

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش – الجزائر –
ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE D'AGRONOMIE
EL HARRACH-ALGER

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTORAT EN SCIENCES
AGRONOMIQUES

Option : Sciences et qualité des aliments

Par

AISSAOUI Ourida

THÈME

**Effet de la Spiruline sur le métabolisme glucido-lipidique.
Conception d'un nutraceutique**

Soutenue publiquement le 4 Octobre 2017

devant le jury composé de :

Mr AMIALI Malek, Professeur, ENSA,Président

Mr BITAM Arezki, Professeur, ENSA,Directeur de thèse

Mr BENCHABANE Ahmed, Professeur, ENSA,Examineur

Mr BENAKMOUM Amar, MCA, EMBB,Examineur

Mme OMARI Naïma, Professeur, FSB, USTHB,Examinatrice

Mme TENNAH Safia, MCA, ENSV,Examinatrice

Année universitaire 2016-2017

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش – الجزائر –
ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE D'AGRONOMIE
EL HARRACH-ALGER

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTORAT EN SCIENCES
AGRONOMIQUES

Option : Sciences et qualité des aliments

Par

AISSAOUI Ourida

THÈME

**Effet de la Spiruline sur le métabolisme glucido-lipidique.
Conception d'un nutraceutique**

Soutenue publiquement le **4 Octobre 2017**

devant le jury composé de :

Mr AMIALI Malek, Professeur, ENSA,Président

Mr BITAM Arezki, Professeur, ENSA,Directeur de thèse

Mr BENCHABANE Ahmed, Professeur, ENSA,Examinateur

Mr BENAAMOUM Amar, MCA, UMBB,Examinateur

Mme OMARI Naïma, Professeur, FSB, USTHB,Examinatrice

Mme TENNAH Safia, MCA, ENSV, Alger,Examinatrice

Année universitaire 2016-2017

REMERCIEMENTS

J'exprime mes sincères remerciements à **Mr. BITAM Arezki, Professeur à l'ENSA, El-Harrach, Alger**, de m'avoir accordé la confiance, en acceptant de diriger ce travail, pour son aide, ses orientations précieuses, ses conseils pertinents et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail. Mes sincères reconnaissances et respects.

Je souhaiterais adresser mes sincères remerciements à chaque membre du jury :

À **Monsieur AMIALI Malek, Professeur à l'ENSA, El-Harrach, Alger**, merci pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'il trouve ici l'expression de ma grande considération.

À **Monsieur BENCHABANE Ahmed, Professeur à l'ENSA, El-Harrach, Alger**, je vous remercie vivement pour l'honneur que vous me faites d'examiner ce travail. Pour m'avoir soutenue durant mon cursus universitaire en tant qu'enseignant et personne de qualité, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

À **Madame OMARI Naima, Professeur à l'USTHB (FSB), Bab ezzouar, Alger**. Merci pour avoir accepté de faire partie du jury d'examination.

À **Madame le TENNAH Safia, Maitres de conférences classe A à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger**. Merci de vous être libérée pour faire partie de mon jury et examiner ce travail.

À **Monsieur BENAAMOUM Amar, Maitres de conférences classe A à l'Université M'Hamed Bougara Boumerdes, Alger**, je vous remercie d'avoir donné du temps pour évaluer ce travail et pour l'honneur que vous me faites d'être examinateur dans le jury de thèse.

J'exprime ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ce travail

- L'ensemble du personnel du département de technologie alimentaire et nutrition humaine.
- L'ensemble du personnel de l'établissement public hospitalier de Meftah, BLIDA.
- L'ensemble du personnel de l'hôpital de Parnet, Hussein Dey, Alger en particulier Mme BOUZID Nora, Mr BOUNAAMA EL Hakem, M^{elle} MOKHTARI Sonia et M^{elle} KHELIFA Kenza.
- L'ensemble du personnel de l'hôpital de Belfort, particulièrement Mr BOUDJELLA Karim.
- L'ensemble du personnel de l'université LAVAL, Quebec, Canada particulièrement Mr Pierre mathieu, Mme Janisse, Mme jossline, Mme Diane, Dr ABIDLI Abdelnasser, Mme BEN RJEB Zeyneb et BOUDRICH Lylia.
- L'ensemble du personnel de l'institut pasteur d'Alger particulièrement M^r KHMISSI.
- L'ensemble du personnel de l'unité de production de biscuit ISSER, Boumerdes, Alger particulièrement Mr ABOUDAOU Malek.
- Tous mes collègues du département de technologie alimentaire et de zoologie agricole de l'École nationale supérieure agronomique (ENSA ex INA), particulièrement CHIHEB Hadjira, BARKOU Hadjer, Kahlouch Amel, CHENIKHAR Nora...
- Mes collègues M^{elle} RAHIM Ibtissem, M^r RABOUH Abdel hadi, de la faculté de biologie et M^{elle} Mensour Aicha de la faculté de physique, USTHB, Alger.
- Mr SAGGAI Ali, professeur à l'université de Kasdi merbah, Ouargla, Alger.

DÉDICACES

Je tiens à dédier ce travail d'étude,

A la mémoire de mon co- directeur de thèse Pr BELKACEMI Khaled que dieu le bénisse et l'accueil dans son vaste paradis. Je le remercie vivement pour l'accueil qui m'a été réservé lors de mon passage dans son laboratoire de l'université Laval (Canada) dans lequel j'ai effectué une partie de mon expérimentation.

Au professeur HAMMOUDI BELKACEMI Safia, pour son aide précieux et son accueil aux laboratoires de l'université Laval, Quebec, Canada.

À mes parents, vous m'avez toujours soutenue, encouragée, supportée durant ces longues années d'études, vous avez toujours cru en moi. Merci pour tout ce que vous faites pour moi.

Mes sincères remerciements à mon mari Mr KHIMOUM Kamel pour son appui moral qu'il m'a prodigué, son aide et sa compréhension tout au long des années d'études.

A mon ancien promoteur Mr SADOUKI Hocine qui m'a formée en ingénierat et en master et a participé de loin à la réalisation de ce travail de recherche de Doctorat.

À mes chères sœurs qui m'ont toujours encouragée et soutenue. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma grande gratitude.

À tous mes amies.

Ce travail a fait l'objet de publication et de communications suivantes :

PUBLICATION INTERNATIONALE

Ourida Aissaoui, Malek Amiali, Nora Bouzid, Khaled Belkacemi et Arezki Bitam. 2017. Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 55:1, 1304-1312, DOI: 10.1080/13880209.2017.1300820. (ISI-Thomson Reuters, IF: 1, 54).

COMMUNICATIONS ORALES

1. **AISSAOUI. O** et BITAM. A : Activité anti-oxydante et l'effet antidiabétique de la Spiruline. Premier Séminaire National, Biodiversité, Environnement et Sécurité Alimentaire. Université M'hamed bougara – Boumerdes, ALGERIE. Le **20 et 21 Octobre 2015**.
2. **AISSAOUI. O** et BITAM. A: Effets non toxique et antihyperglycemiants de la Spiruline sur des rats sains et diabetiques de type 2. 42^{ème} anniversaire de la création de l'USTHB. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Faculté des Sciences Biologiques. Bab-Ezzouar, Alger. ALGERIE. **Du 24 au 28 Avril 2016**.
3. **AISSAOUI. O** et BITAM.A : L'influence anti-hypercholestérolémique et antioxydant de *Spirulina platensis* sur des rats diabétiques. Congrès annuel des Sciences et Technologies Appliquées (CASTA-2016). Boumerdes, ALGERIE. **Du 18 au 20 Septembre 2016**.

COMMUNICATIONS AFFICHEES

1. **AISSAOUI. O** et BITAM. A : Nutraceutiques et compléments alimentaires. Journée Nationale de nutrition, École Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach- Alger, ALGERIE. Le **15 Avril 2016**.
2. **AISSAOUI. O** et BITAM. A : Culture et effet metabolique et antioxydant de *Spirulina platensis* sur des rats diabetiques. 1^{ère} Journée Nationale de l'Agro-alimentaire, Engineering et Environnement. Université M'hamed bougara – Boumerdes, ALGERIE. Le **16 Avril 2017**.
3. **AISSAOUI. O** et BITAM. A : La Spiruline, l'algue microscopique aux propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. Journée Nationale de Youm el Ilm, École Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach- Alger, ALGERIE. Le **17-18 Mai 2017**.

ملخص

السبيرولينا (SP) هي طحالب خضراء مزرقة ذات أهمية طبية وغذائية. هاته الدراسة شملت 88 ذكر من الفئران فئة ويستار لمدة 70 يوم. تم بذلك تشكيل 11 مجموعة من الفئران، مجموعة مصابة بداء السكري من النوع الأول والثانية من النوع الثاني س 1 و س 2.

مقاييس الوزن كشفت عن فقدان النسبة 32,23% لدى الفئران المصابة بداء السكري بالالوكسان بتركيز 150 ملغ / كلغ من الوزن في س 1. أما س 2 نلاحظ زيادة في الوزن بنسبة 9% لدى الفئران المصابة بداء السكري بمحلول فروكتوز 40% لمدة شهرين. العلاج أو الوقاية بـ SP يحسن من تغيرات الوزن المتسببة بداء السكري نوع 1 أو نوع 2 لدى الفئران. مستوى الجلوكوز في الدم عند س 1 4,28 غ/ل قبل العلاج بـ SP بتركيز 10% لمدة 50 يوم وأصبحت 1,78 غ/ل بعد العلاج.

أما س 2 مستوى الجلوكوز في الدم يتغير من 2,22 إلى 1,01 غ/ل ومن 0,68 إلى 0,70 غ/ل بعد وقبل العلاج على التوالي.

IR-HOMA في س 1 يقدر بـ 7,32 أما بعد العلاج بـ SP أصبح يقدر بـ 4,26. بالنسبة لـ س 2 انخفض مؤشر IR-HOMA من 6,21 إلى 4,51 و 4,11 بعد وقبل العلاج بـ SP على التوالي.

بالنسبة للدهون، نسجل انخفاض ملحوظ لكل من الكوليسترول والدهون الثلاثية بعد العلاج بـ SP وذلك من (1,3 إلى 0,92 غ/ل ومن 1,54 إلى 0,70 غ/ل في س 1). في س 2 نفس المؤشرات من 1,5 إلى 1 غ/ل ومن (1,8 إلى 0,9 غ/ل بعد العلاج بـ PS).

الوقاية من السكري بطحالب SP منع كل التغيرات في نسبة الدهون في س 2.

الاجهاد التأكسدي سجل تدهورات ملحوظة بالنسبة لكل من النوعين من داء السكري. بالنسبة لـ س 1 ارتفاع في نسبة SOD من 30,12 إلى 57,85 مل/U بعد العلاج بـ SP، أما س 2 نلاحظ تغير SOD من 58,60 إلى 60,81 وتصل حتى 64,58 /U مل قبل وبعد العلاج بطحالب SP. ارتفاع ملحوظ في مستوى بيروكسيد الدهون (TBARS) بـ 52,32 و 38,12 بالمئة في س 1 و س 2 على التوالي. انخفاض كبير لنسبة MDA عند س 1 و س 2 بعد العلاج بـ SP، لكن العلاج الوقائي بـ SP يمنع ارتفاع نسبة TBARS في الدم.

أظهرت الدراسة النسيجية تلف جزر لانجرهانس عند الفئران المصابة بداء السكري، جزر متعددة الحجم وذات نواة نشطة وذلك يعود ربما إلى تجديد خلايا β البنكرياسية بعد تناول الفئران المصابة بالسكري لـ SP. يمكن لـ SP أن تلعب دور في توازن نسبة السكر في الدم عند الفئران المصابة بداء السكري.

الكلمات المفتاحية:

سبيرولينا، داء السكري، الإجهاد التأكسدي، فئران ويستار.

Résumé

La spiruline (SP) est une algue bleue verte, d'intérêts médicinal et nutritionnel. L'étude a porté sur 88 rats mâles de souche Wistar sur une période de 70 jours. Onze groupes de rats ont été constitués et réparties en rats diabétiques de type 1 et 2 (**DT1** et **DT2**). Les mesures pondérales révèlent une perte de poids de 32,21% chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane à raison de 150 mg/Kg de P.C pour le **DT1**. Pour le **DT2** un gain de poids de 9% des rats rendus diabétiques par 40% de fructose pendant 2 mois. L'administration de SP à titre préventif et curatif améliore les perturbations pondérales dues au diabète **DT1** et **DT2**.

La glycémie dans le **DT1** était de 4,28 g/L avant administration de SP à une dose de 10% pendant 50 j et de 1,87 g/L après le traitement. Pour le **DT2**, la glycémie passe de 0,68 à 0,74 g/L et de 2,22 à 1,01 g/L après traitement préventif et curatif de SP respectivement. Le HOMA-IR dans le **DT1** était de 7,32 et passe à 4,26 après traitement de SP. Pour le **DT2**, l'indice HOMA-IR passe de 6,21 à 4,11 et 4,51 respectivement après traitement préventif et curatif de SP. Pour le profil lipidique, le cholestérol total et les triglycérides diminuent très significativement après administration de SP de (1,3 à 0,92 g/L et de 1,54 à 0,7 g/L) respectivement dans le **DT1**. Dans le **DT2**, le traitement préventif de SP a empêché l'altération du profil lipidique. Les mêmes paramètres passent de (1,5 à 1 g/L et de 1,8 à 0,9 g/L) pour le traitement curatif.

Le stress oxydatif a été significativement altéré pour les deux types de diabète. Pour le **DT1**, la SOD passe de 30,12 à 57,85 U/mL après traitement avec SP. Alors que pour le **DT2**, la SOD passe de 58,60 à 64,54 U/mL jusqu'à 60,81 U/mL pour les traitements préventif et curatif de SP. La mesure de la peroxydation lipidique (TBARS) augmente très significativement de 52,32 et 38,12% respectivement chez le groupe **DT1** et **DT2**. Le traitement préventif de SP a prévenu l'augmentation des niveaux de TBARS. Le traitement curatif de SP a significativement abaissé le taux du MDA dans les deux types de diabète.

L'étude histologique a montré une nécrobiose des îlots de Langerhans des rats diabétiques. Des îlots de taille modérée avec des cellules à noyaux actifs dûe probablement à la régénération des cellules β pancréatiques après l'administration de SP aux rats diabétiques.

La spiruline pourrait jouer le rôle dans l'homéostasie glucidique chez les rats diabétiques.

Mots clés : spiruline, diabète, stress oxydant, rat Wistar.

Abstract

Spirulina (SP) is a green blue alga with medicinal and nutritional interest. Our study included 88 male rats of Wistar strain over a period of 70 days. Eleven groups of rats were formed and divided into type 1 and 2 diabetic rats (**T1D** and **T2D**). The measurements revealed a weight loss of 32.21% in diabetic rats induced by alloxane (150 mg / Kg of P.C) for **T1D**. For the **T2D**, induced by 40% ingested fructose for 2 months, 9% of weight gain for diabetic rats is noted. The administration of SP as a preventive and curative improves the weight alterations due to diabetes **T1D** and **T2D**.

Blood glucose was 4.28 g/L before SP treatment at a dose of 10% for 50 days and 1.87 g/L after treatment in **T1D**. Fast blood glucose increase from 0.68 to 0.74 g / L and decrease from 2.22 to 1.01 g / L after SP preventive and curative treatment respectively for **T2D**. The HOMA-IR in **T1D** decreased from 7.32 to 4.26 after SP treatment. For **T2D**, the HOMA-IR index goes from 6.21 to 4.11 and 4.51 after SP preventive and curative treatment respectively.

Lipid profile, total cholesterol and triglycerides decreased very significantly after SP administration (from 1.3 to 0.92 g / L and from 1.54 to 0.7 g / L) in **T1D**. In **T2D**, SP preventive treatment prevented the alteration of lipid profile. Same parameters varied from (1.5 to 1 g / L and from 1.8 to 0.9 g / L) for the curative treatment in **T2D**.

Oxidative stress was significantly impaired for both types of diabetes. For **T1D**, SOD increased from 30.12 to 57.85 U / mL after SP treatment. While for **T2D**, SOD increased from 58.60 to 64.54 U / mL to 60.81 U /mL for SP preventive and curative treatments. Lipid peroxidation (TBARS) measurement, increased very significantly by 52.32; 38.12% respectively in **T1D** and **T2D** groups respectively. SP curative treatment significantly decreased the MDA of both types of diabetes. The preventive treatment of SP prevented increasing TBARS levels.

Histological study, revealed necrobiosis islets of Langerhans in diabetic rats. Moderate-sized islets with active nucleus cells probably due to pancreatic β -cells regeneration after SP administration to diabetic rats.

Spirulina may play a role in carbohydrate homeostasis in diabetic rats.

Key words: Spirulina, diabetes, oxidative stress, Wistar rats.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. ÉTUDE DE LA SPIRULINE..... 4

I.1.1. Définition 4

I.1.2. Morphologie..... 5

I.1.3. Classification..... 5

I.1.4. Rôle nutritionnel 6

I.1.5. Rôle thérapeutique 8

I.1.5.1. Activité antioxydante et anti-inflammatoire 8

I.1.5.2. Activité antidiabétique..... 8

I.1.5.3. Autres rôles de la spiruline 9

I.1.6. Culture et toxicité de la spiruline 9

I.2. L'OXYDATION, LES ANTIOXYDANTS ET LE STRESS OXYDATIF..... 11

I.2.1. L'oxydation..... 11

I.2.2. Les antioxydants 11

I.2.3. Le stress oxydatif 14

I.2.3.1. Définition 14

I.2.3.2. Origine du stress oxydatif 14

I.2.3.3. Pathologies liées au stress oxydatif..... 14

I.3. ÉTUDE DU DIABÈTE SUCRÉ 16

I.3.1. Historique..... 16

I.3.2. Définition 17

I.3.3. Classification..... 17

I.3.4. Complications	19
I.3.4.1. Métabolisme glucidique et le diabète	19
I.3.4.2. Insulinorésistance	19
I.3.4.3. Métabolisme lipidique et maladies cardiovasculaires	20
I.3.4.4. Métabolisme hépatique	22
I.3.4.5. Métabolisme rénal et néphropathie.....	22
I.3.5. Prévention des complications du diabète.....	23
I.3.6. Régulation du diabète	23
I.3.6.1. Régulation hormonale.....	23
I.3.6.2. Régulation médicamenteuse	27
I.3.6.3. Régulation phytothérapeutique.....	28
I.3.6.4. Autres types de régulateur	29
I.4. ALIMENTS FONCTIONNELS	29
 CHAPITRE II: MATÉRIEL ET METHODES	
II.1. SCREENING PHYTOCHIMIQUE DE LA SPIRULINE	32
II.1.1. Matériel végétal	32
II.2.2. Méthodes analytiques	32
II.2.2.1. Préparation des extraits éthanolique et aqueux de la spiruline.....	32
II.2.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la spiruline	33
II.2.2.3. Caractérisation physico-chimique de la poudre de la spiruline.....	39
II.2. EXPÉRImentation ANIMALE	42
II.2.1. Animaux	42
II.2.2. Méthodes	44
II.2.2.1. Protocole expérimental : Diabète type 1	44
II.2.2.2. Protocole expérimental : Diabète type 2	45
II.2.2.3. Paramètres pondéraux	46
II.2.2.4. Paramètres biochimiques.....	47

II.2.2.5. Sacrifice et prélèvement d'organes	52
II.2.2.6. Histologie	52
II.2.2.7. Profil toxique de la spiruline	53
II.3. CULTURE DE LA SPIRULINE	54
II.3.1. Matériel végétal	54
II.3.2. Méthodes	54
II.3.2.1. Optimisation de la culture de spiruline.....	54
II.3.2.2. Préparation de l'extrait brut de spiruline	56
II.3.2.3. Analyse de croissance de la spiruline.....	56
II.4. CONCEPTION D'UN NUTRACEUTIQUE DE LA SPIRULINE	57
II.4.1. Matériel végétal	57
II.4.2. Formulation de nutraceutique (cas du biscuit).....	57
II.4.3. Caractères physiques du biscuit.....	59
II.4.4. Caractères organoleptiques du biscuit	60
II.4.5. Modalités d'évaluation sensorielle	60
II.4.6. Etude économique du nutraceutique.....	60
II.5. ANALYSES STATISTIQUES	61
CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION	
RÉSULTATS	62
III.1. CARACTERISATION PHYTO-CHIMIQUE DE LA SPIRULINE.....	62
III.1.1. Estimation quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes	62
III.1.2. Evaluation quantitative des phycobiliprotéines.....	63
III.1.3. Evaluation quantitative des chlorophylles et des caroténoïdes totaux	64
III.1.4. Evaluation de l'activité de piégeage de radicaux libres de la spiruline.....	65
III.2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA SPIRULINE.....	69
III.2.1. Détermination de la teneur en eau, le pH, la teneur en cendres et en fibres	69
III.2.2. Estimation de la teneur en protéines, lipides et glucides totaux.....	70

III.2.3. Estimation de la teneur en métaux lourds	71
III.3. EXPERIMENTATION ANIMALE.....	72
III.3.1. Estimation des paramètres pondéraux	72
III.3.1.1. Influence de Spirulina sur la croissance corporelle	72
III.3.1.2. Influence de Spirulina sur le gain de poids et le poids relatif des organes	74
III.3.2. Effet de la spiruline sur les paramètres biochimiques.....	76
III.3.2.1. Les paramètres biochimiques du diabète de type 1.....	76
III.3.2.2. Les paramètres biochimiques du diabète de type 2.....	87
III.3.3. Etude du stress oxydatif	96
III.3.4. Histologie des organes	99
III.4. ETUDE DE TOXICITÉ DE LA SPIRULINE	107
III.5. CULTURE DE LA SPIRULINE ET CONCEPTION D’UN NUTRACEUTIQUE	108
III.5.1. Culture de <i>Spirulina platensis</i>	108
III.5.2. Conception d’un nutraceutique	110
III.5.2.1. Evaluation physique des biscuits	110
III.5.2.2. Evaluation sensorielle des biscuits.....	111
III.5.2.3. Qualité générale des biscuits.....	113
III.5.2.4. Etude économique.....	114
DISCUSSION	117
CONCLUSION.....	129
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Activité antioxydante
ABTS: Acide 2,2'-azynobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic
ABTS®: 2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]
ADN : Acide désoxyrionucléique
ADO : Antidiabétiques oraux
ADP : Adénosine diphosphate
AG : Acide gras
AGL : Acides gras libres
AGNE : Acide gras non estérifié
AI : Indice d'athérogénicité
APC : Allophycocyanines
AsA-POD: Ascorbate dépendant peroxydase
AST: Aspartate aminotransférase
ATP : Adénosine tri phosphate
BHA : Hydroxyanisole butylé
BHT : Buthyl hydroxytoluene
Ca : Chlorophylle a
CAI : Indice d'artère coronaire
Cb : Chlorophylle b
CCK : Cholécystokinine
Cd : Cendres
CI : Indice cardiaque
C-PC : C-Phycocyanines
CRR : Ratio du risque cardiaque
DT1: Diabète de type un
DT2: Diabète de type deux
DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle
EAG : Equivalent acide gallique
EDTA : Acide éthylène-diamine-tétra-acétique
EQ : Equivalent quercétine
ERO : Espèces réactives à l'oxygène
ESM : Erreur Standard à la Moyenne
FeSOD : Fer-superoxyde dismutase
GIP : Gastric inhibitory polypeptide
GLA: Acide γ - linolenique
GLP-1 : Glucagon like peptide-1
GOT : Glutamate oxaloacetate transaminase
GPT : Glutamate pyruvate transaminase
GPx : Glutathion peroxydase
GRP : Gastrin releasing peptide
GRx : Glutathion réductase
GSH : Glutathion réduit
H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
HbA1c : Hémoglobine glyquée
HDL-c : High density lipoprotein-cholesterol
HOMA-IR : Homeostasis model assessment of insulin resistance
HTR : Rapport HDL-c et cholesterol total

IC50 : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux
ICP-OES : Induction couples plasma-spectrométrie d'émission optique
IDL : Intermediate density lipoprotein
iNOS : Inducible nitric oxide synthase
IOS : Indice Organo-somatique
IP : Intrapéritonéale
IR : Insulinorésistance
LDL-c : Low Density Lipoprotein-cholesterol
LPL : Lipoprotéine lipase
MDA : Malondialdéhyde
Met : Metformine
MNT : Maladies non transmissibles
MO : Matière organique
MS : Matière sèche
MTP : Microsomal transfer protein
NADPH : Nicotinamide Adenine di-nucléotide phosphate
NK : Cellules tueuses naturelles
NPY: Neuropeptide Y.
O.A.I.C : Office Algérien Interprofessionnel des Céréales
O₂^{o-} : Ion superoxyde
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
P.C : Poids corporel
PACAP : Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide
PAL : Phosphatases alcalines
PE : Phycoérythrines
PG : Gallate de propyle
POL : Peroxydation lipidique
PT : Protéines totales
PVC : Polychlorure de vinyle
SGOT : Sérum Glutamo-oxaloacétate Transférase
SGPT : Sérum Glutamo-pyruvate Transférase
SOD : Superoxyde dismutase
SP : *Spirulina platensis*
TAS : Total antioxidant status
TBA : Acide thiobarbiturique
TBARS : Thio Barbiturique Acid Reactive Substances
TBHQ: Hydroquinone de butyle tertiaire
TCA : Acide trichloracétique
TG : Triglycerides
TRX : Thiorédoxine
UV : Ultraviolet
UV-Vis : Ultraviolet- Visible
VIP : Vasoactive intestinal peptide
VLDL : Very low density lipoprotein
WHO : World Health Organization
XOD : Xanthine oxydase

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Morphologie de la spiruline (Ciferri, 1983)	5
Figure 2: Classification des antioxydants.....	13
Figure 3: Relation entre l'hyperglycémie et le stress oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).....	15
Figure 4: Anatomie du pancréas et d'un îlot de Langerhans (Agostini et al., 2005 ; Langlois, 2008).....	20
Figure 5: Relation entre l'insulinorésistance et la dyslipidémie (Hawkins et al., 1997).....	21
Figure 6: Principaux facteurs hormonaux et nerveux de contrôle de la sécrétion de l'insuline (Magnan et Ktorza, 2005).....	26
Figure 7: Protocole de fractionnement des phycobiliprotéines et la purification des phycocyanines de <i>Spirulina platensis</i> (Anamika et al., 2005).....	35
Figure 8: Expérimentation animale.....	43
Figure 9: Protocole expérimentale du diabète de type 1	44
Figure 10: Protocole expérimentale du diabète de type 2	45
Figure 11: Culture de la spiruline en fonction du temps.....	55
Figure 12: Montage d'optimisation de la culture de <i>Spirulina platensis</i> dans un photobioréacteur (Aissaoui O., 2017 , Laboratoire de technologie alimentaire et nutrition humaine à l'école nationale supérieure agronomique, Alger, Algérie & laboratoire de sol et génie agroalimentaire, université laval, Québec, Canada).....	55
Figure 13: Diagramme de fabrication du biscuit enrichi en spiruline (Nutraceutique) (Olewnik et Kulp, 1984 ; Baudreau et Menard, 1993 ; Mridula et al., 2007).....	59
Figure 14: Valeurs des IC50 des extraits de spiruline et de BHT des tests DPPH et ABTS. ..	68
Figure 15: Courbes de croissances pondérales des rats diabétiques de type 1 et 2.....	72
Figure 16: La glycémie, l'insulinémie, l'indice HOMA-IR et l'hémoglobine glyquée des rats diabétiques de type 1.....	77
Figure 17: Profil lipidique chez les différents groupes de rats diabétiques de type 1.....	79
Figure 18: Estimation des risques cardiovasculaires des rats diabétiques de type 1.....	80
Figure 19: Profil hépatique des différents groupes de rats diabétiques de type 1.....	82
Figure 20: Profil rénal des différents groupes de rats diabétiques de type 1.....	83
Figure 21: Protéines totales des différents groupes de rats diabétiques de type 1.....	84
Figure 22: Les oligoéléments des différents groupes de rats diabétiques de type 1.....	86
Figure 23: La glycémie, l'insulinémie, l'indice HOMA-IR et l'hémoglobine glyquée des rats diabétiques de type 2.....	88
Figure 24: Profil lipidique et les risques cardiovasculaires des rats diabétiques de type 2.....	91
Figure 25: Profil hépatique des différents groupes de rats diabétiques de type 2.....	92
Figure 26: Profil rénal et les protéines totales des rats diabétiques de type 2.....	94
Figure 27: Oligoéléments des différents groupes de rats diabétiques de type 2.....	95
Figure 28 (A-B): Histologie du pancréas et du foie des rats diabétiques de type 1.....	103
Figure 29 (A-B): Histologie du pancréas et du foie des rats diabétiques de type 2.....	106
Figure 30: Histologie du rein des rats diabétiques de type 1 et 2.....	106
Figure 31: <i>Spirulina platensis</i> cultivé sous microscope optique Gr x40 et Gr x100.....	108
Figure 32: Nutraceutique; biscuit enrichi en spiruline.....	112
Figure 33: Effet de la spiruline sur le métabolisme biochimique des rats diabétiques de type 1 et 2. Culture de spiruline et conception d'un nutraceutique.....	116

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition biochimique de la spiruline (Gershwin et Belay, 2008).....	7
Tableau 2: Caractéristiques de la spiruline dans les aliments	30
Tableau 3: Protocole pharmacologique du diabète de type 1	44
Tableau 4: Protocole pharmacologique du diabète de type 2.....	45
Tableau 5: Evaluation du risque cardiovasculaire.....	49
Tableau 6: Estimation de profil sécuritaire de la spiruline sur des rats Wistar	54
Tableau 7: Composition du milieu de culture Zarrouk de la spiruline (Zarrouk, 1966)	56
Tableau 8: Composition du nutraceutique.....	58
Tableau 9: Teneurs des phénols et des flavonoïdes totaux des extraits de spiruline.....	62
Tableau 10: Évaluation quantitative de la teneur en phycobiliprotéines de <i>S.platensis</i>	63
Tableau 11: Évaluation quantitative des Chlorophylles et caroténoïdes totaux de <i>S.platensis</i>	64
Tableau 12: Activité antioxydante DPPH des extraits de spiruline et de BHT <i>In vitro</i>	65
Tableau 13: Activité antioxydante ABTS des extraits de spiruline et de BHT <i>In vitro</i>	67
Tableau 14: Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de spiruline	69
Tableau 15: Estimation qualitative de métaux lourds dans la spiruline.....	71
Tableau 16: Effet de la spiruline sur le gain de poids et le poids relatif des organes des rats .	75
Tableau 17: Dosage des métaux lourds des plasmas de rats diabétiques	96
Tableau 18: Effet de la spiruline sur l'activité des enzymes antioxydantes, le statut antioxydant total et les substances réactives de l'acide thiobarbiturique des rats diabétiques.	98
Tableau 19: Gain de poids des rats.....	107
Tableau 20: Rendement de culture et caractérisation phytochimique de la spiruline	109
Tableau 21: Résultats d'analyses physiques des biscuits enrichis en spiruline	111
Tableau 22: Étude comparative de la qualité des biscuits enrichi en spiruline à différentes doses.....	113
Tableau 23: Aspect économique du biscuit enrichi en spiruline.....	115

I N T R O D U C T I O N

INTRODUCTION

Un total de 57 millions de décès dans le monde en 2008 ; 36 millions (63 %) due à des maladies non transmissibles (MNT), principalement les maladies cardiovasculaires (17 millions de décès, soit 48 % des décès des MNT), le cancer (7,6 millions de décès ou 21 % des décès MNT), les maladies respiratoires chroniques (4,2 millions) et le diabète (1,3 million de décès) (**Alwan et al ., 2010**).

Cependant, la prévalence de MNT augmente progressivement et devrait causer près des trois quarts des décès que les maladies transmissibles, maternelles, périnatales et nutritionnelles d'ici 2020, et à les dépasser en tant que maladies mortelles les plus fréquentes en 2030 (**WHO, 2008**). La prévalence du diabète dans le monde est estimée à 171 millions en 2000, passant à 382 millions en 2013 et devrait atteindre 592 millions en 2035 (**Wild et al., 2004 ; Lim, 2014**). En 2013, près de 5 millions de personnes sont atteintes de diabète en Algérie (OMS). Compte tenu de la prévalence croissante de cette maladie, la recherche de produits antidiabétiques naturels comme thérapie alternative est un objectif fondamental de santé publique.

L'hyperglycémie et l'hyperlipidémie sont des facteurs primordiaux dans l'apparition du diabète et des maladies cardio-vasculaires, caractérisées par des troubles du métabolisme glucido-lipidique. En dépit de la prédisposition génétique, le développement du diabète est étroitement lié au mode de vie et aux habitudes alimentaires et augmente avec l'âge, l'obésité, la sur-alimentation et le manque d'activité physique.

Les apports caloriques excessives augmentent la production des radicaux libres accompagnés des altérations des macromolécules et des anomalies dans la transmission des signaux cellulaires, ce qui constitue le stress oxydant. Ce dernier favorise le développement du diabète en perturbant l'insulinosécrétion, en favorisant l'insulinorésistance et les complications chroniques qui y sont associées (**Cai et al., 2003; Giugliano et Esposito, 2008 ; Bisbal et al., 2010**).

La prise en charge médicamenteuse de la pathologie diabétique est, traditionnellement assurée, en grande partie par l'utilisation de plantes médicinales telles que *Zygophyllum album*. Les industriels pharmaceutiques ont réussi à développer tout un arsenal thérapeutique pour lutter contre cette maladie et tenter de prévenir ses complications (l'insuline et les

antidiabétiques oraux tels que les biguanides metformine, sulfamides ...). Ces agents ont une efficacité généralement insuffisante en monothérapie et ont des effets secondaires indésirables communs : le gain de poids et l'hypoglycémie, le coût parfois élevé. Par conséquent, de nouvelles thérapies antidiabétiques sont fortement exigées (**Ladouari et Harkouk, 2012 ; Miller et al., 2014**).

Partant de cet état de fait, nous avons proposé une nouvelle alternative consistant à administrer une micro-algue bleu-vert « la spiruline » connus pour ses propriétés médicinales, antioxydantes et nutritionnelles, sa richesse en protéines, en composés phytochimique bioactifs, tels que les phycobiliprotéines, en composés phénoliques, en flavonoïdes et en vitamines bio-chélatés naturelles chez le rat wistar rendu diabétique (**Sharma et al., 2007 ; Nuhu, 2013 ; Vo et al., 2015**).

Récemment, plus d'attention a été accordée à l'étude des effets thérapeutiques de la spiruline sur divers états pathologiques, y compris l'hyperglycémie, l'hyperlipidémie, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires, le cancer ... (**Deng et Chow, 2010 ; Vo et al., 2015**).

Ces dernières années, il est apparu la notion de nutraceutique, aliments fonctionnels enrichis en principes actifs ou en produit d'intérêt nutritionnel, physiologique, énergétique thérapeutique considérables. Dans ce sens, nous avons proposé un biscuit enrichi en spiruline (**Plaza et al., 2008 ; Abd El-Baky et al., 2009**).

L'utilisation d'antioxydants synthétiques a diminué en raison de leurs activités soupçonnées en tant que promoteurs cancérigènes ainsi que les additifs alimentaires synthétiques qui sont rejetés par le consommateur. Actuellement, la recherche d'antioxydants naturels est fortement demandée pour prévenir la détérioration des aliments et minimiser les dommages oxydatifs des cellules vivantes, d'une part. D'autre part, les protéines animales ont une valeur nutritionnelle beaucoup plus intéressante, mais elles sont perçues actuellement comme étant une source de maladies métaboliques et nutritionnelles par leur apport en matières grasses saturées et en cholestérol (**Shalaby, 2011 ; Shanab et al., 2011**).

C'est pourquoi, actuellement, plus d'intérêt a été donné à la consommation de protéines végétales et l'utilisation d'antioxydants naturels dont les algues, les céréales et les légumineuses qui sont la source principale pour prévenir la détérioration des aliments et minimiser les dommages oxydatifs des cellules vivantes.

La spiruline, très riche en protéines est un bon exemple de sous-produits d'industrie agro-alimentaire qui peut être valorisé et devenir une matière première importante pour la préparation de différents produits alimentaires.

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet antioxydant de la spiruline *in vivo* et *in vitro* afin de prévenir les troubles du métabolisme glucido-lipidique des rats rendus diabétiques par l'alloxane et le fructose et la conception d'un nutraceutique dont les objectifs sont :

- Etude *in vitro*, un screening phytochimique et l'activité antioxydante de la spiruline.
- Etude des effets antihyperglycémiques, antihyperlipidémiques et antioxydants de la spiruline sur un modèle animal (rat wistar) rendu diabétique.
- Evaluation des paramètres biochimiques et ceux du stress oxydant au niveau sérique avant et après le traitement.
- Estimation des paramètres biochimiques et antioxydants sériques après un arrêt de traitement.
- Étude histologique du pancréas, du foie et des reins des rats.
- Conception d'un nutraceutique « le biscuit » par l'incorporation de *Spirulina platensis* cultivée à l'échelle pilote à différentes doses dans une farine à tendance biscuitière.
- Étude biochimique et technologique des différents mélanges farine/spiruline et analyse physique et sensorielle des biscuits préparés.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. ÉTUDE DE LA SPIRULINE

Les cyanobactéries, appelées aussi algues bleues vertes sont des bactéries Gram⁻ qui se répartissent en 150 genres regroupant 2000 espèces, d'un diamètre compris entre 3 et 10 µm et peuvent se retrouver sous forme unicellulaire, filamenteuse ou en colonies (**Chorus et Bartram, 1999 ; Duy et al., 2000; AFSSA-AFSSET, 2006**).

En 1940, et pour la première fois au Tchad, la spiruline (*Arthrospira*) a été décrite par **Dangeard** comme étant une cyanobactérie. Cette dernière, est un organisme photosynthétique poussant naturellement dans des eaux alcalines, des zones tropicales et subtropicales. Elle est largement utilisée comme complément alimentaire en raison de son contenu riche en protéines et en pigments (**Vonshak, 1997; Gershwin et Belay, 2008; Nuhu, 2013**).

Beaucoup de micro-algues sont considérées comme des excellentes sources de composés biologiquement et pharmacologiquement actifs. À part le contenu en protéines de bonne qualité, elles contiennent des acides aminés essentiels, des fibres, des acides gras essentiels, des minéraux, des vitamines et des composés phénoliques (**Smith et Doan, 1999 ; Mišurcová, 2011; Machu et al., 2015**).

Les algues sont de plus en plus utilisées en médecine, en pharmacie et dans l'industrie alimentaire dans le monde. Ces dernières présentent une grande proportion d'acides gras (ω -3) qui agissent contre l'athérosclérose, l'hypertension, les maladies inflammatoires, la fibrose kystique, ... (**Gamal, 2010 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011 ; Moulis et al., 2012**).

I.1.1. Définition

La spiruline est une cyanobactérie photosynthétique, filamenteuse, non différenciée, multicellulaire et qui pousse naturellement dans les climats chauds. Elle se trouve dans une variété d'environnements: terre, sable, marais, eau saumâtre, eau de mer et l'eau douce (**Sánchez et al., 2003 ; Charlemagne, 2008 ; Al-Dhabi, 2013**).

Parmi les myriades de cyanobactéries, on distingue, *Arthrospira platensis* dont l'appellation courante et commerciale est « la spiruline ». C'est une microalgue caractérisée par un taux de croissance cellulaire élevée, une facilité de récolte et une demande potentielle comme complément alimentaire à consommation humaine et animale (**Mao et al., 2005 ; Gupta et al., 2010 ; Coca et al., 2014**).

I.1.2. Morphologie

La spiruline est une microalgue bleue verte, symbiotique à trichomes cylindriques multicellulaires disposées en filaments hélicoïdales, composés de cellules végétatives. Les trichomes ont une longueur de 50 à 500 µm et une largeur de 3 à 4 µm avec une surface lisse et sans couverture, donc facilement digestibles par des systèmes enzymatiques simples. Trois principales formes de souche d'*Arthrospira spirale*, droite et ondulée ont été identifiées dans différentes conditions de culture (Tomaselli, 1997; Vo *et al.*, 2015) (Figure 1).

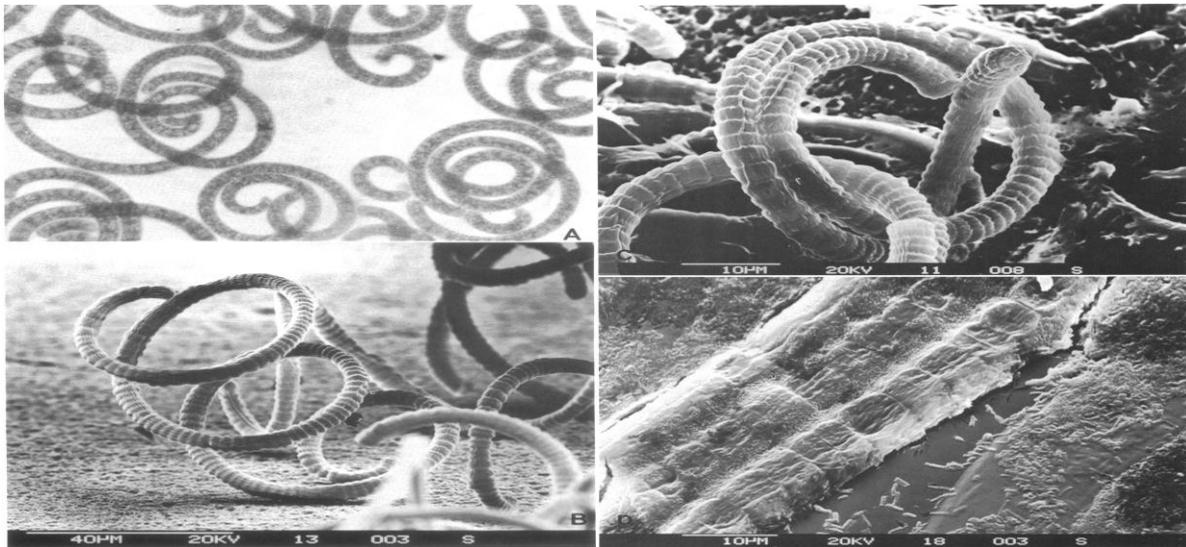


Figure 1: Morphologie de la spiruline (Ciferri, 1983)

(A) Axénique (culture exempte de tous germes saprophytes ou pathogènes) *Spirulina platensis* (SP) sous microscope optique (X400). (B) Trichome d'axénique SP sous micrographie électronique de numérisation. (C) Une partie d'un trichome de SP axénique sous micrographie électronique à balayage. (D) Trichomes non axéniques de *Spirulina maxima* sous micrographie électronique de numérisation.

I.1.3. Classification

La classification systématique de la spiruline a été étudiée par plusieurs auteurs depuis 1917 par Gardner. Cette algue est classée comme suit (Manet, 2016):

Règne : Monera	Famille : Oscillatoriaceae
Phylum : Cyanophyta	Sous règne : Procaryota
Ordre : Nostocales	Classe : Cyanophyceae

Il existe plus de 15 espèces de spiruline en fonction de leur lieu de découverte, parmi lesquelles deux sont les plus fortement étudiées, comestibles avec un potentiel nutritionnel et thérapeutique élevé (Khan *et al.*, 2005; Gershwin et Belay, 2008) :

- ✓ *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) originaire du Tchad.
- ✓ *Spirulina maxima* (*Arthrospira maxima*) originaire du Mexique.

Le genre *Arthrospira* est utilisé pour la forme d'algue à parois visiblement cloisonnée et celui de la spiruline pour celles à cloisons invisibles, mais en 1932, les deux genres ont été unifiées sous le nom de *Spirulina* se fondant uniquement sur la base de leur forme hélicoïdale malgré leurs différences morphologiques (**Gardner, 1917 ; Mishra et al., 2013**).

I.1.4. Rôle nutritionnel

La spiruline est proposée comme aliment depuis des siècles en Afrique centrale. Actuellement, elle est largement utilisée comme complément alimentaire pour lutter contre la famine, la malnutrition et l'anémie dans le monde, dans l'alimentation animale et l'industrie pharmaceutique. Le rôle nutritionnel de la spiruline est dû à sa composition biochimique intéressante en macromolécules, minéraux et vitamines et pigments (**Koru, 2009 ; Pasquet et al., 2011; Madkour et al., 2012 ; Nuhu, 2013 ; Vo et al., 2015**), (Tableau 1).

- Les macromolécules

Arthrospira est parmi les sources les plus riches en protéines avec un pourcentage qui varie entre 60 et 70% en poids sec, en comparaison avec les protéines de la viande, des œufs et du lait. Les protéines de la spiruline sont riches en acides aminés essentiels et plus facile à digérer que d'autres compléments alimentaires. Le taux de digestibilité de cette algue est de l'ordre de 83 à 90% du à l'absence d'épaisses parois cellulodiques protégeant les cellules algales (**Charpy et al., 2008 ; Chu et al., 2010 ; Vo et al., 2015**).

La teneur en lipides totaux dans la spiruline varie de 6,4 à 14,3 % en poids sec. Elle est riche en acides gras essentiels dont 1,5 à 2% d'acides gras polyinsaturés (γ -linoléique) et 5 à 6% des sulfo-lipidiques (**D'Oca et al., 2011 ; Habib et al., 2008**). Cette algue contient environ 13,5% de glucides composé principalement de glucose, le rhamnose, le mannose, le xylose, le galactose (**Habib et al., 2008 ; Koru, 2009**).

- Les minéraux et les pigments

Tous les minéraux essentiels ($\approx 7\%$) sont disponibles dans la spiruline. Cette microalgue a attiré l'attention par sa capacité à stimuler l'absorption des minéraux par ses effets sur la microflore intestinale (**Vo et al., 2015**). Ainsi que des pigments particulièrement la C-phycoyanine et les caroténoïdes, les échinéones, les myxoxanthophylles, les canthaxanthines, les diatoxanthines, les 3-hydroxyechinenones et les β -cryptoxanthines. Ces pigments sont d'excellents piègeurs de radicaux libres, d'une part, et peuvent être utilisé comme colorant de produits alimentaires, d'autre part (**Shanab et al., 2012 ; Cuellar-Bermudez et al., 2015**).

Tableau 1: Composition biochimique de la spiruline (Gershwin et Belay, 2008)

Composition	Par 100 g	Composition	Par 100 g
1. Macronutriments		2. Vitamines	
Calories	373	Vitamine A (100% B-carotène)	352.000 IU
Lipides totaux	4,3 g	Vitamine K	1090 mcg
Gras saturés	1,95 g	Thiamine HCl (Vitamine B1)	0,5 mg
Gras polyinsaturés	1,93 g	Riboflavine (Vitamine B2)	4,53 mg
Gras monoinsaturés	0,26 g	Niacine (Vitamine B3)	14,9 mg
Cholestérol	<0,1 mg	Vitamine B6 (Pyridox HCl)	0,96 mg
Glucides totaux	17,8 g	Vitamine B12	162 mcg
Fibres	7,7 g		
Sucres	1,3 g		
Lactose	<0,1g		
Protéine	63 g		
Acides aminés essentiels (mg)		3. Minéraux	
Histidine	1000	Calcium	468 mg
Isoleucine	3500	Fer	87,4 mg
Leucine	5380	Phosphore	961 mg
Lysine	2960	Iode	142 mcg
Méthionine	1170	Magnésium	319 mg
Phénylalanine	2750	Zinc	1,45 mg
Threonine	2860	Selenium	25.5 mcg
Tryptophane	1090	Cuivre	0,47 mg
Valine	3940	Manganèse	3,26 mg
		Chrome	<400 mcg
		Potassium	1,660 mg
		Sodium	641 mg
Acides aminés non essentiels (mg)		4. Les phytonutriments	
Alanine	4590	Phycocyanines	17,2 %
Arginine	4310	Chlorophyll	1,2 %
Acide aspartique	5990	Superoxyde dismutase (SOD)	531,000 IU
Cystine	590	Acide γ - linolenique (GLA)	1080 mg
Acide glutamique	9130	caroténoïdes totales	504 mg
Glycine	3130	B-carotène	211 mg
Proline	2380	Zeaxanthine	101 mg
Serine	2760		
Tyrosine	2500		

I.1.5. Rôle thérapeutique

Des études approfondies ont été consacrées à l'évaluation des avantages thérapeutiques de la spiruline sur un éventail de maladies : le diabète, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, le cancer et les infections virales et bactériennes, l'hypertension et l'anémie (Juarez-Oropeza et al., 2009; Shalaby, 2011 ; Al-Dhabi, 2013).

I.1.5.1. Activité antioxydante et anti-inflammatoire

Bien que l'activité antioxydante des composés phénoliques en biologie est bien connue, les caractéristiques antioxydantes des algues restent limitées. La spiruline est connue par sa composition en divers antioxydants non enzymatiques et enzymatiques. L'activité antioxydante de cette algue est prouvée par des dosages chimiques de piégeage de radicaux libres et biochimiques sériques et/ou histologiques (Chopra et Bishnoi, 2008 ; Chu et al., 2010 ; Öztürk ürek et Tarhan, 2012) :

- ✓ Les antioxydants non enzymatiques : la phycocyanine, la chlorophylle, les caroténoïdes totaux, la β -carotène, le tocophérol, l'acide γ -linoléique et les composés phénoliques.
- ✓ Les antioxydants enzymatiques : le fer-superoxyde dismutase (FeSOD) et l'ascorbate dépendant peroxydase (AsA-POD), et la peroxydation lipidique (POL).

Une forte activité anti-inflammatoire est prouvée par la spiruline en inhibant la formation de cytokines pro-inflammatoires, supprimant l'expression de cyclo-oxygénase-2 et diminue la production de prostaglandine E (Cherng et al., 2007 ; Shalaby et al., 2011).

I.1.5.2. Activité antidiabétique

Le diabète sucré provoque de multitudes problèmes de santé, accompagné de perturbations des métabolismes : glucidiques, protéiques et lipidiques, et conduisent à l'hyperlipidémie, aux maladies cardiaques et l'insuffisance rénale (Latha et Daisy, 2011). Les phycocyanines et les composés phénoliques de spiruline ont des activités antidiabétiques par la réduction de la concentration du glucose sérique et augmente probablement les niveaux d'insuline des rats diabétiques de type 1 (Li et al., 2009 ; Thomas et Kim, 2011).

Plusieurs essais cliniques ont été effectués pour évaluer l'activité hypolipidémiant de la spiruline sur deux populations : saines et diabétiques. La prise de cette algue réduit significativement le cholestérol total, le triglycéride et le LDL-c et augmente légèrement le taux de HDL-c. En outre, les pressions artérielles systoliques et diastoliques ont été réduites de manière significative (Kim et Kim, 2005 ; Riss et al., 2007 ; Kamalpreet et al., 2008).

I.1.5.3. Autres rôles de la spiruline

Des études ont montré que les composés phénoliques de la spiruline ou ses extraits, ont des fonctions anti-tumorales et anti-cancéreuses. Une régression significative de la tumeur est obtenue par injection intraveineuse de radachlorin, un photosensibilisateur de chlore dérivé de chlorophylle (a) de spiruline (Akao *et al.*, 2009; Shanab *et al.*, 2012 ; Kawanishi *et al.*, 2013).

La propriété antivirale de la spiruline est attribuée, en générale, à sa richesse en principes actifs. Les extraits cette algue jouent un rôle antiviral contre les différents virus enveloppés (tels que le virus de Herpes simplex de type 1, de la rougeole, de la grippe, de VIH-I, de VIH / Sida, le cytomégalovirus humain et contre le HSV-I (Khan *et al.*, 2005 ; Rechter *et al.*, 2006 ; Shalaby *et al.*, 2010 ; Thomas et Kim, 2011 ; Abdo *et al.*, 2012).

Les phycobiliprotéines et les composés phénoliques de la spiruline ont montré une activité antibactérienne contre certaines bactéries résistantes aux médicaments : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, six souches de *Vibrio*, *Candida glabrata* et *Aspergillus flavus* et antifongique contre *Candida glabrata* et *Aspergillus flavus* (Sarada *et al.*, 2011 ; Kokou *et al.*, 2012 ; Duda-Chodak, 2013).

En plus de son effet anti-allergique et anti-vieillessement, la spiruline réduit les lésions cérébrales ischémiques et prévient les dommages squelettiques induits par un stress oxydatif (Wang *et al.*, 2005 ; Lu *et al.*, 2006 ; Thomas et Kim, 2011).

La spiruline, en plus de ses effets néphroprotecteurs, radioprotecteurs et neuroprotecteurs contre les radicaux libres, empêche ou retarde la mort cellulaire par nécrose en utilisant l'extrait aqueux de cette dernière. Cette microalgue a des effets protecteurs contre le stress provoqué par certains métaux lourds (Chu *et al.*, 2010 ; Tobon-Velasco *et al.*, 2013 ; Balaji *et al.*, 2015).

I.1.6. Culture et toxicité de la spiruline

La première culture artisanale de spiruline revient à Fox en 1973 en Inde. Cette microalgue se développe chaque jour de 25% et sa quantité double en 4 jours par une reproduction végétative (asexuée) type scission simple, fission binaire ou multiple, par bourgeonnement ou fragmentation au hasard. Les étapes de son cycle de vie sont la fragmentation des trichomes, l'élargissement et la maturation des cellules, la division de ses derniers en filaments et transformation en forme hélicoïdale (Cruchot, 2008 ; Manet, 2016).

Plus de 22 pays ont produit environ 5.000 tonnes de spiruline en 2013. Cette production a doublé en 8 ans. En dehors de la culture de cette algue dans des lacs où elle pousse naturellement, elle peut être produite en grandes quantités dans des bassins en respectant les conditions de production et de croissance qui dépend du type et la concentration de nutriments, la température ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$), la lumière (≈ 2500 Lux, 12h/12h) et l'agitation avec un pH élevé de 8,5 à 10 qui inhibe la contamination de celle-ci par la plupart de certaines algues dans la culture (**Öztürk ürek et Tarhan, 2012 ; Morin, 2014 ; Aouir et al., 2017**).

L'Algérie représente une ressource naturelle qui contribue à la valorisation et au développement des cultures de spiruline par son climat. Le sud algérien, particulièrement Tamanrasset et Ouargla, a un climat sec et chaud favorable pour la culture de cette algue (**Jarisoa, 2005 ; Djaghoubi et al., 2015**). La récolte de la spiruline passe par la filtration par une toile, le lavage, l'essorage, le séchage et finalement le conditionnement et la conservation (**Lounici, 2010 ; Jourdan, 2011**). La spiruline ne présente aucun risque de toxicité ni d'effets secondaires, même si les doses administrées sont supérieures à celles recommandées pour la consommation humaine. Bien que cette algue ne contienne pas de toxines ni de métaux lourds, les contaminations par le milieu extérieur sont possibles. De faibles concentrations en métaux lourds ont été découvertes dans la spiruline cultivée avec l'eau courante. La consommation d'une telle algue peut conduire à des effets toxiques ; pour cela l'eau utilisée pour la culture doit être contrôlée (**Cevallos et al., 2008 ; Vo et al., 2015**).

I.2. L'OXYDATION, LES ANTIOXYDANTS ET LE STRESS OXYDATIF

I.2.1. L'oxydation

L'oxydation, qui est l'une des plus importantes manifestations dues aux radicaux libres, est à l'origine du vieillissement des produits alimentaires et cosmétiques, des tissus biologiques et des organismes. Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des constituants alimentaires et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur par des implications toxicologiques et pathologiques (**Berset, 2006 ; Iazzourene, 2015**).

Les radicaux libres sont des espèces avec un ou plusieurs électrons non appariés produits spontanément par l'organisme. Ces électrons se traduisent par des espèces hautement réactives. Les radicaux libres ont deux grandes classes de réactions : des transferts d'électrons et des réactions d'addition qui peuvent être classées comme réducteurs (donneur d'électrons) ou oxydants (accpteur d'électrons) (**Buettner et Schafer, 2000**).

Bien que les radicaux libres (RD) sont utiles dans l'organisme, ils sont toxiques lorsqu'ils sont générés en excès. En plus des altérations des protéines, des acides nucléiques, ces derniers provoquent la peroxydation lipidiques, les lésions tissulaires, le stress oxydant, le vieillissement cellulaire accéléré et le développement de nombreuses pathologies par conséquence. Si la production de RD est très importante, l'apoptose déclenche, par altération irréversible des processus cellulaires vitaux entraînant la nécrose cellulaire. Ordinairement, le niveau de RD dans l'organisme vivant est contrôlé par un ensemble complexe d'antioxydant. Ce qui minimise les dommages oxydatifs des biomolécules, prévient la formation radicalaire et limite les lésions tissulaires résultantes (**Halliwell, 2006; Jenkins et al., 2007 ; Ďuračková, 2008 ; Machu et al., 2015**).

I.2.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des éléments capteurs de radicaux libres, par plusieurs mécanismes tels que mentionnés par **Berset, (2006), Ďuračková, (2008) ; Iazzourene (2015) :**

- ✓ La neutralisation des radicaux libres,
- ✓ L'abaissement de la pression partielle en oxygène et chélates les métaux de transition,
- ✓ La désactivation des espèces réactives à l'oxygène et la destruction des hydroperoxydes,
- ✓ L'inactivation des enzymes de peroxydation lipidique,
- ✓ La dismutation de l'ion superoxyde par les superoxydes dismutases (SOD),

- ✓ Agissant sur les peroxydes par la catalase et les glutathions peroxydases,
- ✓ La protection des protéines à fonction thiol par la thiorédoxine.

En plus des propriétés antiradicalaires des antioxydants, ces derniers jouent d'autres rôles biochimiques et biologiques intéressants (Nicolosi et al., 1999 ; Vivekananthan, 2003 ; Delattre et al., 2005) tels que:

- ✓ Le recyclage de la vitamine E et le glutathion par la vitamine C,
- ✓ La prévention des effets toxiques des radicaux libres et le maintien de la SOD par le zinc,
- ✓ La prévention de l'oxydation des LDL, l'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires,
- ✓ Le contrôle du taux de radicaux libres en captant l'oxygène singulet par les β -carotènes,
- ✓ Les activités antibactériennes, antifongiques, antitumorales et anti-inflammatoires... des antioxydants naturels.

✚ Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire

L'activité antioxydante, est l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à piéger les radicaux libres par transfert d'électrons et/ou de protons issus de phénomènes d'oxydations (Prior et al., 2005). Les tests les plus utilisés pour l'évaluation de cette dernière sont: le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), le test ABTS (l'acide 2,2'-azynobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) et le pouvoir réducteur *in vitro* d'une part, et la mesure de taux d'antioxydants enzymatiques SOD, GPx, GRx, TAS, *in vivo* d'autre part.

✚ Classification des antioxydants

Les systèmes antioxydants sont soit des molécules capteurs des espèces réactives de l'oxygène (ERO), soit des systèmes enzymatiques catalysant la conversion des molécules prooxydantes (Salvayre et Salvayre, 2005). La classification des antioxydants est montrée dans la **figure 2**.

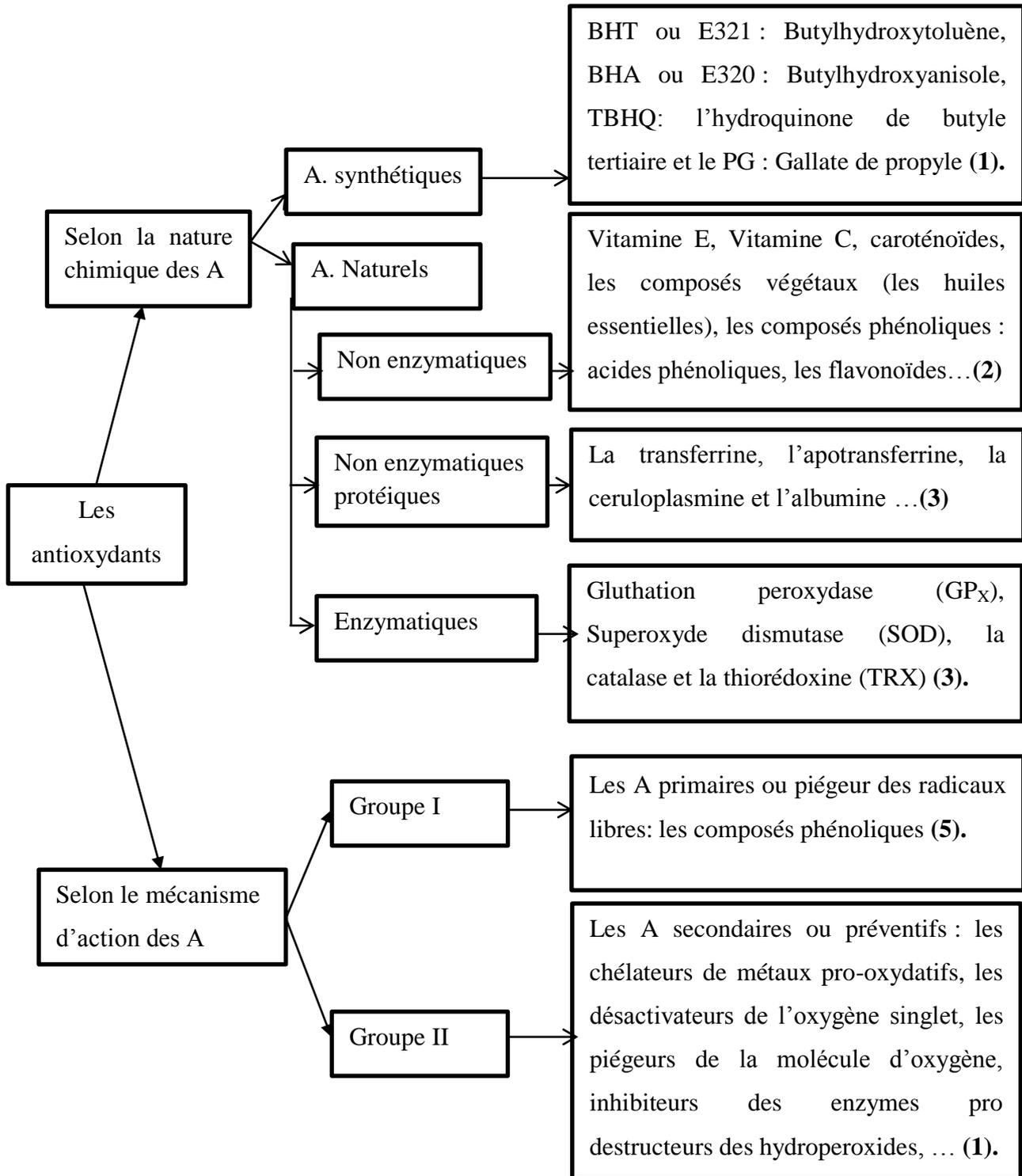


Figure 2: Classification des antioxydants

(1) Iazzourene, (2015), (2) : Schafer et Buettner, (1999) ; Pelli et Lyly, (2003); Neve, (2002); Berset, (2006); Perez-Bonilla et al., (2006) ; Machu et al., (2015) ; Manach et al., (2004), (3) : Beaudoux et al., 2000; Ďuračková, 2008; Menvielle-Bourg (2005) ; Théron et Bennefont, (2006).(5) : Frankel et Meyer, (2000). A : antioxydant.

1.2.3. Le stress oxydatif

1.2.3.1. Définition

Le stress oxydatif ou stress oxydant (SO) se définit comme étant un déséquilibre de la balance entre les radicaux libres pro-oxydants (ERO) et les antioxydants en faveur des premiers. Ces derniers sont des molécules chimiques possédant un ou plusieurs électrons célibataires, très réactivité et toxiques. Ils sont produits en permanence par l'organisme mais un système efficace de défenses antioxydant permet de réguler cette production afin de prévenir toute altération cellulaire excessif (**Pincemail et al., 2002 ; Favier, 2003 ; Barouki, 2006 ; Vázquez-Velasco et al., 2014**).

1.2.3.2. Origine du stress oxydatif

La mitochondrie représente le site majeur de production cellulaire d'ERO. En effet, une proportion de l'oxygène échappe à la réduction complète en H₂O et subit une réduction monoélectronique pour donner naissance à l'anion superoxyde (O₂⁻) précurseur des ERO (**Gardès-Albert et al., 2003 ; Carrière et al., 2006**).

La phagocytose des bactéries et parasites par les macrophages ou les polynucléaires et certains facteurs environnementaux tels que les métaux lourds, l'irradiation, le tabac, l'alcool et même certains médicaments peuvent contribuer à la formation d'entités radicalaires (**Favier, 2003**). L'anion superoxyde est le premier radical libre formé, le superoxyde dismutase (SOD) catalyse la réaction de dismutation de l'O₂⁻ en H₂O₂, puis en H₂O et O₂ par la catalase (CAT) ou la glutathion peroxydase (GPx). L'oxyde glutathion (GPx) et la glutathion réductase (GRx) complète le cycle de glutathion par la réduction de glutathion oxydé (**Codoñer-Franch et al., 2011 ; Vázquez-Velasco et al., 2014**).

1.2.3.3. Pathologies liées au stress oxydatif

Le SO détruit toutes les macromolécules cellulaires aboutissant à une série d'oxydation et d'inflammation cellulaires et près de 200 maladies : le diabète sucré, la peroxydation lipidique et lipoprotéinique, les maladies cardiovasculaires, l'hypertension, le cancer, l'hyperoxalurie, les maladies neuro-dégénératives, le vieillissement, La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car, le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux libres. Le déséquilibre ne peut être combattu qu'en complétant les enzymes antioxydantes naturelles défensives (**Valko et al., 2007 ; Rop et al., 2012 ; Machu et al., 2015 ; Srivastava et al., 2017**).

❖ **Le diabète et le stress oxydant**

Le diabète sucré s'accompagne d'un stress oxydant et d'une production de radicaux libres par divers mécanismes. Ce stress se trouve impliqué dans l'aggravation de la maladie ainsi que dans l'apparition des complications chroniques liées au diabète. Le rôle pathogène de radicaux libres sur les cellules β a souvent été évoqué car, ces dernières ont des défenses limitées face au stress (**Rigalleau et al., 2007**).

En plus des radicaux libres, les ERO, conduisent à l'apoptose des cellules β pancréatiques perturbant la sécrétion de l'insuline dans le diabète de type 2 (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004 ; Guillausseau et al., 2008**) par :

- La diminution du rapport ATP/ADP intracytosolique,
- L'hyperpolarisation anormale de la membrane mitochondriale
- La surexpression du complexe I de la chaîne respiratoire

Il semble aussi que les radicaux libres produits, sont excessivement ou insuffisamment dégradés au cours du diabète, et participent dans à l'aggravation de l'insulinorésistance (**Barquissau et Morio, 2011**) (**Figure 3**).

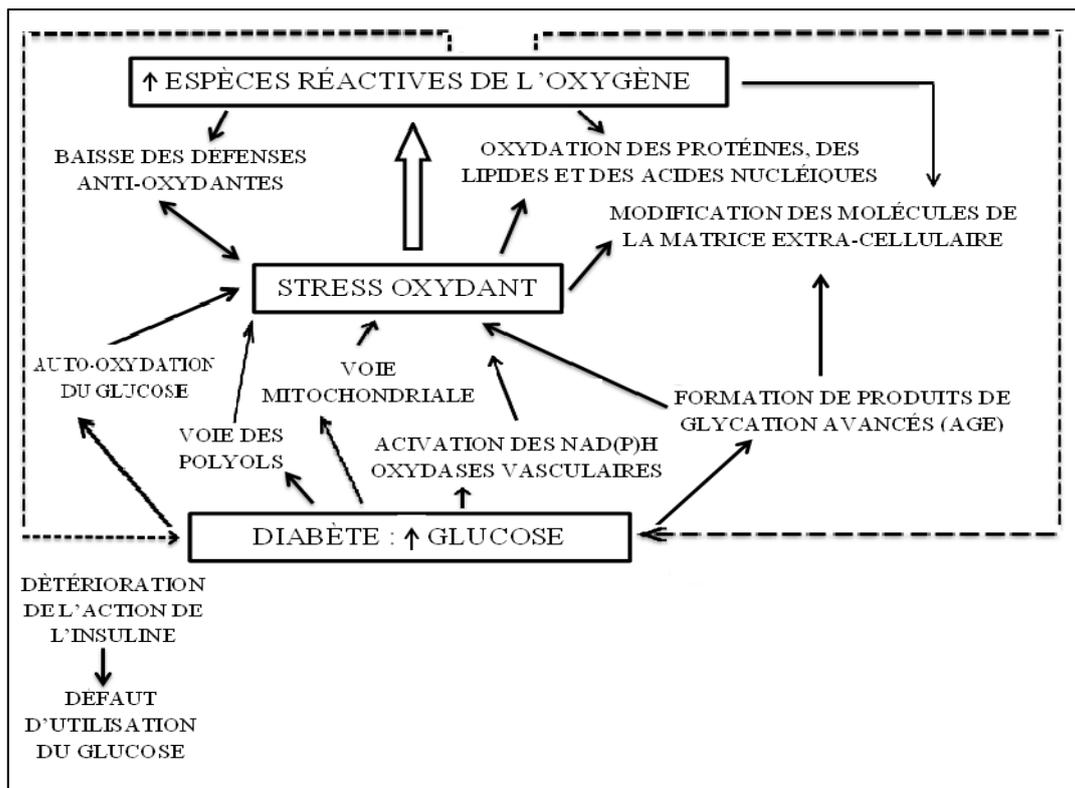


Figure 3: Relation entre l'hyperglycémie et le stress oxydant (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**)

I.3. ÉTUDE DU DIABÈTE SUCRÉ

Le diabète est une maladie menace la santé publique et affecte environ 15 millions de personnes dans le monde avec des complications d'hypertension, d'athérosclérose et des troubles de microcirculation. Il est classé le 7^{ème} dans le monde, parmi les principales causes de décès et le 3^{ème} lorsque ses complications sont prises en compte (**Ogbonnia et al., 2008 ; Edem, 2009 ; Saha et al., 2012**).

I.3.1. Historique

Le diabète occupe une place particulière dans l'histoire de la médecine et passe par les étapes suivantes :

1. Le diabète, en grec « dia-baïno », signifie passer au travers. Il est attribué à Demetrios d'Apnée ou les malades semblaient uriner aussitôt ce qu'ils venaient de boire, comme s'ils étaient "traversés par l'eau" sans pouvoir se retenir (**Reginer, 1999**).
2. Au 16^{ème}- 17^{ème} siècle, Thomas Willis décrit que l'urine diabétique était sucrée comme si elle était imprégnée de miel d'où son nom diabète mellitus. En 1848, Claude Bernard démontre la fonction glycogénique du foie. En 1879, Emile Lancereaux distingue, les deux types de diabète 1 et 2 et en 1886, Oscar Minkowski et Joseph Von Mehring découvrent le rôle du pancréas, ils ont noté qu'en enlevant le pancréas des chiens, ceux-ci devenaient diabétiques (**Langlois, 2008**).
3. En 1921, la découverte de l'hormone pancréatique hypoglycémiant « pancréine » puis « l'insuline ». En 1922, pour la première fois, l'insuline fut injectée et sauva la vie d'un garçon de 14 ans en état de mort. Depuis ce jour, le traitement par cette hormone est utilisé pour contrôler le diabète et les problèmes d'acidocétose et de coma diabétique (**Banting et al., 1922**).
4. Les mécanismes conduisant aux différentes formes de la maladie commencent à être précisés à partir du 20^{ème} siècle, par la méthode de radio-immunologie et le dosage de l'insuline (**Berson et Yalow, 1959 ; Gepts, 1965**).
5. En 1976, **Cudworth et Woodrow**, montrent que la prédisposition génétique du diabète de type 1 est sous la dépendance des gènes d'histocompatibilité.

