduction. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 21 (2) : 80-89.
- Mangano, S., & Williamson, G. (2010).** Polyphenols and phenolic acid from decrease glucose uptake and transport by human intestinal caco-2 cells. *Molecular nutrition and food research*, 54 (12) : 1773-1780.
- Mazunder, U., Gupta, M., & Rajeshwar, Y. (2005).** Antihyperglycemic effect and antioxidant potential of *phyllanthus niruri* (euphorbiaceae) in streptozotocin induced diabetic rats. *European Bulletin of Drug Research*, 13 (1) : 13 - 23.
- Mbang, M. (2017).** Etude des activités antiradicalaire et antidiabétique de deux espèces de champignons couramment consommées au Cameroun : *P. pulmonarius* et *P. floridanus*. Mémoire soutenu en vue d'obtention du master II en Biochimie. Bibliothèque de la Faculté des Sciences, Université de Douala (Cameroun), 89 pages.
- Mendes, A., Oliveira, P., & De Castro, H. (2012).** Proprieties and biotechnological applications of porcine pancreatic lipase. *Journal of Molecular Catalysis B : Enzymatic*. 2012; Vol. 78 : 119-134.
- Moxey, P., Gogalniceanu, P., Hinchliffe, R., Loftus, I., Jones, K., ... & Thompson, M. (2011).** Lower extremity amputations – a review of global variability in incidence. *Diabetic Medicine*. 28:(10), 1144–1153.
- Ncube, N., Afolayan, A., & Okoh, A. (2008).** Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7 (12): 1797-1806.
- Ninkwango, T. (2007).** La culture des champignons pleurotes. *Cameroun. 2e édition*, 47 pages.
- O'Brien, R., Luo, M., Balazs, N., & Mercuri, J. (2000).** *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of gliclazide. *Journal of Diabetes Complications*, 14 : 201 - 206.
- OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economique). (2008).** Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *In etude toxicite orale a dose repete*e pendant 28 jours sur les rongeurs, 407 : 9.
- Omari, N., Dahmani-ait akli, Y., Labrousse, F., & Hadj-bekkouche, F. (2011).** Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat *Wistar (Rattus norvegicus)*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* ; 80 : 907 – 938.
- Omgba, C., Malang, C., ... & Mbarga, A. (2023).** Determination of the Glycemic Index of a Dish based on Oyster Mushrooms and the Influence of its Consumption on Some

- Biochemical Parameters of Diabetic Peoples. *International Journal of Diabetes and Metabolic Syndrome* ; 2(1):1-5.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé). (2015).** *Diabète, aide mémoire*, N°312.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé). (2018).** Le diabète, bombe à retardement pour l'Afrique, *journal 'le monde'*.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé). (2016).** *Noncommunicable diseases in emergencies*. Genève. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204627>
- OMS. (2013).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023, Organisation Mondiale de la Santé, Suisse.
- Oude, G., Verschuren, W., Kromhout, D., Ocké, M., & Geleijnse, J. (2011).** Raw and processed fruit and vegetable consumption and 10-year stroke incidence in a population-based cohort study in the Netherlands. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65 : 791-9.
- Ouedraogo, R., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V., Outtara, L., & Nebie, R. (2015).** Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1) : 281-291.
- Padwal, R., & Majumdar, S. (2007).** Drug treatments for obesity : orlistat, sibutramine and rimonabant. *The Lancet* ; Vol. 369 : 71-77.
- Pattabiraman, K., & Muthukumaran, P. (2011).** Antidiabetic and Antioxidant Activity of *Morinda tinctoria* roxb Fruits Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology*, 1 (2) : 34-39.
- Pavlík, M., & Pavlík, Š. (2013).** Wood decomposition activity of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) isolate *in situ*. *Journal of forest science*, 59 (1) : 28-33.
- Pavlovic, D., Kocic, R., Kocic, G., Jevtovic, T., Radenkovic, S., Kikic, D., Stojanovic, M., & Djorevic, P. (2000).** Effect of four-week metformin treatment on plasma and erythrocyte antioxidative defense enzymes in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2 : 251 - 256.
- Peter-Riesch, B., Philippe, J., & Stalder, H. (2002).** Découverte d'un diabète sucré. *Primary Care*, 2 : 284 - 290.
- Pierre, D., Etienne, C., Nicolas, M., Krzesinski, J., Christophe, M., Cristol, J., & Laurence, P. (2010).** "Créatinine: d'hier à aujourd'hui," *Annales de biologie Clinique*, vol. 68, no. 5, pp. 531-543.

