

# Sommaire

## Abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Revue Bibliographique</b>	
I. Cholestérol, lipoprotéines et athérogenèse .....	4
I.1. Métabolisme du cholestérol .....	4
<i>I.1.1. Importance biologique du cholestérol</i> .....	4
<i>I.1.2. Biosynthèse du cholestérol</i> .....	4
<i>I.1.3. Régulation du cholestérol</i> .....	5
I.2. Hypercholestérolémie et athérogenèse .....	7
II. Stress oxydant, pathologies cardiovasculaires et défenses antioxydantes .....	9
II.1 Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires .....	9
II.2. Stress oxydant et défenses antioxydantes .....	9
<i>II.2.1. Antioxydants enzymatiques</i> .....	10
2.1.1. <i>Superoxydes dismutases (SOD, EC: 1.15.1.1)</i> .....	10
2.1.2. <i>Catalase (CAT, EC: 1.11.1.6)</i> .....	10
2.1.3. <i>Glutathion peroxydase (GPx, EC: 1.11.1.9)</i> .....	11
2.1.4. <i>Hème oxygénase-1</i> .....	11
<i>II.2.2. Antioxydants non enzymatiques</i> .....	12
2.2.1. <i>Glutathion</i> .....	12
2.2.2. <i>Acide urique</i> .....	12
2.2.3. <i>Vitamine A</i> .....	12
2.2.4. <i>Vitamine C</i> .....	13
2.2.5. <i>Vitamine E</i> .....	13
2.2.6. <i>Bilirubine</i> .....	13
2.2.7. <i>Polyphénols</i> .....	13
III. Diabète et complications cardiovasculaires .....	14
III.1. Définition et classification du diabète .....	14
<i>III.1.1. Diabète de type 1</i> .....	14
<i>III.1.2. Diabète de type 2</i> .....	15
III.2. Diabète et risque cardiovasculaire .....	15

<i>III.2.1. Perturbations lipidiques au cours du DT1</i> .....	15
<i>III.2.2. Perturbations lipidiques au cours du DT2</i> .....	15
<i>III.2.3. Stress oxydatif et diabète</i> .....	16
IV. Inflammation et athérogenèse .....	16
IV.1. Processus artérioscléreux .....	17
<i>IV.1.1. Pénétration des LDL dans l'intima artérielle</i> .....	17
<i>IV.1.2. Oxydation des LDL et recrutement des leucocytes</i> .....	17
<i>IV.1.3. Formation de cellules spumeuses</i> .....	17
<i>IV.1.4. Formation de la strie lipidique et de la chape fibreuse</i> .....	18
<i>IV.1.5. Rupture de la plaque</i> .....	18
V. Plantes médicinales dans le traitement des facteurs de risque cardiovasculaire .....	20
V.1. Effet hypcholestérolémiant des plantes médicinales .....	20
<i>V.1.1 Etudes expérimentales</i> .....	20
<i>V.1.2 Etudes cliniques</i> .....	21
V.2. Effet hypoglycémiant des plantes médicinales .....	22
<i>V.2.1. Etudes expérimentales</i> .....	22
<i>V.2.2. Etudes cliniques</i> .....	22
V.3. Effet antioxydant des plantes médicinales .....	23
<i>V.3.1. Etudes expérimentales</i> .....	23
<i>V.3.2. Etudes cliniques</i> .....	24
V.4. Effet anti-inflammatoire des plantes médicinales .....	25
<i>V.4.1 Etudes expérimentales</i> .....	25
<i>V.4.2. Etudes cliniques</i> .....	25
VI. Choix du matériel végétal et du modèle expérimental .....	26
VI.1. <i>Portulaca oleracea</i> , plante médicinale .....	26
<i>VI.1.1. Profil phytochimique de Po</i> .....	27
<i>VI.1.2. Toxicité de Po</i> .....	28
<i>VI.1.3. Bienfaits thérapeutiques de Po</i> .....	28
<i>1.3.1 Etudes expérimentales</i> .....	28
<i>1.3.1.1. Potentiel hypolipémiant</i> .....	28
<i>1.3.1.2. Potentiel antidiabétique</i> .....	29
<i>1.3.1.3. Potentiel antioxydant</i> .....	29
<i>1.3.1.4. Potentiel anti-inflammatoire</i> .....	29
<i>1.3.1.5. Potentiel antiathérogène</i> .....	30

1.3.2. Etudes cliniques .....	30
VI.2. Modèle expérimental, le rat Wistar .....	31
<b>Matériel et Méthodes</b> .....	<b>33</b>
I. Matériel végétal .....	33
I.1. Préparation de l'extrait de <i>Portulaca oleracea</i> .....	33
I.2. Analyse phytochimique préliminaire de <i>Po</i> .....	34
I.2.1. Méthodes chromatographiques .....	34
I.2.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	34
I.2.1.1. Chromatographie liquide sous vide (VLC) .....	34
I.2.1.1. Chromatographie d'exclusion Sephadex LH-20 .....	34
I.2.1.1. Chromatographie liquide moyenne pression (MPLC) .....	35
I.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante de <i>Po</i> .....	35
II. Animaux et régimes .....	35
III. Prélèvement du sang et des organes .....	37
IV. Analyses biochimiques de certains paramètres .....	37
IV.1. Estimation des lipides et du cholestérol ingérés, des lipides fécaux et de la digestibilité des lipides .....	37
IV.1.1. Dosage des lipides totaux .....	37
IV.1.2. Dosage du cholestérol ingéré et fécal .....	38
IV.2. Détermination des teneurs plasmatiques et urinaires en urée, en acide urique et en créatinine .....	38
IV.2.1. Dosage de l'urée .....	38
IV.2.2. Dosage de l'acide urique .....	38
IV.2.3. Dosage de la créatinine .....	38
IV.3. Détermination de la glycémie, de l'insulinémie et de l'hémoglobine glyquée .....	38
IV.3.1. Détermination de la glycémie .....	38
IV.3.2. Détermination de l'insulinémie .....	39
IV.3.3. Détermination de l'hémoglobine glyquée .....	39
IV.4. Détermination des teneurs en protéines totales plasmatiques et hépatiques .....	39
IV.5. Détermination des teneurs plasmatiques en albumine .....	40
IV.6. Détermination des teneurs en lipides plasmatiques et hépatiques .....	40
IV.6.1. Dosage du cholestérol total, du cholestérol libre et des esters de cholestérol .....	40
IV.6.2. Dosages des triglycérides .....	40
IV.6.3. Détermination des teneurs en phospholipides .....	41
IV.7. Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques .....	41

V. Séparation et analyse des différentes fractions de lipoprotéines et dosage de la lécithine : cholestérol acyltransférase .....	41
V.1. Séparation des lipoprotéines plasmatiques .....	41
V.1.1. Séparation des VLDL et des LDL-HDL <sub>1</sub> .....	42
V.1.2. Séparation des HDL <sub>2</sub> et des HDL <sub>3</sub> .....	42
V.2. Purification des lipoprotéines .....	42
V.3. Analyse des différents constituants des lipoprotéines .....	42
V.4. Dosage des apolipoprotéines (apo A-I et apo B) plasmatiques .....	43
V.5. Détermination de l'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT, EC 2.3.1.43) .....	43
VI. Evaluation du statut redox .....	43
VI.1. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) .....	43
VI.1.1. TBARS du plasma, des érythrocytes et des lipoprotéines .....	43
VI.1.2. TBARS tissulaires .....	44
VI.2. Détermination des teneurs en glutathion (GSH) au niveau érythrocytaire et tissulaire .....	44
VI.3. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires et tissulaires .....	44
VI.3.1. Préparation des érythrocytes .....	44
VI.3.2. Préparation des homogénats tissulaires .....	44
VI.3.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) .....	45
VI.3.4. Activité de la glutathion peroxydase (GPx, EC 1.11.1.9) .....	45
VI.3.5. Activité de la glutathion réductase (GRed, EC 1.6.4.2) .....	45
VI.3.6. Activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6) .....	45
VII. Détermination du statut inflammatoire.....	46
VII.1. Dosage du facteur de nécrose humorale (TNF- $\alpha$ ) et de l'interleukine-6 (IL-6) .....	46
VIII. Analyse statistique .....	46
<b>Résultats</b> .....	47
1. Résultats de l'analyse phytochimique de <i>Portulaca oleracea</i> .....	47
1.1. Analyse phytochimique préliminaire .....	47
1.2. Etude de la fraction <i>PO</i> <sub>1</sub> .....	48
1.3. Etude de la fraction <i>PO</i> <sub>2</sub> .....	49
1.4. Etude de la fraction <i>PO</i> <sub>3</sub> .....	49
1.5. Etude de la fraction <i>PO</i> <sub>4</sub> .....	49
1.6. Etude de la fraction <i>PO</i> <sub>5</sub> .....	49
1.7. Etude de la fraction <i>PO</i> <sub>6</sub> .....	50

1.8. Etude de la fraction <i>Po<sub>7</sub></i> .....	50
1.9. Activité antioxydante de <i>Portulaca oleracea</i> .....	51
2. Evolution du poids corporel, nourriture ingérée, lipides ingérés et excrétés et digestibilité des lipides .....	52
3. Valeurs absolues et relatives du poids des organes .....	53
4. Evolution de la glycémie, insuline plasmatique et hémoglobine glyquée .....	53
5. Concentrations plasmatiques et urinaires en urée et en créatinine .....	55
6. Teneurs en protéines totales et en lipides du foie et du plasma .....	55
6.1. Teneurs en protéines totales .....	55
6.2. Teneurs en triglycérides, en cholestérol libre, en esters de cholestérol et en phospholipides .....	55
7. Teneurs plasmatiques en apolipoprotéines A-I et B100 .....	57
8. Indices d'athérogénicité .....	57
9. Teneurs et composition des apolipoprotéines et des lipides des différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL <sub>1</sub> , HDL <sub>2</sub> et HDL <sub>3</sub> ) .....	57
9.1. Répartition du cholestérol total .....	57
9.2. Répartition des triglycérides .....	58
9.3. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL .....	59
9.4. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL- HDL <sub>1</sub> .....	60
9.4. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL <sub>2</sub> .....	61
9.5. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL <sub>3</sub> .....	62
10. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase .....	63
11. Evaluation du statut redox .....	63
11.1. Teneurs de certains marqueurs du stress oxydant .....	63
11.2. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) .....	64
11.2.1. TBARS des érythrocytes, du plasma et des différentes fractions de lipoprotéines ...	64
11.2.2. Concentrations en TBARS tissulaires .....	65
11.3. Concentrations tissulaires et érythrocytaires en glutathion réduit (GSH) .....	66
12. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires .....	67
12.1. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) .....	67
12.2. Activité de la catalase (CAT) .....	68
12.3. Activité de la glutathion peroxydase (GPx) .....	69
12.4. Activité de la glutathion réductase (GRed) .....	70
12.5. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires .....	71

13. Concentrations plasmatiques du facteur de nécrose tumorale- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) et de l'interleukine-6 (IL-6) .....	71
<b>Discussion</b> .....	73
<b>Conclusion</b> .....	83
<b>Références Bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Abréviations

<b>ACAT :</b>	Acyl-coenzyme A:cholestérol acyltransférase
<b>AChE :</b>	Acétylcholine transférase
<b>ADA :</b>	Association Américaine du diabète ( <i>American Diabetes Association</i> )
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ADP-ribose :</b>	Adénosine diphosphate ribose
<b>AGL :</b>	Acides gras libres
<b>ALT :</b>	Alanine aminotransférase
<b>Apo A-I :</b>	Apolipoprotéine A-I
<b>Apo B100 :</b>	Apolipoprotéine B100
<b>Apo B48 :</b>	Apolipoprotéine B48
<b>AST :</b>	Aspartate aminotransférase
<b>CAT :</b>	Catalase
<b>CCM :</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>CE :</b>	Cholestérol estérifié
<b>C-HDL :</b>	Cholestérol des HDL
<b>CHO :</b>	Oxydase de choline
<b>CL :</b>	Cholestérol libre
<b>C-LDL :</b>	Cholestérol des LDL
<b>CM :</b>	Chylomicrons
<b>CML :</b>	Cellules musculaires lisses
<b>CO :</b>	Monoxyde de carbone
<b>COSY :</b>	Spectroscopie de corrélation ( <i>Correlation spectroscopy</i> )
<b>CRP :</b>	Protéine C réactive
<b>CT :</b>	Cholesterol total
<b>DT1 :</b>	Diabète de type 1
<b>DT2 :</b>	Diabète de type 2
<b>EC :</b>	Esters de cholestérol
<b>ERN :</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>ERO :</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>FAB :</b>	Spectrométrie de masse ( <i>Fast atom bombardment</i> )
<b>GOT :</b>	Glutamate-oxalo-acétate-transaminase

<b>GPT :</b>	Glutamate-pyruvate-transaminase
<b>GPx :</b>	Glutathion peroxydase
<b>GRed :</b>	Glutathion réductase
<b>GSH :</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG :</b>	Glutathion oxydé
<b>HbA1c :</b>	Hémoglobine glyquée
<b>HDL :</b>	Lipoprotéines de haute densité ( <i>High density lipoprotein</i> )
<b>HMG Co-A :</b>	Hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme-A
<b>ICAM-1 :</b>	Molécule d'adhésion intercellulaire-1 ( <i>Intracellular adhesion molecule-1</i> )
<b>IDF :</b>	Fédération internationale du diabète ( <i>International Diabetes Federation</i> )
<b>IDL :</b>	Lipoprotéine de densité intermédiaire ( <i>Intermediate Density Lipoprotein</i> )
<b>IL-1<math>\beta</math> :</b>	Interleukine-1 $\beta$
<b>LCAT :</b>	Lécithine : cholestérol acyltransférase
<b>LDL :</b>	Lipoprotéines de faible densité ( <i>Low density lipoprotein</i> )
<b>LPL :</b>	Lipoprotéine lipase
<b>MCP-1 :</b>	Protéine chimio-attractrice des monocytes -1 ( <i>monocyte chemo-attractant protein 1</i> )
<b>M-CSF :</b>	Facteur de stimulation des colonies de macrophages ( <i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i> )
<b>MCV :</b>	Maladies cardiovasculaires
<b>MDA :</b>	Malondialdéhyde
<b>MEC :</b>	Matrice extracellulaire
<b>MMP-9 :</b>	Métallo-protéinase matricielle-9 ( <i>Matrix metalloproteinase-9</i> )
<b>MPLC :</b>	Chromatographie liquide moyenne pression ( <i>Medium pressure liquid chromatography</i> )
<b>NAD<sup>+</sup> :</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide oxydée
<b>NADP<sup>+</sup> :</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>PARP-1 :</b>	Poly (ADP-ribose) polymérase 1
<b>PC :</b>	Poids corporel
<b>PDGF :</b>	Facteur de croissance plaquette-dérivé ( <i>Platelet derived growth factor</i> )
<b>PL :</b>	Phospholipides
<b>PON1 :</b>	Paraoxonase 1
<b>RMN :</b>	Résonance magnétique nucléaire

<b>SAB :</b>	Sérum albumine bovine
<b>SOD :</b>	Superoxyde dismutase
<b>STZ :</b>	Streptozotocine
<b>TBA :</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TBARS :</b>	Substances réactives à l'acide thiobarbiturique
<b>TCA:</b>	Acide trichloroacétique
<b>TG :</b>	Triglycérides
<b>TGF-<math>\beta</math> :</b>	Facteur de croissance transformant $\beta$ ( <i>Transforming Growth Factor <math>\beta</math></i> )
<b>TNF-<math>\alpha</math> :</b>	Facteur de nécrose tumorale- $\alpha$
<b>VCAM-1 :</b>	Molécules d'adhésion des cellules vasculaires ( <i>Vascular cell adhesion molecule-1</i> )
<b>Vitamine :</b>	Vit.
<b>VLC :</b>	Chromatographie liquide sous vide ( <i>Vacuum Liquid Chromatography</i> )
<b>VLDL :</b>	Lipoprotéines de très faible densité ( <i>Very low density lipoprotein</i> )
<b><math>\omega</math>3 :</b>	Oméga 3
<b><math>\omega</math>6 :</b>	Oméga 6

## Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> Voie de biosynthèse du cholestérol .....	5
<b>Figure 2.</b> Vue d'ensemble du métabolisme du cholestérol .....	6
<b>Figure 3.</b> Métabolisme de l'hème par l'hème oxydase .....	11
<b>Figure 4.</b> Evènements successifs lors de l'athérosclérose .....	19
<b>Figure 5.</b> Effet de la streptozotocine sur les cellules $\beta$ des îlots de Langerhans insulino-sécrétrices .....	32
<b>Figure 6.</b> Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de <i>Po</i> .....	33
<b>Figure 7.</b> Plaque CCM de l'extrait brut de <i>Portulaca oleracea</i> ( <i>Po</i> ).....	47
<b>Figure 8.</b> Plaque CCM illustrant les différentes fractions purifiées de <i>Po</i> .....	48
<b>Figure 9.</b> Plaques CCM des fractions <i>Po</i> <sub>1</sub> , <i>Po</i> <sub>2</sub> et <i>Po</i> <sub>3</sub> .....	49
<b>Figure 10.</b> Plaques CCM des fractions <i>Po</i> <sub>4</sub> et <i>Po</i> <sub>5</sub> .....	50
<b>Figure 11.</b> Plaques CCM des fractions <i>Po</i> <sub>6</sub> et <i>Po</i> <sub>7</sub> .....	50
<b>Figure 12.</b> Activité antioxydante de <i>Portulaca oleracea</i> , comparée au trolox .....	51
<b>Figure 13.</b> Evolution du poids corporel et nourriture ingérée .....	52
<b>Figure 14.</b> Evolution de la glycémie .....	55
<b>Figure 15.</b> Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma .....	56
<b>Figure 16.</b> Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL .....	59
<b>Figure 17.</b> Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL- HDL <sub>1</sub> .....	60
<b>Figure 18.</b> Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL <sub>2</sub> .....	61
<b>Figure 19.</b> Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL <sub>3</sub> .....	62
<b>Figure 20.</b> Concentrations en TBARS des érythrocytes, du plasma et des lipoprotéines .....	64
<b>Figure 21.</b> Concentrations en TBARS tissulaires .....	65
<b>Figure 22.</b> Concentrations tissulaires et érythrocytaires en glutathion réduit .....	66
<b>Figure 23.</b> Activité de la superoxyde dismutase .....	67
<b>Figure 24.</b> Activité de la catalase .....	68
<b>Figure 25.</b> Activité de la glutathion peroxydase .....	69
<b>Figure 26.</b> Activité de la glutathion réductase.....	70
<b>Figure 27.</b> Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires .....	71
<b>Figure 28.</b> Concentrations plasmatiques en TNF- $\alpha$ et en IL-6 .....	72

## Liste des Tableaux

<b>Tableau I.</b> Classification de <i>Portulaca oleracea</i> .....	26
<b>Tableau II.</b> Valeur nutritionnelle de <i>Po</i> pour 100 g .....	27
<b>Tableau III.</b> Composition des régimes (g.kg <sup>-1</sup> régime) .....	36
<b>Tableau IV.</b> Lipides et cholestérol ingérés et excrétés et digestibilité des lipides .....	53
<b>Tableau V.</b> Valeurs absolues et relatives du poids des organes .....	54
<b>Tableau VI.</b> Insulinémie et hémoglobine glyquée .....	55
<b>Tableau VII.</b> Concentrations plasmatiques et urinaires en urée et en créatinine .....	55
<b>Tableau VIII.</b> Concentrations plasmatiques en apo A-I et apo B100 .....	57
<b>Tableau IX.</b> Indices d'athérogénicité .....	57
<b>Tableau X.</b> Teneurs plasmatiques en cholestérol total et sa répartition au niveau des lipoprotéines (mmol.L <sup>1</sup> ) .....	58
<b>Tableau XI.</b> Teneurs plasmatiques en triglycérides et leur répartition au niveau des lipoprotéines (mmol.L <sup>-1</sup> ) .....	59
<b>Tableau XII.</b> Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase et teneurs en apo A-I, CL-HDL <sub>3</sub> , PL-HDL <sub>3</sub> et EC-HDL <sub>2</sub> .....	63
<b>Tableau XIII.</b> Concentrations de certains marqueurs du stress oxydant .....	63
<b>Annexes</b>	
<b>Tableau XIV.</b> Evolution du poids corporel et de la nourriture ingérée	
<b>Tableau XV.</b> Evolution de la glycémie (mmol.L <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XVI.</b> Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma	
<b>Tableau XVII.</b> Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL	
<b>Tableau XVIII.</b> Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL <sub>1</sub>	
<b>Tableau XIX.</b> Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL <sub>2</sub>	
<b>Tableau XX.</b> Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL <sub>3</sub>	
<b>Tableau XXI.</b> Concentrations en TBARS des érythrocytes, du plasma, des VLDL, LDL-HDL <sub>1</sub> , des HDL <sub>2</sub> et des HDL <sub>3</sub> (nmole.L <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXII.</b> Concentrations en TBARS tissulaires (mmole.g <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXIII.</b> Concentrations tissulaires et érythrocytaires en glutathion réduit (nmole.g <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXIV.</b> Activité de la superoxyde dismutase (nmole.g <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXV.</b> Activité de la catalase (µmole.min <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXVI.</b> Activité de la glutathion peroxydase (nmole.min <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXVII.</b> Activité de la glutathion réductase (nmole.min <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> )	
<b>Tableau XXVIII.</b> Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires	

# **INTRODUCTION**

L'hypercholestérolémie, facteur du risque athérogène, est directement lié à l'augmentation des taux plasmatiques des lipoprotéines de faible densité (LDL) (**Gao *et al.*, 2014**) et inversement lié à la diminution de ceux des lipoprotéines de haute densité (HDL) (**Hafiane & Genest, 2013 ; Annema & Tietge, 2012**).