Enfin, le monde médical s'est aperçu qu'il fallait normaliser la glycémie chez tout patient diabétique pour éviter les complications de cette maladie à long terme.

I.3.2. Définition

Le diabète sucré est définie comme un trouble endocrinien qui affecte l'homéostasie du glucose. Cette maladie est caractérisée par une hyperglycémie complexe, caractérisée par une déficience de sécrétion et/ou d'anomalie de l'action de l'insuline sur les tissus cibles. En pratique, on distingue le diabète de type 1 et 2. Ainsi, selon (HAS - Haute Autorité de Santé; **Latha et Daisy, 2011 ; Rama et al., 2012 ; Gandhi et al., 2013**) on distingue :

- Les sujets normaux : 0,7 g/L < glycémie < 1,10 g/L à jeun ou < 1,40 g/L après un repas,
- Les sujets hyperglycémiques non diabétiques : 1,10 g/L < glycémie < 1,25 g/L à jeun,
- Les sujets diabétiques : glycémie à jeun \geq 1,26 g/L, ou $>$ à 2 g/L à la 2^{ème} heure de l'hyperglycémie provoquée par voie orale,
 - **Pour le diabète de type 1** : au moins quatre tests par jour. Les objectifs glycémiques sont fixés entre 0,70 et 1,20 g/L avant le repas et $>$ 1,60 g/L en post-prandiale.
 - **Pour le diabète de type 2** : dans tous les cas, les objectifs glycémiques sont fixés entre 0,70 et 1,20 g/L avant les repas et 1,80 g/L en post-prandiale.
- Les intolérants au glucose : 1,40 g/L < glycémie < 2 g/L à la 2^{ème} heure de l'hyperglycémie provoquée par voie orale.

Le diabète peut être induit par des produits chimiques : l'alloxane monohydraté, la streptozotocine, le dexaméthasone chez les animaux. L'alloxane est un bêta-cytotoxine endommageant les cellules β des îlots de Langerhans, sécrétant l'insuline du pancréas (**Shalam et al., 2006 ; Bakirel et al., 2008 ; Gupta et al., 2010**).

I.3.3. Classification

- ***Diabète insulino-dépendant***

On l'appelle aussi diabète de type 1, diabète juvénile ou maigre. Il touche environ 10% de personnes. Ce diabète survient lorsque les cellules bêta (β) d'îlots de Langerhans du pancréas productrices d'insuline sont détruites par le système immunitaire de l'organisme: on parle de maladie auto-immune. Dans ce cas, la sécrétion d'insuline étant insuffisante et la régulation de glycémie n'est plus assurée. Les patients atteints du diabète de type 1 sont dépendants de l'insuline exogène pour maintenir la glycémie à un niveau normal (**Boitard et al., 2005 ; Shokeen et al., 2008 ; Gariani et al., 2009 ; Moura et al., 2011**).

L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules β fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une « insulite » pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans, voire plus, avant l'apparition du diabète). Cette réaction est d'origine génétique et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps (Langlois, 2008).

- **Diabète non-insulino-dépendant**

Appelé aussi, diabète de type 2 ou gras touchant particulièrement les adultes et représente 85% à 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il se fait plus lentement et intervient plus tard dans la vie de l'être humain, que le diabète de type 1. C'est une pathologie qui implique le développement progressif de la résistance à l'insuline hépatique et périphérique (muscles et les tissus adipeux) accompagnés d'une sécrétion d'insuline défectueuse et une hyperglycémie (Cheng, 2005 ; Moura et al., 2011 ; OMS, 2013 ; IDF, 2013).

L'insulino-déficience, responsable de l'hyperglycémie de diabète de type 2, est précédée par 10 à 20 ans d'hypersécrétion insulinique (hyperinsulinisme) à une insulino-résistance des tissus périphériques. Le pancréas sécrète davantage l'insuline pour compenser le manque. Ce phénomène est suivi par un dysfonctionnement progressif des cellules β pancréatiques qui ne parviennent pas à maintenir cette compensation, étape à laquelle le patient nécessite un traitement à l'insuline (Cerasi, 2000 ; DeFronzo, 2004 ; Langlois, 2008).

En dépit de la prédisposition génétique, le risque de développer le diabète de type 2 chez l'homme augmente avec l'âge, l'obésité, les maladies cardiovasculaires, la sur-alimentation excessive de graisses saturées, de sucres rapides et le manque d'activité physique (Ramarao et Kaul, 1999 ; Davidson, 2003 ; Cheng, 2005).

- **Autres types de diabètes**

Il existe selon (Tremolière et al., 1971 ; Pacoud, 1995 ; Richard, 1999 ; OMS, 2013) ;

- Le diabète, dit secondaire, dû à une mutation d'ADN mitochondriale (Bllinger-Wallace).
- Le diabète rénal : lié à un défaut de réabsorption du glucose par les reins connu par une glycosurie sans hyperglycémie.
- Le diabète gestationnel touche les femmes enceintes, il est généralement transitoire et disparaît dans les six semaines qui suivent l'accouchement.

I.3.4. Complications

Le diabète sucré est une maladie multifactorielle et prédispose les patients à des complications aiguës d'hyperglycémie et d'hypoglycémie. Elles deviennent chroniques après un certain temps et sont exprimées par des effets néfastes sur les reins (néphropathie), les yeux (rétinopathie), le système neurologique (neuropathie), le cœur (infarctus) et les vaisseaux sanguins (hypertension, artériosclérose, etc.) (**Latha et Daisy, 2011; Dharmalingam, 2014 ; Miller et al., 2014**).

I.3.4.1. Métabolisme glucidique et le diabète

Le diabète implique des altérations du métabolisme glucidique (**Spadella et al., 2005 ; Knop et al., 2007; Soussi et al., 2009 ; Latha et Daisy, 2011**) par :

- ✓ Les déficiences relatives ou absolues de la sécrétion d'insuline (diabète de type 1),
- ✓ Les récepteurs périphériques d'insuline perdant la sensibilité normale (diabète de type 2),
- ✓ ou la réduction de l'effet de l'incrétine (hormone stimulateur de la sécrétion de l'insuline)

L'hyperglycémie provoque le coma acido-cétosique en cas de déficit sévère en insuline. La polyurie et la soif intense ou la polydipsie, la perte de poids, les nausées, les vomissements et la déshydratation constante sont diagnostiqués. Le traitement fait appel à la réhydratation, l'alcalinisation et l'insulinothérapie intraveineuse continue.

L'hypoglycémie est une complication fréquente dans le **DT1**, due à une inadéquation entre le régime alimentaire, l'activité physique et la dose d'insuline. Dans le **DT2**, il s'agit d'interactions médicamenteuses avec un hypoglycémiant par exemple. Le traitement de l'hypoglycémie repose sur l'administration de sucre sous différentes formes. Elle provoque une vision embrouillée et une faiblesse musculaire (**Kameswara et al., 2001 ; Simontta, 2006**).

I.3.4.2. Insulinorésistance

L'insulinorésistance (IR) se définit comme l'incapacité de l'insuline à stimuler le métabolisme des tissus cible en particulier ceux du foie, des muscles squelettiques et des tissus adipeux (**Girard, 2008**). Ce phénomène se traduit par une inhibition de la production hépatique du glucose, et de la lipolyse dans le tissu adipeux et par une diminution de la captation de glucose par le muscle squelettique (**Barquissau et Morio, 2011**).

Le mécanisme de l'insulinorésistance fait intervenir de concentrations élevées en acides gras libérés, en circulation, du tissu adipeux et l'accumulation intramusculaire

importante de métabolites de ses derniers. Les acides gras sont ensuite oxydés induisant la phosphorylation des acides aminés dans les tissus périphériques. Ces phénomènes ainsi que d'autres, diminuent l'efficacité de l'insuline en empêchant le glucose circulant d'entrer dans les cellules (Shulman, 2000 ; Krebs et Roden, 2005 ; Schinner et al., 2005).

L'incapacité des tissus adipeux à stocker l'excès de l'apport calorifique provoque une résistance au signal insulinaire, une lipogenèse et un blocage de l'effet anti-lipolytique de l'insuline, ce qui se traduit par une augmentation des acides gras libres (AGL) circulants dans le sang. Les AGL, en excès, sont alors stockés dans d'autres sites (le muscle, le foie et le tissu adipeux péri-viscéral) où leur dépôt altère le fonctionnement du pancréas (Vergès, 2007).

Le pancréas est une glande amphicrine d'aspect lobulé de couleur jaune pâle, et de poids oscillant chez l'adulte entre 60 et 125 g. Sa longueur varie de 12 à 15 cm, constituée d'une glande endocrine (les îlots de Langerhans) entourée par des glandes exocrines (l'acinus pancréatique). L'îlot de Langerhans est constitué de quatre types de cellules alpha, bêta, delta et pp sécrétant respectivement, le glucagon, l'insuline, la somatostatine et les polypeptides (Agostini et al., 2005 ; Derrickson et Tortora, 2007 ; Dolz, 2008) (Figure 4).

Le diabète est accompagné d'une diminution progressive de l'efficacité des cellules bêta des îlots de Langerhans d'une part, et la libération du glucagon par le dysfonctionnement des cellules alpha pancréatiques, d'autre part (Kahn et al., 2014).

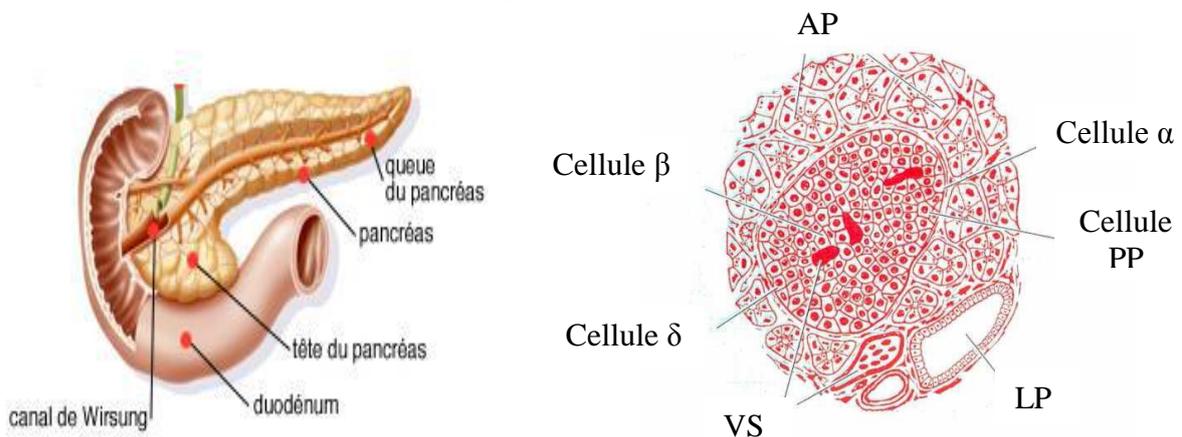


Figure 4: Anatomie du pancréas et d'un îlot de Langerhans (Agostini et al., 2005 ; Langlois, 2008)

VS : Vaisseaux sanguin ; LP : Lumière pancréatique ; AP : Acini pancréatiques

I.3.4.3. Métabolisme lipidique et maladies cardiovasculaires

Un déséquilibre dans la sécrétion et/ou l'action de l'insuline dans le diabète conduit à une hyperlipidémie caractérisée par l'augmentation des principaux facteurs de risque

cardiovasculaires qui sont l'élévation de cholestérol total, triglycérides, LDL-c et VLDL-c sériques et la réduction du niveau de HDL-c. L'insuline a des effets liporégulateurs essentiellement sur le tissu adipeux et le foie (Latha et Daisy, 2011 ; Ashok Kumar et al., 2012).

La figure 5, montre la dyslipidémie au cours de l'IR et est provoquée par :

- L'élévation des acides gras non estérifiés hépatique associées à l'assemblage et à la sécrétion des lipoprotéines VLDL,
- L'augmentation des TG circulants suite au taux élevé des AGL dans la circulation en raison de l'incapacité de l'insuline à inhiber la lipolyse et par la diminution de l'élimination périphérique des AGL,
- L'empêchement du catabolisme des LDL et du métabolisme des HDL.

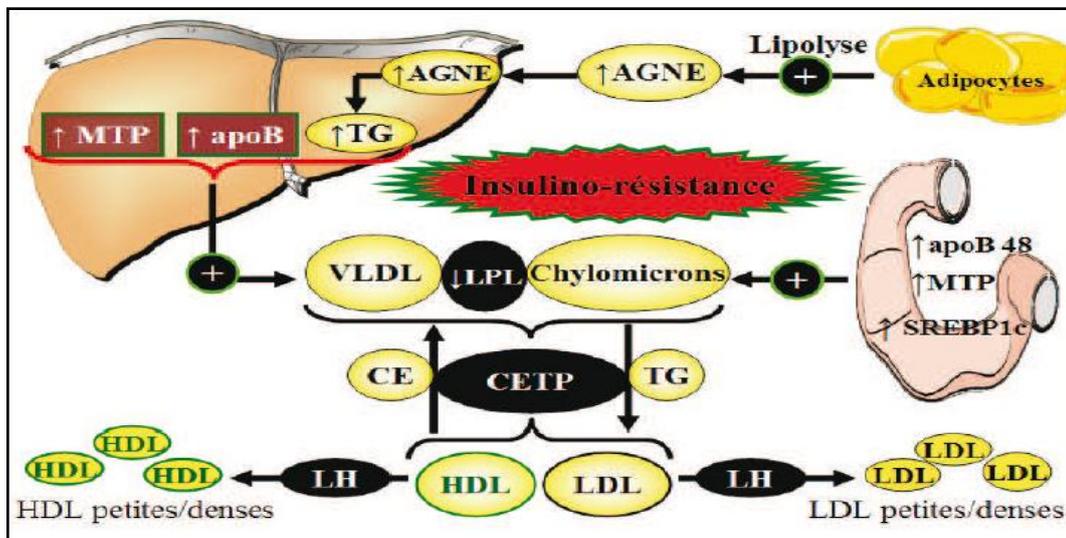


Figure 5: Relation entre l'insulinorésistance et la dyslipidémie (Hawkins et al., 1997).

AGNE : acides gras non estérifiés. TG : Triglycérides ; HDL : Les lipoprotéines de haute densité. LDL : Les lipoprotéines de faible densité, VLDL : lipoprotéine de très basse densité. LPL : lipoprotéine lipase.

Les maladies cardiovasculaires sont deux à quatre fois plus fréquentes chez les malades diabétiques que chez les autres. En effet, le diabète favorise le développement de l'athérosclérose au niveau des grosses artères et augmente ainsi le risque d'obstruction de vaisseaux sanguins précisément au niveau du coeur (infarctus), du cerveau ou des pieds (gangrène). L'âge, l'hérédité, l'hypertension, l'embonpoint et le tabagisme favorisent aussi leur apparition (Langlois, 2008).

I.3.4.4. Métabolisme hépatique

La cytolysse et la cholestase hépatique signifie une anomalie exprimée par l'augmentation des transaminases, soit l'ASAT (ou SGOT) et/ou l'ALAT (ou SGPT) et de PAL. Cet effet est fréquemment observé dans le diabète en raison de la résistance à l'insuline hépatique par l'élévation des niveaux AGL en circulation (**Harris, 2005**).

L'incidence globale de la maladie de la stéatose hépatique est la forme la plus fréquente de la maladie hépatique chronique qui est étroitement liée au syndrome métabolique et à ses composantes individuelles (diabète sucré de type 2, dyslipidémie, obésité et hypertension artérielle) (**Mikolasevic et al., 2016**).

La stéatose hépatique résulte de l'IR due à la baisse de l'activité de la lipoprotéine lipase épuratrice des TG, du HDL-c et l'augmentation des LDL-c du au flux élevé d'acides gras libres et à l'intense activité de la triglycéride-lipase hépatique provenant du tissu adipeux périviscéral drainé par la veine porte. Ces derniers peuvent alors s'infiltrer de manière diffuse dans le foie en formant des gouttelettes lipidiques où être excrétés dans le sang sous forme de lipoprotéines de très faible densité ou VLDL (**Vague, 2001**).

Le foie est un organe régulateur constitué des hypatocytes, des sinusoides, des cellules : endothéliales, de kupffer et de canaux biliaires. Il intervient dans la synthèse de glycogène, de protéines et lipoprotéines plasmatiques, le stockage de certains vitamines et lipides, la détoxification des déchets métaboliques ; la destruction des globules rouges vieillissants et la sécrétion de la bile, le catabolisme et l'excrétion du cholestérol (**Stevens et Lowe, 1997 ; Dadoune et al., 2000 ; Weater et al., 2001**).

La perturbation du fonctionnement du foie est accompagnée par l'augmentation des lipides et des transaminases exprimée par la stéatose hépatique ou la stéatohépatite non alcoolique chez les animaux diabétiques (**Lacombe, 2006 ; Sophia et Manoharan, 2007**).

I.3.4.5. Métabolisme rénal et néphropathie

Les concentrations de métabolites dans le sang (l'urée, l'acide urique, la créatinine et les ions) augmentent au cours de dommages rénaux associés au diabète (**Almdal et Vilstrup, 1988 ; Anwar et Meki, 2003 ; Poonam et al., 2008**).

Le terme néphropathie provient du grec nephros = rein. Le tissu des reins est constitué d'une multitude de minuscules vaisseaux sanguins qui forment un filtre dont le rôle est d'éliminer les toxines et déchets du sang (**Quirins et Luc, 2000 ; Lacombe, 2003 ; Mashall**

et Bangert, 2005). Le diabète est l'une des maladies qui causent des troubles vasculaires. Ces derniers peuvent en être affectés au point d'entraîner une détérioration progressive des reins qui se manifestera par divers troubles, allant de l'insuffisance rénale, gonflement de l'organe suivie par une néphropathie diabétique irréversible (Magee et al., 2009 ; Vallon et Komers, 2011; Vallon et Thomson, 2012 ; Miller et al., 2014).

I.3.5. Prévention des complications du diabète

La prise en charge du diabète requiert la surveillance de glycémie, de la tension artérielle et des lipides sanguins. Le test de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est réalisé pour le contrôle de la glycémie. Une quantité du glucose dans le sang, en attente d'être utilisé par les cellules, se fixe sur les globules rouges. Chez le sujet non diabétique, l'organisme utilise le glucose d'une manière efficace, donc, il y a peu de glucose disponible pour s'attacher à l'hémoglobine. En revanche, chez le patient diabétique, la quantité de glucose dans le sang est plus importante, ce qui permet la fixation de ces molécules sur les globules rouges. Ainsi, plus l'HbA1c est élevée, plus la quantité de sucre dans le sang est importante. D'une manière générale, pour une réduction de 1% d'HbA1c, le risque de développer des complications micro-vasculaires du diabète est réduit de 40% (Langlois, 2008 ; Kabir et al., 2015).

I.3.6. Régulation du diabète

I.3.6.1. Régulation hormonale

Le contrôle de l'homéostasie énergétique fait appel à des corrélations hormonales et nerveuses complexes dans lesquelles l'insuline occupe une place prépondérante (Magnan et Ktorza, 2005). Aucun des trois grands métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiniques n'échappe au contrôle de l'hormone, qui les oriente dans le sens de l'anabolisme et s'oppose aux effets cataboliques de nombreux autres facteurs.

Il existe principalement deux groupes d'hormones régulatrices du diabète anaboliques et cataboliques:

- Les hormones « anaboliques », représentées par l'insuline qui inhibe la mobilisation de substrats endogènes et abaisse la glycémie.
- Les hormones « cataboliques » ou de la contre-régulation à l'hypoglycémie appelées aussi hormones de stress, parmi lesquelles on retrouve le glucagon, l'adrénaline, les glucocorticoïdes et l'hormone de croissance (Tappy, 2004).

1) *Insuline*

L'insuline est une hormone polypeptidique de nature protéique et de poids moléculaire PM = 5800 dalton (**Da**). Elle est constituée de 51 acides aminés répartis en deux chaînes polypeptidiques (α) et (β) reliées par deux ponts disulfures. Elle est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas et exerce un effet normoglycémiant. Elle fait partie du groupe des peptides appelés Insuline like Growth Factor ou somatomédines (**Bell et al., 1980 ; Perlemuter et Collin, 2003 ; Magnan et Ktorza, 2005**).

L'insuline favorise la mise en réserve du glucose sous forme de glycogène dans le foie et le muscle, stimule le stockage des lipides dans le tissu adipeux et contribue à la rétention protéique dans tous les tissus. L'ensemble de ces effets résulte de la liaison de l'insuline à son récepteur membranaire spécifique présent à la surface des cellules du foie, du tissu adipeux et des muscles squelettiques (**Fineman et al., 2002 a,b; Magnan et Ktorza, 2005**).

➤ **Action physiologique de l'insuline**

L'insuline stimule le processus anabolique et la mise en réserve de l'énergie. Elle agit essentiellement sur 3 organes cibles, le foie, les muscles et les tissus adipeux (**Idelman et Verdeti, 2000 ; Perlemuter et Collin, 1995 ; 2003**).

a. Effet de l'insuline sur le foie

Le foie est le siège de la néoglucogenèse. Dans le foie, l'insuline diminue la production de glucose par blocage de la synthèse d'enzymes clés de la néoglucogenèse, par diminution de la disponibilité des substrats nécessaires à cette voie (acides aminés et glycérol) et par inhibition de la sécrétion du glucagon, en plus elle inhibe la glycolyse (**Verne et Hebert, 1964 ; Bouglé et al., 2009**).

Lorsque le foie est saturé en glycogène, le glucose de cet organe synthétise les acides gras estérifiés en TG pour être fixé par la suite sur les tissus adipeux sous formes de VLDL. Ainsi, l'action de l'insuline dans le foie, en plus de la stimulation de la synthèse du glycogène, vise à activer la glycolyse et la lipogenèse en provoquant l'expression de nombreux gènes impliqués dans ces voies (**Gonzalez-Baró et al., 2007**).

b. Effets de l'insuline sur le tissu adipeux

Le tissu adipeux constitue le principal réservoir d'énergie de l'organisme et la source des acides gras libres (AGL). L'insuline facilite le stockage des acides gras en triglycérides

dans le tissu adipeux et diminue la mobilisation de ceux-ci par inhibition de la lipolyse et la lipase hormonosensible (Mittelman et Bergman, 2000 ; Girard, 2008).

La diminution des AGL est accompagnée par la gluconéogenèse (Van et al., 2006). Ainsi, le mode de contrôle de la production hépatique de glucose par l'insuline peut être, d'une part indirect, par la régulation de la libération des acides gras non estérifiés à partir des adipocytes et d'autre part, direct, via la néoglucogenèse (Langlois, 2008).

c. Effets de l'insuline sur le muscle et adipocytes

L'insuline stimule la glycogénèse et la glycolyse ; inhibe la protéolyse et la lipolyse musculaires, ce qui augmente l'estérification des acides gras en triglycérides et favorise le transfert de certains acides aminés à travers la membrane cellulaire (Idelman et Verdeti, 2000 ; Girard, 2008). Elle stimule aussi le transport du glucose par l'intermédiaire des transporteurs Glut 1 à Glut 6 présents principalement dans les tissus adipeux et musculaires, tissus du système nerveux et placenta, le foie et les cellules β pancréatiques (Milburn, 1993 ; Scheepers et al., 2004 ; Ishiki et Klip, 2005 ; Wiernsperger, 2005). De plus, en stimulant la lipogenèse, l'insuline augmente la cholestérolémie. Enfin sur les protéines, l'insuline exerce un double effet anabolique et anticatabolique (González-Sánchez et Serrano-Ríos, 2007 ; Timmerman et Volpi, 2008).

Une élévation brusque de la glycémie provoque une activité des cellules β pancréatiques et une réponse insulinique rapide. La régulation physiologique de l'insulinosécrétion est sous la dépendance des nutriments et des ions. Elle est modulée par des hormones d'action rapide et d'autres facteurs à long terme (Portha, 2000 ; Perlemuter et al., 2003). La Figure 6 montre les principaux facteurs hormonaux et nerveux de contrôle de la sécrétion d'insuline.

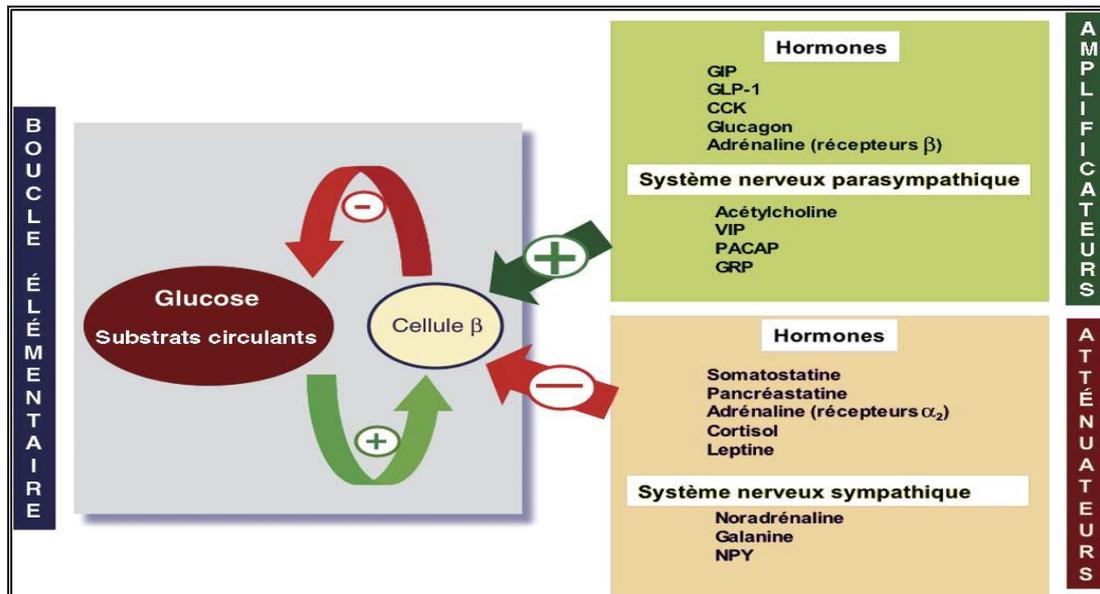


Figure 6: Principaux facteurs hormonaux et nerveux de contrôle de la sécrétion de l'insuline (Magnan et Ktorza, 2005).

PACAP : pituitary adenylate cyclase activating polypeptide ; VIP : vasoactive intestinal peptide ; GRP : gastrin releasing peptide ; GIP : gastric inhibitory polypeptide ; GLP-1 : glucagon like peptide-1 ; CCK : cholécystokinine ; NPY: neuropeptide Y.

➤ Insulinothérapie

L'insulinothérapie est le principal traitement du diabète de type 1. Il s'agit d'un traitement substitutif par l'insuline exogène dont le but est de se rapprocher de la courbe normale de la sécrétion physiologique de cette hormone. La plupart des insulines disponibles sont produites par génie génétique (insertion du gène de la pro-insuline humaine dans une bactérie ou une levure), ou par modification chimique de l'insuline du porc (Timsit, 1995).

Il existe quatre types d'insuline qui diffèrent par leur durée d'action après injection sous cutanée (insuline d'action rapide, intermédiaire, biphasique et lente). L'injection est faite par les seringues, les stylos, les pompes ou encore, par inhalation, par voie orale, la création d'un pancréas artificiel et enfin la transplantation du pancréas (Girard, 2008).

2) Glucagon

Le glucagon est une hormone peptidique hyperglycémisante de 29 acides aminés, synthétisée et sécrétée par les cellules α du pancréas en réponse à la chute des taux de glucose. C'est une hormone centro-régulateur de l'homéostasie du glucose, il stimule la sécrétion de l'insuline et la production hépatique du glucose, agit de façon paracrine et endocrine sur les cellules β par activation de la glycogénolyse et l'augmentation de la néoglucogénèse (Vella *et al.*, 2000 ; Magnan et Ktorza, 2005 ; Combettes, 2006 ; Kraft *et al.*, 2011).

I.3.6.2. Régulation médicamenteuse

La prise en charge thérapeutique du diabète a pour objectifs la correction de l'hyperglycémie chronique et des risques cardiovasculaires fréquemment associés au diabète ainsi que la normalisation de l'hémoglobine glyquée (HbA1c < 6,5 %) dans le but de prévenir le développement des complications micro et macrovasculaires.

Les antidiabétiques oraux (ADO) tels que les sulfonylurées hypoglycémiantes et glinides agissent sur la cellule β , sur la production hépatique de glucose tel que la metformine, sur la digestion des glucides tels que inhibiteurs des α glucosidases intestinales, ou encore sur l'insulinosensibilité tels que glitazones et metformine (**Tielmans et al., 2007**). Ces différentes molécules peuvent s'associer entre elles afin d'optimiser le traitement et de retarder le passage à l'insuline. Dans le traitement classique, le diabète de type 1 est traité avec de l'insuline exogène et pour le diabète de type 2, lorsque l'insuline est encore produite, divers médicaments sont utilisés tels que la metformine, les sulfonylurés, les biguanides, en combinaison avec des modifications de mode de vie (**Matthaei et al., 2000 ; Zhang et Moller, 2000**).

Parmi les ADO, certains sont doués d'une activité antioxydante tel que le Gliclazide qui a une action insulinosécrétagogue et antioxydant (**Blicklé, 2011**) et semble capable de diminuer la susceptibilité des LDL à l'oxydation. Tandis que, pour la metformine, l'activité antioxydante pourrait être due à un piégeage des radicaux libres mais aussi par modulation de la production des ERO par les mitochondries et la NADPH oxydase (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**). Généralement, les stratégies thérapeutiques actuelles pour le diabète de type 2 sont limitées, impliquent quatre principales classes d'agents ADO qui stimulent la sécrétion d'insuline du pancréas (**Gupta et al., 2010**):

- Les sulfamides (le glibenclamide, glipizide, répaglinide) sont hypoglycémiantes et à action rapide sécrétagogues/insulintropiques, réduisant la production hépatique de glucose,
- Les biguanides (la metformine), retarde la digestion et l'absorption d'hydrates de carbone intestinaux,
- α -Glucosidase (l'acarbose) améliore l'action de l'insuline par la réduction de l'absorption intestinale du glucose,
- Les thiazolidinediones (la pioglitazone, la rosiglitazone).

Chacun de ces agents présentent une efficacité généralement insuffisante et un nombre important d'effets indésirables (**Ramarao et Kaul, 1999 ; Bailey, 2005**).

1) La metformine

La metformine, un biguanide antihyperglycémiant est utilisé dans le traitement du diabète de types 1 et 2. Il est suggéré chez l'homme par **Scheen, (1996)**, sur la base de la réduction de la concentration du glucose dans le sang sans provoquer d'hypoglycémie. Il réduit les besoins en insuline des patients diabétiques avec une augmentation de la liaison à des récepteurs d'insuline en insuline (**Gin et al., 1985 ; Urakami et al., 2005 ; McIntosh et al., 2011**). À cet égard, la metformine est choisie dans cette étude comme traitement des rats rendus diabétiques par l'alloxane et le fructose, un modèle de diabète sucré de type 1 et 2 respectivement.

Actuellement, 14 classes de médicaments sont disponibles pour traiter le diabète sucré de type 2, mais seulement 36% des patients atteints de cette maladie arrivent à contrôler leur glycémies. Par conséquent, de nouveaux traitements sont nécessaires. Cependant, l'efficacité et la tolérance, ne sont plus les seuls critères qui contribuent à la réussite d'un médicament. La facilité et la fréquence d'administration, l'efficacité, étant conviviale avec le contrôle du poids et le risque d'hypoglycémie et le coût sont aussi des facteurs importants pour la survie d'un nouveau médicament (**Inzucchi et al., 2012 ; Miller et al., 2014**).

I.3.6.3. Régulation phytothérapique

La phytothérapie du grec Phyto = plante et Therapeia = soin, est une thérapeutique qui utilise les plantes ou formes galéniques dérivées de plantes : tisanes (infusés, décocté...), poudres, extraits secs (nébulisât, lyophilisat...), extraits liquides, etc. (**Catier et al., 2007**).

1) *Plantes médicinales et les algues*

Bien que différents types de médicaments hypoglycémiques sont disponibles en même temps que l'insuline pour le traitement du diabète sucré, un intérêt croissant des remèdes à base de plantes a été consacré (**Platel et Srinivasan, 1997 ; Ahmed et al., 2004**). **Mankil et al. (2006) ; Poonam et al. (2008)** ont passé en revue plusieurs plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle possédant une activité antidiabétique expérimentale.

En raison de l'efficacité perçue, les effets secondaires minimes, les coûts relativement faibles, la correction du métabolisme glucidique et insulinémique, la préservation de la fonction intégrale des cellules bêta, l'amélioration de l'absorption du glucose et les propriétés antioxydantes des plantes médicinales sont largement prescrits, même lorsque leurs composés biologiquement actifs sont inconnus (**Kameswara et al., 2003; Oliveira et al., 2005 ; Rajagopal et Sasikala, 2008 ; Chika et Bello, 2010 ; Rama et al., 2012**).

Quelques exemples de plantes douées de propriétés hypoglycémiantes et/ou antioxydantes utilisées en médecine traditionnelle sont les suivantes : *Anabasis articulata* ; *Allium sativum* ; *Nigella sativa* ; *Olea europea* ; *Ygophyllum album* (Goetz, 2007 ; Kambouche et al., 2009; Rebbas et al., 2012 ; Ladouari et Harkouk, 2012).

I.3.6.4. Autres types de régulateur

En plus de la thérapie nutritionnelle, l'exercice physique est utilisé comme un traitement non pharmaceutique pour le contrôle et la réduction des taux anormaux de glucose, de lipides et de poids chez les personnes souffrant de dysfonctionnement métabolique tel que le diabète (Schneider et Ruderman, 1990; Castaneda, 2001; Greenfield et al., 2009 ; Lim, 2014). Chez les personnes souffrant de l'obésité, manger lentement, peut être une stratégie de prévention utile du diabète (Angelopoulos et al., 2014).

Depuis 1980, des études ont été orientées vers le développement des nutraceutiques ou aliments fonctionnels pour la prévention ou la gestion de diverses maladies. La spiruline est devenue l'un de ces aliments nutraceutiques avec des effets bénéfiques sur la santé (Khan et al., 2005 ; Karkos et al., 2008 ; Kulshreshtha et al., 2008).

I.4. ALIMENTS FONCTIONNELS

La spiruline a gagné plus d'attention et une demande internationale pour son contenu élevé en phytonutriments ayant des applications médicinales et nutritionnelles intéressantes. Elle est utilisée traditionnellement pour la consommation directe et actuellement comme aliment fonctionnel et colorant naturels (Henrikson, 2010 ; Öztürk ürek et Tarhan, 2012 ; Abd El Baky et al., 2015).

La production de spiruline dans le monde en 2015 est estimée à environ 3000 tonnes métriques dont plus de 70% destinée à la commercialisation pour la consommation humaine (Vo et al., 2015). Les doses préconisées de l'utilisation de spiruline sèche comme complément alimentaire pour une personne en bonne santé (en dehors des états de malnutrition sévère) se situe entre 3 et 5 g/jour ou de 5 g à 10 g/ jour ou deux cuillères à café par jour par voie orale pour l'enfant ou l'adulte respectivement (Jeeji, 1985 ; Charpy, 2002 ; Branger et al., 2003; Morin, 2014).

La spiruline peut être consommée à l'état frais ou sec, en poudre ou en granules, gélules ou comprimés, seule ou mélangée avec d'autres aliments comme les pâtes, les biscuits et les boissons (Halidou et al., 2008 ; Priyadarshani et Rath, 2012) (Tableau 2).

Tableau 2: Caractéristiques de la spiruline dans les aliments

Auteurs	Nombre de sujets	L'âge (Année)	Dose de SP (g/j)	Prise journalière	Aliments de mélange
Sautier et al. (1975)	5	20 -35	20 à 100	1	Viande/lait/caséine/farine
Bucaille, (1990)	28	5-18	10	1	Galette/eau
Sall et al. (1999)	59	1,5 -2,5	10	2	Bouillie de céréale/lait
Branger et al. (2003)	165	0-3	5	NP	Réhabilitation habituelle
Habou et al. (2003)	56	0-5	10	2	Bouillie de mil
Simpore et al. (2006)	550	0-5	10	2	Misola, repas traditionnel
Abd El Baky et al. (2015)	20	/	0,3-0,9	NP	Biscuit

NP : n'est pas précisée. SP : *Spirulina platensis*.

Au cours de ces dernières années, l'intérêt des propriétés fonctionnelles des aliments augmente progressivement par les composés antioxydants, capables de piéger les radicaux libres (**Pasqualone et al., 2015**). En dépit de son intérêt progressant à la façon de consommer la spiruline, une attention marginale est accordée à l'intégration de cette micro-algue dans un aliment fonctionnel dit « nutraceutique ».

Il n'y a pas une seule définition du terme «aliment fonctionnel», utilisée dans de nombreux contextes, notamment en tant que progrès technologiques, marketing et normes de réglementation alimentaire (**Palou et al., 2003**).

Le concept d'aliment fonctionnel peut se référer à de nombreux aspects possibles, dont la caractéristique particulière est qu'un ou plusieurs de ses composants affecte d'une manière spécifique une fonction cible de l'organisme, et favorise un effet physiologique ou psychologique au-delà des bienfaits nutritionnels de base (**Viuda-Martos et al., 2011 ; Vo et Kim, 2013 ; Dominguez, 2013 ; Abd El Baky et al., 2015**).

Diplock et al. (1999), Pérez-Alvarez et al. (2003), définissent les aliments fonctionnels comme des composés alimentaires qui ont une incidence positive sur une ou plusieurs fonctions physiologiques (anticancérogénicité, antimutagénicité, antioxydante et anti-vieillessement), ce qui pourrait conduire à l'amélioration du bien-être et / ou à la

réduction des risques des maladies en modulant les systèmes physiologiques. Les nutraceutiques peuvent être obtenus en modifiant un ou plusieurs ingrédients ou en éliminant le même (Abd El Baky et El-Baroty, 2012).

Un intérêt considérable est accordé à l'égard de composés bioactifs naturels par le consommateur comme ingrédients fonctionnels dans les régimes alimentaires en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé. Des progrès rapides ont été réalisés dans le développement des aliments fonctionnels en fonction des résultats d'études réalisées sur les ingrédients alimentaires phytochimiques des microalgues (Abd El Baky et al., 2015).

Par conséquent, les industries alimentaires modernes se sont efforcées à développer de nouveaux aliments fonctionnels, considérés comme produits, sains, pratique, et pas cher en réponse à la demande croissante du consommateur. Les nouveaux produits alimentaires fonctionnels lancés sur le marché mondial sont : des produits laitiers, des confiseries, des boissons gazeuses, de la boulangerie et des aliments pour bébés, ayant suivi la voie de la fortification ou de l'ajout de nutriments souhaités en microalgues et de leur composés bioactifs (Bigliardi et Galati, 2013 ; Abd El Baky et al., 2015).

L'intérêt fondamental de l'utilisation de microalgues pour la production industrielle d'ingrédients alimentaires et d'aliments fonctionnels précieux dépend du fait que, pour la majorité des espèces, la culture est facile et la croissance est rapide. Les microalgues sur le plan nutritionnel, offrent des acides gras essentiels et des acides gras oméga 3 et 6, une qualité importante de protéines avec une bonne gamme d'acides aminés, des polysaccharides sulfatés, de l'énergie, des minéraux (Se, Zn, Ca, Fe, P), des vitamines (vit C, E , Acide folique, B 12) zinc et calcium, pigments (caroténoïdes et phycocyanines), flavonoïdes et acides phénoliques (Fogliano et al., 2010 ; Dominguez, 2013 ; Abd El Baky et al., 2012 ; 2014).

Cependant, les microalgues sont caractérisées par une variété de fonctions biologiques, antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-génotoxiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses, cardioprotectives, anti-allergiques, anticancéreuses, chimiopréventives, antioxydantes, hépatoprotectives, hypoglycémiques et antidiabétiques doivent être prises En considération. En outre, certaines microalgues ont été utilisées comme colorants pour la nourriture et l'alimentation du bétail pour la viande et les productions de poisson (Abd El Baky et al., 2013 ; Lee, 2013).

En outre, les algues sont considérées comme des sources de composés bioactifs, donc c'est une option souhaitable pour leur intégration dans les aliments.

CHAPITRE II :

MATERIEL ET METHODES

Les expérimentations suivies dans cette étude à savoir « le screening phytochimique de la spiruline, l'expérimentation animale, la culture de cette algue et la conception d'un nutraceutique » ont été menées durant la période allant de juillet 2013 à Décembre 2016 aux :

- Laboratoire et l'animalerie du département de technologie alimentaire de l'école nationale supérieure agronomique, El-Harrach, Alger - Algérie
- Laboratoire du service d'anapathologie au Centre Hospitalo Universitaire Nafissa Hammoud (Ex-Parnet), Hussein-Dey, Alger – Algérie.
- Laboratoire de sols et génie agroalimentaire, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, université Laval Québec, Canada,
- Laboratoire d'analyse Société à Responsabilité Limitée (SARL) ISO9 international ISSER- DÉLIC, spécialisé dans la fabrication de génoise et biscuits sec, Boumerdes, Algérie.

II.1. SCREENING PHYTOCHIMIQUE DE LA SPIRULINE

II.1.1. Matériel végétal

L'étude a porté sur la poudre d'une micro-algue bleue verte appelée la spiruline (*Spirulina platensis* ou *S. platensis*) fournie du Kanem, nord de lac Tchad rendement année 2012-2013. Cette espèce appartient à la famille des Phormidiaceae et sous-genre *Spirulina*. L'échantillon de cette algue est pulvérisé avec un mélangeur Vorwerk Thermomix TM le 31, Wuppertal, Allemagne, jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Elle est ensuite conservée dans des boîtes fermées hermétiquement à l'abri de l'air et d'humidité à 4°C jusqu'à utilisation.

II.2.2. Méthodes analytiques

II.2.2.1. Préparation des extraits éthanolique et aqueux de la spiruline

- **Extrait éthanolique de *Spirulina platensis***

L'extrait éthanolique de la spiruline a été préparé comme suit (**Hossain et al., 1992**): 500g de poudre de *S.platensis* est met en suspension avec 1500 mL d'éthanol (95%) pendant une nuit, après filtration, le résidu obtenu est à nouveau remis en suspension dans le même volume d'éthanol à 95% pendant 48 h et on filtre une deuxième fois.

Après extraction, les filtrats sont mélangés et passés à l'évaporateur rotatif à 40-50°C sous pression réduite. Un matériau semi-solide brun foncé de 11,35% obtenu a été stocké dans des sacs en plastique hermétiquement fermés à 0- 4°C jusqu'à leur utilisation.

- **Extrait aqueux de *Spirulina platensis***

L'extrait aqueux est obtenu par macération de 20 g de poudre de spiruline dans 1L d'eau ultra pure (désionisée) (Chu et al., 2010). Après agitation du mélange en continu pendant 24 heures à température ambiante, ce dernier est centrifugé à 5000 tr/min pendant 10 min à 4°C. Le surnageant est filtré par un papier Whatman n °1 pour éliminer les débris cellulaires.

Le filtrat obtenu est congelé à - 30°C/48 h puis lyophilisé à une température de -50 à -60°C par un lyophilisateur de type SP Industries-Vir Tis Virtual (Wizard 2). L'échantillon est ensuite conservé dans des sacs en plastiques sous vide à 4°C jusqu'à utilisation.

II.2.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la spiruline

En plus du dosage des phénols totaux, de flavonoïdes, des phycobiliprotéines et des caroténoïdes de la spiruline pour évaluer l'activité antioxydante totale, des tests de piégeage des radicaux libres DPPH• (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) et l'ABTS•+ (acide 2,2'-azynobis- 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), et l'activité antioxydante ont été réalisés, en comparaison avec un antioxydant de synthèse le BHT (Buthyl hydroxytoluène).

- **Dosage des phénols totaux**

Principe

Les phénols totaux des extraits de spiruline ont été déterminés en utilisant le Folin-ciocalteu et l'acide gallique comme polyphénol standard de formule chimique : Acide 3, 4, 5 trihydroxybenzoïque (Singleton et al., 1999). Le réactif de Folin Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune réduit en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) lors de l'oxydation des phénols. La coloration produite dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits d'algue.

Mode opératoire

Un volume de 0,25mL d'extrait de spiruline dilué est dissout dans de l'éthanol à 95%, est mélangé avec 1,25 mL de Folin-ciocalteu. Après 3 min, 1mL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 75g/L est ajouté.

Après 30 min d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g extrait).

- **Dosage des flavonoïdes**

Principe

La méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été utilisée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits de spiruline. Le $AlCl_3$ forme un complexe avec les flavonoïdes de couleur jaune absorbent dans le visible à 420 nm. Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la quercétine (Lamaison et Carnet, 1990 ; Alyafi, 2007).

Mode opératoire

1mL d'extrait d'algue dilué est ajouté à 1 mL de la solution éthanolique de chlorure d'aluminium. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine exprimée en mg équivalent de quercétine par g d'extrait (mg EQ/g extrait).

Les expériences ont été répétées trois fois pour chaque concentration d'extrait de spiruline.

- **Dosage et purification de phycobiliprotéine de *S.platensis***

Principe

Le procédé d'évaluation quantitative et de purification de phycobiliprotéines [phycoérythrines (PE), C-Phycocyanines (C-PC) et Allophycocyanines (APC)] contenu dans *S.platensis* consiste à la précipitation fractionnée avec du sulfate d'ammonium (Anamika et al., 2005).

Mode opératoire

La **figure 7**, montre l'extraction des phycobiliprotéines et la purification des phycocyanines.

a) *Extraction et dosage de phycobiliprotéine*

La poudre de *S. platensis* (1g) est mise en suspension avec le tampon phosphate de sodium, puis perturbée par ultrason (sonication) suivie d'une série de congélations et décongélations répétées 6 fois à l'obscurité. Le mélange est ensuite centrifugé et le surnageant contenant la phycobiliprotéine a été recueilli.

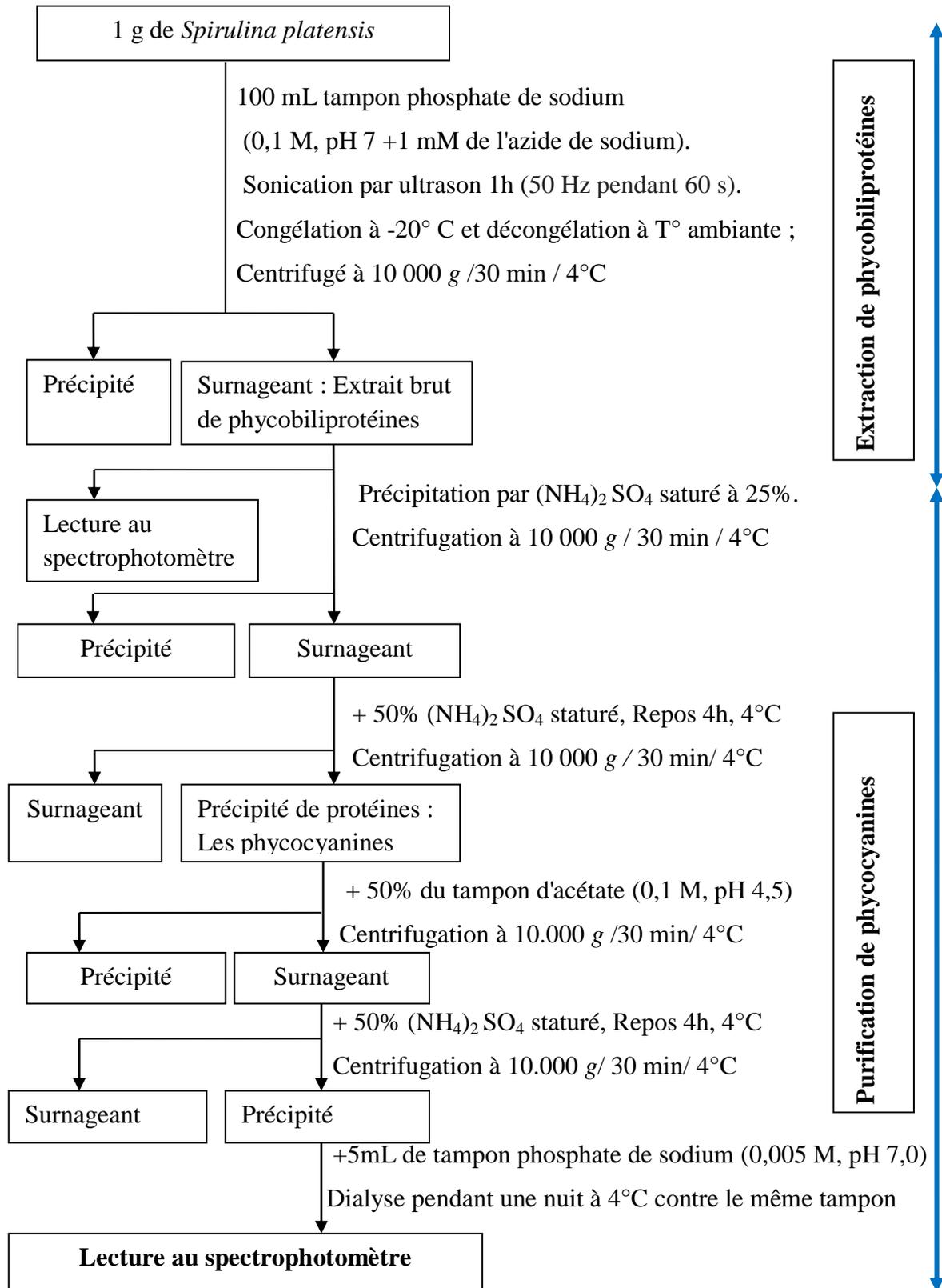


Figure 7: Protocole de fractionnement des phycobiliprotéines et la purification des phycocyanines de *Spirulina platensis* (Anamika et al., 2005).

Les absorbances de la phycobiliprotéine ont été mesurées avec un spectrophotomètre à UV-VIS HP 8453 (Agilent Technologies, Inc. Santa Clara, Ca) aux longueurs d'onde 620, 652, et 562 nm. Le calcul des concentrations de C-PC, APC, et PE respectivement est fait en utilisant les équations suivantes Eq.1, 2 et 3 respectivement, (Bennett et Bogorad, 1973).

$$\text{C-PC} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{[A_{620} - 0.474 (A_{652})]}{5.34} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\text{APC} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{[A_{652} - 0.208(A_{620})]}{5.09} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{PE} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{[A_{562} - 2.41 (\text{PC}) - 0.849 (\text{APC})]}{9.62} \quad (\text{Eq. 3})$$

Le rendement de l'extraction des C-PC est calculé par l'Eq.4 (Silveira et al., 2007) ;

$$\text{Rendement C - PC (\%)} = \frac{\text{PC} * \text{V}}{\text{BS}} \quad (\text{Eq. 4})$$

Tel que ;

PC : la concentration de phycocyanines (mg/mL),

V : le volume de solvant (mL),

BS : la biomasse sèche de spiruline (g).

a) Purification des phycocyanines

Toutes les étapes de purification ont été réalisées à l'obscurité à 10-15° C et tous les tampons utilisés contenaient 1 mM d'azide de sodium. L'extrait brut de phycocyanines (C-PC) est fractionné par précipitation avec du sulfate d'ammonium solide à 25% puis à 50% de saturation. Les protéines précipitées contenant principalement les C-PC ont été collectées par centrifugation, elles sont remises en suspension par la suite dans un tampon d'acétate et centrifugé à nouveau.

Le précipité a été éliminé et le surnageant a été portée deux fois à 50% de saturation avec le sulfate d'ammonium solide, suivie d'une centrifugation après 4 h de repos à 4°C. La C-PC précipité a été dissous dans 5 mL de tampon phosphate de sodium et on dialyse pendant une nuit à 4°C contre le même tampon. Le facteur de séparation et la pureté des fractions de C-PC a été suivie par l'enregistrement de spectre d'absorption à 620, 652 et 620, 280 nm respectivement sur un spectrophotomètre type CARY 500 Balayage UV-VIS, NIR. La pureté est évaluée par le facteur de séparation (A620/ A652) et le rapport de pureté (A620/A280) des fractions C-PC de spiruline (Boussiba, 1979).

Une solution méthanolique de la spiruline (5 mg/mL) est préparée par sonication avec le méthanol 70% pendant 15 min. Après la filtration, l'extrait est analysé en triple pour déterminer la présence de caroténoïdes totaux en enregistrant l'absorbance à 470 nm par un Spectrophotomètre UV / VIS, HP 8453 (Agilent Technologies, Inc. Santa Clara, CA).

Les concentrations de Chlorophylle (Ca), et de la Chlorophylle (Cb) ont également été déterminées dans le même extrait à 653 et 666 nm, respectivement. Le contenu des Chlorophylles (Ca) et des Chlorophylles (Cb) et caroténoïdes totaux a été calculé par les équations Eq 5,6 et 7, respectivement (**Lichtenthaler et Wellburn, 1985**).

$$Ca = 15,65 * A_{666} - 7,340 * A_{653} \quad (Eq. 5)$$

$$Cb = 27,05 * A_{653} - 11,21 * A_{666} \quad (Eq. 6)$$

$$\text{Total carotenoids} = 1000 * A_{470} - 2,860 * Ca - \frac{129,2 * Cb}{245} \quad (Eq. 7)$$

Les concentrations de Ca et Cb ont été utilisées pour calculer la teneur en caroténoïdes totaux.

- **Activité de piégeage de radical DPPH•**

Le test DPPH est l'un des premiers radicaux libres utilisé pour obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire des extraits (**Molyneux, 2004**). La réduction du radical DPPH par un antioxydant est suivie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration représente la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres.

Principe

La capacité de céder des hydrogènes par les extraits est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution alcoolique contenant le radical libre DPPH•.

Mode opératoire

Le test du radical DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Burits et Bucar, (2000)** ; **Hazzit et al. (2009)**, 25 µL des dilutions des extraits testés (aqueux et éthanolique) et du témoin positif BHT sont mélangés avec 975µL d'une solution méthanolique de DPPH (60 µM). Après 30 mn d'incubation à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm par le spectrophotomètre. L'activité antioxydante (**A%**) est calculée selon l'équation 1 (Eq.8):

$$A(\%) = \frac{1-A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} 100 \quad (\text{Eq.8})$$

A blanc : Représente l'absorbance du DPPH• au temps zéro avant l'addition de l'échantillon.

A échantillon : Absorbance de l'échantillon testé (échantillon + DPPH) après 30 min.

- **Activité de piégeage des radicaux ABTS•+**

L'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS. L'obtention du radical cation (ABTS•+) résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse) ou persulfate de potassium. Le radical ABTS•+, en contact avec un donneur d'hydrogène conduit à l'ABTS+ et à la décoloration à 734 nm de la solution (Miller *et al.*, 1996 ; Re *et al.*, 1999).

Principe

Le test ABTS est basé sur l'évaluation du degré de réduction du radical cation d'ABTS obtenu par oxydation avec du persulfate de potassium pendant 12 à 16 h à 4°C et l'abri de la lumière (Scalzo *et al.*, 2005)

Mode opératoire

L'inhibition du radical ABTS•+ est effectuée selon la méthode décrite par Re *et al.* (1999). Le radical cation ABTS•+ a été préparé en mélangeant une solution 7 mM d'ABTS avec 2,45 mM de persulfate de potassium (1/1, v/v). Le mélange est laissé 12 h à température ambiante à l'abri de la lumière jusqu'à l'obtention d'une absorbance stable.

La solution est ensuite diluée en mélangeant 1 mL d'ABTS avec 60 mL de l'éthanol de manière à obtenir une absorbance au spectrophotomètre de 0,7±0,05 unités à 734 nm. Le dosage photométrique est effectué sur un mélange de 0,9 mL ABTS et 0,1 mL de l'échantillon. Après 45 secondes, des mesures ont été prises à 734 nm après 1 min et l'activité d'inhibition du radical ABTS des échantillons testés est calculée par l'équation 2 (Eq.9) :

$$A(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} 100 \quad (\text{Eq.9})$$

Tel que :

A₀: Absorbance de l'ABTS.

A₁ : Absorbance de l'ABTS + échantillon de l'extrait à tester.

- **Concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50)**

L'IC50 est la quantité ou la concentration d'antioxydants (extraits de spiruline) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. IC50 est obtenue par l'équation de la courbe de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'antioxydant.

- **Détermination de l'activité antioxydante de *S.platensis***

L'extrait de spiruline (5 mg/mL) est préparé par agitation de la poudre avec une solution de Tween 40 (0,4%, p/v) suivie d'une centrifugation à 600 g/10 min.

Le butyl hydroxytoluène (5 mg/mL) est agité avec une solution de Tween 40 d'une concentration de 0,4% et 0,5 mg β -carotène dans 1 mL de chloroforme. 25 μ L d'acide linoléique et 0,8 mL de Tween 20 ont été ajoutés au mélange préparé ci-dessus. L'extrait de chloroforme a été évaporé sous vide par évaporateur rotatif à 65°C, 100 mL d'eau distillée ont été ajoutés au résidu (Dapkevicius et al., 1998).

Des aliquotes (2500 μ L) d'émulsion de la β -carotène/acide linoléique ont été transférées dans des tubes contenant l'extrait de spiruline ou le standard BHT (500 μ L). Les tubes à essai ont été incubés pendant 2 h à 50°C avec l'échantillon témoin. L'absorbance a été mesurée au début (t = 0 min) et après l'expérience (t = 120 min) à 470 nm. L'activité antioxydante (AA) a été calculée en pourcentage d'inhibition de l'oxydation des 3 essais en utilisant l'équation suivante (Eq 10):

$$AA(\%) = \frac{1 - A. 120 \text{ min}}{A. \text{contrôle} - A. \text{contrôle 120 min}} * 100 \quad (\text{Eq. 10})$$

II.2.2.3. Caractérisation physico-chimique de la poudre de la spiruline

- **La teneur en eau et la matière sèche**

La teneur en eau ou l'humidité (H%) et le taux de matière sèche (MS %) ont été déterminés par gravimétrie. Le séchage de 2 g de spiruline a été effectué dans une étuve ventilée de marque Titanox art A3-214-535 à 110 °C/ 3 h jusqu'à obtention d'un poids constant selon les équations 11 et 12 (Eq 11 et Eq 12) respectivement:

$$H(\%) = \frac{M1 - M2}{P} 100 \quad (\text{Eq. 11})$$

$$MS (\%) = 100 - H (\%) \quad (\text{Eq. 12})$$

Tel que :

M_1 : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage (g).

M_2 : Masse de l'ensemble après séchage à 105°C (g).

P : Masse de la prise d'essai (g).

- **Teneur en cendres, en fibre et le pH**

La calcination de 1g de *S.platensis* dans un four à moufle type VULCANTM 3-550 PD NEY réglé à 550°C/ 5 h jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre de poids constant. La matière organique (MO) et la teneur en cendres (Cd) sont obtenues en appliquant les équations suivantes (Eq 13 et 14) respectivement:

$$MO(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} 100 \quad (Eq. 13)$$

$$Cd (\%) = 100 - MO (\%) \quad (Eq. 14)$$

Tel que :

M_1 : masse de la capsule + prise d'essai (g).

M_2 : masse de la capsule + cendres (g).

P : masse de la prise d'essai (g).

La teneur en fibres alimentaires a été déterminée par la méthode décrite par **Van Soest (1963)**.

La mesure du pH est faite en utilisant un pH mètre de type accumet AP85 d'une suspension de 4%, (Poids/volume) de poudre de *Spirulina platensis*.

- **Teneur en protéines totales**

La teneur en protéine totale a été déterminée par la méthode de Kjeldahl (**Susan, 1998; ISO 8968-1, 2001 ; Brussels et Belgium, 2006**) qui consiste à doser l'azote total (N%) en utilisant l'équation (Eq.15). La teneur en protéines totales (PT%) est obtenu en multipliant la teneur en azote trouvée par le facteur de conversion 6,25 selon l'Eq.16. Les résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche.

$$N \% = \frac{14 (V_s - V_b) \times N}{m} \cdot 100 \quad (Eq. 15)$$

$$PT(\%) = N(\%) \cdot 6,25 \quad (Eq. 16)$$

Tel que ;

14 : 14 g d'azote/mole de HCl (g/mol).

Vs : Volume en mL de la quantité de HCl nécessaire au titrage de la solution (mL).

Vb : Volume en mL de la quantité de HCl nécessaire au titrage du blanc (mL).

N : Normalité de la solution de HCl (mole/1000 mL).

M : Masse en grammes de la prise d'essai.

- **Teneur en lipides totaux**

Principe

Les lipides totaux de la spiruline ont été extraits en utilisant un mélange de solvants chloroforme: méthanol (2:1, v / v) par la méthode modifiée de **Xu et al. (1998)**. Après avoir réchauffé l'échantillon dans un appareil Soxhlet, le solvant a ensuite été évaporé sous pression par un évaporateur rotatif.

Mode opératoire

2 g de spiruline en poudre sont pesés dans une cartouche d'extraction et soumis à une extraction au Soxhlet pendant 4 h avec 100 mL du mélange de solvants. Par la suite, le solvant est éliminé par un évaporateur rotatif sous vide type Laborota 4010 numérique, Heidolph, Schwabach, Allemagne, les extraits de lipides ont été séchés à 105 °C/ 2 h par l'étuve type Venticell 111 Komfort, BMT, Brno, République tchèque.

- **Teneur en sucres totaux**

La teneur totale en glucides a été déterminée selon la méthodologie décrite par **Dubois et al. (1956)** en utilisant le glucose comme norme pour tracer la courbe d'étalonnage.

Le dosage de sucres totaux est basé sur une réaction colorimétrique avec l'hydrolyse acide d'une solution d'acide sulfurique et du phénol. Le virage de la couleur en jaune-orange est mesuré par spectrophotomètre à $\lambda=450$ à 550 nm (**Annexe 1**).

- **L'apport énergétique**

L'apport calorique total de *S.platensis* a été déterminées en multipliant les valeurs totales de lipides, de protéines et de glucides de 9, 4 et 4 Kcal, puis en additionnant les résultats obtenus. 1Kcal = 4,184 KJ.

- **Teneur en métaux lourds de *S.platensis***

Principe

Un dosage qualitatif et quantitatif des traces de métaux lourds dans la poudre de spiruline par la technique de spectrométrie atomique par un spectromètre d'émission optique : Inductively Coupled Plasma -Optical Emission Spectromètre (ICP-OES) (**Annexe 2**).

Après l'étalonnage de l'appareil, chaque échantillon est transporté dans l'instrument comme un flux liquide qui se transforme en un aérosol par les nébuliseurs. L'aérosol de l'échantillon est ensuite transporté vers le plasma où il est désolvaté, vaporisé, atomisé, et excité et /ou ionisé par le plasma. Les atomes et les ions excités émettent leur rayonnement caractéristique qui sont collectés et converties par la suite en concentration à différentes longueurs d'ondes selon le métal lourd qu'on veut analyser.

Mode opératoire

Dans l'induction couples plasma-spectrométrie d'émission optique (ICP-OES), 0,5 mL de l'échantillon (spiruline ou sérum) est ajouté à 5 mL d'acide nitrique, le mélange est chauffé au microonde ensuite dilué jusqu'à 25 mL avec l'eau distillée. Après le passage des étalons à différentes concentration, on fait passer nos échantillons.

II.2. EXPÉRIMENTATION ANIMALE

II.2.1. Animaux

L'étude a eu lieu sur 152 rats mâles adultes *Rattus norvegicus*, souche Wistar âgés entre 10-13 semaines et de poids de 180 et 200 g, fournis de l'Institut Pasteur d'Alger-Algérie. Les animaux ont été adaptés aux conditions de l'animalerie de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach-Alger-Algérie. Hébergés dans des cages de polypropylène avec un couvercle en inox et fond tapissé de litière renouvelé une fois par semaine. Les animaux sont en sédentarité tout au long de l'expérimentation (**Annexe 3**).

Les rats ont été maintenus avec un régime alimentaire standard de pellets fourni de l'ONAB (Office Nationale de l'Aliment de Bétail, Alger, Algérie) et de l'eau courante du robinet donner *ad-libitum* à une température ambiante moyenne de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, humidité relative moyenne de 60-70% et un éclairage 12h (jour / nuit) (**Figure 8**).

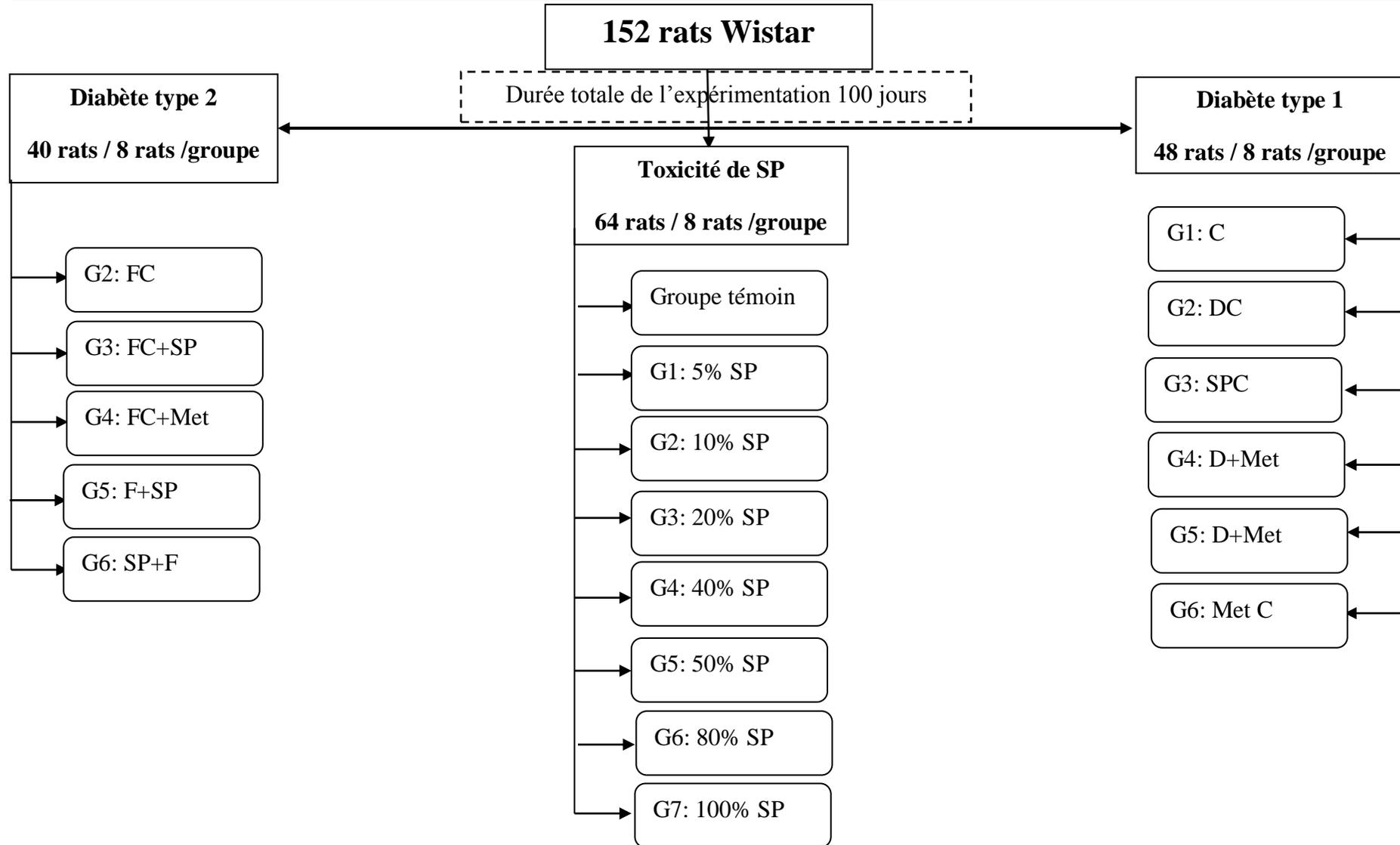


Figure 8: Expérimentation animale.

II.2.2. Méthodes

Les animaux ont été divisés en 11 groupes de 8 rats/Groupe sur 70 j après 10 j d'adaptation.

1^{ère} expérimentation animale : Diabète type 1 (**Figure 9, Tableau 3**).

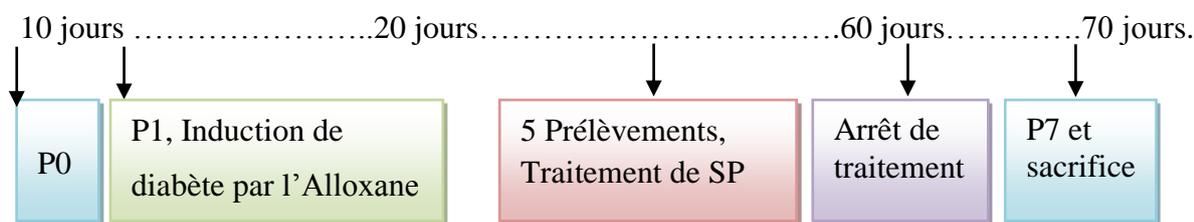
2^{ème} expérimentation animale : Diabète type 2 (**Figure 10, Tableau 4**).

3^{ème} expérimentation animale : toxicité de *Spirulina platensis* (**Tableau 6**).

Les rats ont été divisés en 7 groupes en plus du groupe témoin, 8 rats/Groupe sur 30 j après 10 j d'adaptation dans la 3^{ème} expérimentation animale.

II.2.2.1. Protocole expérimental : Diabète type 1

Le diabète type 1 est induit par injection unique d'alloxane monohydraté par voie intrapéritonéale (IP), obtenu de Sigma -Aldrich, (Etats-Unis), fraîchement préparé à une dose de 150 mg / kg de poids corporel à des rats à jeun (**Figure 9, Tableau 3**).



P : prélèvement. SP : *Spirulina platensis*

Figure 9: Protocole expérimentale du diabète de type 1

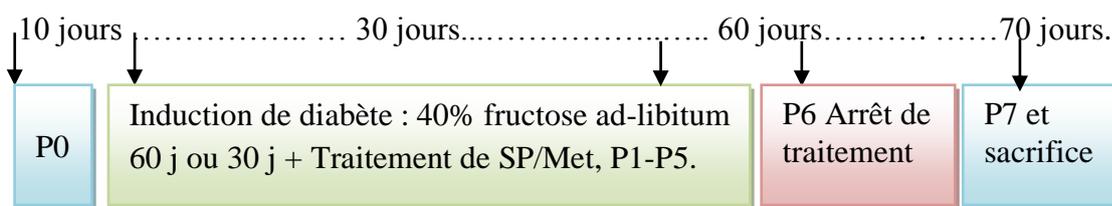
Tableau 3: Protocole pharmacologique du diabète de type 1

Groupes	Traitement	
G1: C	Contrôles; les rats reçoivent par voie orale l'eau de robinet <i>ad-libitum</i> . C'est le même groupe de rats que celui du diabète type 2.	Témoin
G2: DC	Contrôles diabète ; les rats reçoivent par voie intrapéritonéale (IP) l'alloxane (150 mg/kg de P.C).	Traitement curatif
G3: SPC	Contrôle <i>Spirulina platensis</i> ; les rats reçoivent par gavage 1mL/jour de <i>S.platensis</i> (10%, p/v).	
G4: D+Met	Rats rendus diabétiques par l'alloxane et traité par la metformine (500 mg/kg de P.C, 1mL /jour).	
G5: D+SP	Rats rendus diabétiques par l'alloxane et traité par 10%, p/v de spiruline (1mL/jour).	
G6 : Met C	Contrôles metformine; les rats reçoivent par gavage 1mL/jour de metformine (500 mg/Kg de P.C).	