- Pietrzak, W., Nowak, R., & Olech, M. (2014).** Effect of extraction method on phenolic content and antioxidant activity of mistletoe extracts from *Viscum album* subsp. *abietis*. *Chemical Papers*, 68 (7) : 976-982.
- Pinta, M. (1973).** Méthodes de références pour détermination des éléments dans végétaux : Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, K, Na et Cu par absorption atomique, *Oléagineuse*, 28, 87-92.
- Prakasam, A., Sethupathy, S., & Pugalendi, K. (2005).** Antiperoxidative and Antioxidant Effects of *Casearia Esculenta* Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *yale journal of biology and medicine*, 78 : 15 - 23.
- Purnell, J., Hokanson, J., Marcovina, S., Steffes, M., Cleary, P., & Brunzell, J. (1998).** Effect of excessive weight gain with intensive therapy of type 1 diabètes on lipid levels and blood pressure: results from the DCCT. Diabètes Control and Complications Trial. *Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 280 : 140-146.
- Pyo, Y., Lee, T., Logendra, L., & Rosen, R. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food chemistry*, 85 (1) : 19-26.
- Quezada-Calvillo, R., Sim, L., Ao, Z., Hamaker, B., Quaroni, A., Brayer, G., ... & Nichols, B. (2008).** Luminal starch substrate “brake” on maltase-glucoamylase activity is located within the glucoamylase subunit. *The Journal of nutrition*, 138(4), 685-692.
- Radyukina, N., Shashukova, A., Shevyakova, N., & Kuznetsov, V. (2008).** Proline Involment in the Common Sage Antioxidant System in the Presence of NaCl and Paraquat. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(5) : 649-656.
- Ramasamy, R., Yan, S., & Schmidt, A. (2006).** Glycation and RAGE: Common Links in the Pathogenesis of Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*, 30 (4) : 422 - 429.
- Ramírez, G., Zavala, M., Pérez, J., & Zamilpa, A. (2012).** *In vitro* screening of medicinal plants used in Mexico as antidiabetics with glucosidase and lipase inhibitory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- René, K., Rostand, M., Patrice, R., & Jeanne, Y. (2006).** Réactivité glycémique et évolution pondérale des rats soumis à de diètes locales hypercaloriques. *Journal of the Cameroon Academy of Sciences*, Vol. 6 No. 3 ; 6 : 187-192.

- Rhiouani, H., El-Hilalya, J., Israili, Z., & Lyoussia, B. (2008).** *Journal of Ethnopharmacology*, 118 : 378-386.
- Ricciarelli, R., Zingg, J., & Azzi, A. (2000).** Vitamin E Reduces the Uptake of Oxidized LDL by Inhibiting CD36 Scavenger Receptor Expression in Cultured Aortic Smooth Muscle Cells. *Circulation*, 102 (1) : 82-87.
- Rigalleau, V., Lasseur, C., Chauveau, P., Barthes, N., Raffaitin, C., ... & Combe, C. (2004).** Body composition in diabetic subjects with chronic kidney disease: interest of bio-impedance analysis, and anthropometry. *Annals of Nutrition and Metabolism*, Oct ; 48 (6) : 409 – 413.
- Ross, S., Gulve, E., & Wang, M. (2004).** Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. *Chemical Reviews*, 104 : 1255–1282.
- Ruch, R., Cheng, S., & Klaunig, J. (1989).** Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea, *Carcinogenesis*, 10 p. 1003.
- Rumore, M., & Kim, K. (2010).** Potential role of salicylates in type 2 diabetes. *Annals of Pharmacotherapy*, 2010 ; 44 : 1207-21.
- Rutter, M., & Nesto, R. (2011).** Blood pressure, lipids and glucose in type 2 diabetes: How low should we go? Re-discovering personalized care. *European Heart Journal*, 18 : 2247-55.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., ... & Duke, L. (2019).** The International Diabetes Federation Diabetes Atlas 9th edition: global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045. *Diabetes Research and clinical Practice (DRCP)*.
- Sahreen, S., Khan, M., & Khan, R. (2010).** Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122 : 1205-1211.
- Salas-Salvadó, J., Martínez-González, M., Bulló, M., & Ros, E. (2011).** The role of diet in the prevention of type 2 diabetes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 21(Suppl.2) : B32-48.
- Salmerón, I. (2017).** “Fermented Cereal Beverages: From Probiotic, Prebiotic and Synbiotic towards Nanoscience Designed Healthy Drinks.” *Letters in Applied Microbiology* 65 (2): 114–24. <https://doi.org/10.1111/lam.12740>.
- Salvayre, A., & Salvayre, R. (2005).** Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif -Implication en physiopathologie vasculaire. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 12 (5).