Il est vrai que de nombreuses études ont rapporté qu'un régime hypercholestérolémiant provoquerait, chez le rat, des altérations métaboliques, un déficit de défenses anti-oxydantes (**Vázquez-Castilla *et al.*, 2013**) et une réponse inflammatoire (**El-Tantawy, 2015**), pouvant induire des maladies cardiovasculaires (MCV) (**Shehata & Yousef, 2010**). Aussi, des études cliniques ont rapporté une relation entre l'hypercholestérolémie, le dysfonctionnement des cellules endothéliales, l'élévation du stress oxydant, la création de conditions pro-inflammatoires et le développement du risque coronaire (**Stapleton *et al.*, 2010**).

L'action du cholestérol alimentaire sur le taux de cholestérol sérique et surtout de son influence sur l'incidence des MCV reste controversée (**Berger *et al.*, 2015 ; Hansel & Giral, 2015**).

En effet, des études cliniques ont révélé que des apports importants en cholestérol alimentaire provoquent, chez certains individus, une élévation du taux sérique de cholestérol des LDL (C-LDL) et du C-HDL, sans pour autant augmenter le rapport C-LDL/C-HDL, marqueur clé des MCV (**Kapourchali *et al.*, 2016 ; Imes & Austin., 2012**).

Le diabète, maladie liée à une défaillance des mécanismes biologiques de régulation de la glycémie, menant à une hyperglycémie (**Menon *et al.*, 2015**), est un facteur de risque majeur d'athérosclérose, caractérisée par la formation de plaques d'athérome, constituant des sites inflammatoires dans la paroi artérielle, avec une accumulation de lipides et d'éléments fibreux (**Legein *et al.*, 2013**).

Le profil lipidique, au cours du diabète, est altéré, caractérisé par des concentrations élevées en triglycérides (TG), en cholestérol total (CT), en C-LDL et réduites en C-HDL (**Maahs *et al.*, 2011**). Ces anomalies du métabolisme des lipides sont aggravées, lors d'une surconsommation de cholestérol (**Shin *et al.*, 2013**).

En présence de ces deux facteurs de risque cardiovasculaire, à savoir l'hypercholestérolémie et le diabète, l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu, en faveur des pro-oxydants, entraînant ainsi, une surproduction en espèces réactives à l'oxygène (ERO) (**Tangvarasittichai, 2015 ; Small *et al.*, 2012**). En effet, le stress oxydatif est

responsable de l'apparition et du développement des troubles cardiovasculaires, chez les diabétiques (**Petersen et al., 2017 ; Kebièche et al., 2011**).

Les MCV engendrent, à elles seules, plus de 17,9 millions de décès à travers le monde, représentant plus de 44% de tous les décès imputables aux maladies non transmissibles, dont 85% surviennent dans les pays en voie de développement, dans lesquels une nette progression est notée, en raison des changements du mode de vie et de l'insuffisance de mesures préventives (**GBD 2015 Risk Factors Collaborators, 2016 ; Perk et al., 2012**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), cette morbidité ainsi que la prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire sont en augmentation depuis 2010 et tendent à s'accroître aux horizons de 2030 (**OMS, 2016**).

En Algérie, les MCV se situent, en première ligne, du profil de morbidité, elles rendent compte de 36% de la mortalité totale. La population algérienne est exposée à un nombre de facteurs de risque cardiovasculaire, dont l'hypertension artérielle, avec une prévalence moyenne de 22% dans la population totale, l'obésité qui est présente chez 27% de la population et le diabète (11%) (**OMS, 2018**).

Afin de prévenir et de traiter certaines pathologies, comme l'hypercholestérolémie et le diabète, l'Homme a, depuis longtemps, eu recours aux plantes médicinales (**Menon et al., 2015 ; Ntchapda et al., 2015**).

Des études expérimentales récentes ont mis en évidence l'effet bénéfique de certaines plantes dans la prévention des MCV, pour leurs activités hypoglycémiantes (**Lalromawii et al., 2014 ; Shafi & Tabassum, 2013**), hypolipémiantes (**Zidan et al., 2014 ; Pragda et al., 2012**), antioxydante (**Agyare et al., 2015 ; Liu et al., 2015 ; Nguinambaye et al., 2015**) et anti-inflammatoire (**Talukdar & Hossain 2014 ; Adholavi et al., 2012**). Certaines plantes médicinales peuvent cumuler plusieurs de ces propriétés bienfaites (**Guenzet et al., 2014 ; Sharma et al., 2009**).

Le pourpier *Portulaca oleracea* (*Po*), dont le nom vernaculaire arabe est "Rigla", est une plante succulente, riche en antioxydants (vitamines C, E, bêta carotène et glutathion), peut être consommée crue en salade, cuite comme un légume (**Abdelwehab et al., 2014 ; Uddin et al., 2014**), ou en sauce accompagnant le couscous, dans certaines régions d'Algérie.

En plus de ces utilisations culinaires, *Po* est largement utilisée en médecine traditionnelle (**Patel, 2015**). Plusieurs travaux expérimentaux, lui attribuent diverses propriétés : hypoglycémiantes (**Park & Han, 2018 ; Lee et al., 2012**), hypolipémiantes (**Guenzet et al.,**

2014 ; Zidane *et al.*, 2014), antioxydante (Samarghandian *et al.*, 2017 ; Uddin *et al.*, 2014) et anti-inflammatoire (Shen *et al.*, 2013 ; Lee *et al.*, 2012).

Cependant, les données recueillies dans la littérature ne présentent pas de travaux expérimentaux, sur les effets bénéfiques de *Po*, chez le rat, associant deux facteurs de risque cardiovasculaire : l'hypercholestérolémie, engendrée suite à un régime enrichi en cholestérol, et le diabète provoqué par injection de streptozotocine (STZ).

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail, dont l'objectif est l'étude des effets d'un extrait aqueux de *Portulaca oleracea* sur les perturbations lipidiques, la glycémie, le statut redox et inflammatoire, chez le rat Wistar rendu hypercholestérolémique et diabétique.

Avant la présentation des différents résultats expérimentaux obtenus, une étude bibliographique exhaustive est présentée, traitant du métabolisme du cholestérol, du stress oxydant, du diabète, du processus inflammatoire et de leur lien avec l'athérosclérose. Par ailleurs, différentes études sont rapportées sur l'évaluation du potentiel hypocholestérolémiant, hypoglycémiant, antioxydant et anti-inflammatoire de certaines plantes médicinales, avec une exploration approfondie pour *Portulaca oleracea*, matériel végétal choisi lors de cette étude.

Par la suite, une présentation du matériel et des méthodes, incluant les différentes étapes du protocole expérimental, tels que la préparation de l'extrait aqueux de *Po* et son analyse phytochimique, le traitement avec l'extrait aqueux de *Po* du rat Wistar, rendu hypercholestérolémique et diabétique, le prélèvement du sang et des organes ainsi que l'évaluation des différents paramètres lipidiques, glucidiques, antioxydants et anti-inflammatoires.

Les résultats obtenus, présentés sous forme de tableaux et de graphiques, sont comparés et discutés par rapport aux données de la littérature.

Enfin, une conclusion et des perspectives, se rapportant à l'étude comparative, clôturent cette présente étude.

# **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Cholestérol, lipoprotéines et athérogenèse

Le métabolisme altéré des lipides, en particulier, celui du cholestérol est un élément clé du développement des MCV (**Kontou et al., 2018**).

### I.1. Métabolisme du cholestérol

#### I.1.1. Importance biologique du cholestérol

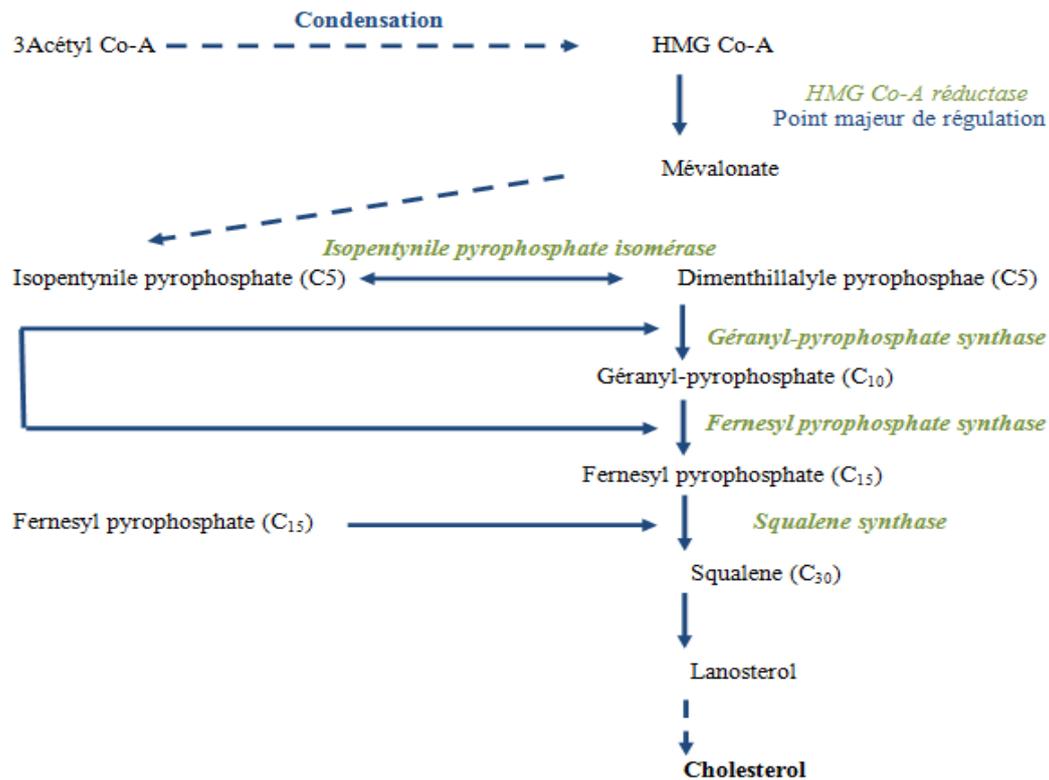
Outre son rôle de structure de la membrane cellulaire, le cholestérol est le précurseur de la vitamine D, des hormones stéroïdiennes surrénaliennes et gonadiques, il participe aussi à la production de la bile (**Zhang et al., 2014**).

Le cholestérol a une double origine: endogène et exogène (alimentaire). Sa biosynthèse a lieu dans plusieurs organes, principalement le foie, l'intestin et les glandes corticosurrénales ; représentant 80% des apports journaliers. Les 20% restants, provenant de l'alimentation, ne sont pas indispensables, d'autant plus que les capacités de synthèse augmentent, si nécessaire (**Hansel & Giral, 2015 ; Rai et al., 2013**).

Le cholestérol circulant se trouve, sous forme estérifiée (85-90%) ou libre (10-15%) (**Iqbal & Hussain, 2009**). Son élimination se fait essentiellement au niveau hépatique, sous forme d'acides biliaires. Le foie excrète le cholestérol et les acides biliaires dans la bile qui est déversée dans la lumière intestinale, au moment de la prise alimentaire. La fraction, non réabsorbée des acides biliaires et du cholestérol, est éliminée dans les fèces (**Fisher et al., 2012**).

#### I.1.2. Biosynthèse du cholestérol

Entièrement cytoplasmique, la biosynthèse du cholestérol se fait par la conversion de l'acétyl Co-A, provenant des mitochondries, au stade initial, trois unités d'acétyl-CoA se condensent pour former un hydroxyméthylglutaryl-CoA intermédiaire (HMG-CoA), qui est réduit par la HMG-CoA réductase pour former du mévalonate. Ce dernier est, par la suite, converti par une série de réactions, en unités isoprènes activées (isopentényle pyrophosphate et diméthylallyle pyrophosphate). La polymérisation des molécules isoprènes aboutit au squalène. Enfin, le squalène cyclisé forme le lanostérol, le premier stérol de la voie de biosynthèse du cholestérol. La voie post-lanostérol implique une série de réactions conduisant, finalement, à la formation du cholestérol (**Gyamfi et al., 2019 ; Thomas et al., 2012**) (**Fig. 1**).



**Fig. 1. Voie de biosynthèse du cholestérol**  
(Gyamfi *et al.*, 2019)

### 1.1.3. Régulation du cholestérol

Étant donné leur hydrophobicité, le cholestérol et les esters de cholestérol nécessitent d'être véhiculés par des complexes protéiques, solubles dans le plasma : les lipoprotéines. Selon leur densité et leur taille, les lipoprotéines, responsables du transport du cholestérol, sont de quatre types : les chylomicrons (CM) qui se chargent de la distribution des triglycérides (TG) d'origine alimentaire à partir de l'intestin, les lipoprotéines de très faible densité (VLDL), les LDL et les HDL (Rai *et al.*, 2013 ; Von Eckardstein *et al.*, 2001).

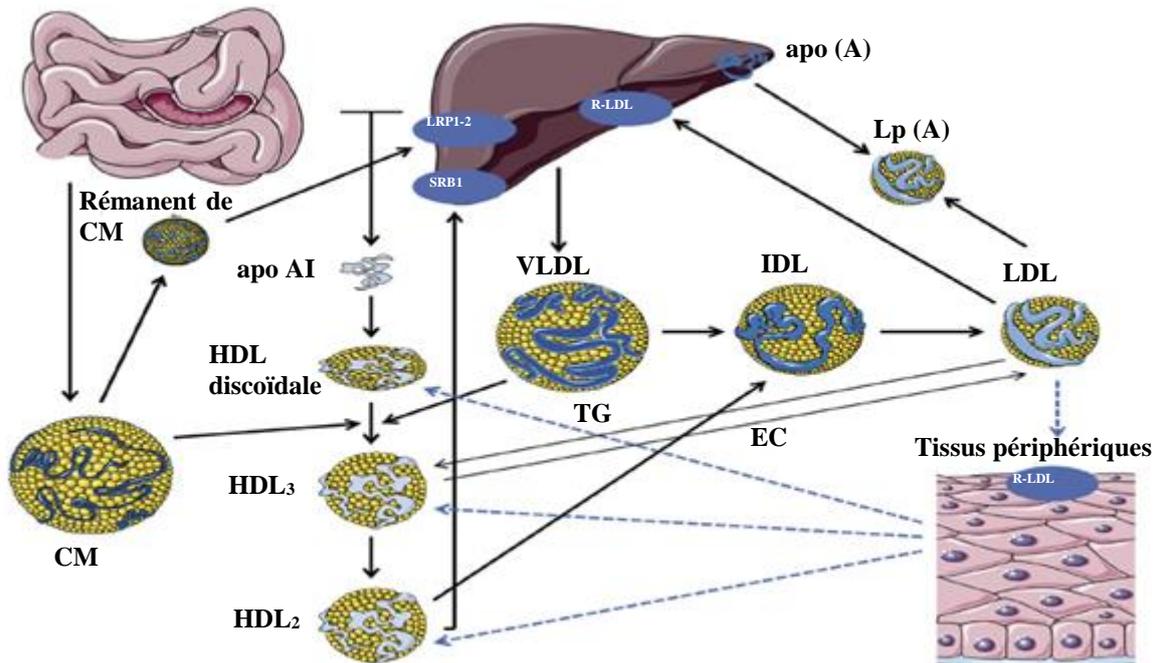
Le cholestérol, absorbé au niveau de l'intestin, provient des substances ingérées mais aussi des sécrétions biliaires (cycle entérohépatique). Une petite partie du cholestérol absorbé ressort de l'entérocyte, soit au pôle apical, soit au pôle basolatéral, associé aux phospholipides (PL) et à l'apolipoprotéine A-I (apo A-I) des HDL. La majeure partie du cholestérol absorbé est, en fait, ré-estérifiée par l'acyl-coenzyme A: cholestérol acyltransférase (ACAT), puis assemblée à l'apo B48 avec des PL et des TG, au sein des CM. Ces derniers sont sécrétés au pôle basolatéral entérocytaire et passent dans la lymphe puis dans le sang (Chen *et al.*, 2011).

Dans la circulation, les CM riches en TG, sont dégradés par la lipoprotéine lipase (LPL), entraînant la libération des acides gras libres (AGL) qui sont captés par les cellules du muscle

squelettique et du tissu adipeux. Ainsi, les CM se vident progressivement de leur contenu énergétique, pour former des résidus ou « *remnants* » de chylomicrons, appauvris en TG mais ayant conservé leur cholestérol. Les *remnants* de CM sont captés par le foie *via* des récepteurs.

Le foie synthétise les VLDL, à partir des TG, du cholestérol et des PL. Les TG des VLDL sont dégradés en AGL dans la circulation, par la LPL. Les VLDL s'appauvrissent progressivement en TG et se transforment en lipoprotéine de densité intermédiaire (IDL).

Les IDL enrichies en cholestérol subissent, également, l'action de la LPL et se transforment en LDL. Les LDL sont, ainsi, enrichies en cholestérol et sont captées par les cellules périphériques, où elles sont dégradées, libérant du cholestérol. Celui-ci sert aux synthèses membranaires et hormonales. Les LDL sont captées pour 75% par le foie, contre 25% par les tissus extra-hépatiques *via* le récepteur-LDL. Cette captation hépatique rend compte du rôle prépondérant du foie sur la concentration plasmatique de cholestérol. Le surplus de cholestérol est pris en charge par les HDL, qui le ramènent au foie pour son élimination dans la bile (Gaudet *et al.*, 2017 ; Li *et al.*, 2017 ; Emmerich & Bruneval, 2000) (Fig. 2).