II.2.2.2. Protocole expérimental : Diabète type 2

Le diabète sucré est un désordre métabolique caractérisé par une hyperglycémie. L'administration en excès du fructose (40% dissous dans l'eau distillée) aux animaux expérimentales pendant un et deux mois successivement induit une hyperglycémie et un déséquilibre de la majorité des paramètres biochimiques sériques (Jarouliya et al., 2012).

Le fructose a été obtenu d'une pharmacie importée et distribuée URL FETH EL KADIER importation investissement ORAN, ALGÉRIE. Les animaux avec un taux de sucre sanguin à jeun $\geq 1,5$ g/L ont été considérées comme diabétiques de type 2 (Figure 10, Tableau 4).



P : prélèvement. SP : *Spirulina platensis*. Met : La metformine.

Figure 10: Protocole expérimentale du diabète de type 2

Tableau 4: Protocole pharmacologique du diabète de type 2

Groupes	Traitement	
G2: FC	Fructose continue; les rats reçoivent par voie orale le fructose <i>ad-libitum</i> (40%, p/v) pendant 2 mois.	Témoin
G3: FC+SP	Une hyperglycémie a été provoquée par 40% de fructose pendant 2 mois successivement et traité par 10%, p/v de SP 1mL/jour/ 1 mois.	Traitement curatif
G4: FC+Met	une hyperglycémie a été provoquée par 40%, p/v de fructose, 2 mois et traité par 500 mg/kg de P.C 1mL/j/1 mois de metformine.	
G5: F+SP	une hyperglycémie a été provoquée par le fructose (40%) pendant le 1 ^{er} mois et traité par 10% de SP (1mL/jour) le 2 ^{ème} mois.	
G6: SP+F	La spiruline par gavage a été administré (10%, p/v, 1mL/jour) pendant le 1 ^{er} mois suivie par le fructose (40%, p/v) <i>ad-libitum</i> pendant le 2 ^{ième} mois.	T. préventif

T : Traitement ; Sp : *Spirulina platensis* ; FC : Fructose en continue ; Met : Metformine. G1 : C.

Les deux types de diabète ont été traités par la poudre de spiruline et la metformine. *Spirulina platensis* (SP) est obtenue de TRACTEBEL -Consult l'Office en association avec le Centre de l'Université de la biotechnologie des algues, Tchad.

Elle est composée principalement 63% de protéines, 19% d'hydrates de carbone, 4% de lipides, 3% de fibres et 3% de cendres. L'homogénat de SP est administré oralement (1mL/jour) aux animaux diabétiques à l'aide d'une sonde de gavage. La metformine (Met) obtenu de S Vidal Biotic, Alger, Algérie est administré en suspension par gavage aux animaux diabétiques à une concentration de 500 mg/kg P.C, 1 mL/jour/rat.

- Collecte de sang

Le sang a été prélevé dans trois tubes différents (sec, héparine et d'EDTA) à partir du sinus rétro-orbital des yeux du rat des animaux à jeûne 12 à 14 heures une fois avant et à 10 jours d'intervalle au cours de 70 jours d'étude (**Annexe 4**). Le sang est ensuite centrifugé à 3500 tours/min pendant 15 min à 4°C (**Bitam et al., 2004**).

Les érythrocytes sont lavés avec du NaCl et centrifugés pendant à 3000 tours/min après chaque lavage (dosage de la SOD). Les analyses biochimiques ont été réalisées par des kits de diagnostic Spinreact (SAU Ctra, Santa Coloma 7 E 17176 Sant Esteve de BAS (GI), Espagne) par un automate de biochimie " Random Access Clinique Analyzer PICTUS 200 DIATRON " basé sur la méthode colorimétrique à l'établissement publique hospitalier de Meftah-Blida (**Annexe 5**).

II.2.2.3. Paramètres pondéraux

L'évolution de poids corporel moyen des rats est estimée à un intervalle de 10 jours durant toute l'expérimentation (70 jours). L'Indice Organo-somatique (IOS) c'est le rapport entre le poids des organes (foie et rein gauche) et celui du corps à la fin de l'expérimentation calculé par l'équation 17 (Eq.17). Une hypertrophie de l'organe est noté si l'IOS de l'organe est élevé par rapport à celui du groupe contrôle. Le gain de poids est défini comme étant la différence entre le poids final et le poids initial des animaux (g) calculé par l'équation 18 (Eq.18) (**Lopez-varela et al., 1995**).

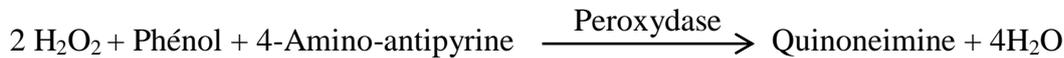
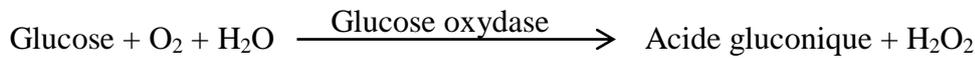
$$\text{IOS} = \frac{\text{Poids d'organe}}{\text{Poids corporel total}} * 100 \quad (\text{Eq. 17})$$

$$\text{Gains de poids} = \text{Poids Corporel final} - \text{Poids Corporel initial} \quad (\text{Eq. 18})$$

II.2.2.4. Paramètres biochimiques

- La glycémie

Le taux de glucose sérique est estimé par un dosage enzymatique et colorimétrique en présence du glucose oxydase formant alors du H₂O₂ (Kaplan *et al.*, 1984 ; Trinder, 1969) selon les réactions suivantes :



- L'insuline

Afin d'analyser si la spiruline pourrait stimuler la libération de l'insuline, les niveaux sériques d'insuline ont été mesurés après le traitement au 70^{ème} jour. Les niveaux d'insuline sériques ont été estimés dans chaque échantillon de sang en utilisant la technique immuno-enzymatique (EIA) par le kit immuno-absorbant (Boehringer Mannheim diagnostic, Mannheim, Allemagne).

Parce que des anomalies dans l'action de l'insuline sont mal détectées par une unique détermination des niveaux de glucose ou d'insuline (Laakso, 1993; ADACDCIR, 1998), la résistance à l'insuline a été évaluée par l'estimation du modèle d'homéostasie de résistance à l'insuline (HOMA1-IR) (Matthews *et al.*, 1985 ; Haffner *et al.*, 2002) comme suit (Eq. 19):

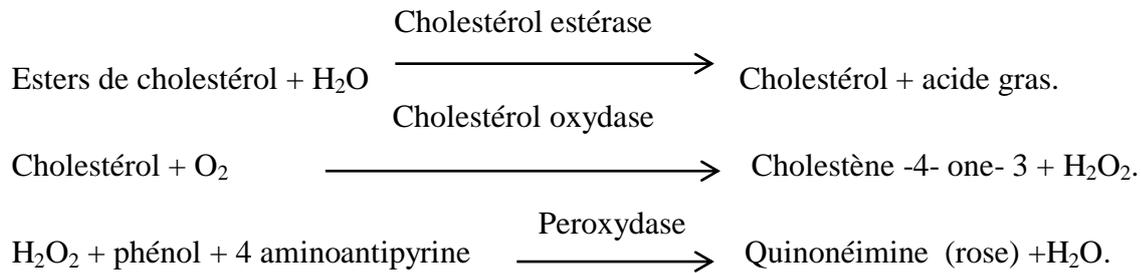
$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{\text{Taux d'insuline à jeun} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{mL}}\right) * \text{Taux de glucose à jeun} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}}\right)}{22,5} \quad (\text{Eq. 19})$$

- L'hémoglobine glyquée (ou HbA1c)

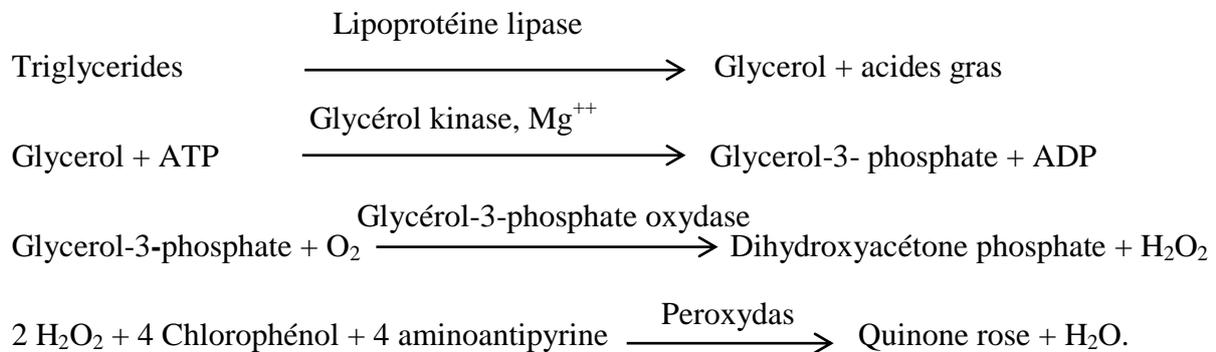
La mesure d'HbA1c est l'indicateur clé de l'équilibre du diabète et l'efficacité d'un traitement. Il est le reflet de la glycémie sur les 3 derniers mois, ce qui correspond à la durée de vie moyenne d'un globule rouge. Le terme "glyquée" vient de "glucose", le sucre qui est capté par l'hémoglobine. Le principe de dosage d'HbA1c est fondé sur l'interaction d'un antigène et d'un anticorps et vise à déterminer directement l'HbA1c dans le sang total. L'hémoglobine totale et l'HbA1c se fixent aux particules de latex. Le complexe anticorps et anti-HbA1c formé donne un produit agglutiné. L'intensité de l'agglutination est mesurée par absorbance en spectrophotomètre de type Biosystems BTS-310 à $\lambda=660$ nm et l'HbA1c est obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage.

- **Le bilan lipidique**

Le cholestérol total est estimé par hydrolyse enzymatique colorimétrique (**Meiattini et al., 1978 ; Naito et al., 1984**).



Les triglycérides sont réalisés par hydrolyse enzymatique colorimétrique par lipoprotéine lipase et glycérol kinase. Le glycérol phosphate déshydrogénase et le peroxydase servent à quantifier le glycérol libéré après action de la lipase selon les réactions suivantes (**Buccolo et al., 1973 ; Fossati et Prencipe, 1982 ; Kaplan et al., 1984**).



Les lipoprotéines plasmatiques HDL-c, VLDL-c et LDL- c précipitent par addition d'acide phosphotungstique et de chlorure de magnésium. Le surnageant obtenu après centrifugation contient le HDL-c est dosé par le réactif liquicolor (**Grove, 1979 ; Bitam et al., 2004**). La concentration de LDL-c à condition que les TG soient inférieurs à 3,5 g/L (4 mmol/L) et de VLDL-c est estimé selon la formule de **Friedwald et al. (1972)** par les équations suivantes (Eq.20), (Eq.21) :

$$\text{LDL} - c = \text{Cholesterol Total} - \text{HDL} - C - \frac{\text{Triglycerides}}{5} \quad (\text{Eq. 20})$$

$$\text{VLDL} - c = \text{Cholesterol total} - (\text{HDL} - C + \text{LDL} - C) \quad (\text{Eq. 21})$$

- **Risque cardiovasculaire**

Le risque cardiovasculaire a été évalué par la mesure du rapport HTR et des indices CAI, AI et CI estimés par les équations suivantes de l'Eq 22 à l'Eq 25 (**Tableau 5**).

Tableau 5: Evaluation du risque cardiovasculaire

Paramètres	Auteurs	Equations	
Le ratio HTR	Yang et al. (2002)	$HTR = \frac{HDL - c}{\text{Cholestérol total}}$	Eq.22
Indice d'artère coronaire (CAI)	Kayamori et Igarashi, (1994)	$CAI = \frac{LDL - c}{HDL - c}$	Eq.23
Indice d'athérogénicité (AI)	Ikewuchi et Ikewuchi, (2009b)	$AI = \frac{\text{Cholestérol total} - HDL - c}{HDL - c}$	Eq.24
Indice cardiaque (CI) ou Ratio du risque cardiaque (CRR)	Ikewuchi et Ikewuchi, (2009a)	$CI = \frac{\text{Cholestérol total}}{HDL - c}$	Eq.25

- Bilan hépatique

Le glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) et le glutamate pyruvate transaminase (GPT) sériques ont été estimés par voie enzymatique en utilisant le glutamate oxaloacetate transaminase et glutamate pyruvate transaminase. La phosphatase alcaline (PAL) a été estimés par la méthode de phosphate de p-nitrophényl (Murray et al., 1984 a,b ; Klin, 1972; Saligman et al., 1950 ; Wenger et al., 1984) respectivement selon les réactions suivantes :

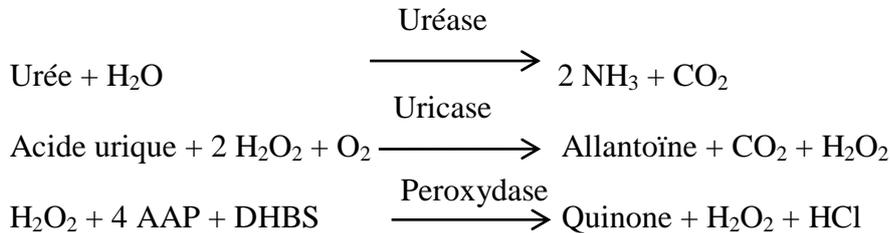


Le pyruvate et l'oxaloacétate formés réagissent avec 2,4 DNPH pour former leur dérivé 2,4 dinitrophénylhydrazone, qui donne en milieu alcalin une coloration lisible à 505 nm et proportionnelle à l'activité TGO et TGP dans le milieu réactionnel.

En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate en p- nitrophénol et phosphate. La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, suivie par la variation de l'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité PAL dans l'échantillon.

- Bilan rénal

L'urée est estimée par la réaction enzymatique avec l'uréase et le glutamate déshydrogénase. La créatinine sérique a été mesurée par la méthode de picrate de sodium et l'acide urique a été estimé par la réaction enzymatique colorimétrique par l'uricase-POD décrites par (Kaplan *et al.*, 1984; Murray *et al.*, 1984 ; Fossati *et al.*; 1980 ; Schultz *et al.*, 1984) respectivement.



- Protéines totales et électrolytes (les ions)

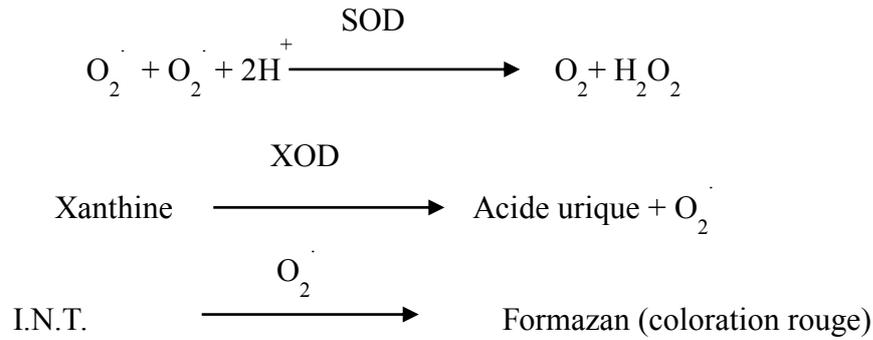
Les protéines totales sériques ont été estimées par une réaction colorimétrique en présence de sel de cuivre (Koller *et al.*, 1984 ; Burtis *et al.*, 1999).

Les ions Sodium (Na), Potassium (K) et le Chlore (Cl) plasmatiques ont été estimés par ionogramme type « Alfa Wassermann Starlyte III analyseur d'électrolytes, Diamond Diagnostics - USA » en utilisant les kits de SPINREACT (Annexe 6).

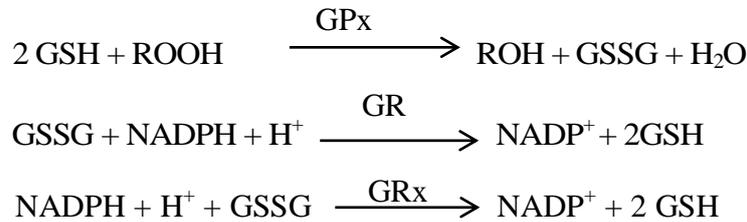
- Le stress oxydatif

À la lumière de certaines complications évidentes du diabète sucré causées ou aggravées par un stress oxydatif, l'effet de *Spirulina platensis* a été étudié chez les rats diabétiques et hyperglycémiques (diabète de type 1 et 2). Les activités antioxydantes des enzymes [superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase (GPx), et de la glutathion réductase (GRX)] et le statut antioxydant total (TAS) ont été déterminés par des kits Randox (Randox Laboratories-nous Ltd, Kearneysville, Virginie-Occidentale, Etats-Unis) par spectrophotométrie UV/visibles (McCords et Fridovich, 1969, Paglia et Valentine, 1967 ; Goldberg et Spooner, 1983).

Le dosage de la SOD utilise la xanthine et la xanthine oxydase (XOD) pour générer les radicaux superoxydes qui réagissent avec 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) pour former le formazan de couleur rouge. L'activité de la SOD est mesurée par le degré de l'inhibition de la réaction comme suit :

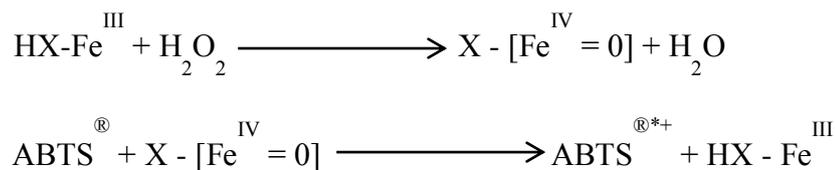


La GPx catalyse l'oxydation du glutathion (GSH) par Cumene hydroperoxyde. En présence du glutathion reductase et NADPH, glutathion oxydé (GSSG) est convertie immédiatement en glutathion réduit et NADPH est oxydé en NADP⁺. Le GRx catalyse la réduction du glutathion (GSSG) en glutathion réduit (GSH) en présence de NADPH, qui s'oxyde en NADP⁺, selon la réaction suivante:



Le status antioxydant total (TAS) dans le sérum a été mesuré par quantification totale d'antioxydants en utilisant la formation de radicaux ABTS⁺. L'analyse est basé sur une méthode colorimétrique enzymatique (**Miller et al., 1993**).

L'ABTS® (2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]) est incubé avec la peroxydase (metmyoglobine) et l'H₂O₂ pour produire le cation radical ABTS^{®*±}. L'apparition d'une couleur stable bleu verte est mesurée au spectrophotomètre à 600 nm. Les antioxydants contenus dans l'échantillon provoquent la suppression de la couleur à un degré proportionnel à leurs concentrations selon les équations suivantes :



Avec ;

HX-Fe^{III} : Metmyoglobine.

X - [Fe^{IV} = O]: Ferrylmyoglobine.

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit de peroxydation lipidique dosé par la méthode TBARS au niveau du plasma. D'autres entités radicalaires peuvent aussi se former au cours de la peroxydation lipidique. Ces entités sont connues sous le nom TBARS (**Quintanilha et al., 1982**). La mesure de peroxydation des lipides se fait par spectrophotométrie.

Les échantillons sont incubés en présence d'un mélange de TBA à 0,37 %, TCA à 15 % et HCl à 0,25 N à 80°C pendant 30 mn. Après refroidissement et centrifugation, la quantification du complexe est effectuée par spectrophotométrie à 540 nm. La concentration de MDA est déduite à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec 1,1 ; 3,3 tétraétoxypropane (0 à 10 µM) qui donne le MDA après son hydrolyse en solution. Les résultats du dosage sont exprimés en nmol/gramme de protéines.

II.2.2.5. Sacrifice et prélèvement d'organes

A la fin de l'expérimentation les animaux sont sacrifiés (**Annexe 4**). Le foie et les reins sont prélevés et pesés. Une partie du foie, du pancréas et des reins est fixée dans deux bains à savoir le boins aqueux et le formaldéhyde à 10% puis conservée dans un bain d'attente d'éthanol, après 24 h pour l'étude histologique (**Harkness et Wagner, 1983**) (**Annexe 7**).

II.2.2.6. Histologie

Les coupes histologique des organes ont été réalisées au niveau de l'Hôpital de Parnet, laboratoire d'anpathologie d'Alger en utilisant la technique de **Martoja et Martoja, (1976)**, à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) et au Trichrom de masson (T.M) comme suit :

- Fixation des organes dans le formol à 10% pour les protéger de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires, la mise des organes dans des cassettes référenciées et les rincer à l'eau courante.
- Déshydratation des organes dans un automate contenant des bains d'alcool éthylique pendant 30 min/ bain et éclaircissage par 4 bains de xylène pendant 15 minutes chacun.
- Imprégnation des organes dans deux bains de paraffine liquide fondue à 60°C, 1h chacun (le 1^{er} bain contient 50% de paraffine et 50% de toluène, le 2^{ème} contient de la paraffine pure).
- Inclusion des organes et la mise en bloc : l'inclusion est réalisée en écoulant la paraffine dans des moules métalliques suivie par l'inclusion, l'orientation des organes dans le moule et le refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque réfrigérée pendant environ 15 min.

- Confection des coupes : les blocs de paraffine ont été coupés sous forme de ruban à l'aide d'un microtome type 820 Rotary Microtome.
- Etalement des rubans de coupes sur des lames gélatinées pour la fixation suivie par un séchage des lames dans l'étuve pendant une nuit.
- Déparaffinage par hydratation : le déparaffinage des lames est réalisé dans une batterie à 2 bains de xylène pendant 15 min chacun, alors que l'hydratation est faite dans 3 bains d'éthanol 2 min chacun et finalement un bain d'eau distillée 1 min.
- Coloration : Elle permet de mettre en évidence les structures tissulaires et cellulaires. Les coupes sont colorées par le Trichrome de Masson et l'hématoxyline & à léosine.

- **Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E)**

La coloration d'HE a été réalisée dans un bain d'hématoxyline de Groat pendant 3 min puis rincer à l'eau courante (5 min) suivie d'un bain de l'éosine (30 secondes) et finalement rincer rapidement à l'eau courante.

- **Coloration de Trichrome de masson (T.M)**

La coloration T.M a été réalisée dans un bain d'hématoxyline de Groat pendant 3 min puis rinçage à l'eau courante suivie d'un bain de fushine ponceau et à la fin on procède à un rinçage à l'eau courante. Les lames sont ensuite émergées dans un bain de solution phosphomolybdique - phosphotigstique suivie d'un bain de vert de lumière.

Après chaque coloration les lames sont déshydratées dans 3 bains d'éthanol ensuite dans un bain de xylène pour l'éclaircissement et finalement séchage des lames à l'étuve.

-Montage: une lamelle a été fixée à l'aide d'un l'Eukitt sur la lame portant la coupe histologique de l'organe. Les lames sont ensuite nettoyées par le xylène et séchées.

- L'observation des coupes au microscope optique Leica aux grossissements (Gr×10, Gr×40 et Gr×100) et la prise de photos par un photo-microscope.

II.2.2.7. Profil toxique de la spiruline

L'étude de toxicité aiguë ou de profil de sécurité de *spirulina platensis* a été réalisée pour diverses concentrations de *S.platensis* (Smith, 1960), sur 7 groupes (8 rats/groupe). La durée de l'expérimentation est allongée à 1 mois.

Différentes concentrations de spiruline ont été administrées par voie orale par gavage aux rats sains sauf, pour le groupe témoin qui reçoit uniquement de l'eau distillée. La solution

aqueuse de SP a été préparée en dissolvant la poudre de l'algue dans de l'eau distillée et la concentration a été ajustée de manière à ce qu'elle ne dépasse pas 1 mL/100 g/ rat. (**Tableau 6**). Le comportement des animaux, la toxicité et la mortalité ont été suivies quotidiennement, en plus de la pesée des rats chaque 10 jours pendant une durée de un mois.

Tableau 6: Estimation de profil sécuritaire de la spiruline sur des rats Wistar

Groupes	Quantité de spiruline (p/v)	
Groupe témoin	Eau distillée	
G1	5%	<i>S.platensis</i>
G2	10%	
G3	20%	
G4	40%	
G5	50%	
G6	80%	
G7	100% (50% deux fois)	
		1 mL/ jour
		2mL/jour

II.3. CULTURE DE LA SPIRULINE

II.3.1. Matériel végétal

La souche de spiruline (*Spirulina platensis*) en culture nous est fournie de l'école nationale supérieure agronomique (ENSA) El Harrach, Alger, laboratoire de technologie alimentaire. L'optimisation de la culture de spiruline est faite dans des photo-bioréacteurs en verre et en PVC au laboratoire de technologie alimentaire de l'ENSA et le laboratoire de sols et génie agroalimentaire, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, université Laval Québec, Canada.

II.3.2. Méthodes

II.3.2.1. Optimisation de la culture de spiruline

Les conditions de croissance de *Spirulina platensis* affectent les processus métaboliques et la composition biochimique des cellules. L'optimisation de la culture de spiruline consiste à l'augmentation de la quantité d'inoculum et de milieu de culture. La culture de cette algue est transférée dans une bouteille verre stérile de 1L contenant 100 mL de milieu de culture Zarrouk et maintenue à $25 \text{ à } 30^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ et pH basique initiale $8,35 \pm 0,21$ et $10 \pm 0,32$ par la suite, sous éclairage continue par des tubes fluorescents (18 Klux ;

24h/24h, cycle ombre-lumière) et un taux de salinité inférieur à 30 g/L (17 ± 3 g/l) mesuré par un conductimètre électrique type WTW,197I, Allemagne.

Les cultures ont été mélangées et barboter en continu à l'air comprimé passant par une colonne d'humidification remplie d'eau ou sous agitation continue (150 tr/min) pendant 2 ans (2014-2015-2016) (Madkour *et al.*, 2012). (Figure 11 et 12).

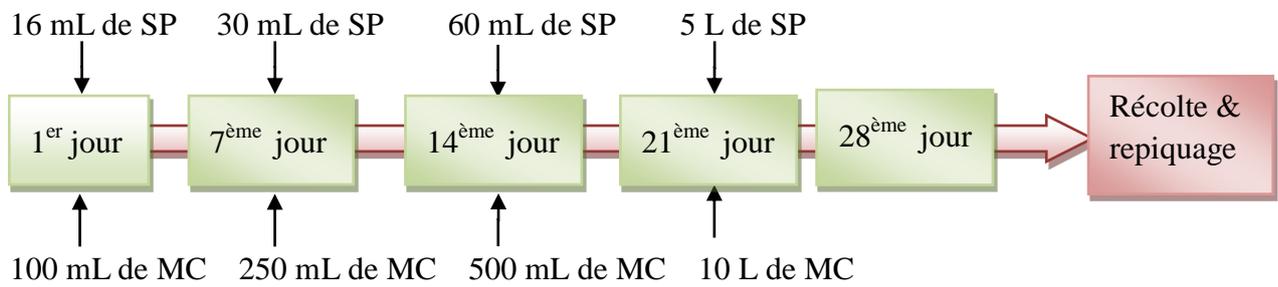


Figure 11: Culture de la spiruline en fonction du temps.

SP : *Spirulina platensis* ; MC : Milieu de culture.

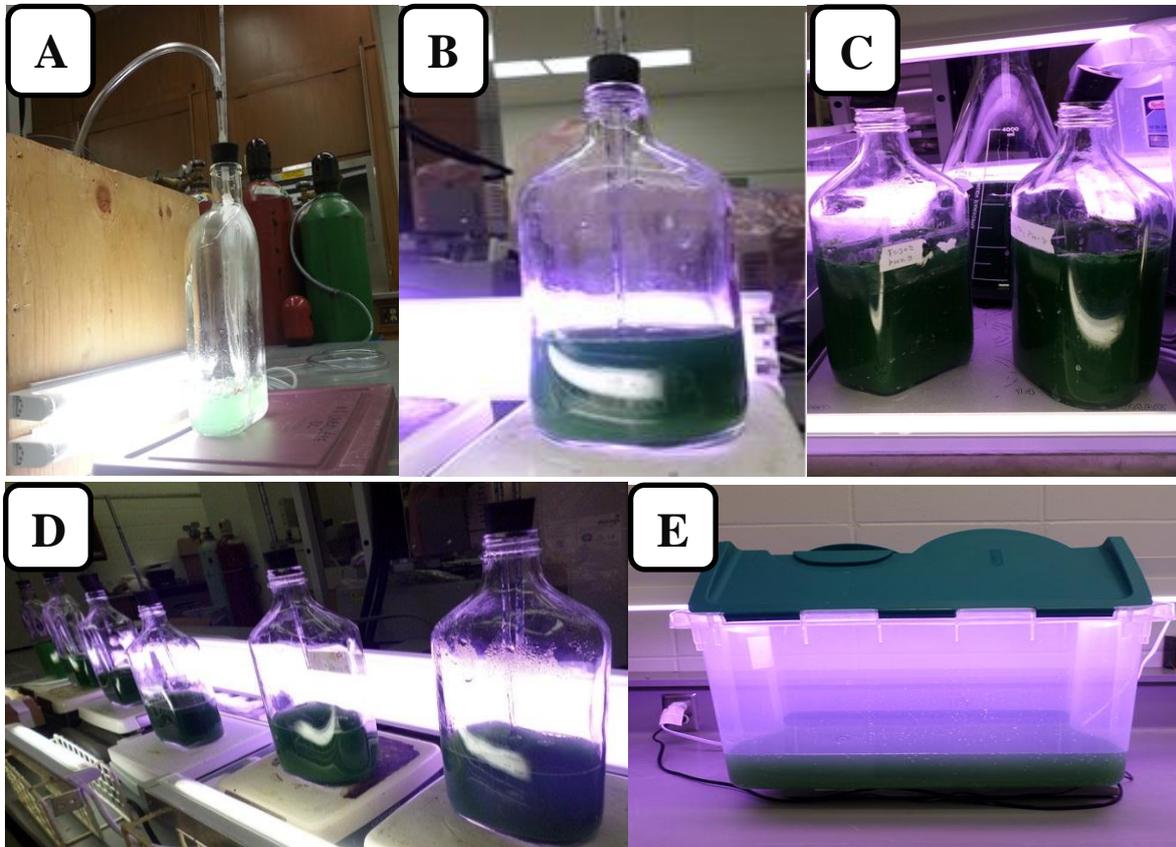


Figure 12: Montage d'optimisation de la culture de *Spirulina platensis* dans un photobioréacteur (Aissaoui O., 2017, Laboratoire de technologie alimentaire et nutrition humaine à l'école nationale supérieure agronomique, Alger, Algérie & laboratoire de sol et génie agroalimentaire, université laval, Québec, Canada).

(A) 1^{er} jour ; (B) 7^{ème} jour (C) 14^{ème} jour ; (D) 21^{ème} jour et (E) 28^{ème} jour. *Spirulina platensis* a été cultivée en milieu Zarrouk préparé on ajoutant 1mL/L de chacun des solutions A5 et B6 (Zarrouk, 1966) Tableau 7.

Tableau 7: Composition du milieu de culture Zarrouk de la spiruline (Zarrouk, 1966)

Sels	[C] g/L	Sels (Solution A5)	[C] g/l	Sels (Solution B6)	[C] g/l
Na HCO ₃	29,00	H ₃ B0 ₄	2,860	NH ₄ VO ₃	0,02296
NaNO ₃	3,00	Mn Cl ₂ .4H ₂ O	1,810	K ₂ Cr (SO ₄) ₄ . 2H ₂ O	0,09600
NaCl	1,00	Zn SO ₄ . 7H ₂ O	0,220	Ni SO ₄ . 7H ₂ O	0,04785
KCl	1,00	Cu SO ₄ . 7H ₂ O	0,079	Na WO ₄ .2H ₂ O	0,01794
Na ₂ SO ₄	4,00	MoO ₃	0,015	Ti (SO ₄) ₃	0,04000
Mg SO ₄ . 7H ₂ O	0,50			CO (NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0,04394
Ca Cl ₂	0,04				
K ₂ HPO ₄	0,50				
Fe SO ₄ . 7H ₂ O	0,01				
EDTA	0,11				

II.3.2.2. Préparation de l'extrait brut de spiruline

Enfin de culture (après 28 jours), on procède à la séparation de la biomasse du milieu de culture. La récolte de la spiruline est réalisé par filtration de la culture avec une toile sérigraphiée (150-200 mesh) (Annexe 8), le filtrat obtenu est lavé deux fois avec de l'eau distillée puis centrifugé à 3700 tr/min pendant 2h, 4°C. Le culot de spiruline est séché à l'air libre à 22 ± 2°C et à l'obscurité pour avoir une meilleure conservation des sucres, des protéines et de la structure des filaments puis broyé avec un mélangeur (Vorwerk Thermomix TM le 31, Wuppertal, Allemagne) jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette dernière est ensuite conservée dans des boîtes fermées hermétiquement à l'abri de l'air et d'humidité à 4°C jusqu'à utilisation (Öztürk et Tarhan, 2012).

Après la récolte on repique de nouveau la spiruline et le milieu de culture fraîchement préparé.

II.3.2.3. Analyse de croissance de la spiruline

La composition nutritive et bioactif de la spiruline est très variée et dépend des conditions de croissance, de la récolte et de séchage des microalgues comme déjà expliqué. Par conséquent, l'étude de la composition phytochimique et biochimique de cette microalgue est importante pour leur utilisation comme compléments alimentaires.

L'analyse des différents paramètres tels que le pH, les caroténoïdes totaux, Chlorophylle a, Chlorophylle b, phycobiliprotéines, ont été déterminés par spectrophotométrie « spectrophotomètre UV-VIS », la même technique a été utilisée pour la détermination des phycobiliprotéines après une précipitation fractionnée avec du sulfate d'ammonium tel que rapporté par **Lichtenthaler et Wellburn, (1985)** ; **Anamika et al., (2005)** respectivement. Alors que le dosage de protéines totales, de métaux lourds, de cendre,...etc ont été déterminés par les mêmes méthodes suivies auparavant.

Une identification de la pureté de la culture de spiruline à différents grossissements a été effectuée au microscope optique type Olympus BX51 (Center Valley, PA, USA) équipé d'une caméra numérique avec capteur CCD Sony : Photometrics CoolSNAPfx (Roper Scientific, Ottobrunn, Germany) et un logiciel de traitement d'images : Image-Pro® Plus pour Windows™ (Media cybernetics Inc, Silver Spring, MD) pour la prise de photos (**Annexe 9**).

II.4. CONCEPTION D'UN NUTRACEUTIQUE DE LA SPIRULINE

Dans une société qui se tourne de plus en plus vers le naturel, pour se nourrir et se soigner, la spiruline se présente comme un aliment de santé d'avenir pour la consommation humaine soutenue par sa longue histoire d'utilisation comme source de nourriture. Toutefois, de rares cas d'effets secondaires chez l'homme ont été rapportés, pour cela le contrôle de la qualité de croissance de la spiruline pour éviter la contamination et garantir la sécurité de produit final est obligatoire avant son utilisation dans la nutraceutique (**Deng et Chow, 2010**).

II.4.1. Matériel végétal

L'étude est portée sur l'utilisation de :

- Farine de blé tendre commerciale à usage biscuitier fournie par l'unité de production d'oued Tlilat d'Oran « moulin HABOUR », préparé pour la biscuiterie - LU DANONE ALGERIE- en 2015-2016. L'origine du blé est un blé français Importé par l'O.A.I.C.
 - La spiruline cultivée est récoltée au cours de la phase stationnaire puis séchée et broyée.
- Le stockage des échantillons a été fait dans des bocaux en verre à une température de +4°C afin d'en préserver les caractéristiques.

II.4.2. Formulation de nutraceutique (cas du biscuit)

Le biscuit est une matrice vitreuse moulée par les sucres (saccharose en particulier) et remplie par l'amidon, le gluten et la matière grasse et de tous autres produits alimentaires, parfums et condiments autorisés, susceptibles, après cuisson de conserver ses qualités

organoleptiques et commerciales pendant une durée supérieure à une année (biscuit sec). Sa structure se compose d'un réseau composé d'amidon et de protéines, où la matière grasse vient remplir les interstices de la structure rigide aérée (Kiger et Kiger, 1967 ; Flint et al., 1970 ; Mohtadji-Lamballais, 1989 ; Chevallier et al., 1999).

En respectant le procédé de fabrication du nutraceutique « biscuit type sec » témoin (T) selon la formule établie par Sudha et al. (2007b) à base de farine biscuitière de blé tendre. La même formule et les mêmes ingrédients du biscuit ont été utilisés tout en incorporant à la farine, la poudre de *S.platensis* à des taux variables de 0,3 – 0,6 – 0,9 et 1%. (Tableau 8).

Tableau 8: Composition du nutraceutique

Matière première	Taux d'incorporation (g)	Echantillon	Farine (%)	SP (%)
Farine	300	Témoin	100,00	0,0
sucre	90	F.SP1	99,70	0,3
Graisse végétale (Shortening 38 /40)	60	F.SP 2	99,40	0,6
Sel (NaCl)	3,0	F.SP 3	99,10	0,9
Bicarbonate de sodium	1,2	F.SP 4	99,00	1,0
Bicarbonate d'ammonium	3,0			
Dextrose monohydrate	6,0			
Lait écrémé (Cl)	6,0			
Eau (Cl)	56			

F.SP : Farine *Spirulina platensis*. Les chiffres de 0,3 à 1% sont les pourcentages de substitution en farine de *Spirulina platensis*. Recette de 30 biscuits.

Le mélange des ingrédients et le procédé de fabrication du biscuit a été réalisé selon la méthode indirecte dite de crémage (Olewnik et Kulp, 1984; Boudreau et Menard, 1993 ; Mridula et al., 2007) (Figure 13).

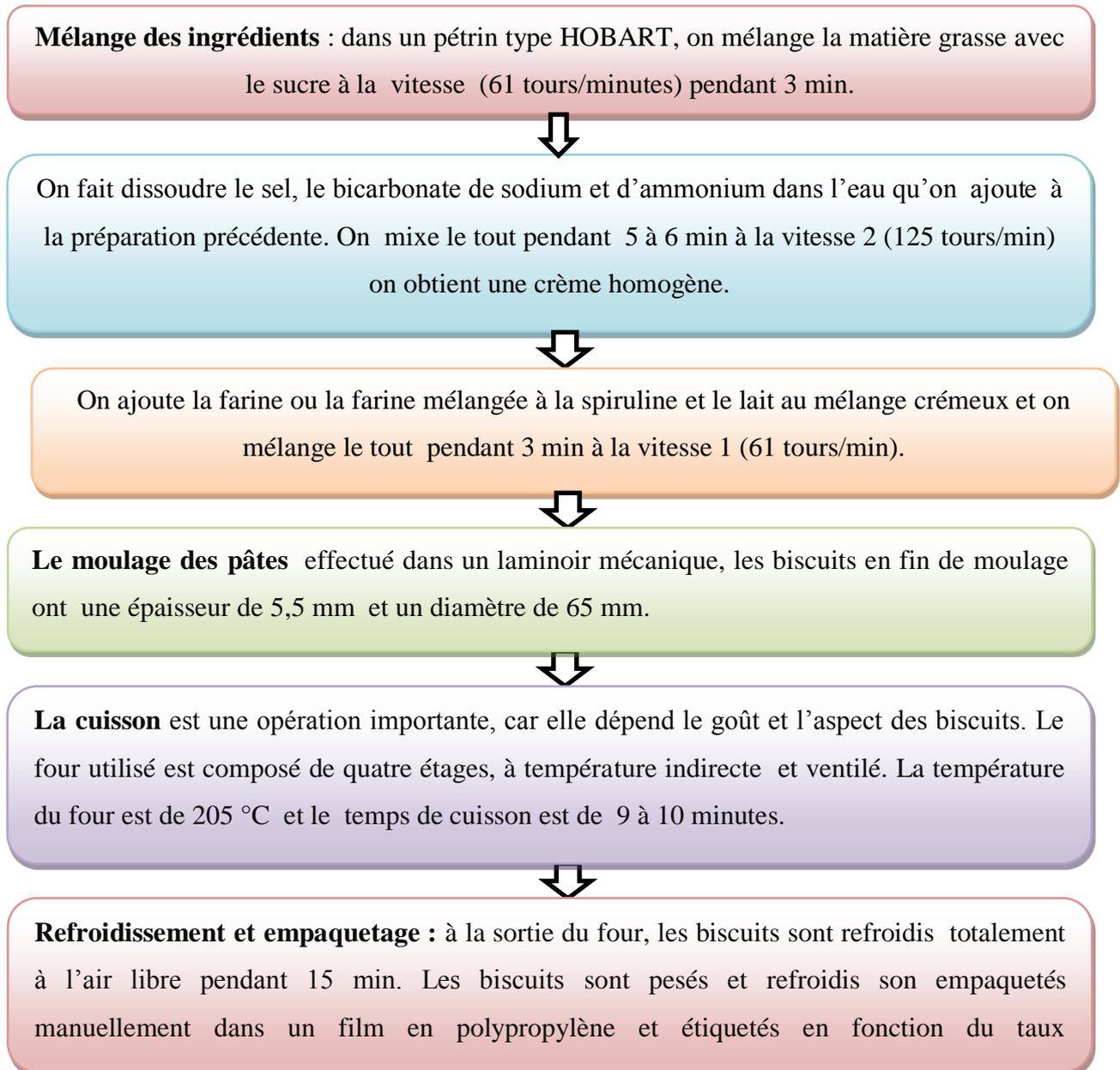


Figure 13:Diagramme de fabrication du biscuit enrichi en spiruline (**Nutraceutique**) (Olewnik et Kulp, 1984 ; Baudrreau et Menard, 1993 ; Mridula et al., 2007).

II.4.3. Caractères physiques du biscuit

Les analyses physiques des biscuits sont effectuées selon des critères proposés par **Benoualid, (1987) ; Sudha et al. (2007b)**, et qui consiste en: la Masse (g), l'étalement est déterminé par la formule suivante (Eq. 26) en utilisant un pied à coulisse, la surface (S en Cm²) et le volume du biscuit (V en cm³).

$$\text{Etalement} = \frac{\text{Diamètre (mm)}}{\text{Epaisseur (mm)}} \quad \text{Eq. 26}$$

II.4.4. Caractères organoleptiques du biscuit

L'analyse sensorielle a donc pour but de décrire les caractéristiques organoleptiques des produits de façon objective et quantifiable selon des critères bien défini d'aspect, de texture, de saveur et d'arôme (**Luquet et Corrieu, 2005**). Les caractéristiques organoleptiques déterminées sur les biscuits sont : la couleur de la croûte, la texture et la saveur.

II.4.5. Modalités d'évaluation sensorielle

Le consommateur désire des biscuits qui correspondent à son goût et qui lui procurent des satisfactions sensorielles. Dans l'appréciation des différents caractères organoleptiques des biscuits, l'analyse sensorielle s'est faite sur la base d'un questionnaire, suivant la méthode décrite par (**Sanchez et al., 1983**). Elle consiste à donner des points aux différentes caractéristiques organoleptiques des biscuits sur une échelle hédonique de 9 points, le maximum des points recueillis est de 27 (**Hooda et Jood, 2005**) comme suit :

√ Couleur de la croûte	: 9 pts.
√ Texture.....	: 9 pts.
√ Saveur.....	: 9 pts.
<hr/>	
Somme	: 27 pts.

Cette notation est fonction de l'appréciation personnelle de celui qui juge ou apprécie le produit, et les résultats obtenus ne peuvent pas être considérés comme absolus. Le jury d'appréciation est composé de 9 personnes choisies du laboratoire de contrôle de qualité de la biscuiterie SARL ISO9 international ISSER- DÉLIC, Boumerdes, Algérie. Les tests de dégustation d'évaluation sensorielle des biscuits ont été faits après 72h de production, après 6 mois et 14 mois de conservation selon un formulaire de réponse nutraceutique (**Annexe 10**).

II.4.6. Etude économique du nutraceutique

Cette étape a pour but d'évaluer le coût d'un biscuit enrichie de spiruline. Pour cela, nous avons pris en considération le coût de toutes les matières premières en dehors des taxes. Le prix de vente de SP sur le marché est entre 90 et 150 € le kg. Dans l'étude économique de biscuit enrichi en SP on a pris le prix de 130 € le kg (≈ 25000 DA/Kg ; avec $1\text{€} \approx 190\text{DA}$) à consommation humaine. Le prix retenu de la SP dans cette étude est prix comme exemple du magasin NATURALTA, France. Le coût de cette dernière varie en fonction de la région et de son état de vente (poudre, gélule ou comprimé) (**Charpy et al., 2008**).

II.5. ANALYSES STATISTIQUES

Une étude descriptive des résultats était réalisée pour tous les paramètres mesurés (Moyenne \pm ESM).

La comparaison de moyennes des différents groupes a été réalisée par le test de Student (Test *t*).

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XLStat 2010 et Statistica 2014.

La corrélation entre les différents caractères du nutraceutique a été réalisée par le logiciel de statistique « Statistica 2014 » en comparant les différents groupes de biscuit.

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISCUSSION

RÉSULTATS

III.1. CARACTERISATION PHYTO-CHIMIQUE DE LA SPIRULINE

III.1.1. Estimation quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes

Les composés phénoliques comme piègeurs de radicaux libres jouent un rôle majeur dans l'activité antioxydante de nombreux produits alimentaires et dans la stabilité de l'oxydation des lipides (Cakir *et al.*, 2003 ; Gezer *et al.*, 2006; Turkoglu *et al.*, 2007). En outre, les phénols ont été rapportés pour présenter les propriétés pharmacologiques anticancéreux, antiviral, antimicrobiennes, anti-inflammatoire ou antitumoral, les accidents vasculaires cérébraux et dans le contrôle du diabète (Ahmad et Mukhtar, 1999; Sun *et al.*, 2002; Vasco *et al.*, 2008; Thomas et Kim, 2011).

Le **tableau 9** résume les résultats du dosage des phénols et flavonoïdes totaux présents dans la spiruline. Les teneurs ont été calculés à partir des courbes d'étalonnage (Annexes 11 et 12) avec des coefficients de corrélation $r^2= 0,99$ et exprimées en milligrammes équivalent acide gallique par gramme d'extrait de *S.platensis* (mg EAG/g extrait) et en milligrammes équivalent quercétine par gramme d'extrait de *S.platensis* (mg EQ/g extrait) des composés phénoliques et des flavonoïdes respectivement.

Tableau 9: Teneurs des phénols et des flavonoïdes totaux des extraits de spiruline

<i>Spirulina platensis</i>	Les phénols totaux (mg EAG/g extrait) (*)	Les flavonoïdes totaux (mg EQ/g extrait) (*)
Extrait aqueux	5,54 ± 0,41	1,82 ± 0,05
Extrait éthanolique	5,12 ± 0,26	1,52 ± 0,04

(*) : Moyenne de trois essais ± ESM.

Le **tableau 9**, montre que l'extraction en utilisant l'eau distillée (extrait aqueux) est la méthode la plus efficace pour la détermination des phénols totaux et des flavonoïdes avec un taux de 5,54 mg EAG/g d'extrait et 1,82 mg EQ/g d'extrait respectivement en comparaison avec le dosage fait par l'éthanol 95% avec 5,12 mg EAG/g d'extrait et 1,52 mg EQ/g d'extrait respectivement.

Des résultats similaires à ceux rapportés Machu *et al.*, (2015) ; Shanab *et al.*, (2012), l'extrait aqueux de *Spirulina platensis* a enregistré les meilleurs résultats des composés phénoliques en comparaison avec d'autres microalgues avec un taux de $4,8 \pm 0,74$

mg/100 g EAG, alors que **Liu et al., 2011 ; Aouir et al., 2017** ont trouvé des résultats supérieurs. Le contenu phénolique total de *S. maxima* cultivé dans différentes concentrations de nitrate de sodium et/ou combinés avec la phénylalanine varie de 4,51 à 16,96 mg/g en poids sec, et de 1,32 à 5,12 mg/g poids sec en flavonoïdes (**Abd El-Baky et al., 2009**).

Les teneurs des composés phénoliques de la spiruline atteignent presque les mêmes teneurs trouvés dans 62 fruits allant jusqu'à 5,9 mg/g EAG (**Fu et al., 2011**). Alors que pour 56 légumes et 223 plantes médicinales, les teneurs de ces composés étaient supérieures à celles enregistrées par la spiruline avec un taux de 23,3 et 101,3 mg/g EAG poids sec respectivement (**Deng et al., 2013 ; Li et al., 2013**). Seulement les extraits aqueux de certaines plantes intéressantes industriellement ont dépassé 397 mg/g EAG (**Dudonné et al., 2009**).

III.1.2. Évaluation quantitative des phycobiliprotéines

Les phycobiliprotéines sont les principaux pigments photosynthétiques accessoires chez les cyanobactéries brillamment colorés et solubles dans l'eau, organisés en complexes supramoléculaires, appelés phycobilisomes, assemblés sur la surface externe des membranes thylakoïdales (**Anamika et al., 2005 ; Hemlata et Fareha, 2011**).

Les cyanobactéries produisent quatre classes principales de phycobiliprotéines, l'allophycocyanine (A-PC, vert bleuâtre), la phycocyanine (C-PC, bleu), la phycoérythrine (PE, violet) et la phycoerythrocyanine (PEC, orange) (**Bryant et al., 1979 ; Sekar et Chandramohan, 2007**), la PC représente la principale composante de la famille de phycobiliprotéine. Les résultats de l'évaluation quantitative des phycobiliprotéines contenu dans *Spirulina platensis* sont présentés dans le **tableau 10**.

Tableau 10: Évaluation quantitative de la teneur en phycobiliprotéines de *S.platensis*

Phycobiliprotéines (% p/p) (*)			Les phycocyanines (*)	
C-PC	A-PC	PE	Facteur de séparation (A620/A652)	Ratio de pureté (A620/A280)
16,54 ± 0,12	2,06 ± 0,11	1,34 ± 0,08	5,50 ± 0,16	4,12 ± 0,13

(*) : Moyenne de trois essais ± ESM.

Les résultats de l'évaluation quantitative des phycobiliprotéines de *S.platensis* ont révélé que la fraction phycocyanine (C-PC) présente le composant majeur par rapport aux autres fractions de phycobiliprotéines les allophycocyanines (A-PC) et les phycoérythrines (PE) avec un pourcentage de 16,54 ; 2,06 et 1,34% respectivement.

La méthode utilisée pour la séparation et la purification du PC dans l'étude a montré son efficacité avec une pureté de 4,12 et un facteur de séparation des C-PC des A-PC de 5,5 (**Tableau 10**).

Les résultats obtenus corroborent avec ceux trouvés par **Anamika et al. (2005)**, qui ont déterminé le taux de phycobiliprotéine dans trois espèces de cyanobactéries, *Spirulina sp.*, présente le taux le plus élevé de C-PC 17,5 par rapport à *Phormidium sp.*, et *Lyngbya sp.*, avec un taux de 4,1 et 3,9% respectivement. Des valeurs faibles par rapport à nos résultats ont été trouvées par **Aouir et al. (2017)** ($\approx 6\%$) avec des valeurs assimilables de des A-PC et PE. Cependant, un taux de PC, A-PC et PE de *S. platensis* (14,8; 2,3 et 1,1 (%), p/p) a été enregistré par **Banji et al. (2013)** respectivement. Le ratio de pureté et le facteur de séparation des C-PC sont de 2,66 et 3,13 respectivement (**Anamika et al., 2005**). Un ratio supérieur à 0,7 de pureté a été enregistré par la souche *Spirulina* par **Aouir et al. (2017)**.

III.1.3. Evaluation quantitative des chlorophylles et des caroténoïdes totaux

La chlorophylle est un pigment naturel présent dans les plantes, les algues et certaines bactéries photosynthétiques utilisée en industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Les caroténoïdes sont des pigments classés en carotènes, xanthophylles, bêta-carotène, lutéine et violaxanthine (**Cuellar-Bermudez et al., 2015**). Le taux de chlorophylle a, b et des caroténoïdes totaux contenus dans la spiruline sont dans le **Tableau 11**.

Tableau 11: Évaluation quantitative des Chlorophylles et caroténoïdes totaux de *S.platensis*

Chlorophylle a (*)	Chlorophylle b (*)	Caroténoïdes (mg/L) (*)
3,33 \pm 0,15	2,18 \pm 0,09	3,80 \pm 0,20

(*) : Moyenne de trois essais \pm ESM.

La teneur en chlorophylles a et b dans l'algue étudiée sont de 3,33 et 2,18 respectivement. Tandis que les caroténoïdes totaux ont été de 3,8 mg/L (**Tableau 11**). Des résultats légèrement comparables ont été trouvés par **Aouir et al. (2017)**, avec une valeur moyenne de 4,47 et 1,7 mg/g en Ca et Cb respectivement. Le Chl a est le principal pigment photosynthétique chez les microalgues par rapport à Cb (**Richmond, 2004**).

Des résultats conformes ont été trouvés par plusieurs auteurs avec un taux de caroténoïdes situant entre de 3,2 et 8,9 mg/g dans plus de 50 souches de spiruline (**Pierlovisi, 2007 ; M'baye et al., 2011 ; Banji et al., 2013 ; Aouir et al., 2017**). Cependant, **Kent et al. (2015)** ont trouvé les valeurs de 12,33 et 1,45 mg / g de chlorophylles et de caroténoïdes,

respectivement, dans la même souche de spiruline. Ces différences peuvent être dues aux conditions de croissance de *Spirulina* (Kumar et al., 2011 ; Aouir et al., 2017).

III.1.4. Evaluation de l'activité de piégeage de radicaux libres de la spiruline

❖ Activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•).

La réduction du DPPH• est contrôlée en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde caractéristique (517 nm). Cependant l'habilité des extraits phénoliques de céder des protons hydrogènes est mesurée par spectrophotométrie après disparition de la couleur violette de la solution méthanolique contenant le radical DPPH•. La forme réduite de ce dernier, confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage de couleur et l'intensité de la décoloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire (antioxydante) (Koleva et al., 2002).

Les activités de piégeage obtenues pour les deux extraits aqueux et éthanolique de *Spirulina platensis* comparées à celles du BHT sont reportées dans le **Tableau 12**.

Tableau 12: Activité antioxydante DPPH des extraits de spiruline et de BHT *In vitro*.

Concentration des extraits (mg/mL)	Activité de piégeage du radical DPPH (%) (*)		
	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	BHT
10	18,22±0,42	10,00±0,44	31,40±0,70
20	27,13±0,13	17,18±0,25	42,14±0,48
50	44,14±0,53	39,33±0,28	62,49±0,68
100	64,99±0,20	56,01±0,72	73,15±0,85
200	71,06±0,17	65,24±0,40	80,62±0,31
400	76,10±0,35	71,12±0,33	84,70±0,52
600	80,14±0,30	75,17±0,61	86,35±0,59
800	83,00±0,17	79,13±0,42	88,81±0,27
1000	87,26±0,31	80,72±0,64	91,07±0,12

(*) : Moyenne de trois essais ± ESM.

La capacité de piégeage des radicaux libres mesurés par le dosage DPPH a révélé qu'avec l'augmentation de la concentration des extraits, une augmentation de DPPH à piéger les radicaux libres a été observée. En effet, à faibles doses (10 mg/mL), les extraits aqueux et éthanolique présentent une action faible vis-à-vis des radicaux libres 18,22 et 10 (%) respectivement en comparaison à celle du BHT (31,40%). On note aussi, que l'extrait aqueux est plus réducteur du radical DPPH \cdot , ainsi avec la concentration la plus élevée 1000 mg/L, les valeurs d'inhibition atteignent le maximum considéré avec 87,26 et 80,72 (%) pour les deux extraits aqueux et éthanolique respectivement en comparaison avec le standard BHT (91,07%) (**Tableau 12**).

Les résultats obtenus corrobore avec ceux trouvé par **Shalaby et al. (2010)**, à une concentration 50 et 100 (mg/mL), une activité antioxydante en DPPH de 30,0 et 32,0 (%) et 65,0 et 75,0 (%) pour les extraits aqueux et éthanolique respectivement a été enregistrée. Des résultats plus faibles ont été notés par **Chu et al. (2010)**. En plus, nos extraits présentent une faible activité antioxydante DPPH en comparaison avec l'antioxydant standard « hydroxyanisole butylé (BHA) (E210) » mais comparables aux antioxydants de références : la vitamine C et la vitamine E (**Shalaby et al., 2010 ; Chu et al., 2010**).

❖ **Activité de piégeage du radical ABTS**

Selon **Lemanska et al. (2001) ; Awika et al. (2003)**, le test de mesure du pouvoir de piégeage du radical ABTS. $^{+}$ est utilisé dans de multiples supports pour la détermination des capacités antioxydantes hydrophiles et lipophiles des extraits et des fluides corporels. Les résultats obtenus du test ABTS des extraits aqueux et éthanolique de *S.platensis* et de l'antioxydant synthétique BHT sont illustrés dans le **Tableau 13**.

D'après les résultats obtenus, une forte activité inhibitrice des extraits aqueux et éthanoliques de spiruline en comparaison avec le standard BHT a été notée. Cependant, l'extrait aqueux présente une activité antiradicalaire ABTS plus élevée que l'extrait éthanolique. Pour la concentration la plus faible testé 10 mg/mL, les valeurs enregistrées sont de 23,28 et 17,06% respectivement pour les deux extraits étudiés. Alors qu'à la concentration 1000 mg/mL, l'activité antioxydante des deux extraits dépasse les 85%, ce qui signifie une forte activité antioxydante, mais les valeurs restent toujours inférieures à celles obtenues par l'antioxydant de référence le BHT avec 95,33% (**Tableau 13**).

Les concentrations 50 et 100 (mg/mL) d'extraits ont enregistrées une activité antioxydante en ABTS similaires (65,0 et 34,8 %) et (64,8 et 81,7 %) pour les extraits aqueux

et éthanolique respectivement. Alors que nos extraits présentent une faible activité antioxydante en comparaison aux antioxydants standards l'hydroxyanisole butylé (BHA), la vitamine C et la vitamine E (Shalaby *et al.*, 2010 ; Chu *et al.*, 2010).

Tableau 13: Activité antioxydante ABTS des extraits de spiruline et de BHT *In vitro*.

Concentration des extraits (mg/mL)	Activité de piégeage du radical ABTS (%) (*)		
	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	BHT
10	23,28±0,57	17,06±0,73	35,19±0,35
20	34,10±0,12	24,23±0,01	46,01±1,01
50	53,02±0,77	45,94±0,18	68,00±0,26
100	70,19±0,14	61,20±0,30	77,07±0,74
200	79,00±0,36	71,98±0,37	86,10±0,30
400	83,22±0,31	79,09±0,23	88,15±0,12
600	85,09±0,26	83,00±0,07	90,01±0,11
800	87,01±0,47	85,24±0,08	90,88±0,32
1000	90,32±0,15	86,46±0,04	95,33±0,23

(*) : Moyenne de trois essais ± ESM.

Les résultats obtenus des deux tests DPPH et ABTS sont comparables à ceux trouvés par Shanab *et al.* (2012), l'extrait aqueux de *S.platensis* à 100 mg/mL avec (69 et 80,2%) et (75,9 et 85,6%) pour l'extrait et BHT des tests DPPH et ABTS respectivement ce qui montre la sensibilité du test ABTS de celui de DPPH.

En plus des résultats obtenus, le pourcentage de l'activité antioxydante de *S.platensis* est de 46,56 % ± 0,72 en comparaison avec l'antioxydant de référence le BHT avec 81,35 % ± 3,07. Des résultats comparables ont été notés par Banji *et al.* (2013). Pour confirmer les résultats des tests (DPPH et ABTS), nous avons déterminé la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) des extraits de spiruline. Les IC50, ont été calculées par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits de spiruline et de BHT pour les tests DPPH et ABTS (Figure 14).

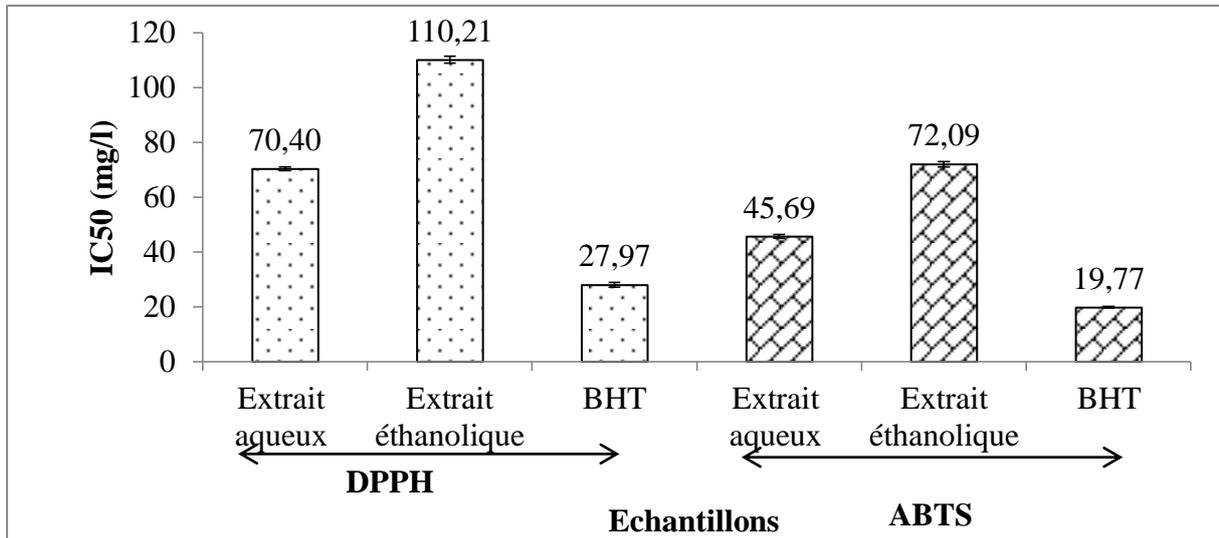


Figure 14: Valeurs des IC50 des extraits de spiruline et de BHT des tests DPPH et ABTS.

La **figure 13** montre que les IC50 sont inversement liés à la capacité antioxydante des extraits de *S.platensis*. L'extrait aqueux de SP révèle des propriétés antiradicalaires intéressantes qui se manifestent par de faibles valeurs d'IC50 en comparaison avec l'extrait éthanolique. IC50 varie de (70,40 et 110,21 mg/L) et de (45,69 et 72,09 mg/L) pour les extraits aqueux et éthanoliques de cette algue respectivement contre 27,97 mg/L et 19,77 mg/L pour le BHT des tests DPPH et ABTS respectivement. La spiruline donc dispose d'une activité antioxydante importante en comparaison au BHT.

Abd El-Baky et al. (2009), ont trouvé des IC50 plus élevés en comparaison avec ceux obtenus dans notre étude avec un taux qui varie de 23,22 à 35,62 mg/L pour les différentes concentrations des extraits éthanoliques de spiruline, tandis que les valeurs de IC50 pour α - tocophérol, le BHA et le BHT sont de 18,8, 16,6 et 14,80 mg/L, respectivement.

III.2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA SPIRULINE

La spiruline (SP), une algue bleue reconnue depuis longtemps par sa richesse en nutriments. En effet, sa teneur en protéines varie de 60 à 70% de poids sec. Ainsi, le **tableau 14** représente les teneurs relatives des paramètres physico-chimiques de la poudre de SP.

Tableau 14: Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de spiruline

Paramètres physico-chimiques	Teneur moyenne (*)
Humidité (%)	5,00 ± 0,06
Matière sèche (%)	95,00 ± 0,02
pH	7,00 ± 0,12
Taux de cendre (%)	23,00 ± 0,05
Taux de fibres (%)	3,42 ± 0,042
Protéines totales (%)	54,87 ± 0,043
Lipides totaux (g/100g MS)	6,21 ± 0,07
Glucides totaux (%)	14,12 ± 0,036
Apport calorique	331,85 Kcal (1388,46 KJ)

(*) : Moyenne de trois essais ± ESM.

III.2.1. Détermination de la teneur en eau, le pH, la teneur en cendres et en fibres

Le **tableau 14** révèle que la spiruline possède une teneur en humidité de 5,00%, semblable à celle trouvée par **Branger et al. (2003)**, (5,4%), mais inférieure à celle trouvée par **Benhamed, (2012)** 14,34%. Le taux de matière sèche de cette algue est estimé de 95%, valeur supérieure à celle trouvée par **Benhamed, (2012)**, (89,29%). La teneur en humidité recommandée pour le stockage à long terme de poudres de Spirulina est inférieure à 10%, mais la différence de pourcentage est due aux facteurs extérieurs liés à la période d'entreposage, ou le procédé de séchage de spiruline ou autres facteurs (**Becker, 1994**).

L'espèce *S.platensis* utilisé dans cette étude présente un pH de 7 (**tableau 14**), dans la norme française recommandée (7 à 9), et légèrement supérieur à celle rapportée par **Benhamed, (2012)**, avec un pH de 6,8. La variation de pH peut être due aux conditions de séchage et des réactions de fermentation lors de la croissance, ... (**Jourdan, 2006**).

La poudre de spiruline renferme un taux relativement élevé en cendres estimé à 23,00%, valeur supérieure à celle trouvée par **Branger et al. (2003)** ; **Benhamed, (2012)** ; **Aouir et al. (2017)** avec un taux de 8,6 et 9,41 et 11,18 % respectivement. Cette proportion peut être liée au pouvoir d'absorption des métaux par cette algue dans les milieux de culture utilisés (**Branger et al., 2003** ; **Rangsayatorn et al., 2004** ; **Chen et Pan, 2005** ; **Solisio et al., 2006**) d'une part et/ou à la présence de sable et de certaines impuretés résultant du processus traditionnel de récolte et de séchage de spiruline au Tchad appelé «Dihé» (**Sorto et Gonnet, 2007**).

Le taux de fibres totaux de spiruline est estimé à 3,42%, valeur similaire à celle trouvée par **Koru, (2012)** ; **Aouir et al. (2017)**, avec une moyenne de 3 % de la même souche d'origine de l'Algérie, du Tchad et de l'USA. La teneur faible en fibres suggère une biomasse facilement digeste pour l'usage humain (**Richmond, 2004** ; **Sguera, 2010**) (**Tableau 14**).

III.2.2. Estimation de la teneur en protéines, lipides et glucides totaux

- *Protéines totales*

Un pourcentage de 54,87 % a été rapporté par *S.platensis* étudiée (**Tableau 14**). Cette teneur est proche à celle trouvée par **Madkour et al., (2012)** avec un taux de 52,95 % mais elle est considérée inférieure à celle rapportée par **Branger et al., (2003)** ; **Benhamed, (2012)**, avec un taux moyen de 61%. Aussi, il est à noter que la spiruline est connue par sa composition intéressante en protéines avec une teneur qui varie de 50 à 70% et qui dépend de la période de la journée à laquelle elle est récoltée, la souche, le milieu de culture et les conditions de croissance nutritives (**Charlemagne, 2008** ; **Bensehaila et al., 2015**).

- *Lipides totaux*

S.platensis utilisé dans la présente étude a enregistré un taux de lipides totaux de 6,21% (**Tableau 14**). **Charlemagne, (2008)** ; **Madkour et al. (2012)** ; **Ambrozova et al. (2014)** ; ont rapporté une teneur en lipides dans la spiruline varie de 6,4 à 7,5% jusqu'à 18% en poids sec en utilisant différents mélanges de solvants d'extraction. Aussi, il a été démontré que la spiruline cultivée contient plus de lipides que celle commercialisée.

Bensehaila et al. (2015) ont trouvé une teneur en lipides de 7,28%, ce qui est élevé par rapport au résultat observé dans cette étude pour la même souche *Spirulina* (6,21%) contrairement à ce qui est trouvé par **Aouir et al. (2017)** avec une valeur de 1,50%.

La différence de teneur en lipide semble être influencée par le processus de culture ou de technologie, de la méthode et le/les solvants d'extraction utilisés, aux variations de pH, de température et d'éclairage dans les conditions de culture (**Orcutt et Patterson, 1974 ; Kumar et al., 2011 ; Aouir et al., 2017**).

- **Glucies totaux**

La teneur totale en glucides de spiruline est de 14,12% assimilable à celle trouvé par **Quillet, (1975) ; Aouir et al. (2017)** par la même espèce (15 à 25%). Enfin, la souche de spiruline a montré une valeur plus élevée de l'apport énergétique total 331,85 Kcal (1388,46 KJ) ressemblable à celle trouvé par **Aouir et al. (2017)**, (1327,34-1602,59 kJ), à l'exception de *Spirulina* d'origine du Tchad, avec un apport calorique de 511, 80 kJ, due à sa composition faible en macronutriments « glucides, protéines et lipides ».

III.2.3. Estimation de la teneur en métaux lourds

L'évaluation de métaux lourds dans la spiruline est rapportée dans le **tableau 15**. Selon les résultats obtenus, les doses de métaux lourds (Pb, Hg, As, Cd, Sn et Bi) de *S.platensis* étudiée sont plus basses que les doses limitent. Bien que la consommation de spiruline soit en augmentation progressive dans le monde, peu d'études ont relativement rapporté la quantité de métaux lourds qu'elle contient et/ou leurs effets potentiels sur la santé humaine.

Tableau 15: Estimation qualitative de métaux lourds dans la spiruline

	Plomb « Pb » (*)	Mercure « Hg » (*)	Arsenic « As » (*)	Cadmium « Cd » (*)	Étain « Sn » (*)	Bismuth « Bi » (*)
<i>S.platensis</i>	<D.L. 4,20	<D.L. 6,10	<D.L. 5,30	<D.L. 0,25	<D.L. 9,60	<D.L. 3,40

(*) : Moyenne de trois essais \pm ESM. (mg/Kg). D.L : la dose limite.

III.3. EXPERIMENTATION ANIMALE

L'étude est consacrée à évaluer l'effet préventif et curatif de *Spirulina platensis* (SP) chez des rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane (le diabète type 1) et un régime hyperglycémiant le fructose (le diabète type 2).

III.3.1. Estimation des paramètres pondéraux

III.3.1.1. Influence de *Spirulina* sur la croissance corporelle

L'évolution du poids corporel moyen des rats contrôles, diabétiques et traités est estimée à un intervalle de 10 jours durant 70 jours est présentée dans la **figure 15 (A, B)** pour les deux types de diabète étudiés I et II respectivement.