- Samaan, C., & Klip, A. (2008).** L'obésité, l'insulinorésistance et le diabète de type 2 : l'interaction entre les cellules adipeuses et les cellules musculaires. *Endocrinologie*, 8 : 7 - 13.
- Sánchez, C. (2010).** Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied microbiology and biotechnology*, 85 (5) : 1321-1337.
- Sarkhail, P., Rahmanipour, S., Fadyevatan, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., Amin, G., Shafiee, A., & Abdollahi, M. (2007).** Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research*, 56 : 261 - 266.
- Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S., Gobin, R., Kaptoge, S., & Di Angelantonio, E. (2010).** Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative metaanalysis of 102 prospective studies. Emerging Risk Factors Collaboration. *Lancet*. Jun 26 ;375 (9733):2215–22.
- Sathishsekar, D., & Subramanian, S. (2005).** Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14 (2) : 153 - 158.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2002).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* (in press).
- Schauemberg, P., Delachaux, F., & Nistle, E. (2005).** guide des plantes médicinales, analyse descriptive et utilisation, Paris.
- Schroder, K., Zhou, R., & Tschopp, J. (2010).** The NLRP3 inflammasome : A sensor for metabolic danger ? *Science*, 327 : 296-300.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011).** The role of antioxidants in human health. In *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*, Andreescu S, Hepel M (eds). ACS symposium series: Washington, DC ; 1-37.
- Serafini, M., Alessandra, S., & Sebastiano, F. (2012).** “Functional Foods: Traditional Use and European Legislation.” *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 63 (sup1): 7–9. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.63.7488>.
- Seronie, S., Vivien, M., Galteau, M., Carlier, M., & Hadj, A. (2004).** “Dosage de la créatinémie en 2003: état des lieux analytique et essai de standardisation de l'étalonnage,” *Annales de Biologie Clinique*, vol. 62, pp. 165-175.

- Shakya, A., Chaudary, S., Garabadu, D., Bhat, H., Kakoti, B., & Ghosh, S. (2020).** A Comprehensive Review on Preclinical Diabetic Models. *Current Diabetes Reviews*, 16(2) : 104-116.
- Sharma, S., Nasir, A., Prabhu, K., Murthy, P., & Dev, G. (2003).** Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxaninduced diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 85 : 201 - 206.
- Shim, Y., Doo, H., Ahn, S., Kim, Y., Seong, J., Park, I., & Min, B. (2003).** Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alphaglucosidase activity and postprandial blood glucose. *Journal of ethnopharmacology*, 85, 283- 287.
- Singh, G., Danaei, G., Farzadfar, F., Stevens, G., Woodward, M., ... & Wormser, D. (2013).** The age-specific quantitative effects of metabolic risk factors on cardiovascular diseases and diabetes: a pooled analysis. *PLoS One* ; 8(7):e65174.
- Shoelson, S., & Lee, J. (2006).** Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 116 : 1793-801.
- Sievenpiper, J., Kendall, C., ... & Esfahani, A. (2009).** Effect of non-oil-seed pulses on glycaemic control: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled experimental trials in people with and without diabetes. *Diabetologia*, 52 : 1479-95.
- Sim, L., Quezada-Calvillo, R., Sterchi, E., Nichols, B., & Rose, D. (2008).** Human intestinal maltase-glucoamylase: crystal structure of the N-terminal catalytic subunit and basis of inhibition and substrate specificity. *Journal of Molecular Biology*, 375(3): 782-792.
- Simon, K., & Wittmann, I. (2019).** Can blood glucose value really be referred to as a metabolic parameter? *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2019 Jun ; 20 (2) : 151-160.
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16 : 144-153.
- Sinha, A. (1972).** Colorimetric Assay of Catalase. *Analytical Biochemistry*, 47 : 389-394.
- Sivajothi, V., Dey, A., Jayakar, B., & Raj Kapoor, B. (2008).** Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (1): 53 - 59.
- Soltésova, D., & Herichova, I. (2011).** On the mechanisms of diabetogenic effects of alloxan and streptozotocin. *DMEV. ROCNIK. CISLO*, 14 :130-138.