**Fig. 2. Vue d'ensemble du métabolisme du cholestérol (Badimon & Chiva-Blanch, 2019)**

*apo AI* : Apolipoprotéine AI ; *CM* : Chylomicrons ; *EC* : Esters de cholestérol ; *HDL* : Lipoprotéine de haute densité ; *IDL* : Lipoprotéine de densité intermédiaire ; *LDL* : Lipoprotéine de faible densité ; *VLDL* : Lipoprotéine de très faible densité ; *TG* : Triglycérides ; *R-LDL* : Récepteur LDL ; *LRP1-2* : Protéine associée aux récepteurs des lipoprotéines de basse densité 1-2 ; *SRB1* : Récepteur scavenger de classe B, type 1.

## I.2. Hypercholestérolémie et athérogène

L'hypercholestérolémie est l'un des principaux facteurs du risque athérogène, directement lié au taux plasmatique de C-LDL et inversement corrélé au taux de C-HDL (**Hao & Friedman, 2014 ; Montonen *et al.*, 2013**).

L'athérosclérose est caractérisée par la formation de plaques d'athérome, constituant des sites inflammatoires dans la paroi artérielle, avec accumulation de lipides et d'éléments fibreux (**Hao & Friedman, 2014**). Les LDL font partie des lipoprotéines athérogènes, dont les taux sont étroitement associés au risque cardiovasculaire et à une athérosclérose précoce. Ces particules contiennent toutes de l'apo B100, en tant qu'apolipoprotéine majeure et du cholestérol, en proportion différente (**Orekhov *et al.*, 2014**). Suite à leur pénétration et leur rétention dans les parois artérielles, ces lipoprotéines athérogènes s'accumulent dans l'espace sous-endothélial, subissent une oxydation, puis s'infiltrent dans les macrophages circulants dans l'intima qui deviennent spumeux. La strie lipidique est liée à une accumulation de cellules spumeuses (**Gui *et al.*, 2012**).

Si l'hypercholestérolémie est un facteur de risque avéré des MCV, le rôle du cholestérol alimentaire, dans la survenue de ces maladies, reste à discuter (**Hansel & Giral, 2015**).

Les résultats de l'étude épidémiologique de Framingham incriminent l'excès de cholestérol alimentaire dans les MCV, attribuant un rôle délétère aux LDL (**Tibblin *et al.*, 1975**) et un aspect protecteur aux HDL (**Gordon *et al.*, 1977**).

Aussi, une étude réalisée chez le lapin a montré qu'un régime supplémenté en cholestérol se traduit par le développement de plaques d'athérome (**Anitshkow & Chalataw, 1983**).

De même, des études cliniques ont mis en évidence la relation entre l'hypercholestérolémie, le dysfonctionnement des cellules endothéliales, l'élévation du stress oxydant, la création de conditions pro-inflammatoires et le développement du risque coronaire (**Stapleton *et al.*, 2010**).

Plus récemment, l'incrimination du cholestérol alimentaire dans la survenue des MCV n'est plus considérée comme systématique, du fait que, de nombreuses études d'intervention, chez l'homme, ayant examiné l'effet du cholestérol sur les lipides plasmatiques, ont abouti à des résultats contradictoires. Cette controverse peut être due à la confusion existante entre l'apport en cholestérol alimentaire et celui en graisses saturées (**Hansel & Giral, 2015**).

Afin d'éviter tout amalgame, il semble préférable d'utiliser l'œuf, considéré comme un bon indicateur du cholestérol ingéré. Toutefois, l'association entre la consommation d'œuf, source alimentaire riche en cholestérol et le risque cardiovasculaire n'a jamais été souligné (**Berger**

*et al.*, 2015). Cela serait expliqué par la mauvaise absorption du cholestérol présent dans l'œuf (Kim & Campbell, 2018), soutenant ainsi l'hypothèse d'une relation non linéaire entre le cholestérol alimentaire et celui en circulation (Aljohi *et al.*, 2019).

Il est vrai qu'au travers de la méta-analyse de Rong *et al.*, (2013), regroupant 260 000 individus, suivis pendant une période de 8 à 22 ans et consommant, régulièrement, un œuf par jour, aucun impact évident de la consommation de ce dernier sur l'apparition des MCV n'a été enregistré, excepté dans le sous groupe des sujets diabétiques.

Cependant, Blesso & Fernandez, (2018), indiquent que l'ingestion d'œuf, dans le contexte de la résistance à l'insuline et/ou diabète, ne devrait pas être préjudiciable. Au contraire, elle semble améliorer le profil lipidique, en particulier les HDL et leurs fonctionnalités.

Ce contexte a fait émerger la notion complexe d'hyper et d'hypo-répondeurs au cholestérol (Berger *et al.*, 2015). Les hyper-répondeurs absorbent efficacement le cholestérol alimentaire, comparés aux hypo-répondeurs (Mcnamara *et al.*, 1987). Cela est bien illustré par l'observation d'un homme de 88 ans qui, malgré une consommation quotidienne de 25 œufs maintenait un taux plasmatique normal de cholestérol (Kern, 1991). Suivant cette hypothèse, seuls 25 à 30% des individus peuvent être classés hyper-répondeurs (Fernandez, 2012). Chez ces derniers, une augmentation des taux de C-LDL et de C-HDL est fréquemment notée, après une consommation de cholestérol alimentaire (Herron *et al.*, 2003), sans changer le rapport C-LDL/C-HDL (Herron *et al.*, 2002).

Néanmoins, l'analyse de la littérature scientifique montre que la réalité de la notion d'hyper et d'hypo-répondeurs au cholestérol est peu quantifiée, même s'il est possible que cette variabilité soit liée, en grande partie, à la mesure et/ou à des fluctuations dues au hasard (Katan *et al.*, 1986).

L'ensemble des données disponibles n'est pas en faveur d'un rôle clé du cholestérol alimentaire dans la survenue des MCV. Elles ne permettent donc pas d'en faire une cible prioritaire du régime à proposer pour prévenir le risque cardiovasculaire (Hansel & Giral, 2015).

Seulement, la compréhension de l'homéostasie du cholestérol semble, pourtant, nécessaire à la prévention et à la recherche thérapeutique dans le champ des MCV. Pour cela, les animaux hypercholestérolémiques sont des modèles utiles lors des recherches en laboratoire, visant à comprendre la relation entre les troubles du métabolisme du cholestérol athérogène, ainsi que les traitements possibles pour la réduction du taux de cholestérol circulant (Pellizon, 2008 ; Jang & Wang, 2009).

En effet, l'hypercholestérolémie d'origine alimentaire est couramment étudiée chez l'animal (Tucker & Soslowsky, 2016). Un grand nombre d'animaux, tels que le pigeon, la poule, la souris, le lapin et le rat ont été utilisés comme modèles biologiques (Moghadasian, 2002 ; Moghadasian *et al.*, 2001).

L'hypercholestérolémie chez le rat peut être provoquée, soit par des rations alimentaires enrichies avec 1% de cholestérol, soit par un régime riche en graisses et en cholestérol, la source de matière grasse variant du saindoux au canola, en passant par l'huile de coco, le soja ou l'huile de palme (Doucet, 1987).

Un tel régime hypercholestérolémique peut induire, chez le rat, des altérations métaboliques, tels qu'un stress oxydant et une réponse inflammatoire, par augmentation de la production des radicaux libres qui favorisent la lipoperoxydation, responsable de la genèse de l'athérosclérose (Shehata & Yousef, 2010).

## **II. Stress oxydant, pathologies cardiovasculaires et défenses antioxydantes**

### **II.1 Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires**

L'homéostasie vasculaire peut être rompue dans de nombreuses circonstances physiopathologiques, à l'origine d'un stress oxydant délétère pour les cellules concernées et leurs fonctions vasculaires. Les causes de ce déséquilibre sont multiples et regroupent, au moins partiellement, les facteurs de risque cardiovasculaire classiques, tels que l'hypercholestérolémie et le diabète (Bhattacharya *et al.*, 2013 ; Das *et al.*, 2012 ; Stapleton *et al.*, 2010).

C'est en particulier ce qui se passe dans le développement de l'athérosclérose, lorsque les LDL oxydées sont captées par les cellules « éboueurs » (*scavenger*), accumulant les lipides dans le sous-endothélium, créant un cœur lipidique dans la plaque athéroscléreuse constituée, montrant, ainsi, le lien très étroit entre le stress oxydatif et l'hypercholestérolémie, dans la pathologie (Baudin, 2006).

### **II.2. Stress oxydant et défenses antioxydantes**

Le stress oxydant est un déséquilibre provoqué, essentiellement, par une production exagérée des ERO et des espèces réactives de l'azote (ERN), à laquelle peut s'associer un déficit des défenses anti-oxydantes (Husain *et al.*, 2015 ; Tangvarasittichai, 2015). Dans les cellules eucaryotes, plus de 90% des ERO sont formées lors de l'oxydation des lipides, par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons, qui a pour but de produire de l'énergie (Sies, 2014 ; Skulachev, 2012).

L'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), et le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ) sont des radicaux libres contenant chacun un électron non apparié ; à l'inverse le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) n'est pas radicalaire et est, chimiquement, plus actif que l'oxygène moléculaire, mais moins actif que  $O_2^{\cdot-}$ , mais tous les trois sont des ERO, dans le sens où elles peuvent interagir avec des molécules biologiques en les oxydant (**Lushchak, 2014**).

Une production excessive des ERO endommage les glucides, les lipides (peroxydation des lipides), les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN), compromettant ainsi les fonctions cellulaires. Une concentration anormalement élevée des ERO contribue aussi au développement de la résistance à l'insuline (**Tangvarasittichai, 2015**).

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. Il existe deux sources d'antioxydants: l'une apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes, riches en vitamine A, C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; et l'autre endogène, se composant d'enzymes, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs, comme les endonucléases. À cela, s'ajoutent quelques oligoéléments, comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (**Carocho & Ferreira, 2013 ; Chavan & Melinkeri, 2013 ; Krzystek-Korpacka et al., 2011**).

## ***II.2.1. Antioxydants enzymatiques***

### ***2.1.1. Superoxydes dismutases (SOD, EC: 1.15.1.1)***

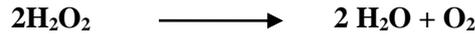
Les SOD sont des métalloprotéines, à action enzymatique qui catalysent la dismutation des ions peroxydes en oxygène moléculaire et en peroxyde d'hydrogène, composés stables moins toxiques:



Elles sont présentes dans la majorité des organismes vivants. Il existe plusieurs superoxydes dismutases qui diffèrent par leur cofacteur (manganèse, cuivre ou zinc), leur structure et leur localisation cellulaire (**Redler & Dokholyan, 2012**).

### ***2.1.2. Catalase (CAT, EC: 1.11.1.6)***

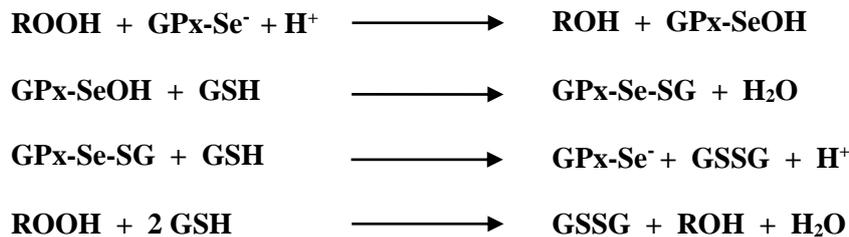
La CAT est une enzyme capable de transformer le  $H_2O_2$  (généralement produit par les SOD) en eau et en oxygène moléculaire:



Elle est majoritairement retrouvée dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Cette enzyme est extrêmement active, une seule molécule est capable de décomposer plusieurs millions de molécules de peroxyde par minute (Migdal & Serres, 2011).

### 2.1.3. Glutathion peroxydase (GPx, EC: 1.11.1.9)

La GPx joue un rôle principal dans la réduction du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou des peroxydes lipidiques formés, suite à l'effet du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés, en les couplant avec l'oxydation du glutathion selon les réactions suivantes:



La GPx catalyse la dismutation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et en oxygène moléculaire. Elle est en compétition avec la CAT, car elles utilisent toutes les deux le même substrat H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la GPx étant active pour de faibles concentrations d'ERO (Migdal & Serres, 2011).

### 2.1.4. Hème oxygénase-1

Il existe trois isoformes d'hème oxygénase : HO-1, HO-2 et HO-3 (Rahman *et al.*, 2013). HO-1 est majoritairement localisée dans les microsomes. C'est une enzyme inductible et ubiquitaire qui dégrade l'hème en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), en monoxyde de carbone (CO) et en biliverdine. Cette dernière est ensuite transformée par la biliverdine réductase en bilirubine qui est un puissant antioxydant (Fig.3).

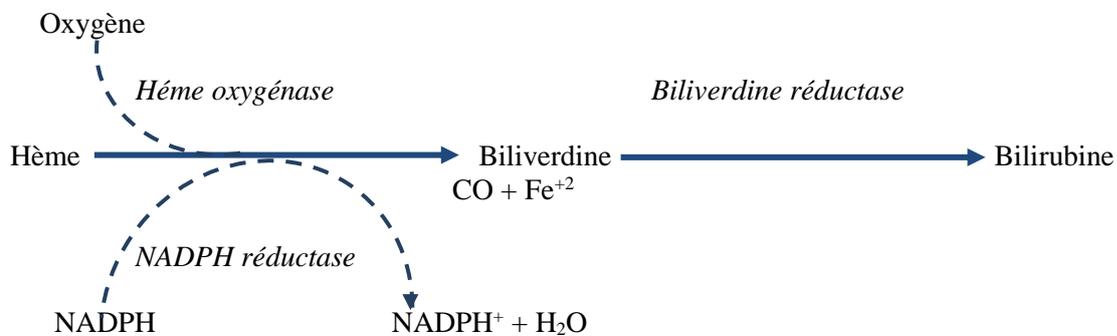


Fig. 3. Métabolisme de l'hème par l'hème oxydase (Rahman *et al.*, 2013)

Le fer ferreux, quand à lui, entraîne la stimulation de la ferritine, protéine de stockage du fer (Grochot-Przeczek *et al.*, 2012). L'HO-1 possède une activité anti-inflammatoire, anti-oxydante et anti-apoptotique. Elle constitue un mécanisme de défense contre les dégâts tissulaires, causés par le stress oxydant (Grochot-Przeczek *et al.*, 2012 ; Wang & Chau, 2010).

## ***II.2.2. Antioxydants non enzymatiques***

### ***2.2.1. Glutathion***

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) ubiquitaire, produit dans différents tissus (Lu, 2013). Il est présent dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau et mitochondrie), essentiellement sous forme réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur du stress oxydant (Ferreira *et al.*, 2013).

### ***2.2.2. Acide urique***

L'acide urique est le produit terminal majeur du métabolisme des purines. La xanthine, résultant de l'oxydation de l'hypoxanthine, par l'action de la xanthine oxydo-réductase, est transformée en acide urique (Shan *et al.*, 2010). Il peut être ionisé sous forme d'urate, un puissant piègeur de radicaux (OH·, ROO·, NOO·...), conduisant à des espèces radicalaires qui seront, à leur tour, réduites (notamment par la vitamine C) (Haleng *et al.*, 2007).

Toutefois, l'action antioxydante de l'acide urique est controversée car son augmentation peut avoir des effets oxydants (Gersch *et al.*, 2009).

### ***2.2.3. Vitamine A***

Ce terme regroupe les rétinoïdes et les provitamines A, aussi appelés caroténoïdes. Ces derniers sont majoritairement connus comme étant des précurseurs de la vitamine A (Vit. A), tel que le  $\beta$ -carotène. Les caroténoïdes sont de puissants agents anti-radicalaires qui neutralisent des espèces, tant électriquement que chimiquement actives. Ils ont également un rôle de protection vis-à-vis des réactions de photosensibilisation.

En fonction de la concentration en caroténoïdes, leurs effets sont différents. À faible concentration, ils ont une action anti-oxydante, alors qu'à forte concentration, ils se comportent comme des agents pro-oxydants (Valko *et al.*, 2006).

#### **2.2.4. Vitamine C**

La Vit. C ou acide ascorbique est hydrosoluble et considérée comme étant l'antioxydant naturel le plus puissant. La plupart des mammifères synthétisent la Vit. C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier en Vit. C *via* une alimentation riche en fruits (**Haleng et al., 2007**). Elle piège les radicaux peroxydes en phase aqueuse avant qu'ils initient la réaction de peroxydation lipidique, protégeant ainsi les membranes et les lipoprotéines (**Gulçin, 2012**).

Aussi, elle contribue au bon fonctionnement du système immunitaire, à la synthèse du collagène et des globules rouges, ainsi que dans les mécanismes métaboliques du fer (**Haleng et al., 2007**).

#### **2.2.5. Vitamine E**

La Vit. E comprend deux classes : les tocophérols et les tocotriénols. Le composé principal est l' $\alpha$ -tocophérol, son isomère le  $\gamma$ -tocophérol semble avoir un plus fort pouvoir antioxydant (**Gulçin, 2012**).

Elle est retrouvée dans les huiles végétales, les noix et les graines. L' $\alpha$ -tocophérol et le  $\gamma$ -tocophérol, à caractère hydrophobe, s'insèrent au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, réagissant avec les groupements peroxydes pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Salinthonne et al., 2013 ; Traber & Atkinson, 2007**).

#### **2.2.6. Bilirubine**

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides, tel que le cerveau. Elle est capable de piéger les ROO $\cdot$  et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras, qui lui sont liés, des attaques radicalaires (**Liao, 2015 ; Haleng et al., 2007**).

#### **2.2.7. Polyphénols**

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. En effet, il a été montré qu'ils inhiberaient ou préviendraient la peroxydation lipidique et, notamment, la formation de LDL oxydées (**Yoshihara et al., 2010 ; Wu et al., 2009**). Les polyphénols

présentent également un effet protecteur vis-à-vis de certaines pathologies cardiovasculaires ou de cancers (**Ding et al., 2013 ; Yoshihara et al., 2010**).

Le stress oxydant joue un rôle clé dans la survenue de complications liées à certaines conditions pathologiques, tel que le diabète. En effet, une production excessive des ERO et une diminution des défenses antioxydantes, au cours du diabète, augmente le risque de morbidité et de mortalité liés aux complications micro et macro-vasculaires (**Kayama et al., 2015**).

### **III. Diabète et complications cardiovasculaires**

#### **III.1. Définition et classification du diabète**

Défini comme étant une affection métabolique, le diabète, est caractérisé par une hyperglycémie chronique (glycémie à jeun supérieure à 7 mmol.L<sup>-1</sup>), résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline et/ou d'une diminution de son action (**Ekoé et al., 2013 ; ADA, 2011**).

Le diabète est mondialement répandue, sa prévalence en 2017 était estimée à 8,4% chez les adultes, âgés de 18 ans et plus (**Cho et al., 2018**). En 2016, il a été estimé que le diabète était la cause directe de 1,6 million de décès. Plus de 80% des décès par diabète se produisent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire (**OMS, 2018**). Le nombre de diabétiques ne cesse de croître et en 2045, ils seront selon la fédération internationale du diabète (IDF) près de 629 millions dans le monde (**IDF, 2017**).