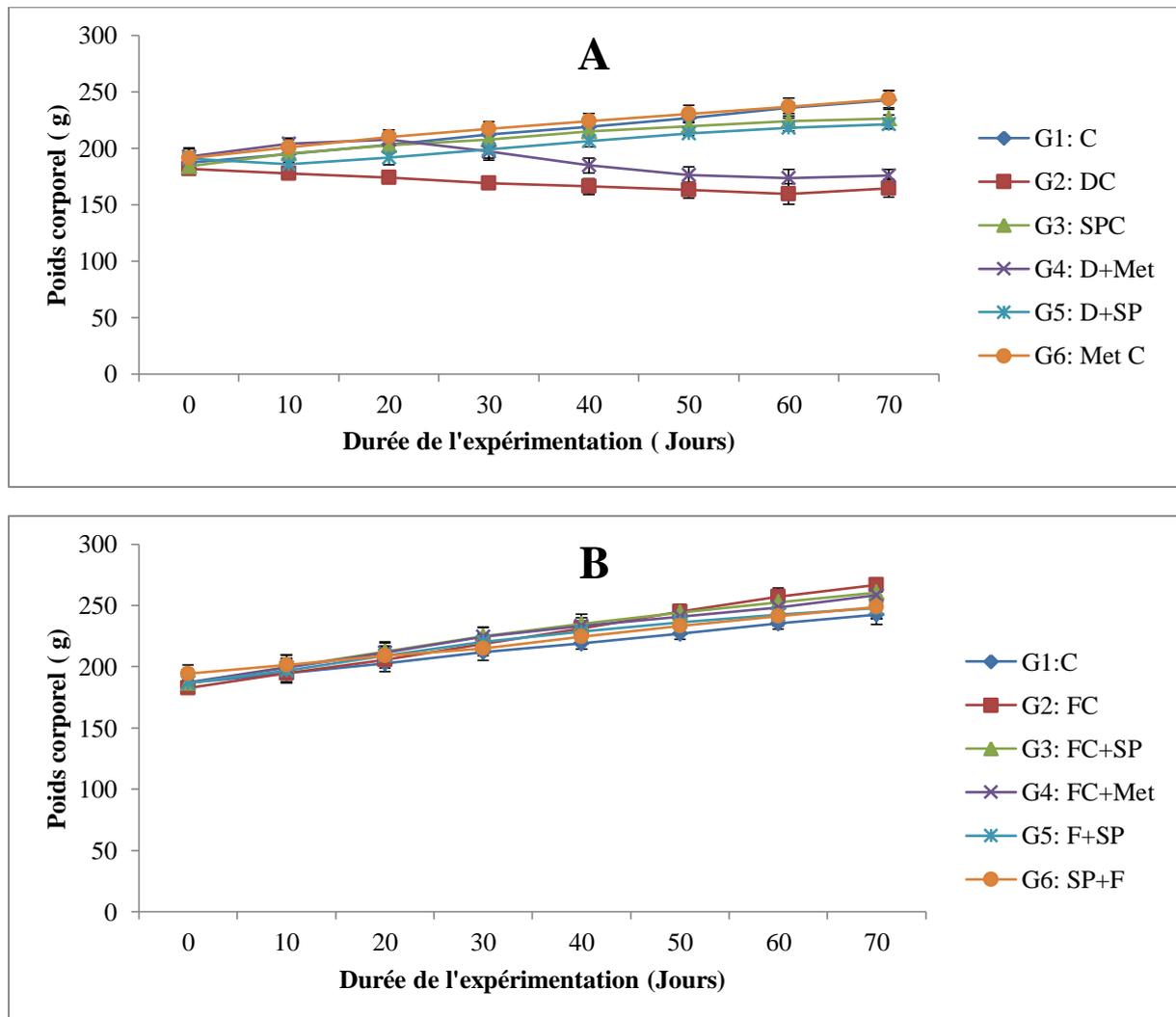


Figure 15: Courbes de croissances pondérales des rats diabétiques de type 1 et 2

Les rats diabétiques par l'alloxane (A) et les rats diabétiques par le fructose (B). C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

La figure 15 (A), montre une diminution très significative ($p \leq 0,001$) du poids corporel des rats diabétiques du groupe 2 (G2 : DC) par rapport au Groupe 1 (contrôle) de 32,21%. Le G1 augmente en poids d'une manière stable et continue pendant toute l'expérimentation ($164,50 \pm 7,94$ vs $242,67 \pm 8,21$ g) à la fin de l'expérimentation. Cependant, l'administration de 10% de spiruline quotidiennement a empêché d'une façon très significative ($p \leq 0,001$) la perte de poids excessive des rats diabétiques du G5 ($221,00 \pm 3,95$ g) en comparaison aux rats diabétiques du G2 ($164,50 \pm 7,94$). Les animaux diabétiques traités par la Metformine G4 ($175,67 \pm 5,67$ g vs G2) ont enregistré d'améliorations significatives ($p \leq 0,05$) de poids. Les mêmes résultats ont été rapportés par **Locatto et al. (1997)** ; **Sophia et Manoharan, (2007)**. Les animaux contrôles metformine sont en augmentation comparable aux contrôles de poids corporel.

Les résultats obtenus dans cette étude sont comparables à ceux trouvés par **(Choi et al., 2008)**, le poids corporel diminue de 24,9% en comparaison avec les contrôles après 25 j chez les rats rendus diabétiques par 40 mg/kg de P.C d'alloxane. L'administration de 10% de SP pendant 50j aux rats diabétiques alloxane a inversé la perte de poids significativement, les mêmes observations ont été faites par **Muthuraman et al. (2009)** avec l'administration de 10 mg/kg de P.C de SP, 30j aux rats diabétiques induit par 130 mg/kg de P.C l'alloxane.

La figure 15 (B), les groupes de rats hyperglycémiques nourries de 40% de fructose en continue pendant 2 mois (G2, G3 et G4 vs G1) ont montré une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de poids corporel ($266,63 \pm 5,58$; $260,33 \pm 8,04$; $258,33 \pm 11,13$ vs $242,67 \pm 8,21$ g) à la fin de l'expérimentation par rapport aux animaux contrôles avec un taux de 9%. Après l'administration de fructose pendant 1 mois suivie d'un mois de SP (G5 : F+SP), on a enregistré une augmentation moins importante ($p \leq 0,05$) de poids corporel ($248,00 \pm 8,46$ g) que le G3 : CF+SP ou le fructose est donné 2 mois successivement. La SP a empêché le gain de poids rapide des rats avant et après l'administration de fructose G3 vs G6 après 70 jours.

En accord avec les rapports précédents **(El Hafidi et Baños, 1997; Juan et al., 2001 ; Mascher et al., 2006)**, des rats nourris de régime riche en saccharose étaient significativement surpoids. Cependant, la majorité des cas de diabète du type 2 est attribuée à un gain de poids, ce qui augmente le risque cardiovasculaire et d'autres complications **(Bogers et al., 2007 ; IDF, 2013 ; Harmalingam, 2014)**. La SP empêche le développement de surpoids chez les rats **DT2. Becker et al. (1986)**, ont trouvé qu'une alimentation supplémentaire de SP à raison de 2,8 g/3 fois/jour /1 mois a donné lieu à une réduction significative du poids corporel chez les patients obèses.

Ramamoorthy et Premakumari, (1996), ont administré 2 g ou 4/j de SP 3 mois aux patients ayant une maladie cardiaque ischémique avec une hypercholestérolémie, une perte significative de poids corporel a été notée, alors qu'aucun changement n'a été détecté dans le groupe témoin.

III.3.1.2. Influence de Spirulina sur le gain de poids et le poids relatif des organes

Les gains de poids et le poids relatif des organes des différents groupes d'animaux sont résumés dans le **tableau 16**. Ce dernier montre une perte de poids des rats diabétiques par l'alloxane (G2 : DC et G4 : D+M vs G1) avec (-16,92 et -16,83 vs 55,78 g). Par ailleurs, un gain de poids très significatif chez les rats diabétiques traités par la SP et les témoins SP, metformine (G5, G3 et 6 respectivement vs G1). Alors que, le gain de poids moyen des animaux nourris d'un régime hyperchlorique (le fructose), été très significatif ($p \leq 0,001$) dans tous les groupes (G2, G3, G4 et G5 vs G1) sauf pour le G6 : SP+F, où la SP est administrée un mois avant le régime de fructose a prévenu le gain de poids constant par rapport au contrôles tout au long de l'expérimentation. Une diminution significative de gain de poids des rats diabétique a été notée pour les groupes G3, G4 et G5 vs G2 : FC.

Le tableau 16 montre la diminution du poids du foie de manière très significative ($P \leq 0,001$) tandis que la masse du rein a augmenté significativement ($p \leq 0,01$) chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane (G2 vs G1). Une amélioration du poids du foie et des reins chez les rats diabétiques alloxane traités avec la spiruline et la metformine (G5 : D+SP et G4 : D+Met vs G1), mais la SP a donné de meilleurs résultats par rapport à la metformine. Chez les rats diabétiques fructose pendant 2 mois, une augmentation très significative ($p \leq 0,001$) de poids des organes foie et rein a été noté (G2 vs G1), contrairement aux groupes curatif (G5 : F+SP) ou préventif (G6 : SP+F) nourris de fructose pendant 1 mois où on n'a pas enregistré de différences significatives en comparaison aux contrôles. Le poids des organes étudié augmente significativement après l'administration de SP (G3 : FC+SP vs G2:FC).

De plus, nos résultats indiquent que l'indice hépato-somatique, qui renseigne sur l'évolution du poids de l'organe par rapport à celui de l'organisme entier augmente très significativement chez les animaux diabétiques (G2 vs G1), alors qu'une diminution significative dans le G5 : D+SP après traitement de SP a été notée. Cependant le poids relatif des reins a augmenté d'une manière très significative chez les rats diabétiques (G2 et G4 vs G1). Une amélioration significative de poids relatif de rein des rats diabétiques à l'alloxane après administration de SP (G5 vs G2), alors qu'aucune différence significative n'a été notée

dans les groupes témoins positif (G3 : SPC et G6 : Met C vs G1). (Tableau 16). Des mêmes résultats similaires ont été rapportés par Yadav *et al.* (2005) ; Sophia et Manoharan, (2007).

Tableau 16: Effet de la spiruline sur le gain de poids et le poids relatif des organes des rats

	Gain de poids corporel (g)	Le foie		Le rein gauche	
		Poids (g)	Poids relatif ou ISO (%)	Poids (g)	Poids relatif ou ISO (%)
Groupes	DIABÈTE INDUIT PAR L'ALLOXANE				
G1: C	55,78 ± 5,31	7.08 ± 0,22	2,92 ± 0,14	0,91 ± 0,09	0,37 ± 0,03
G 2: DC	-16,92 ± 7,43 ***	5.06 ± 0,27***	3,08 ± 0,17***	1.26 ± 0,13 **	0,77 ± 0,10 ***
G 3: SPC	+42,42 ± 3,93	6.78 ± 0,40	3,00 ± 0,16	0,95 ± 0,06	0,42 ± 0,03
G 4: D+M	-16,83 ± 4,96	5.33 ± 0,51	3,03 ± 0,22	1.32 ± 0,55	0,75 ± 0,31
G 5: D+SP	+30,13 ± 4.35 ‡	5.80 ± 0,63‡	2,62 ± 0,25†	1.17 ± 0,34	0,53 ± 0,16†
G 6: MetC	+52,33 ± 6,53	7.18 ± 0,47	2,96 ± 0,26	0.82 ± 0,06	0,38 ± 0,04
Groupes	DIABÈTE INDUIT PAR LE FRUCTOSE				
G2: FC	+83,87 ± 4,61***	9,18 ± 0,35***	3,45 ± 0,16***	1,42 ± 0,04***	0,53 ± 0,02**
G3:FC+SP	+73,73 ± 6,17†	8,64 ± 0,37†	3,32 ± 0,18	1,21 ± 0,13†	0,47 ± 0,06†
G4: FC+M	+71,17 ± 9,22†	8,73 ± 0,39	3,39 ± 0,21	1,16 ± 0,11‡	0,45 ± 0,05†
G5: F+SP	+61,33 ± 6,65‡	7,45 ± 0,40‡	3,01 ± 0,23†	0,92 ± 0,08‡	0,37 ± 0,03‡
G6: SP+F	+54,08 ± 7,06	7,31 ± 0,30‡	2,95 ± 0,16‡	0,89 ± 0,082‡	0,36 ± 0,04‡

p≤0.01, *p≤0.001, en comparaison avec le Groupe 1. †p≤0.01, ‡p≤0.001, en comparaison avec le groupe 2. C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

Le poids relatif du foie des animaux rendus diabétiques par le fructose en continue pendant 2 mois (G2) augmente très significativement ($p \leq 0,001$) pour les groupes (G2 : FC, G3 : FC+SP et G4 : FC+M vs G1 : C) contrairement aux groupes (G5 : F+SP et G6 : SP+F) où le fructose a été administré pendant un mois. Cependant les mêmes observations ont été notées pour le poids relatif des reins. Le groupe de rats G3 : FC+SP a noté les meilleures améliorations de poids des organes étudiés en comparaison avec le G4 : FC+Met. Des résultats très significatifs de poids relatif des organes ont été notés par le traitement curatif et préventif (G5 : F+SP ; G6 : SP+F vs G2 : FC) (Tableau 16).

III.3.2. Effet de la spiruline sur les paramètres biochimiques

III.3.2.1. Les paramètres biochimiques du diabète de type 1

La glycémie à jeun, l'insuline et l'hémoglobine glyquée sont des paramètres majeurs pour la surveillance du diabète. Aussi, les troubles métabolique complexe du diabète, impliquant des altérations des bilans lipidiques, hépatiques et rénal, ... etc, sont importants à étudier. **Les figures du 16 au 22** montre les variations des paramètres biochimiques sériques des rats rendus diabétiques par l'alloxane (**DT1**) des différents groupes de rats contrôles et expérimentaux au cours de 60 j d'expérimentation suivie de 10 j d'arrêt de traitement (60 j au 70 j) et l'amélioration des niveaux de ces derniers après traitement de SP.

A. La glycémie, l'insulinémie et l'hémoglobine glyquée

L'activité anti-hyperglycémique de la SP des rats rendus diabétiques de type 1 par 150 mg/kg de P.C. d'alloxane est indiqué dans la **Figure 16A**. La glycémie augmente très significativement ($p \leq 0,001$) par l'alloxane jusqu'à 4,28 g/L dans 10 jours. Après l'administration de 10% de SP pendant 50 j, la glycémie diminue par (56,30%, $p \leq 0,001$) de 4,28 à 1,87 vs de 0,72 à 0,79 g/L ; G5 vs G1: C. La metformine réduit la glycémie significativement par 36,62% de 4,26 à 2,70 g/L du G4 vs G1 après 50 j. Après l'arrêt de traitement (10 derniers jours), la SP continue à diminuer la glycémie de 23,53% chez les rats diabétiques contrairement à la metformine qui l'a augmentée par 6,90%.

Le niveau d'insuline plasmatique noté dans la **figure 16 (B)** diminue très significativement chez les rats diabétiques (7,6 $\mu\text{U/mL}$; 65,64%) avec un HOMA-IR de 7,33 par rapport aux rats contrôles (22,12 $\mu\text{U/mL}$, 4,37) des deux paramètres après 70 j. Des résultats comparables ont été observés par **Shokeen et al. (2008)** ; **Kasetti et al. (2010)**. Le traitement par 10% de SP augmente ($p \leq 0,001$) le taux d'insuline des rats diabétiques (41,80%) et à un degré plus faible des rats normaux (4%) avec un taux de 13,06 et 23,04 $\mu\text{U/mL}$ des G5 et G3 vs G2 et G1 respectivement au bout de 50 j. Les HOMA-IR de G3 et G5 sont inférieur aux témoins 3,99 et 4,26 vs 4,37. Des résultats comparables ont été rapportés par **Shokeen et al. (2008)**. Des rats diabétiques par 130 mg/kg P.C d'alloxane traités par la spiruline (10 mg/kg P.C/30j), la glycémie diminue de 2,6 à 1,60 g/L et l'insuline augmente à 7,2 $\mu\text{U/mL}$ (**Muthuraman et al., 2009**).

Les niveaux d'insuline marqué après le traitement de metformine des animaux diabétiques augmente de 37,70% (12,2 $\mu\text{U/mL}$; G4 vs G2) avec une insulino-résistance élevé 8,74 par rapport aux témoins après 50 j. Alors que les animaux non diabétiques traités avec la

metformine n'ont pas enregistré de variations significatives des niveaux d'insuline ou de HOMA-IR en comparaison avec le groupe témoin (**figure 16 (B)**).

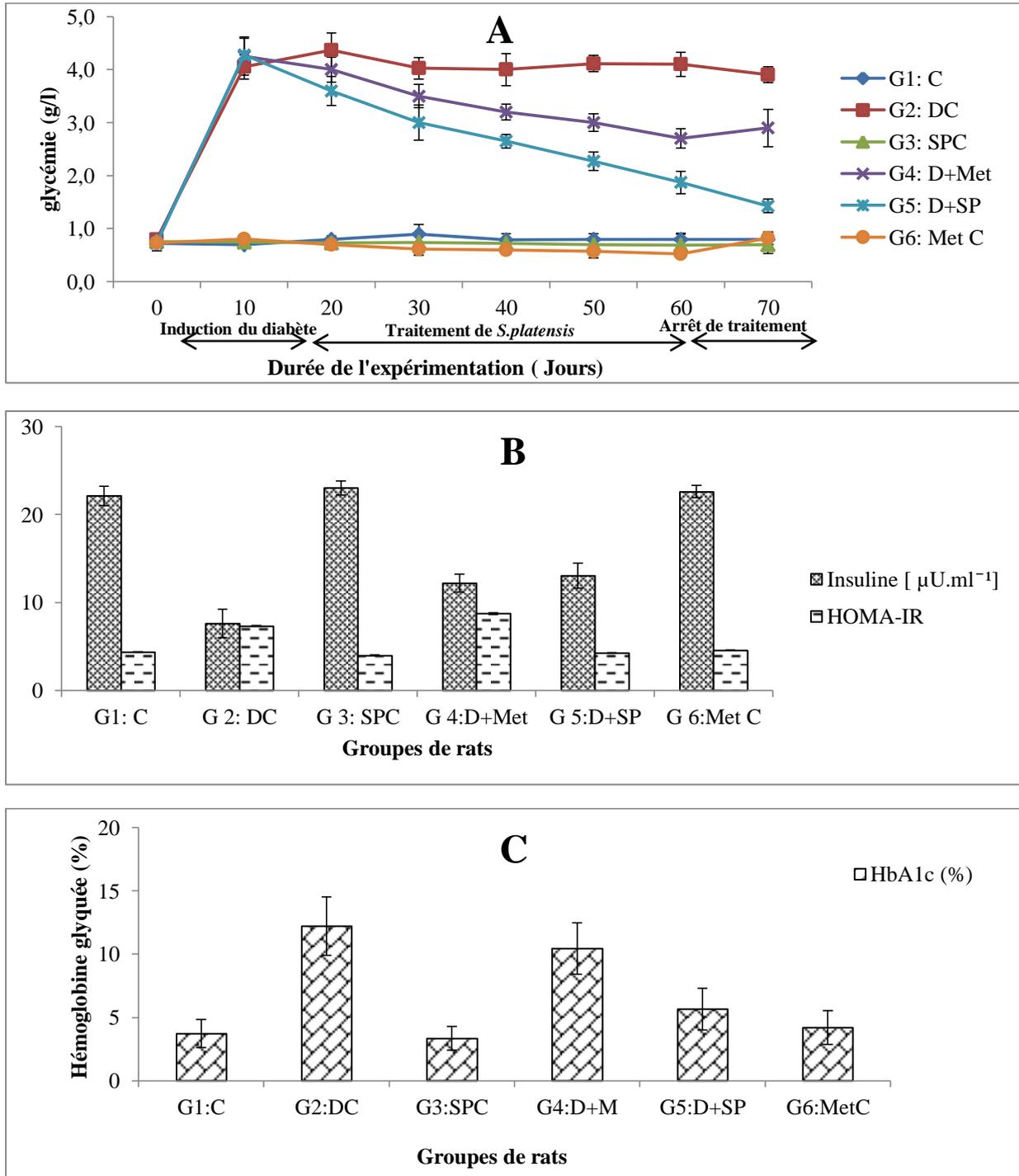


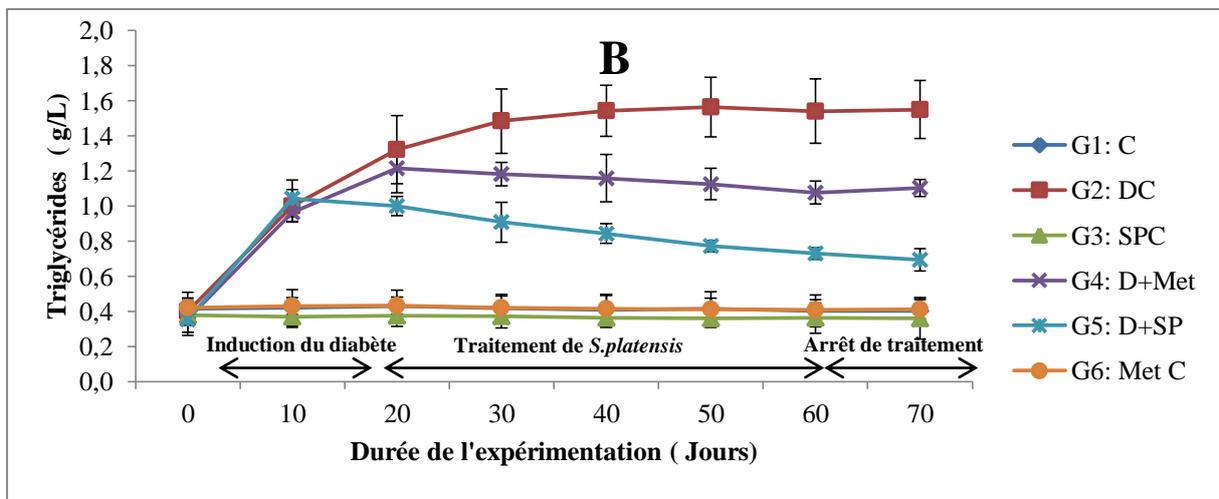
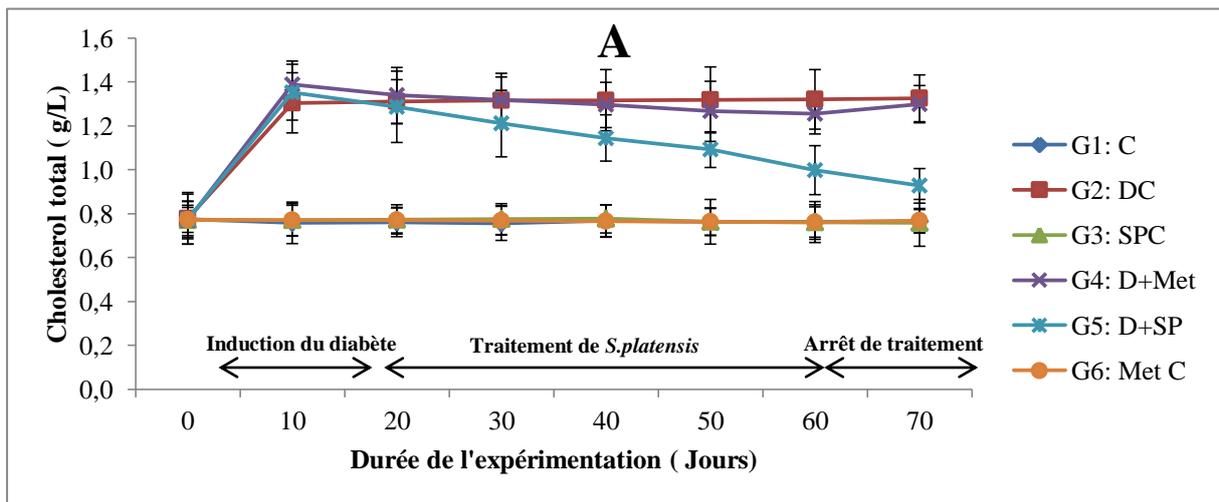
Figure 16: La glycémie, l'insulinémie, l'indice HOMA-IR et l'hémoglobine glyquée des rats diabétiques de type 1.

La glycémie (A), l'insulinémie, l'indice HOMA-IR (B), l'hémoglobine glyquée (C). C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

En plus de la glycémie et l'insulinémie, l'activité antidiabétique de SP est testée en utilisant le dosage d'HbA1c à la fin de l'expérimentation (**Figure 16 C**). Un taux très élevé d'HbA1c a été noté chez les rats diabétiques par rapport aux témoins (12,22 vs 3,73%). L'HbA1c des rats diabétique traité avec 10% de SP diminue très significativement (5,67 vs 12,22 ; G5 vs G2). La spiruline a montré son effet plus efficace que la metformine.

B. Profil lipidique

Les variations faites au profil lipidique ont été suivies et évaluées au niveau sérique des rats normaux, diabétiques et diabétiques traités au bout de 70 jours, **Figure 17 (A-E)**.



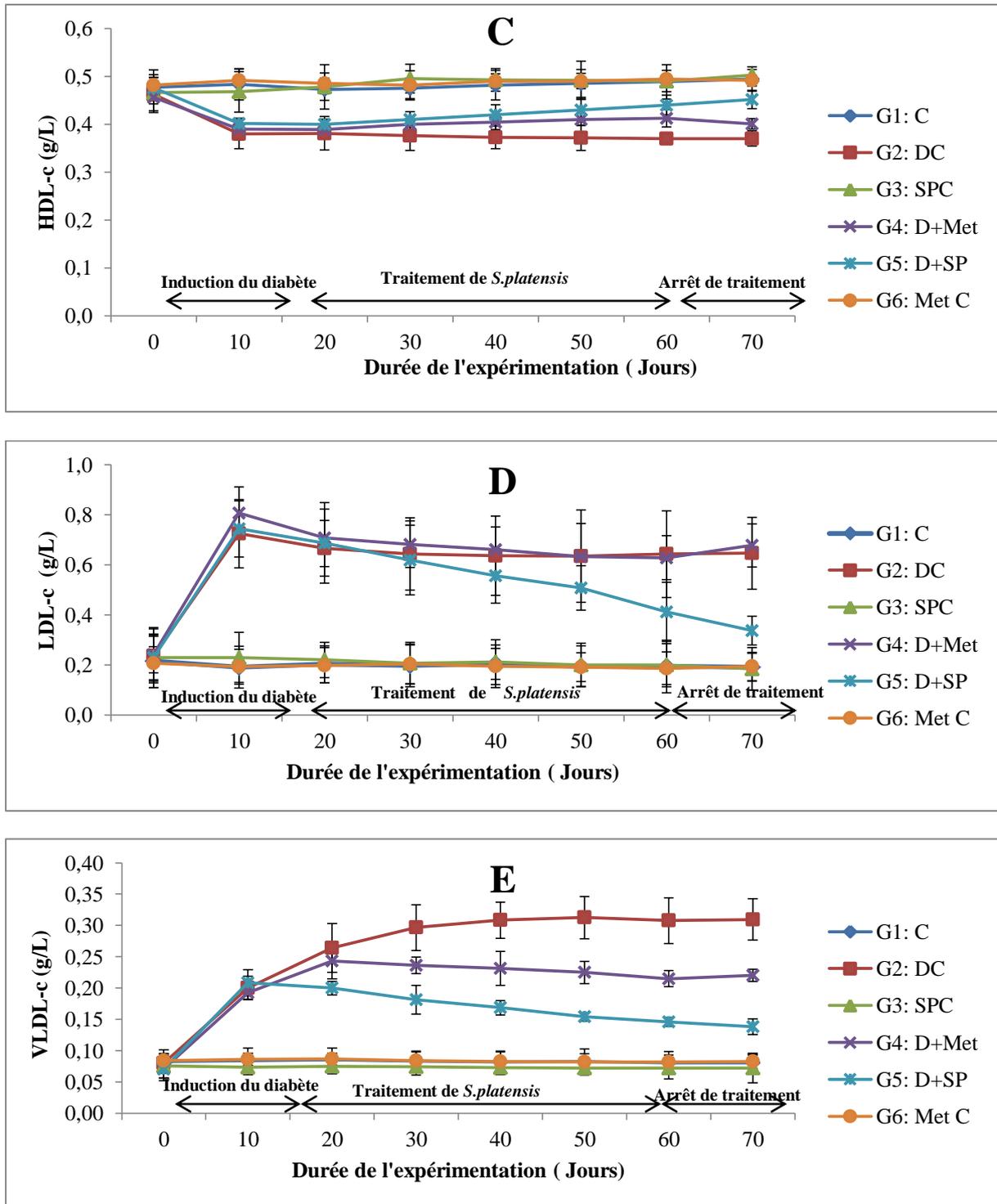


Figure 17: Profil lipidique chez les différents groupes de rats diabétiques de type 1.

Le cholestérol total(A), les triglycérides (B), les HDL-c (C), les LDL-c (D) et les VLDL-c (E). C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

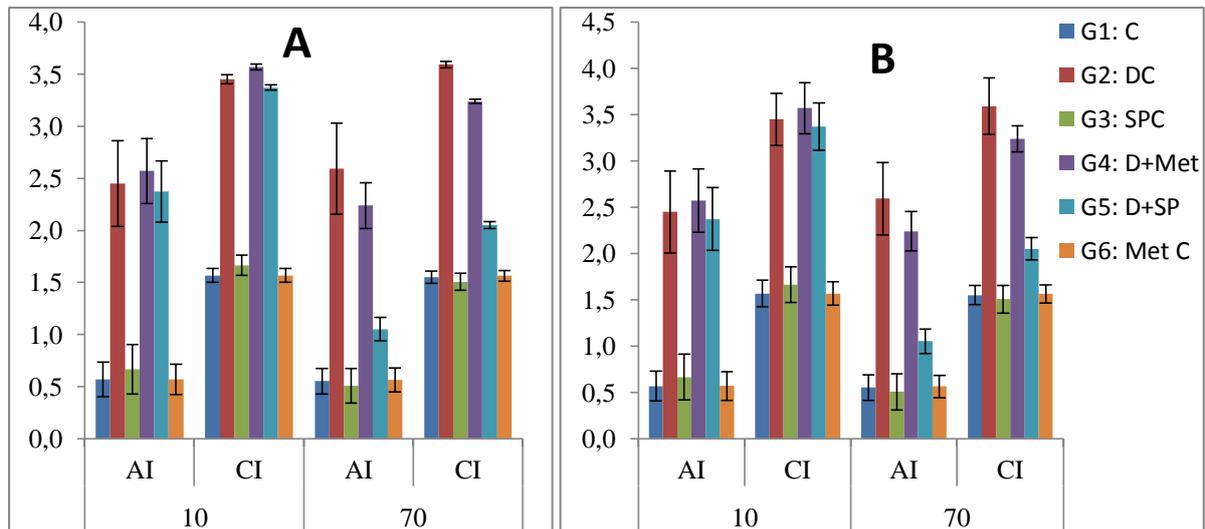


Figure 18: Estimation des risques cardiovasculaires des rats diabétiques de type 1

CAI, HTR (A) et AI, CI (B). C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

Les concentrations plasmatiques du cholestérol total, triglycéride, et LDL-c sont très significativement ($p \leq 0,05$) élevées chez le groupe diabétique (G2 : DC) avec des pourcentages allant jusqu'à (40,15 ; 60 et 67,40% ; respectivement) contrairement aux HDL-c qui ont marqué un pourcentage plus bas (17,92%) après l'induction de diabète. Le traitement avec la SP a très significativement ($p \leq 0,001$) amélioré le profil lipidique en diminuant les concentrations de cholestérol total, triglycéride, et LDL-c par 26,23 ; 29,80 et 44,55% et une augmentation de HDL-c avec 8,86% après 50 j de traitement par rapport au groupe diabétique contrôle (G2). Le traitement de metformine (G4 : D+Met) a amélioré le profil lipidique mais avec des pourcentages plus faibles par rapport au traitement de SP (une diminution de 9,64 ; 11,52 ; 22,08% pour le cholestérol total, triglycéride, et LDL-c respectivement) contrairement au HDL-c (5,57%) (**Figure 17**).

Le cholestérol total, triglycéride, et LDL-c continuent à diminuer par 7,21 ; 5,48 ; 18,20% respectivement les derniers 10 jours. Le HDL-c continue à augmenter par 2,44% du G5 contrairement au G4 après l'arrêt de traitement (de 60 j au 70j). Le taux de cholestérol total, LDL-c et de triglycérides est de 1,08 ; 1,05 g/L et de 0,64 ; 0,42 g/L et de 1,05 ; 2,37g/L des rats diabétiques induit par 32 g/kg de P.C d'alloxane et des rats diabétiques nourris de régime contenant 17% de SP pendant 44 jours respectivement (**Moura et al., 2011**).

C. Risque cardiovasculaire

L'altération du métabolisme lipidique et des lipoprotéines dans le diabète sucré est associée à l'athérosclérose et aux maladies cardiovasculaires. Une faible concentration de

HDL-c peut être considérée comme un facteur de risque supplémentaire, alors qu'une concentration élevée de celui-ci est un facteur de protection (Manninen et al., 1992 ; Bouazza et al., 2015). Du fait, la **figure 18** montre la relation entre les paramètres de profil lipidique présentées comme des indices de risque cardiovasculaire après induction de diabète (10j) et à la fin (70j). Le diabète induit par l'alloxane augmente très significativement ($p \leq 0,001$) le risque cardiovasculaire (indice cardiaque, indice d'athérogénicité, et le ratio du risque cardiovasculaire) en comparaison aux contrôles. Cependant, le traitement par la SP a corrigé significativement ($p \leq 0,001$) ces indices et a montré son efficacité par rapport la metformine. Le ratio HTR (HDL-c et cholestérol total) est inversement lié aux risques cardiovasculaire (**Figure 18**).

D. Profil hépatique

Les résultats de cette étude ont montré que l'injection d'alloxane a causé la dépréciation de la fonction hépatique, comme indiqué dans la **figure 19** par l'augmentation significative d'ASAT, d'ALAT et de PAL sériques des rats diabétiques.

Des augmentations significatives ($P \leq 0,001$) des marqueurs enzymatiques de la fonction hépatique (ASAT, ALAT et ALP) ont été enregistrées chez des rats diabétiques par rapport au groupe contrôle (140,13 ; 81,13 et 104,71 UI/l) avec des pourcentages de (31,70 ; 32,45 et 46,52% respectivement) (**Figure 19**). Des résultats comparables ont été notés par **Fatima et al. (2010)**. Le traitement des rats diabétiques par la SP (G5 : D+SP) a réduit ($p \leq 0,001$) l'activité de ces marqueurs enzymatiques par rapport au groupe diabétique non traité (G2 : DC) avec 20,74 ; 22,26 et 13,90% respectivement pour ASAT, ALAT et ALP. Le groupe traité de metformine (G4 : D+Met) a noté des diminutions plus faible ($p \leq 0,05$) que celles du G5 avec 14,27 ; 13,86 et 10,96% des ASAT, ALAT et PAL respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Shokeen et al. (2008)**.

L'arrêt de traitement aux 10 derniers jours a été marqué par l'effet bénéfique de la SP noté par la diminution des ASAT, ALAT et PAL (5,97 ; 9,95 et 6,92%) respectivement du G5 : D+SP. contrairement aux rats diabétique traité par la metformine (G4 : D+Met) (**Figure 19**).

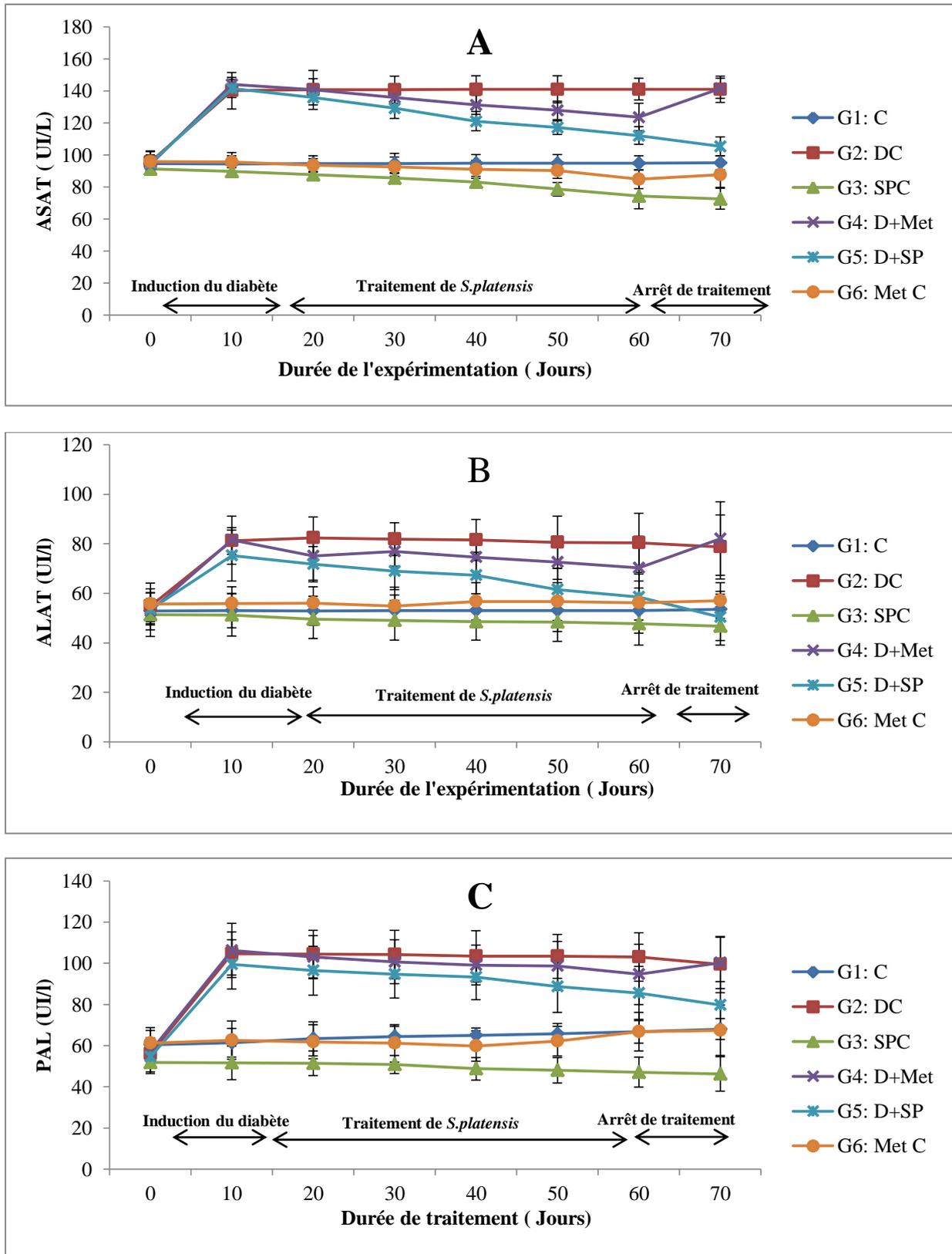


Figure 19: Profil hépatique des différents groupes de rats diabétiques de type 1.

ASAT (A), ALAT(B) et PAL (C). C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

E. Profil rénal

Le diabète est la principale cause d'insuffisance et dysfonctionnement rénal (Bethesda, 2001 ; Icks et al., 2009). La figure 20 montre les variations des taux plasmatiques de profil rénal des différents groupes pendant 70 jours.

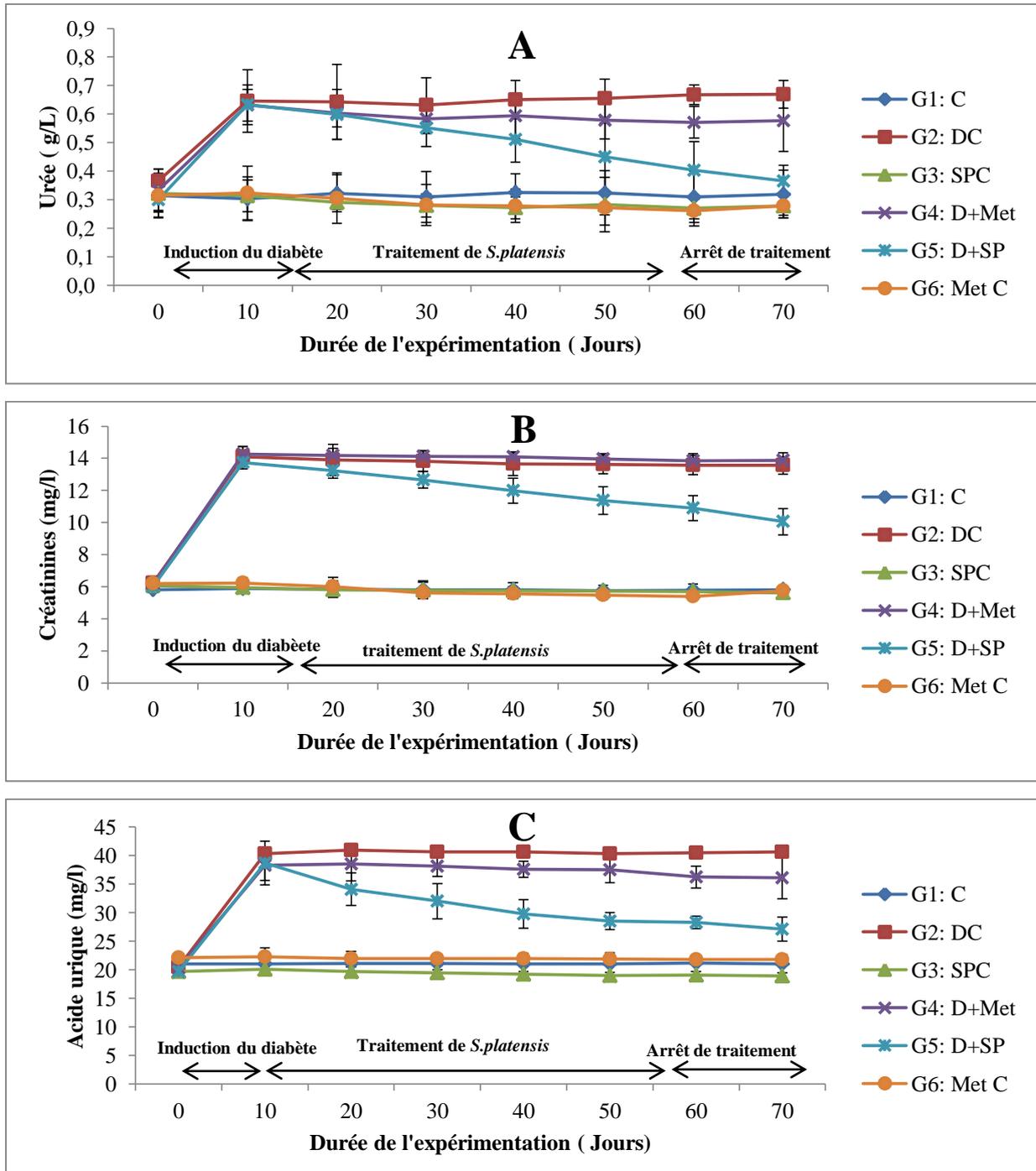


Figure 20: Profil rénal des différents groupes de rats diabétiques de type 1.

L'urée (A), la créatinine (B) et l'acide urique (C). C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

Les valeurs d'urée, de créatinine, et d'acide urique sont altérées ($p \leq 0,001$) chez le groupe G2 : DC (0,65 g/L ; 14,11 mg/L ; 40,34 mg/L avec (43,07 ; 55,91 et 49,25% respectivement) après l'injection d'alloxane en comparaison aux animaux contrôles (0,30 g/L ; 5,88 mg/L et 40,34 mg/L) (**Figure 20**). Les mêmes observations ont été notées par **Fatima et al. (2010)**. L'administration de SP pendant 50 j a restauré de façon significative ($p \leq 0,001$) les fonctions rénales par 36,50 ; 20,62 et 26,82% respectivement pour l'urée, la créatinine et l'acide urique. La metformine (G4 : D+Met) a enregistré des pourcentages inférieurs par rapport au G5. Résultats semblables à ceux trouvés par **Kuhad et al. (2006)**. L'arrêt de traitement a été caractérisé par des valeurs qui se rapprochent à la normal du G5 contrairement au G4.

F. Protéines sériques

La SP est évaluée pour son effet sur le taux de protéines sérique associé au diabète induit par l'alloxane (**Figure 21**).

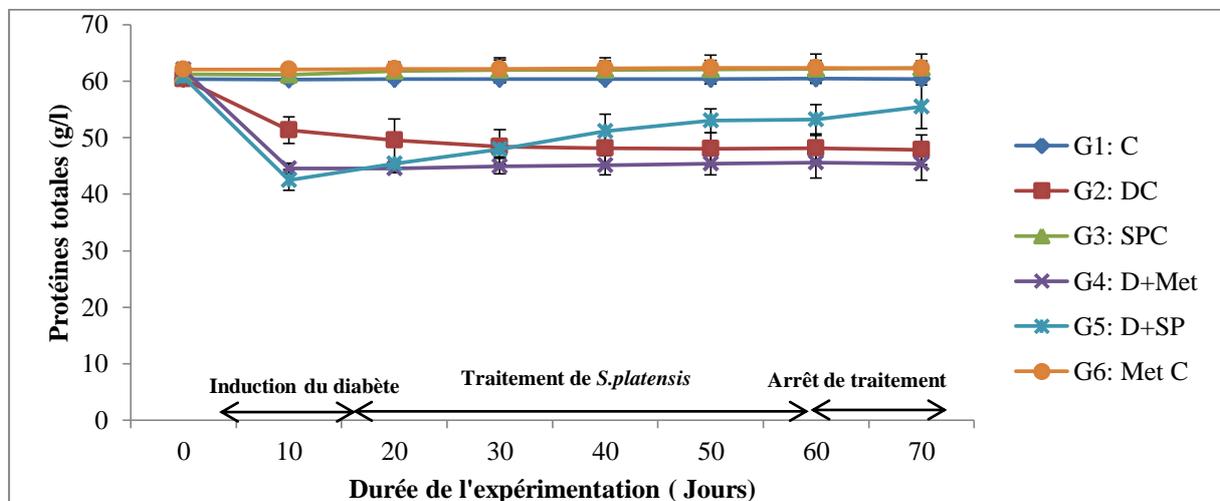


Figure 21: Protéines totales des différents groupes de rats diabétiques de type 1.

C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

Le groupe de rats diabétiques montre une réduction significative ($p \leq 0,001$) du taux de protéine sérique en moyenne de (46 vs 60 g/L) et de 14,86% (G2 : DC vs G1 : C). Pour le groupe traité avec la SP (G5), les résultats montrent un taux significativement amélioré en protéine qui se rapproche des valeurs normales ($55,50 \pm 3,85$ g/L) ($p \leq 0,05$) à la fin de l'expérience en comparaison aux rats diabétiques non traités (G2). La SP a continué son effet positif sur le paramètre protéines totales sériques même après arrêt de traitement sur les rats diabétiques (**Figure 21**).

La SP (G5 : D+SP) a donné de meilleurs résultats en comparaison avec la metformine (G4 : D+Met) dans la majorité des paramètres biochimiques étudiés (**Figure 21**). L'apport de SP au groupe 3 (SPC) n'a pas réduit le profil biochimique étudié d'une façon non significative des rats non diabétiques après 50 jours, résultats confirmés par **Lee et al. (2008)** après 12 semaines d'intervention, dans les groupes de patients ayant reçu 40 pilules contenant 0,2 g de lyophilisat de SP (8 g/jour). Cependant, l'administration de cette algue chez les rats normaux conduit à une réduction de la glycémie de 0,87 à 0,74 g/L (**Muthuraman et al., 2009**).

G. Evaluation des oligoéléments

Les oligoéléments Sodium (Na), Chlore (Cl) et Potassium (K) sont déterminé au niveau plasmatique dans la **figure 22**. On note une diminution significative ($p \leq 0,01$) des électrolytes avec de (3,65 ; 6,28 et 12,38 respectivement) après l'injection d'alloxane (G2 vs G1). Le traitement avec la spiruline des rats diabétiques du G5 : D+SP semble avoir un effet positif et significatif ($p \leq 0,05$) sur les 3 électrolytes étudiés avec une augmentation du taux du Na^+ , de 3%, du Cl^- de 5%, et du K^+ de 10% après 50 j. Le Groupe diabétique traité par la metformine (G4 : D+Met) n'a pas été noté de changements significatives. L'arrêt de traitement n'a pas été marqué par de changements significatifs.

Selon **Vallon et al. (1999)**, les concentrations plasmatiques de sodium et chlorure n'a pas été significativement modifiés chez des rats diabétiques induits par 65 mg/kg de P.C de streptozotocine (140 mEq/L ou mM et 103 mEq/L ou mM respectivement) par rapport aux rats témoins (141 mEq/L ou mM et 106 mEq/L ou mM respectivement), tandis que la concentration en ions potassium plasmatique était légèrement plus faible chez les animaux diabétiques (4,2 mEq/L ou mM) par rapport aux rats témoins (4,5 mEq/L ou mM).

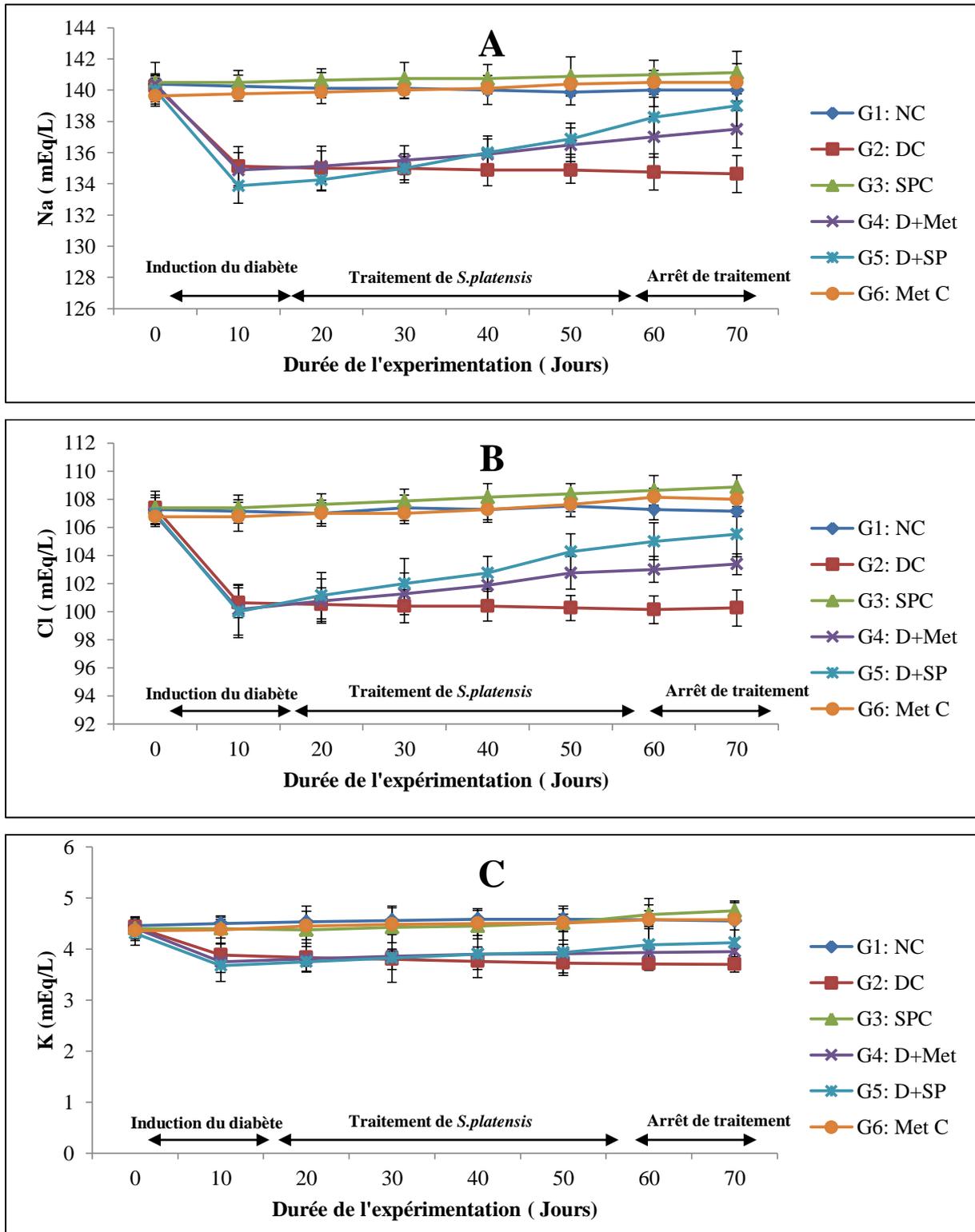


Figure 22: Les oligoéléments des différents groupes de rats diabétiques de type 1.

(A) Sodium Na^+ , (B) Chlore Cl^- et (C) Potassium K^+ . C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine, N=8 rats.

III.3.2.2. Les paramètres biochimiques du diabète de type 2

Les figures du 23 au 27, montrent les variations des paramètres biochimiques sériques des rats rendus diabétiques par 40% de fructose (Diabète II) au cours de 60 jours suivi de 10 jours d'arrêt de traitement (du 60 au 70 j) et les effets de l'algue SP sur le profil étudié.

A. La glycémie, l'insulinémie et l'hémoglobine glyquée

La glycémie augmente très significativement ($p \leq 0,001$) chez les rats diabétiques par 40% de fructose (G2, G3, G4 et G5) jusqu'à $\approx 1,70$ g/L, 56,28% après 1 mois et jusqu'à 2.22 g/L, 65,21% après 2 mois par rapport au groupe contrôle (0,8 g/L). Après l'administration de 10% de SP le 2^{ème} mois avec le fructose en continue (G2 : FC+SP), le taux de glucose dans le sang diminue de manière très significative ($p \leq 0,001$) par 40,93% (de 1,71 à 1,01 g/L) contrairement au G4 : FC+Met (de 1,69 à 1,16 g/L) avec 31,36% par rapport aux contrôles. Le fructose augmente la glycémie de 0,74 à 1,68 g/L, mais diminue très significativement de 48,21% (G5 : F+SP vs G1 : C) après le remplacement du fructose par la SP. L'administration de SP aux rats normaux (G6 : SP+F vs G1 : C ; 1 mois) a prévenu l'hyperglycémie et a assuré sa stabilité même après l'apport de fructose **Figure 23 (A)**.

Selon **Kamalpreet et al. (2008)**, les deux niveaux de glycémie à jeun et postprandiale diminuent de 16,3 ; 12,5 ; 21,8 et 18,9% chez les patients diabétiques de type 2 traités par 1g et 2 g de SP/jour pendant 2 mois respectivement.

Un régime riche en fructose (G2 : FC vs G1 : C) induit une diminution significative de l'insuline (48,91%) entraînant une augmentation de l'indice HOMA-IR de 29,63% respectivement (**Figure 23, B**). Les mêmes résultats ont été notés par **Castro et al. (2015)**.

Après l'ajout de spiruline aux animaux diabétiques (G3 : CF+SP), une augmentation significative des taux d'insuline sérique (11,84%) avec un indice HOMA-IR inférieur (13,80%) ont été enregistré. Cependant, l'amélioration est marginal des rats hyperglycémiques traité par la metformine du G4 ; 15,07 μ U/mL, 25% d'insuline et 5,74 de HOMA-IR (7,56%) par rapport à leur homologue diabétique du G2. Les animaux nourris de fructose (1 mois) et traité par la SP durant le 2^{ème} mois (G5 : F+SP) ont enregistré un niveau d'insuline de 21,6 μ U/mL légèrement inférieur à celui des animaux témoins avec un indice HOMA-IR de 4,51. Par contre le traitement préventif du groupe 6 (SP+F vs G1 : C) a enregistré un taux d'insuline et un indice de HOMA-IR normaux (22,5 μ U/mL vs 22,11 μ U/mL) et (4,11 vs 4,37) (**Figure 23, B**).

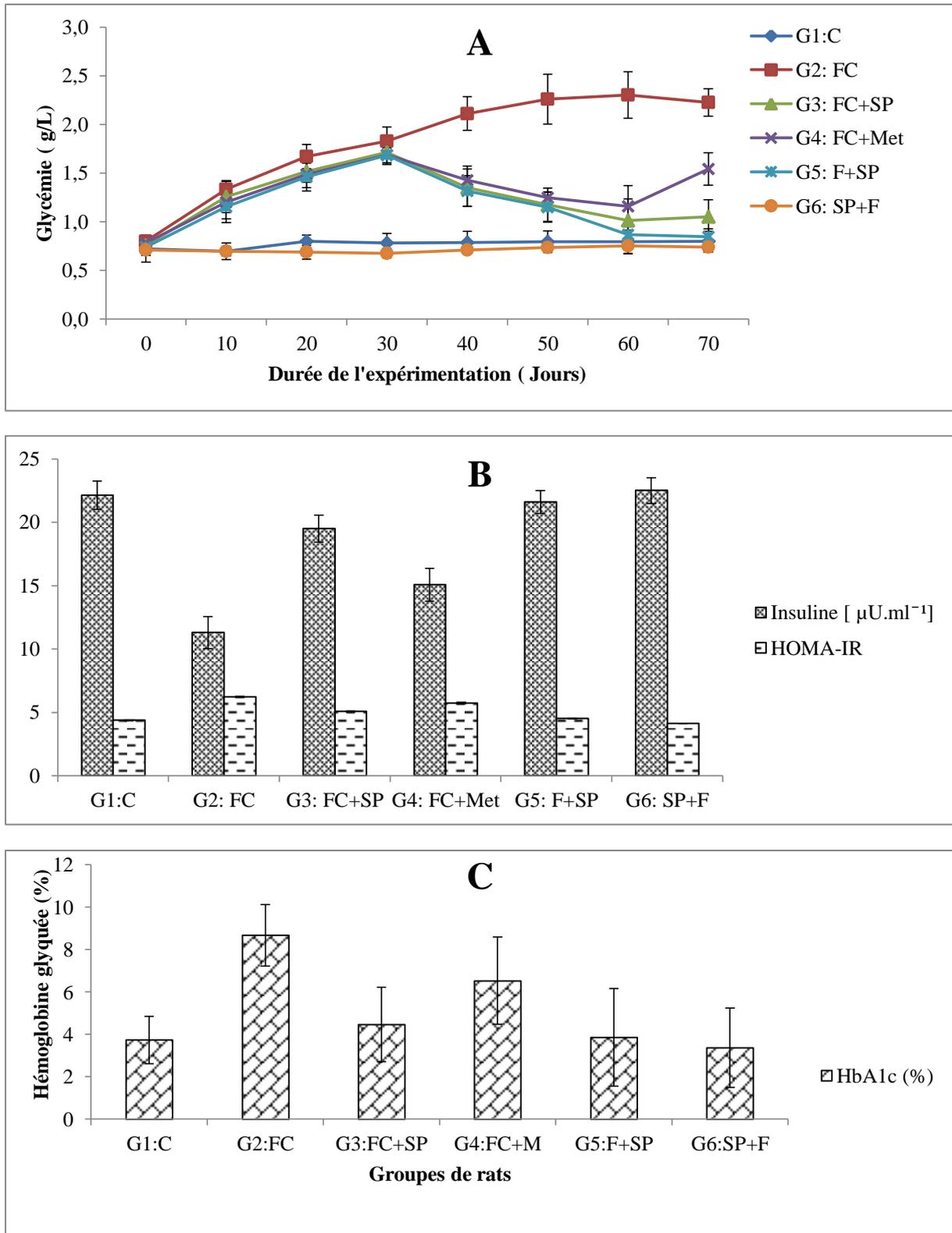


Figure 23: La glycémie, l'insulïnémie, l'indice HOMA-IR et l'hémoglobine glyquée des rats diabétiques de type 2.

La glycémie (A), l'insulïnémie, l'indice HOMA-IR (B) l'hémoglobine glyquée (C). C : Contrôle ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

Un taux élevé d'Hb1Ac a été noté chez les rats diabétiques par rapport au témoins (8,67 vs 3,73%, $p \leq 0,001$) à la fin de l'expérimentation. Après le traitement de SP, l' Hb1Ac diminue très significativement (4,46 vs 8,67 ; G3 vs G2). La SP a montré son effet plus efficace que la metformine. Cependant la spiruline prévient l'augmentation de Hb1Ac (G6) (**Figure 23, C**).

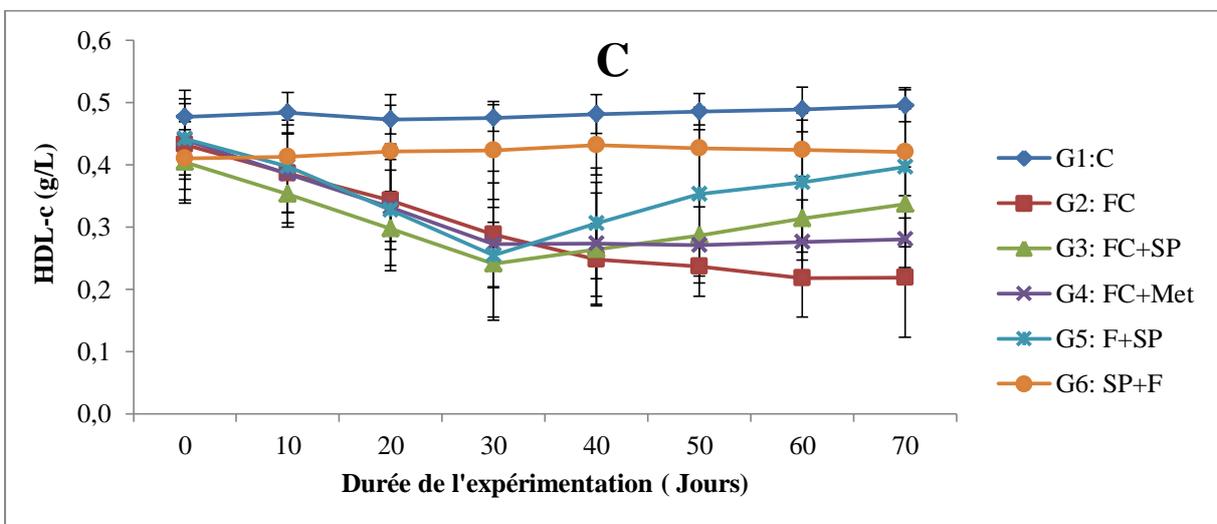
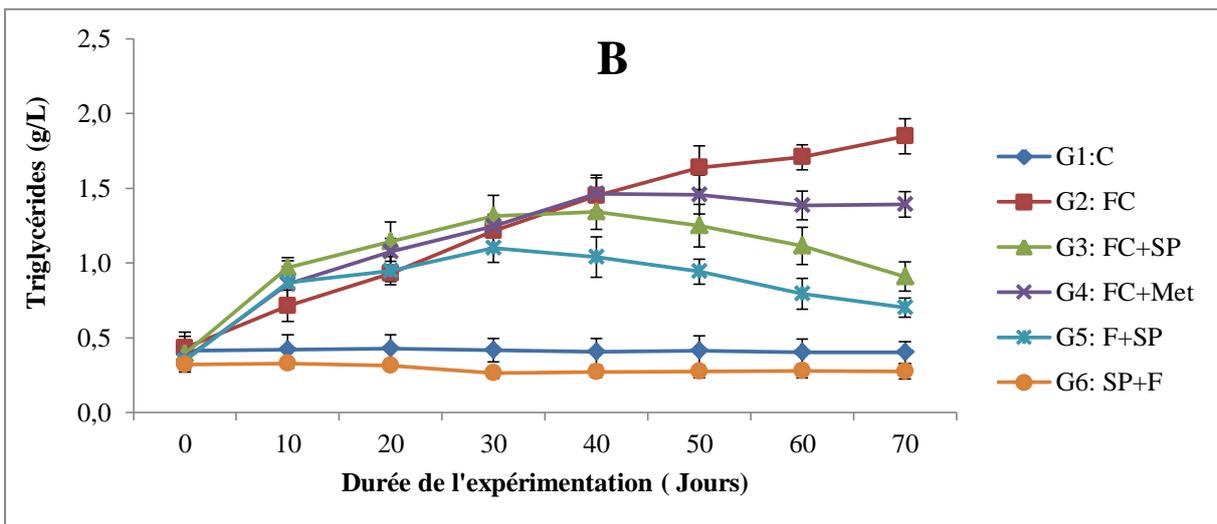
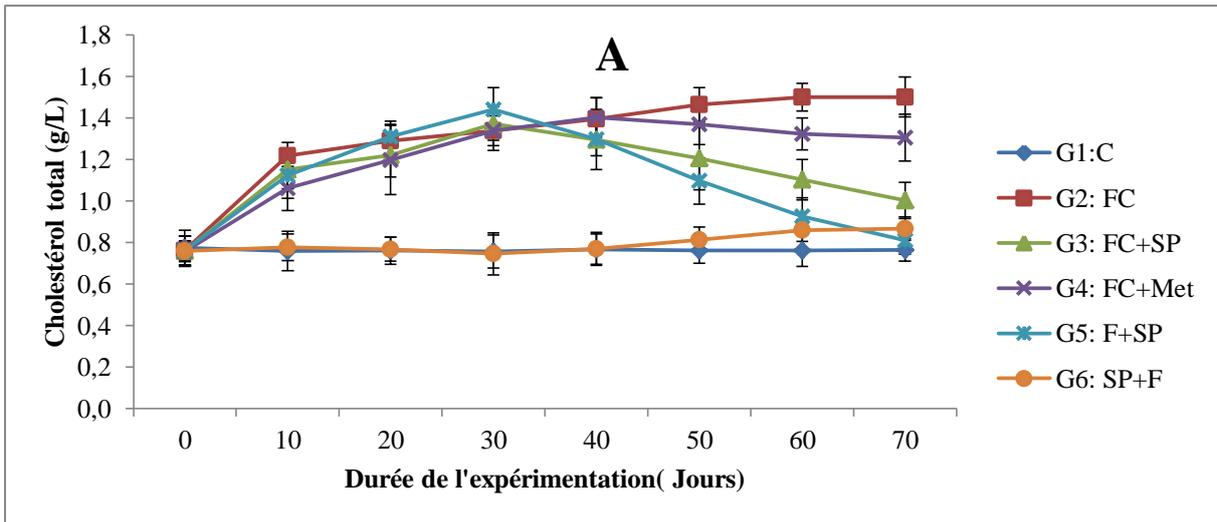
B. Profil lipidique

Dans **la figure 24**, le régime hypercalorique de fructose (G2 : FC vs G1 : C) augmente très significativement ($p \leq 0,001$) le cholestérol total par 43,24 et 49,33%, les triglycérides par 64,47 et 74,76%, et le LDL-c par 70,37 et 74,47% contrairement au HDL-c qui diminue de concentration par 33,48 et 49,65% au bout de 30 et 60 jours respectivement. Cependant, il est intéressant de constater que la SP à une dose de 10%, a non seulement réduit significativement le taux de ces derniers de 19,54 ; 15,15 et 34,48%, respectivement, mais aussi elle a amélioré le niveau de lipides cardio protecteur (HDL-c) de 23,25% après 30 jour.

Le traitement préventif de SP a amélioré le déséquilibre de la majorité des paramètres lipidiques que le traitement curatif (G6 : SP+F ; G5 : F+SP vs G1 : C).

Dans l'étude portée sur des souris, la supplémentation de 16% P dans un régime alimentaire gras et de cholestérol élevé a entraîné une réduction significative de cholestérol total, LDL-c, VLDL-c et les phospholipides sérique alors que HDL-c a augmenté simultanément (**Kato et al., 1984**). Ces résultats ont été vérifiés avec les hamsters et le lapin par (**Riss et al., 2007 ; Colla et al., 2008**).

La **figure 24, F**, montre l'estimation du risque cardiovasculaire des différents groupes de rats après 70 jours d'expérimentation. Le régime riche en fructose a élevé très significativement ($p \leq 0,001$) le risque cardiovasculaire (Indice cardiaque, indice d'athérogénicité, et le ratio du risque cardiovasculaire) (G2 : FC vs G1 : C). Cependant, le traitement par la SP a corrigé significativement ($p \leq 0,01$) ces indices. Contrairement au ratio HTR (HDL-c et cholestérol total) qui est inversement lié aux risques cardiovasculaire.



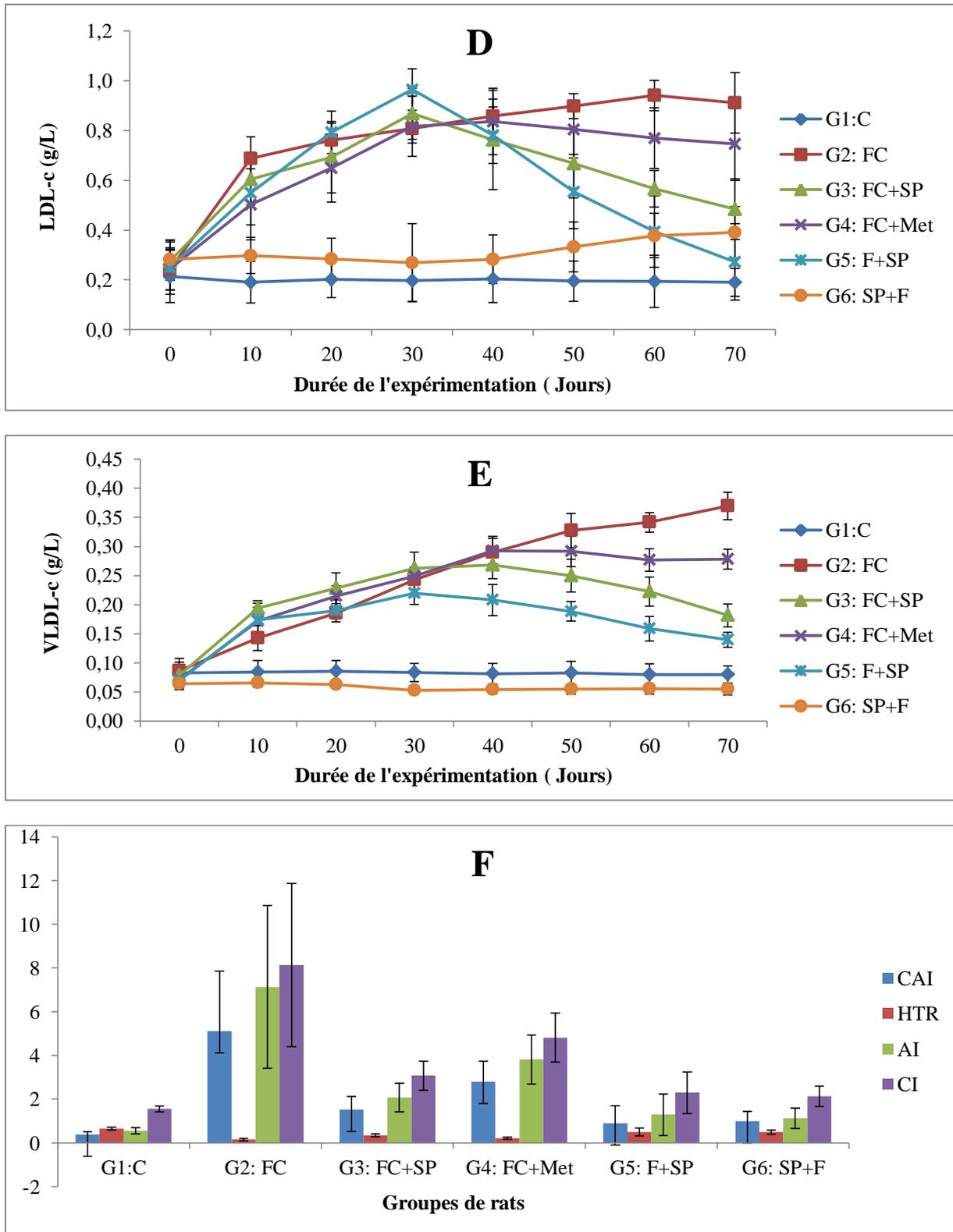


Figure 24: Profil lipidique et les risques cardiovasculaires des rats diabétiques de type 2.

Le cholestérol total (A), les triglycérides (B), les HDL-c (C), les LDL-c (D), les VLDL-c (E) et les paramètres des risques cardiovasculaires (F). C : Contrôle ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

C. Profil hépatique

La figure 25, montre les marqueurs enzymatiques reflétant les dommages de la fonction hépatique des rats expérimentaux.