- Song, C., Lyu, Y., Li, C., Liu, P., Li, J., ... & Ma, R. (2018).** Long-term risk of diabetes in women at varying durations after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis with more than 2 million women. *Obesity Reviews*, 19 (3) : 421–9.
- Spigno, G., Tramelli, L., & Faveri, D. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81 : 200-208.
- Stamets, P. (2000).** "Chapitre 21 : Paramètres de croissance pour Gourmet et Médicinales champignons Espèces" gourmet croissance et champignons médicinaux = [Shokuyo oyobi yakuyo kinoko pas sabai] (3e éd.). Berkeley, Californie, États - Unis : Ten Speed Press . pp. 316-320.
- Stephens, J., Gable, D., Hurel, S., Miller, G., Cooper, J., & Humphries, S. (2006).** Increased plasma markers of oxidative stress are associated with coronary heart disease in males with diabetes mellitus and with 10-year risk in a prospective sample of males, *Clinical Chemistry*, 52 : 446 - 452.
- Stocker, R. (2009).** Molecular mechanism underlying the antiatherosclerotic and antidiabetic effects of probucol, succinobucol, and other probucol analogues. *Current Opinion in Lipidology*, 20 : 227, 35.
- Sudha, P., Zinjarde, S., Bhargava, S., & Kumar, A. (2011).** Potent amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11 : 5.
- Sugiyama, H., Akazome, Y., Shoji, T., Yamaguchi, A., Yasue, M., Kanda, T., & Ohtake, Y. (2007).** Oligomeric procyanidins in apple polyphenol are main active components for inhibition of pancreatic lipase and triglyceride absorption, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4604–4609.
- Takahashi, N., Yamazaki, Y., Kobayashi, A., Higashitani, A., & Takahashi, H. (2003).** Hydrotropism interacts with gravitropism by degrading amyloplasts in seedling roots of Arabidopsis and radish. *Plant physiology*, 132 : 805–810.
- Tanaka, N., Yonekura, H., Yamagishi, S., Fujimori, S., Fujimori, H., Yamamoto, Y., & amamoto, H. (2000).** The receptor for advanced glycation end products is induced by the glycation products themselves and tumor necrosis factor through nuclearfactor-B, and by 17-estradiol through Sp1 in human vascular endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, Vol 275 : 25781–25790.
- Tardif, J., McMurray, J., ... & Klug, E. (2008).** Aggressive reduction of inflammation stops events (ARISE) trial investigators. Effects of succinobucol (AGI-1067) after an