L'Algérie n'échappe pas à l'épidémie du diabète, l'estimation la plus récente indique que la prévalence est de 6,9% pour la tranche d'âge 20-79 ans (**IDF, 2017**). Selon l'OMS (2016), le diabète serait responsable de 7% des décès, engendrés par les maladies non transmissibles. D'ici 2030, le nombre de personnes diabétiques sera de près de 2,4 millions (**IDF, 2012**).

L'hyperglycémie chronique, liée au diabète, est associée à des complications micro-vasculaires, à long terme, assez spécifiques, touchant les yeux, les reins et les nerfs, ainsi qu'à un risque accru de MCV (**Goldenberg & Punthakee, 2013**).

Selon l'association américaine du diabète (**ADA, 2017**), et **Asmat et al., (2016)**, le diabète se manifeste sous deux formes majeures, le diabète de type 1 (DT1) et le diabète de type 2 (DT2).

##### **III.1.1. Diabète de type 1**

Le DT1, appelé également, diabète insulino-dépendant, est caractérisé par une hyperglycémie, due à une hypo-insulinémie, résultant de la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques sécrétrices

d'insuline. Le DT1 est susceptible de provoquer des complications, à moyen et à long terme. Il existe deux types de complications : la micro- et la macro-angiopathies.

Les complications micro-angiopathiques touchent les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires), au niveau des yeux (rétinopathie), des reins (glomérulopathie) et des nerfs (neuropathie). Les complications macro-angiopathiques touchent les coronaires, les gros troncs artériels et les artères périphériques.

### ***III.1.2. Diabète de type 2***

Le DT2 ou diabète non insulino-dépendant est attribuable à une insulino-résistance, accompagnée d'une carence insulinique ou à une anomalie de la sécrétion, accompagnée d'une insulino-résistance.

## **III.2. Diabète et risque cardiovasculaire**

Les personnes souffrant à la fois de DT1 et de DT2 présentent un risque significativement accru de MCV athérosclérotiques, Plusieurs anomalies, tels que les troubles lipidiques, le stress oxydatif et l'inflammation peuvent expliquer le lien physiopathologique, entre le diabète et les complications cardiovasculaires (**Stone et al., 2013**).

### ***III.2.1. Perturbations lipidiques au cours du DT1***

Le DT1 est marqué par des anomalies lipidiques quantitatives et qualitatives, potentiellement athérogènes. Les anomalies lipidiques quantitatives sont liées au déficit en insuline. Une augmentation des lipoprotéines riches en TG (chylomicrons et VLDL), entraîne une hypertriglycéridémie, due principalement à une diminution de l'activité de la LPL (**Vergers, 2013**).

De plus, une augmentation du taux de C-LDL et une diminution de celui du C-HDL sont observées. Les anomalies lipidiques qualitatives, potentiellement délétères, comprennent un rapport cholestérol/TG augmenté, au niveau des VLDL et diminué, au niveau des LDL et des HDL, une glycation des apolipoprotéines, une élévation des LDL oxydées et des LDL petites et denses. Ces anomalies qualitatives des lipoprotéines sont susceptibles d'entraver leur métabolisme et leurs fonctions. Ainsi, les VLDL et les LDL sont plus facilement captées par les macrophages et les HDL présentent une qualité antioxydante diminuée (**Vergers, 2013**).

### ***III.2.2. Perturbations lipidiques au cours du DT2***

En présence de DT2, les anomalies lipidiques sont à la fois quantitatives et qualitatives. Les principales anomalies quantitatives sont l'augmentation des TG plasmatiques et la diminution

du C-HDL. Le taux plasmatique de C-LDL est le plus souvent normal ou légèrement augmenté (**Parhofer, 2011**).

Les anomalies qualitatives sont susceptibles de favoriser la survenue d'accidents cardio-vasculaires, en raison de leur caractère particulièrement athérogène. Parmi ces anomalies, la présence de VLDL de grande taille, enrichies en TG, de LDL petites et denses, enrichies en TG, une augmentation de l'oxydation des LDL, un enrichissement des HDL en TG et une augmentation de la glycation des apolipoprotéines (en particulier, l'apo A-I et l'apo B) sont, principalement, observés (**Parhofer, 2011**). Les particules HDL, de très grande taille, peuvent avoir moins de pouvoir antioxydant ou anti-inflammatoire (**Montonen et al., 2013 ; Hirano et al., 2010**).

### **III.2.3. Stress oxydatif et diabète**

Le diabète se traduit par une hyperglycémie qui va entraîner l'activation de différentes voies, dont la formation de produits de glycation avancés, aboutissant à un stress oxydant, à long terme. En effet, les défenses antioxydantes sont diminuées et les réactions pro-oxydantes augmentées (production des espèces réactives de l'oxygène (ERO), oxydation des lipides...) (**Erejuwa et al., 2010**).

Les ERO, produits en excès, sont peu dégradés, au cours du diabète et participent dans l'instauration et l'aggravation de l'insulino-résistance, par activation des voies de signalisation qui mènent à l'inhibition de la cascade de signalisation de l'insuline (**Barquissau & Morio, 2011 ; Guillausseau et al., 2008**), menant au dysfonctionnement et/ou à la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques, initiés par des réactions auto-immunes et des cytokines inflammatoires (**Tangvarasittichai, 2015**).

## **IV. Inflammation et athérogenèse**

L'inflammation, processus faisant intervenir le système immunitaire, est la réponse initiale de l'organisme à une agression ou à une infection. Si elle est excessive ou prolongée, le tissu atteint perd ses fonctions physiologiques (**Beliard & Lesnik, 2011 ; Hansson & Hermansson, 2011**). L'inflammation apparaît, dans tous les niveaux du développement de l'athérosclérose, avec le stress oxydatif, la prolifération cellulaire, l'évolution et la déstabilisation de la plaque (**Itabe, 2012 ; Olivieri et al., 2012**).

## **IV.1. Processus artérioscléreux**

### ***IV.1.1. Pénétration des LDL dans l'intima artérielle***

Le dysfonctionnement et les altérations structurelles de l'endothélium se produisent lorsque ce dernier est exposé à un flux sanguin perturbé, dû aux facteurs de risque traditionnels des MCV, tels que l'hypercholestérolémie, le diabète et les facteurs hémodynamiques locaux (**Legein *et al.*, 2013 ; Pirault & Lesnik, 2011 ; Libby *et al.*, 2010**).

L'athérosclérose se caractérise par une inflammation chronique de l'intima artérielle, marquée par l'accumulation des LDL circulantes transportant le cholestérol et des cellules apoptotiques. Lorsque le taux de ces dernières augmente et qu'elles ne sont pas efficacement éliminées, elles s'oxydent et les cellules apoptotiques se nécrosent, rendant le milieu fortement inflammatoire et immunogène (**Legein *et al.*, 2013 ; Beliard & Lesnik, 2011 ; Pirault & Lesnik, 2011**).

### ***IV.1.2. Oxydation des LDL et recrutement des leucocytes***

Dans l'intima, les cellules endothéliales interprètent la pénétration des LDL oxydées comme dangereuse, ce qui va induire l'activation de leurs molécules d'adhésion, telles que la molécule d'adhésion intracellulaire-1 (ICAM-1) et la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1). Cette activation initie le recrutement successif de diverses populations de leucocytes (monocytes et lymphocytes) (**Pirault & Lesnik, 2011; Libby *et al.*, 2010**).

Les cytokines pro-inflammatoires, exprimées à l'intérieur de l'athérome, provoquent un stimulus chimiotactique. Les molécules chimiotactiques, comme la protéine-1 chimiotactique des monocytes (MCP-1), produites par les cellules vasculaires et les chémokines, surexprimées dans la plaque, en réponse aux lipoprotéines modifiées, dirigent la migration et la diapédèse des monocytes adhérents. Les monocytes interagissent directement avec les cellules endothéliales, en augmentent la production de la Métallo-Protéinase Matricielle 9 (MMP-9), permettant, ensuite, l'infiltration des leucocytes à travers la couche endothéliale et leur association à la membrane basale (**Packard & Libby, 2008**).

### ***IV.1.3. Formation de cellules spumeuses***

Sous l'influence du facteur stimulant des colonies de macrophage (M-CSF), surexprimé dans les tissus inflammatoires de l'intima, les monocytes deviennent macrophages. Ces derniers voient augmenter l'expression de leurs récepteurs scavenger (capables de transporter certaines formes de LDL modifiées) à leur surface. Les macrophages internalisent les LDL par

endocytose et estérifient le cholestérol pour neutraliser ses effets potentiellement cytotoxiques et pro-apoptotiques. L'accumulation des esters de cholestérol dans le cytoplasme des macrophages les convertit en cellules spumeuses (Legein *et al.*, 2013 ; Pirault & Lesnik, 2011 ; Packard & Libby, 2008 ; Rudijanto, 2007).

Les LDL modifiées favorisent l'inflammation, en stimulant la réplication des macrophages qui prolifèrent et amplifient la réponse inflammatoire, en sécrétant de nombreux facteurs et des cytokines, incluant le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) et l'Interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), ainsi que la protéine chimio-attractrice des monocytes -1 (MCP-1). Les macrophages/cellules spumeuses favorisent, également, l'infiltration des monocytes et des cellules T dans la lésion (Suzuki *et al.*, 2014 ; Legein *et al.*, 2013 ; Packard & Libby, 2008).

#### ***IV.1.4. Formation de la strie lipidique et de la chape fibreuse***

L'accumulation continue des acides gras et des cellules immunitaires, dans le mur vasculaire, conduit à la formation de la première plaque d'athérome, appelée strie lipidique. La progression de la plaque athéromateuse vers une lésion complexe se caractérise par la formation d'une chape fibreuse, composée de cellules musculaires lisses (CML) et de protéines, tels que le collagène, l'élastine et les protéoglycanes, dites matrice extracellulaire (MEC) (Williams *et al.*, 2014 ; Krychtiuk *et al.*, 2013 ; Rudijanto, 2007).

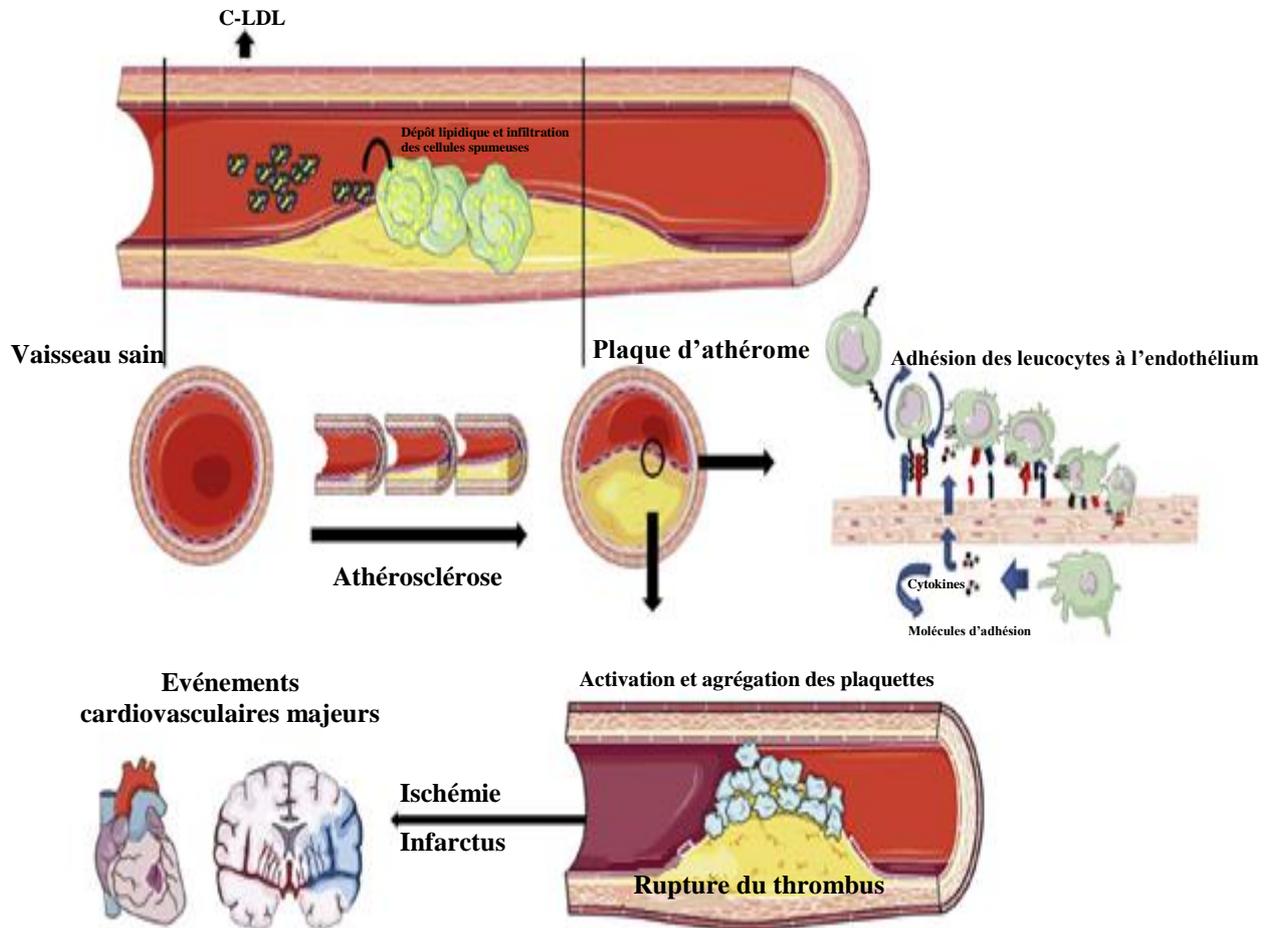
En réponse aux facteurs de croissance, comme le facteur de croissance transformant  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), ou le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), libérés par les macrophages activés et les cellules endothéliales, ainsi que la fissuration de la plaque, les CML migrent depuis la média dans l'intima, par dégradation de la MEC par des protéinases. Une fois dans l'intima, les CML s'installent entre la plaque et l'endothélium où elles prolifèrent et forment la chape fibreuse qui va isoler le cœur lipidique de la lumière artérielle (Williams *et al.*, 2014 ; Krychtiuk *et al.*, 2013 ; Rudijanto, 2007).

La plaque va grossir progressivement. Ce processus va être compensé par un élargissement artériel, jusqu'à ce que la plaque occupe 40% de la paroi artérielle, seuil à partir duquel l'élargissement ne suffit plus à compenser, et/ou la lumière artérielle rétrécit progressivement (Paul & Baudin, 2009).

#### ***IV.1.5. Rupture de la plaque***

Les plaques qui provoquent les thromboses fatales des artères coronaires sont celles qui ont une chape fibreuse fine, un pool lipidique élevé, des cellules inflammatoires abondantes et peu de cellules musculaires lisses. L'érosion et la rupture des plaques interviennent le plus

souvent au niveau des zones d'accumulation des macrophages, où ils sont activés et, où l'apoptose des CML intervient (Riccioni & Sblendorio, 2012 ; Packard & Libby, 2008 ; Rudijanto, 2007) (Fig.4).



**Fig. 4. Evènements successifs lors de l'athérosclérose (Badimon Chiva-Blanch, 2019)**

Le déchirement de la plaque fibreuse aboutit au déclenchement de la cascade de la coagulation. Le thrombus formé peut, soit se détacher de l'endothélium et provoquer une embolie, plus en aval, soit rester et boucher, partiellement ou complètement, la lumière artérielle, aboutissant, dans ce cas, à une ischémie aiguë du territoire d'aval. Une érosion progressive de l'endothélium peut également survenir (dans 20 à 40 % des cas) pour aboutir au dénudement du noyau lipidique. Ce processus semble être accéléré par l'apoptose des cellules endothéliales et la présence des cellules pro-inflammatoires (Paul & Baudin, 2009). La très forte implication de l'inflammation, au cours de l'ensemble du processus

athéroscléreux, conduit à définir l'athérosclérose, comme une maladie inflammatoire chronique (Hyman, 2010).

## V. Plantes médicinales dans le traitement des facteurs de risque cardiovasculaire

L'histoire de la médecine traditionnelle est liée à celle de l'humanité, dans plusieurs cultures de différentes nations. L'utilisation des plantes médicinales, pour le traitement des maladies et le maintien de la santé publique est hautement répandue (Asgary *et al.*, 2014 ; Bahmani *et al.*, 2014).

Selon l'OMS, 80% de la population mondiale ont recours aux plantes médicinales, pour soigner les problèmes de santé primaire (Pragada *et al.*, 2012), faisant de la phytothérapie, l'art de se soigner par les plantes, une branche alternative dans la prévention et le traitement de certaines pathologies (Mateescu *et al.*, 2014).

Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments. Des études récentes ont révélé des résultats prometteurs, quand à leur utilisation, dans la prévention et le traitement des maladies comme l'athérosclérose (Madihi *et al.*, 2013 ; Setorki *et al.*, 2013), le diabète (Nasri *et al.*, 2014; Akbari *et al.*, 2013) et les MCV (Khosravi-Boroujeni *et al.*, 2013 ; Khosravi-Boroujeni *et al.*, 2012).

### V.1. Effet hypocholestérolémiant des plantes médicinales

#### V.1.1 Etudes expérimentales

Des études, réalisées chez le rat rendu hypercholestérolémique, ont mis en évidence le rôle de plusieurs extraits aqueux de plantes, administrés par voie orale, dans la diminution de la cholestérolémie (Azhar *et al.*, 2015 ; Bouderbala *et al.*, 2015 ; Ntchapda *et al.*, 2015 ; Aslam & Najam, 2014 ; Berzou *et al.*, 2014 ; Haque *et al.*, 2014 ; Vázquez-Castilla *et al.*, 2013 ; Udem *et al.*, 2011).

En effet, Azhar *et al.*, (2015), ont rapporté que l'extrait de feuilles de *Juglans regia*, administré au rat, pendant 4 semaines, à la dose 200 mg.kg<sup>-1</sup> de poids corporel (PC), réduisait les taux plasmatiques du CT, du C-LDL et des TG et augmentait significativement celui du C-HDL, diminuant, ainsi, les rapports CT/ C-HDL et LDL/HDL.

Aussi, après le traitement du rat avec l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* à 0,5% pendant 15 jours, Bouderbala *et al.*, (2015), ont constaté une diminution significative des taux sériques des TG, et du cholestérol estérifié (CE), ainsi qu'une réduction quantitative des VLDL, reflétant celle de leurs composants de surface (apolipoprotéines et cholestérol non estérifié) et de leurs composants centraux (TG et cholestérol estérifié), avec une réduction du C-VLDL.

**Ntchapda et al., (2015)**, ont signalé que l'extrait d'écorce de *Zanthoxylum heitzii*, administré à la dose 225, 300 et 375 mg.kg<sup>-1</sup> PC, durant 4 semaines, prévenait, chez le rat, l'augmentation du CT aortique, des TG, des VLDL, des LDL hépatiques et du CT plasmatique.

**Aslam & Najam, (2014)**, ont noté que l'extrait de feuilles de *Lagenaria Siceraria*, administré au rat, pendant 8 semaines, à la dose de 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC, réduisait significativement les teneurs sériques du CT, des TG, du C-LDL, du C-VLDL et augmentait celles du C-HDL.

De même, l'administration de l'extrait aqueux de *Zygophyllum gaetulum* à 1%, pendant 4 semaines, a provoqué chez le rat une diminution significative des taux plasmatiques du CT et du C-LDL, avec une augmentation du C-HDL (**Berzou et al., 2014**).