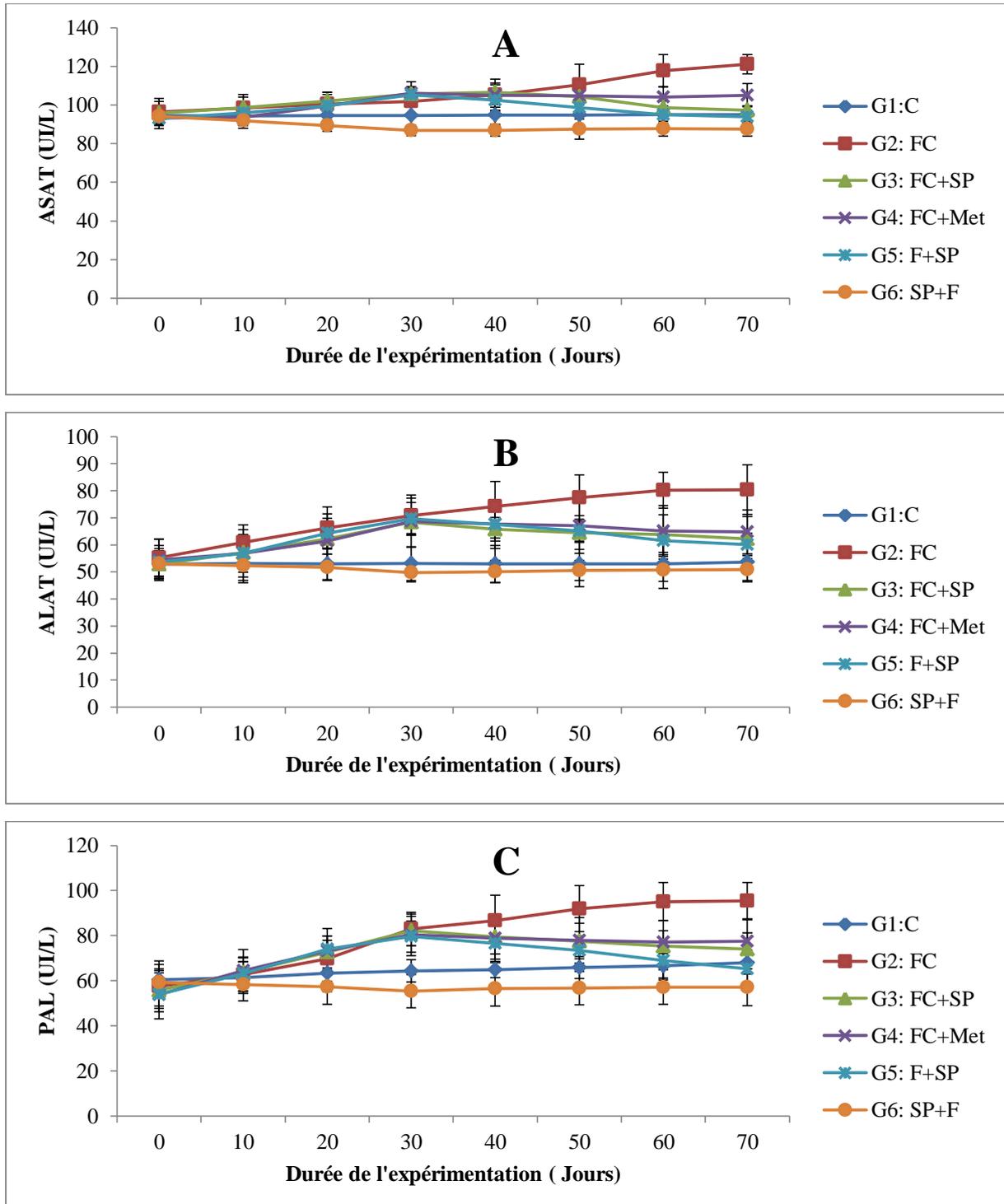


Figure 25: Profil hépatique des différents groupes de rats diabétiques de type 2.

ASAT (A), ALAT(B) et PAL(C). C : Contrôle ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

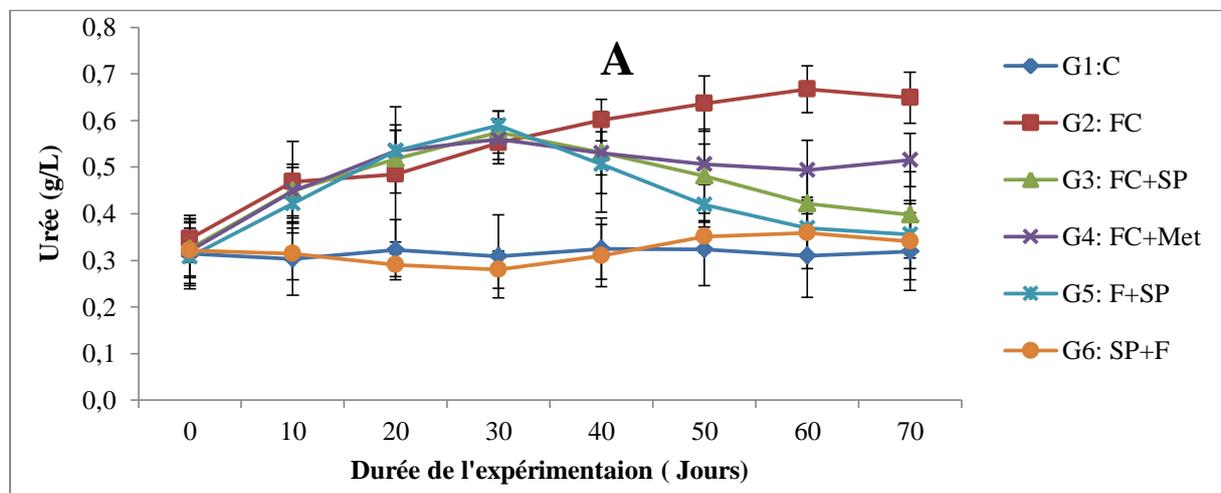
Les rats rendus diabétiques par le fructose ont montré des concentrations élevées d'ASAT, ALAT et PAL sérique en comparaison avec les animaux témoins avec (5,40 ; 21,90 et 30,72% respectivement au bout de 30 j), et 18,14 ; 31,05 et 39,55% respectivement au bout de 60 j). Le traitement des rats diabétiques par la SP a amené les activités de profil hépatique à des niveaux proches de la normale d'une façon très significative ($p \leq 0,001$). Cependant le G6 : SP+F présente les meilleurs résultats par rapport aux autres groupes (**figure 25**).

D. Profil rénal et protéines totales

Les variations des paramètres du profil rénal et le taux de protéines totales des rats sains et diabétiques sont mentionnés dans la **figure 26**.

La **figure 26**, de profil rénal montre une augmentation significative ($p \leq 0,01$) de l'acide urique, la créatinine et l'urée chez le groupe diabétique (G2 : FC vs G1 : C) avec 47,76 ; 57,56 et 46,06%, respectivement durant 60 jours. Chez les groupes traités par la SP (G3 : FC+SP), on note que ces paramètres atteignent une stabilité comparable à celle des rats contrôles. Un pré-traitement avec la SP à une dose de 10% (G6 : SP+F) améliore l'évolution de la plupart des paramètres sériques étudiés. Les résultats indiquent que cette algue réduit efficacement les problèmes rénaux induits par le diabète sucré.

L'évaluation de l'effet de SP sur le taux de protéines totales sérique des rats diabétiques au fructose (**Figure 26, E**). Les rats diabétiques montrent une réduction significative de 11% du taux de protéine sérique par rapport aux contrôles. Après le traitement de SP pendant 30 jours, on note que le paramètre se rapproche de la normale. Les G5 : F+SP et G6 : SP+F, n'ont pas noté de variations significatives de taux de protéine après 60 j.



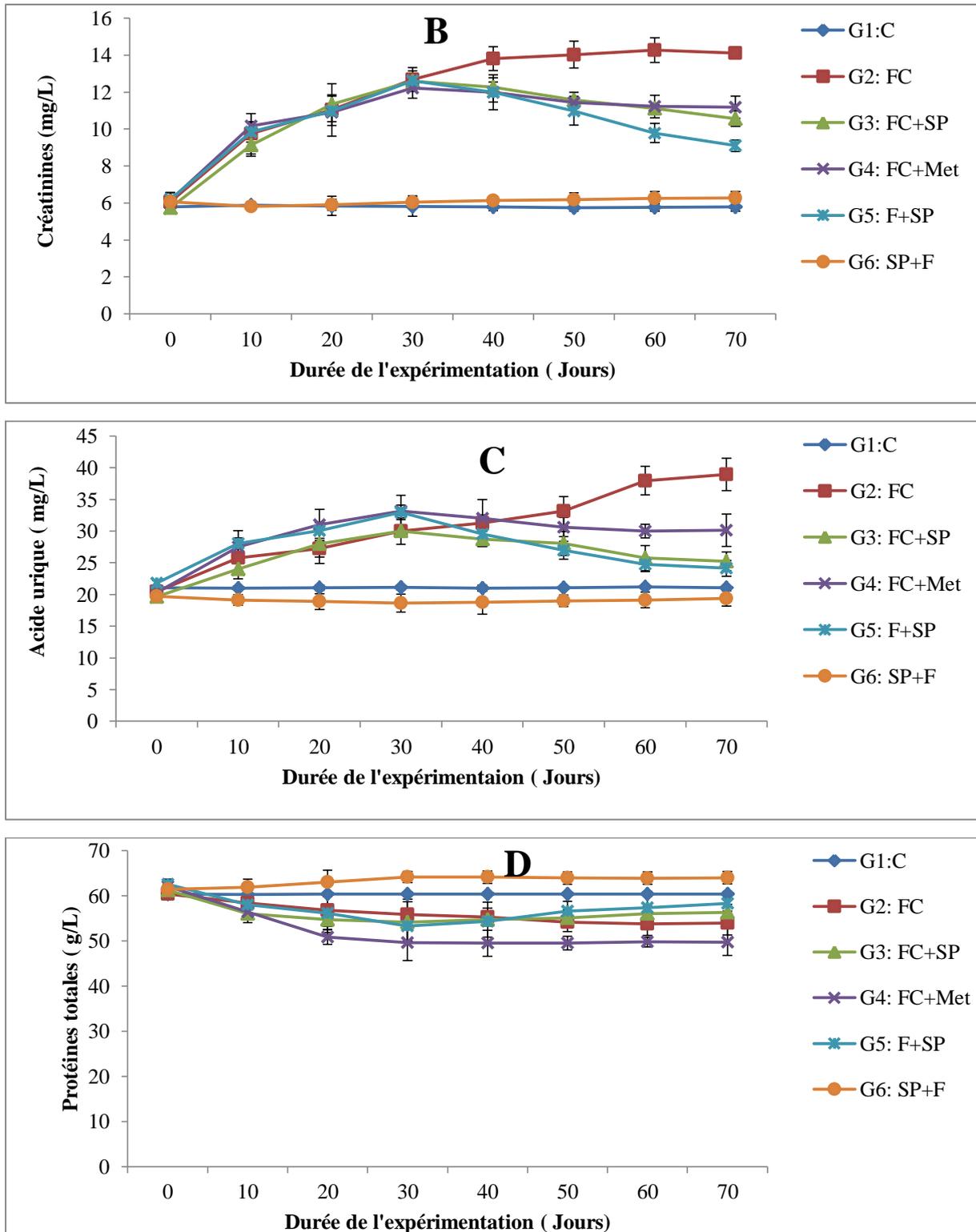


Figure 26: Profil rénal et les protéines totales des rats diabétiques de type 2.

L'urée (A), la créatinine (B), l'acide urique (D) et les protéines totales (E). C : Contrôle ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

E. Les oligoéléments

La figure 27, montre les variations des concentrations des oligoéléments (Na), Chlore (Cl) et Potassium (K) plasmatiques des différents groupes d'animaux.

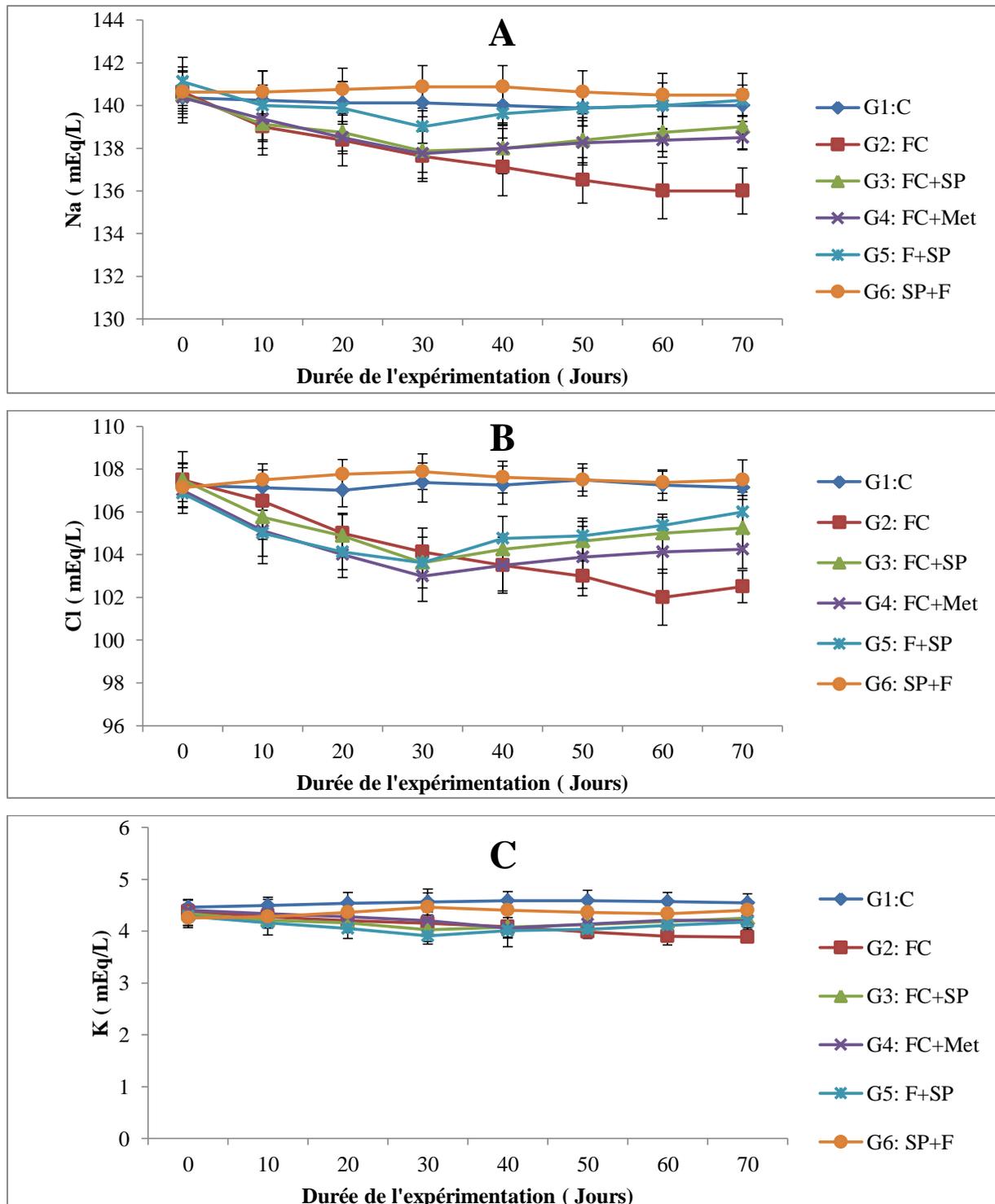


Figure 27: Oligoéléments des différents groupes de rats diabétiques de type 2.

(A) Sodium Na^+ , (B) Chlore Cl^- et (C) Potassium K^+ . C : Contrôle ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

Une diminution significative ($p \leq 0,05$) de Na, Cl et K avec 3,30 ; 5,11 et 11% respectivement après l'administration de 40% de fructose pendant 2 mois (G2 : FC) par rapport au contrôles. Le traitement avec la SP dans le G3 : FC+SP et G5 : F+SP et G6 : SP+F améliore non significativement le niveau des trois oligoéléments après 30 j de traitement (**figure 27**).

L'arrêt de traitement du 60 aux 70 jours, est marqué par une amélioration non significative des paramètres biochimiques étudiés des groupes de rats diabétiques traités par la SP. Cependant, cette microalgue a noté les meilleurs résultats par rapport à la la metformine.

Tableau 17: Dosage des métaux lourds des plasmas de rats diabétiques

Echantillons	Plomb « Pb »	Mercure « Hg »	Arsenic « As »	Cadmium « Cd »	Étain « Sn »	Bismuth « Bi »
Tous les groupes	<D.L.4, 2	<D.L. 6,1	<D.L. 5,3	<D.L. 0,25	<D.L. 9,6	<D.L. 3,4

D.L. Doses limites détectés par l'appareil, N=8.

Les résultats obtenus dans le **tableau 17** montrent de valeurs inférieures aux doses limites des métaux lourds étudiés au niveau plasmatique des différents groupes à la fin de l'expérimentation.

III.3.3. Etude du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut constituer un paramètre clé et commun dans la pathologie diabétique (**Sepici-Dincel et al., 2007**). Cependant, la SP constitue une source importante d'antioxydants naturels en particulier les polyphénols, les phycocyanines, les caroténoïdes, raison pour laquelle, plusieurs études d'algues vertes sont étudiées pour l'évaluation de et la compréhension de ses effets et mécanismes d'action. La SP est évaluée pour son effet sur l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPx et GRx), sur le statut antioxydant total (TAS) et sur les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sérique associées au diabète de type 1 (**DT1**) et II (**DT2**) (**Tableau 18**).

L'activité des enzymes antioxydantes est altérée après induction de diabète (G2). Pour le **DT1** l'activité de SOD, la GPx, et la GRx diminue très significative ($p \leq 0,001$) de 51,46 ; 52 et 26,64% respectivement, alors que pour le **DT2**, une diminution significative de 5,57 ; 34,35 et 20 % des paramètres étudié respectivement par rapport aux rats contrôles. Cette altération est réduite significativement après le gavage orale de 10% de SP (G5 : D+SP ; G3 : FC+SP et G5 : F+SP) en comparaison avec le groupe diabétique (G2) pour le **DT1** et **DT2**.

Le statut antioxydant total « TAS » diminue significativement ($p \leq 0,001$ et $p \leq 0,01$) avec 57,40 et 24% des rats diabétiques I et II (G2 : DC et G2 : FC, respectivement) par rapport au groupe contrôle. Après administration de SP (G5 : D+SP et G5 : F+SP) une amélioration significative de TAS est notée par 43 et 19,60% respectivement pour le **DT1** et **DT2** en comparaison au groupes diabétiques (G2). En revanche, la SP a prévenu la détérioration dûe au diabète dans le G6 : SP+F par rapport groupe diabétique. **Tableau 18**.

Le malondialdéhyde sérique (MDA), une mesure de la peroxydation lipidique analysée sous forme de substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS) augmente très significativement ($p \leq 0,001$) par 52,32 et 38,12% respectivement chez le groupe **DT1** et **DT2** (G2 : D et G2 : FC vs G1 : C) respectivement. Le traitement curatif de SP a significativement ($p \leq 0,001$) baissé le taux du MDA par 24,37 ; 9,83 et 4 %, des groupes G5 : D+SP, G3 : FC+SP et G5 : F+SP en comparaison avec le G2 des deux types de diabète étudiés respectivement. Alors que le traitement préventif de SP a prévenu significativement ($p \leq 0,001$) l'augmentation des niveaux de MDA du G6 : SP+F vs G2: CF même après 1 mois d'administration de fructose (**Tableau 18**).

Le traitement à la metformine des animaux diabétiques, des améliorations significatives des TAS, GPx, GRx et MDA ont été notées contrairement au SOD. Par ailleurs, pas de changement significatif des ces derniers paramètres chez les rats traités par la SP (G3 : SPC) mais une tendance vers des améliorations était évident (**Tableau 18**). La SP exerce une activité anti-oxydante *in vivo* et *in vitro* (Al-Azzawie et Alhamdani, 2006 ; Noda et al., 2007 ; Viuda-Martos et al., 2011).

Tableau 18: Effet de la spiruline sur l'activité des enzymes antioxydantes, le statut antioxydant total et les substances réactives de l'acide thiobarbiturique des rats diabétiques

Groups	TAS (mmol/L)	SOD (U/mL)	GPX (U/mL)	GRx (U/g protein)	TBARS (mmole/g protein)
DIABÈTE I (Alloxane)					
G1: C	1,08± 0,05	62,06± 5,20	8,56 ±0,62	24,32 ± 2,11	23,92 ± 2,34
G2: DC	0,46± 0,07‡	30,12 ± 6,35‡	4,11 ± 1,70‡	17,84 ±4,11‡	50,17 ±6,54‡
G3: SPC	1,32± 0,043	80,3 ± 4,12	9,43 ± 0,83	26,52 ±2,05	21,91 ± 2,21
G4: D+Met	0,58± 0,08*	40,41± 6,50**	5,31± 1,20***	18,44± 3,13	47,56 ± 4,70
G5: D+SP	0,81± 0,11**	57,85±8,20***	6,52±1,44***	21,17±3,63**	31,63 ± 5,7***
G6:Met C	1,17± 0,065	69,40± 5,00	8,91 ± 0,43	25,81 ± 2,21	22,37 ± 2,51
DIABÈTE II (Fructose)					
G2: FC	0,82± 0,17†	58,60± 5,93	5,62 ±2,24†	19,44 ±3,17†	38,66 ±5,05‡
G3: FC+SP	0,94±0,38	60,81±4,40	7,91 ± 1,73	21,56 ± 1,99†	26,53±3,43***
G4: FC+Met	0,77± 0,15‡	55,60 ± 4,39	6,13 ± 1,98†	20,34 ± 2,51†	34,77 ± 3,07‡
G5: F+SP	1,02± 0,09*	64,33±1,37*	8,72 ± 1,86*	22,70 ± 2,59	24,76±4,95***
G6: SP+F	1,20 ± 0,41	64,54± 5,05	9,37 ± 0,72**	25,82±1,48***	20,72±2,11***

†p≤0,01, ‡p≤0,001, en comparaison avec le Groupe 1. *p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001 en comparaison avec le groupe 2. C : Contrôle ; DC : Contrôle Diabétiques ; SPC : Contrôle *Spirulina platensis* ; D+Met : Diabétiques traités par la metformine ; D+SP : Diabétiques traités par la spiruline ; Met C : Contrôle Metformine ; FC : Fructose en Continue ; FC+SP : Fructose en Continue traité avec la spiruline ; FC+Met : Fructose en Continue traité par la Metformine ; F+SP : Fructose traité par la Spiruline ; SP+F : la spiruline suivie de Fructose. N=8 rats.

III.3.4. Histologie des organes

Afin de confirmer les résultats biochimiques trouvés, une étude histologique des organes a été faite et illustrée dans les **figures 28, 29 et 30** du pancréas, foie et reins des deux types de diabète I et II respectivement.

A. Pancreas

La figure 28 (a – f) montre qu'il n'y a pas de changement d'architecture dans l'histologie du pancréas des groupes contrôles (G1 : C) ou le groupe traité par la SP uniquement (G3 : SPC) avec des cellules endocrines de grande taille, cytoplasme granuleux fortement éosinophile, noyau vésiculeux clarifié signe de la synthèse nucléo-protéique (agglutination de la chromatine). En revanche, dans le G2 : DC après l'injection d'alloxane (Diabète type 1), on note la réduction de la taille des îlots marqué par une nécrobiose cellulaire (la mort cellulaire) (îlots lésé). Des îlots de taille modéré avec des cellules à noyaux actifs due probablement à la régénération des cellules β pancréatiques après l'administration de SP aux rats diabétiques (G5 : D+SP). Îlots de petites taille avec des cellules à noyaux rétractés et en nombre réduit (îlots encore malade) avec des foyers de restauration partielle (G4 : D+Met) et en fin l'administration orale de metformine (G6 : MetC) a noté une architecture d'îlots dans les limites de la normale avec des noyaux actifs et cytoplasme granulaire éosinophile **Figure 28 (a – f)**.

La figure 29 (a-e), montre l'état histologique du pancréas des rats rendus diabétiques par 40% de fructose (Diabète II) et des rats diabétiques traités. Une dégénérescence graduelle avec des îlots de Langerhans de petites tailles et de taille moyenne, peu altéré. Des noyaux encore normaux et d'autres pycnotiques en voie de caryorexie (Eclatement du noyau de la cellule, entraînant la mort de celle-ci). Congestion vasculaire des îlots et des acini dilatés autour des ceux-ci des rats diabétiques (G2 : FC). Le Groupe de rats diabétique traité par la SP (G3 : FC+SP) montre, deux petits îlots pancréatiques avec des cellules à noyaux actifs (régénératif). Cependant, des îlots de taille variables, des congestions vasculaires, restauration et régénération partielle de la population cellulaire associées à des cellules résiduelles altérées ont été observés dans le pancréas du Groupe 4 : FC+Met. Le G5 : F+SP a noté un pancréas endocrine avec des îlots de taille moyenne et un pancréas exocrine formé d'acini et canal excréteur. En fin, un pancréas avec des îlots sain est observé dans le groupe de rats préventif du diabète (G6 : SP+F).

B. Foie

L'histologie du foie des groupes contrôle et traité par la SP (G1 : C et G3 : SPC) montre un parenchyme hépatique sensiblement normal avec une unité fonctionnelle formée d'un espace porte (EP), d'une veine Centro-lobulaire (VCL), les hépatocytes et les travées hépatocytaires (TH) avec un cytoplasme granuleux. Chez les animaux diabétiques, on remarque une légère dégénérescence granulaire des hépatocytes avec une veine centro-lobulaire dilatée (G2 : DC). Le foie des animaux diabétiques traité par la metformine (G4 : D+Met) a enregistré une hypertrophie des cellules hépatocytaires noté par un gonflement des cellules et des infiltrats inflammatoires (IF) autour des VCL et EP. Alors que pour le groupe diabétique traité par la SP (G5 : D+SP), on note un parenchyme sain et retour du foie à la normal. Une restauration et une régénération hépatocytaires avec certaines hépatocytes en dégénérescence graisseuse, espace porte et veine centro-lobulaire. Des infiltrats inflammatoires d'intensité modérée au niveau de certaines espaces portes (due au Metformine) selon les zones examinées (G6 : Met C). **Figure 28 (g – l).**

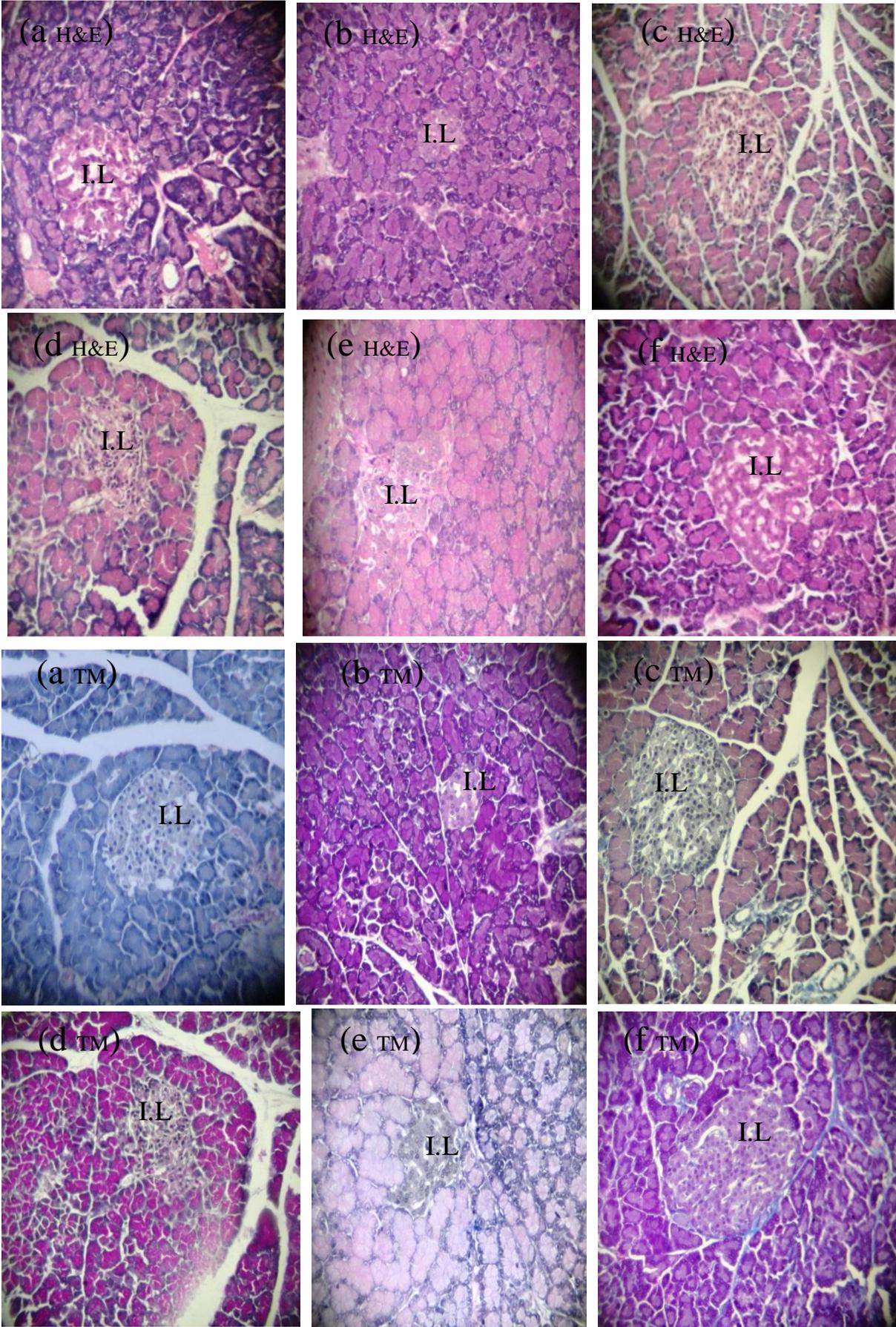
La figure 29 (f-j) montre, l'architecture du foie des animaux diabétiques de type 2 et diabétiques traités. Un parenchyme hépatique de morphologie normale a été observé dans le groupe diabétique G2: FC. Un parenchyme hépatique dans la limite de la normal, le diabète n'est pas encore installé (G3 : FC+SP). Parenchyme hépatique de morphologie subnormal avec des infiltrats inflammatoires polymorphes au sein des espaces portes dues probablement à la metformine apporté comme traitement dans le G4 : FC+Met. Le G5 : F+ SP montre un foie de morphologie subnormale et des espaces portes avec un infiltrat inflammatoire modéré. Une hyperplasie des cellules de Kupfer : histiocytes mononucléaires s'inscrivent dans le cadre de la défense immunitaire due à l'administration de spiruline avant le fructose (G6 : SP + F).

Le foie est l'organe vital du métabolisme, la désintoxication, le stockage et l'excrétion des xénobiotiques et de leurs métabolites. La stéatose ou la nécrose hépatique est le résultat du diabète induit par le streptozotocin ou l'alloxane selon (Rej, 1978 ; Ohaeri, 2001).

C. Reins

La figure 30, montre un parenchyme rénal normal, les glomérules sont plus ou moins de grandes tailles chez les rats diabétiques par rapport au témoin. Les reins sont lentement et tardivement lésés en fonction de l'intensité des lésions engendrées par la maladie, la durée de l'installation et le traitement entrepris après le pancréas et le foie.

La signature moléculaire de l'évolution de tubule proximal du rein diabétique est unique et comprend des éléments de la prolifération cellulaire, l'hypertrophie et la sénescence cellulaire. Par conséquent, les facteurs génétiques et / ou environnementales qui affectent la réponse de croissance tubulaire au milieu diabétique peut déterminer non seulement la mesure de l'évolution de rein, hyperreabsorption tubulaire et l'hyperfiltration glomérulaire chez le diabète précoce, mais également la progression ultérieure de la maladie rénale (**Vallon et Thomson, 2012**).



A

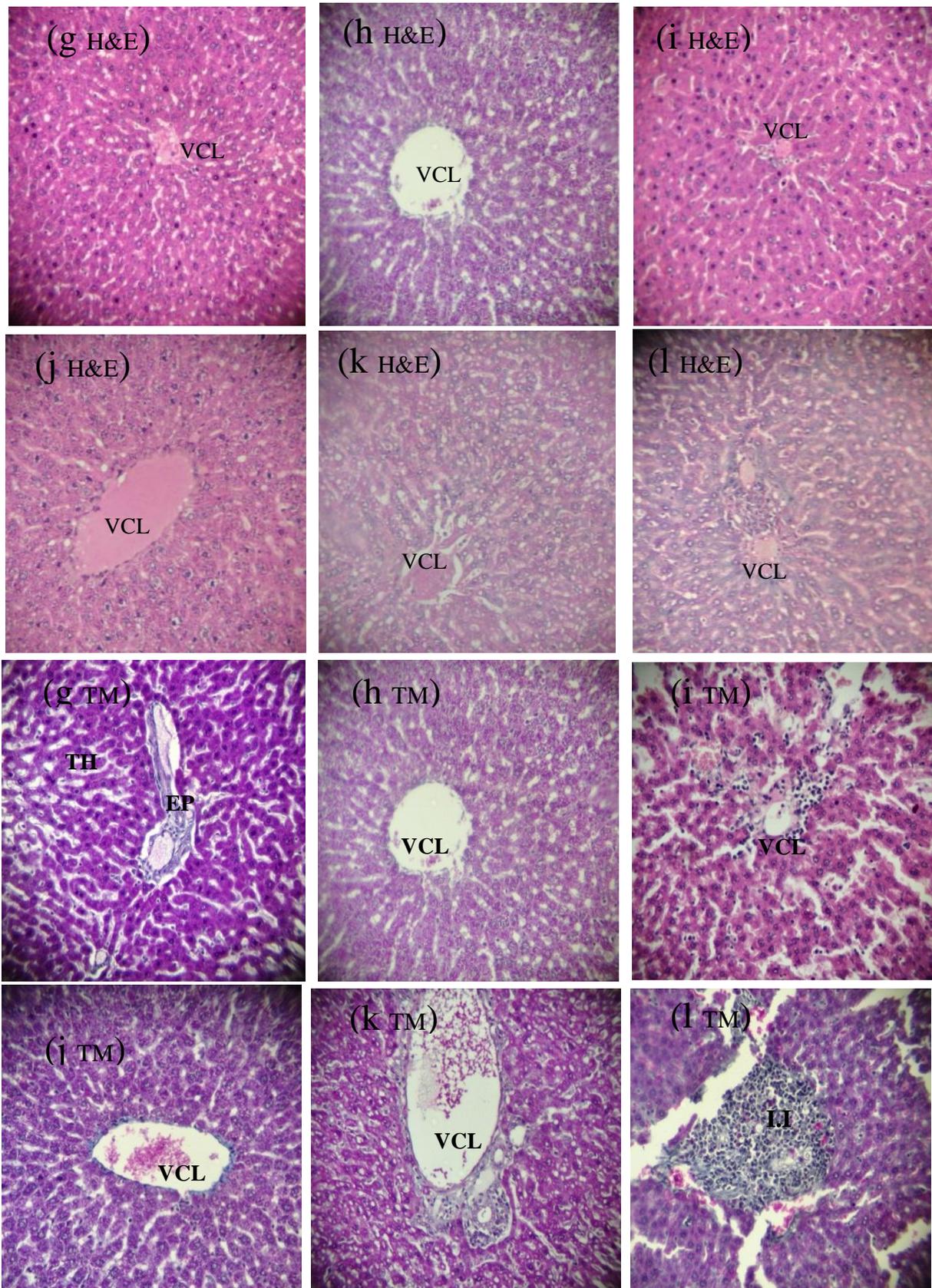
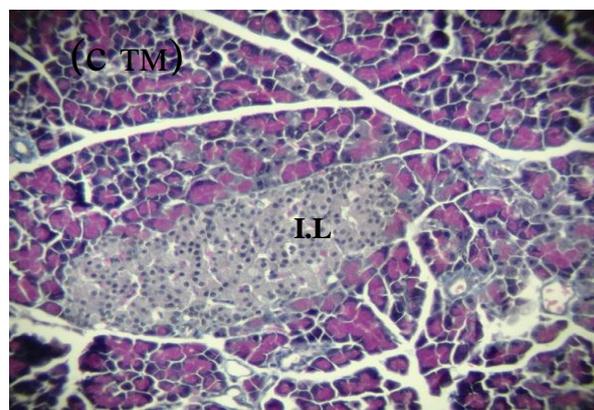
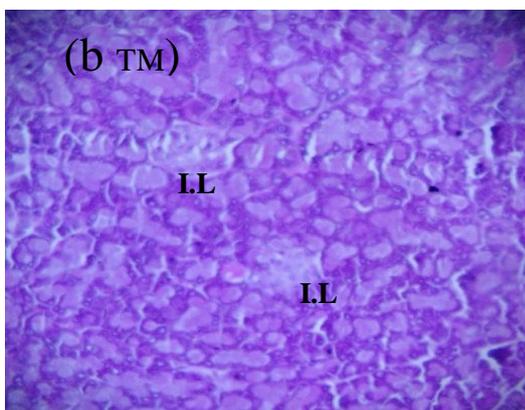
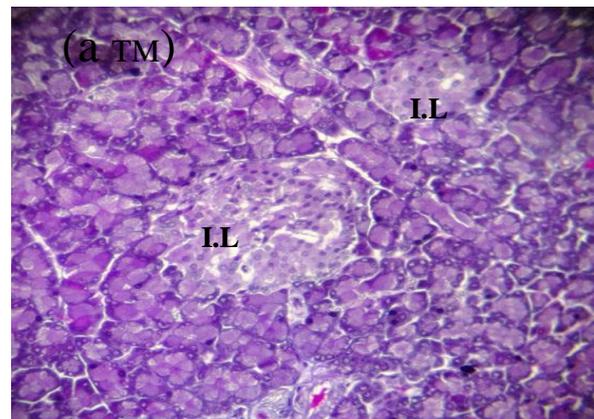
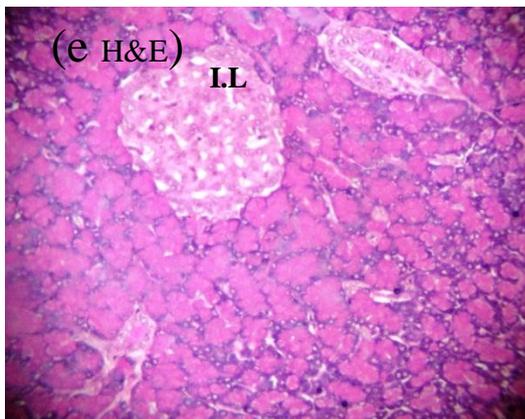
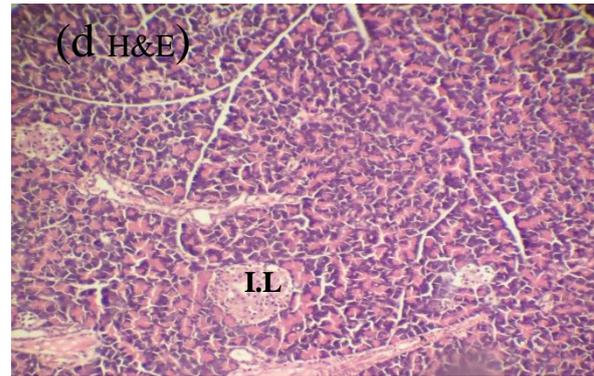
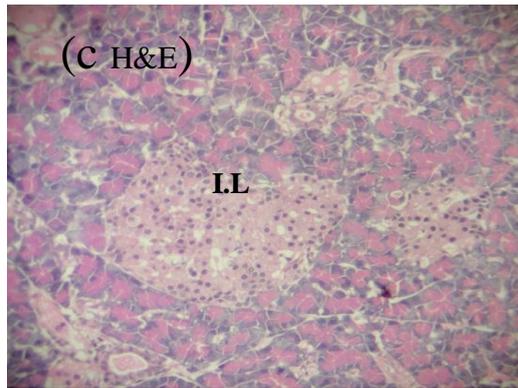
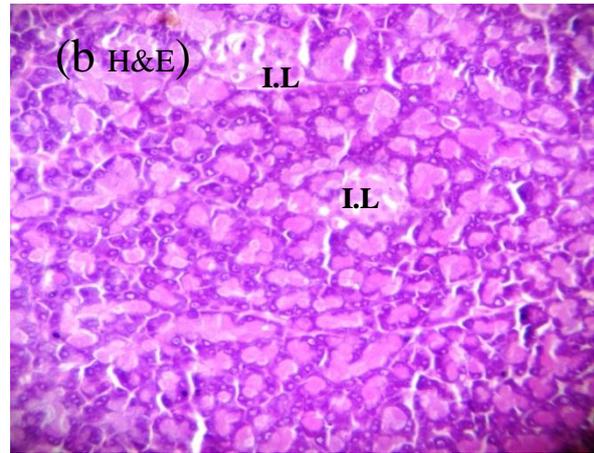
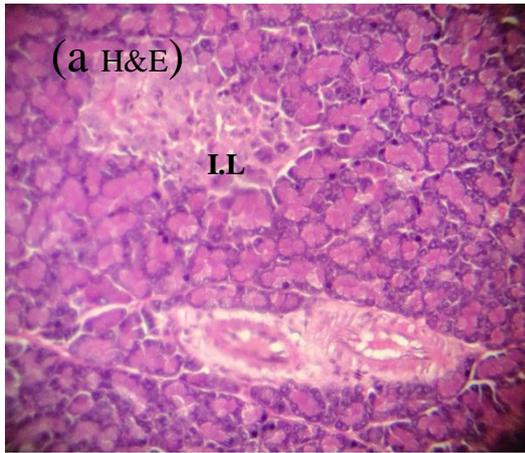
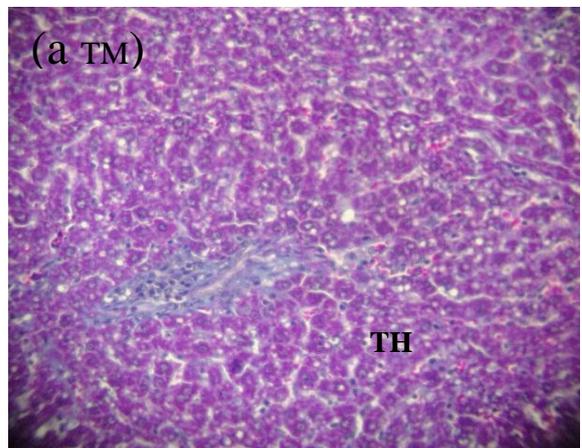
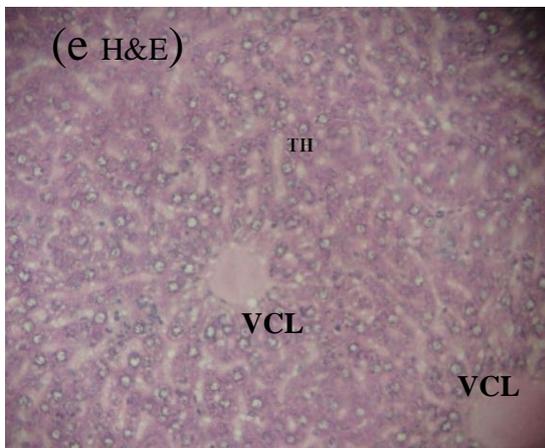
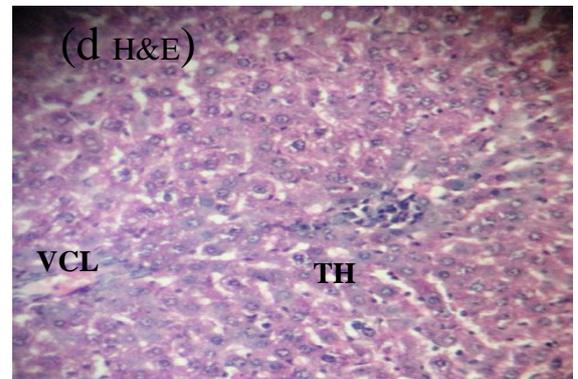
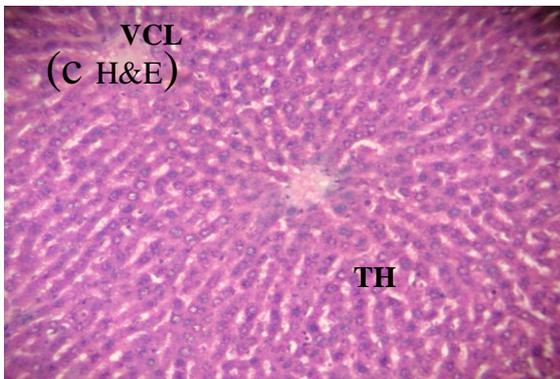
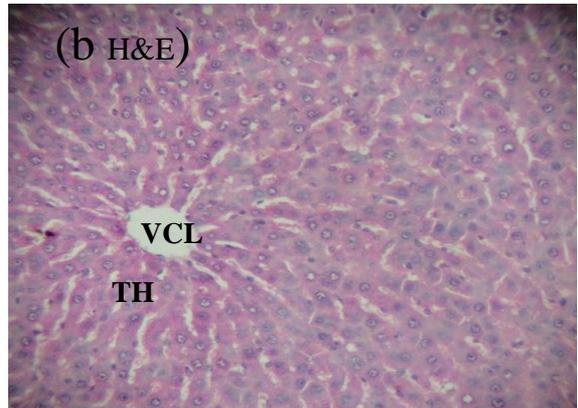
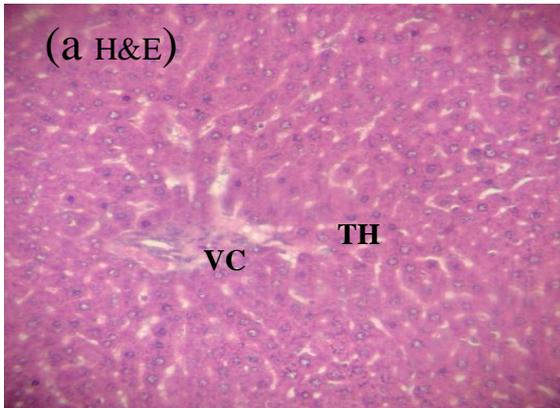
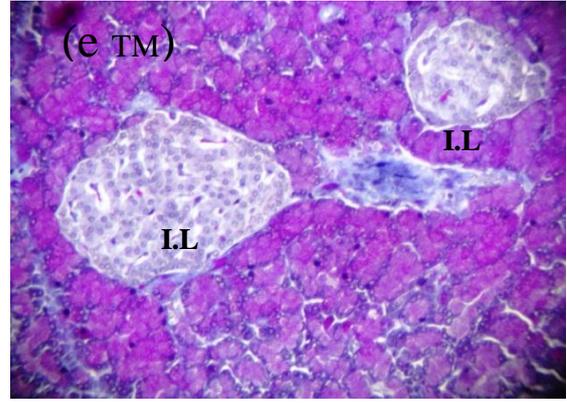
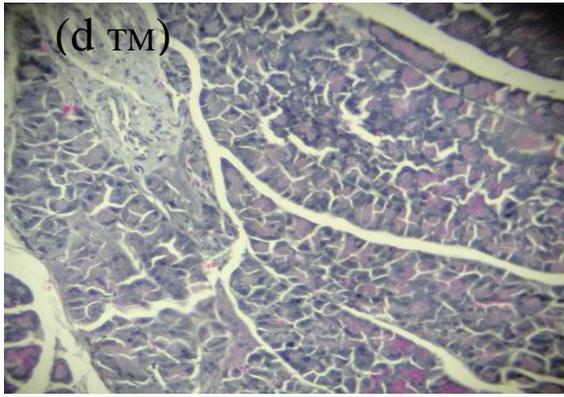


Figure 28 (A-B): Histologie du pancréas et du foie des rats diabétiques de type 1.

Le pancréas (a-f) et du foie (g-l), Hématoxyline et à l'éosine (H&E) et le Trichrom de masson (T.M) X10. I.L îlots de Langerhans. VCL : Veine Centro-Lobulaire. I.I. Infiltrats Inflammatoires. EP : Espaces portes, TH : Travets Hépatocytaires.



A



B

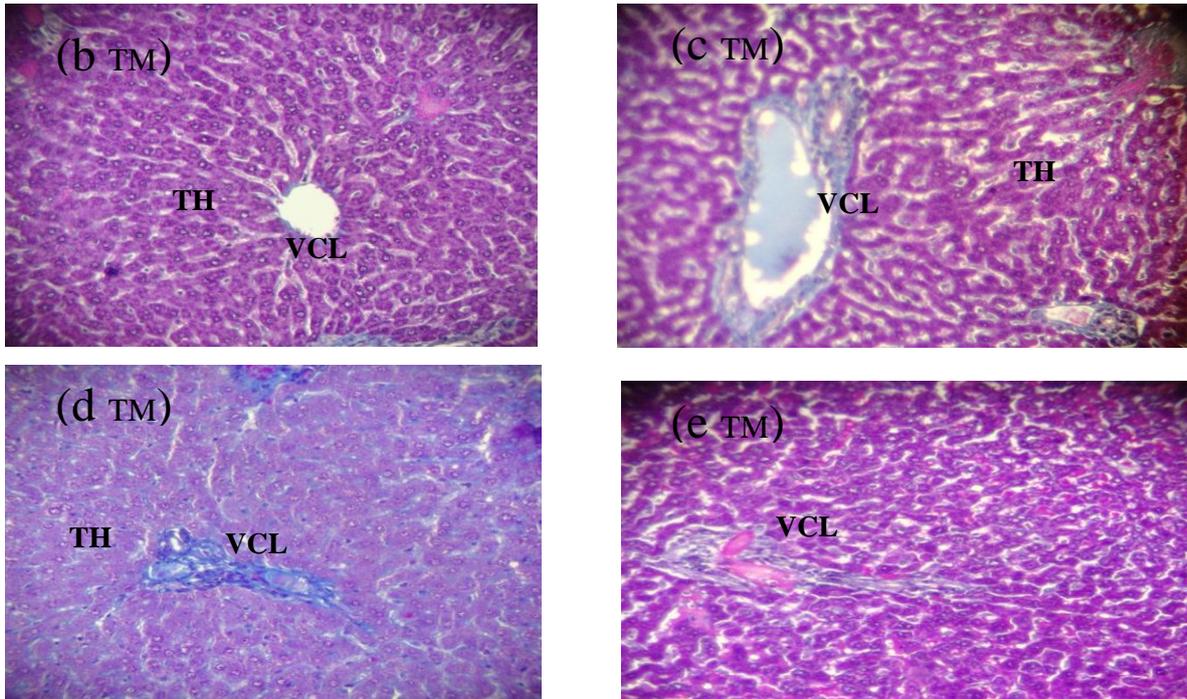


Figure 29 (A-B): Histologie du pancréas et du foie des rats diabétiques de type 2.

Le pancreas (a-e) et du foie (f-j). Hématoxyline et à l'éosine (H&E) et le Trichrom de masson (T.M). X10. TH : Travets Hépatocytaires.

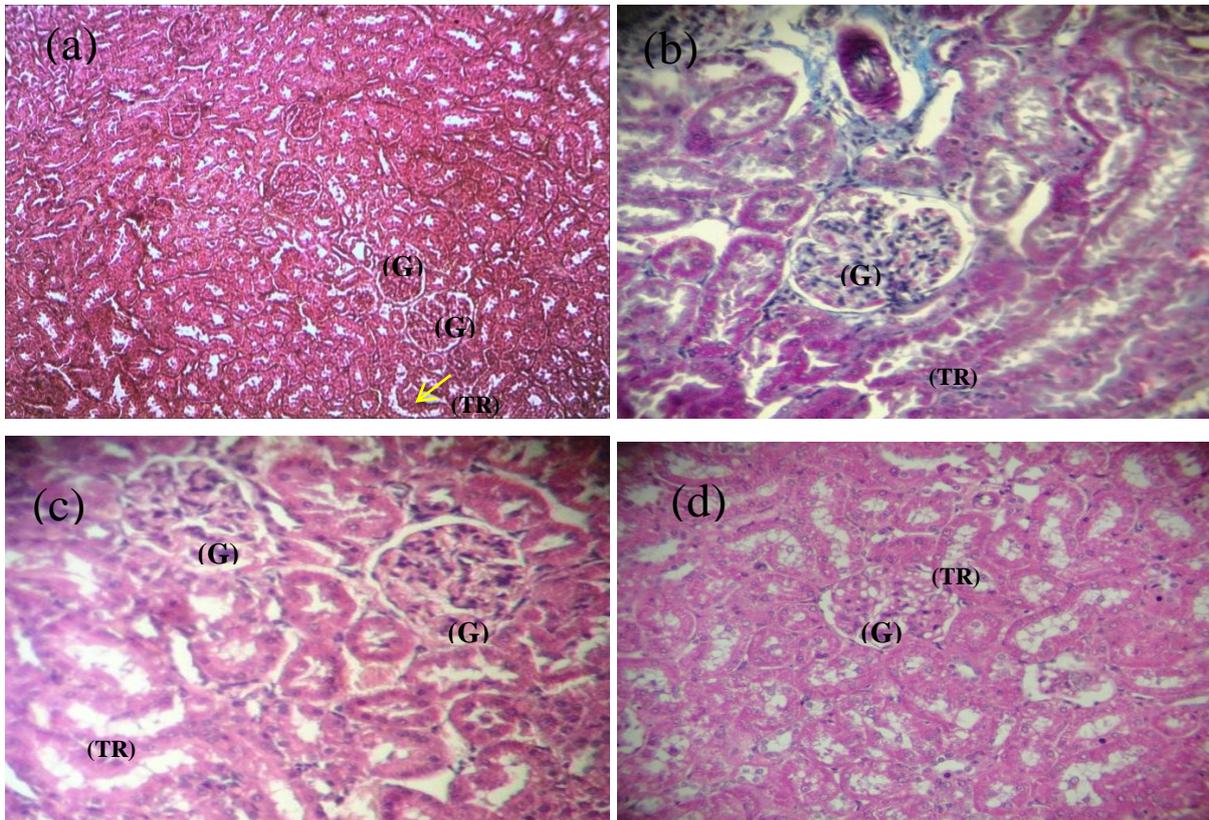


Figure 30: Histologie du rein des rats diabétiques de type 1 et 2.

Les rats contrôles (a,b) ; hématoxyline et à l'éosine (H&E) et au Trichrom de masson (T.M) des rats diabétiques de type 1 et 2 (c et d) x10. Glomérule (G), tubes réal (TR).

III.4. ETUDE DE TOXICITÉ DE LA SPIRULINE

Le gain de poids des rats nourris de spiruline (SP) à différentes doses par rapport au contrôle est noté dans le **tableau 19**.

Tableau 19: Gain de poids des rats

Groupes	Contrôle	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Gain de poids (g)	27,40 ± 7,37	26,90 ± 5,66	26,65 ± 5,14	25,20 ± 5,20	230 ± 5,30	23,30 ± 3,91	22,10 ± 5,06	21,45 ± 5,96

SP: *Spirulina platensis*. G1:5% SP; G2: 10% SP; G3: 20% SP; G4: 40% SP; G5: 50% SP; G6: 80% SP; G7: 100% SP.

Les résultats obtenus montrent que le régime supplémenté en SP pendant 30 jours a bien été accepté par les rats Wistar montré par l'absence de mortalité même à 100% (p/v).

Le tableau 19 montre des différences non significatives de gain de poids au cours de l'expérimentation entre les groupes. Les mêmes résultats ont été observés par **Salazar et al. (1998)** sur des souris nourries de SP 10 ; 20 et 30% (p/p) pendant 13 semaines.

Plusieurs études ont montré que l'administration de la SP à différentes concentrations à court et à long terme ne change pas le poids corporel de rats mâles, femelles et fœtal avec aucun signe de toxicité par rapport au contrôle. Ainsi, aucun changement dans le comportement, l'alimentation, la consommation d'eau, la croissance et la survie, l'état de santé. Des analyses hématologiques et de chimie clinique n'ont pas révélé d'anomalies. De plus, aucun changement macroscopique ou microscopique n'a été détecté avec une analyse histologique et des mesures de chimie clinique (**Chamorro et al., 1990, 1996; Salazar et al., 1996, 1998; Hutadilok-Towatana et al., 2008 ; Deng et Chow, 2010**).

Selon les résultats obtenus et la littérature, la SP est un complément alimentaire non-toxique et nutritif (**Vo et al., 2015**). Donc, son intégration en alimentation humaine est recommandée. La culture de SP a été faite et suivie, la récolte et le séchage naturel de cette dernière nous a permis d'avoir une masse de poudre de spiruline prête à être consommé ou intégrés dans un aliment.

III.5. CULTURE DE LA SPIRULINE ET CONCEPTION D'UN NUTRACEUTIQUE

III.5.1. Culture de *Spirulina platensis*

Le **Tableau 20**, enregistre les caractéristiques phyto-chimiques de *Spirulina platensis* (SP) cultivée. Cependant, la culture est influencé par les variations de conditions de croissance selon plusieurs chercheurs dans le but d'optimiser la production de composés économique et nutritionnel intéressants, notamment des protéines, pigments, antioxydants et vitamines (Abd El-Baky et al., 2006, 2007 et 2009).

D'après les résultats obtenus et la littérature, la SP peut être considérée comme un complément alimentaire caractérisé par un profil nutritionnel intéressant, des activités anti-oxydantes, antimicrobiennes et thérapeutiques avec une grande marge de sécurité.

La **figure 31** montre la SP cultivée sous microscope optique. Les cellules de la souche de *Spirulina platensis* fraîche a montré une structure multicellulaire et filamenteuse avec des trichomes cylindriques bleu-vert, formant des filaments droits de 350 μm de long et une moyenne de 13 μm de diamètre.

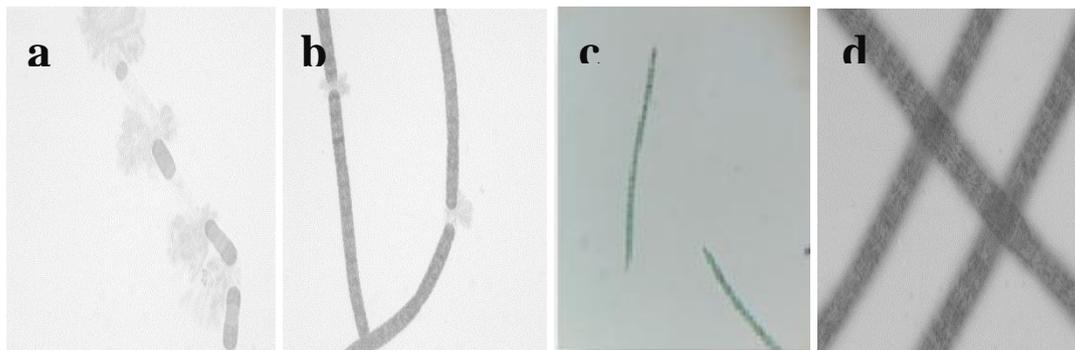


Figure 31: *Spirulina platensis* cultivé sous microscope optique Gr x40 et Gr x100.

Gr x40 (a, b,c) et Gr x100 (c).

Tableau 20: Rendement de culture et caractérisation phytochimique de la spiruline

Caractéristiques phyto-chimiques		<i>Spirulina platensis</i> (SP)	
Rendement de la culture de spiruline (g/l)		0,50 g/L (1 ^{ère} récolte)	
		1,30 ± 0,34 g/L (2 ^{ème} récolte)	
		1 kg (2 ans/ 10 L de SP)	
Phycobiliprotéines (%) (*)	Phycocyanines	18,50 ± 0,12	
	Phycoérythrines	1,21 ± 0,08	
	Allophycocyanines	2,40 ± 0,11	
	Rapport de pureté de C-PC	4,53 ± 0,10	
Chlorophylle a (*)		3,33 ± 0,15	
Chlorophylle b (*)		2,18 ± 0,09	
Caroténoïdes totaux (mg/L) (*)		3,87 ± 0,20	
Teneur en protéines totales (%) (*)		62,4 ± 0,04	Apport calorique 400,68 Kcal (1676,44 KJ)
Teneur en lipides totaux (%) (*)		10,72 ± 0,47	
Teneur en sucre (%)		13,65 ± 0,047	
pH à 22°C (*)		6,94 ± 0,06	
Humidité (%) (*)		6,30 ± 0,011	
Matière sèche (%) (*)		93,70 ± 0,04	
Teneur en cendre (%) (*)		30,20 ± 0,05	
Teneur en fibres (%)		3,12 ± 0,034	
Métaux lourds (mg/kg) (*)		Pb, Hg, As, Cd, Sn et Bi < Doses limites	
Test de DPPH	100 mg /mL d'extrait aqueux de spiruline (*) (%)	61,17±0,13	
Test d'ABTS		68,36±0,25	

(*) : Moyenne de trois essais ± ESM.

III.5.2. Conception d'un nutraceutique

La conception d'un nutraceutique a pour objectif de mettre sur le marché un biscuit de meilleure qualité nutritionnelle et de déterminer si l'amélioration de cette dernière est compatible avec le maintien de la qualité sensorielle du nutraceutique.

L'incorporation de la spiruline à dans une farine biscuitière forme un nutraceutique « Biscuit ». L'origine du mot biscuit est "Bis-Cuit", qui signifie subir une double cuisson. Cette dernière n'est plus pratiquée actuellement en biscuiterie et il sera plus juste de sous entendre par le terme biscuit « bien cuit » (**Kiger et Kiger, 1967 ; Menard et al., 1992 ; Gallagher, 2008**).

Les biscuits sont des produits alimentaires populaires et pratiques idéaux par leur valeur nutritive, leur goût, leur compacité et leur commodité, ayant une faible teneur en humidité que les gâteaux ordinaires et le pain. Ils sont généralement plus sûr de la détérioration microbiologique avec une longue durée de conservation (**Malick et Sheikh, 1976 ; Wade, 1988 ; Singh et al., 2015**).

III.5.2.1. Evaluation physique des biscuits

Les caractéristiques physiques des biscuits obtenus sont mentionnées dans le **Tableau 21**. L'analyse des résultats montre que le poids des biscuits diminue significativement avec les doses de 0,3 et 0,6% de la spiruline (SP) en comparaison avec le témoin (14,03 et 14,73 vs 16,54g) et augmente légèrement à partir de 0,9% de SP incorporée. En effet, il passe de 16,54 g pour le témoin à 16,68 g pour les biscuits à 1% de SP. L'incorporation de SP fait aussi augmenter significativement le diamètre des biscuits aux concentrations 0,3 ; 0,6 et 0,9% de SP, alors que la dose de 1% de SP n'influence pas le paramètre en comparaison avec les biscuits témoins. Une augmentation non significative de l'épaisseur et l'étalement des biscuits après l'incorporation de la SP en comparaison avec le biscuit témoin. Ainsi, la surface et le volume des biscuits augmentent significativement avec l'augmentation de la SP incorporée surtout à une dose de 0,6% en comparaison avec les biscuits témoins. Les valeurs obtenues sont dans l'ensemble acceptables.

Les changements des caractères physiques au fur et à mesure que le taux de SP augmente dans la formule des biscuits sont dus au changement de la force boulangère de la farine qui devient de plus en plus faible. Une baisse de la qualité et la quantité du gluten qui devient plus concentré peut être aussi un élément pouvant expliquer ce changement dans la qualité des biscuits (**Aboudaou, 2011 ; Djenane et Benmansour, 2015**).

Tableau 21: Résultats d'analyses physiques des biscuits enrichis en spiruline

	B à 0%	B à 0,3%	B à 0,6%	B à 0,9%	B à 1 %
Moyenne	Caractéristiques d'un seul biscuit				
Poids du Biscuit (g)	16,54±1,34	14,03±1,33**	14,73±0,53*	16,16±1,45	16,68±1,83
Diamètres D (mm)	63,17±0,60	65,23±1,23*	66,23±0,50***	64,66±0,61*	63,88±0,86
Epaisseur E (mm)	8,64±0,30	8,33±0,57	8,66±0,24	8,50±0,25	9,02±0,39
Etalement (D/E)	7,32±0,32	7,89±0,87	7,66±0,35	7,62±0,22	7,10±0,36
Surface(Cm²) (S= π. r²)	31,34±0,83	33,42±1,45*	34,45±0,82***	32,85±0,81*	32,06±1,19
Volume(Cm³) (V=π.r².h)	27,08±1,46	27,79±2,17	29,83±1,41*	27,92±1,82	28,95±2,80

B : % : Biscuit de 0 % à 1% de poudre de *Spirulina platensis*. Moyenne de cinq essais. $\pi = 3,141$. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ en comparaison avec le biscuit témoin

III.5.2.2. Evaluation sensorielle des biscuits

L'analyse sensorielle consiste à étudier de très près la préférence et l'acceptabilité du produit par un consommateur. La **Figure 32** montre les aspects extérieurs des biscuits témoins et ceux enrichie en SP à différents doses avant et après cuisson.

Le jugement du jury sera dicté par son appréciation personnelle des biscuits qui lui sont présentés. Sur la base du nombre de points comptabilisés, par suite de l'appréciation des différents critères organoleptiques, la classification des biscuits enrichie en SP est présentée du moins apprécié au plus désiré comme suit (**Tableau 22**): B. 0 % SP (Témoin), B. 0,3% SP (biscuits enrichi par à 0,3 % de SP), B. 0,6% SP (biscuits enrichi par 0,6 % SP), B. 0,9% SP (biscuits enrichi par 0,9% SP) et B. 1% SP (biscuits enrichi par à 1 % SP).

Le classement des membres de jury fait apparaitre une meilleure préférence pour les biscuits enrichis en SP par rapport à leurs homologues non enrichis. L'ordre de préférence suit de très près l'augmentation du taux d'incorporation de cette micro-algue bleu verte et la saveur constitue la principale cause.

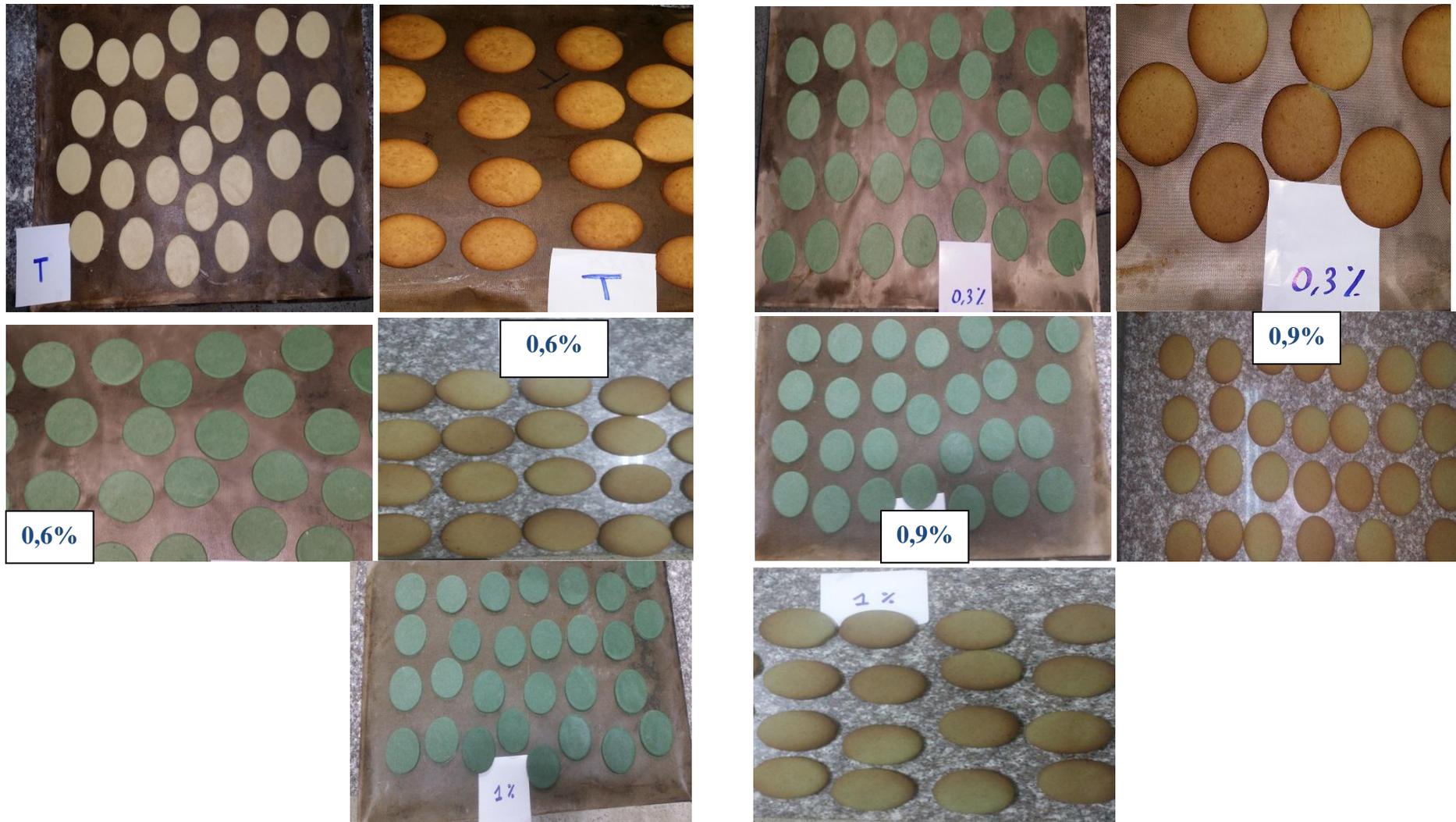


Figure 32: Nutraceutique; biscuit enrichi en spiruline.

Tableau 22: Étude comparative de la qualité des biscuits enrichi en spiruline à différentes doses.

Biscuits (%) SP	Critères d'appréciation et notes			Qualités globales (/27)
	Couleur (/9)	Texture (/9)	Saveur (/9)	
0 % SP	6,78 ±0,97	6,78 ±1,39	5,78±0,67	19,33
0,3% SP	6,22±1,39	7,00 ±0,71	6,22±0,97*	19,44
0,6% SP	5,56±2,07	7,00±1,32	7,56±1,13**	20,11
0,9% SP	6,11±1,36	6,89±1,36	7,56±1,01**	20,56
1% SP	6,89±1,05	6,44±1,81	8,11±0,60***	21,44

SP : *Spirulina platensis*. Les moyennes sont comparées verticalement. Le jury est composé de 9 personnes.
*p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001 en comparaison avec le biscuit témoin

III.5.2.3. Qualité générale des biscuits

L'appréciation de la qualité globale des biscuits enrichis en SP avec leurs homologues non enrichi est liée à une modification de la couleur de la croûte, de la texture et de la saveur. Pour la forme du biscuit aucune différence significative n'a été observée.

Couleur de la croûte

La couleur est un paramètre très important dans l'acceptation des produits céréaliers, son apparition commence vers les dernières étapes du processus de cuisson. Elle est le résultat de réactions de Maillard et la formation de composés réactifs (aldéhydes, cétones, composés dicarbonylés, ...) issus de la dégradation des sucres par caramélisation. La couleur est un paramètre que le consommateur remarque immédiatement par son influence sensorielle subjectif (Cheftel et Cheftel, 1977 ; Lara et al., 2011).