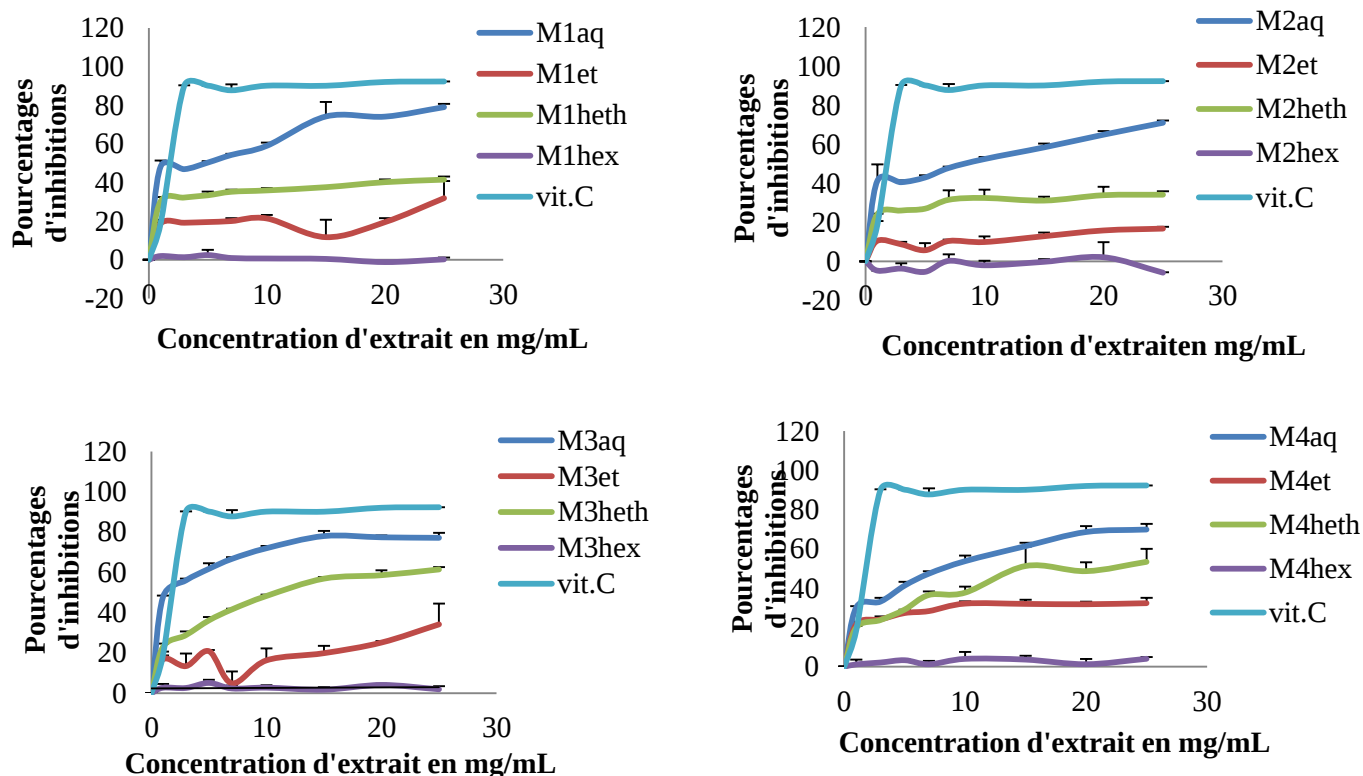
- acute coronary syndrome: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 371 : 1761-8.
- Thivolet, C. (2002).** Beta cells in type 1 diabetes: victims or activators of t cell response? *Diabetes and Metabolism*, (Paris), 28 : 267 - 269.
- Thomas, L. (1998).** Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, p. 374-7.
- Tournant, F., Heurtier, A., Bosquet, F., & Grimaldi, A. (2004).** Classification du diabète sucré critères diagnostiques et dépistage. In *Diabète de type II, coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier*, Paris : 45-82.
- Trudell, S., & Ammirati, J. (2009).** *Champignons du Pacifique Nord - Ouest. Timber Press Field Guides. Portland, Oregon: Timber Press*, p. 134-5.
- Tundis, R., Loizzo, M., & Menichini, F. (2010).** Natural products as alpha-amylase and alphasglucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10 (4) : 315-331.
- UIPAC (union internationale de chimie pure appliquée). (1979).** Méthodes d'analyses des matières grasses. 6^{ème} édition, *international digest of health legislation*, 46 (2): 241 p.
- Ursini, F., Naty, S., & Grembiale, R. (2010).** Infliximab and insulin resistance. *Autoimmunity Reviews*, 9 : 536 - 9.
- USRDS (United States Renal Data System). (2014).** International Comparisons. In United States Renal Data System. 2014 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases ; 188–210.
- Vergès, B. (2007).** Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21 : 9-16.
- Vertil, H., & Hortidact. (2012).** Illustration de la reproduction des Basidiomycètes. <http://hortidact.over-blog.com/article-autres-types-de-reproductions-86490630>
- Villegas-Valverde, C., Kokuina, E., & Breff-Fonseca, M. (2018).** Strengthening National Health Priorities for Diabetes Prevention and Management. *MEDICC Review*, Oct; 20(4):5.
- Volek, J., Phinney, S., ... & Forsythe, C. (2009).** Carbohydrate restriction has a more favorable impact on the metabolic syndrome than a low fat diet. *Lipids*;44 : 297-309.
- Waltner-Law, M., Wang, X., Law, B., Hall, R., Nawano, M., & Granner, D. (2002).** Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *Journal of Biological Chemistry*, 277 : 34933 - 34940.

- Wang, J., & Mazza, G. (2002).** Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (4) : 850–857.
- Wang, J., Yuan, X., Jin, Z., Tian, Y., & Song, H. (2007).** Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chemistry*, 104 : 242–250.
- Wanga, H., & Gaoa, J. (2002).** Ngc T.B.; A new Lectin With Highly Potent Antihepatoma and Antisarcoma Activities from the Oyster Mushroom *Pleurotus Ostreatus*, *Biochemical and Biophysical Research...*, Elsevier.
- Wehmeier, U., & Piepersberg, W. (2004).** Biotechnology and molecular biology of the alphanagglucosidase inhibitor acarbose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63 : 613-625.
- Wellen, K., & Hotamisligil, G. (2005).** Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 115: 1111-9.
- Wiernsperger, N. (2000).** Metformin: intrasac vasculoprotective properties. *Diabetes Technology and Therapeutics*, 2 : 259 - 272.
- Wilbur, K., Bernheim, F., & Shapiro, O. (1949).** Determination of Lipid Peroxidation. *Archives de biochimie*, 24 : 305-310.
- Wolff, J. (1968).** Manuel d'analyse des corps gras. Azoulay éd., Paris, 519 p.
- Wolfran, S. (2007).** Effect of green tea and ECG in cardiovascular and metabolic health. *Journal of the American College of Cardiology*, 26 : 379-388.
- Wurth, M. (2016).** Cultiver ses champignons, Manuel pour le jardin, le balcon, la cuisine et la cave. Rouergue, 144.
- Xia, E., Deng, G., Guo, Y., & Li, H. (2010).** Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 622-646.
- Yari, Z., Behrouz, V., Zand, H., & Pourvali, K. (2020).** New Insight into Diabetes Management: From Glycemic Index to Dietary Insulin Index. *Current Diabetes Reviews*, 16 (4) : 293-300.
- Yashvant, P., Ram, N., & Singh, V. (2012).** Medicinal properties of *Pleurotus* Species (Oyster mushroom): A Review. *World Journal of Fungal and Plant Biology* 3(1): 01-12.
- Yasodha, K., Jayaveera, K., Ravindra, R., Rupesh, K., & Raghavendra, D. (2008).** Anti-diabetic activity of aqueous extract of *Talinum cuneifolium* in rats. *Pharmacologyline*, 2: 198-206.