L'étude, menée par **Haque et al., (2014)**, a permis d'observer, après 6 semaines de traitement par l'extrait des racines de *Raphanus sativus* (300 mg.kg<sup>-1</sup> PC), un effet hypocholestérolémiant, par la réduction du CT, du C-LDL et des TG, ainsi qu'une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol, chez le rat.

De même, **Vázquez-Castilla et al., (2013)**, ont observé, chez le rat, une diminution significative des valeurs plasmatiques des TG, du CT et du C-LDL, après administration orale d'*Asparagus officinalis* à 500 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 5 semaines.

L'extrait des feuilles de *Cleistopholis Patens* (400 et 600 mg.kg<sup>-1</sup> PC), après 2 mois de traitement, chez le rat, a montré une diminution significative des teneurs plasmatiques en CT, en TG, en LDL, avec une augmentation des HDL (**Udem et al., 2011**).

### V.1.2 Etudes cliniques

L'effet hypocholestérolémiant des plantes médicinales, n'a fait l'objet que de peu d'études cliniques (**Cicero et al., 2018 ; Reto et al., 2014**).

L'étude menée par **Cicero et al., (2018)**, a montré que l'administration sous forme de comprimé d'une préparation d'extraits secs de *Cynara scolimus* et *Berberis aristata*, pendant 8 semaines, à des patients présentant une hypercholestérolémie (C-LDL = 130 à 190 mg.dL<sup>-1</sup> et TG < 400 mg.dL<sup>-1</sup>), et suivant des conseils diététiques qualitatifs, induit une diminution des taux plasmatiques en CT, en C-LDL et en TG.

Par ailleurs, la consommation journalière de 1200 mL de thé vert (*Camellia sinensis*), pendant 15 jours, par des personnes hypercholestérolémiques (> 6,163 mmol.L<sup>-1</sup>), soumis à un régime faible en matières grasses, a réduit de manière temporaire les taux de CT et de C-LDL (**Reto et al., 2014**).

## V.2. Effet hypoglycémiant des plantes médicinales

### V.2.1. Etudes expérimentales

Plusieurs études ont rapporté un effet hypoglycémiant, après administration orale d'extraits aqueux de certaines plantes, chez le rat rendu diabétique par injection de STZ (**Guenzet et al., 2018** ; **Agbai et al., 2015** ; **Andrade-Cetto et al., 2015** ; **Kilari et al., 2015** ; **Menon et al., 2015** ; **Guenzet et al., 2014** ; **Nabi et al., 2013**).

En effet, **Guenzet et al., (2018)** ont rapporté une diminution de la glycémie et une augmentation de l'insulinémie, chez le rat après gavage, avec un extrait de *Syzygium aromaticum* (2 g.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 4 semaines.

Aussi, les travaux d'**Agbai et al., (2015)** ont montré que l'extrait de graines d'*Annona muricata*, administré au rat pendant 1 mois, à la dose de 500 et 750 mg.kg<sup>-1</sup> PC, avait un effet hypoglycémiant.

**Andrade-Cetto et al., (2015)**, ont constaté, également un effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanol-eau d'*Hamelia patens* (30 et 300 mg.kg<sup>-1</sup> PC), chez le rat, 120 et 60 minutes après ingestion.

De même, l'extrait du péricarpe de *Litchi chinensis* (100, 200 mg.kg<sup>-1</sup> PC), administré au rat, durant 12 semaines, a atténué considérablement la glycémie (**Kilari et al., 2015**).

L'étude menée par **Menon et al., (2015)**, chez le rat, a mis en évidence, après 1 mois de traitement par l'extrait de feuilles de *Kalanchoe pinnata* (140 mg.kg<sup>-1</sup> PC), une diminution significative du taux de glucose sanguin.

L'effet hypoglycémiant de *Zygodium gaetulim* (1 g.kg<sup>-1</sup> PC) a été rapporté par **Guenzet et al., (2014)**, après administration au rat, pendant 4 semaines.

**Nabi et al., (2013)**, ont noté que l'extrait de racines de *Piper longum* (200 mg.kg<sup>-1</sup> PC), administré chez le rat, pendant 1 mois, réduisait significativement la glycémie.

**Agbai et al., (2015)** ; **Kilari et al., (2015)** ; **Menon et al., (2015)** et **Nabi et al., (2013)** ont mis en évidence une amélioration de certains paramètres lipidiques, associée à un effet hypoglycémiant des différentes plantes étudiées chez le rat.

### V.2.2. Etudes cliniques

Le pouvoir hypoglycémiant de certaines plantes médicinales a été mis en évidence par quelques études menées chez des patients diabétiques (**Li et al., 2015** ; **Hosseini et al., 2014**).

Ainsi, trois groupes de patients diabétiques DT2 (glycémie >125 mg.dL<sup>-1</sup>) âgés de 30 à 60 ans sous traitement hypoglycémiant mais pas sous insulinothérapie, ont ingéré, pendant 30 jours, une capsule contenant 1g de poudre de *Gymnema sylvestre*, *Citrullus colocynthis* et de

*Artemisia absinthium*. Ces plantes ont eu un effet hypoglycémiant, en comparaison à la glycémie à J0 (- 37%, -35% et -32%, respectivement) (Li *et al.*, 2015).

Aussi, l'extrait aqueux de feuilles de *Juglans regia*, à la dose de 400 mg/jour, pendant 60 jours, a induit, chez des patients DT2, sous traitement (metformine et glibenclamide), une réduction significative de la glycémie et de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), associée à une augmentation du taux d'insuline, sans effets secondaire sur la fonction rénale ou hépatique (Hosseini *et al.*, 2014).

### V.3. Effet antioxydant des plantes médicinales

Il a été rapporté que les deux tiers des espèces végétales ont une importance médicinale dans la culture des populations, de par le monde et que toutes auraient un excellent potentiel antioxydant (Krishnaiah *et al.*, 2011).

#### V.3.1. Etudes expérimentales

Chez le rat rendu hypercholestérolémique, plusieurs études ont montré l'effet bénéfique de l'extrait aqueux de certaines plantes, administré par voie orale sur le statut antioxydant (Otunola *et al.*, 2014 ; Vázquez-Castilla *et al.*, 2013 ; Jiangwei *et al.*, 2011).

En effet, l'extrait aqueux de *Sativum Allium*, de *Zingiber officinale* et de *Capsicum fructensces*, ainsi que leur mixture, à la dose de 200 mg.kg<sup>-1</sup> PC, administrés au rat, pendant 4 semaines, a révélé une diminution de la peroxydation lipidique, due à une augmentation significative de l'activité des enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la GPx et la glutathion réductase (GRed) (Otunola *et al.*, 2014).

Vázquez-Castilla *et al.*, (2013) ont noté une amélioration des paramètres antioxydants (augmentation de l'activité de la CAT, de la SOD et de la GPx), chez le rat consommant un régime supplémenté en extrait aqueux d'*Asparagus officinalis* (500 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 5 semaines.

*Astragalus mongholicus* a un effet antioxydant à la dose de 0,4 et 0,8% du régime consommé par le rat, pendant 5 semaines, caractérisé par une augmentation significative de l'activité de la CAT, de la SOD et de la GPx, au niveau sérique et cardiaque (Jiangwei *et al.*, 2011).

*Asparagus officinalis* et *Astragalus mongholicus* possèdent une activité antioxydante, avec une amélioration du profil lipidique par la diminution significative des concentrations de CT, de TG et de LDL-C et une augmentation de celles du HDL-C (Vázquez-Castilla *et al.*, 2013 ; Jiangwei *et al.*, 2011).

D'autres études, portant sur le rat rendu diabétique par la STZ, ont révélé le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux de plusieurs plantes (**Menon et al., 2016 ; Giribabu et al., 2014 ; Saddala et al., 2013 ; Bharvad et al., 2011**).

En effet, l'extrait des feuilles de *Kalanchoe Pinnat*, consommé pendant 30 jours, à raison de 140 mg.kg<sup>-1</sup> PC, augmentait significativement l'activité de la CAT (**Menon et al., 2016**).

**Giribabu et al., (2014)**, ont mis en évidence une augmentation significative de l'activité de la SOD, de la CAT et de la GPx, ainsi qu'un effet préventif sur la peroxydation lipidique, au niveau rénal, suite à l'administration de l'extrait de feuilles de *Phyllanthus niruri*, à la dose de 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 28 jours, chez le rat.

L'étude de **Saddala et al., (2013)**, a révélé, chez le rat, une normalisation du contenu en acide urique, en GSH, en acide ascorbique et de l'activité de la xanthine oxydase, suite à l'administration de l'extrait de racines de *Pimpinella tirupatiensis* (750 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 30 jours.

**Bharvad et al., (2011)**, ont noté que la consommation d'un extrait de feuilles de *Schweinfurthia papilionacea* (150 et 300 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 1 mois, entraînait, chez le rat, une diminution de la peroxydation lipidique, au niveau rénal, ainsi qu'une augmentation significative de l'activité de la CAT et de la SOD. Cet effet antioxydant est accompagné d'une amélioration des paramètres lipidiques, comme la diminution des valeurs du CT, des TG et du C-LDL et une augmentation de celles du C-HDL.

### V.3.2. Etudes cliniques

Des études, menées chez l'homme, ont permis de révéler l'effet antioxydant de certaines plantes médicinales (**Tavakoly et al., 2018 ; Shidfar et al., 2015 ; Moradi et al., 2012**).

En effet, chez 48 patients DT2, consommant 15 g/jour de poudre de graines de *Trigonella foenum-graecum*, pendant 8 semaines, il a été noté une augmentation des valeurs de la SOD ( $P=0,001$ ) et une diminution de la protéine C-réactive (CRP) ( $P=0,012$ ) (**Tavakoly et al., 2018**).

De plus, **Shidfar et al., (2015)**, ont noté, chez des sujets, âgés de 20 à 60 ans, présentant un DT2 et n'ayant pas reçu de traitement à base d'insuline et consommant 3 g de gingembre en poudre, chaque jour pendant 3 mois, une diminution du glucose sanguin ( $P<0.05$ ), de l'HbA1c ( $P=0,0001$ ), de l'insuline ( $P=0,001$ ), de l'insulino-résistance ( $P=0,001$ ), du malondialdéhyde MDA ( $P=0,0001$ ), de la capacité antioxydante totale ( $P=0,0001$ ), de la CRP ( $P=0,0001$ ) et de la paraoxonase sérique (PON1) ( $P=0,0001$ ).

Aussi, une réduction des teneurs en LDL oxydés et une augmentation de l'activité de la PON1 ont été notées, chez 93 patients hypercholestérolémiques (avec un taux de C-LDL supérieur à 3,082 mmol.L<sup>-1</sup>, ne prenant aucun médicament hypolipémiant), après consommation de 50 g/jour de feuilles fraîches de *Po*, pendant 45 jours (Moradi *et al.*, 2012).

#### V.4. Effet anti-inflammatoire des plantes médicinales

##### V.4.1 Etudes expérimentales

Certains extraits aqueux de plantes, administrés par voie orale, peuvent combiner, à la fois, un effet hypoglycémiant, antioxydant et un effet anti-inflammatoire, chez le rat rendu diabétique par la STZ (Khatab *et al.*, 2015 ; Ojha *et al.*, 2014 ; Sharma *et al.*, 2012).

En effet, Khatab *et al.*, (2015), ont noté une diminution significative des teneurs sériques en certains facteurs pro-inflammatoires, tels que le TNF- $\alpha$  et les IL-1 $\beta$ , chez le rat, après administration d'un extrait de fruits de *Grewia asiatica* (100 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 4 semaines.

L'étude menée par Ojha *et al.*, (2015), a révélé que le traitement avec un extrait de fruits de *Withania coagulans*, à la dose de 10 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 3 semaines, diminuait considérablement les teneurs en TNF- $\alpha$ , en IL-1 $\beta$  et en cytokines, au niveau rénal, ce qui atténue la réponse inflammatoire, chez le rat.

Aussi, l'administration au rat d'un extrait de graines de *Syzygium cumini*, à la dose de 100, 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC, durant 21 jours, atténuait significativement les teneurs sériques en TNF- $\alpha$  (Sharma *et al.*, 2012).

##### V.4.2. Etudes cliniques

L'effet anti-inflammatoire des plantes médicinales a été relevé par certaines études menées chez l'homme (Olaniyan *et al.*, 2019 ; Usharani *et al.*, 2008). En effet, Olaniyan *et al.*, (2019) ont constaté, chez des patients hypercholestérolémiques ayant consommé 60 mL d'un extrait liquide brut de jeunes feuilles de cajou, pendant 2 semaines, un effet anti-inflammatoire par la réduction significative des valeurs plasmatiques du TNF- $\alpha$ , de l'IL-6 et de la CRP.

Une étude, menée chez des patients, atteints de DT2, consommant 600 mg/jour de NCB-02 (une préparation standardisé de curcuminoïdes), a montré, après 8 semaines, une diminution significative des marqueurs de l'inflammation, tels que l'IL6 et le TNF- $\alpha$  (Usharani *et al.*, 2008).

## VI. Choix du matériel végétal et du modèle expérimental

### VI.1. *Portulaca oleracea*, plante médicinale

*Portulaca oleracea* (Po), communément appelée Portulaca, appartenant à la famille des Portulacaceae (**Tableau I**), est une plante herbacée, annuelle, retrouvée dans les régions tempérées et tropicales du globe (**Zhou et al., 2015**). Elle mesure 10 à 30 cm de hauteur, ses tiges de couleur verte ou rouge, sont charnues, cylindriques et lisses. Le pourpier possède des feuilles vertes, épaisses, de forme oblongue et opposées.



*Portulaca oleracea* Po

**Tableau I. Classification de *Portulaca oleracea***

Règne	<b>Plantae</b>
Sous-règne	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Portulacaceae
Genre	<i>Portulacae</i> L.
Espèce	<i>Portulacae oleracea</i> L.

(United States Department of Agriculture, 2012)

Ses fleurs jaunes sont petites, sessiles, solitaires ou agglomérées aux entre-nœuds ou à l'extrémité de la tige. La floraison a lieu de mai à septembre. Ses graines sont ovales, très petites et généralement de couleur noire ou marron (**Uddin et al., 2014 ; Chowdhary et al., 2013**). Elle est considérée, par l'OMS, comme l'une des plantes médicinales les plus utilisées, à travers le monde (**El-Newary, 2016**).



### VI.1.1. Profil phytochimique de *Po*

*Po* contient plusieurs composés, parmi les quels les polysaccharides, les acides gras oméga 3 ( $\omega$ 3) et oméga 6 ( $\omega$ 6), les flavonoïdes, la coumarine, les alcaloïdes, les tannins, les vitamines antioxydantes (Vit. A, C, B et caroténoïdes) et les minéraux (magnésium, calcium, potassium et fer) (Melilli *et al.*, 2019 ; Meng *et al.*, 2016 ; Zhao *et al.*, 2015 ; Zhou *et al.*, 2015 ; Zidan *et al.*, 2014 ; Shen *et al.*, 2013 ; Zhao *et al.*, 2013 ; Uddin *et al.*, 2012 ; Chen *et al.*, 2012), ce qui confère, à la plante, une haute valeur nutritionnelle (Tableau II).

**Tableau II. Valeur nutritionnelle de *Po* pour 100 g**

Energie	16 kcal
Hydrates de carbone	3,4 g
Gras	0,1 g
Protéines	1,30 g
Eau	92,86 g
Vitamine A	1320 IU
Vitamine B1	0,047 mg
Vitamine B2	0,112 mg
Vitamine B3	0,48 mg
Vitamine B5	0,036 mg
Vitamine B6	0,073 mg
Vitamine B9	12 $\mu$ g
Vitamine C	21 mg
Calcium	65 mg
Fer	1,99 mg
Magnésium	68 mg
Manganèse	0,303 mg
Phosphore	44 mg
Sodium	45 mg
Potassium	494 mg
Cuivre	0.113 mg
Sélénium	0,9g
Zinc	0,17 mg

(Vijaya Lakshmi *et al.*, 2018)

### **VI.1.2. Toxicité de *Po***

Avant l'utilisation de la plante, à des fins curatives, il est nécessaire de connaître ses paramètres toxicologiques, pour déterminer la dose létale 50 (DL50), dans le but d'éviter des cas d'intoxication.

Plusieurs recherches ont évalué le degré de toxicité de *Po*. **Lalromawii et al., (2014)** ont révélé que l'extrait aqueux de *Portulaca*, à la dose de 3000 mg.kg<sup>-1</sup> PC, ne présentait pas d'effet léthal, chez le rat Wistar. Auparavant, **Kishore et al., (2013)** ont observé que l'extrait éthanolique de *Po*, administré au rat Wistar, à la dose de 2000 mg.kg<sup>-1</sup> PC, ne présentait aucune toxicité.

Aussi, l'extrait éther de pétrole de *Po*, à la dose de 2000 mg.kg<sup>-1</sup> PC, n'était pas toxique, pour le rat Wistar (**Reddy & Somasundaram, 2013 ; Mallikarjuan Rao et al., 2012**).

### **VI.1.3. Bienfaits thérapeutiques de *Po***

#### **1.3.1 Etudes expérimentales**

Des études récentes, chez le rat et la souris, ont rapporté une panoplie de rôles biologiques de *Po*, faisant de cette plante un excellent hypolipémiant (**El-Newary, 2016 ; Zidan et al., 2014 ; Pragda et al., 2012**), antidiabétique (**Lalromawii et al., 2014 ; Shafi & Tabassum, 2013 ; Lee et al., 2012**), antioxydant (**Chen et al., 2012 ; Erkan, 2012 ; Dkhil et al., 2011 ; Xiaojuan et al., 2011**), anti-inflammatoire (**Jagan Rao et al., 2012 ; Lee et al., 2012 ; Huang & Dong, 2011**) et antiathérogène (**Guenzet et al., 2014 ; Pragda et al., 2012 ; Shehata & Soltan, 2012**).

##### **1.3.1.1. Potentiel hypolipémiant**

L'extrait éthanolique de *Po* à 70%, ainsi que sa poudre et l'infusion de ses tiges, administrés à la dose de 1g.kg<sup>-1</sup> PC, améliorent le profil lipidique, après 8 semaines, chez le rat consommant un régime hyperlipidémique (**El-Newary, 2016**).

Aussi, un régime enrichi en extrait aqueux de *Po*, à la dose de 0,5 g.kg<sup>-1</sup> PC, administré au rat hypercholestérolémique, durant 4 semaines, a provoqué une diminution de la triglycéridémie, de la cholestérolémie et a favorisé le transport inverse du cholestérol par la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT) (**Zidan et al., 2014**).

De même, **Pragda et al., (2012)**, ont rapporté, chez le rat rendu hyperlipidémique par la dexaméthasone et traité avec l'extrait éthanolique des feuilles de *Po* (200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 8 jours, une diminution des concentrations sériques en TG et CT.

### 1.3.1.2. Potentiel antidiabétique

**Lalromawii et al., (2014)** ont mis en évidence l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de *Po* (800 g.kg<sup>-1</sup> PC), administré pendant 7 jours au rat Wistar, rendu diabétique par l'alloxane. Cette activité hypoglycémiante a, aussi, été le résultat d'un traitement à base de 50% d'extrait éthanolique de *Po*, administré à la souris, par voie orale, à la dose de 400mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 14 jours (**Shafi & Tabassum, 2013**).

L'étude menée par **Lee et al., (2012)**, a noté, après 10 semaines de traitement avec l'extrait aqueux de *Po*, à la dose de 300 mg.kg<sup>-1</sup> PC, chez la souris mutante db/db, une diminution de la glycémie, associée à un taux élevé d'insuline.