Dans l'ensemble la couleur des biscuits (0% SP. 0,3% SP. 0,6%SP et 0,9% SP) est acceptable par le jury de dégustation alors que le biscuit 1% SP a montré un début de l'apparition de la couleur verte de la SP incorporée et par conséquent il est moins acceptable par le jury (**Figure 32**).

Texture

La texture est un paramètre de qualité important qu'on puisse mesurer physiquement. Son importance est de taille pour la biscuiterie et la formation d'une miette tendre et flexible

est désirée (Lara *et al.*, 2011). La variation globale de texture entre les biscuits n'est pas significative. Chevallier et Cotonna, (2002) ; Ardent *et al.*, 2009, ont démontré que ni l'agrégation protéique (débutant à 85°C dans le cas des biscuits petit beurre) ni la gélatinisation de l'amidon qui, dans le cas des biscuits est limitée en raison de la faible teneur en eau, n'ont pas d'effets sur le développement de la texture finale du biscuit. Les mêmes auteurs montrent que le sucre fondu durant le processus de cuisson retrouve un état vitreux après refroidissement et participe au développement de la texture du biscuit et à la cohérence des agrégats constitutifs.

La saveur

L'analyse de la saveur est difficile à percevoir et à décrire car la sensibilité des papilles gustatives est différente lorsqu'on passe d'une personne à une autre. Ceci a fait que ce test est considéré comme très subjectif. Une variation globale inter-biscuit est hautement significative ($P \leq 0,001$). Des différences significatives sont observées entre les biscuits enrichis en spiruline à 1% et les autres ainsi qu'avec les biscuits témoins (non enrichi en SP). La saveur est améliorée par l'incorporation de la SP. Ces biscuits avaient une saveur de noisettes agréable et typique.

Considérant les attributs couleur, texture et saveur on pourrait en déduire que les 4 taux d'incorporation de SP étaient optimales. Par conséquent, les biscuits de qualité globale acceptable peuvent être préparés en utilisant 0,3 ; 0,6 ; 0,9 et 1% substitué avec la SP en prenant en considération la dose recommandée de consommation de SP (5g/j) ce qui vaut 1% de SP et 5 biscuits/j avec un apport nutritionnelle et énergétique appréciable et variable.

Conservation

Le nutraceutique fabriqué peut être conservé plus d'un an selon les tests de dégustation faites par les jurys après 72h de production, après 6 mois ; 12 et 14 mois.

III.5.2.4. Etude économique

Le prix de vente de SP pris comme exemple est de 25000 DA/Kg. Le coût élevé de matières premières la SP constitue un problème que rencontre le produit nutraceutique. Les résultats obtenus dans le **tableau 23**, présentent l'étude économique de l'incorporation de SP en biscuit sec formant le nutraceutique.

Une différence très significative des prix des biscuits enrichi en SP en comparaison avec ceux non enrichi est notée. Le coût du biscuit augmente avec l'augmentation de la SP incorporée.

Le prix d'un kg de biscuit enrichi en 1%SP revient à 1393,683 DA en comparaison avec le biscuit témoin non enrichi en SP avec 45,264 DA/Kg de biscuit. Le coût d'une pièce de biscuit est de 23,246 DA par rapport à 0,748 DA/ pièce de biscuit témoin.

Tableau 23: Aspect économique du biscuit enrichi en spiruline

Les ingrédients	Quantité d'ingrédient	%	Prix (DA/kg)/HT	PRIX
Farine (g)	300	57,12	23	1242,80
Sucre (g)	90	17,14	77,10	1229,82
Graisse végétale (g)	60	11,42	119	1286,02
Sel (NaCl) (g)	3,0	0,57	16	8,645
Bicarbonate de sodium (g)	1,2	0,23	60	12,97
Bicarbonate d'ammonium (g)	3,0	0,57	42	22,70
Dextrose monohydrate (g)	6,0	1,14	110	118,87
Lait écrémé (Cl)	6,0	1,14	310	335,01
Eau (Cl)	56	10,66	0,5	5,04
Spiruline (1g)	30	5,40	25000	13508,64
Total	555,2	100	3257,6	139368,33
1 kg de biscuit enrichi en 1% de SP (DA)			1393,683***	/
1 kg de biscuit témoin non enrichi en SP (DA)			45,264	/
Une pièce de biscuit enrichi en 1% de SP (DA)			/	23,246***
Une pièce de biscuit témoin non enrichi en SP (DA)			/	0,748

HT : Hors taxes ; DA : Dinar algérien. Ingrédients pour 30 biscuits (g). *** $p \leq 0,001$ en comparaison avec le biscuit témoin

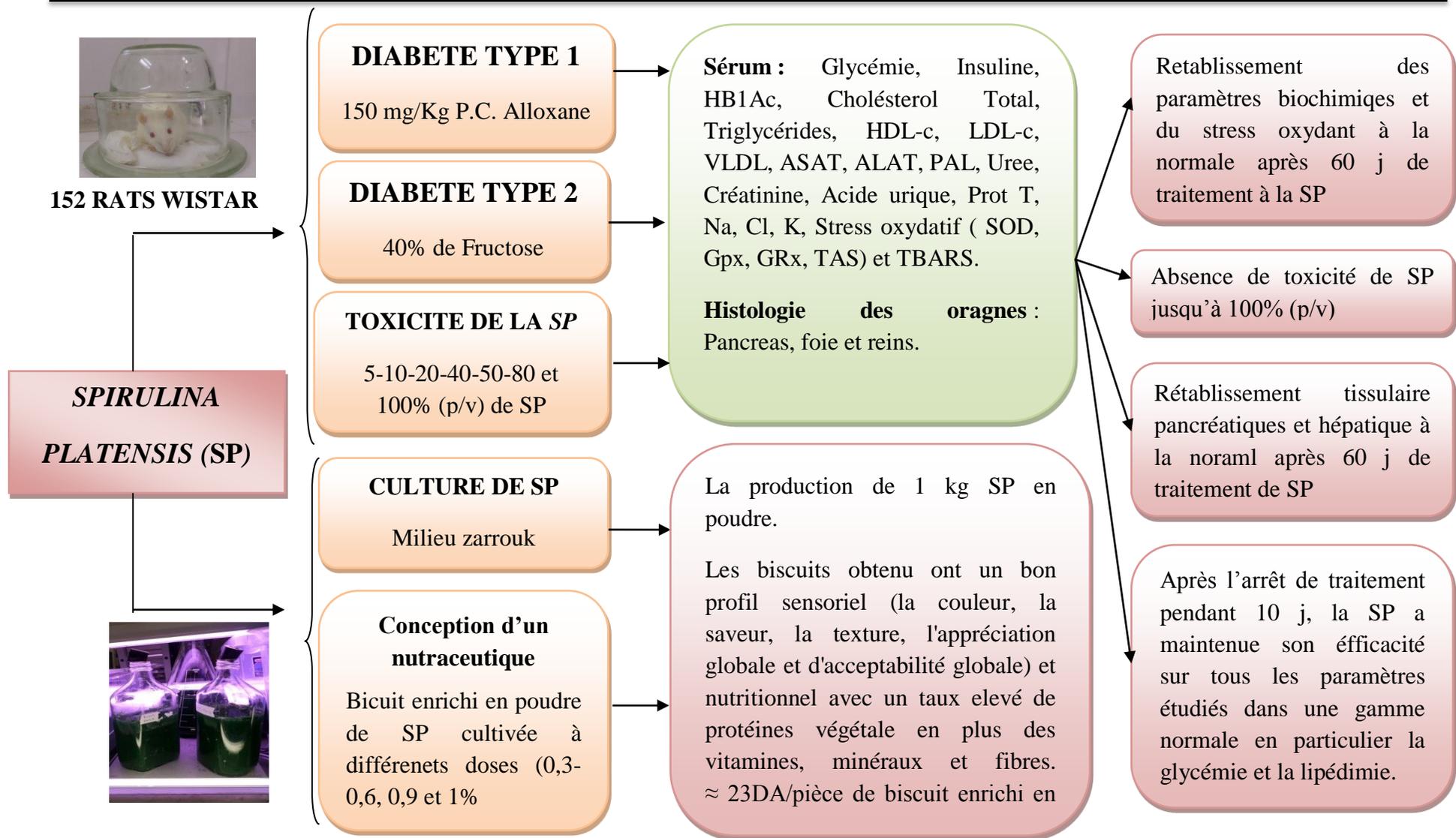


Figure 33: Effet de la spiruline sur le métabolisme biochimique des rats diabétiques de type 1 et 2. Culture de spiruline et conception d'un nutraceutique.

DISCUSSION

A. CARACTERISATION PHYTO-CHIMIQUES DE LA POUDRE DE *S. PLATENSIS*

L'intérêt de cette étude est de déterminer l'effet antioxydant de spiruline riche en composés bioactifs notamment chez le rat Wistar rendu diabétique. Un screening phytochimique qualitatif et quantitatif est fait sur la même algue étudiée. Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, phycobiliprotéines et en caroténoïdes ont été déterminés en raison de leurs propriétés anti-oxydantes (**Huang et al., 2007 ; Thomas et Kim, 2011**).

Le screening phytochimique a montré la richesse de spiruline en polyphénols totaux et en phycocyanines représentant la phycobiliprotéine majeure dans *S. platensis* avec un taux de pureté supérieur à 4. Les caroténoïdes sont présent avec un taux important en chlorophylle a. La nature et la teneur des phénols totaux, de phycobiliprotéines et de caroténoïdes varient en fonction de l'espèce, la souche, les conditions de milieu de culture, particulièrement la teneur en azote, l'intensité lumineuse, l'âge cellulaire, la saison, les variations physiologiques et environnementales et les conditions d'extractions (**Kim et al., 2011 ; Öztürk ürek et Tarhan, 2012 ; Chaiklahan et al., 2013 ; Machu et al., 2015**).

Les extraits de *S. platensis* ont montré une activité antioxydante élevée en DPPH et ABTS en comparaison au BHT avec un IC50 de 70,40 - 45,69 et 110,21- 72,09 des extraits aqueux et éthanolique pour le DPPH et ABTS respectivement. Cette action est due à la composition phytochimique complexe et variée en composés phénoliques, pigments et vitamine E de spiruline auxquels plusieurs auteurs s'accordent à leur attribuer un potentiel antiradicalaire très important (**Duan et al., 2007 ; Li et al., 2009 ; Shanab et al., 2012**).

La différence de l'activité antioxydante peut être due à différents mécanismes de piégeage des radicaux, la capacité de donner l'hydrogène et d'électrons par l'extrait (**Mathew et Abraham, 2004 ; Conforti et al., 2005**). En outre, des facteurs tels que la stéréo sélectivité des radicaux et la solubilité de l'extrait peuvent également affecter la capacité antiradicalaires (**Benedetti et al., 2004**). La caractérisation phyto-chimique de la spiruline nous a permet de déduire sa capacité antiradicalaire et antioxydante et le dosage des pigments phycobiliprotéine, chlorophylles et caroténoïdes en plus des phénols totaux ayant un potentielle appréciable comme additifs pharmaceutique, alimentaire ou cosmétiques (**Riss et al., 2007; Shalaby et al., 2011 ; Öztürk ürek et Tarhan, 2012 ; Banji et al., 2013**).

B. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA SPIRULINE

La caractérisation physico-chimique de la cyanobactérie étudiée « spiruline » est dans les normes selon les résultats obtenus et la littérature avec un taux élevé en protéine (54,87%). Les teneurs en protéines, glucides, lipides, minéraux et fibres,... etc varient en fonction de l'espèce, le milieu et les conditions de culture (les nutriments, la salinité, l'intensité lumineuse, la température, le pH), la récolte, l'eau, la variation saisonnière, le ou les solvants d'extraction, l'état frais ou sec cultivé ou commercialisé de spiruline et même l'association avec d'autres microorganismes (**Richmond, 2004; Charlemagne, 2008 ; Holdt et Kraan, 2011 ; Ambrozova et al., 2014 ;Aouir et al., 2017**). Cependant, l'effet d'algues et de traitement d'algues à savoir le séchage, l'emballage, le transport et le stockage ultérieur, sur la composition chimique est rarement étudié.

Le processus de production traditionnel suivie dans le lac Tchad "Dihé" et appliqué sur la souche de spiruline utilisé dans l présente étude n'est pas approprié pour avoir de hautes valeurs nutritives dus aux conditions de croissance, de récolte et de séchage non contrôlées, en plus de la présence de sable, de vers, de débris de plantes, d'animaux et d'insectes dans le lac affecte les qualités nutritionnelle, microbiologique et hygiéniques de la spiruline (**Sorto et Gonnet, 2007**). Néanmoins, la teneur en protéines de spiruline étudiées présente une valeur supérieure à celle de nombreuses autres sources de protéines alimentaires : légumes: 22%, viande: 25%, poisson: 20% (**Aouir et al., 2017**).

C. EXPERIMENTATION ANIMALE

De nombreuses comorbidités sont associées au diabète conduisant à certain nombre de complications d'hyperlipidémie, d'obésité, de maladie coronarienne et vasculaire périphérique, d'insuffisance rénale, des accidents vasculaires cérébraux, d'hypertension, des amputations, de la neuropathie, la rétinopathie et la cécité (**Kesavulu et al., 2000 ; Scoppola et al., 2001 ; Kameswara Rao et al., 2003 ; Owu et al., 2006 ; Latha et Daisy, 2011; Miller et al., 2014**). Dans cette étude, deux types de diabètes sucrés ont été provoqué à savoir le diabète de type 1 et 2 (**DT1 et DT2**) chez des rats Wistar par l'alloxane et un excès de fructose respectivement.

- Après 70 jours d'expérimentation, une perte de poids significative a été notée chez les rats diabétiques à l'alloxane (-16,92 g ; **DT1**), contrairement aux animaux rendus

diabétiques par le fructose où on a constaté une surcharge pondérale avec un gain de poids de (+83,87 g ; **DT2**) par rapport au contrôle.

Pour le **DT1**, la perte de poids est due probablement à un mauvais contrôle de glycémie et/ou à un catabolisme excessif de protéines en acides aminés par la néoglucogénèse provoquant l'atrophie musculaires et l'augmentation de la fonte de celle-ci (**Edelman, 1998 ; Chatterjea et Shinde, 2002 ; Kasetti et al., 2010 ; Kahn et al., 2014**). Pour le **DT2**, la consommation excessive d'alimentation calorique est liée directement à un gain de poids et une résistance à l'insuline (**Pessin et Saltiel, 2000**).

Le potentiel de *S.platensis* pour restaurer la perte de poids corporel semble être dû à son effet anti-hyperglycémiant, à un contrôle de l'atrophie musculaire adéquat à savoir l'inversion de la gluconéogénèse et à l'épuisement du phosphore des tissus mous dans le **DT1** traité par la spiruline (**Edelman, 1998 ; Muthuraman et al., 2009 ; Abdoul-Azize et al., 2013**).

La spiruline à un effet anti-diabétique et anti-obésité prouvé après administration de cette algue dans le **DT2**. Les résultats montrent une augmentation des protéines musculaire squelettique des rats Wistar après administration de 17% de protéines de spiruline pendant 60 jours (**Voltarelli et de Mello, 2008 ; Vo et al., 2015**).

Selon **Yadav et al., (2005) ; Sophia et Manoharan, (2007) ; Abdoul-Azize et al., (2013)**, la variation de la masse hépatique suivie du diabète est due aux processus cataboliques; la glycogénolyse, la lipolyse et la protéolyse, à l'hyperinsulinémie, la résistance à l'insuline, l'hypertriglycéridémie et les triglycérides hépatiques ce qui fait la quantification du glycogène, la forme de stockage intracellulaire primaire de glucose dans le foie sont des indicateurs important du diabète sucré.

L'hypertrophie rénale ou augmentation de poids du rein observée chez les animaux diabétiques peut être due à l'utilisation excessive du glucose et à l'amélioration ultérieure de la synthèse du glycogène, la lipogénèse et la synthèse des protéines aussi due à la prolifération cellulaire glomérulaire accompagnée de l'élargissement glomérulaire (**Sophia et Manoharan, 2007 ; Poonam et al., 2008 ; Vallon et Thomson, 2012**).

Les résultats obtenus suggèrent l'amélioration de l'état de santé et le mécanisme de contrôle de la glycémie chez les rats diabétiques après administration de spiruline. Le diabète est un trouble métabolique impliquant des perturbations caractéristiques du métabolisme du glucose et des troubles de sécrétion d'insuline conduisant à une hyperglycémie et des

altérations du métabolisme lipidique et protéinique (Soussi et al., 2009 ; Latha et Daisy, 2011).

Glycémie, insulinémie

Dans note étude, l'activité antidiabétique de spiruline a été testée en utilisant le dosage de glycémie à jeun, d'insuline et d'hémoglobine glyquée chez des rats normaux et diabétiques. Pour le DT1 et le DT2, une augmentation significative des niveaux de glucose, d'HbA1c et une hypo-insulinémie plasmatique ont été notée. Les mêmes résultats ont étaient trouvé par (Shokeen et al., 2008 ; Gupta et al., 2010; Moura et al., 2011 ; Kabir et al., 2015) pour le DT1 et (Chakravarthy et al., 2009; Castro et al., 2015) pour le DT2.

Le diabète est accompagné par un dysfonctionnement pancréatique. Une diminution progressif de l'efficacité des cellules bêta des îlots de Langerhans et de l'incrétine (hormone stimulateur de la sécrétion de l'insuline) et la libération de glucagon par les cellules alpha pancréatiques (Knop et al., 2007 ; Eckel et al., 2011 ; Kahn et al., 2014). Les traitements du diabète se concentrent sur l'amélioration de la sécrétion de l'insuline et la sensibilité à celle-ci (Islam et Choi, 2008). Les mécanismes possibles par lesquels la spiruline apporte son activité antidiabétique sont dus principalement à sa composition intéressante en:

- Pigments phycocyanines et polyphénols ayant une forte activité antioxydante (Layam et Reddy, 2007; Ambrosi et al., 2008 ; Li et al., 2009 ; Thomas et Kim, 2011).
- Chrome et fibres, le chrome joue un rôle de promouvoir l'activation des récepteurs de l'insuline. Il se lie à un peptide « chrome apoprotéine » et le complexe interagit avec les récepteurs de l'insuline et améliore son activité. Les fibres jouent un rôle antihyperglycémiant par le ralentissement de la vitesse d'absorption d'hydrate de carbone au niveau de l'intestin (Vincet, 2000 ; Khan et Safdar, 2003).
- L'inhibition de la production endogène de glucose ou la réduction de l'absorption intestinale de cel-ci (Eddouks et al., 2003).
- La potentialisation des effets de l'insuline plasmatique par l'augmentation de la sécrétion pancréatique de celle-ci des cellules bêta existantes ou par sa sortie de la forme liée (Vessal et al., 2003 ; Gupta et al., 2010 ; Jain et al., 2010).
- La stimulation des îlots de Langerhans à sécréter l'insuline par l'amélioration de la sensibilité périphérique à cette hormone ce qui favorise le transport du glucose aux tissus périphériques (Soussi et al., 2009; Gupta et al., 2010).

L'augmentation de l'insuline plasmatique chez les rats diabétiques traités avec la spiruline pourrait être due à la sécrétion ou la conversion de la proinsuline en insuline par la β cathapsin du pancréas ou aux substances tropiques d'insuline présentes dans l'algue qui induisent la protection des cellules β fonctionnels de la détérioration ou la régénération afin qu'ils restent actifs et produisent de l'insuline (**Bansal et al., 1981 ; Bakirel et al., 2008**).

Selon **Sharma et al. (2008)**, afin de mieux comprendre le rôle de la spiruline en tant qu'agent insulinothrophique, ils ont étudiés *in vitro* la libération d'insuline des îlots de Langerhans isolées du pancréas des rats diabétiques. L'incubation de ces dernières avec le glucose en présence de la spiruline a donné lieu à une stimulation importante de l'insuline et une augmentation d'environ 16% par rapport au groupe de contrôle diabétique.

L'hypothèse mise dans cette étude c'est que la spiruline a la capacité de potentialiser la sécrétion d'insuline et/ou de régénérer les cellules β pancréatiques sans danger d'hypoglycémie ce qui lui donne plus d'importance pour le diabète (**Pörksen, 2006**).

Profil lipidique

Des anomalies de profil lipidique et lipoprotéinique dus à l'insuffisance d'insuline à l'élévation significatives de cholestérol total, triglycérides, LDL-c et VLDL-c sériques et la réduction du niveau de HDL-c des rats diabétiques en raison d'une augmentation de l'activité de pyruvate déshydrogénase (**Axen et Axen, 2006 ; Miller et al., 2008 ; Latha et Daisy, 2011 ; Kumar et al., 2012; Zhang et al., 2013 ; Castro et al., 2015**).

La concentration élevée de cholestérol total sérique observée chez les rats diabétiques est probablement due à la mobilisation des acides gras libres des dépôts de graisse périphériques, des altérations membranaires d'érythrocytes (composition) et/ ou à une diminution de catabolisme du cholestérol (**Das et Baliarshinaha, 1997; Sophia et Manoharan, 2007 ; Barakat et Mahmoud, 2011**).

L'effet bénéfique de SP sur l'hyperlipidémie diabétique a été prouvé par la réduction significative du cholestérol total et des triglycérides. L'analyse des fractions lipoprotéiques a révélé que les niveaux de LDL-c et VLDL-c ont été réduits contrairement au HDL-c avec une diminution significative des indices athérogènes, les ratios de cholestérol total / HDL-c et le rapport LDL-c/ HDL-c après l'induction du diabète. Des résultats ressemblables ont été observé par plusieurs études (**Mani et al., 2000 ; Parikh et al., 2001 ; Samuels et al., 2002 ; Kim et Kim, 2005 ; Riss et al., 2007 ; Sophia et Manoharan, 2007 ; Colla et al., 2008 ;**

Lee et al., 2008 ; Kamalpreet et al., 2008) avec différentes doses de spiruline et pendant des durées variables sur l'humain et l'animal.

L'administration de SP a restauré les niveaux de lipides et de lipoprotéines chez les rats diabétiques. L'effet hypolipémiant de cette algue pourrait être attribuée à la présence de principes bioactifs hypolipémiants et leurs propriétés synergiques (les phycocyanines ; les acide gamma-linoléique les fibres et les protéines), l'hyperglycémie contrôlée, l'inhibition de la synthèse endogène des lipides par la potentialisation de la sécrétion d'insuline, l'augmentation de la lipoprotéine lipase et l'activité de la lipase hépatique de triglycérides, la stimulation de la pré- β HDL-c, le transport inverse du cholestérol et la réduction de la production de cholestérol total par les tissus du foie et une élimination efficace de LDL-c de divers tissus sans renouvellement ultérieur et finalement la diminution de l'absorption intestinale du cholestérol ainsi que la réabsorption des acides biliaires dans l'ileum (**Iwata et al., 1990 ; Anderson, 2000 ; Panam et al., 2001 ; Rodríguez-Hernández et al., 2001 ; Yang et al., 2002 ; Khan et al., 2003 ; Nagaoka et al., 2005 ; Daniel, 2006 ; Jain et al., 2010 ; Moura et al., 2011**).

Les bienfaits cardiovasculaires de spiruline sont principalement le résultat de son pouvoir hypolipémiants, anti-oxydant et anti-inflammatoires montrés dans des études précliniques et cliniques (**Deng et Chow, 2010**).

La spiruline a réduit l'incidence des événements coronariens qui est la principale cause de morbidité et de décès des sujets diabétiques, en plus d'une diminution de l'indice athérogène. Le niveau de HDL-c est inversement corrélée aux maladies coronariennes et la réduction de ce ratio est considéré comme un facteur anti athérosclérose, notamment sa capacité à inhiber l'oxydation des LDL-c et de protéger les cellules endothéliales des effets cytotoxiques des LDL-c oxydée d'une part, et d'autre part, le micro-environnement présent à l'intérieur de la lésion athérosclérotique est pro-inflammatoire (**Cheftel et al., 1997 ; Chisolm et Steinberg, 2000 ; Yang et al., 2002 ; Assmann et Nofer, 2003 ; Deng et Chow, 2010 ; Barakat et Mahmoud, 2011**).

En plus que c'est un trouble du métabolisme lipidique définie comme des dépôts de lipoprotéines sur les parois artérielles, conduisant à l'épaississement de celle-ci, l'athérosclérose est reconnue comme une maladie inflammatoire chronique. L'inflammation excessive des parois artérielles est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires (**Lusis, 2000 ; Glass et Witztum, 2001 ; Feoli et al., 2003 ; Shyam et al., 2007**).

Un facteur ayant une activité anti-oxydante et/ou anti-inflammatoire peut se révéler bénéfique dans la lutte contre les maladies cardiovasculaires. L'effet anti-athérogène de la spiruline prouvé dans la présente étude pourrait être dû à la présence d'acides gras polyinsaturés, des phytostérols, de tocophérols et β -carotènes, la forte activité antioxydante et/ou l'abaissement de du niveau de circulation du cholestérol, plus précisément le LDL-c (LaRosa, 1994 ; ElAdawy et Taha, 2001 ; Deng et Chow, 2010 ; Shanab et al., 2012).

Spirulina platensis influence positivement le processus d'athérosclérose et la pression artérielle chez les patients atteints de maladie cardiaque, diabétiques et aussi sur divers types d'animaux. En plus des changements de statut lipidique, l'état immunologique de ses derniers a été amélioré (Ramamoorthy et Premakumari, 1996 ; Ionov et Basova, 2003 ; Khan et al., 2005 ; Riss et al., 2007 ; Lee et al., 2008 ; Shalaby, 2011).

Selon les résultats de cette étude et la littérature, on peut conclure que la spiruline a montré avoir le rôle de régulateur ou de correcteur de métabolisme lipidique et glucidique chez les rats diabétiques. Bien que l'hyperglycémie et l'hypercholestérolémie sont les deux principaux facteurs qui contribuent à la gravité de l'état diabétique, il est nécessaire d'analyser d'autres paramètres vitaux afin d'évaluer pleinement les effets anti-diabétiques de l'algue *S.platensis*.

Profil hépatique et rénal

Les résultats de cette étude ont clairement démontré que le diabète provoqué par l'alloxane (DT1) ou le fructose (DT2) ont causé une importante hépatotoxicité des rats. L'augmentation de transaminases plasmatique est fréquemment observée dans le diabète en raison des fuites des enzymes SGOT, SGPT et PAL du cytosol du foie vers le sang, de l'insulino-résistance hépatique induisant un excès d'acides gras libres en circulation et au stress oxydatif, la peroxydation lipidique et la présence de cellules inflammatoires induisant tous une hépatotoxicité (Navarro et al., 1993 ; Harris, 2005).

L'administration de spiruline aux animaux diabétiques a stabilisé le bilan hépatique par son activité antioxydante attribué à la présence principalement des phycobiliprotéines (phycocyanines, allophycocyanines et chlorophylles), en plus de ses composants phénoliques ayant des propriétés thérapeutiques antioxydantes et antidiabétiques (Li et al., 2009 ; Thomas et Kim , 2011 ; Nuhu, 2013).

La composition chimique optimale des fluides corporels est maintenue par l'élimination des déchets métaboliques, l'urée, l'acide urique, la créatinine et les ions par les

reins. Les concentrations de ces métabolites augmentent dans le sang au cours de dommages ou de maladies rénales associés à un diabète non contrôlé, à la régulation anormale du glucose qui à son tour provoque des dommages aux membranes cellulaires et la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) donc une augmentation du stress oxydatif, la peroxydation des lipides et une augmentation des niveaux de triacylglycérol et de cholestérol, des activités élevées de la xanthine oxydase, les taux de protéines tissulaires glycosylées, des modifications hémodynamiques au sein du tissu rénal (**Aurell et Bjorck, 1992 ; Ha et Kim, 1999 ; Hayashi et al., 2001 ; Lim, 2014 ; Kawabata et al., 2015**).

Le traitement des rats diabétiques par la spiruline a restauré de façon significative les paramètres rénaux par l'abaissement des ces derniers prouvé par **Anwar et Meki, (2003) ; Kuhad et al. (2006) ; Poonam et al. (2008)**.

Plusieurs études antérieures ont démontré un niveau élevé d'acide urique sérique est un fort prédicteur du développement de micro- ou macroalbuminurie chez les diabétiques, nos résultats peut appuyer ces conclusions. Une réduction soutenue de l'hyperglycémie diminuera le risque de développer des maladies microvasculaires et de réduire leurs complications (**Kim et al., 2005 ; Hovind et al., 2009 ; Jalal et al., 2010**).

La créatinine est synthétisée dans le foie, passe dans le sang lorsqu'elle est reprise entièrement par les muscles squelettiques. Sa rétention dans le sang est une preuve de l'insuffisance rénale. Par conséquent, la réduction des niveaux de créatinine et l'urée plasmatique par l'administration de *S.platensis* peut impliquer que cette algue a interféré avec le métabolisme de l'urée-créatinine et son mécanisme d'excrétion et de rétention éventuelle dans le sang (**Stuglin et Prasad, 2005 ; Wurochekke et al., 2008**).

Le diabète sucré est la principale cause de maladie rénale, mais les facteurs génétiques et environnementaux influençant la néphropathie diabétique ne sont pas encore compris. Ainsi, il est nécessaire de mieux comprendre la physiopathologie et les voies moléculaires qui conduisent d'une hyperglycémie à une insuffisance rénale (**Vallon et Thomson, 2012**).

Protéines, oligoéléments et métaux lourds

Le diabète sucré se caractérise par des perturbations de métabolisme protéique causé par l'insuffisance de la sécrétion d'insuline et / ou l'action de celle-ci. La régulation de ces paramètres après un traitement de spiruline montre l'effet positif de cette microalgue sur le taux de protéines des rats diabétiques (**American Diabetes Association, 2007**).

Les résultats du contenu ionique de Na⁺, Cl⁻, K⁺ montre des valeurs sensiblement inférieures à la normale chez les animaux diabétiques, résultats observés sur l'humain et l'animal par **Hannedouche et al., (1990) ; Pollock et al., (1991) ; Vallon et al., 1999, 2002**).

La spiruline est connue par son effet antihyperglycémiant et par sa richesse en minéraux essentiels y compris le potassium, le calcium, le chrome, le fer, le magnésium, le manganèse, le phosphore, le sélénium, le sodium...etc. Elle est capable ainsi de réguler le taux d'électrolytes sanguin des rats diabétiques et aussi stimule l'absorption des minéraux par son effet sur la microflore intestinale (**Charpy et al., 2008 ; Gupta et al., 2010 ; Vo et al., 2015**).

La modélisation de Na⁺ plasmatique après par la spiruline est liée au transport du glucose sur les composants actifs et passifs de la réabsorption proximale prédit que l'hyperglycémie modérée augmente la réabsorption de Na⁺ dans le tubule proximal (**Weinstein, 1986**).

Bien que la spiruline utilisée dans cette étude exempte de métaux lourds mais les contaminations par les cultures externes sont possibles. La souche de spiruline utilisée dans la présente étude a prouvé son effet protecteur contre le stress et la toxicité de métaux lourds provoquant ainsi une grave anémie, une leucopénie et une augmentation du nombre de réticulocytes. Cela est expliqué par sa capacité de piéger les radicaux libres par l'induction d'enzymes antioxydantes (**Simsek et al., 2009 ; Deng et Chow, 2010 ; Ponce-Canchihumán et al., 2010 ; Vo et al., 2015**).

Le stress oxydatif

Le diabète est caractérisé par le perturbation de système de défense anti-oxydants, impliquant l'élévation de la peroxydation lipidique ou MDA, l'altération des enzymes antioxydantes, le métabolisme de glutathion facultés affaiblies, le vieillissement et l'athérosclérose indiquant l'augmentation de la production de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène (**Kamalakaran et Prince, 2006 ; Bagri et al., 2009 ; Tiwari et al., 2013 ; Taş et al., 2014**).

Tout composé naturel ou synthétique présente une activité antioxydante pourrait atténuer les dommages du stress oxydatif. La défense contre ces dommages par la spiruline implique à la fois les composants enzymatiques et non enzymatiques. Les composants enzymatiques (le fer-superoxyde dismutase (FeSOD) et l'ascorbate dépendant peroxydase (AsA-POD), et la peroxydation lipidique (POL) peuvent directement piéger les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou inactive la génération des ROS, aussi, ils peuvent agir en

produisant les antioxydants non enzymatique (β -carotène, ascorbate, et α - tocophérol, la chlorophylle, phycocyanine, et phycocyanobiline, les composés phénoliques tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes et de minéraux) qui ont gagné une énorme attention autant que principes bioactifs naturels en raison de leur capacité à soutenir le système physiologique contre le stress oxydatif des rats causé par le diabète en réduisant les ERO (Candan et Tarhan, 2003; Al-Azzawie et Alhamdani 2006 ; Sepici-Dincel et al., 2007; Chen et al., 2008 ; Öztürk ürek et Tarhan, 2012 ; Banji et al., 2013 ; Vo et al., 2015).

Les radicaux libres de l'oxygène réagissent avec toutes les substances biologiques; toutefois, les plus sensibles sont des acides gras polyinsaturés. Les réactions avec ces constituants de la membrane cellulaire conduit à la peroxydation des lipides (Memişoğullari et Bakan, 2004 ; Chu et al., 2010). L'augmentation ce paramètre altère la fonction des membranes en diminuant la fluidité de celle-ci et modifie l'activité des enzymes et des récepteurs membranaires (Arulselvan et Subramanian, 2007).

La capacité de la spiruline à empêcher, retarder ou inhiber la peroxydation des lipides pourrait être lié à l'arsenal (ensemble de composants antioxydant: armamentarium) à la phycocyanine, la chlorophylle, la β -carotène, les caroténoïde, la vitamine C, E, K, les composés phénoliques, l'acide lipoïque, la riboflavine, les phytopigments xanthophylle, enzyme de SOD, le sélénium, le magnésium et le manganèse en inhibant l'initiation ou la propagation toutes les phases du processus de peroxydation, la neutralisation des radicaux libres, puis le blocage de la catalyse de la peroxydation et finalement par l'interruption des lipides-réactions des chaines radicalaires (Upasani et Balaraman, 2003 ; Li et al., 2007 ; Bermejo et al., 2008 ; Abd El-Baky et al., 2009 ; Banji et al., 2013).

La phycocyanine a la capacité de piéger les radicaux libres, les radicaux alcoyle, hydroxyle et peroxyde. Il diminue également la production de nitrite, supprime l'expression de la synthase inductible de l'oxyde nitrique (iNOS) et inhibe la peroxydation des lipides hépatiques microsomales (Romay et al., 2003; Riss et al., 2007 ; Manconia et al., 2009).

Selon Kuhad et al. (2006) ; Afshari et al. (2007) ; Soussi et al. (2009), la baisse de taux de MDA peut augmenter l'activité de la glutathion peroxydase (GPx), de la SOD et de catalase chez les rats traités par la spiruline et donc provoquer des réactions d'inactivation de peroxydation lipidique.

Le prétraitement avec la spiruline abouti à la prévention et la réduction de divers indicateurs de toxicité tels que les niveaux de monoxyde d'azote, la formation de ERO,

lipoperoxydation et l'activité mitochondriale contre le stress oxydatif et les dommages des tissus chez les rats *in vitro* et *in vivo* avec sa capacité de piéger les radicaux libres (**Zhang et al., 2011 ; Makhlouf et Makhlouf, 2012 ; Tobon-Velasco et al., 2013**).

Selon **Shyam et al. (2007)**, l'administration de spiruline aux animaux témoins n'a pas apporté de changement significatif de statut antioxydant, même si une tendance vers des valeurs plus élevées est évident. Par conséquent, l'administration de 10% de spiruline contenant des antioxydant et antiradicalaires naturel, capable de minimiser ou d'éliminer à la fois les radicaux peroxydes et hydroxyles et protègent contre les maladies liées au stress oxydatif tel que le diabète prouvé dans notre étude et dans plusieurs autres recherches (**Abd El-Baky et al., 2009 ; Shalaby et al., 2012 ; Abdel-Daim et al., 2013**).

Bien que l'effet régulateur de paramètres biochimiques et antioxydant de la spiruline démontré dans plusieurs études et compris la notre, les composants actifs de la cette microalgue responsables de cette propriété restent à identifier. Il a été suggéré que la phycocyanine est le composant actif majeur contenue dans la spiruline, avec son activité environ 20 fois plus efficace que la vitamine C.

D. Histologique

En plus des complications biochimiques sériques, le diabète conduit à des complications secondaires histologiques sur pancréas, foie, reins et le système hématopoïétique (**Sabu et al., 2002 ; Latha et Daisy, 2011 ; Rama et al., 2012**) ;

L'effet diabétogène est dû à une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) menant à la toxicité des cellules pancréatiques particulièrement les cellules bêta des îlots de langerhans en réduisant la synthèse et la libération d'insuline, aussi, la libération de glucagon par la dérégulation ou disfonctionnement des cellules alpha (**Sakurai et al., 2001 ; Kumar et al., 2012 ; Kahn et al., 2014**).

En outre, la spiruline particulièrement la C-phycocyanine et les composés phénoliques ont des propriétés thérapeutiques anti-oxydantes. Ce sont de puissants capteurs de radicaux libres, peroxyde et peroxyde nitré luttant contre le stress oxydatif réduisant la toxicité du foie, des reins de rat et protège les cellules bêta pancréatique contre la mort cellulaire apoptotique en atténuant le stress oxydatif. Les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la phycocyanine, de β -carotène, de α -tocophérol ont été confirmé par de nombreuses études (**Li et al., 2009 ; Ponce-Canchihuamán et al., 2010 ; Thomas et Kim, 2011 ; Rodríguez-Sánchez et al., 2012**).

La concentration élevée des marqueurs enzymatiques ASAT, ALAT et PAL reflète la nécrose hépatocellulaire due à la libération de ces derniers dans le sang après une lésion de la membrane cellulaire (Ju et al., 2008). La consommation à la fois de cette algue et l'exercice physique améliore la stéatose hépatique chez les rats diabétiques Moura et al. (2011). Dans la présente étude, la réduction significative de profil hépatique et rénal après un traitement de SP a indiqué l'effet protecteur de cette algue des organes ; foie et les reins des rats diabétiques.

E. TOXICITÉ DE LA SPIRULINE

La spiruline testée dans la présente étude *Spirulina platensis* n'a pas montré de toxicité aux doses de 5, 10, 20, 40, 50, 80 et 100% pendant 4 semaines. Des études cliniques supplémentaires sont nécessaires pour établir systématiquement le profil sécuritaire de cette algue chez l'humain et le contrôle de la qualité de cette microalgue est obligatoire pour garantir son utilisation et éviter toute contamination (Deng et Chow, 2010).

Enfin, le déséquilibre des paramètres biochimiques étudiés dans la présente expérimentation ont été significativement normalisés par la spiruline pendant des périodes variables entre 50 et 30 jours pour le DT1 et le DT2. Ceci indique que *S.platensis* a non seulement augmenté l'absorption de glucose dans le sang, mais aussi inversée les dégâts du pancréas et foie observés chez les animaux diabétiques. L'intérêt de la spiruline est basé sur la non toxicité, la biodisponibilité et la protection multiviscérale significative contre de nombreux médicaments et produits chimiques induisant les agressions toxiques (Avdagic et al., 2008; Lu et al., 2010 ; Abdel-Daim et al., 2013).

F. CONCEPTION D'UN NUTRACEUTIQUE

La spiruline est utilisée dans l'alimentation humaine depuis les années 1980 comme complément alimentaire de haute qualité (Becker, 1988; Borowitzka, 1988 ; Richmond, 1988). Les données de l'évaluation organoleptique ont révélé que le biscuit enrichi en SP cultivée sont significativement acceptables que le contrôle des principales caractéristiques sensorielles couleurs, texture et saveur, et présentent une tonalité verte acceptable et qui augmente avec la quantité de biomasse supplémentaire. Les mêmes observations ont été faites par Abd El Baky et al. (2015).

Ainsi, on peut conclure que les biscuits ont un bon profil sensoriel et nutritionnel particulier avec un taux élevé de protéines végétale en plus des vitamines, minéraux et les fibres. Il peut être développé alors en tant qu'un nouvel aliment fonctionnel sur le marché en favorisant la culture de la SP.

C O N C L U S I O N
E T
P E R S P E C T I V E S

CONCLUSION

La présente étude montre que la spiruline (SP) est un puissant anti-hyperglycémiant, anti-hypo-insulinémiant, améliorant ainsi le profil lipidique, le poids corporel et les dommages du stress oxydatifs et tissulaires du pancréas et du foie des rats rendus diabétiques par l'alloxane et le fructose pendant 50 et 30 jours sans aucune action hypoglycémique chez les rats sains.

Nos résultats suggèrent que la SP améliore la régénération des cellules β pancréatiques endommagées par le diabète et la sécrétion d'insuline avec une capacité à inhiber la peroxydation lipidique et d'activer les enzymes antioxydantes chez les rats diabétiques.

L'analyse phytochimique de SP a révélé certains constituants ayant un potentiel antidiabétique puissant en particulier les phycocyanines, caroténoïdes et les polyphénols. En outre, il est rassurant de constater que l'algue n'a pas montré de toxicité chez les rats. Dans la présente étude, l'équilibre de statut d'antioxydant enzymatique altéré par le diabète et les dommages peroxydant dans le sang par *Spirulina platensis* confirme ses propriétés antioxydantes et anti-peroxydantes et son rôle potentiel dans la défense contre les radicaux libres.

En outre, ces résultats suggèrent que la thérapie à la metformine à long terme n'est pas conseillée à cause de ses effets secondaires cités auparavant. Par conséquent, la combinaison de metformine-Spirulina ou monothérapie de spiruline peut réduire d'avantage le risque de diabète et des maladies cardio-vasculaires.

La spiruline est un modèle de produits biotechnologiques antioxydants en raison de ses propriétés thérapeutiques et nutritionnelles. Elle semble avoir une valeur prometteuse pour le développement d'un phytomédicament puissant pour le diabète, bien que des enquêtes pharmacologiques sont souhaitables pour élucider le mécanisme d'action exact des effets hypoglycémiant et hypolipidémiant de la SP, ses extraits ou ses principes actifs.

Des essais cliniques complémentaires avec un nombre important d'échantillon diabétiques et la conception expérimentale de haute qualité dans diverses populations humaines cibles de sexe et d'âge différents à court et à long terme et à différentes doses et d'espèces de SP sont nécessaires pour confirmer les bienfaits hypoglycémiant, hypolipidémiant, antihépatiques, antioxydantes ...etc de la SP, et pour favoriser la

consommation de cette algue et son utilisation comme traitement préventif et curatif de diabète sucré.

Actuellement, la compréhension des mécanismes d'action de la SP sur les troubles diabétiques est encore limitée. L'identification et l'extraction des principes actifs de la SP (phycocyanines, les caroténoïdes, les acides gras oméga-3 et oméga-6) responsables des effets thérapeutiques antidiabétiques seront déterminées dans des études ultérieures pour soulager un état diabétique.

Par conséquent, il est nécessaire d'intensifier les recherches pour l'identification et l'isolement des différentes variétés de spiruline en Algérie ayant des propriétés nutritionnelles et médicinales et favoriser leur production et leur commercialisation. Il est suggéré, enfin, l'inclusion de la SP dans des produits alimentaires comme le biscuit fabriqué dans cette étude comme nutraceutique.

Les sous produits agro-alimentaires sont de qualité nutritionnelle appréciable et variable. Ils sont particulièrement riches en nutriments tels que : les protéines, les glucides, les fibres, les vitamines et les minéraux. Comme deuxième objectif de travail de recherche on a la détermination des effets de la substitution partielle de la farine de blé tendre par la poudre de spiruline pour l'obtention d'un nutraceutique « Biscuit enrichi en spiruline ».

Il ressort que l'incorporation de la spiruline à une farine à tendance biscuitière entraîne des améliorations technologiques, nutritionnelles et organoleptiques et de la qualité globale du produit fini (biscuits) avec une durée de conservation de plus de 14 mois. La nature et l'amplitude de ces modifications sont alors fonction de la matière première mise en œuvre (spiruline) et du taux de substitution de la farine.

Considérant les attributs organoleptiques on pourrait en déduire que les 4 taux d'incorporation de SP (0,3 ; 0,6 ; 0,9 et 1%) en biscuit étaient acceptables. La substitution de la farine biscuitière avec un taux de 1% de SP représente la dose souhaitée par le consommateur. Le biscuit, peut être développé alors, en tant qu'un nouvel aliment fonctionnel sur le marché en favorisant la culture de la SP.

Le prix de vente de la SP sur le marché est estimé cher pour le consommateur algérien. Le coût de la SP constitue un problème que rencontre le produit nutraceutique et qui peut être réglé par l'élargissement de la culture de cette algue en Algérie en utilisant les sous produits agro-alimentaires. L'étude du nutraceutique montre le coût élevé du biscuit enrichi en SP par

rapport au témoin. Le prix d'un kg de biscuit enrichi en 1% de SP revient à 1393,683 DA en comparaison avec le témoin non enrichi en SP 45,264 DA/Kg de biscuit. Le coût d'une pièce de biscuit est de 23,246 vs à 0,748 DA/ pièce de biscuit. Une différence de 22,50 DA.

Il reste à étudier l'effet de l'enrichissement des farines biscuitières en spiruline sur les paramètres biochimiques, technologiques et physiques approfondies et l'essai de hautes concentrations (supérieure à 1%) de cette micro-algue dans le nutraceutique.

Il reste à faire des essais de traitement des rats diabétiques par un biscuit enrichi en SP à différentes doses pour reprendre à la question,

Le nutraceutique « Biscuit » constitue t-il une excellente promesse pour l'amélioration de la santé et de prévenir les maladies chroniques ?

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abd El Baky H.H., El-Baroty G.S. 2012. Characterization and bioactivity of phycocyanin isolated from *Spirulina maxima* grown under salt stress. *Food Function*, 3: 381-388.

Abd El Baky H.H., El-Baroty G.S. 2013. The potential use of microalgal carotenoids as dietary supplements and natural preservative ingredient. *J Aquatic Food Product Technol*, 4: 392-406.

Abd El Baky H.H., El-Baroty G.S., Bouaid A., Martinez M., Aracil J. 2012. Enhancement of lipid accumulation in *Scenedesmus obliquus* by Optimizing CO₂ and Fe³⁺ levels for biodiesel production. *Bioresource Technol*, 119: 429- 439.

Abd El Baky H.H., El Baroty G.S., Ibrahim E.A. 2015. Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina* biomass. *Nutrición hospitalaria*, 32(1): 231-241.

Abd El-Baky H.H., El Baz F.K., El-Baroty G.S. 2004. Production of antioxidant by the green alga *Dunaliella salina*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6: 49-57.

Abd El-Baky H.H., El Baz F.K., El-Baroty G.S. 2006. Over-production of Lipid Rich in Linolenic Acid by Blue Green Alga *Spirulina maxima* and its Inhibitory Effect on Carcinoma Cells. *Adv Food Sci*, 4: 206- 212.

Abd El-Baky H.H., El Baz F.K., El-Baroty G.S. 2007. Production of carotenoids from marine microalgae and its evaluation as safe food colorant and lowering cholesterol agents. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 2(6): 792-800.

Abd El-Baky H.H., El Baz F.K., El-Baroty G.S. 2009. Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effects. *African Journal of Biotechnology*, 8: 7059–7067.

Abd El Baky H.H., El Baz K.F., EL- latife S.A. 2014. Induction of sulfated polysaccharides in *Spirulina platensis* as response to nitrogen concentration and its biological evaluation. *J Aquaculture Res Develop*, 5, 1:1-8.

Abdel-Daim M.M., Abuzead S.M.M., Halawa S.M. 2013. Protective Role of *Spirulina platensis* against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. *PLoS ONE*, 8(9): e72991.

Abdo S.M., Hetta M.H., El-Senousy W.M., El Din S.R.A., Ali G.H. 2012. Antiviral activity of freshwater algae. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2 (2): 21–25.

Abdoul-Azize S., Atek-Mebarki F., Bitam A., Sadou H., Kocęir A., Khan N.A. 2013. Oro-gustatory perception of dietary lipids and calcium signaling in taste bud cells are altered in nutritionally obesity-prone *Psammomys obesus*. *PLoS One*, 8 (8) : e68532.

Aboudaou M. 2011. Essai d'incorporation du germe du blé tendre dans une farine à tendance biscuitière. Thèse de magister, ENSA. Algérie. 97 p.

Afshari A.T., Shirpoor A., Farshid A., Saadatian R., Rasmi Y., Saboory E., Ilkhanizadeh B., Allameh A. 2007. The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. *Food Chemistry*, 101: 148–153.

AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) et AFSSET (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail). 2006. Risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans l'eau – Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives, Paris. 232 p. Accessible à : <http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/085391856141331010617707867709/cyanobacteries.pdf>.

Agostini S., Garçon S., Durieux O., Guénat R., Peretti R. 2005. Aspects du pancréas normal, variantes et malformations. *Journal Radiologie*, 86: 719-32.

Ahmad N., Mukhtar H. 1999. Green tea polyphenols and cancer: biologic mechanism and practical implications. *Nutrition Reviews*, 57: 78–83.

Ahmed I., Adeghate E., Cummings E., Sharma A.K., Singh J. 2004. Beneficial effects and mechanism of action of *Momordica charantia* juice in the treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rat. *Mol Cell Biochem*, 261: 63–70.

Akao Y., Ebihara T., Masuda H., Saeki Y., Akazawa T., Hazeki K., et al. 2009. Enhancement of antitumor natural killer cell activation by orally administered *Spirulina* extract in mice. *Cancer Science*, 100 (8): 1494–1501.

Al-Azzawie H., Alhamdani M.S.S. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences*, 78: 1371–1377.

Al-Dhabi N.A. 2013. Heavy metal analysis in commercial *Spirulina* products for human consumption. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20: 383–388.

- Almdal T.P., Vilstrup H., 1988. Strict insulin treatment normalizes the organic nitrogen contents and the capacity of urea–N synthesis in experimental diabetes in rats. *Diabetologia* 31: 114–118.
- Alwan A., MacLean D.R., Riley L.M., d'Espaignet E.T., Mathers C.D., Stevens G.A., Bettcher. D. 2010. Monitoring and surveillance of chronic noncommunicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. *The Lancet*, 376: 1861–1868.
- Alyafi Alzhri G. 2007. Determination of chemical composition of Prangos and the possibility to use in the applied field, Damascus University, 54 p.
- Ambrosi M.A., Reinehr C.O., Bertolin T.E., Costa J.A.V., Colla L.M. 2008. Propriedades de saúde de *Spirulina spp.* *Rev Ciênc Farm Básica Apl*, 29: 109-117.
- Ambrozova J.V., Misurcova L., Vicha R., Machu L., Samek D., Baron M., et al. 2014. Influence of extractive solvents on lipid and fatty acids content of edible freshwater algal and seaweed products, the green microalga *Chlorella kessleri* and the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Molecules*, 19: 2344–2360.
- American Diabetes Association. 2007. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 30: S42–S46.
- American Diabetic Association Consensus Development Conference on Insulin Resistance (ADACDCIR), November 5-6, 1997. *Diabetes Care* 1998, 21: 310- 314.
- Anamika P., Sandhya M., Richa P., Ghosh P.K. 2005. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. *Protein Express Purif*, 40: 248-255.
- Anderson J.W., 2000. Dietary fiber prevents carbohydrate-induced hypertriglyceridemia. *Current Atherosclerosis Reports*, 2 : 536–541.
- Angelopoulos T., Kokkinos A., Liaskos C., Tentolouris N., Alexiadou K., Miras A.D., et al. 2014. The effect of slow spaced eating on hunger and satiety in overweight and obese patients with type 2 diabetes mellitus. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 2: e000013. doi:10.1136/bmjdr-2013- 000013.
- Anwar M., Meki A. 2003. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochem Physiol*, 135: 539–547.
-

- Aouir A., Amiali M., Bitam A., Benchabane A., Raghavan V.G. 2017. Comparison of the biochemical composition of different *Arthrospira platensis* strains from Algeria, Chad and the USA. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9463: 1-11.
- Arden E.K., Renzetti S, Fabio D.B. 2009. Dough microstructure and textural aspects of gluten-free yeast bread and biscuits. In *gluten-free food science and technology*, Gallagher E., Wiley-Blackwell. UK, p.p. 107-125.
- Arulselvan P., Subramanian S.P. 2007. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β -cells in experimental diabetes in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 165: 155–164.
- Ashok Kumar B.S., Lakshman K., Jayaveea K.N., Sheshadri S.D., Saleemulla K., Thippeswamy B.S., et al. 2012. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of methanolic extract of *Amaranthus viridis* Linn in alloxan induced diabetic rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 75– 79.
- Assmann G., Nofer J. 2003. Anthropometric protective effects of high density lipoproteins. *Ann Rev Med*, 54: 321-341.
- Aurell M., Bjorck S. 1992. Determination of progressive renal disease in diabetes mellitus, *Kidney Int*, 41: 38–42.
- Avdagic N., Cosovic E., Nakas-Icindic E., Mornjakovic Z., Zaciragic A., et al. 2008. *Spirulina platensis* protects against renal injury in rats with gentamicin-induced acute tubular necrosis. *Bosn J Basic Med Sci*, 8: 331–336.
- Awika J.M., Rooney L.W., Wu X., Prior R.L., Cisneros-Zevallos L. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J Agric Food Chem*, 51: 6657-6662.
- Axen K.V., Axen K. 2006. Very low-carbohydrate versus isocaloric high-carbohydrate diet in dietary obese rats. *Obesity (Silver Spring)*, 14: 1344–1352.
- Bagri P., Ali M., Aeri V., Bhowmik M., Sultana S. 2009. Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food Chem. Toxicol*, 47: 50– 54.
- Bailey C.J. 2005. Drugs on the horizon for diabetes. *Curr Diabetes Rep*, 5: 353–359.
-

- Bakirel T., Bakirel U., Keles O.Ü., Ülgen S.G., Yardibi H. 2008. *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 64–73.
- Balaji S., Kalavani T., Rajasekaran C., Shalini M., Vinodhini S., Priyadarshini S.S., et al. 2015. Removal of heavy metals from tannery effluents of Ambur industrial area, Tamilnadu by *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Environ Monit Assess*, 187(6): 325.
- Banji D., Banji O.J.F., Pratusha N.J. Annamalai A.R. 2013. Investigation on the role of *Spirulina platensis* in ameliorating behavioural changes, thyroid dysfunction and oxidative stress in offspring of pregnant rats exposed to fluoride. *Food Chemistry*, 140: 321–331.
- Bansal R., Ahmad N., Kidwai J.R. 1981. Effect of oral administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rats. *Indian J Biochem. Biophys*, 18: 377–381.
- Bansala P., Paula P., Mudgala J., Nayaka P.G., Pannakalb S.T., Priyadarsinic K.I., et al. 2012. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of the flavonoid rich fraction of *Pilea microphylla (L.)* in high fat diet/streptozotocin-induced diabetes in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 651– 658.
- Banting F.G., Best C.H., Collip J.B., Campbell W.R., Fletcher A.A. 1991. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus: preliminary report. 1922. *CMAJ*, 145(10):1281-6.
- Barakat L.A.A., Mahmoud R.H. 2011. The antiatherogenic, renal protective and immunomodulatory effects of purslane, pumpkin and flax seeds on hypercholesterolemic rats. *North Am J Med Sci*, 3:351-357.
- Barquissau V., Morio B. 2011. Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutrition clinique et métabolisme* 25 : 114–130.
- Barouki R. 2006. Stress oxydant et vieillissement. Ageing free radicals and cellular stress. *Med Sci (Paris)*, 22 (3): 266 – 272.
- Beaudeau J.L., Léger P., Dequen L., Gandjbakhch I., Coriat P., Foglietti M.J. 2000. Influence of Hemolysis on the Measurement of S-100beta Protein and Neuron-Specific Enolase Plasma Concentrations During Coronary Artery Bypass Grafting. *Clin Chem*, 46 (7): 989-990.
-

- Becker E.W. 1988. Microalgae for human and animal consumption. In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L. (Eds.), *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, 222–256.
- Becker E.W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (Cambridge University Press, Cambridge, p.p. 1–293.
- Becker E.W., Jakover B., Luft D., Schmuelling R.M. 1986. Clinical and biochemical evaluations of the alga *Spirulina* with regard to its application in the treatment of obesity: a double-blind cross-over study. *Nutr Rep Int*, 33: 565-574.
- Bell G.I., Pictet R.L., Rutter W.J., Cordell B., Tischer E., Goodman H.M. 1980. Sequence of the human insulin gene. *Nature*, 284(5751): 26-32.
- Benedetti S., Benvenuti F., Pagilarani S., Francogli S., Scoglio S., Canestran F. 2004. Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the bluegreen alga *Aphanizomenon flos-aquae*. *Life Sci*, 75(19): 2353-2362.
- Benhamed D.A. 2012. Analyse des aptitudes technologiques de poudres de dattes (*Phoenix dactylifera*. L) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés rhéologiques, nutritionnelles et antibactériennes. Thèse de doctorat, faculté des sciences de l'ingénieur, Université M'Hamed Bougara-Boumerdes, p.p. 1-119.
- Bennett A., Bogorad L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue green alga. *J Cell Biol*, 58 : 419–435.
- Benoualid K. 1987. Valeur biscuitière des blés tendres point sur les études en cours au CTUC. *Ind des céréales*, 45: 17-33.
- Bensehaila S., Doumandji A., Boutekrabt L., Manafikhi H., Peluso I., Bensehaila K., Kouache A., Bensehaila A. 2015. The nutritional quality of *Spirulina platensis* of Tamenrasset. Algeria. *Afr J Biotechnol*, 14(19): 1649–1654.
- Bermejo B.P., Pinero E., Villar A. M. 2008. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 110, 435–445.
- Berset C. 2006. Pigments phenoliques : structures, stabilité, marche des colorants naturels et effets sur la santé. In: Manchado P.S., Cheynier V. (coord.), *Les polyphénols en agroalimentaire*. Paris: Lavoisier.
-

Berson S.A., Yalow R.S. 1959. Recent studies on insulin-binding antibodies. *Ann N Y Acad Sci*, 82: 338-44.

Bethesda. 2001. US Renal Data System. Annual Data Report: Atlas of End Stage Renal Disease in the United States: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.

Bigliardi B., Galati F. 2013. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31: 118-129.

Bisbala C., Lamberta K., Avignon A. 2010. Antioxidants and glucose metabolism disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13: 439–446.

Bitam A., Benakmoum A., Ammouche A. 2004. Incidences nutritionnelles de l'ingestion de l'huile de tournesol thermooxydée sur les fractions lipidiques sériques et sur l' α -tocophérol chez le rat en croissance. *Sciences des Aliments*, 24 : 323-335.

Blicklé J.F. 2011. Traitement du diabète en dehors de l'insuline. *Endocrinologie-Nutrition*, 10-366-R-20.

Boitard C., Efendic S., Ferrannini E., Henquin J.C., Steiner D.F., Cerasi E. 2005. A Tale of Two Cousins: Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, Vol. 54, Supplement 2.

Bogers R.P., Dagnelie P.C., Bast A., van Leeuwen M., van Klaveren J.D., van den Brandt P.A. 2007. Effect of increased vegetable and fruit consumption on plasma folate and homocysteine concentrations. *Nutrition*, 23(2): 97-102.

Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J.L., Thérond P., Peynet J., Legrand A., Delattre J. 2004. Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 62 : 147-157.

Borowitzka M.A. 1988. Vitamins and fine chemicals from microalgae. In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L. (Eds.), *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, 153– 196.

Bottazzo G.F., Florin-Christensen A., Doniach D. 1974. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*, 2 (7892): 1279-83.

Bouazza A., Bitam A., Amiali A., Bounihi A., Yargui L., Koceir E.A. 2015. Effect of fruit vinegars on liver damage and oxidative stress in high-fat-fed rats. *Pharm Biol*, Early Online: 1–6.

- Boudreau A., Menard G. 1993. Le blé. Elément fondamentaux et transformation. Ed les presse de l'université Laval, Québec Canada. 442 p.
- Bouglé A., Annane D. 2009. Les effets de l'insuline : de la cellule à l'organisme entier, *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 28, e193–e199.
- Boussiba S., Richmond A.E. 1979. Isolation and purification of phycocyanins from the blue green algae *Spirulina platensis*. *Arch Microbiol*, 120: 155–159.
- Branger B., Cadudal J.L., Delobel M., Ouoba H., Yameogo P., Ouedraogo D., et al. 2003. Spiruline as a food supplement in case of infant malnutrition in Burkina-Faso. *Archives de pédiatrie*, 10 : 424–431.
- Brussels, Belgium. 2006. Bulletin of the IDF. 405. Comprehensive review of scientific literature pertaining to nitrogen protein conversion factor. IDF/FIL. www.fil-idf.org.
- Bryant D., Guglielmi G., Marsac N., Castets A.M., Cohen-Bazire G. 1979. The structure of cyanobacterial phycobilisomes: a model. *Arch Microbiol*, 123: 113–127.
- Bucaille P. 1990. Intérêt et efficacité de l'algue spiruline dans l'alimentation des enfants présentant une malnutrition protéinoénergétique en milieu tropical. Thèse de doctorat en médecine. Toulouse-3 université Paul-Sabatier, N° 1191.
- Buccolo G. 1973. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin Chem*, 19 (5): 476-482.
- Buettner G.R., Schafer F.Q. 2000. Free radicals, oxidants, and antioxidants. *Teratology*, 62: 234.
- Burits M., Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14: 323–328.
- Burtis A. 1999. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC.
- Cai D., Dhe-Paganon S., Melendez P.A., Lee J., Shoelson S.E. 2003. Two new substrates in insulin signaling, IRS5/DOK4 and IRS6/DOK5. *J Biol Chem*, 278: 25323–25330
- Cakir A., Mavi A., Yıldırım A., Duru M.E., Harmandar M., Kazaz C. 2003. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *J Ethnopharmacol*, 87: 73-83.
-

- Candan N, Tarhan L. 2003. Relationship among chlorophyll-carotenoid concentration, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels by Mg²⁺ deficiency in the *Mentha pulegium* leaves. *Plant Physiol Biochem*, 41 : 35–40.
- Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.C., Pénicaud L., Casteilla L. 2006. Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie, *médecine sciences*. 22 (1) : 47-53.
- Castaneda C. 2001. Type 2 diabetes mellitus and exercise. *NCC*, 3: 349-58.
- Castro G.S.D., Deminice R., Simões-Ambrosio L.M.C., Calder P.C., Jordão A.A., Vannucchi H. 2015. Dietary Docosahexaenoic Acid and Eicosapentaenoic Acid Influence Liver Triacylglycerol and Insulin Resistance in Rats Fed a High-Fructose Diet. *Mar. Drugs*, 13: 1864-1881.
- Catier D., Roux D. 2007. Le cahier du préparateur, Botanique Pharmacognosie Phytothérapie, 3ème édition Wolters Kluwer, page 112.
- Cerasi, E. 2000. Type 2 diabetes: to stimulate or not to stimulate the cell. *Metabolism: Clinical and Experimental* 49 (Supplement 2), 1–2.
- Cevallos C.G., Barron B.L., Vazquez-Sanchez J. 2008. Toxicologic studies and antitoxic properties of Spirulina. In: Gershwin, M.E., Belay A. (Eds.), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 33487-2742, 42-65.
- Chaiklahana R., Chirasuwan N., Triratana P., Loha V., Tia S., Bunnag B. 2013. Polysaccharide extraction from *Spirulina sp* and its antioxidant capacity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58: 73– 78.
- Chakravarthy M.V., Lodhi I.J., Yin L., Malapaka R.R., Xu H.E., Turk J., Semenkovich C.F. 2009. Identification of a physiologically relevant endogenous ligand for PPAR alpha in liver. *Cell*, 138: 476–488.
- Chamorro G., Salazar M. 1990. Teratogenic study of Spirulina in mice. *Arch Latinoam Nutr*, 40: 86–94.
- Chamorro G., Salazar M., Favila L., Bourges H. 1996. Pharmacology and toxicology of the alga Spirulina. *Revista de Investigacion Clinica*, 48 (5) : 389–399.
- Charlemagne D. 2008. La spiruline : aliment santé ? DIU Alimentation Santé et Micronutrition de la faculté de pharmacie de Dijon.
-

Charpy I., Langlade M., Romain A.R. 2008. La spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? Institut de recherche pour le développement UR 167. (CYROCO), 6 (17) : 31-41.

Charpy L. 2002. Compte rendu du mini colloque sur la production de la spiruline artisanale à Mialet. IRD: lcharpy@com.univ-mrs.fr.

Chatterjea M.N., Shinde R. 2002. Text Book of Medical Biochemistry. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, 317 p.

Cheftel J.C., Cheftel H., Besançon P. 1997. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume 2. TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 116 p.

Chen T., Pan S. 2005. Bioremediation potential of spirulina: toxicity and biosorption studies of lead. *Journal . Zhejiang Univ Sci*, 3: 171-174.

Chen T., Wong Y.S. 2008. *In vitro* antioxydant and antiproliferaive activities of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Journal Agric Food Chemistry*, 56 (12): 4352-4358.

Chen T., Wong Y.S. 2008. *In vitro* Antioxydant and Antiproliferaive Activities of Selenium-Containing Phycocyanin from Selenium-Enriched *Spirulina platensis*. *J.Agric Food Chemistry*, 56 (12): 4352-4358.

Cheng D. 2005. Prevalance, predisposition and prevention of Type 2 diabetes, *Nutr. Metab*, 18: 2–29.

Cherng S.C., Cheng S.N., Tarn A., Chou T.C. 2007. Anti-inflammatory activity of C-phycocyanin in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Life Sci*, 81: 1431–1435.

Chevallier S., Colonna P., Valle G.D. Lourdin D. 1999. Structural modifications of biscuit doughs during baking-Role of ingrédients. INRA. Paris, 91: 191-197.

Chevalier S., Cotonna P. 2000. Contribution of the major ingredients during baking of biscuit dough system. *Journal of cereal science*, 31: 241-251.

Chika A., Bello S.O. 2010. Antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of *Combretum micranthum* (Combretaceae) in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 129: 34–37.