- Yau, J., Rogers, S., Kawasaki, R., Lamoureux, E., Kowalski, J., ... & Bek, T. (2012).** Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 35:(3)556–564.
- Yildirim, A., Mavi, A., & Kara, A. (2001).** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (8): 4083-4089.
- Young, D. (2001).** Effects of diseases on Clinical Laboratory. Tests, 4th edition. *Clinical chemistry*, 48 : 682-683.
- Yue, K., Leung, S., Man, P., Yeung, W., Chung, W., Lee, K., Leung, A., & Cheng, C. (2005).** Alterations in antioxidant enzyme activities in the eyes, aorta and kidneys of diabetic rats relevant to the onset of oxidative stress. *Life Sciences*, 77 : 721 - 734.
- Zhang, J., Kang, M., Kim, M., Song, J., Lee, Y., & Kim, J. (2008).** Pancreatic lipase inhibitory activity of *Taraxacum officinale* *in vitro* and *in vivo*, *Nutrition Research and Practice*, 2 : 200–203.
- Zhou, C., Xue, Y., Zhang, Y., Zeng, Y., & Ma, Y. (2009).** - Recombinant expression and characterization of *Thermoanaerobacter tengcongensis* thermostable alphasglucosidase with regioselectivity for high yield isomaltooligosaccharides synthesis. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19 : 1547-1556.
- Zimmet, P., Alberti, G., & Kaufman, F. (2007).** Le syndrome métabolique chez les enfants et les adolescents : le consensus de la FID. *Diabetes Voice*, 52 (4) : 29-32.