### 1.3.1.3. Potentiel antioxydant

Plusieurs expérimentations ont été menées, dans le but d'explorer le potentiel antioxydant de certains composés bioactifs de *Po*. En effet, la souris, consommant un régime enrichi en lipides et recevant, par gavage, un extrait aqueux de *Po* (100, 200 mg.kg<sup>-1</sup> PC), présentait une peroxydation lipidique réduite et une activité augmentée des enzymes antioxydantes, au niveau sanguin et hépatique (**Chen et al., 2012**).

Aussi, **Erkan, (2012)**, a mis en évidence le fort potentiel inhibiteur d'une fraction de *Po*, obtenue, par séparation en phase inverse de la plante crue, sur la peroxydation lipidique, par le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique TBARS.

Selon l'étude de **Dkhil et al., (2011)**, le jus de *Po*, administré au rat mâle Wistar, pendant 12 jours, avait un effet antioxydant, en diminuant l'activité hépatique de l'alanine aminotransférase (ALT) et de l'aspartate aminotransférase (AST), ainsi que les teneurs en urée, en créatinine et en acide urique. Aussi, l'administration de *Po* augmente les valeurs hépatiques, rénales et testiculaires de la GSH, la CAT et la SOD.

De plus, les travaux de **Xiaojuan et al., (2011)**, ont observé, après 4 semaines, une activité antioxydante des polysaccharides extraits de *Po* (100, 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC), chez le jeune rat mâle, soumis à un exercice physique.

### 1.3.1.4. Potentiel anti-inflammatoire

Un effet anti-inflammatoire a été constaté, après traitement avec l'extrait de feuilles de *Po* (200 mg.kg<sup>-1</sup> PC), administré oralement au rat Wistar, ayant préalablement subi une injection de la carraghénane, au niveau des tissus sub-plantaires (**Jagan Rao et al., 2012**).

**Huang & Dong, (2011)**, ont évalué l'effet protecteur de *Po* (5 et 10 g.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 10 jours), contre la blessure aigüe causée au rat, par administration de l'acide trinitrobenzene-

sulfonique (TNBS), à même le colon. Leurs résultats ont révélé une régression de la réaction inflammatoire, laquelle a été observée, lors de l'étude, précédemment décrite, de **Lee et al., (2012)**.

#### **1.3.1.5. Potentiel antiathérogène**

De nombreux auteurs ont rapporté l'effet antiathérogène de *Po*. En effet, **Guenzet et al., (2014)**, ont rapporté, après l'administration de l'extrait aqueux de *Po* (1g.kg<sup>-1</sup> PC), au rat Wistar rendu diabétique par la STZ, pendant 28 jours, une diminution des indices d'athérogénicité (CT/C-HDL, C-LDL-HDL<sub>1</sub>/C-HDL).

De plus, l'extrait éthanolique de *Po* (200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC), administré au rat rendu hyperlipidémique, par la dexaméthasone, a entraîné une diminution de la triglycéridémie, de la cholestérolémie et des rapports d'athérogénicité (**Pragda et al., 2012**).

De même, **Shehata & Soltan, (2012)**, ayant utilisé la plante fraîche et ses graines à 10 et 20%, chez la souris hypercholestérolémique, durant 6 semaines, ont indiqué une nette amélioration des paramètres lipidiques, des enzymes hépatiques et de l'indice d'athérogénicité (CT - C-HDL/C-HDL).

En plus de son utilisation dans la prévention et/ ou le traitement de certains facteurs de risque cardiovasculaire, *Po* est largement reconnue pour de nombreux autres effets, tels que l'effet anticancérigène (**Zakaria & Hazha, 2013**), hépato-protecteur (**Anusha et al., 2011**), néphro-protecteur (**Karimi et al., 2010**), antimicrobien (**Londonkar & Nayaka, 2012**).

#### **1.3.2. Etudes cliniques**

Certaines études cliniques confirment l'effet hypoglycémiant et hypolipémiant de *Po* (**Bedakhanian et al., 2017 ; Dehghan et al., 2016 ; Wainstein et al., 2016 ; Esmailzadeh et al., 2015 ; Farzanegi, 2014 ; El-Sayed, 2011**).

Le potentiel hypoglycémiant et l'effet hypolipémiant ont été révélés, lors d'une étude, menée chez des femmes présentant un DT2. La consommation d'un régime alimentaire, supplémenté en poudre de feuilles de *Po* (7,5 g/jour), pendant 112 jours, a induit une diminution significative de la glycémie, des valeurs en TG, en CT, en C-LDL et une augmentation du C-HDL (**Dehghan et al., 2016**).

Aussi, l'effet hypolipémiant de *Po* a été rapporté par **Esmailzadeh et al., (2015)**, chez des patients atteints de DT2 (hommes et femmes). Une supplémentation de 10 g/jour, pendant 35 jours, de poudre de *Po*, avec 240 mL de yaourt faible en matières grasses, a provoqué une diminution des taux de TG et de C-LDL, alors que les niveaux de C-HDL ont augmenté. Aucune différence significative n'a été notée pour la glycémie.

De même, l'étude menée par **Farzanegi, (2014)**, a permis de rapporter, après 56 jours de supplémentation avec 7,5 g/jour de poudre de *Po* mélangée à du yaourt écrémé, un effet hypoglycémiant et hypocholestérolémiant, par la réduction du CT et du C-LDL avec une augmentation du C-HDL et une diminution de taux de TG, chez de patientes atteintes de DT2. De plus, un effet hypoglycémiant a été constaté, chez des patients atteints de DT2, consommant 5g de graines de *Po*, 2-fois par jour pendant 8 semaines (**El-Sayed, 2011**).

L'effet de *Po* semble être dose-dépendant.

En effet, **Bedakhanian et al., (2017)**, n'ont noté aucun effet sur les taux de CT, du C-LDL, des TG et de la glycémie, chez des hommes atteints du syndrome métabolique et consommant 0,06 g/jour de poudre de *Po*, pendant 56 jours, alors que les valeurs de C-HDL ont augmenté. De plus, à la dose de 0,18 g/jour pendant 84 jours, *Po* n'a aucun effet bénéfique sur la glycémie, le CT, le C-LDL, le C-HDL ou les TG, chez des patients DT2 (**Wainstein et al., 2016**).

## **VI.2. Modèle expérimental, le rat Wistar**

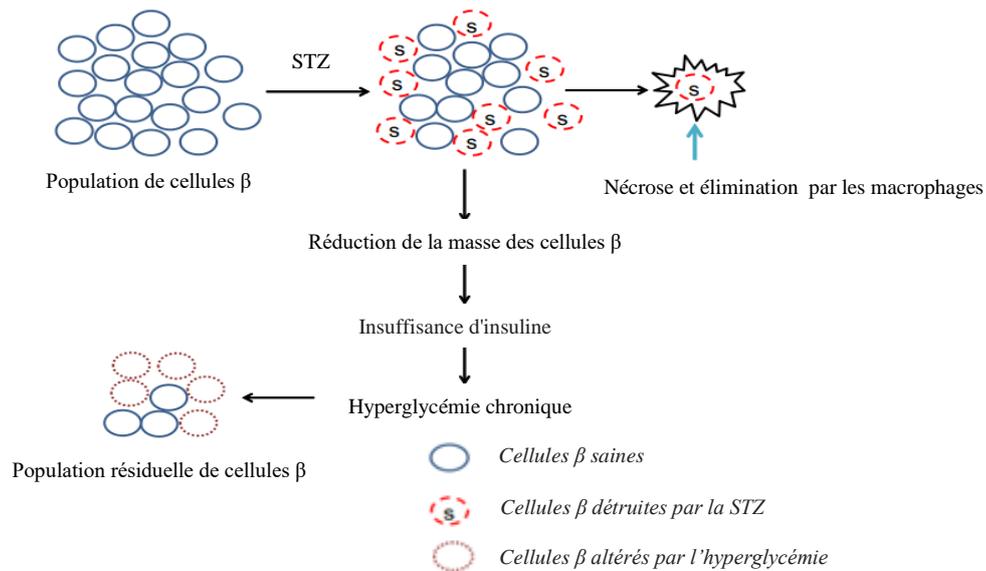
Le rat de laboratoire a été largement pris comme modèle animal dans la recherche expérimentale, offrant la meilleure représentation des caractéristiques fonctionnelles des mammifères (**Sengupta, 2013**). La souche Wistar, développée à l'institut Wistar en 1906, consanguine du rat albinos (*Rattus norvegicus*), est la souche la plus utilisée en laboratoire. Elle est caractérisée par une large tête, de longues oreilles et une queue dont la longueur est moindre que celle du corps tout entier (**Alexandru, 2011**).

Dans la présente étude, le choix du modèle animal s'est porté sur le rat Wistar, rendu hypercholestérolémique et diabétique.

Ainsi, l'hypercholestérolémie peut être induite, chez le rat Wistar, par un régime supplémenté en cholestérol et en acide cholique (**Dhande et al., 2014 ; Csont et al., 2013 ; Al-Rejaie et al., 2012**).

D'autre part, le rat Wistar peut être rendu diabétique, par injection intra-péritonéale de streptozotocine (STZ).

Ce produit, d'origine naturelle, issu des bactéries du sol (*Streptomyces achromogenes*), induit une augmentation significative de la glycémie, en provoquant une destruction partielle des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans insulino-sécrétrices (**Eleazu et al., 2013**) (**Fig. 5**).



**Fig. 5. Effet de la streptozotocine sur les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans insulino-sécrétrices (Wu & Yan, 2015)**

En effet, la STZ est transportée par les GLUT2 vers les cellules  $\beta$  pancréatiques qui subissent un endommagement de leur ADN ; ce qui amène à l'augmentation de l'activité de l'adénosine diphosphate ribose (ADP-ribose) et de la poly (ADP-ribose) polymérase 1 (PARP-1). Toutefois, une activité exagérée de ces enzymes réparatrices d'ADN, conduit à une délétion intracellulaire de nicotinamide adénine dinucléotide oxydé ( $\text{NAD}^+$ ) et de l'adénosine-ribose phosphate (ATP), provoquant, ainsi, une nécrose des cellules sécrétrices d'insuline (Szkudelski, 2012).

## **MATERIEL ET METHODES**

## I. Matériel végétal

### I.1. Préparation de l'extrait de *Portulaca oleracea*

La partie aérienne de la plante *Po* a été récoltée au mois de mai 2012, dans la région de Ouargla (sud-est algérien). Après son identification, au niveau du laboratoire de Biochimie et Physiologie Végétale de l'Université Oran1 (voucher numéro CL1965), les feuilles ont été nettoyées puis séchées, à température ambiante, dans un endroit aéré et à l'ombre, afin de mieux conserver les molécules actives. Le broyat de *Po* (10g) est mélangé à l'eau distillée (100 mL). Le mélange est porté à frémissement (80°C), pendant 60 min puis filtré sur du coton. Cette opération est répétée 3 fois. Par la suite, le filtrat est congelé à -20°C puis lyophilisé (CHRIST, ALPHA 1-2 LD, Germany). Une poudre brunâtre est obtenue, le rendement de l'extraction est de 30% (Fig. 6).

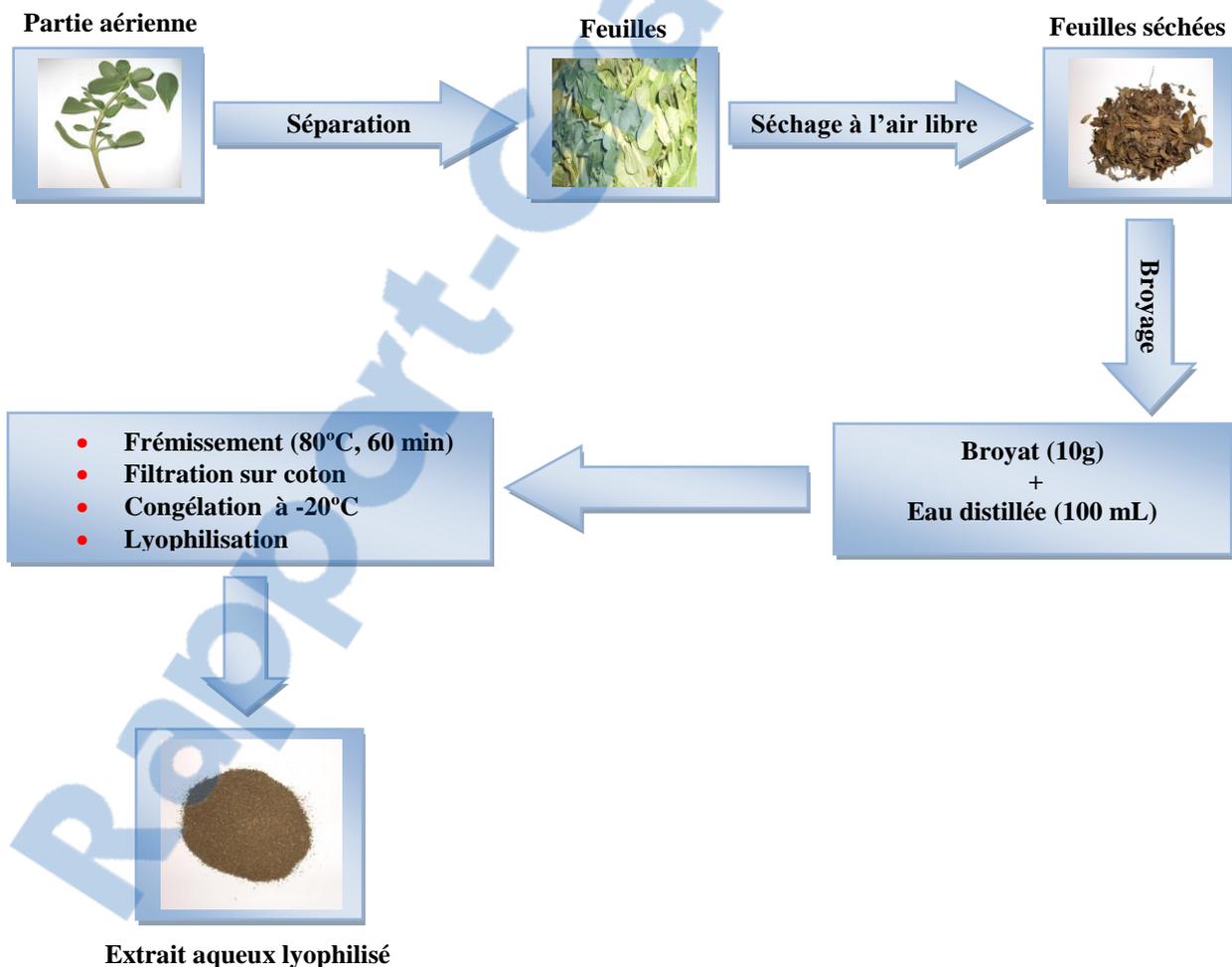


Fig. 6. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de *Po*

## **I.2. Analyse phytochimique préliminaire de *Po***

### ***I.2.1. Méthodes chromatographiques***

#### *I.2.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)*

Utilisée à chaque étape pour le suivi des purifications, la CCM est une méthode analytique permettant de contrôler le profil de fractionnement des différents composants d'un extrait brut. Elle est réalisée en phase normale, sur une plaque de silice (Silicycle Ultra Pure Silicagel, 10-12  $\mu\text{m}$ ), sur support en verre (Silica Plate TLC) CCM (60 $\text{\AA}$ , F254, Silicycle).

Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées, avec un éluant approprié, constitué généralement d'un mélange tertiaire de solvants, selon le type de séparation souhaitée ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 70: 30: 5, 60: 32: 7). En effet, le solvant de migration doit être choisi, en fonction de la polarité des molécules contenues dans l'échantillon. Les plaques sont ensuite observées sous lampe UV à 254 et à 366 nm, afin de distinguer les molécules possédant un chromophore (par exemple les flavonoïdes).

Les molécules, difficilement détectables sous UV, sont révélées par la vanilline sulfurique, une solution composée de 1 g de vanilline, 2 mL d'acide sulfurique et de l'éthanol à 95% q.s.p. 100 mL. Les plaques sont ensuite chauffées à 120°C, pendant quelques minutes. Les fractions semblables sont rassemblées, évaporées et lyophilisées.

#### *I.2.1.1. Chromatographie liquide sous vide (VLC)*

La VLC (Vacuum Liquid Chromatography) est une technique de fractionnement préliminaire de l'extrait brut. Elle peut être considérée comme une chromatographie sur colonne préparative, sous vide, permettant d'accélérer le débit d'élution. En pratique, elle permet l'élimination des sucres, des chlorophylles et des tanins, contenus dans les extraits.

Un verre fritté, de diamètre et de hauteur variables, selon le poids de l'échantillon, est fixé sur une fiole à vide, Un filtre en verre fritté, de porosité fixe, dont la taille est choisie, en fonction de la masse d'extrait à séparer, est utilisé. La phase stationnaire est du  $\text{SiO}_2$  35-70nm éluee par un mélange  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ .

#### *I.2.1.1. Chromatographie d'exclusion Sephadex LH-20*

La chromatographie d'exclusion, ou chromatographie sur gel perméable, est une méthode qui permet la séparation des constituants d'un mélange, par taille moléculaire décroissante, au travers d'un gel poreux.

Les molécules, dont le diamètre est supérieur à celui des pores, sont exclues et sont donc éluées en premier comme les tannins. Les molécules, plus petites ou moyennes, sont les dernières à être éluées car elles pénètrent dans les pores du gel et leur migration se trouve retardée. Les saponines et les flavonoïdes présentent une élution intermédiaire. Le support stationnaire utilisé est la Sephadex LH-20 et le solvant d'élution le méthanol.

#### *1.2.1.1. Chromatographie liquide moyenne pression (MPLC)*

La MPLC est une technique analytique, permettant de fractionner et purifier plusieurs grammes d'un mélange. La taille de la colonne de séparation à silice (Büchi, Labortechnik GmbH, Essen, Germany) est sélectionnée, selon la quantité de produit à injecter (460 x 15 mm ou 230 x 15 mm). Le support utilisé peut être, soit de la silice phase normale, le Silicagel 60 F254 (15-40  $\mu\text{m}$ ), soit de la silice phase inverse (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ou RP-18 (75-200  $\mu\text{m}$ , Silicycle).

Les systèmes de solvants, utilisés pour l'élution, sont des mélanges tertiaires ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ ), en phase normale ou des mélanges binaires ( $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ ), en phase inverse. Dans notre étude, deux principaux appareils ont été utilisés: le premier est constitué d'une pompe Gilson M305, d'une colonne Büchi, remplie de gel de silice 60 ou de silice en phase inverse RP-18; le second est un appareil Büchi Manager C-605 à deux pompes (2x Büchi Pump Module C-601). Les deux appareils sont reliés à un collecteur de fractions C-660. La colonne est éluée avec un débit de 2 mL/min et une pression moyenne de 2 Bar. Les fractions recueillies sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

#### *1.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante de Po*

Le test *in vitro* KRL (Blache & Prost, 1992) permet de mesurer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Po*, en évaluant la résistance à l'agression des radicaux libres par la mesure de la capacité du sang total à résister à l'hémolyse, induite par les radicaux libres. Le trolox, un analogue synthétique de la vitamine E, soluble dans l'eau, est utilisé comme standard et son activité antioxydante ( $\text{mmol.L}^{-1}$ ) est comparée à celle de l'extrait aqueux de *Po*.