- Chisolm G.M., Steinberg D. 2000. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med*, 28: 1815–1826.
- Choi H.Y., Lee G.M., Lee I. 2008. Effects of diabetes mellitus induced by alloxan on the pharmacokinetics of metformin in rats: restoration of pharmacokinetic parameters to the control state by insulin treatment. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 11 (1): 88-103.
- Chopra K., Bishnoi M. 2008. Antioxidant profile of Spirulina: a blue-green microalga. In *Spirulina in Human Nutrition and Health*. Edited by: Gershwin M.E., Belay A. Boca Raton: CRC Press, 101-118.
- Chorus I. Bartram J., eds. 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. *E & FN Spon*, Londres.
- Chu W.L., Lim Y.W., Ammu K.R.A.K., Lim P.E. 2010. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10: 53.
- Ciferri O. 1983. Spirulina, the Edible Microorganism. *Microbiological reviews*. 47 (4): 551-574.
- Cingi C., Conk-Dalay M., Cakli H., Bal C. 2008. The effects of Spirulina on allergic rhinitis. *European Archives of Oto-Rhino- Laryngology*, 265 (10): 1219–1223.
- Coca M., Barrocal V.M., Lucas S., González-Benito G., García-Cubero M.T. 2014. Protein production in *Spirulina platensis* biomass using beet vinasse-supplemented culture media, *Food and Bioproducts Processing*, 94: 306–312.
- Colla L.M., Muccillo-Baisch A.L., Costa J.A.V. 2008. *Spirulina platensis* Effects on the Levels of Total Cholesterol, HDL and Triacylglycerols in Rabbits Fed with a Hypercholesterolemic Diet. *Brazilian Arch Biol and Technol*, 51:405–411.
- Colla L.M., Reinehr C.O., Reichert C.J., Costa A.V. 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Biores Technol*, 98: 1489-1493.
- Combettes M.M. 2006. GLP-1 and type 2 diabetes: physiology and new clinical advances. *Curr Opin Pharmacol*, 6: 598–605.
-

- Conforti F., Loizzo M.R., Statti G.A., Menichini F. 2005. Comparative radical scavenging and antidiabetic activities of methanolic extract and fractions from *Achillea ligustica* All. *Biol Pharm Bull*, 28(9): 1791-1794.
- Cruchot H. 2008. La spiruline bilan et perspectives. Thèse de doctorat. 332 p.
- Cudworth A.G., Woodrow J.C. 1976. Genetic susceptibility in diabetes mellitus: analysis of the HLA association. *Br Med J*, 2(6040): 846-8.
- Cuellar-Bermudez S.P., Aguilar-Hernandez I., Cardenas-Chavez D.L., Ornelas-Soto N., Romero-Ogawa M.A., Parra-Saldivar R. 2015. Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. *Microbial Biotechnology*, 8(2): 190–209.
- D’Oca M.G.M., Viegas C.V., Lemoes J.S., Miyasaki E.K., Morón-Villarreyes J.A., Primel E.G., Abreu P.C. 2011. Production of FAMES from several microalgal lipidic extracts and direct transesterification of the *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomass Bioenergy*, 35: 1533–1538.
- Dadoune J.P., Hadjiisky P., Siffroi J.P, Vendrely E. 2000. Histologie, Flammarion médecine Science, 2^{ème} édition, Paris, 135-230.
- Daniel M. 2006. Medicinal Plants: Chemistry and Properties. Science Publishers, Enfield, NH, 184 p.
- Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T.A., Linssen J. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 140–146.
- Das S., Baliarshinha A.K. 1997. Lipid and lipoprotein cholesterol in diabetic mellitus. *Indian Scene. Lipid India*, 11: 7-11.
- Davidson M.B. 2003. Effect of Nurse - Directed Diabetes care in a Minority population. *Diabetes care*, 26: 2281–2287.
- DeFronzo R.A. 2004. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin North Am*, 88(4): 787-835.
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. 2005. Radicaux libres et stress oxydant - aspects biologiques et pathologiques. Tec & Doc (Editions), p.p. 547.
- Deng G.F., Lin X., Xu X.R., Gao L.L., Xie J.F., Li H.B. 2013. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *J Funct Foods*, 5: 260–266.
-

- Deng R., Chow T.J. 2010. Hypolipidemic, antioxidant and antiinflammatory activities of microalgae *Spirulina*. *Cardiovasc Ther*, 28(4): e33–e45.
- Derrickson B., Tortora J. 2007. Principe d'anatomie et de physiologie, 4^{ème} édition, renouveau pédagogique, Canada, 692 p.
- Dharmalingam M. 2014. Efficacy and tolerability of GLP-1 agonists in patients with type 2 diabetes mellitus: an Indian perspective. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 5(6): 159–165.
- Diplock A.T., Aggett P.A., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B., Roberfroid M.B. 1999. Scientific concepts of functional food sin Europe: Consensus Document. *Br J Nutr*, 81:1, S1-S27.
- Djaghoubi A., Bouhoun M.D., Hadj Said S., Saggai A., Sobti S., Hamdi A.B. 2015. Growth and Nitrogen Removal Efficiency as Protein Content of *Spirulina* from Tertiary Municipal Wastewater in Ouargla (Algerian Bas-Sahara). *Energy Procedia*, 74 : 1402 – 1409.
- Djenane F., Benmansour S. 2015. Valorisation des écorces de Citrus (orange et citron) en biscuiterie. Mémoire de master, université M'Hamed bougara, Boumerdès. 47 p.
- Dolz M. 2008. Comment se parlent les cellules α et β du pancréas? *Médecine des maladies Métaboliques*, 2 : 3.
- Dominguez H. 2013. Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals, edited by Domínguez H, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 256, Woodhead Publishing Limited, Oxford, Cambridge Philadelphia.
- Duan X., Wu G., Jiang Y. 2007. Evaluation of the antioxidant properties of litchi fruit phenolics in relation to pericarp browning prevention. *Molecules*, 12: 759-71.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356.
- Duda-Chodak A., 2013. Impact of water extract of *Spirulina* (WES) on bacteria, yeasts and molds. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 12 : 33–39.
- Dudonné S., Vitrac X., Coutière P., Woillez M., Mérillon J.M. 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem*, 57: 1768–1774.
-

- Ďuračková Z. 2008. Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In: Mitochondrial Medicine. Mitochondrial Metabolism, Diseases, Diagnosis and Therapy. A Gvozdjaková (ed), Amsterdam, p.p. 19-49.
- Duy T.N., Lam P.K.S., Shaw G.R., Connell D.W. 2000. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. *Rev Environ Contam Toxicology*, 163: 113-186.
- Eckel R.H., Kahn S.E., Ferrannini E., Goldfine A.B., Nathan D.M., Schwartz M.W., et al. 2011. Obesity and Type 2 Diabetes: What Can Be Unified and What Needs to Be Individualized? *J Clin Endocrinol Metab*, 96(6): 1654–1663.
- Eddouks M., Jouad H., Maghrani M., Lemhadri A., Burcelin R. 2003. Inhibition of endogenous glucose production accounts for hypoglycemic effect of *Spergularia purpurea* in streptozotocin mice. *Phytomedicine*, 6 (7): 594–599.
- Edelman S.V. 1998. Importance of glucose control. *Med Clin North Am*, 82 (4): 665–687.
- Edem D.O. 2009. Hypoglycemic effects of Ethanolic extracts of Alligator pear seed (persea Americana Mill) in rats. *European Journal of Scientific Research*, 33(4): 669-678.
- El Hafidi M., Baños G. 1997. *In vivo* plasma lipid oxidation in sugar induced rat hypertriglyceridemia and hypertension. *Hypertension*, 30: 624–628.
- ElAdawy T., Taha K. 2001. Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chem*, 74: 47-54.
- Fatima S.S., Rajasekhar M.D., Kumar K.V., Kumar M.T.S., Babu K.R., Rao S.A. 2010. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of ethyl acetate: Isopropanol (1:1) fraction of Vernonia anthelmintica seeds in Streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 495–501.
- Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, l'actualité chimique, 15 ; 108- 115.
- Feoli A., Roehrig C., Rotta L., Kruger A.H., Souza K.B., Kessler A.M., et al. 2003. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. *Basic Nutrit Investig*, 19: 789-793.
-

- Fineman M.S., Koda J.E., Shen L.Z., Strobel S.A., Maggs D.G., Weyer C., et al. 2002a. The human amylin analog, pramlintide, corrects postprandial hyperglucagonemia in patients with type 1 diabetes. *Metabolism*, 51: 636–41.
- Fineman M., Weyer C., Maggs D.G., Strobel S., Kolterman O.G. 2002b. The human amylin analog, pramlintide, reduces postprandial hyperglucagonemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Horm Metab Res*, 34: 504–8.
- Flint O., Mass R., Wade P.A. 1970. Comparative study of the microstructure of different types of biscuits and their doughs. *Food trade review*, 40, 32-39.
- Fogliano V., Andreoli C., Martello A., Caiazzo M., Lobosco O., Formisano F., Carlino P.A., Meca G. 2010. Functional ingredients produced by culture of *Koliella antarctica*. *Aquaculture*, 299, 1-4: 115-120.
- Fossati P., Prencipe L., Berti G. 1980. Use of 3, 5-Dichloro- 2-hydroxybenzenesulfonic Acid/4-Ami nophenazone Chromogenic System in Direct Enzymic Assay of Uric Acid in Serum and Urine. *Clin Chem*, 26 (2): 227-231.
- Fossati P., Prencipe L. 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*, 28 (10): 2077-2080.
- Frankel E.N., Meyer A.S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants. *Journal of science and food Agriculture*, 80: 1925-1941.
- Friedwald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 18: 499–502.
- Fu L., Xu B.T., Xu X.R., Gan R.Y., Zhang Y., Xia E.Q., Li H.B. 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem*, 129: 345–350.
- Gad A.S., Khadrawy Y.A., El-nekeety A.A., Mohamed S.R., Hassan N.S., Abdel-Wahhab M.A. 2011. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition*, 27: 582- 589.
- Gallagher E. 2008. Formulation and nutritional aspects of gluten-free cereal products and infant foods. In *gluten free cereal products and beverages*, Ardent, E.K. & Fabio D.B. First edition, Academic press, Elsevier, p.p. 321-341.
-

- Gamal A.A.E. 2010. Biological importance of marine algae. *Saudi Pharm J*, 18: 1–25.
- Gandhi S., Srinivasan B.P., Akart A .S. 2013. An experimental assessment of toxic potential of nanoparticle preparation of heavy metals in streptozotocin induced diabetes. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 1127– 1135.
- Gardès-Albert M., font-Rousselot B.D., Abedinzadeh Z., Jore D. 2003. Espèces réactives de l’oxygène, comment l’oxygène peut-il devenir toxique? L’actualité chimique, p. 91-95.
- Codoñer-Franch P., Valls-Bellés V., Arilla-Codoñer Á., Alonso-Iglesias E. 2011. Oxidant mechanisms in childhood obesity: The link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*, 158: 369–384.
- Gardner N.L. 1917. New Pacific coast marine algae I. *University of California Publications in Botany* 6: 377-416, 31-35.
- Gariani K., Hagon-Traub I., Philippe J. 2009. Diabète de type 1 ou II ? ou autre ? *Rev Med Suisse*, 5: 1248-1253.
- Gepts W. 1965. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 14(10): 619-33.
- Gershwin M. E., Belay A. 2008. Spirulina in human nutrition and health. Taylor & Francis group, LLC. *International Standard Book Number*, 13: 978-1-4200-5256-5 (Hardcover).
- Gezer K., Duru E., Kivrak., Turkaglu A., Mercan N., Turkoglu H., Gukan S. 2006. Free radical Scavenging capacity and antimicrobial activity of Wild –Edible mushroom from Turkey. *Afr J Biotechnol*, 5(20): 1924- 1928.
- Gin H., Messerschmitt C., Brottier E., Aubertin J. 1985. Metformin Improved Insulin Resistance in Type 1, Insulin-Dependent, Diabetic Patients. *Metabolism*, 34: 10: 923-925.
- Girard J. 2008. Les actions physiologiques de l’insuline, Médecine des maladies Métaboliques. *Suppl*, 2, s124-s129.
- Girard J. 2008. Place de l’insulinorésistance dans la physiopathologie du diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques Suppl*, 1 : S17-20.
- Giugliano D., Esposito K. 2008. Mediterranean diet and metabolic diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 19: 63–68.
- Glass C.K., Witztum J.L. 2001. Atherosclerosis. The road ahead. *Cell*, 104: 503–516.
- Goetz P. 2007. Phytothérapie du diabète. *Phytothérapie*, 5: 212 – 217.
-

- Goldberg D.M., Spooner R.J. 1983. Glutathione reductase. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J GraBl M. (ed). *Methods of enzymatic analysis*, 3rd ed., vol. 111. *Verlag Chemie, Weinheim*, p.p. 258-265.
- Gonnet. 2007. Pilot project for the development of the Dihe food chain in Chad. (GCP/CHD/029/EC), INRAN, Rome, p.p. 1–15.
- Gonzalez-Baró M.R., Lewin T.M., Rosalind A.C. 2007. Regulation of Triglyceride Metabolism II. Function of mitochondrial GPAT1 in the regulation of triacylglycerol biosynthesis and insulin action. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 292 (5): G1195.
- González-Sánchez J.L., Serrano-Ríos M. 2007. Molecular basis of insulin action. *Drug News Perspect*, 0(8): 527-31.
- Greenfield J.R., Farooqi I.S., Keogh J.M., Henning E., Habib A.M., Blackwood A., et al. 2009. Oral Glutamine Increases Circulating GLP-1, Glucagon and Insulin Levels in Lean, Obese and Type 2 Diabetic Subjects. *Am J Clin Nutr*, 89(1): 106–113.
- Grove T.H. 1979. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin Chem*, 25 (4): 560-4.
- Guillausseau P.J., Meas T., Virally M., Laloi-Michelin M., Ambonville C., Kevorkian JP. 2008. Insulinosécrétion et diabète de type 2, *Médecine des maladies Métaboliques – Suppl. 1*, s21-s24.
- Gupta S., Abu-Ghannam N. 2011. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends Food Sci Technol*, 22: 315–326.
- Gupta S., Hrishikeshvan H.J., Sehajpal P.K. 2010. Spirulina protects against Rosiglitazone induced osteoporosis in insulin resistance rats. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87 (3): 8 – 43.
- Ha H., Kim K.H. 1999. Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase. *C Diabetes Res Clin Pract*, 45: 147–151.
- Habib M.A.B., Parvin M., Huntington T.C., Hasan M.R. 2008. A review on culture, production, and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, 1034.
-

- Habou H., Degbey H., Hamadou B. 2003. Evaluation de l'efficacité de la supplémentation en spiruline du régime habituel des enfants atteints de malnutrition protéinoénergétique sévère (à propos de 56 cas). Thèse de doctorat en médecine Niger.
- Haffner S.M., Greenberg A.S., Weston W.M., Chen H., Williams K., Freed M.I. 2002. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*, 106: 679-684.
- Halidou D.M., Degbey H., Daouda H., Leveque A., Donnen P., Hennart P., et al. 2008. Supplémentation en spiruline dans le cadre de la réhabilitation nutritionnelle : revue systématique. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*, 56 : 425-431.
- Halliwell B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141: 312-322.
- Hannedouche T.P., Delgado A.G., Gnoinsahe D.A., Boitard C., Gruenfeld J.P. 1990. Renal hemodynamics and segmental tubular sodium reabsorption in early type 1 diabetes. *Kidney Int*, 37: 1126-1133.
- Harkness J.E., Wagner J.E. 1983. The biology and Medicine of Rabbits and Rodents (2nd E). Lea & Febiger, Philadelphia, PA.
- Harris E.H. 2005. Elevated liver function tests in type 2 diabetes. *Clin Diabetes*, 23 (3): 115-119.
- Hawkins N.C., Van Buskirk C., Grossniklaus U., Schupbach T. 1997. Post-transcriptional regulation of gurken by encore is required for axis determination in *Drosophila*. *Development*, 124(23): 4801-4810.
- Hayashi K., Haneda M., Koya D., Maeda S., Isshiki K., Kikkawa R. 2001. Enhancement of glomerular heme oxygenase-1 expression in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*, 52: 85-96.
- Hazzit M., Baaliouamer A., Verissimo A.R., Faleiro M.L. Miguel M.G. 2009. Chemical composition and Biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*, 116: 714-721.
- Hemlata G., Fareha B. 2011. Studies on *Anabaena* sp. nccu-9 with special reference to phycocyanin. *J Algal Biomass Util*, 2: 30-51.
-

Henrikson R. 2010. Spirulina: World food, how this Micro algae can transform your health and our planet. Ronore Enterprises, Inc., PO Box 909, Hana, Maui, Hawaii 96718 USA, ISBN 1453766987, p. 195.

Holdt S.L., Kraan S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *J Appl Phycol*, 23, 543–597.

Hooda S., Jood S. 2005. Organoleptic and nutritional evaluation of wheat biscuits supplemented with untreated and treated fenugreek flour. *Food Chemistry*. 90: 427-435.

Hossain M.Z., Shibib B.A. Rahman R. 1992. Hypoglycemic effects of *Coccinia indica*: inhibition of key gluconeogenic enzyme, glucose-6-Phosphatase. *Ind J Exp Biol*, 10: 418-420.

Hovind P., Rossing P., Tarnow L., Johnson R.J., Parving H.H. 2009. Serum uric acid as a predictor for development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: an inception cohort study. *Diabetes*, 58: 1668-1671.

Huang Z., Guo B.J., Wong R.N.S., Jiang Y. 2007. Characterization and antioxidant activity of selenium-containing phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*. *Food Chem*, 100: 1137-1143.

Hutadilok-Towatana N., Reanmongkol W., Satitit S., Panichayupakaranant P., Ritthisunthorn P. 2008. A Subchronic Toxicity Study of *Spirulina platensis*. *Food Sci and Technol Res*, 14: 351.

Iazzourene G. 2015. Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (*Myrtus communis L.*), de la carotte sauvage (*Daucus carota L. ssp. carota*) et de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia L.*). Thèse de doctorat, Alger, Algerie.

Icks A., Haastert B., Trautner C., Giani G., Glaeske G., Hoffmann F. 2009. Incidence of lower-limb amputations in the diabetic compared to the non-diabetic population. Findings from nationwide insurance data, Germany, 2005-2007. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 117: 500–504.

Idelman S., Verdetti J. 2000. Endocrinologie et communications cellulaires. Collection Grenoble Sciences.

Ikewuchi J.C., Ikewuchi C.C., Eriyamremu G.E. 2009a. Effect of *Acalypha wilkesiana* Muell Arg on the blood pressure and aorta contractility of salt-loaded rats. *Pacific Journal of Science and Technology*, 10: 829-834.

Ikewuchi J.C., Ikewuchi C.C., Onwuka F.C. 2009b. *Acalypha wilkesiana* Muell Arg induced diuresis in salt-loaded rats: Implication for the management of edema, obesity and hypertension. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 13: 51–54.

International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 2014. 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2013. Available from: http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf.

International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2013. Available from: http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf. Accessed September 2, 2014.

Inzucchi S., Bergenstal R., Buse J., Diamant M., Ferrannini E., Nauck M. et al. 2012. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*, 55(6): 1577–1596.

Ionov V. A., Basova M. M. 2003. Use of blue-green microseaweed *Spirulina platensis* for the correction of lipid and hemostatic disturbances in patients with ischemic heart disease. *Voprosy Pitaniia*, 72 (6): 28–31.

Ishiki M., Klip A. 2005. Minireview: recent developments in the regulation of glucose transporter-4 traffic: new signals, locations, and partners. *Endocrinology*, 146(12): 5071-8.

Islam M.S., Choi H. 2008. Chinese cabbage (*Brassica campestris L.*) does not improve glucose tolerance, serum insulin, or blood lipid profiles in a rat model of type 2 diabetes. *J Food Sci*, 73(9): H213-7.

ISO 8968-1. IDF 020-1 : 2001- Milk-determination of nitrogen content- Part 1 : Kjeldahl method.

Iwata K., Inayama T., Kato T. 1990. Effects of *Spirulina platensis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 36: 165–171.

Jain S., Bhatia G., Barik R., Kumar P., Jain A., Dixit V.K. 2010. Antidiabetic activity of *Paspalum scrobiculatum Linn* in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 127: 325–328.

Jalal D.I., Rivard C.J., Johnson R.J., Maahs D.M., McFann K., Rewers M., et al. 2010. Serum uric acid levels predict the development of albuminuria over 6 years in patients with type 1

diabetes: findings from the coronary artery calcification in Type 1 Diabetes study. *Nephrol Dial Transplant*, 25: 1865-1869.

Jarisoa T. 2005. Adaptation de la spiruline du sud de madagascar a la culture en eau de mer. Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. These de doctorat es sciences en océanologie appliquée. Institut halieutique et des sciences marines universite de Toliara. 179 p.

Jarouliya U., Zacharia A.J., Kumar P., Bisen P.S., Prasad G.B.K.S. 2012. Alleviation of metabolic abnormalities induced by excessive fructose administration in Wistar rat by *Spirulina maxima*. *Indian J Med Res*, 135: 422-428.

Jeeji Bai N. 1985. Competitive exclusion or morphological transformation? A case study with *Spirulina fusiformis*. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement*, 38-39,191 – 199.

Jenkins A.J., Hill M.A., Rowely K.G. 2007. Diabetes and oxidant stress. Atherosclerosis and oxidant stress. A new perspective. Holtzman .L. (ed), 123-160.

Jeon C.Y., Murray M.B. 2008. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: a systematic review of 13 observational studies. *PLoS Medicine*, 5: e152.

Jourdan J.P. 2006. Cultivez votre spiruline, manuel de culture artisanale pour la production de spiruline. 226p.

Jourdan J.P. 2011. Cultivez votre spiruline: manuel de culture artisanale de spiruline. 223 p.

Ju J.B., Kim J.S., Choi C.W., Lee H.K., Oh T.K., Kima S.C. 2008. Comparison between ethanolic and aqueous extracts from Chinese juniper berries for hypoglycaemic and hypolipidemic effects in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 115: 110–115.

Juan C.C., Au L.C., Fang V.S., Kang S.F., Ko Y.H., Kuo S.F., Hsu Y.P., Kwok C.F., Ho L.T. 2001. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin-resistant rat model probably by elevated free fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun*, 289: 1328–1333.

Juarez-Oropeza M.A., Mascher D., Torres-Duran P.V., Farias J.M., Paredes- Carbajal M.C. 2009. Effects of dietary Spiurlina on vascular reactivity. *J Med Food*, 12(1):15-20.

Kabir A.U., Samad M.B, Ahmed A., Jahan M.R., Akhter F., Tasnim J., et al. 2015. Aqueous fraction of *Beta vulgaris* ameliorates hyperglycemia in diabetic mice due to enhanced Glucose

stimulated insulin secretion, mediated by acetylcholine and GLP-1, and elevated glucose uptake via increased membrane bound GLUT4 transporters. *PLoS ONE*, 10(2): e0116546.

Kahn S.E., Cooper M.E., Del Prato S. 2014. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*, 383 (9922): 1068-83

Kamalakkannan N., Prince P.S.M. 2006. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98: 97–103.

Kamalpreet K., Rajbir S., Kiran G. 2008. Effect of supplementation of Spirulina on blood glucose and lipid profile of the non-insulin dependent diabetic male subjects. *J Dairying, Foods and Home Sci*, 27: 3–4.

Kamalpreet K., Rajbir S., Kiran G. 2008. Effect of supplementation of Spirulina on blood glucose and lipid profile of the non-insulin dependent diabetic male subjects. *J Dairying, Foods and Home Sci*, 27:3–4.

Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahouel S., Benziane M., Younos C., et al. 2009. Etude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata* (Forssk) MOQ, plante utilisée traditionnellement en Algérie. *Phytothérapie*, 197– 201.

Kameswara R.B., Renuka S.P., Rajasekhar M.D., Nagaraju N., Appa R.C. 2003. Antidiabetic activity of *Terminalia pallida* fruit in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 85: 169–172.

Kameswara R.B., Apparao C.H. 2001b. Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp. Seed extracts in normal and diabetic rats, *Phytomedicine* 8: 88–93.

Kameswara R.B., Giri R., Kesavulu M.M., Apparao C.H. 2001a. Effect of oral administration of bark extracts of *Pterocarpus santalinus* L. on blood glucose level in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 69–74.

Kaplan A. 1984. Tryglycerides. *Clin Chem* The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 437 and Lipids 1194-1206.

Kaplan A. 1984. Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem* The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1257-1260 and 437and 418.

- Kaplan L.A. 1984. Glucose. *Clin Chem* The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 1032-1036.
- Kapoor R., Mehta U. 1993. Effect of supplementation of blue green alga (*Spirulina*) on outcome of pregnancy in rats. *Plant Foods Hum Nutr*, 43: 29–35.
- Karkos P.D., Leong S.C., Karkos C.D., Sivaji N., Assimakopoulos D.A. 2008. *Spirulina* in clinical practice: evidence-based human applications. *Evid Based Complement Alternat Med*. 1–4. eCAM.
- Kasetti R.B., Rajasekhar M.D., Kondeti V.K., Fatima S.S., Kumar E.G.T., Swapna S., et al. 2010. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of methanol: water (4:1) fraction isolated from aqueous extract of *Syzygium alternifolium* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48:1078–1084
- Kato T., Takemoto K., Katayama H., Kuwabara Y. 1984. Effects of *Spirulina (Spirulina platensis)* on dietary hypercholesterolemia in rats. *J Jap Soc Nutr Food Sci*, 37: 323–332.
- Kawabata N., Kawamura T., Utsunomiya K., Kusano E. 2015. High salt intake is associated with renal involvement in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Internal medicine*, 54: 311-317.
- Kawanishi Y., Tominaga A., Okuyama H., Fukuoka S., Taguchi T., Kusumoto Y., et al. 2013. Regulatory effects of *Spirulina* complex polysaccharides on growth of murine RSV-M glioma cells through Toll-like receptor-4. *Microbiology and Immunology*, 57 (1): 63–73.
- Kayamori F., Igarashi K. 1994. Effects of dietary nasunin on the serum cholesterol level in rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58: 570–571.
- Kent M., Welladsen H.M., Mangott A., Li Y. 2015. Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. *PLoS ONE*, 10(2): 1–14.
- Kesavulu M.M., Giri R., Kameswara R.B., Apparao C. 2000. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetic with microvascular complications. *Diabetic Metabol*, 26: 387-392.
- Khan A., Safdar M. 2003. Role of diet, nutrients, spices and natural products in diabetes mellitus. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2: 1–12.
- Khan Z., Bhadouria P., Bisen P.S. 2005. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 6 (5) : 373–379.
-

- Kiger J.L., Kiger J.G. 1967. Techniques modernes de la biscuiterie, pâtisserie-boulangerie industrielles et artisanales et des produits de régime. Dunod Tome 1, Paris, 696 p.
- Kim M.H., Kim W.Y. 2005. The change of lipid metabolism and immune function caused by antioxidant material in the hypercholesterolemic elderly women in Korea. *The Korean J Nutrition*, 38 (137): 67–75.
- Kim S.M., Kang K., Jeon J.S., Jho E.H., Kim C.Y., Nho C.W., Um B.H. 2011. Isolation of phlorotannins from *Eisenia bicyclis* and their hepatoprotective effects against oxidative stress induced by *tert*-butyl hydroperoxide. *Appl Biochem Biotechnol*, 165: 1296–1307.
- Klin Z. 1972. Alkaline phosphatase activity is determined by measuring the rate of conversion p-nitrophenyl phosphate (pNPP) to p-nitrophenol (pNP). *Chem U klin Biochem*, 182–192.
- Knop F.K., Vilsbøll T., Højberg P.V., Larsen S., Madsbad S., Vølund A., et al. 2007. Reduced Incretin Effect in Type 2 Diabetes Cause or Consequence of the Diabetic State? *Diabetes*, 56: 1951 - 1959.
- Koda K.M.A., Rotblatt M.D. 1992. Diabetes mellitus. In: Young L.Y., Koda-Kimble M.A., editors. Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs. Vancouver: *Applied Therapeutics Inc*, 72.1-72.53.
- Kokou F., Makridis P., Kentouri M., Divanach P. 2012. Antibacterial activity in microalgae cultures. *Aquaculture Research*, 43 (10): 1520–1527.
- Koleva I.I., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., De Groot A., Evstatieva L.N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, 13: 8-2002-17.
- Koller A. 1984. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1316-1324 and 418.
- Koru E. 2009. Spirulina microalgae production and breeding in commercial. *Turk J Agric*, 11: 133-134.
- Kraft G., Cherrington A.D. 2011. Actions physiologiques du glucagon, médecine des maladies métaboliques. 5 (2): 122-128.
- Krebs M., et Roden M. 2005. Molecular mechanisms of lipid-induced insulin resistance in muscle, liver and vasculature. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7: 621–632.
-

- Kuhad A., Tirkey N., Pilkhwai S., Chopra K. 2006. Effect of Spirulina, blue green algae, on gentamicin-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Fundam Clin Pharmacol*, 20(2):121-8.
- Kulshreshtha A., Zacharia A.J., Jarouliya U., Bhadauriya P., Prasad G.B., Bisen P.S. 2008. Spirulina in health care management. *Curr Pharm Biotechnol*, 9: 400-405.
- Kumar A.B.S., Lakshman K., Jayaveea K.N., Sheshadri Shekar D., Saleemulla Khan, Thippeswamy B.S., Veerapur V.P. 2012. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of methanolic extract of *Amaranthus viridis* Linn in alloxan induced diabetic rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 75– 79.
- Kumar M., Kulshreshtha J., Singh G.P. 2011. Growth and biopigment accumulation of Cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. *Braz J Microbiol*, 42: 1128– 1135.
- Laakso M. 1993. How good a marker is insulin level for insulin resistance? *Am J Epidemiol*, 137: 959- 965.
- Lacombe M. 2003. Abrégé d'anatomie et physiologie humaine. 5^{ème} édition. Lamre, France, 137-150 p.
- Lacombe M. 2006. Abrège d'anatomie et physiologie humaine, 6^{ème} édition, 221p.
- Ladouari A., Harkouk Y. 2012. Effet du décocté de *Zygophyllum album* Coss sur le diabète et le stress oxydant associé. Mémoire de biologie de l'université d'Alger. <http://www.institut-numerique.org/effet-du-decocte-de-zygophyllum-album-coss-sur-le-diabete-et-le-stress-oxydant-associe-526fce1777024>.
- Lamaison J.L.C., Carnet A. 1990. Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm Acta Helv*, 65: 315-320.
- Langlois A. 2008. Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique? Thèse de docteur de l'Université Louis Pasteur Strasbourg I. France. 193 p.
- Lara E., Cortes P., Briones V., Perez M. 2011. Structural and physical modification of corn biscuits during baking process. *LWT-Food science and technology*. 44: 622-630.
- LaRosa J. C. 1994. Cholesterol and public policy. *Atherosclerosis*, 108: 137-141.
-

- Latha R.C.R., Daisy P. 2011. Insulin-secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica Roxb* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 189: 112–118.
- Layam A., Reddy C.L.K: Antidiabetic property of Spirulina. 2007. *Diabetol Croat*, 35: 27-48.
- Lee E.H., Park J.E., Choi Y.J., Huh K.B., Kim W.Y. 2008. A randomized study to establish the effects of Spirulina in type 2 diabetes mellitus patients. *Nutrition Research and Practice*, 2: 295–300.
- Lee J. 2013. Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms. *Fitoterapia*, 86: 129-136. 448.
- Lemanska K., Szymusiak H., Tyrakowska B., Zielinski R., Soffer A.E.M.F., Rietjens I.M.C.M. 2001. The influence of pH on the antioxidant properties and the mechanisms of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Rad. Biol. Med*, 31: 869-881.
- Li A.H., Cheng K., Wong C., King-Wai F., Feng C., Yue J. 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem*, 102: 771-776.
- Li H., Wang X., Li Y., Li P., Wang H. 2009. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chem*, 112: 454-60.
- Li S., Li S.K., Gan R.Y., Song F.L., Kuang L., Li H.B. 2013. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Ind Crops Prod*, 51: 289–298.
- Li X.L., Xu G., Chen T., Wong Y.S., Zhao H.L., Fan R.R., et al. 2009. Phycocyanin protects INS-1E pancreatic beta cells against human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis through attenuating oxidative stress and modulating JNK and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *Int J Biochem Cell Biol*, 41: 1526–1535.
- Lichtenthaler H., Wellburn A. 1985. Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
- Lim A.K.H. 2014. Diabetic nephropathy-Complications and treatment. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*. 7 361–381.
- Lim A.K.H. 2014. Diabetic nephropathy-Complications and treatment. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 7: 361–381.
-

- Liu J.G., Hou C.W., Lee S.Y., Chuang Y., Lin C.C. 2011. Antioxidant effects and UVB protective activity of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) products fermented with lactic acid bacteria. *Process Biochem*, 46: 1405–1410.
- Locatto M.E., Di Loreto V., Fernandez M.C., Caferra D., Puche R.C. 1997. Relative weight of glucose, insulin, and parathyroid hormone in urinary loss of phosphate by chronically diabetic rats. *Acta Diabetol*, 34: 211–216.
- Lopez-varela S., Sanchez M.F.J., Cuesta C. 1995. Decreased food efficiency ratio growth retardation and changes in liver fatty acid composition in rat consuming thermally oxidized sunflower oil used for frying. *Fd, Chem Toxic*, 33: 3, 181-189.
- Lounici S. 2010. Caractérisation de la spiruline de Tamenrasset *Spirulina htam*, optimisation de ses conditions de culture et application industrielle. 130 p. Mémoire de magister en sciences agronomiques, université de Saad dahleb, Blida. Algerie.
- Lu H., Hsieh C., Hsu J., Yang Y., Chou H.N. 2006. Preventive effects of *Spirulina platensis* on skeletal muscle damage under exercise-induced oxidative stress. *Eur J Appl Physiol*, 98: 220-226.
- Lu J., Ren D.F., Wang J.Z., Sanada H., Egashira Y. 2010. Protection by dietary *Spirulina platensis* against D-galactosamine–and acetaminophen-induced liver injuries. *Br J Nutr*, 103: 1573–1576.
- Luquet F.M., Corrieu G. 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. Paris: Ed Tec & Doc, 307 p.
- Lusis A.J. 2000. Atherosclerosis. *Nature*, 407: 233–241.
- M'Baye B.K., Lo B., Bassene E. 2011. Etude quantitative de quelques pigments de la spiruline cultivée en Mauritanie en vue d'une valorisation nutritionnelle. *Int J Biol Chem Sci*, 5(5) : 2035– 2038.
- Machu L., Misurcova L., Ambrozova J.V., Orsavova J., Mlcek J., Sochor J., Jurikova T. 2015. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*, 20: 1118-1133.
- Madkour F.F., Kamil A.E.W., Nasr H.S. 2012. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38: 51–57.
-

- Magee G.M., Bilous R.W., Cardwell C.R., Hunter S.J., Kee F., Fogarty D.G. 2009. Is hyperfiltration associated with the future risk of developing diabetic nephropathy? A meta-analysis. *Diabetologia*, 52: 691–97.
- Magnan C., Ktorza A. 2005. Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC-Endocrinologie*, 2: 241–264.
- Makhlouf R., Makhlouf I. 2012. Evaluation of the effect of Spirulina against gamma irradiation-induced oxidative stress and tissue injury in rats. *Int J Appl Sci Eng Res*, 1: 152-164.
- Malick S.K., Sheikh A.S. 1976. Composition and technology of biscuits. *Pak J Sci Res*, 28 (1-4): 90-94.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79: 727–747.
- Manconia M., Pendás J., Ledón N., Moreira T., Sinico C., Saso L., Fadda A.M. 2009. Phycocyanin liposomes for topical anti-inflammatory activity: *in-vitro in-vivo* studies. *J Pharm Pharmacol*, 61: 423– 430.
- Manet A. 2016. La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. *Sciences pharmaceutiques*. 104 p.
- Mani U.V., Desai S., Iyer U. 2000. Studies on the long-term effect of Spirulina supplementation on serum lipid profile and glycated proteins in NIDDM patients. *J Nutraceut, functional & medical foods*, 2: 25–32.
- Mankil J., Moonsoo P., Hyun C.L., Yoon-Ho K., Eun S.K., Sang K.K., 2006. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Curr Med Chem*, 13: 1203–1218.
- Manninen V., Tenkanen L., Koskinen P., Huttunen J.K., Mänttari M., Heinonen O.P., et al. 1992. Joint effects of serum triglycerides and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki heart study: implications for treatment. *Circulation*, 85: 37-45.
- Mao T.K., De Water V.J., Gershwin M.E. 2005. Effects of a Spirulina-based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. *Journal of Medicinal Food*, 8: 1, p.p. 27–30.
-

- Martoja R., Martoja M. 1976. Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed Masson et Cie, Paris, 345 p.
- Mashall W., Bangert S.K. 2005. Biochimie médicale: physiologie et diagnostic, 5ème édition. France, Montpellier, 59-63, 70-71, 80 p.
- Mascher D.M.A., Cristina Paredes-Carbajal Patricia V., Torres-Durán J.Z.G., Díaz-Zagoya J.C., Juárez-Oropeza M.A. 2006. Ethanolic Extract of *Spirulina maxima* Alters the Vasomotor Reactivity of Aortic Rings from Obese Rats. *Archives of Medical Research*, 37: 50–57.
- Mathew S., Abraham E.T. 2004. *In vitro* antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol*, 44:198-206.
- Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. 1985. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28: 412–419.
- McCords J.M., Fridovich I. 1969. Superoxide Dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, 244: 22, 6049-6065.
- McIntosh B., Cameron C., Singh S.R., Yu C., Ahuja T., Welton N.J., et al. 2011. Second-line therapy in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin monotherapy: a systematic review and mixed-treatment comparison meta-analysis. *Open Medicine*, 5(1): e35.
- Meiattini F., Prencipe L., Bardelli F., Giannini G., Tarli P. 1978. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem*, 24 (12): 2161-2165.
- Memişoğulları R., Bakan E. 2004. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with type 2 diabetes mellitus. *J. of Diabetes and Its Complications*, 18: 193–197.
- Menard G., Emond S., Segin R., Bolduc R, Boudreau A., Marcoux D., et al. 1992. La biscuiterie industrielle. in, Boudreau A., Menard G. (1992). Le blé : éléments fondamentaux et transformation. Les presses de l'université Laval. Sainte-Foy. Canada : 287-348. 439 p.
- Menvielle-Bourg J.F. 2005. La superoxyde dismutase puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale in Springer phytothérapie. 3 : 118-121.
-

- Mikolasevic I., Milic S., Wensveen T.T., Grgic I., Jakopcic I., Stimac D., et al. 2016. Nonalcoholic fatty liver disease - A multisystem disease? *World J Gastroenterol*, 21; 22 (43): 9488-9505.
- Milburn J.L.J.R., Ohneda M., Johnson J.H., Unger R.H. 1993. Beta-cell GLUT-2 loss and non-insulin-dependent diabetes mellitus: current status of the hypothesis. *Diabetes Metab Rev*, 9(3): 231-6.
- Miller M., Ginsberg H.N., Schaefer E.J. 2008. Relative atherogenicity and predictive value of non-high-density lipoprotein cholesterol for coronary heart disease. *Am J Cardiol*, 101: 1003–1008.
- Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)*, 84: 407–412.
- Miller N.J., Sampson J. Candeias L.P. 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Letters* 384: 240-2.
- Miller R.B., Nguyen H., Hu C.J.H., Lin C., Nguyen Q.T., FACP, FACE, FTOS. 2014. New and Emerging Drugs and Targets for Type 2 Diabetes: Reviewing the Evidence. *Am Health Drug Benefits*, 7(8): 452-463.
- Mishra T., Joshi M., Singh S., Jain P., Kaur R., Ayub S., et al. 2013. Spirulina: the beneficial algae. *International Journal of Applied Microbiology Science*, 2(3): 21-35.
- Mišurcová L. 2011. Chemical composition of seaweeds. In *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*, Kim S.K., Ed; John Wiley & Sons: Chichester, UK, p.p. 173–192.
- Mohtadji-Lamballais C. 1989. *Les aliments*. Editions Maloine. Paris. 203 p.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Song Klama Karin. *Journal Sciences & Technology*, 26 (2): 211-219.
- Moraes de Souza M., Prietto L., Ribeiro A. C., Denardi de Souza T., Badiale-Furlong E. 2011. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. *Cienciae Agrotecnologia*, 35 (6) : 1050–1058.
-

- Morin L. 2014. Microalgue: La spirale vertueuse. Libération disponible sur http://www.liberation.fr/futurs/2014/09/14/microalgue-la-spirale-vertueuse_1100314.
- Moulis G., Batz A., Durrieu G., Viard C., Decramer S., Montastruc J.L. 2012. Severe neonatal hypercalcemia related to maternal exposure to nutritional supplement containing Spirulina. *Eur J Clin Pharmacol*, 68: 221–222.
- Moura L.P., Puga G.M., Beck W.R., Teixeira I.P., Ghezzi A.C., Silva G.A., et al. 2011. Exercise and Spirulina control non-alcoholic hepatic steatosis and lipid profile in diabetic Wistar rats. *Lipids in Health and Disease*, 10: 77.
- Mridula D., Gupta R.K., Manikantan M.R. 2007. Effect of Incorporation of Sorghum Flour to wheat flour on Quality of Biscuits Fortified with Defatted Soy Flour. *American journal of food technology*, 2 (5): 428-434.
- Murray R (a). 1984. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*; 1112-1116.
- Murray R (b). 1984. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*; 1088-1090.
- Murray R.L. 1984. Creatinine. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*; 1261-1266 and 418.
- Muthuraman P., Senthilkumar R., Srikumar K. 2009. Alterations in beta-islets of Langerhans in alloxan-induced diabetic rats by marine *Spirulina platensis*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(6): 1253–1256.
- Nagaoka S., Shimizu K., Kaneko H., Shibayama F., Morikawa K., Kanamaru Y., et al. 2005. A novel protein C-phycoerythrin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *Spirulina platensis* concentrate in rats. *J Nutr* 135: 2425–2430.
- Naito H.K. Kaplan A et al. 1984. Cholesterol. *Clin Chem, The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*; 1194-11206 and 437.
- Najdenski H. M., Gigova L. G., Iliev I.I., Pilarski P.S., Lukavský J., Tsvetkova I.V., et al., 2013. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 1533-1540.
- Namiki M. 1990. Antioxidants/ antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 29: 273-300.
-

- Navarro M.C., Montilla M.P., Martín A., Jiménez J., Utrilla M.P. 1993. Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of *Rosmarinus tomentosus*. *Plant Med*, 59: 312–314.
- Neve J. 2002. Antioxydants alimentaires : vitamines, oligoéléments et non-nutriments in aliments fonctionnels. *Tec & doc* éd., Paris, p.p. 281-313.
- Nicolosi R.J., Lawton C.W., Wilson T.A. 1999. Vitamin E reduced plasma LDL-c, LDL oxidation, and early aortic atherosclerosis compared with black tea in hypercholesterolemic Hamsters. *Nutrition research*, 19 (8): 1201-1214.
- Nuhu A.A. 2013. *Spirulina (Arthrospira)*: An important source of nutritional and medicinal compounds. Hindawi publishing corporation. *Journal of Marine Biology*, 2013, 325636, p 8.
- Ogbonnia S.O., Odimegwu J.I., enwuru V.N. 2008. Evaluation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of ethanolic extracts of *Treculia Africana* Deene and *Bryophyllum pinnatum* Lam. And their mixture on streptozotocin (STZ) - included diabetic rat. *African journal of Biotechnology*, 7(15): 2535-2539.
- Olewnik M.C., Kulp K. 1984. The effect of mixing time and ingredient variation on farinographe of cookie dough's. *Cereal Chem*, (61), p.p. 532-537.
- Oliveira A.C.P., Endringer D.C., Amorim L.A.S., Brandao M.G.L., Coelho M.M. 2005. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 465–469.
- Orcutt D.M., Patterson G.W. 1974. Effect of light intensity upon *Nitzschia closterium* (*Cylindrotheca fusiformis*). *Lipids*, 9 : 1000–1003.
- Organisation mondiale de la santé. 2013. Bulletin hebdomadaire épidémiologique N° 42-43, Novembre 2010. Association Française des Diabétiques (AFD). Augmentation de la tension artérielle avec rétention d'eau et de sel et présence de protéines dans les urines. Collège national des gynécologues et des obstétriciens français (CNGOF) https://www.cngof.asso.fr/D_TELE/RPC_DIABETE_2010.pdf.
- Owu D.U., Antai A.B., Udofia K.H., Obembe A.O., Obasi K.O., Eteng M.U. 2006. Vitamin C improve as basal metabolic rate and lipid profile in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *J. Biosciences*, 31 (5):575- 579.
- Öztürk Ü.R, Tarhan, L. 2012. The relationship between the antioxidant system and phycocyanin production in *Spirulina maxima* with respect to nitrate concentration. *Turk J Bot* 36: 369-377.
-

- Öztürk ürek R., Tarhan L. 2012. The relationship between the antioxidant system and phycoerythrin production in *Spirulina maxima* with respect to nitrate concentration. *Turk J Bot*, 36: 369-377.
- Pacoud G. 1995. Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie, 2^{ème} édition paris, p 185-198.
- Paglia D.E., Valentine W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70(1): 158-69.
- Palou A., Serra F., Pico C. 2003. General aspects on the assessment of functional foods in the European Union. *Eur J Clin Nutr*, 57: 12–17.
- Panam P., Uliyar M., Uma I. 2001. Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *J Med Food*, 4: 193–199.
- Parikh P., Mani U., Iyer U. 2001. Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *J Med Food*, 4: 193–199.
- Pasqualone A., Bianco A.M., Paradiso V.M., Summo C., Gambacorta G., Caponio F., Blanco A. 2015. Production and characterization of functional biscuits obtained from purple wheat. *Food Chemistry*, 180: 64–70.
- Pasquet V., Cherouvrier J.R., Farhat F., Thierry V., Piot J.M., Berard J.B., et al. 2011. Study on the microalgal pigments extraction process: performance of microwave assisted extraction. *Process Biochem*, 46: 59-67.
- Pelli K., Lyly M. 2003. Les antioxydants dans l'alimentation. In *Biotechnology Finlande*, 2, p.p.15-20.
- Pérez-Alvarez J.A., Sayas Barbera E., Fernandez Lopez J. 2003. Aspectos generales de los alimentos funcionales. In: *Alimentos Funcionales y Dieta Mediterránea*. pp. 31–38. Pérez-Alvarez J.A. Sayas-Barbera, Fernandez-Lopez E.J., Eds., Universidad Miguel Hernandez, Elche.
- Perez-Bonilla M., Salido S., Van deek T.A., Linares-Palomino P.J., Altarejos J., Noguera M., et al. 2006. Isolation and identification of radical scavengers in olive (*Olea Europaea*) wood. *Journal of chromatography*, 1112: 311-318.
- Perlemuter L., Collin G. 1995. Diabète et maladies métabolique, Paris l'HOTET, 2^{ème} édition de masson, p398.
-

- Perlemuter L., Collin G. 2003. Diabète et maladies métabolique, 4^{ème} édition, p 385.
- Perlemuter L., Sélam J.L., 2003. Collin de l'Hortet. Diabète et maladies métaboliques. Edition Masson.
- Pessin J.E., Saltiel A.R. 2000. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 106 (2) : 165-169.
- Pierlovisi C. 2007. L'Homme et la spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, interets alimentaires et activites biologiques. These de Doctorat, Paris V- Rene Descartes, Faculte des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 162 p.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 233–239.
- Platel K., Srinivasan K., 1997. Plant foods in the management of diabetes mellitus: vegetables as potential hypoglycaemic agents. *Nahrung*, 2: 68– 74.
- Plaza M., Cifuentes A., Ibanez E. 2008. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trend Food Sci. Technol*, 19: 31-39.
- Pollock C.A., Lawrence J.R., Field M.J. 1991. Tubular sodium handling and tubuloglomerular feedback in experimental diabetes mellitus. *Am J Physiol Ren Physiol*, 260: 946–52.
- Ponce-Canchihuamán J.C., Pérez-Méndez O., Hernández-Muñoz R., Torres-Durán P.V., Juárez-Oropeza M.A. 2010. Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids in Health and Disease*, 9: 35.
- Poonam S., Prachi A., Murali Y.K., Tandon V. 2008. Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3458–3466.
- Pörksen N., 2006. Therapy targeting b-cell survival and function in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pr*, 74 (2) : S63–S69.
- Portha B. 2000. Signalisation intracellulaire et exocytose de l'insuline. *MTE*, 2: 37–46.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 53: 4290-4302.
-

- Priyadarshani I., Rath B. 2012. Commercial and industrial applications of microalgae. *J Algal Biomass Util*, 3, 4 (9): 89–100.
- Quillet M. 1975. Research on carbohydrate substances produced by *Spirulina*. *Ann Nutr Alim*, 29: 553–561.
- Quirins S., Luc V. 2000. Physiologie des maladies du rein et des voies urinaires. Canada: Edisem : 266 p.
- Rajagopal K., Sasikala K. 2008. Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Med J*, 49:137-141.
- Rama D.M., Subramanian S.N., Anbazhagan S. 2012. Anti-diabetic activity of *ficus nervosa* leaf in alloxan induced diabetic rats. *International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences (IJPCBS)*, 2 (3): 196-201.
- Ramamoorthy A., Premakumari S. 1996. Effect of supplementation of *Spirulina* on hypercholesterolemic patients. *J Food Sci Technol*, 33: 124–128.
- Ramarao P., Kaul C.L. 1999. Insulin resistance: current therapeutic approaches, *Drugs Today* 35, 895–911.
- Rangsayatorn N., Pokethitiyook P., Upatham E.S., Lanza G.R. 2004. Cadmium biosorption by cells of *Spirulina platensis* TISTR 8217 immobilized in alginate and silica gel. *Environ Int*, 30 (1): 57-63.
- Re R., Pellegrini N. Proteggente A. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-7.
- Rebbas K., Bounar R., Gharzouli R., Ramdani M., Djellouli M., Alatou M. 2012. Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'Sila, Algérie), 10.1007/s10298-012-0701-6.
- Rechter S., König T., Auerochs S., Thulke S., Walter H., Dörnenburg H., et al. 2006. Antiviral activity of *Arthrospira*-derived Spirulan-like substances. *Antiviral Research*, 72: (3): 197–206.
- Reginer C.H. 1999. Diabète au quotidien dépôt légale, 4^{ème} édition trimestre 1998, p37.
- Richard A. 1999. Qu'est-ce que le diabète ? Canada, p15.
- Richmond A. 1988. *Spirulina*. In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L. (Eds.), *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, 85–121.
-

- Richmond A. 2004. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology (Blackwell, Oxford), 566 p.
- Rigalleau V., Lang J., Gin H. 2007. Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition*, 10-366-D-10.
- Riss J., Décordé K., Sutra T., Delage M., Baccou J.C., Jouy N., Brune J.P., Oréal H., Cristol J.P., Rouanet J.M. 2007. Phycobiliprotein C-phycoyanin from *Spirulina platensis* is powerfully responsible for reducing oxidative stress and NADPH oxidase expression induced by an atherogenic diet in hamsters. *J Agric Food Chem*, 55: 7962–7967.
- Rodríguez-Hernández A., Blé-Castillo J.L., Juárez-Oropeza M.A., Díaz-Zagoya J.C. 2001. *Spirulina maxima* prevents fatty liver formation in CD-1 male and female mice with experimental diabetes. *Life Sci*, 69: 1029–1037.
- Rodríguez-Sánchez R., Ortiz-Butrón R., Blas-Valdivia V., Hernández-García A., Cano-Europa E. 2012. Phycobiliproteins or C-phycoyanin of *Arthrospira (Spirulina) maxima* protect against HgCl₂-caused oxidative stress and renal damage. *Food Chemistry*, 135 (4): 2359–2365.
- Romay C.H., Gonzalez R., Ledon N., Remirez D., Rimbau V. 2003. C-phycoyanin: A biliprotein with antioxidant, antiinflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein & Peptide Science*, 4: 207-216.
- Rop O., Mlcek J., Jurikova T., Neugebauerova J., Vabkova J. 2012. Edible flowers-A new promising source of mineral elements in human nutrition. *Molecules*, 17: 6672–6683.
- Sabu M.C., Smitha K., Kuttan R. 2002. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol*, 83: 109–116.
- Saha S.K., Haque E., Islam D., Matiar R., Islam R., Parvin A., et al. 2012. Comparative study between the effect of *Momordica charantia* (wild and hybrid variety) on hypoglycemic and hypolipidemic activity of alloxan induced type 2 diabetic long-evans rats. *Journal of Diabetes Mellitus*, 2 (1): 131-137.
- Sakurai K., Katoh M., Someno K., Fujimoto Y. 2001. Apoptosis and mitochondrial damage in INS-1 cells treated with alloxan. *Biol Pharm Bull*, 24: 876–882.
- Salazar M., Martínez E., Madrigal E., Ruiz L.E., Chamorro G.A. 1998. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. *J Ethnopharmacol*, 62: 235–241.
-

- Saligman A.M., Chauncey H.H., Nachlas M.M., Manheimer L.M., Ravin H.A. 1950. The colorimetric determination of phosphatases in human serum. *J Biol Chem*, 7–15.
- Sall M.G., Dankoko B., Badiane M., Ehua E. 1999. Résultats d'un essai de réhabilitation nutritionnelle avec la spiruline àDakar. *Med Afr Noire*, 46: 143–6.
- Salvayre A.N., Salvayre R. 2005. Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*, 12 (5-6): 433-438.
- Samuels R., Mani U.V., Iyer U.M., Nayak U.S. 2002. Hypocholesterolemic effect of Spirulina in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome. *J Med Food*, 5: 91–96.
- Sanchez H.D., Manluello J.C., FARRE H.C. 1983. Essai de panification pour le pain français. *Ind. des céréales*, 25: 25-33.
- Sánchez M., Bernal-Castillo J., Rozo C., Rodriguez I. 2003. Spirulina (Arthrospira): an edible microorganism. *A Rev. Rev. Univ. Sci*, 8: 1.
- Sarada D.V.L., Kumar C.S., Rengasamy R. 2011. Purified C-phycoerythrin from *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geitler: a novel and potent agent against drug resistant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27 (4): 779–783.
- Sautier C., Tremoliere J. 1975. Food value of the Spiruline algae to man. *Ann nutr Aliment*, 29: 517–34.
- Scalzoa J., Politib A., Pellegrini N., Mezzetti B., Battino M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21: 207–213.
- Schafer F.Q., et Buettner G.R. 1999. Singlet oxygen toxicity Is cell line-dependent: A study of lipid peroxidation in nine leukemia cell lines. *Photochemistry and Photobiology*, 70(6): 858-867.
- Scheen A.J. 1996. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*, 30: 359–371.
- Scheepers A., Joost H.G., Schürmann A. 2004. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPENJ Parenter Enteral Nutr*, 28(5): 364-71.
- Schinner S., Scherbaum W.A., Bornstein S.R., Barthel A. 2005. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabet Med*, 22: 674–82.
-

- Schneider S.H., Ruderman N.B. 1990. Exercise and NIDDM (technical review). *Diabetes Care*, 13: 785-789.
- Schultz A. 1984. Uric acid. Kaplan A et al. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton . *Clin Chem*; 1261-1266 and 418.
- Scoppola A., Montecchi F.R., Mezinger G., Lala A. 2001. Urinary Mevalonate Excretion rate in type 2 diabetes: role of metabolic control. *Atherosclerosis*, 156: 357-361.
- Sekar S., Chandramohan M. 2007. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. *J Appl Phycol* 20: 113–136.
- Sepici-Dincel A., Açıkgöz Ş., Çevik C., Sengelen M., Yesilada E. 2007. Effects of *in vivo* antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 110 : 498–503.
- Sguera S. 2008. *Spirulina platensis* et ses constituants interets nutritionnels et activites therapeutiques. These de Doctorat. Universite Henri Poincare - Nancy 1 Faculte De Pharmacie, p.p. 162.
- Shalaby E.A. 2011. Algae as promising organisms for environment and health. *Plant Signaling & Behavior*, 6 (9): 1338-1350.
- Shalaby E.A., Shanab S.M.M., Singh V. 2010. Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. *J Med Plants Res*, 4(24): 2622-2632.
- Shalam M.D., Harish M.S., Farhana S.A. 2006. Prevention of dexamethasone and fructose induced insulin resistance in rats by SH-01D a herbal preparation. *Ind. J. Pharmacol*, 38: 419-422.
- Shanab S.M.M., Mostafa S.S.M., Shalaby E.A., Mahmoud G.I. 2012. Aqueous extracts of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 608-615.
- Shanab S.M.M., Shalaby E.A., El-Fayoumy E.A. 2011. *Enteromorpha compressa* exhibits potent antioxidant activity. *J Biomed Biotechnol*, 726405: 1-11.
- Sharma B., Balomajumder C., Roy P. 2008. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2376–2383.
-

- Sharma M.K., Sharma A., Kumar A., Kumar M. 2007. *Spirulina fusiformis* provides protection against mercuric chloride induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Food Chem Toxicol*, 45: 2412-9.
- Shokeen P., Anand P.Y., Murali K., Tandon V. 2008. Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3458–3466.
- Shulman G.I. 2000. Cellular mechanisms of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 106 (2): 171-176.
- Shyam R., Singh S.N., Vats P., Singh V.K., Pharma D., Bajaj R., Singh S.B., Banerjee P.K. 2007. Wheat grass supplementation decreases oxidative stress in healthy subjects: a comparative study with *Spirulina*. *The journal of alternative and complementary medicine*, 13: 8, 789–791.
- Simontta L. 2006. Le diabète milite: les instructions pour une correcte gestion regione del veneto. La Carte de Service de l'Unité Opérative Départementale de Diabétologie et Endocrinologie, p.p. 7-21.
- Simpore J., Kabore F., Zongo F., Dansou D., Bere A., Pignatelli S., et al. 2006. Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing *Spirulina* and Misola. *Nutr J*, 5: 3-7.
- Simsek N., Karadeniz A., Kalkan Y., Keles O.N., Unal B. 2009. *Spirulina platensis* feeding inhibited the anemia- and leucopenia-induced lead and cadmium in rats. *Journal of Hazardous Materials*, 164: 1304–1309.
- Singh P., Singh R., Jha A., Rasane P., Gautam A.K. 2015. Optimization of a process for high fibre and high protein biscuit. *J Food Sci Technol*, 52(3): 1394-403.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299: 152-178.
- Sivakumar J., Santhanam P. 2011. Antipathogenic activity of *Spirulina* powder. *Recent Research in Science and Technology*, 3 (4): 158–161.
- Slotton D.G., Goldman C.R., Franke A. 1989. Commercially grown *Spirulina* found to contain low levels of mercury and lead. *Nutr Rep Int*, 40: 1165–1172.
- Smith G.D., Doan N.T. 1999. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants. *J. Appl. Phycol*, 11: 337-344.
-

Smith G.W. 1960. Pharmacological Screening Tests, Progress in Medicinal Chemistry, 2nd edition, Butter Worths, London. 228- 230.

Solisio C., Lodi A., Torre P., Converti A., Del Borghi M. 2006. Copper removal by dry and rehydrated biomasse of *Spirulina platensis*.

Sophia D., Manoharan S. 2007. Hypolipidemic activities of *Ficus racemosa* linn. bark in alloxan induced diabetic rats. *Afr. J. Trad. CAM*, 4 (3): 279 – 288.

Sorto M., Koru J. 2009. Spirulina microalgae production and breeding in commercial. *Turk. J. Agric*, 11: 133-134.

Soussi A., Hamden K., Marouane W., Bezzine S., Damak M., Murat J.C., El Feki A. 2009. Oral administration of *Eucalyptus globulus* extract reduces the alloxan-induced oxidative stress in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 181: 71–76.

Spadella C.T., Lerco M.M., Machado J.L.M., Macedo C.S. 2005. Long-term effects of insulin therapy, islet transplantation, and pancreas transplantation in the prevention of glomerular changes in kidneys of alloxan-induced diabetic rats. *Transplant Proc*, 37: 3468–3471.

Srivastava S., Singh D., Patel S., Singh M.R. 2017. Role of Enzymatic free radical scavengers in management of oxidative stress and autoimmune disorders. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1-33.

Stevens A., Lowe J. 1997. Histologie humaine, De Boeck université, 2eme edition, Paris, 147-317.

Stuglin C., Prasad K. 2005. Effect of flaxseed consumption on blood pressure, serum lipids, hemopoietic system and liver and kidney enzymes in healthy humans. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 10: 23-27.

Sudha M.L., Vetrimani R., Leelavathi K. 2007b. Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. *Food chemistry*, 100:1365-1370.

Sun C.L., Yuan J.M., Lee M.J., Yang C.S., Gao Y.T., Ross R.K. 2002. Urinary tea polyphenols in relation to gastric and esophageal cancers: a prospective study of men in Shanghai. *China Carcinogene*, 23: 1497- 1503.

- Sun L., Halaihel N., Zhang W., Rogers T., Levi M. 2002. Role of sterol regulatory element-binding protein 1 in regulation of renal lipid metabolism and glomerulosclerosis in diabetes mellitus. *J. Biol. Chem*, 277 (21) : 18919–18927.
- Susan N. S. 1998. Food analysis, second edition. Aspen Publication, Maryland.
- Tappy L. 2004. Glucagon et glucorégulation, *Annales Endocrinologie*, 65, 1 : 77-79. Tessier, Marconnet P., 1995. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice, *Science & Sports* 10. 1-13.
- Taş S., Sarandöl E., Dirican M. 2014. Vitamin B6 Supplementation Improves Oxidative Stress and Enhances Serum Paraoxonase/Arylesterase Activities in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Scientific World Journal*, ID 351598, 7 p.
- Théron P., Bennefont R.D. 2005. Systèmes antioxydants endogènes in radicaux libres et stress oxydant : aspect bibliographique. 3 éd.Paris, Tech &Doc, p.p. 87-163.
- Thomas N.V., Kim S.K. 2011. Potential pharmacological applications of polyphenolic derivatives from marine brown algae. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 32: 325–335.
- Tielmans A., Laloi-Michelin M., Coupaye M., Virally M., Meas T., Guillausseau J.P. 2007.Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie), *Presse Medicale, diabétologie*, tome 36 : 2, 269–78.
- Timmerman K.L., Volpi E. 2008. Amino acid metabolism and regulatory effects in aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 11(1): 45-9.
- Timsit J. 1995. Insulinothérapie dans le diabète insulino dépendant. *Mèdecine thérapeutique*, 1: 8.
- Tiwari B.K., Pandey K.B., A. B. Abidi, and Rizvil S.I. 2013. Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. Hindawi Publishing Corporation. *Journal of Biomarkers*, Article ID 378790, pp, 8 (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/378790>).
- Tobon-Velasco J.C., Palafox-Sanchez V., Mendieta L., García E., Santamaría A., Chamorro-Cevallos G., Lim_on I.D. 2013. Antioxidant effect of *Spirulina (Arthrospira) maxima* in a neurotoxic model caused by 6-OHDA in the rat striatum. *J. Neural Transm*, 120, 1179e1189.
- Tomaselli L. 1997. Morphology, ultrastructure and taxonomy, in *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*, ed. A. Vonshak (Taylor & Francis, London, p.p. 1–15.
-

Tremolières J., Tchobroutsky K.G., Gennes J.L., Amial C., Ardanaillou R., Wolf I.M. 1971. *Nutrition et métabolisme*, p 170-211.

Trinder P. 1969. *Ann Clin Biochem*; 6: 24-33.

Trivedi N.A., Majumder B., Bhatt J.D., Hemavathi K.G. 2004. Effect of shaliajit on blood glucose and lipid profile in alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Pharmacol*, 36: 373-376.

Turkoglu A., Duru M.E., Mercan N., Kivrak I., Gezer K. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murill. *Food Chem*, 101: 267-273.

Upasani C.D., Balaraman R. 2003. Protective effect of Spirulina on lead induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytotherapy Research*, 17(4): 330–334.

Urakami T., Morimoto S., Owada M., Harada K. 2005. Usefulness of the addition of metformin to insulin in pediatric patients with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Intravenous*, 47: 430–433.

Vague P. 2001. Syndrome polymétabolique. In *Traité de nutrition clinique de l'adulte*; Eds: Basdeant A, Laville M, Lerebours E. Medecine-Sciences Flammarion Paris, 451-456.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44–84.

Vallon V., Huang D.Y., Deng A., Richter K., Blantz R.C., Thomson S. 2002. Salt-sensitivity of proximal reabsorption alters macula densa salt and explains the paradoxical effect of dietary salt on glomerular filtration rate in diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol*, 13:1865–71.

Vallon V., Komers R. 2011. Pathophysiology of the diabetic kidney. *Compr Physiol*, 1:1175–1232.

Vallon V., Richter K., Blantz R.C., Thomson S., Osswald H. 1999. Glomerular hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: potential role of tubular reabsorption. *J Am Soc Nephrol*, 10: 2569–76.

Vallon V., Thomson S.C. 2012. Renal Function in Diabetic Disease Models: The Tubular System in the Pathophysiology of the Diabetic Kidney. *Annu Rev Physiol*. 2012, 74.

- Van Kempen A.A., Crabben V.D.S.N., Ackermans M.T, Endert E., Kok J.H., Sauerwein H.P. 2006. Stimulation of gluconeogenesis by intravenous lipids in preterm infants: response depends on fatty acid profile. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290(4): E723-30.
- Van Soest P.J. 1963. Use of detergents in the analyses of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.* 46, 829.
- Vasco C., Ruales J., Eldin A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823.
- Vázquez-Velasco M., González-Torres L., López-Gasco P., Bastida S., Benedí J., Sánchez-Reus M.I., et al. 2014. Liver oxidation and inflammation in Fa/Fa rats fed glucomannan/spirulina-surimi. *Food Chemistry* 159, 215–221.
- Vella A., Shah P., Basu R., Basu A., Holst J.J., Rizza R.A. 2000. Effect of glucagon-like peptide 1(7–36) amide on glucose effectiveness and insulin action in people with type 2 diabetes. *Diabetes*, 49: 611–617.
- Vergèse B. 2007. Physiopathologie de la dyslipidemie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition clinique et métabolique*, 21 (1) : 9-16.
- Verne J., Hebert S. 1964. Neoglucogenesis in hepatocytes cultivated in vitro. *C R Seances Soc Biol Fil*, 158: 1804-7.
- Vessal M., Hemmati M., Vasei M. 2003. Antidiabetic effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol*, 135C, 357–364.
- Vincet J.B. 2000. The biochemistry of chromium. *J. Nutr*, 715–718.
- Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J.A. 2011. Spices as Functional Foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:1, 13-28.
- Vivekananthan D.P., Penn M.S., Sapp S.K., Hsu A., Topol E.J. 2003. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *The Lancet*, 14, 361(9374): 2017-23.
- Vo T., Kim S. 2013. Fucoïdanes as a natural bioactive ingredient for functional foods. *J. Functional foods*, 5 (1): 16-27.
- Vo T.S., Ngo D.H., Kim S.K. 2015. Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal Spirulina. Chapter 19: Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal Spirulina. *Handbook of Marine Microalgae. Biotechnology advanced. Elsevier, Amsterdam, p585.*
-

- Voltarelli F.A., de Mello M.A.R. 2008. Spirulina enhanced the skeletal muscle protein in growing rats. *Eur J Nutr*, 47: 393–400.
- Vonshak A., 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. London: Taylor & Francis.
- Wade P. 1988. Biscuits, Cookies and Crackers. The Principles of Craft. Elsevier Applied Science, London, Vol.1.
- Wang Y., Chang C. F., Chou J., Chen H.L., Deng X., Harvey B.K., et al. 2005. Dietary supplementation with blueberries, spinach, or Spirulina reduces ischemic brain damage. *Experimental Neurology*, 193: 1: 75–84.
- Weater P.R., Young B., Heath J.W. 2001. Histologie fonctionnelle, De Boeck université, 1^{ère} édition, Paris, 144-335.
- Weinstein A.M. 1986. Osmotic diuresis in a mathematical model of the rat proximal tubule. *Am J Physiol Ren Physiol*, 250: 874–84.
- Wenger C. et al. 1984. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 1094-1098.
- Wiernsperger N.F. 2005. Is non-insulin dependent glucose uptake a therapeutic alternative? Part 2: Do such mechanisms fulfil the required combination of power and tolerability? *Diabetes Metab Review*, 31(6): 521-5.
- Wild S.G., Roglic A., Green R., King H. 2004. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projection for 2030. *Diab Care*, 27: 1047–1054.
- World Health Organization. The global burden of disease. 2004 update. Geneva, 2008.
- World Health Organization (WHO). 2009. Global health risks. Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, Switzerland.
- Wurochekke A., Anthony A., Obidah W. 2008. Biochemical effects on the liver and kidney of rats administered aqueous stem bark extract of *Xemenia Americana*. *Afr J Biotechnol*, 7: 2777-2780.
- Xu X., Beardall J., Hallam D.N. 1998. Modification of fatty acid composition in halophilic Antarctic microalgae. *Phytochemistry*, 49: 1249–1252.
-

Yadav U.C., Moorthy K., Baquer N.Z. 2005. Combined treatment of sodium orthovanadate and *Mormodica charantia* fruit extract prevents alterations in lipid profile and lipogenic enzymes in alloxan diabetic rats. *Mol. Cell. Biochem*, 268: 111–120.

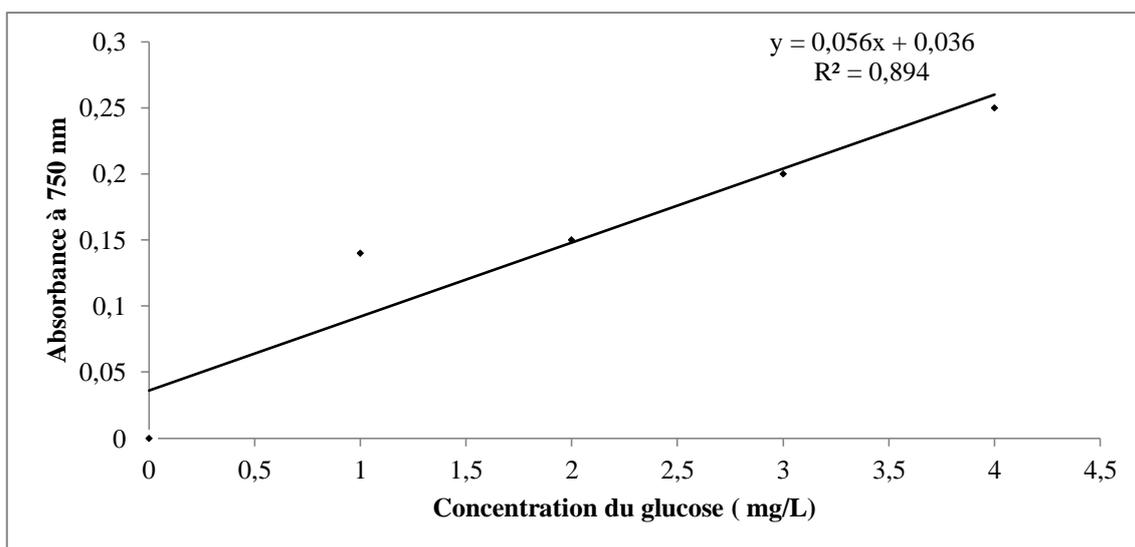
Zarrouk C. 1966. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch. Et Gardner) Geitler. Ph. D.Thesis. University of Paris, France.

Zhang B.B., Moller D.E. 2000. New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Current Opinion in Chemical Biology*, 4: 461–467.

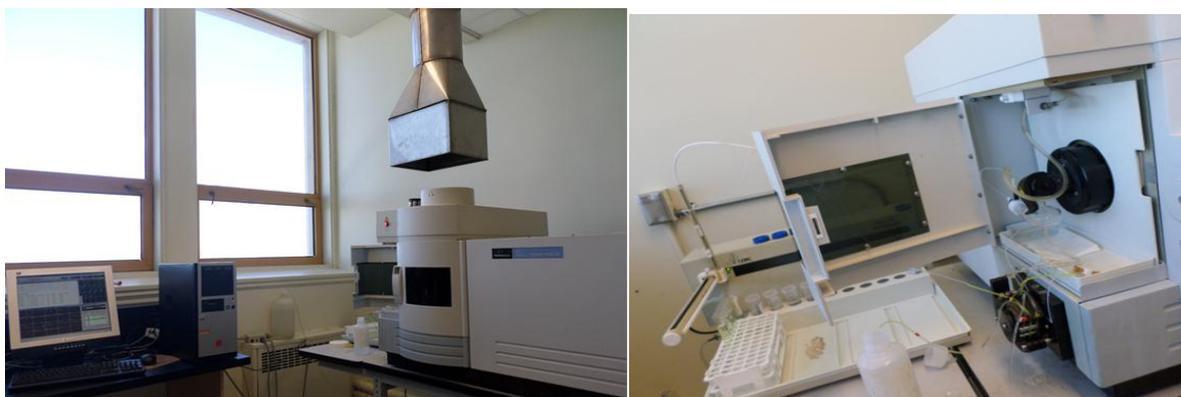
Zhang H., Chen T., Jiang J., Wong Y.S., Yang F., Zheng W. 2011. Selenium-containing allophycocyanin purified from selenium-enriched *Spirulina platensis* attenuates AAPH-induced oxidative stress in human erythrocytes through inhibition of ROS generation. *J. Agric. Food Chem*, 59, 8683e8690.

Zhang Y.H., An T., Zhang R.C., Zhou Q., Huang Y., Zhang J. 2013. Very high fructose intake increases serum LDL-cholesterol and total cholesterol: A meta-analysis of controlled feeding trials. *J. Nutr*, 143: 1391–1398.

ANNEXES



Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de glucose



Annexe 2: Spectrophotomètre d'émission optique type Optima 4300 DV (Perkin Elmer instrument).



Annexe 3: Animalerie de l'école nationale supérieure agronomique (ENSA) et une cage en polypropylène des rats.