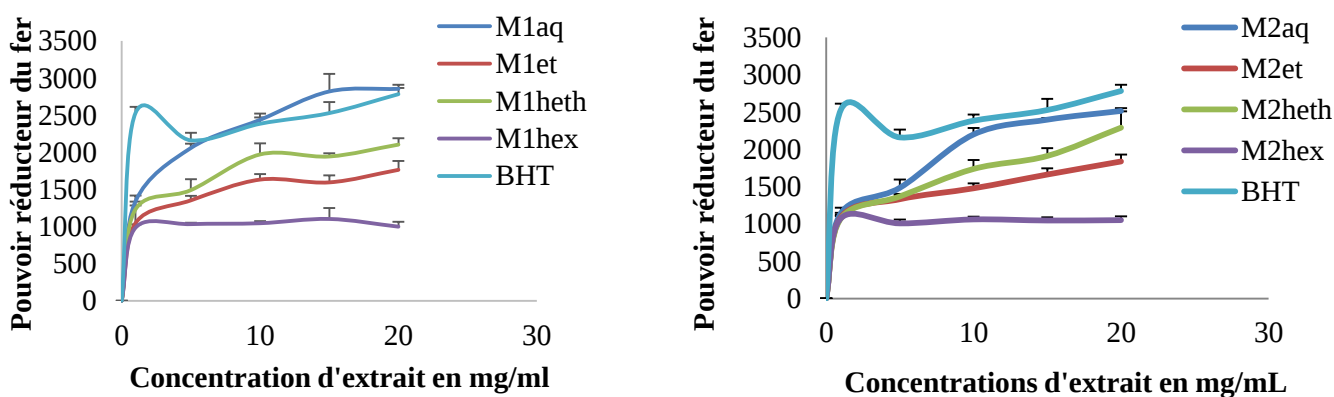
ANNEXES

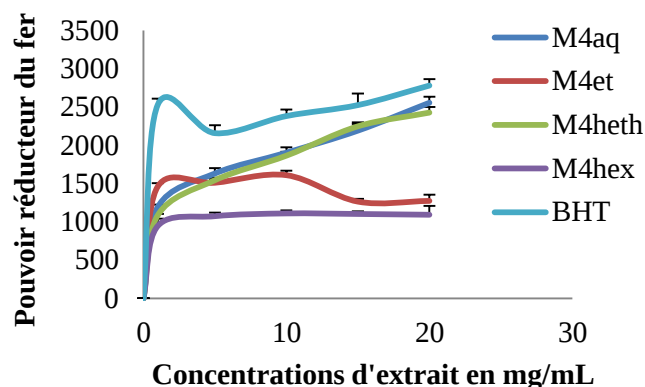
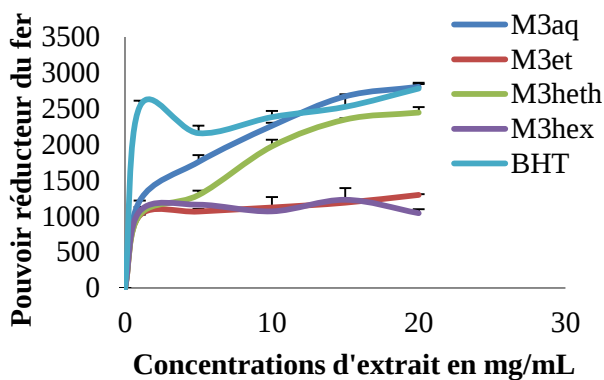
Annexe 1 : Pourcentage d'inhibition des extraits de chaque mélange et du standard (vitamine C) en fonction de la concentration



Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange : chaque mélange renferme ces 4 extraits

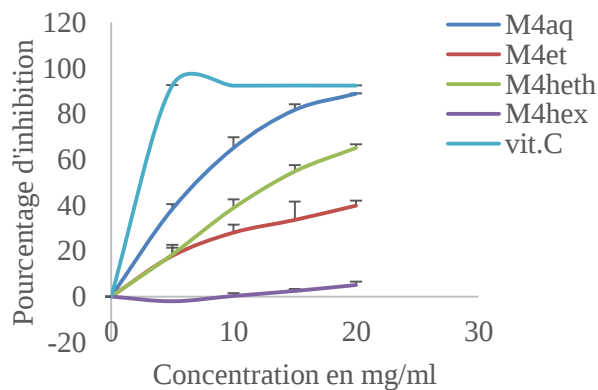
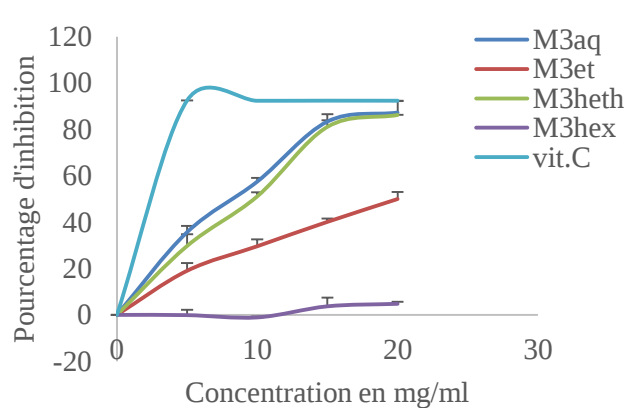
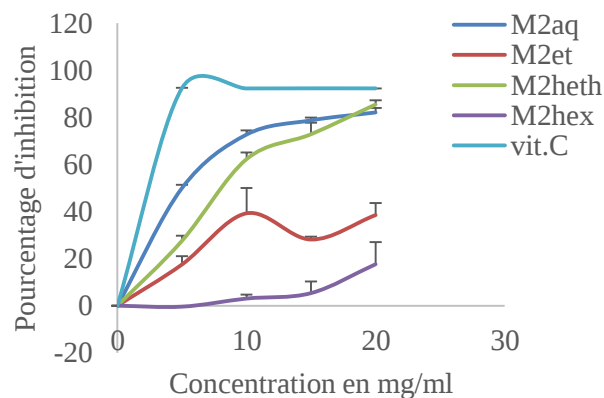
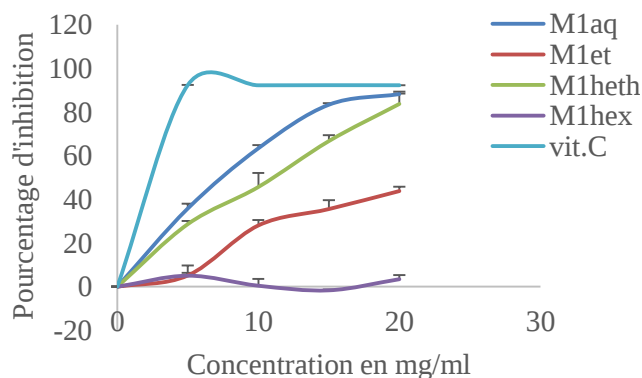
Annexe 2 : Pouvoir réducteur du fer des extraits de chaque mélange et du standard (BHT) en fonction de la concentration.





Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique de chaque mélange : chaque mélange renferme ces 4 extraits

Annexe 3 : Pourcentage d'inhibition des extraits de chaque mélange et du standard (la vitamine C) en fonction de la concentration.



Légende : M1, M2, M3, et M4 sont respectivement les différents mélanges 1, 2, 3 et 4 ; aq, et, heth et hex sont

respectivement les différents extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et hexanique, chaque mélange renferme donc ces 4 extraits.

Annexe 4 : Mode de cuisson des champignons pour l'étude du potentiel nutritionnel :

Ingrédients :

- 2 cuillères à soupe d'huile raffinée
- Des Condiments (1/2 oignon, 1 gousses d'ail, poirreau, persil, 1 carotte,)
- 1 tomate en fruit
- 12 g de champignons

Préparation :

- Faire bouillir les champignons
- Puis prendre une marmite et introduire 2 cuillères à soupe d'huile raffinée et laisser chauffer quelques secondes
- Ajouter ensuite dans la marmite les condiments (après que vous les ayez lavés et découpés) puis laisser cuire environ 30 secondes
- Introduire ensuite 2 tomates en fruit (que vous avez lavé et découpé) puis ajouter une petite pincée de sel et laisser cuire 2 mn
- Ajouter enfin les champignons bouillis avec un quart de verre d'eau avec lequel vous avez bouilli les champignons et laisser cuire encore 10 mn, puis consommer

Annexe 5 : Présentation des substrats de champignons dans une myciculture à Yassa (dans la région du littoral) et récolte des champignons



Annexe 6 : Champignons étudiés après séchage



Pleurotus pulmonarius



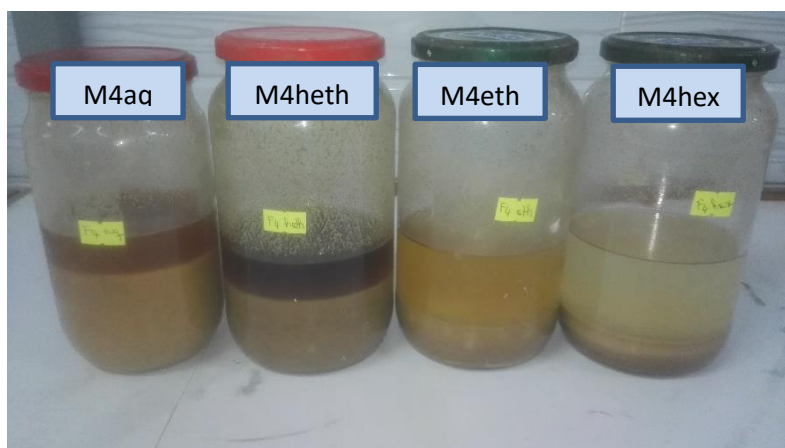
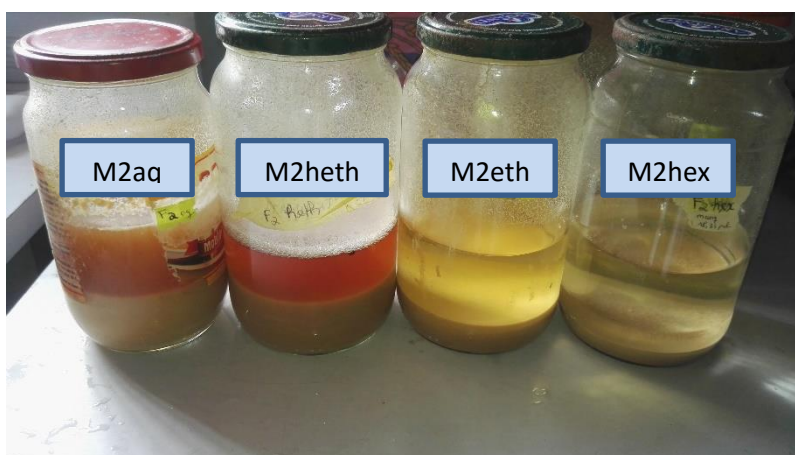
Pleurotus floridanus



Pleurotus sajor caju

Annexe 7 : Macéras des différents extraits de champignons mélangés





Annexe 8 : Dissection du rat pour le test de toxicité