## **II. Animaux et régimes**

Vingt-huit rats mâles Wistar (Institut Pasteur, Alger, Algérie), âgés de 8 semaines et pesant  $138 \pm 12\text{g}$ , sont soumis, pendant 15 jours, à un régime semi-synthétique, contenant 20% de caséine et supplémenté avec 1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique (Sigma-Aldrich Chemie, Germany), afin de provoquer une hypercholestérolémie.

Après cette phase d'adaptation, les rats rendus hypercholestérolémiques (cholestérol total =  $5,76 \pm 0,80 \text{ mmol.L}^{-1}$  vs valeur usuelle chez le rat  $< 3,90 \text{ mmol.L}^{-1}$ ), pesant  $225,08 \pm 8,26 \text{ g}$ , subissent une injection intra-péritonéale d'une dose unique de streptozotocine (STZ) (Sigma, St Louis, USA), à raison de  $55 \text{ mg.kg}^{-1}$  PC. La STZ est diluée dans du tampon citrate (0,05M, pH 4,5) juste avant son utilisation.

L'hyperglycémie est confirmée, 48 heures après l'injection de STZ, sur un prélèvement sanguin, effectué au niveau de la veine de la queue, à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek ® Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Les animaux, dont la glycémie à jeun est supérieure à  $2,50 \text{ g.L}^{-1}$  ( $13,87 \text{ mmol.L}^{-1}$ ), sont considérés comme diabétiques.

Les rats rendus hypercholestérolémiques-diabétiques ( $n = 20$ ) sont répartis en 2 groupes : Un groupe non traité consomme un régime à 20% de caséine, supplémenté avec 1% de cholestérol (HD) et un groupe traité soumis au même régime, supplémenté avec 1% d'extrait aqueux lyophilisé de *Portulaca oleracea* (HD-Po), durant 28 jours. La composition des régimes est présentée dans le **Tableau III**.

**Tableau III. Composition des régimes ( $\text{g.kg}^{-1}$  régime)<sup>1</sup>**

Ingrédients	HD	HD-Po
Caséine <sup>2</sup>	200	200
Amidon de maïs <sup>3</sup>	585	575
Huile de tournesol <sup>4</sup>	50	50
Saccharose <sup>5</sup>	50	50
Cellulose <sup>6</sup>	50	50
Vitamines <sup>7</sup>	20	20
Sels minéraux <sup>8</sup>	40	40
Cholestérol <sup>9</sup>	10	10
Acide cholique <sup>10</sup>	5	5
Extrait aqueux de <i>Portulaca oleracea</i> <sup>11</sup>	0	10

<sup>1</sup>Les régimes préparés au Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique (LNCM) sont isoénergétiques ( $17,78 \text{ MJ/kg}$ ) et donnés sous forme de poudre. <sup>2,9,10</sup>Sigma-Aldrich Cheme, Germany. <sup>3</sup>ONAB, Sidi Bel Abbès, Algérie. <sup>4</sup>CEVITAL SPA, Béjaïa, Algérie. <sup>5</sup>ENASUCRE, Sfisef, Algérie. <sup>6</sup>Prolabo, Paris, France. <sup>7</sup>UAR 200 (Villemoisson, 91360). Mélange vitaminique ( $\text{mg/kg}$  de régime): vit A, 39 600 UI; vit D<sub>3</sub>, 5000 UI; vit B<sub>1</sub>, 40; vit B<sub>2</sub>, 30; vit B<sub>3</sub>, 140; vit B<sub>6</sub>, 20; vit B<sub>7</sub>, 300; vit B<sub>12</sub>, 0.1; vit C, 1600; vit E, 340; vit K, 3.80; vit PP, 200; choline, 2720; Acide folique, 10 ; Acide paraaminobenzoïque (PAB), 180 ; Biotine, 0,6 ; Cellulose, qsp, 20g. <sup>8</sup>UAR 205B (Villemoisson, 1360, Epinay/S/Orge, France). Mélange minéral ( $\text{mg/kg}$  de régime): CaHPO<sub>4</sub>, 17 200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO<sub>2</sub>, 420; MgSO<sub>4</sub>, 2000; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 120; FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O, 200; MnSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, 98; CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O, 20; ZnSO<sub>4</sub>, 80; CuSO<sub>4</sub>, 80; CuSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O et KI, 0,32.

Les animaux sont maintenus dans une animalerie, dans des conditions environnementales standard, à la température de 24°C, avec un cycle circadien 12h jour/12h nuit et une hygrométrie de 50%. L'eau et la nourriture en poudre sont données à volonté. La mesure du poids des animaux et de la nourriture ingérée est réalisée quotidiennement et la glycémie est déterminée une fois par semaine.

Du 21<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour, les rats sont placés dans des cages à métabolisme. Les urines et les fèces sont recueillies sur un antiseptique (thymol-isopropanol à 10% (P/V), Merck, Germany) puis filtrés et conservés à 4°C. Débarrassés de tout résidu de nourriture, les fèces sont séchées dans une étuve (Tan Steril, Italy) à 40°C puis finement broyées, elles sont ensuite conservées à -20°C.

Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis (**Council of European Communities, 1987**).

### **III. Prélèvement du sang et des organes**

Après 28 jours d'expérimentation, les animaux des deux groupes sont pesés puis anesthésiés, après 12 h de jeûne, par injection intra-péritonéale d'une solution de pentobarbital sodique (Coop. Pharmaceutique Française, 77000, Melun) (60mg.100g<sup>-1</sup> PC).

Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale et mis dans des tubes, contenant 0,1% d'EDTA-Na<sub>2</sub> (Sigma, 4K10 Bioblock Scientific, Germany), puis centrifugé à 1000xg pendant 20min à 4°C. Le plasma et le culot, contenant les érythrocytes sont récupérés. Les érythrocytes sont immédiatement lavées avec du tampon phosphate salin (PBS) (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1,44g.L<sup>-1</sup>, NaCl: 8g.L<sup>-1</sup>, KCl: 0,2g.L<sup>-1</sup>, eau distillée qsp 50mL).

Les organes (foie, reins, cœur, muscle gastrocnémien, cerveau, tissu adipeux épидидymaire et aorte) sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0,9%, séchés puis pesés. Le plasma et les organes sont conservés à -70°C, jusqu'à leur utilisation.

### **IV. Analyses biochimiques de certains paramètres**

#### **IV.1. Estimation des lipides et du cholestérol ingérés, des lipides fécaux et de la digestibilité des lipides**

##### ***IV.1.1. Dosage des lipides totaux***

La teneur en lipides des régimes et des fèces est déterminée selon la technique de **Delsal, (1941)**. Un gramme de régime ou de fèces est homogénéisé avec 20 mL de mélange chloroforme:méthanol (4:1, v:v), et laissé en contact pendant 2 h.

Les solvants sont évaporés sous vide à 48°C (Rotavapor Büchi). Après séchage du ballon, la quantité de lipides totaux est déterminée par différence entre le poids final et le poids initial du ballon. Les lipides sont repris dans 10 mL d'isopropanol, pour le dosage des différents constituants lipidiques.

#### ***IV.1.2. Dosage du cholestérol ingéré et fécal***

Suite à la récupération des lipides, les taux de cholestérol ingéré et fécal sont mesurés, par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biocon, Germany). Le cholestérol, présent dans l'échantillon, donne, après hydrolyse enzymatique et oxydation, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie (spectrophotomètre Jenway 7305, Royaume-Uni). L'indicateur colorimétrique est la quinonéimine, formé à partir du 4-amino-antipyrine et le phénol par le peroxyde d'hydrogène, sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 500$  nm.

### **IV.2. Détermination des teneurs plasmatiques et urinaires en urée, en acide urique et en créatinine**

#### ***IV.2.1. Dosage de l'urée***

La détermination de l'urée, présente dans l'échantillon donne, en présence d'uréase et de nitroprussiate, un indophénol coloré quantifiable, par spectrophotométrie (kit Biocon, Germany). La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 600$  nm.

#### ***IV.2.2. Dosage de l'acide urique***

L'indicateur colorimétrique de l'acide urique est la quinonéimine, formée à partir du 4-amino-antipyrine et de l'hydroxy-benzène-sulfonique, par le peroxyde d'hydrogène, sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 510$  nm.

#### ***IV.2.3. Dosage de la créatinine***

L'analyse de la créatinine, présente dans l'échantillon, réagit avec le picrate en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré (kit Biocon, Germany). La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 500$  nm.

### **IV.3. Détermination de la glycémie, de l'insulinémie et de l'hémoglobine glycosylée**

#### ***IV.3.1. Détermination de la glycémie***

À J0, J7, J14, J21 et J28 de l'expérimentation, la glycémie est mesurée sur un échantillon

de sang de la veine caudale, selon la méthode décrite précédemment (glucomètre Accu-Chek® Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

#### ***IV.3.2. Détermination de l'insulinémie***

La détermination quantitative du taux d'insuline, dans le plasma, est réalisée selon une technique immuno-enzymatique (EIA kit, Spi-Bio, Bertin groupe, Montigny Le Bretonneux, France). Cette méthode repose sur la compétition entre l'insuline libre et l'acétylcholinestérase (AChE) liée à l'insuline, chez le rat, sur les sites spécifiques de l'insuline, contenant l'antisérum de cochon d'inde.

Le complexe anticorps de cochon d'inde-insuline libre se lie avec l'anticorps anti-cochon d'inde fixé sur les puits de la plaque de microtitration. La plaque est ensuite lavée avec le tampon de lavage. Le réactif d'Ellman (contenant le substrat enzymatique de l'AChE et un chromogène) est ajouté aux puits. L'AChE réagit avec le réactif d'Ellman et induit la formation d'un composé coloré en jaune.

L'intensité de la coloration est déterminée par spectrophotométrie à  $\lambda = 450$  nm. Elle est proportionnelle à la quantité de marqueurs fixés sur les puits, et est inversement proportionnelle à la quantité d'insuline libre. Une gamme étalon d'insuline à  $10 \text{ ng mL}^{-1}$  est utilisée comme standard.

#### ***IV.3.3. Détermination de l'hémoglobine glyquée***

L'hémoglobine est oxydée par le ferricyanure de potassium en méthémoglobine qui est ensuite transformée en cyanméthémoglobine, par le cyanure de potassium. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 540$  nm. Le sang est mélangé à un agent contenant un détergent et une grande concentration en ions borate. L'élimination de la base labile de Schiff est achevée durant l'hémolyse.

Le sang hémolysé est mélangé pendant 5 min à une faible résine échangeuse de cations à laquelle se lie l'hémoglobine totale. Un séparateur spécial est utilisé pour éliminer la résine du surnageant qui contient l'HbA1c. La proportion d'HbA1c est donnée en pourcentage de l'hémoglobine totale dans l'échantillon, par le dosage de la fraction HbA1c et de l'hémoglobine totale à 415 nm, en comparaison avec le dosage du standard de l'HbA1c, obtenu au cours de la réaction (Kit Biocon, Germany).

#### **IV.4. Détermination des teneurs en protéines totales plasmatiques et hépatiques**

Les concentrations en protéines totales du plasma et du foie sont déterminées selon la méthode de **Lowry *et al.*, (1951)**.

La sérum albumine bovine (SAB) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) est utilisée pour établir la courbe de référence. Le dosage des protéines au niveau tissulaire est effectué sur des homogénats préparés dans du KCl à 1,25%, à raison de 1g de tissu dans 0,9 mL de KCl. En milieu alcalin, le complexe formé par les ions  $\text{Cu}^{2+}$  et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin. Il se développe alors une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines contenue dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda=750$  nm.

#### **IV.5. Détermination des teneurs plasmatiques en albumine**

L'albumine plasmatique est déterminée par une méthode colorimétrique (Kit Spinreact, Girona Spain). En milieu tamponné à pH 4,2, l'albumine présente dans l'échantillon donne après sa liaison avec le vert de bromocrésol, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'albumine présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 630$  nm.

#### **IV.6. Détermination des teneurs en lipides plasmatiques et hépatiques**

##### ***IV.6.1. Dosage du cholestérol total, du cholestérol libre et des esters de cholestérol***

Les concentrations en CT du plasma et de l'extrait lipidique du foie sont déterminées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). Les teneurs en cholestérol libre (CL) sont dosées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit CHOP-PAP, Biolabo, France). La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 500$  nm.

Le cholestérol estérifié (CE) est obtenu par différence entre le CT et le CL puis multiplié par 1,67 (poids moléculaire d'un acide gras qui estérifie le cholestérol) pour obtenir les esters de cholestérol (EC).

##### ***IV.6.2. Dosages des triglycérides***

Les teneurs en TG du plasma et de l'extrait lipidique du foie sont déterminées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). Les TG présents dans l'échantillon donnent, après hydrolyse enzymatique et oxydation, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

L'indicateur, la quinonéimine est formée à partir du  $\text{H}_2\text{O}_2$ , du 4-amino-antipyrine et du chlorophénol sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 500$  nm.

### IV.6.3. Détermination des teneurs en phospholipides

Les phospholipides (PL) du plasma et de l'extrait lipidique hépatique sont estimés par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Cypress Diagnostics, Belgium). Les PL sont hydrolysés par la phospholipase D. La choline libérée est oxydée par l'oxydase de choline (CHO) en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier oxyde par la suite le phénol et le 4-aminoantipyrine grâce à la peroxydase (POD). La lecture s'effectue à une longueur d'onde  $\lambda = 505$  nm.

### IV.7. Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques

Les transaminases sont des enzymes prédominantes dans le foie, le muscle et, notamment, dans le cœur. Ce sont des marqueurs importants du fonctionnement hépatique, leur augmentation reflète une lésion cellulaire. L'activité de l'alanine aminotransférase (ALT) et de l'aspartate aminotransférase (AST) est mesurée, par des méthodes enzymatiques colorimétriques. L'ALT est une transaminase, connue sous le nom de glutamate-pyruvate-transaminase (GPT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' $\alpha$ -cétoglutarate, pour donner du L-glutamate.

L'AST est une transaminase, également, connue sous le nom de glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT), elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait, par spectrophotométrie, à une longueur d'onde  $\lambda=340$  nm.

## V. Séparation et analyse des différentes fractions de lipoprotéines et dosage de la lécithine : cholestérol acyltransférase

### V.1. Séparation des lipoprotéines plasmatiques

Les VLDL ( $d < 1,006$ ) et les LDL-HDL<sub>1</sub> ( $1,006 < d < 1,075$ ) sont précipitées selon leur densité, par la méthode décrite par **Burstein et al.**, (1970), qui utilise du phosphotungstate (Prolabo, Paris, France) et du chlorure de magnésium (MgCl<sub>2</sub>) (Merck, Germany).

Les lipoprotéines de haute densité HDL<sub>2</sub> ( $1,085 < d < 1,121$ ) et HDL<sub>3</sub> ( $1,121 < d < 1,210$ ) sont précipitées par du sulfate de dextran 500 000 (Sigma Chemical Company, St Louis, USA), et du MgCl<sub>2</sub>, selon la méthode de **Burstein et al.**, (1989).

Toutes les centrifugations sont effectuées à  $1000 \times g$ , pendant 30 min, à 20°C (Eppendorf, Centrifuge 5702, Germany).

### ***V.1.1. Séparation des VLDL et des LDL-HDL<sub>1</sub>***

Vingt cinq  $\mu\text{L}$  d'une solution de phosphotungstate (pH 7,6), et 100  $\mu\text{L}$  d'une solution de  $\text{MgCl}_2$  2M sont ajoutés à 2 mL de plasma. Après 30 min d'incubation, à température ambiante, le mélange est centrifugé et le surnageant est séparé du précipité qui contient les VLDL. Cette fraction de lipoprotéines peut apparaître sous forme d'un anneau à la surface du tube. Au surnageant, sont ajoutés 100  $\mu\text{L}$  de chacune des deux solutions précédentes. Après incubation et centrifugation, le précipité obtenu correspond à la fraction LDL-HDL<sub>1</sub>.

### ***V.1.2. Séparation des HDL<sub>2</sub> et des HDL<sub>3</sub>***

Quatre vingt  $\mu\text{L}$  de sulfate de dextran à 5% et 200  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  2M sont ajoutés au surnageant précédent. Après incubation, le précipité, obtenu par centrifugation, correspond à la fraction HDL<sub>2</sub>. Le pH du surnageant, voisin de 7,6 est ajusté à 5,4 par du HCl ; une précipitation immédiate a lieu. Après centrifugation, le précipité contenant les HDL<sub>3</sub> est séparé du surnageant qui correspond aux protéines plasmatiques solubles.

## **V.2. Purification des lipoprotéines**

Pour minimiser la contamination par les protéines plasmatiques, les quatre précipités contenant les différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> et HDL<sub>3</sub>), sont purifiées par lavages successifs.

Les VLDL et les LDL-HDL<sub>1</sub> sont solubilisées dans une solution, contenant du citrate trisodique et du NaCl, 0,01M, puis dans du tampon Tris salin (NaCl 0,14M, Tris 0,05M, Na<sub>2</sub>-EDTA 0,1%, pH 7,6).

La solution est ensuite précipitée avec le sulfate de dextran 0,05% et le  $\text{MgCl}_2$  0,05M, incubée et centrifugée pour obtenir des surnageants qui correspondent aux fractions VLDL et LDL+HDL<sub>1</sub> purifiées.

Les HDL<sub>2</sub> sont dissoutes dans la solution de solubilisation puis dans le tampon Tris salin. Elles sont reprécipitées, par addition de  $\text{MgCl}_2$  2M. Après centrifugation, le précipité est solubilisé dans de l'oxalate de potassium 0,5M et le surnageant contenant les HDL<sub>2</sub> est obtenu après une 2<sup>ème</sup> centrifugation. Le précipité contenant les HDL<sub>3</sub> est solubilisé dans la solution de solubilisation puis centrifugé pour avoir les HDL<sub>3</sub> pures.

## **V.3. Analyse des différents constituants des lipoprotéines**

Les contenus en apolipoprotéines (apos) et en lipides (CT, CL, EC, TG et PL) des VLDL, des LDL-HDL<sub>1</sub>, des HDL<sub>2</sub> et des HDL<sub>3</sub> sont déterminés, selon les méthodes décrites

précédemment. La masse de chaque fraction de lipoprotéine correspond à la somme de leurs contenus en apos, CL, EC, TG et PL et est exprimée en g.L<sup>-1</sup>.

#### V.4. Dosage des apolipoprotéines (apo A-I et apo B) plasmatiques

La concentration en apo A-I et en apo B est déterminée, par turbidimétrie (Kit Spinreact, Spain). L'addition d'anticorps anti-apo A-I/apo B à un échantillon contenant des apo A-I et B conduit à la formation d'un complexe qui précipite, entraînant une variation de l'absorbance à  $\lambda=510$ , proportionnelle à la teneur en apolipoprotéines, présentes dans l'échantillon, qui peut être calculée à l'aide d'un étalon de concentration connue.

#### V.5. Détermination de l'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT, EC 2.3.1.43)

L'activité de la LCAT (enzyme responsable de la conversion du cholestérol libre en cholestérol estérifié) est évaluée par une méthode endogène (Chen & Lacko, 1986), après 4 h d'incubation à 37°C, à partir d'un acide gras et de la lécithine, principalement dans les HDL. Le CL est dosé par la méthode citée précédemment.