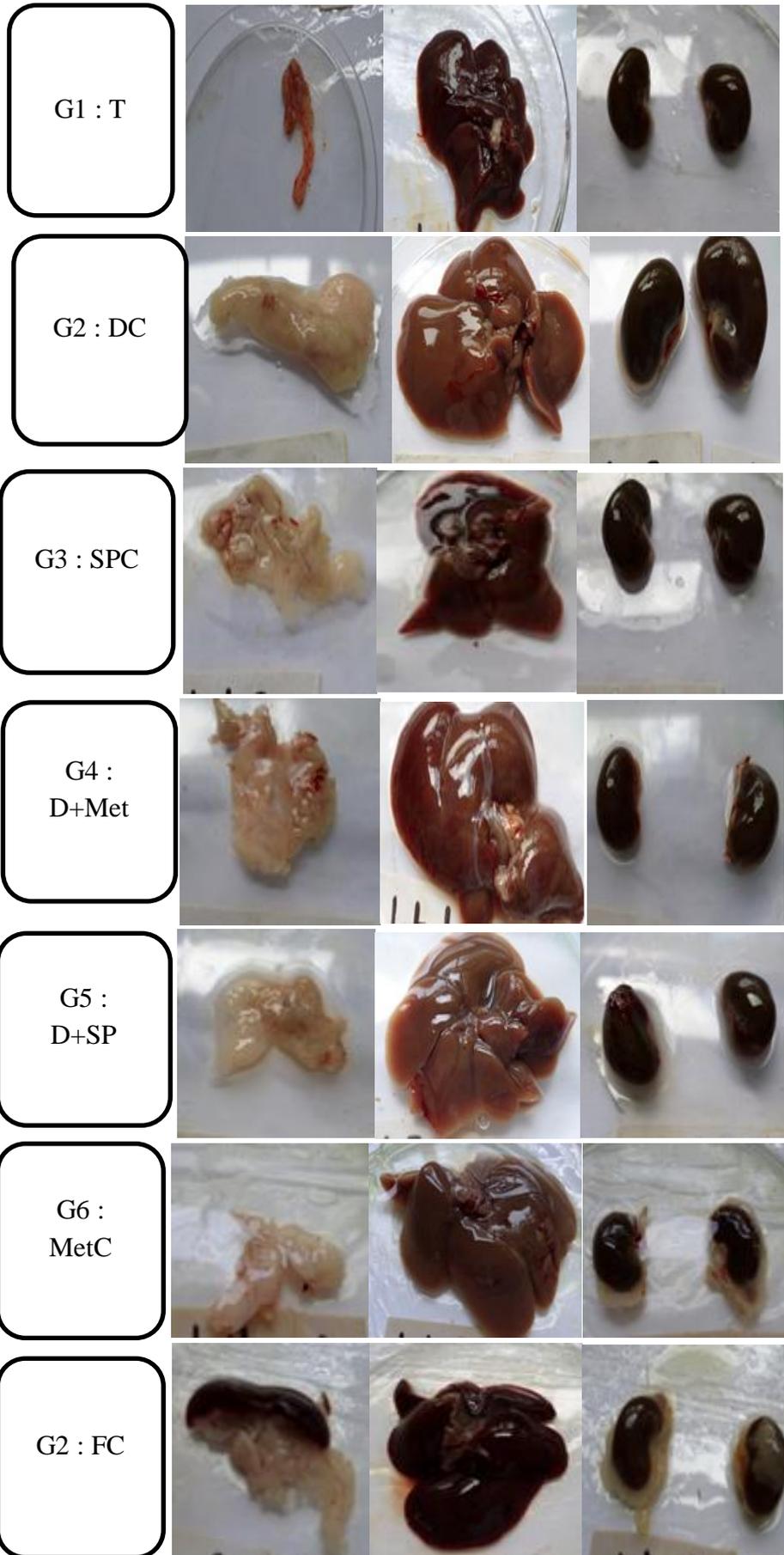
Annexe 4: Prélèvement sanguin de sinus rétro-orbital et dissection de rat Wistar

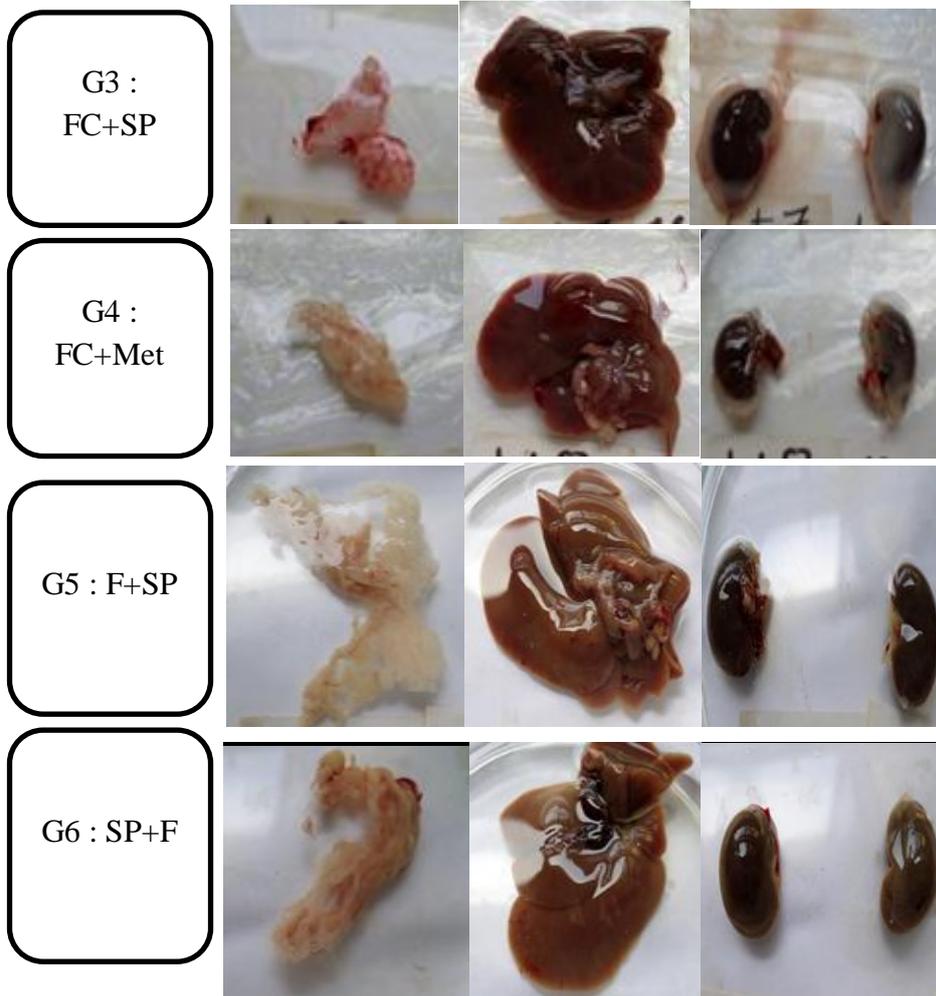


Annexe 5 : Automate de biochimie " Random Access Clinical Analyzer PICTUS 200-DIATRON.



Annexe 6 : Ionogramme (Na, K, CL) de biochimie.





Annexe 7: Les organes des rats Wistar après sacrifice (Pancréas, foie et reins)



Annexe 8 : Récolte de la Spiruline par filtration.



Annexe 9 : Microscope optique type Olympus BX51 (Center Valley, PA, USA) équipé d'une caméra numérique avec capteur CCD Sony : Photometrics CoolSNAPfx (Roper Scientific, Ottobrunn, Germany) et un logiciel de traitement d'images : Image-Pro® Plus pour Windows™ (Media cybernetics Inc, Silver Spring, MD) pour la prise de photos.

Date :
 Nom :
 Prénom :

Sept biscuits codés T, SP1, SP2, SP3, SP4, vous sont présentés. Pour chacun des critères, il vous est demandé d'attribuer une note de 1 à 9 selon un ordre croissant d'appréciation.

Couleur

Très brune									Très clair

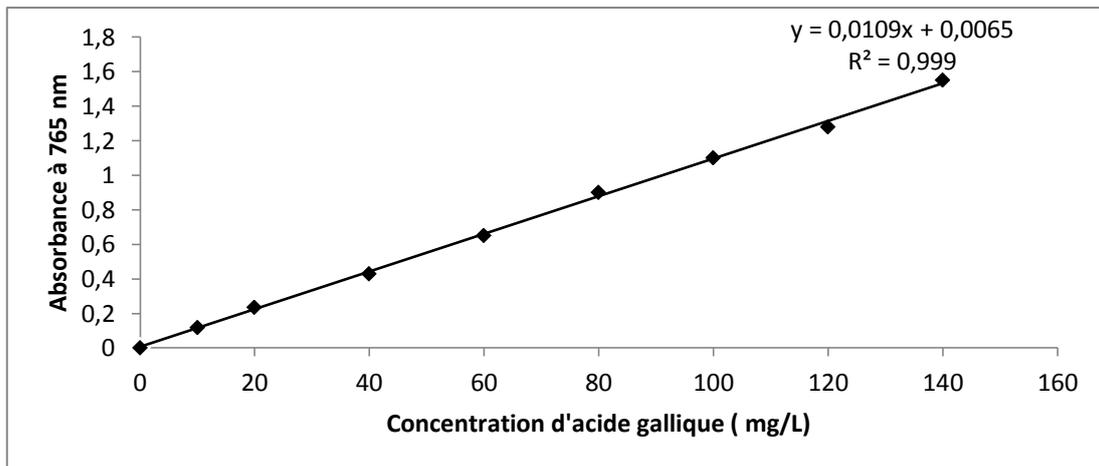
Texture

Très ferme									Très friable

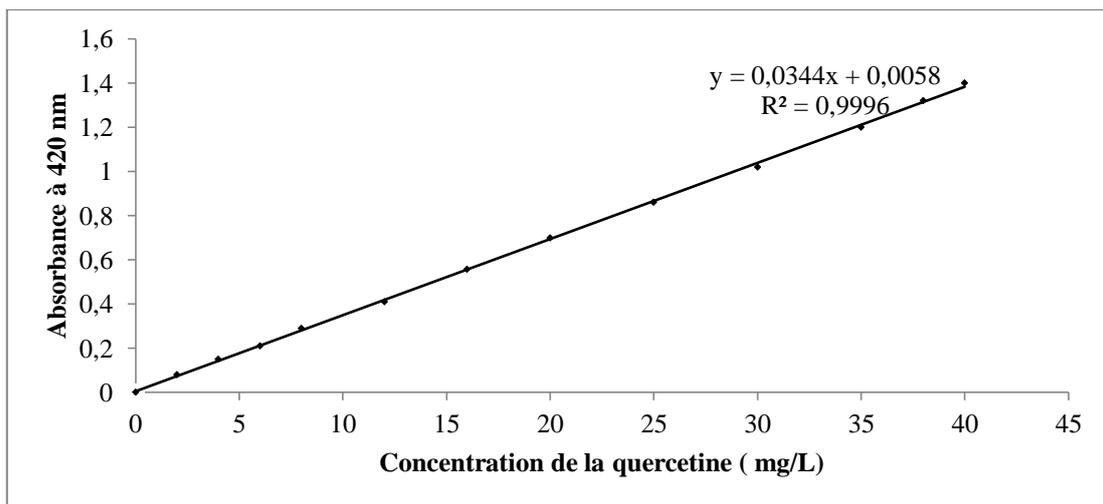
Saveur

Aucune									Très bonne

Annexe 10 : Formulaire de réponse nutraceutique.



Annexe 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Annexe 12 : Courbe d'étalonnage de quercétine.



Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats

Ourida Aissaoui, Malek Amiali, Nora Bouzid, Khaled Belkacemi & Arezki Bitam

To cite this article: Ourida Aissaoui, Malek Amiali, Nora Bouzid, Khaled Belkacemi & Arezki Bitam (2017) Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats, *Pharmaceutical Biology*, 55:1, 1304-1312, DOI: [10.1080/13880209.2017.1300820](https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1300820)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2017.1300820>



© 2017 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.



Published online: 08 Mar 2017.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 4



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

RESEARCH ARTICLE

 OPEN ACCESS

Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats

Ourida Aissaoui^a, Malek Amiali^a, Nora Bouzid^b, Khaled Belkacemi^c and Arezki Bitam^a

^aFood Technology and Human Nutrition Laboratory, École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), Algiers, Algeria; ^bDepartment of Anapathology, CHU Parnet, Algiers, Algeria; ^cDepartment of Soil Sciences and Agri-Food Engineering, Université Laval, Quebec City, Quebec, Canada

ABSTRACT

Context: Previous studies have shown that *Spirulina platensis* Gomont (Phormidiaceae) (*SP*) extract has beneficial effects on many disease conditions. The putative protective effects of *SP* were investigated in diabetic rats.

Objective: The current study investigates the antioxidant effects of *SP* in diabetic Wistar rats.

Materials and methods: Alloxan monohydrate (150 mg/kg body weight) was intraperitoneally administered to induce diabetes. An aqueous suspension of *SP* powder in distillate water (10% w/v) was administered orally by gavage (1 mL/day) for 50 days. Histopathological, biochemical and antioxidant analyses were performed. Glycemia, liver function and HOMA-IR were assessed using Spinreact and ELISA kits.

Results: *SP* exhibited high-antioxidant activity. The IC₅₀ values of the *SP* aqueous extract were 70.40 and 45.69 mg/L compared to those of the standard antioxidant BHT, which were 27.97 and 19.77 mg/L, for the DPPH and ABTS tests, respectively. The diabetic animals showed a significant increase in glycaemia (from 4.05 to 4.28 g/L) and thiobarbituric acid reactive substances (50.17 mmol/g protein) levels. Treatment with *SP* significantly reduced glycaemia by 79% and liver function markers [glutamate pyruvate transaminase (GPT), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and alkaline phosphatase (Alk-p)] by 25, 36 and 20%, respectively, compared to that of the controls. There was a significant increase in superoxide dismutase (48%), total antioxidant status (43%), glutathione peroxidase (37%) and glutathione reductase (16%) in the diabetic rats treated with *SP*.

Discussion and conclusion: These results showed that *SP* has high antioxidant activity, free radical scavenging, antihyperglycemic and hepatoprotective effects in diabetes.

ARTICLE HISTORY

Received 9 June 2016
Revised 14 January 2017
Accepted 25 February 2017

KEYWORDS

Antioxidant effect; phenolic compounds; phycobiliproteins; weight gain; organ weight; glycaemia; HOMA-IR; liver function; beta-cells; metformin

Introduction

In the past decade, the number of diabetes mellitus cases has gradually increased. This disease is the third leading cause of death worldwide, and the prevalence of diabetes for all age groups was estimated to be 2.8% in 2000 and is predicted to be 4.4% by 2030 (Wild et al. 2004). Diabetes mellitus is a multifactorial disease characterized by hyperglycaemia and increased basal metabolic rate (Bos & Agyemang 2013). In these conditions, the body does not produce sufficient insulin, a hormone produced by the β pancreatic cells. Insulin enables cells to absorb glucose and convert it into energy (Pankaj & Varma 2013). High blood glucose levels damage the cell membranes and generate reactive oxygen species (ROS) (Ha & Kim 1999). Despite the intensive effort to control this disease by pharmaceutical methods, antidiabetic drugs are still largely restricted due to their adverse effects and their expense (Zhang & Moller 2000; Oliveira et al. 2005; Abdel-Daim & Halawa 2014). Metformin is an anti-hyperglycemic drug used in the regulation of diabetes mellitus. To avoid the harmful side effects of chemical drugs, researchers have investigated natural products such as extracts from *Haematococcus pluvialis* Gomont (Haematococcaceae) and *Spirulina platensis* Gomont (Phormidiaceae) (*SP*), that possess

antidiabetic effects and contribute to the nutrient requirements, stimulate the endocrine system and intermediate nutrient metabolism (Khan et al. 2005; Thormar 2012).

SP is a blue-green algae belonging to the cyanobacteria family that is rich in bioactive compounds, such as proteins, lipids, carbohydrates, trace elements (zinc, magnesium, manganese, selenium), pigments (phycocyanin, β -carotene), riboflavin, tocopherol and α -linoleic acid (Göksan & Kilic, 2009; Yang & Zhang 2009; Yusuf et al. 2016). *SP* and its extracts are widely used as nutrients for human and animal consumption, natural dyes in food and cosmetics and nutraceutical and food additives for pharmaceutical industries (Zheng et al. 2013). Multiple studies worldwide have reported that *Spirulina* species can regulate diabetic processes, such as hypercholesterolemic activity, and have antioxidative effects and radical scavenging properties which provide significant multiorgan protection and ameliorate the effect of many drugs and chemicals-induced toxic assaults in laboratory animals (Pankaj & Varma 2013; Abdel-Daim 2014; Ibrahim & Abdel-Daim 2015; Abdel-Daim et al. 2016). The major objective of this study was to determine the effects of *SP* on metabolic abnormalities, oxidative stress and histological changes in diabetic rats treated with alloxan.

CONTACT Arezki Bitam  a.bitam@ensa.dz  Food Technology and Human Nutrition Laboratory, École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), El-Harrach, Algiers, Algeria

© 2017 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Materials and methods

Phytochemical screening of SP

Determination of total polyphenols and flavonoids

An aqueous extract of SP (AE_{SP}) was prepared in 2014 as described by Chu et al. (2010). Total polyphenols of AE_{SP} were measured using the Folin–Ciocalteu method (Singleton et al. 1999); gallic acid was used as a standard for the calibration curve. The flavonoids of AE_{SP} were measured using the $AlCl_3$ method (Lamaison & Carnet 1990). Quercetin was used as a standard for the calibration curve.

Determination of phycobiliproteins and total carotenoids

SP powder (1 g) was suspended in 100 mL of sodium-phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0, 1 mM sodium azide). The suspension was disrupted by sonication at 50 Hz for 60 s followed by freezing at -20°C and thawing at room temperature (25°C) in the dark. Extraction of the phycobiliproteins was performed by centrifuging the pretreated SP cell suspension at 10,000 g for 30 min at 4°C . The dark-blue phycobiliprotein supernatant was collected, and the pellet was discarded. The absorbance of the phycocyanines (C-PC), allophycocyanines (APC) and phycoerythrines (PE) of the phycobiliprotein solution was measured using a SPECTRONIC® 20 GENESYS™ UV-Vis spectrophotometer (Virginia, USA) at wavelengths of 620, 652 and 562 nm, respectively (Anamika et al. 2005).

For determination of the concentrations of C-PC, APC and PE, the following Equations (1–3) were used (Bennett & Bogorad 1973):

$$C - PC \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{[A_{620} - 0.474 (A_{652})]}{5.34} \quad (1)$$

$$APC \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{[A_{652} - 0.208(A_{620})]}{5.09} \quad (2)$$

$$PE \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{[A_{562} - 2.41 (C - PC) - 0.849 (APC)]}{9.62} \quad (3)$$

Total carotenoids were also determined spectrophotometrically at 470 nm using the same UV/Vis spectrophotometer. The concentrations of chlorophyll a (Ca) and chlorophyll b (Cb) were determined at 653 and 666 nm, respectively. Total carotenoids and Ca and Cb levels were calculated based on Equations (4–6) (Lichtenthaler & Wellburn 1985).

$$Ca = 15.65 * A_{666} - 7.340 * A_{653} \quad (4)$$

$$Cb = 27.05 * A_{653} - 11.21 * A_{666} \quad (5)$$

$$\text{Total carotenoids} = 1000 * A_{470} - 2.860 * Ca - \frac{129.2 * Cb}{245} \quad (6)$$

Determination of the antiradical and antioxidant activity and the IC_{50}

The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) antiradical test was carried out as described by Burits & Bucar (2000). Butylated hydroxyl toluene (BHT) at 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was used as a positive control. The antiradical activity of the tested samples was calculated using the following equation (Equation 7):

$$\text{DPPH} (\%) = \frac{1 - A.s}{A.st} * 100 \quad (7)$$

A.s and A.st are the absorbance of the tested samples and the DPPH, respectively.

The antioxidant activity assay is based on the ability of different fractions to scavenge 2, 2'-azino-bis (ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid: $ABTS^+$) (ABTS), a radical cation, compared to that of the standard (BHT). The antioxidative activity of the tested samples was calculated using the following equation (Equation 8) (Re et al. 1999):

$$\text{ABTS} (\%) = \left(A_c - \frac{A_t}{A_c} \right) * 100 \quad (8)$$

At and Ac are the absorbance of the tested samples and $ABTS^+$, respectively.

The extract concentration resulting in 50% inhibition (IC_{50}) of DPPH, ABTS and the standard BHT was calculated from the graph plotting the inhibition percentages against the extract concentration. DPPH, ABTS and BHT were purchased from Sigma Aldrich GmbH, Sternheim, Germany.

Animals

Adult male rats (Wistar strain; age: 10–13 weeks; weight: 180–200 g) were obtained from the Pasteur Institute of Algiers (Algeria). The rats were housed in polypropylene cages and maintained on a standard pellet diet (National Office for Food Livestock, Algiers, Algeria) with access to water *ad libitum* under standard conditions of temperature ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) and relative humidity (60–70%) with a 12 h light/dark cycle. All of the experimental procedures were approved by the Algerian Institutional Animal Care Committee, which belongs to the National Administration of Algerian Higher Education and Scientific Research (Algiers).

Diabetes induction

Freshly prepared alloxan monohydrate [150 mg/kg body weight (b.w.)] purchased from Sigma-Aldrich Co. (USA) was intraperitoneally administered to overnight-fasted rats (Kameswara Rao et al. 1999). Fructose was added to the drinking water to prevent hypoglycemic crisis. The same volume of sodium chloride (0.9% solution) was injected into the control rats. Fasting blood sugar (FBS) of the animals was measured after 72 h. Animals with an FBS level $\geq 2 \text{ g/L}$ were considered diabetic.

Experimental design

All of the animals were randomized and divided into six groups, with eight rats in each group, as described in Table 1. We distinguished four major steps, which were as follows: day 0 to day 10 (week of adaptation), day 10 to day 20 (diabetes induction by alloxan), day 20 to day 60 (treatment with SP and metformin), and day 60 to day 70 (therapy arrest).

The SP powder was obtained from the Tractebel Consult Office in association with the University Center of Biotechnology Algae, Tchad in 2013. It was formulated as a standard quality spray-dried product that was part of a bulk production composed primarily of proteins (63.05%), carbohydrates (19%), lipids (4.48%), fibers (3%) and ash (3%). The SP and metformin (Met) powders were suspended in tap water and were administered orally to each animal using a gavage needle once daily (1 mL).

Table 1. Experimental design.

Groups	N = 8 rats	Time in days			
		0–10	10–20	20–60	60–70
1	Normal control (NC)	week of adaptation	Induction of diabetes for groups: 2,4,5	Ingestion of SP for Groups 3, 5 and Met for Groups 4,6	Stopped SP and Met treatments
2	Alloxan without treatment (DC)				
3	<i>S. platensis</i> (10%) (SPC)				
4	Alloxan + Metformin (500 mg/kg bw) (D + Met)				
5	Alloxan + <i>S. platensis</i> (10%) (D + SP)				
6	Metformin (500 mg/kg bw) (Met C)				

Blood collection and biochemical analysis

The animals fasted for 12 to 14 h. Then, blood samples were collected from the retro-orbital plexus every 10 days. The blood was centrifuged at 3500 rpm for 15 min at room temperature (25 °C), and the plasma was stored in dry tubes at –20 °C.

Glucose and liver function tests [glutamate pyruvate transaminase (GPT) and glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and alkaline phosphatase (Alk-p)] were performed using SPINREACT diagnostic kits (UAA Ctra, Santa Coloma 7 E 17176 SantEsteve de BAS (GI), Spain) by the automated Random Access Clinical Analyzer PICTUS 200-DIATRON based on the colorimetric method.

To determine whether *SP* could stimulate the release of insulin, we measured serum insulin levels after the arrest of treatment with *SP* for 10 days (at day 70) using an ELISA kit (Boehringer Mannheim Diagnostic, Mannheim, Germany). Because abnormalities in insulin activity are poorly detected by a single determination of glucose or insulin levels (Laakso 1993; American Diabetes Association 1998), insulin resistance was evaluated by the homeostasis model assessment estimate of insulin resistance (HOMA-IR) (Matthews et al. 1985; Haffner et al. 2002) as follows (Equation 9):

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{fasting insulin level} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{mL}} \right) \times \text{fasting blood glucose} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}} \right)}{22.5} \quad (9)$$

The antioxidant enzyme activities were determined using commercial kits (Randox Laboratories Antrim, UK) for superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), and glutathione reductase (GRx) and total antioxidant status (TAS). The serum TBARS levels were measured as described by Quintanilha et al. (1982).

Organo-somatic index (OSI) and body weight gain (BWG)

Each animal was weighted every 10 days and was sacrificed after 70 days of treatment, and the organs were removed and weighed.

$$\text{OSI} = \frac{\text{Organ weight}}{\text{Total BW}} \times 100 \quad (10)$$

$$\text{BWG (g)} = \text{Final BW} - \text{Initial BW} \quad (11)$$

Histopathological analysis

The pancreas and liver were fixed in 10% formaldehyde. After they were embedded in paraffin, they were cut into 3 µm sections

and stained with haematoxylin and eosin (H & E) (Gomeri 1950). The sections were examined under a light microscope (Leica, Leica Store Miami, Coral Gables, FL) equipped with a camera system (Canon, Tokyo, Japan).

Statistics and data processing

The results are expressed as the mean ± standard deviation (SD). The statistical analyses of the data were conducted using Microsoft Excel software (Microsoft 1 Excel 2010). The statistical significance between the means was analyzed using a Student Test of ANOVA (*t*-test) from Excel version 2010 (Microsoft Corporation, USA).

Results

Phytochemical screening

Spirulina showed 5.54 ± 0.41 mg EAG/g extract of total polyphenols and 1.82 ± 0.05 mg EQ/g extract of total flavonoids. Phenolic compounds act as scavengers of free radicals; they play a major role in antioxidant activity and in stabilizing lipid oxidation as reported by many studies (Gezer et al. 2006; Turkoglu et al. 2007).

In this study, we also evaluated the major antioxidant composition of phycobiliproteins and carotenoids from *SP*. The values obtained for C-PC, PE and APC were 16.54 ± 0.12, 1.34 ± 0.08 and 2.06 ± 0.11%, respectively. The total carotenoid was 3.80 ± 0.20 mg/L.

Free radical scavenging is the general mechanism for antioxidants that inhibit lipid peroxidation in a relatively short time. *SP* showed high antioxidant activity as determined by the DPPH and ABTS tests. The ABTS test showed higher antioxidant activity than the DPPH test (70.19 and 64.99%, respectively) compared to that of BHT (77.07 and 73.15%, respectively) (Table 2).

Relative BWG and organ weight

There was a significant decrease ($p < 0.001$) in the BWG in groups 2 and 4 (–16.92; –16.83 g, respectively) compared to that of the controls (+55.78 g) as shown in Table 3. There was a smaller ($p < 0.001$) weight gain in G5 (+30.13 g) compared to that of the controls, while a similar BWG was observed in G3 (42.42 g) for the rats treated with *SP*. Notably, *SP* treatment outperformed the Met treatment in alloxan-treated rats (G5 vs. G4). Similarly, the relative organ weight was monitored. We noticed a significant increase ($p < 0.001$) in the OSI (liver, left kidney) in groups 2 and 4 compared to that of the untreated group.

Table 2. Antioxidant activities of *S. platensis* extract water.

Antioxidant activity (%) in 100 µg/mL				IC50 (mg/L)			
DPPH	BHT	ABTS	BHT	DPPH	BHT	ABTS	BHT
64.99 ± 0.20	73.15 ± 0.85	70.19 ± 0.14	77.07 ± 0.74	70.40 ± 0.76	27.97 ± 0.92	45.69 ± 0.75	19.77 ± 0.27

DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Butyl hydroxytoluene, ABTS: 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), IC50: extracts concentration providing 50% inhibition.

Table 3. Effects of *S. platensis* on body weight, body weight gain, and relative weight liver and left kidney [% body weight].

Groups	Rats		Liver		Left kidney	
	Body weight gain [g]	Weight [g]	Relative weight	Weight [g]	Relative weight	
G 1: NC	55.78 ± 5.31	7.08 ± 0.22	2.92 ± 0.14	0.91 ± 0.09	0.37 ± 0.03	
G 2: DC	-16.92 ± 7.43***	5.06 ± 0.27***	3.08 ± 0.17	1.26 ± 0.13**	0.77 ± 0.10***	
G 3: SPC	+42.42 ± 3.93	6.78 ± 0.40	3.00 ± 0.16	0.95 ± 0.06	0.42 ± 0.03	
G 4: D + M	-16.83 ± 4.96	5.33 ± 0.51	3.03 ± 0.22	1.32 ± 0.55	0.75 ± 0.31	
G5: D + SP	+30.13 ± 4.35†	5.8 ± 0.63‡	2.62 ± 0.25†	1.17 ± 0.34	0.53 ± 0.16†	
G 6: MetC	+52.33 ± 6.53	7.18 ± 0.47	2.96 ± 0.26	0.82 ± 0.12	0.38 ± 0.04	

NC: Normal Control; DC: Diabetic Control; SPC: *SP* control; D + Met: Diabetic rats treated with metformin; D + SP: Diabetic rats treated with *SP*; MetC: Metformin Control. Each value represents mean ± SE ($n = 8$).

** $p < 0.01$, compared with group 1 values.

*** $p < 0.001$, compared with group 1 values.

† $p < 0.01$, compared with group 2 values.

‡ $p < 0.001$, compared with group 2 values.

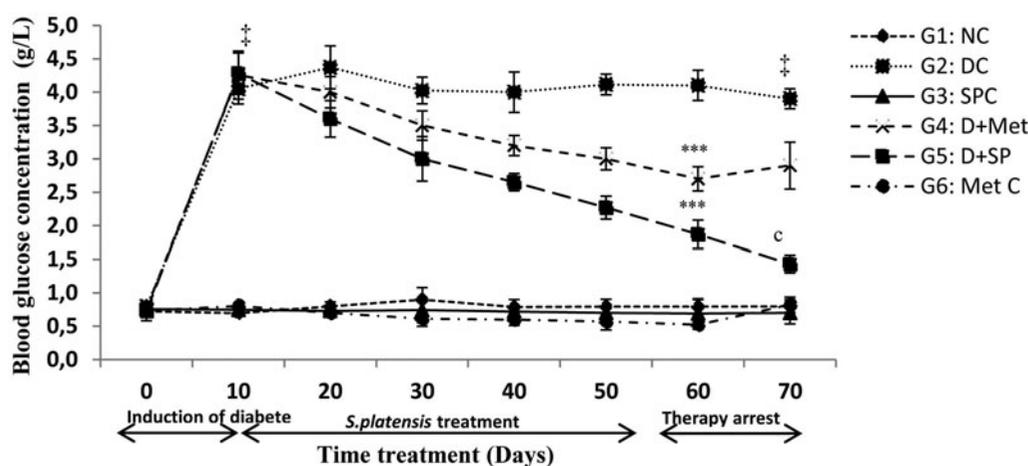


Figure 1. Effect of *S. platensis* administration on blood glucose level. NC: Normal Control; DC: Diabetic Control; SPC: *SP* control; D + Met: Diabetic rats treated with metformin; D + SP: Diabetic rats treated with *SP*; MetC: Metformin Control. Each value represents mean ± SE ($n = 8$). † $p < 0.001$, compared with group 1 values, *** $p < 0.001$, compared with group 2 values, (c) $p < 0.001$, compared the same group before and after therapy arrest (60th and 70th day) values.

However, the diabetic group treated with *SP* did not show any substantial changes.

Biochemical parameters

Blood glucose level (BGL)

The antihyperglycemic effect of *SP* in the diabetic rats induced by alloxan injections was indicated by an improvement in the fasting BGL, an important parameter for monitoring diabetes in addition to the plasma insulin levels as shown in Figures 1 and 2, respectively.

Hyperglycaemia induced by alloxan ranged from 4.05 to 4.28 g/L. *SP* treatment (G5) resulted in a significant 56% reduction ($p < 0.001$) in BGL, which varied from 4.28 to 1.87 g/L in the 50 days of therapy. The BGL of G4, varying from 4.26 to 2.70 g/L, decreased significantly ($p < 0.001$) by 36%. The BGL assessments were performed every 10 days over the 50 days of treatments. Ten days later, after stopping the treatment, the BGL

was monitored again. In this case, the BGL of the diabetic-treated rats (G5) did not increase but continued to decrease by 23%. However, the diabetic rats in G4, which were treated with Met, showed a non-significant increase (7%) (Figure 1).

Serum insulin levels decreased significantly ($p < 0.001$) to 7.65 µU/mL in the diabetic group compared to those of the normal control (22.12 µU/mL). However, *SP* and Met administration increased the levels ($p < 0.001$) to near normal values compared to those of G2 [41% (G5) against 37% (G4)] during the 70 days. In the normal treated rats, there was a slight increase compared to the controls in the insulin levels after treatment with *SP*. Thus, *SP* has potent antihyperglycemic activity. Furthermore, this also enhanced insulin levels in diabetic rats.

Oxidative stress enzymes and liver function profile

The effect of *SP* on serum oxidative stress and hepatic function is shown in Table 4. Diabetes induced by alloxan decreased the

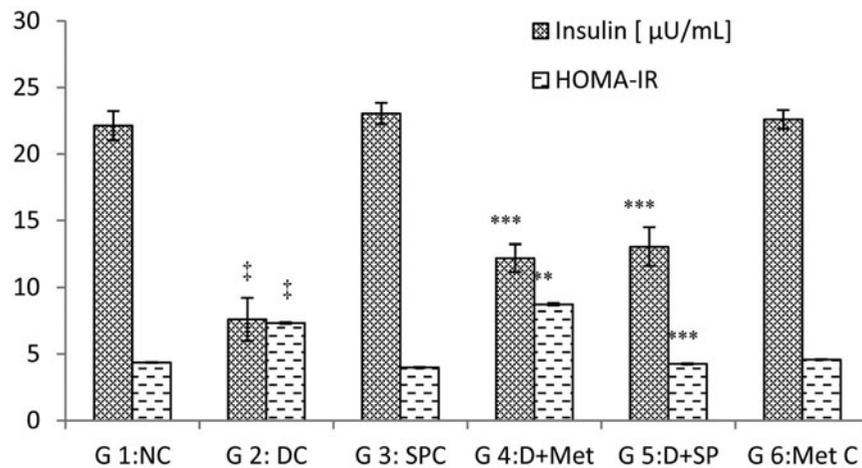


Figure 2. Effect of *S. platensis* administration on blood insulin level and HOMA-IR. NC: Normal Control; DC: Diabetic Control; SPC: *SP* control; D + Met: Diabetic rats treated with metformin; D + SP: Diabetic rats treated with *SP*; Met C: Metformin Control. Each value represents mean \pm SE ($n=8$). $\dagger p < 0.001$, compared with group 1 values, $\ast p < 0.05$; $\ast\ast p < 0.01$, $\ast\ast\ast p < 0.001$ compared with group 2 values at the end of experiment.

Table 4. Effect of *S. platensis* on serum oxidative stress and liver function levels.

Parameters	G1:NC	G2:DC	G3:SPC	G4:D + Met	G5:D + Met	G6:MetC
Oxidative stress						
TAS [mmol/L]	1.08 \pm 0.05	0.46 \pm 0.07 \dagger	1.32 \pm 0.043	0.58 \pm 0.08 \ast	0.81 \pm 0.11 $\ast\ast$	1.17 \pm 0.065
SOD [U/mL]	62.06 \pm 5.20	30.12 \pm 6.35 \dagger	80.3 \pm 4.12	40.41 \pm 6.5 $\ast\ast$	57.85 \pm 8.2 $\ast\ast\ast$	69.40 \pm 5.00
Gpx [U/mL]	8.56 \pm 0.62	4.11 \pm 1.70 \dagger	9.43 \pm 0.83	5.31 \pm 1.20 $\ast\ast\ast$	6.52 \pm 1.44 $\ast\ast\ast$	8.91 \pm 0.43
GRx [U/g protein]	24.32 \pm 2.11	17.84 \pm 4.11 \dagger	26.52 \pm 2.05	18.44 \pm 3.13	21.17 \pm 3.63 $\ast\ast$	25.81 \pm 2.21
TBARS [mmol/g protein]	23.92 \pm 2.34	50.17 \pm 6.54 \dagger	21.91 \pm 2.21	47.56 \pm 4.70	31.63 \pm 5.7 $\ast\ast\ast$	22.37 \pm 2.51
Liver function [U/L]						
AST 60d	94.95 \pm 4.56	141.04 \pm 6.73	74.34 \pm 7.98	123.56 \pm 8.62	112.05 \pm 5.53	84.90 \pm 5.95
70d	95.10 \pm 4.43	140.91 \pm 8.24 $\ast\ast\ast$	72.63 \pm 6.48	141.56 \pm 6.21 c	105.36 \pm 5.84 \dagger	87.66 \pm 7.84
ALT 60d	53.00 \pm 9.14	80.43 \pm 11.96	47.74 \pm 8.64	70.20 \pm 12.86	58.50 \pm 9.20	56.24 \pm 8.78
70d	53.60 \pm 7.26	78.75 \pm 12.90 $\ast\ast\ast$	46.80 \pm 7.74	82.11 \pm 14.88 b	50.33 \pm 9.40 $\dagger b$	57.08 \pm 7.14
Alk-p 60d	66.69 \pm 5.51	103.02 \pm 11.74	47.12 \pm 7.30	94.60 \pm 14.64	85.56 \pm 12.86	66.80 \pm 9.42
70d	68.01 \pm 5.10	99.36 \pm 13.70 $\ast\ast\ast$	46.26 \pm 8.28	100.18 \pm 12.46	79.64 \pm 11.54 $\dagger b$	67.40 \pm 12.24

NC: Normal Control; DC: Diabetic Control; SPC: *SP* control; D + Met: Diabetic rats treated with metformin; D + SP: Diabetic rats treated with *SP*; MetC: Metformin control. Each value represents mean \pm SE ($n=8$). Oxidative stress ($\dagger p < 0.001$, compared with group 1 values, $\ast p < 0.05$; $\ast\ast p < 0.01$, $\ast\ast\ast p < 0.001$ compared with group 2 values at the end of experiment). Liver function ($\ast\ast p < 0.01$, compared with group 1 values, $\ast\ast\ast p < 0.001$, compared with group 1 values, $\dagger p < 0.01$, compared with group 2 values, $\dagger b p < 0.001$, compared with group 2 values at the end of experiment, (a) $p < 0.05$, (b) $p < 0.01$, (c) $p < 0.001$, compared the same group before and after arrest of treatment (60th and 70th day) values).

oxidative stress parameters very significantly ($p < 0.001$) in comparison to those of the controls after 70 days. Administration of *SP* and Met significantly increased TAS (43%; $p < 0.01$ and 17%; $p < 0.05$), GRx (16%; $p < 0.01$ and 3%; $p < 0.01$), SOD (48%; $p < 0.001$ and 25%; $p < 0.01$) and GPx (37%; $p < 0.001$ and 22%; $p < 0.01$) in groups 4 and 5, respectively. In contrast, the serum TBARS levels increased significantly ($p < 0.001$) in G2 compared to those G1. Administration of *SP* decreased the TBARS levels by 37% in G5, but no significant changes in the serum TBARS levels (5%) were observed in G4. The G2 rats showed a very significant ($p < 0.001$) increase in AST, ALT, and Alk-p after injection of alloxan. However, *SP* decreased these effects ($p < 0.001$) by 25, 36 and 20%, respectively.

Histopathology

Histopathological analyses of the pancreas (Figure 3(a-f)) and liver (Figure 3(g-l)) are shown in Figure 3. Normal rats (G1) had no structural changes in the pancreas. The pancreases of the diabetic rats (G2) revealed cell necrobiosis and a reduction in islet size. Marine *SP*-treated normal rats (G3) had large endocrine cells with granular cytoplasm, high eosinophil levels and clear vesicular nuclei, which indicate nucleoprotein synthesis

(clumping of chromatin). Group 4 had small islets of Langerhans and a reduced number of cells with condensed nuclei with a partial restoration of the damage. However, after treatment with marine *SP* (G5), the diabetic rats showed a moderately size islets of Langerhans with active nuclei in the cells. This was likely due to an increase in the β -cells, leading to increased insulin production and secretion. Groups 1 and 3 showed normal liver parenchyma, while the liver sections of G2 showed primary degeneration of hepatocytes. Hypertrophy, hepatocyte necrosis and inflammatory infiltrates around the dilated centrilobular veins were observed. The liver sections obtained from the diabetic rats treated with metformin (G4) showed hypertrophy of hepatocytes and inflammatory infiltrates around the central veins and portal spaces, while the liver tissues of the diabetic rats treated with *SP* (G5) showed hepatocyte restoration with some hepatosteatosis.

Discussion

Extensive studies have assessed the therapeutic benefits of *SP* on various disease conditions including diabetes, cardiovascular diseases and inflammatory diseases (Iyer et al. 2008; Juarez-Oropeza et al. 2009; Al-Dhabi 2013). *SP* is a unicellular cyanobacterium

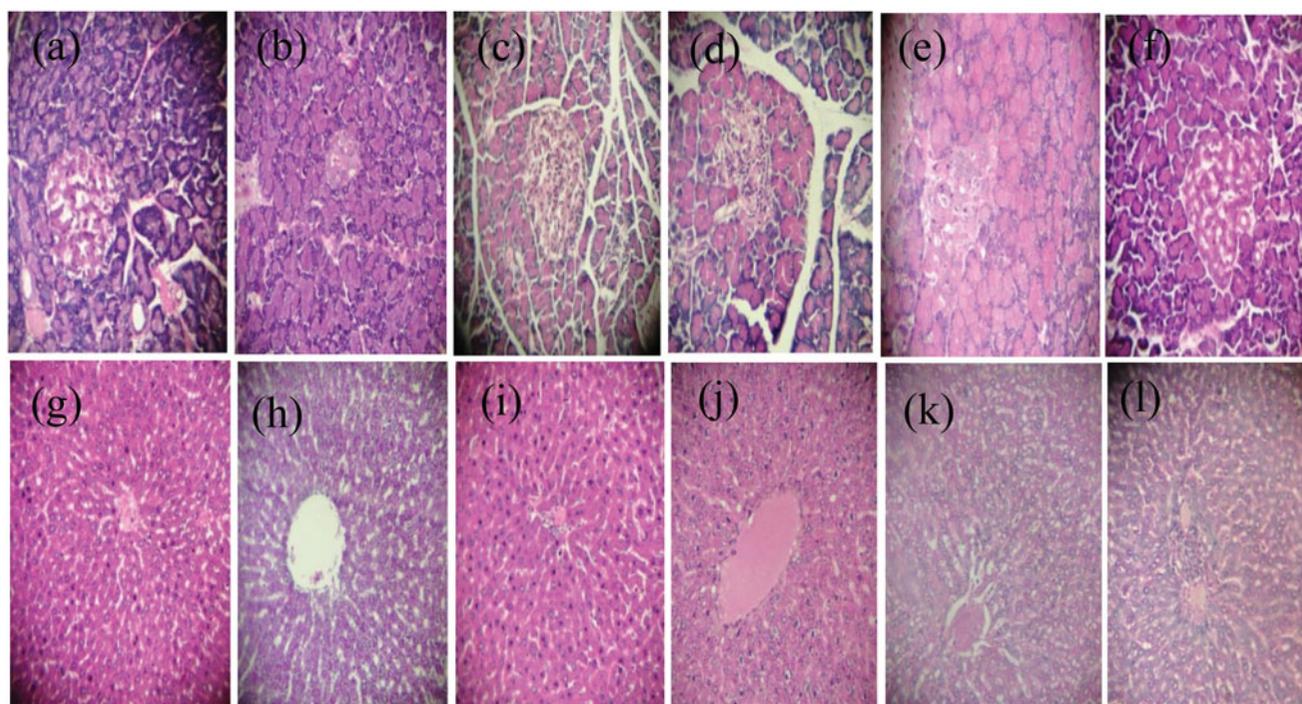


Figure 3. Effect of *Spirulina platensis* on the pancreas (a–f) and liver (g–l) of normal and diabetic rats H&E, 40 \times . Group 1 (a, g). Group 2 (b, h) Group 3 (c, i), Group 4 (d, j), Group 5 (e, k) and Group 6 (f, l).

that has attracted attention for its high phytonutrient value; it has been consumed as a food for centuries and is currently used as nutraceutical food supplement worldwide (Deng & Chow 2010; Abdel-Daim et al. 2013).

Alloxan, a β -cytotoxin, induces ‘chemical diabetes’ in animal species by damaging the insulin-secreting cells of the pancreas and alters serum biochemical parameters. The major aim of this study was to assess the antidiabetic roles of *SP*.

The induction of diabetes by alloxan is associated with a progressive loss of body weight, which could be due to increased muscle wasting or excess breakdown of proteins in the tissues (Chatterjea & Shinde 2002). In contrast, oral administration of *SP* to diabetic rats for 50 days resulted in a significant ($p < 0.001$) increase in BWG, suggesting that *SP* substantially improved their general health status and metabolic mechanisms by effective glycaemic control or a reversal of gluconeogenesis (Voltarelli & de Mello 2008; Muthuraman et al. 2009; Abdel-Daim 2014; Yusuf et al. 2016).

The diabetic rats in Group 2 showed a considerable relative decrease in liver weight compared to that of the kidney. However, Yadav et al. (2005) and Sophia and Manoharan (2007) attributed the significant reduction in the liver weight of the diabetic animals to enhanced catabolic processes, such as glycogenolysis, lipolysis and proteolysis. The renal hypertrophy or increase in the kidney weight observed in the DC group may be due to increased glucose utilization and the subsequent enhancement in glycogen synthesis, lipogenesis and protein synthesis (Poonam et al. 2008; Vallon & Thomson 2012).

Glycaemia and insulin

The injection of alloxan induces diabetes within 3 days (> 4 g/L). Oral administration of *SP* (10% w/v) restored the BGL to the normal range after 50 days. In this study, *SP* had a more potent effect than that of Met against diabetes as noted in groups 4 and 5. These results corroborate reports in the literature regarding

diabetic rats treated with 10 mg/kg b.w. for 30 days and 25, 50 or 100 mg/kg p.o. of *SP* for 5 or 10 days after the alloxan injection (Muthuraman et al. 2009; Joventino et al. 2012). The antihyperglycemic effect of *SP* is believed to be due to either the presence of potent antioxidant bioactive molecules (β -carotene, phycocyanin and others), which increase the insulin secretion from the islet β -cells or promotion of blood glucose transport to the peripheral tissues (El-Baz et al. 2013). This antidiabetic effect could also be due to the action of peptides and polypeptides generated by the digestion of the *SP* proteins (Mani et al. 2000). Antioxidant effects of *SP* supplementation might be due to its high protein, essential amino acids, essential fatty acids, minerals, vitamins, carotenoids and other antioxidant active constituents, which promote growth and maintain health (Sanchez et al. 2003; Babadzhyanov et al. 2004; Mata et al. 2010; Alvarenga et al. 2011; Abdel-Daim 2014).

In the last 10 days of the experiment, a significant reduction was observed ($p < 0.001$) in the BGL in Group 5. The strong antioxidant activity of the alga might also contribute to this effect by providing protection against the cytotoxic effects of the free radicals that are generated by the alloxan or diabetes itself (Gallo et al. 2005; Wadood et al. 2007).

Serum insulin levels decrease during diabetes. In the present study, we found that *SP* reversed the diabetic effects of glycemia and insulinemia. Similar results were reported by Muthuraman et al. (2009). The active fraction may exert antihyperglycemic effects in diabetic rats by increasing the pancreatic secretion of insulin from the existing β -cells. Bansal et al. (1981) reported that the increase in plasma insulin may be attributed to the conversion of proinsulin to insulin, possibly by pancreatic cathepsin B and/or its secretion.

Oxidative stress

The increased TAS, SOD, GRx and GPx activities in the blood may be responsible for the inhibitory effect of *SP* upon

alloxan-induced oxidative stress and the reduced lipid peroxidation level. These results were noted by Abdel-Daim et al. (2015). According to Shyam et al. (2007), supplementation with *SP* did not cause any significant change in the plasma total antioxidant status, although a trend toward higher values was evident, with the exception of the TBARS. Treatment with *SP* offered protection through attenuation of lipid peroxidation and decreased production of free-radical derivatives, as evident from the decreased levels of serum MDA and normalization of GSH and SOD levels (Abdel-Daim 2014).

This abnormal metabolism leads to an increased generation of ROS (Rajasekaran et al. 2006). The diabetogenic effect of alloxan is due to excess production of ROS. Excess ROS result in toxicity in the pancreatic cells, which reduces the synthesis and the release of insulin, and affects various organs, such as the liver, kidney, and the hematopoietic system (Sakurai et al. 2001; Sabu et al. 2002).

Diabetics and experimental animal models exhibit high oxidative stress due to persistent and chronic hyperglycaemia as well as hyperlipidaemia, which blocks the antioxidative defence system and thus promotes *de novo* free radical generation (Kamalakaran & Prince 2006; Vijayaraj et al. 2013).

Plant cell defences against the damaging effects of oxidative stress involve both enzymatic and non-enzymatic components. The enzymatic factors may directly scavenge ROS or, by producing a non-enzymatic antioxidant (as mentioned previously), may play an important role in the cellular response to oxidative stress by reducing certain ROS individually or in synergy (Candan & Tarhan 2003; Chen et al. 2008; Vo et al. 2015). *SP* supplementation enhanced all altered serum biochemical parameters and antioxidant biomarkers (Abdelkhalek et al. 2014).

Liver function and histology

SP might play an important role in prevention and treatment of hepatic, renal and neurological disorders, especially those mediated by oxidative stress (Lu et al. 2010; Gad et al. 2011; Bhattacharyya & Mehta 2012; Abdel-Daim et al. 2016). In this study, alloxan injection was harmful and had a negative on the hepatic tissues, which was accompanied by an increase in GOT, GPT and Alk-p enzymes. GOT and GPT are cytosolic marker enzymes, reflecting hepatocellular necrosis (Setorki et al. 2010; Urmila et al. 2012). In contrast, the administration of *SP* had beneficial effects on hepatic balance and decreased liver function parameters significantly ($p < 0.001$) by 25, 36 and 20% for GOT, GPT and Alk-p, respectively, compared to those of DC 10 days after therapy arrest. *SP* dietary supplementation reduced the serum hepatic biomarkers and offered a good protection and maintained the structural integrity of hepatocellular membrane (Abdel-Daim 2014; Abdelkhalek et al. 2014). This may be due to the antioxidant activity of *Spirulina* phycobiliproteins (phycocyanins and allophycocyanins) or phenolic compounds (Nuhu 2013; Abdel-Daim et al. 2016), whereas the DPPH assay demonstrated that *SP* has free radical-scavenging activity. Therefore, this alga acts as an anti-hepatotoxicity agent (Abd El-Baky et al. 2009; Thomas & Kim 2011; Abdel-Daim 2014). A histopathological examination revealed that the *SP* supplement significantly improved the histological architecture of the islets of Langerhans and the liver of diabetic animals. Makhlof and Makhlof (2012), Tobon-Velasco et al. (2013) and Abdel-Daim et al. (2015) reported that the *SP* supplement had free radical scavenging activity and reduced various indicators of toxicity such as tissue damage in rats. *In vitro* and *in vivo* studies have shown that the

antioxidant components produced by *SP* prevent or delay oxidative damage by reducing the accumulation of ROS (Zhang et al. 2011) through the activation of the antioxidant enzyme systems of catalase, SOD, and GPx (Thaakur & Jyothi 2007; Abdel-Daim 2014). In accordance with our results, it was proven that the antioxidant properties of *SP* contributed to its beneficial effect in treating various pathological conditions.

Conclusion

Spirulina extract effectively alleviated the abnormal biochemical parameters, especially glycaemia and insulinemia. It may be used as a potent phyto-medicine for diabetes alone or in combination with other treatments. *Spirulina* also reversed damage to the liver and the oxidative stress observed in diabetic animals. Furthermore, even if after therapy stopped, the *SP* efficacy maintained all of the studied parameters in a normal range, especially glycaemia. Other investigations are needed to elucidate the exact mechanism of action of the *SP* or its extract.

Disclosure statement

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

We are thankful to the Food Technology and Human Nutrition Laboratory of the 'École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA)', Algiers, Algeria, Laval University, Québec, Canada, for the contingent grant and for providing a scholarship to A. O. via a collaborative project and the financial support of the Algerian Agency for the Research & Development in Health (PNR nos. 208/ANDRS/2011 and 41/ANDRS/2011) from the National Administration of Algerian Higher Education and Scientific Research (DGRSDT).

References

- Abd El-Baky HH, El Baz FK, El-Baroty GS. 2009. Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effects. *Afr J Biotechnol.* 8:7059–7067.
- Abdel-Daim M, El-Bialy BE, Rahman HG, Radi AM, Hefny HA, Hassan AM. 2016. Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against sub-acute deltamethrin toxicity in mice: biochemical and histopathological studies. *Biomed Pharmacother.* 77:79–85.
- Abdel-Daim M, Halawa S. 2014. Synergistic hepatocardioprotective and antioxidant effects of myrrh and ascorbic acid against diazinon-induced toxicity in rabbits. *Int Res J Humanit Eng Pharm Sci.* 1:1–7.
- Abdel-Daim MM. 2014. Pharmacodynamic interaction of *Spirulina platensis* with erythromycin in Egyptian Baladi bucks (*Capra hircus*). *Small Rumin Res.* 120:234–241.
- Abdel-Daim MM, Abuzead SMM, Halawa SM. 2013. Protective role of *Spirulina platensis* against acute deltamethrin-induced toxicity in rats. *PLoS ONE.* 8:e72991.
- Abdel-Daim MM, Farouk SM, Madkour FF, Azab SS. 2015. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Spirulina platensis* in comparison to *Dunaliella salina* in acetic acid-induced rat experimental colitis. *Immunopharm Immunot.* 37:126–139.
- Abdelkhalek NK, Ghazy EW, Abdel-Daim MM. 2014. Pharmacodynamic interaction of *Spirulina platensis* and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. *Environ Sci Pollut Res Int.* 22:3023–3031.
- Al-Dhabi NA. 2013. Heavy metal analysis in commercial *Spirulina* products for human consumption. *Saudi J Biol Sci.* 20:383–388.
- Alvarenga RR, Rodrigues PB, Cantarelli VS, Zangeronimo MG, Júnior JWS, Silva LR, Santos LM, Pereira LJ. 2011. Energy values and chemical composition of *Spirulina (Spirulina platensis)* evaluated with broilers. *Rev Bras Zootec.* 40:992–996.

- American Diabetes Association. 1998. Consensus Development Conference on Insulin Resistance (ADACDCIR). *Diabetes Care*. 21:310–314.
- Anamika P, Sandhya M, Richa P, Ghosh PK. 2005. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. *Protein Express Purif*. 40:248–255.
- Babadzhanov AS, Abdusamatova N, Yusupova FM, Faizullaeva N, Mezhlumyan LG, Malikova MK. 2004. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chem Nat Compd*. 40:276–279.
- Bansal R, Ahmad N, Kidwai JR. 1981. Effect of oral administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rats. *Indian J Biochem Biophys*. 18:377–381.
- Bennett A, Bogorad L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J Cell Biol*. 58:419–435.
- Bhattacharyya S, Mehta P. 2012. The hepatoprotective potential of *Spirulina* and vitamin C supplementation in cisplatin toxicity. *Food Funct*. 3:164–169.
- Bos M, Agyemang C. 2013. Prevalence and complications of diabetes mellitus in Northern Africa, a systematic review. *BMC Public Health*. 13:1–7.
- Burits M, Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res*. 14:323–328.
- Candan N, Tarhan L. 2003. Relationship among chlorophyll-carotenoid concentration, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels by Mg²⁺ deficiency in the *Mentha pulegium* leaves. *Plant Physiol Biochem*. 41:35–40.
- Chatterjea MN, Shinde R. 2002. *Textbook of Medical Biochemistry*. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Chen TF, Zheng WJ, Wong YS, Yang F. 2008. Selenium-induced changes in activities of antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments in *Spirulina platensis*. *J Integr Plant Biol*. 50:40–48.
- Chu WL, Lim YW, Ammu KRAK, Lim PE. 2010. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complement Altern Med*. 10:1–8.
- Deng R, Chow TJ. 2010. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae *Spirulina*. *Cardiovasc Ther*. 28:e33–e45.
- El-Baz F, Aly HF, El-Sayed AB, Mohamed AA. 2013. Role of *Spirulina platensis* in the control of glycemia in DM2 rats. *Int J Sci Eng Res*. 4:1731–1740.
- Gad AS, Khadrawy YA, El-Nekeety AA, Mohamed SR, Hassan NS, Abdel-Wahhab MA. 2011. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and *Spirulina* in rats. *Nutrition*. 27:582–589.
- Gallo A, Ceolotto G, Pinton P, Iori E, Murphy E, Rutter AG, Rizzuto R, Semplicini A, Avogaro A. 2005. Metformin prevents glucose-induced protein kinase C- β 2 activation in human umbilical vein endothelial cells through an antioxidant mechanism. *Diabetes*. 54:1123–1131.
- Gezer K, Duru E, Kivrak Turkaglu A, Mercan N, Turkoglu H, Gukan S. 2006. Free radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey. *Afr J Biotechnol*. 5:1924–1928.
- Göksan T, Kulic, C. 2009. Growth and biochemical composition of *Spirulina platensis* Geitler in summer period under the conditions of C, anakkale, Turkey. *Asian J Chem*. 21:4947–4950.
- Gomeri G. 1950. Aldehyde-fuchsin, a new staining for elastic tissue. *Am J Pathol*. 17:395–406.
- Ha H, Kim KH. 1999. Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C. *Diabetes Res Clin Pract*. 45:147–151.
- Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI. 2002. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 106:679–684.
- Ibrahim A, Abdel-Daim M. 2015. Modulating effects of *Spirulina platensis* against tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. *Cell J (Yakhteh)*. 17:137–144.
- Iyer UM, Dhruv SA, Mani IU. 2008. *Spirulina* and its therapeutic implications as a food product. In: Gershwin ME, Belay A, editors. *Spirulina in human nutrition and health*. Boca Raton: Taylor & Francis Group; New York: CRC Press, p. 51–70.
- Juarez-Oropeza MA, Mascher D, Torres-Duran PV, Farias JM, Paredes-Carbajal MC. 2009. Effects of dietary *Spirulina* on vascular reactivity. *J Med Food*. 12:15–20.
- Juventino IP, Alves HGR, Neves LC, Pinheiro-Juventino F, Leal LKAM Neves SA, Ferreira FV, Brito GAC, Viana GB. 2012. The microalga *Spirulina platensis* presents anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypolipidemic properties in diabetic rats. *J Complement Integr Med*. 9:1553–3840.
- Kamalakkannan N, Prince PSM. 2006. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 98:97–103.
- Kameswara Rao B, Kesavulu MM, Giri R, AppaRao C. 1999. Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook. fruit powder in alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 67:103–109.
- Khan Z, Bhadouria P, Bisen P. 2005. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Curr Pharm Biotechnol*. 6:373–379.
- Laako M. 1993. How good a marker is insulin level for insulin resistance? *Am J Epidemiol*. 137:959–965.
- Lamaison JLC, Carnet A. 1990. Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poir) D. C) en fonction de la végétation. *Pharm Acta Helv*. 65:315–320.
- Lichtenthaler H, Wellburn A. 1985. Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. *Biochem Soc Trans*. 11:591–592.
- Lu J, Ren DF, Wang JZ, Sanada H, Egashira Y. 2010. Protection by dietary *Spirulina platensis* against D-galactosamine- and acetaminophen-induced liver injuries. *Br J Nutr*. 103:1573–1576.
- Makhlouf R, Makhlouf I. 2012. Evaluation of the effect of *Spirulina* against gamma irradiation-induced oxidative stress and tissue injury in rats. *Int J Appl Sci Eng Res*. 1:152–164.
- Mani UV, Desai S, Iyer UM. 2000. Studies on long term effect of *Spirulina* supplementation on serum lipid profile and glycated proteins in NIDDM patients. *J Nutraceut*. 2:25–32.
- Mata TM, Martins AA, Caetano NS. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew Sust Energy Rev*. 14:217–232.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 28:412–419.
- Muthuraman P, Senthilkumar R, Srikumar K. 2009. Alterations in beta-islets of Langerhans in alloxan-induced diabetic rats by marine *Spirulina platensis*. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 24:1253–1256.
- Nuhu AA. 2013. *Spirulina (Arthrospira)*: an important source of nutritional and medicinal compounds. *J Mar Biol*. 2013:1–8.
- Oliveira ACP, Endringer DC, Amorim LAS, Brandao MGL, Coelho MM. 2005. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. *J Ethnopharmacology*. 102:465–469.
- Quintanilha AT, Packer L, Davies JM, Racanelli TL, Davies KJ. 1982. Membrane effects of vitamin E deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann N Y Acad Sci*. 393:32–47.
- Pankaj PP, Varma MC. 2013. Potential role of *Spirulina platensis* in maintaining blood parameters in alloxan-induced diabetic mice. *Int J Pharm Pharm Sci*. 5:450–456.
- Poonam S, Prachi A, Murali YK, Tandon V. 2008. Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. *Food Chem Toxicol*. 46:3458–3466.
- Rajasekaran S, Kasiappan R, Karuran S, Sorimutha S. 2006. Beneficial effects of *Aloe vera* leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 33:232–237.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 26:1231–1237.
- Sabu MC, Smitha K, Kuttan R. 2002. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol*. 83:109–116.
- Sakurai K, Katoh M, Someno K, Fujimoto Y. 2001. Apoptosis and mitochondrial damage in INS-1 cells treated with alloxan. *Biol Pharm Bull*. 24:876–882.
- Sanchez M, Bernal-Castillo J, Roza C, Rodriguez I. 2003. *Spirulina (Arthrospira)*: an edible microorganism. *A Review Univ Sci*. 8:7–24.
- Setorki M, Asgary S, Eidi A, Haeri Rohani A, Khazaei M. 2010. Acute effects of vinegar intake on some biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Lipids Health Dis*. 28:1–10.
- Shyam R, Singh SN, Vats P, Singh VK, Pharma D, Bajaj R, Singh SB, Banerjee PK. 2007. Wheat grass supplementation decreases oxidative stress in healthy subjects: a comparative study with *Spirulina*. *J Altern Complement Med*. 13:789–791.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299:152–178.
- Sophia D, Manoharan S. 2007. Hypolipidemic activities of *Ficus racemosa* Linn. bark in alloxan induced diabetic rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 4:279–288.
- Thaakur SR, Jyothi B. 2007. Effect of *Spirulina maxima* on the haloperidol induced tardive dyskinesia and oxidative stress in rats. *J Neural Transm (Vienna)*. 114:1217–1225.
- Thormar H. 2012. Patented non-antibiotic agents as animal feed additives. *Recent Pat Food Nutr Agric*. 4:155–168.
- Tobon-Velasco JC, Palafox-Sanchez V, Mendieta L, García E, Santamaría A, Chamorro-Cevallos G, Limón ID. 2013. Antioxidant effect of *Spirulina*

- (*Arthrospira*) *maxima* in a neurotoxic model caused by 6-OHDA in the rat striatum. *J Neural Transm.* 120:1179e–11189.
- Thomas NV, Kim SK. 2011. Potential pharmacological applications of polyphenolic derivatives from marine brown algae. *Environ Toxicol Pharmacol.* 32:325–335.
- Turkoglu A, Duru ME, Mercan N, Kivrak I, Gezer K. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.). *Murill Food Chem.* 101:267–273.
- Urmila J, Anish ZJ, Pravin K, Bisen PS, Prasad GBKS. 2012. Alleviation of metabolic abnormalities induced by excessive fructose administration in Wistar rats by *Spirulina maxima*. *Indian J Med Res.* 135:422–428.
- Vallon V, Thomson SC. 2012. Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Annu Rev Physiol.* 74:1–27.
- Vijayaraj P, Muthukumar K, Sabarirajan J, Nachiappan V. 2013. Antihyperlipidemic activity of *Cassia auriculata* flowers in Triton WR 1339 induced hyperlipidemic rats. *Exp Toxicol Pathol.* 65:135–141.
- Vo TS, Ngo DH, Kim SK. 2015. Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal *Spirulina*. In: Kim SK, editors. *Handbook of Marine Microalgae*. Biotechnology Advances. Elsevier Science, Academic Press, p. 299–308.
- Voltarelli FA, de Mello MAR. 2008. *Spirulina* enhanced the skeletal muscle protein in growing rats. *Eur J Nutr* 47:393–400.
- Wadood N, Nisar M, Rashid A, Wadood A, Nawab G, Khan A. 2007. Effect of a compound recipe (medicinal plants) on serum insulin levels of alloxan-induced diabetic rabbits. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 19:32–38.
- Wild S, Bchir MB, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. 2004. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 27:1047–1053.
- Yadav UC, Moorthy K, Baquer NZ. 2005. Combined treatment of sodium orthovanadate and *Momordica charantia* fruit extract prevents alterations in lipid profile and lipogenic enzymes in alloxan diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* 268:111–120.
- Yang L, Zhang LM. 2009. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydr Polym.* 76:349–361.
- Yusuf MS, Hassan MA, Abdel-Daim MM, El Nabtiti AS, Ahmed AM, Moawed SA, El-Sayed AK, Cui H. 2016. Value added by *Spirulina platensis* in two different diets on growth performance, gut microbiota, and meat quality of Japanese quails. *Vet World.* 9:1287–1293.
- Zhang BB, Moller DE. 2000. New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Curr Opin Chem Biol.* 4:461–467.
- Zhang H, Chen T, Jiang J, Wong YS, Yang F, Zheng W. 2011. Selenium-containing allophycocyanin purified from selenium-enriched *Spirulina platensis* attenuates AAPH-induced oxidative stress in human erythrocytes through inhibition of ROS generation. *J Agric Food Chem.* 59:8683–8690.
- Zheng J, Inoguchi T, Sasaki S, Maeda Y, McCarty MF, Fujii M, Ikeda N, Kobayashi K, Sonoda N, Takayanagi R. 2013. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 304:110–120.

ملخص

السيبرولينا (SP) هي طحالب خضراء مزرققة ذات أهمية طبية وغذائية. هاته الدراسة شملت 88 ذكر من الفئران فئة ويستار لمدة 70 يوم. تم بذلك تشكيل 11 مجموعة من الفئران، مجموعة مصابة بداء السكري من النوع الأول والثانية من النوع الثاني س 1 و س 2.

مقاييس الوزن كشفت عن فقدان النسبة 32,23% لدى الفئران المصابة بداء السكري بالالوكسان بتركيز 150 ملغ / كلغ من الوزن في س 1. أما س 2 فنلاحظ زيادة في الوزن بنسبة 9% لدى الفئران المصابة بداء السكري بمحلول فروكتوز 40% لمدة شهرين. العلاج أو الوقاية بـ SP يحسن من تغيرات الوزن المتسببة بداء السكري نوع 1 أو نوع 2 لدى الفئران.

مستوى الجلوكوز في الدم عند س 1 4,28 غ/ل قبل العلاج بـ SP بتركيز 10% لمدة 50 يوم وأصبحت 1,78 غ/ل بعد العلاج.

أما س 2 مستوى الجلوكوز في الدم يتغير من 2,22 إلى 1,01 غ/ل ومن 0,68 إلى 0,70 غ/ل بعد وقبل العلاج على التوالي.

IR-HOMA في س 1 يقدر بـ 7,32 أما بعد العلاج بـ SP أصبح يقدر بـ 4,26. بالنسبة لـ س 2 انخفض مؤشر IR-HOMA من 6,21 إلى 4,51 و 4,11 بعد وقبل العلاج بـ SP على التوالي.

بالنسبة للدهون، نسجل انخفاض ملحوظ لكل من الكوليسترول والدهون الثلاثية بعد العلاج بـ SP وذلك من (1,3 إلى 0,92 غ/ل ومن 1,54 إلى 0,70 غ/ل في س 1). في س 2 نفس المؤشرات من 1,5 إلى 1 غ/ل ومن (1,8 إلى 0,9 غ/ل بعد العلاج بـ PS).

الوقاية من السكري بطحالب SP منع كل التغيرات في نسبة الدهون في س 2.

الإجهاد التأكسدي سجل تدهورات ملحوظة بالنسبة لكل من النوعين من داء السكري. بالنسبة لـ س 1 ارتفاع في نسبة SOD من 30,12 إلى 57,85 مل بعد العلاج بـ SP، أما س 2 فنلاحظ تغير SOD من 58,60 إلى 60,81 وتصل حتى 64,58 U/مل قبل وبعد العلاج بطحالب SP. ارتفاع ملحوظ في مستوى بيروكسيد الدهون (TBARS) بـ 52,32 و 38,12 بالمئة في س 1 و س 2 على التوالي. انخفاض كبير لنسبة MDA عند س 1 و س 2 بعد العلاج بـ SP، لكن العلاج الوقائي بـ SP يمنع ارتفاع نسبة TBARS في الدم.

أظهرت الدراسة النسيجية تلف جزر لانجرهانس عند الفئران المصابة بداء السكري، جزر متعددة الحجم وذات نواة نشطة وذلك يعود ربما إلى تجديد خلايا β البنكرياسية بعد تناول الفئران المصابة بالسكري لـ SP.

يمكن لـ SP أن تلعب دور في توازن نسبة السكر في الدم عند الفئران المصابة بداء السكري.

الكلمات المفتاحية:

سيبرولينا، داء السكري، الإجهاد التأكسدي، فئران ويستار.

Résumé

La Spiruline (SP) est une algue bleue verte, d'intérêts médicinal et nutritionnel. Notre étude a porté sur 88 rats mâles de souche Wistar sur une période de 70 jours. Onze groupes de rats ont été constitués et réparties en rats diabétiques de type I et II (DI et DII). Les mesures pondérales révèlent une perte de poids de l'ordre de 32.21% chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane à raison de 150 mg/Kg de P.C pour le DI. Pour le DII un gain de poids de 9% des rats rendus diabétiques par 40% de fructose pendant 2 mois. L'administration de SP à titre préventif et curatif améliore les altérations pondérales dues au diabète DI et DII.

La glycémie dans le DI était de 4.28 g/L avant administration de SP à une dose de 10% pendant 50 j et de 1.87 g/L après le traitement. Pour le DII, la glycémie passe de 2.22 à 1.01 g/L et de 0.68 à 0.74 g/L après traitement curatif et préventif de SP respectivement. Le HOMA-IR dans le DI était de 7.32 et passe à 4.26 après traitement de SP. Pour le DII, l'indice HOMA-IR passe de 6.21 à 4.51 et 4.11 après traitement curatif et préventif de SP.

Pour le profil lipidique, le cholestérol total et les triglycérides diminuent très significativement après administration de SP de (1.3 à 0.92 g/L et de 1.54 à 0.7 g/L) dans le DI. Dans le DII, les mêmes paramètres passent de (1.5 à 1 g/L et de 1.8 à 0.9 g/L) pour le traitement curatif. Le traitement préventif de SP a empêché l'altération de profil lipidique dans le DII.

Le stress oxydatif a été significativement altéré pour les deux types de diabète. Pour le DI, la SOD passe de 30.12 en 57.85 U/mL après traitement de SP. Alors que pour le DII, la SOD passe de 58.60 à 60.81 U/MI jusqu'à 64.54 U/mL pour les traitements curatif et préventif de SP. La mesure de la peroxydation lipidique (TBARS) augmente très significativement par 52,32 ; 38,12% respectivement chez le groupe DI et DII respectivement. Le traitement curatif de SP a significativement baissé le taux du MDA des deux types de diabète. Le traitement préventif de SP a prévenu l'augmentation des niveaux de TBARS.

L'étude histologique a montré une nécrobiose des îlots de Langerhans des rats diabétiques. Des îlots de taille modérées avec des cellules à noyaux actifs due probablement à la régénération des cellules β pancréatiques après l'administration de SP aux rats diabétiques.

La Spiruline pourrait jouer le rôle dans l'homéostasie glucidique chez les rats diabétiques.

Mots clés : Spiruline, diabète, stress oxydant, rat Wistar.

Abstract

Spirulina (SP) is a green blue alga with medicinal and nutritional interest. Our study included 88 male rats of Wistar strain over a period of 70 days. Eleven groups of rats were formed and divided into type I and II diabetic rats (DI and DII). The weight measurements reveal a weight loss of 32.21% in diabetic rats induced by alloxane at a rate of 150 mg / Kg of P.C. for DI. For the DII a 9% weight gains of diabetic rats induced by 40% of fructose for 2 months. The administration of SP as a preventive and curative improves the weight alterations due to diabetes DI and DII.

Blood glucose in the DI was 4.28 g / L before SP treatment at a dose of 10% for 50 days and 1.87 g / L after treatment. Blood glucose past from 2.22 to 1.01 g / L and from 0.68 to 0.74 g / L after SP curative and preventive treatment respectively for DII. The HOMA-IR in the DI was 7.32 and past to 4.26 after SP treatment. For DII, the HOMA-IR index past from 6.21 to 4.51 and 4.11 after SP curative and preventive treatment.

Lipid profile, total cholesterol and triglycerides decreased very significantly after SP administration of (1.3 to 0.92 g / L and 1.54 to 0.7 g / L) in the DI. In the DII, the same parameters go from (1.5 to 1 g / L and from 1.8 to 0.9 g / L) for the curative treatment. The SP preventive treatment prevented the alteration of lipid profile in the DII.

Oxidative stress was significantly impaired for both types of diabetes. For DI, SOD increased from 30.12 to 57.85 U / mL after SP treatment. While for DII, SOD increased from 58.60 to 60.81 U / mL to 64.54 U / mL for SP curative and preventive treatments. The measurement of lipid peroxidation (TBARS) increases very significantly by 52.32; 38.12% respectively in the DI and DII groups respectively. SP curative treatment significantly decreased the MDA rate of both types of diabetes. The preventive treatment of SP prevented increases TBARS levels.

Histological study revealed islets necrobiosis of Langerhans in diabetic rats. Moderate-sized islets with active nucleus cells probably due to pancreatic β -cells regeneration after SP administration to diabetic rats.

Spirulina may play a role in carbohydrate homeostasis in diabetic rats.

Key words: Spirulina, diabetes, oxidative stress, Wistar rats.