L'activité de la LCAT est exprimée en nanomoles de CE.h<sup>-1</sup>.mL<sup>-1</sup> de plasma. Elle est calculée selon la formule suivante : Activité LCAT = (CLt0 h - CLt4 h)/4 h d'incubation

### VI. Evaluation du statut redox

#### VI.1. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

##### VI.1.1. TBARS du plasma, des érythrocytes et des lipoprotéines

Les teneurs en TBARS sont déterminées par la méthode de Quintanilha *et al.*, (1982). À 1 mL de plasma ou d'érythrocytes ou des différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> et HDL<sub>3</sub>) dilués avec de l'eau distillée (1:1, v:v), sont ajoutés 2 mL de mélange réactionnel contenant de l'acide thiobarbiturique (TBA) 0,017 mM et du buthyl-hydroxy-toluène 3,36  $\mu$ M. Le mélange est incubé, pendant 15 min à 100°C. Après refroidissement dans un bain glacé et centrifugation pendant 10 min, à 1000 x g, l'absorbance du surnageant est mesurée à 535 nm. Le malondialdéhyde (MDA) est utilisé comme standard. Les résultats obtenus pour le plasma, les érythrocytes et les lipoprotéines sont exprimés en nmol de TBARS.mL<sup>-1</sup> de plasma.

### **VI.1.2. TBARS tissulaires**

La mesure des TBARS au niveau tissulaire est déterminée selon la méthode de **Ohkawa *et al.*, (1979)**. Cent mg de tissu sont homogénéisés à l'ultraturax avec 0,9 mL de tampon KCl (1,15 %). À 0,2 mL d'homogénat, sont ajoutés 0,2 mL de sodium dodécyl sulfate (SDS à 8,1 %), 1,5 mL d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 mL d'une solution aqueuse de TBA à 0,8%). Le volume du mélange est ajusté à 4 mL avec de l'eau distillée et chauffé dans un bain-marie à 95°C, pendant 60 min. Après refroidissement, 1 mL d'eau distillée et 5 mL d'un mélange *n*-butanol:pyridine (15:1, v:v) sont ajoutés.

Après une agitation vigoureuse et une centrifugation à 1000 x g, pendant 10 min, l'absorbance de la phase supérieure (butanolique) est mesurée à 532 nm. Le MDA est utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont exprimés en mmol de TBARS.g<sup>-1</sup> de tissu.

### **VI.2. Détermination des teneurs en glutathion (GSH) au niveau érythrocytaire et tissulaire**

Basée sur une méthode colorimétrique (**Sedlak & Lindsay, 1968**), la détermination des teneurs en GSH repose sur son oxydation, par l'acide 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB), avec libération de l'acide thionitrobenzoïque (TNB).

Un mélange, composé de 1 mL d'homogénat, 800µL d'eau distillée glacée et de 200 µL d'acide trichloroacétique (TCA) à 50%, est agité pendant 10min puis centrifugé à 1200 x g pendant 15 min. Au surnageant de 400µL, sont mélangés 800µL de tampon Tris (0,4 mol.L<sup>-1</sup> à pH = 8,9) et 20µL de DTNB (0,01 mol.L<sup>-1</sup>). Après 5 min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à 412 nm. Les concentrations sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions précédemment décrites.

### **VI.3. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires et tissulaires**

#### **VI.3.1. Préparation des érythrocytes**

Le sang est centrifugé à 1000 x g pendant 20 min à 4°C. Le culot obtenu, contenant les hématies, est récupéré et lavé 2 fois. 02 mL d'hématies sont ajoutés à de l'eau distillée glacée (1:4, v:v) et la suspension obtenue est centrifugée à 1000 x g pendant 6 min à 4°C.

#### **VI.3.2. Préparation des homogénats tissulaires**

Les homogénats tissulaires sont obtenus, après addition de tampon phosphate de 200 mM (pH 7,8) pour la détermination de la superoxyde dismutase (SOD), de 0,12 mM (pH 7,2) pour la

détermination de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion réductase (GRed), ainsi que 50 mM (pH 7) pour le dosage de la catalase.

#### **VI.3.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)**

L'activité de la SOD est mesurée, en utilisant un chromogène, le nitrobleu tetrazolium afin de détecter les radicaux libres de la SOD générés, suite à l'action de la xanthine oxydase et l'hypoxanthine (Kit *Cayman*, USA). Cette méthode consiste à déterminer la capacité de l'enzyme à inhiber la réduction de l'anion superoxyde, par du nitrobleu tetrazolium.

Une unité de SOD est définie comme étant la quantité nécessaire à l'inhibition de 50% de la dismutation du radical superoxyde. Cette technique permet de mesurer les trois types de SOD (Cu/Zn, Mn et Fe). La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 560$  nm.

#### **VI.3.4. Activité de la glutathion peroxydase (GPx, EC 1.11.1.9)**

L'évaluation de l'activité de la GPx repose sur une méthode colorimétrique (Kit *Cayman*, USA). L'activité la GPx est mesurée indirectement, par une réaction couplée à la glutathion réductase (GRed). Le glutathion oxydé (GSSG), produit après réduction de l'hydroxyperoxyde par la GPx, est recyclé sous sa forme réduite par la GRed et le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH).

L'oxydation du NADPH en nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé (NADP<sup>+</sup>) donne lieu à une diminution de l'absorbance à  $\lambda = 340$  nm. Cette réduction est directement proportionnelle à l'activité de la GPx de l'échantillon.

#### **VI.3.5. Activité de la glutathion réductase (GRed, EC 1.6.4.2)**

L'activité de la GRed est déterminée par la mesure du taux d'oxydation du NADPH, en présence de glutathion oxydé par une méthode colorimétrique (Kit *Cayman*, USA). L'unité d'activité de cette enzyme est définie comme la quantité d'enzyme capable d'oxyder 1 mmole de NADPH par minute. Cette activité est mesurée par rapport à l'activité d'une GRed de référence.

#### **VI.3.6. Activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6)**

La détermination de l'activité de la catalase, selon la méthode d'**Aebi, (1974)**, se fait par la mesure du taux de décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le dosage s'effectue sur 250µL de surnageant pour les érythrocytes et 250µL d'homogénat tissulaire (100 mg de tissu broyé dans 0,9 mL de KCl). Sont rajoutés 250 µL d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 mmol dans du tampon phosphate à 50 mmol.L<sup>-1</sup>) et 250 µL de tampon phosphate et la solution est ensuite agitée puis incubée, pendant 5 min.

Après addition du titanium sulfate ( $\text{TiOSO}_4$ ), la lecture est réalisée par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda = 420 \text{ nm}$ .

## VII. Détermination du statut inflammatoire

### VII.1. Dosage du facteur de nécrose humorale (TNF- $\alpha$ ) et de l'interleukine-6 (IL-6)

La détermination des concentrations en TNF- $\alpha$  et en IL-6 du plasma, se réalise par des tests immuno-enzymatiques, Elisa spécifiques (kit RayBiotech, Norcross GA, USA). Des plaques de 96 puits sont traitées par 50 mL/puit d'une solution du premier anticorps monoclonal de capture, dilué dans du PBS/thimérosal 0,05 % (P/V).

Après une nuit d'incubation à 4°C et trois lavages successifs, 25  $\mu\text{l}$  d'échantillon et 25  $\mu\text{l}$  d'une solution d'anticorps biotinylés sont déposés en double dans chaque puits. Ensuite, les plaques sont incubées, pendant 2 heures, à température ambiante.

Suite à un lavage, 50  $\mu\text{l}$  d'une solution de streptavidine-HR-peroxydase sont ajoutés dans chaque puits. La réaction enzymatique est révélée, après 1 heure d'incubation, à température ambiante, par du dichlorate d'O-phénylènediamine (OPD SigmaFast, Sigma). La lecture s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde 450 nm.

Les concentrations plasmatiques en TNF- $\alpha$  et IL-6, sont déterminées à l'aide de gammes étalons établies à partir de solutions mères de TNF- $\alpha$  (500  $\text{pg.mL}^{-1}$ ) et IL-6 (1000  $\text{pg.mL}^{-1}$ ).

## VIII. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard ( $M \pm ES$ ) de 10 rats par groupe. Après analyse de variance, la comparaison entre les deux groupes de rats hypercholestérolémiques-diabétiques, traités ou non, avec l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*, est déterminé par le test 't' de Student-Fischer. \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

# **RESULTATS**

## I. Résultats de l'analyse phytochimique de *Portulaca oleracea*

### I.1. Analyse phytochimique préliminaire

La forte concentration de tannins, dans l'extrait aqueux de *Po*, rend l'isolement des molécules pures, particulièrement, difficile. En effet, les tannins sont retrouvés dans toutes les zones de polarité et présentent une grande gamme de poids moléculaire.

Par conséquent, le travail préliminaire à l'isolement des composés de cette plante, consiste à tester de nombreuses méthodes chromatographiques, en association avec divers systèmes de solvants, afin de mettre au point un système de fractionnement, permettant la séparation des tannins des autres composés de l'extrait.

L'alternance de chromatographies d'adsorption (en phases normale et inverse) et d'exclusion permet, en partie, de remédier à ce problème. Cependant, de nombreuses phases de purification sont nécessaires avec un rendement final en composés purs très faible.

Pour connaître la proportion des différents solvants chloroforme/méthanol/eau ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ ), un extrait brut aqueux de *Po* (1g), est dissout dans un mélange  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ . Une chromatographie sur couche mince est réalisée sur ce mélange, avec différents solvants de migration. Il s'avère que la proportion la plus adéquate est de 70 :30 :5, v: v: v. Après migration, trois taches distinctes et un gros dépôt brun (tannins), sont révélés sous UV et sont toujours visibles après ajout de vanilline et chauffage avec un pistolet thermique (**Fig. 7**).



**Fig. 7. Plaque CCM de l'extrait brut de *Portulaca oleracea* (*Po*)**

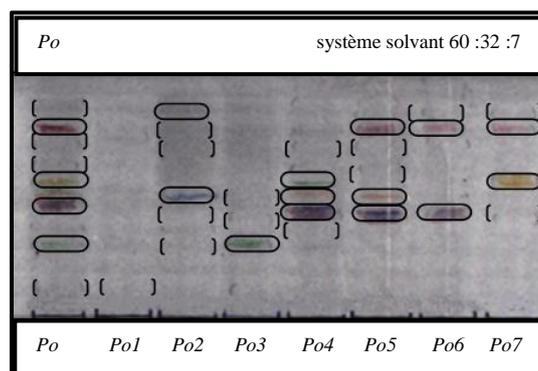
Dans le but d'éliminer les tannins qui masquent les autres composés, l'extrait aqueux (15,84g) est soumis à une chromatographie liquide sous vide (VLC), sur gel de silice normale  $\text{SiO}_2$  35-70 nm éluée par un mélange  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (60 :32 :7), de 300 mL. Le mélange solvant-extrait brut est aspiré sous vide. Un précipité brun rouge (13,30 g), reste à la surface de la

silice, alors que la fraction soluble (2,43 g), migre dans la fiole. Le précipité donne une réaction positive avec 0,1% de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) (coloration vert brun), caractéristique de la présence de tannins.

Une partie de ce précipité (500 mg) est soumise à une hydrolyse acide (2 heures, acide trifluoroacétique 2 N,  $120^\circ\text{C}$ ), révélant la présence de glucides identifiés comme étant du galactose, du glucose, de l'arabinose, de l'acide galacturonique et du xylose (CCM sur gel de silice,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (64 :40 :8), vanilline sulfurique suivie d'un chauffage) ; ce qui laisse suggérer la présence de polysaccharides.

Afin de s'assurer de l'élimination des tannins, une CCM est réalisée sur l'extrait pur et la migration est faite dans une proportion de  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  de (60 :32 :7).

La séparation des différentes fractions de *Po* est réalisée sur cet extrait purifié par une chromatographie sur colonne (Sephadex LH 20,  $33\text{cm} \times 2,3\text{cm}$ , MeOH). Ces dernières (*Po*<sub>1</sub> - *Po*<sub>7</sub>) sont obtenues dans la gamme  $R_f$  de 0,2 à 0,79, après analyse par CCM dans du  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (60 :32 :7) et révélation avec un réactif de vanilline à 1% (vanilline 1g + 100g EtOH puis 50 mL de cette solution sont mélangés à 1mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 95%) (**Fig. 8**).



**Fig. 8. Plaque CCM illustrant les différentes fractions purifiées de *Po***

### I.1.2. Etude de la fraction *Po*<sub>1</sub>

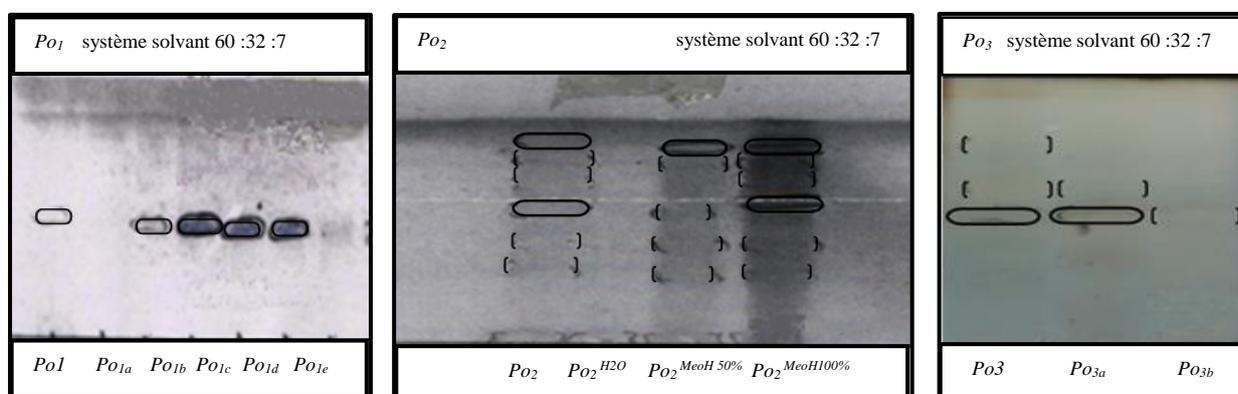
Après avoir mélangé le contenu de tous les tubes, ayant les mêmes spots, constituant la fraction 1 (*Po*<sub>1</sub>) (20mg), une chromatographie liquide moyenne pression (MPLC), sur petite colonne ( $23\text{ cm} \times 1,5\text{cm}$ ), avec un mélange  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (60 :32 :7), est effectuée sur cette fraction. Une CCM est réalisée avec une migration dans la même proportion 60 :32 :7. Un spot, bien défini (pesant 2 mg), est observé, après révélation à la vanilline, mais n'a pas été observé en UV, ce qui suppose la présence d'alcaloïdes (**Fig. 9**).

### I.1.3. Etude de la fraction $P_{02}$

Une Chromatographie Liquide Moyenne Pression en phase inverse MPLC RP18 est effectuée, sur 200 mg d'extrait, en utilisant des solvants en proportion : 100%  $H_2O$  ; 50%  $H_2O$  et 50% MeOH ; puis 100% MeOH. Les fractions sont testées par CCM dans un système (60 :32 :7), plusieurs spots sont visibles sous UV et deux sont visibles, après révélation à la vanilline sur la fraction 100% MeOH, mettant en évidence la présence de flavonoïdes (**Fig. 9**).

### I.1.4. Etude de la fraction $P_{03}$

Sur une petite colonne (MPLC) (23 cm x 1,5 cm), une séparation est réalisée sur la fraction  $P_{03}$  (427 mg), suivie d'une CCM (60 :32 :7). Un spot, visible en UV, est révélé, ce qui suppose la présence de flavonoïdes (**Fig. 9**).



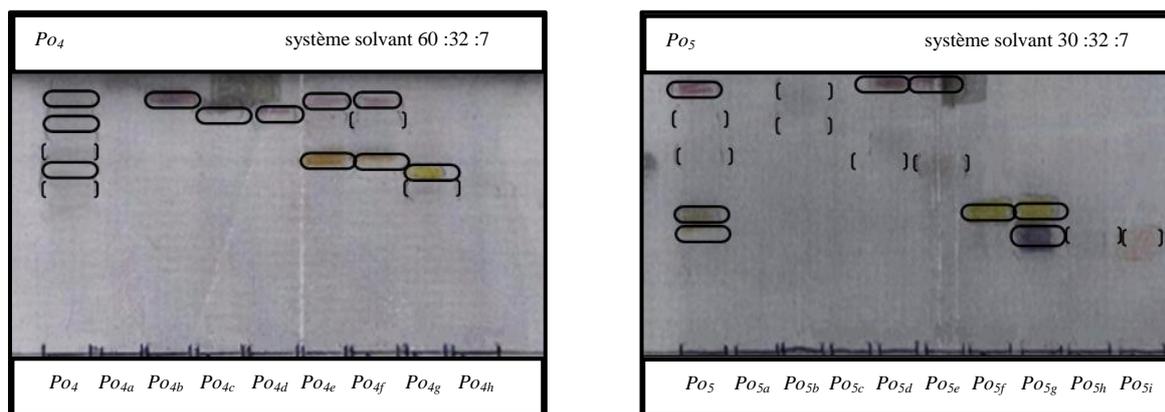
**Fig. 9.** Plaques CCM des fractions  $P_{01}$ ,  $P_{02}$  et  $P_{03}$

### I.1.5. Etude de la fraction $P_{04}$

Sur 200 mg de la fraction  $P_{04}$ , une MPLC (46 cm x 1,5 cm), dans du 60 :32 :7, est effectuée, suivie de plusieurs CCM (60 :32 :7), Huit sous fractions sont obtenues de  $P_{04a}$  à  $P_{04h}$  (0.0048, 0.0056, 0.0048, 0.0063, 0.0163, 0.0429 et 0.025g, respectivement). La couleur jaune de certains spots présume de la présence de flavonoïdes (**Fig. 10**).

### I.1.6. Etude de la fraction $P_{05}$

Sur la fraction 5, une MPLC (46 cm x 1,5 cm), dans du 60 :32 :7 est réalisée, suivie d'une CCM (60 :32 :7). Neuf sous fractions sont obtenues. Une plaque CCM des fractions, à spots isolés, est réalisée dans le 30 :32 :7. Les spots colorés en jaune indiquent la richesse en flavonoïdes (**Fig. 10**).



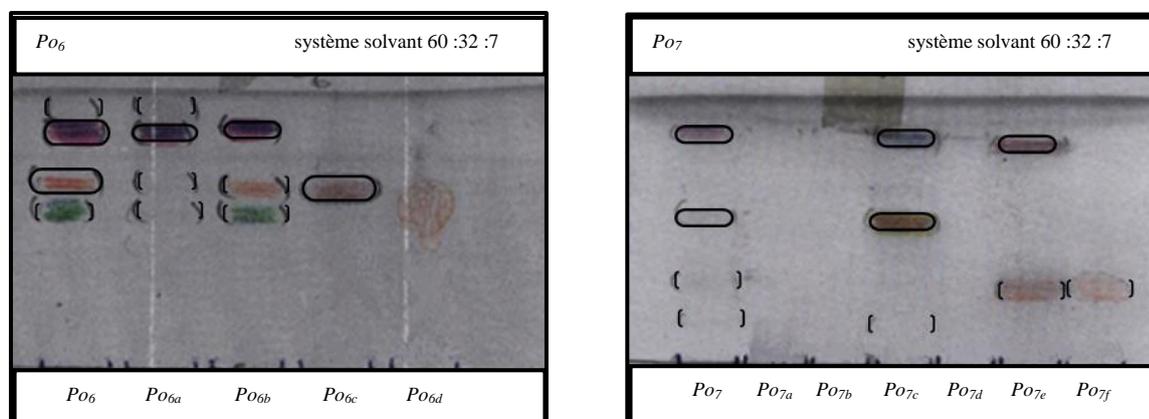
**Fig. 10. Plaques CCM des fractions *Po4* et *Po5***

### I.1.7. Etude de la fraction *Po6*

Une MPLC (46 cm x 1,5cm) dans du 60 :32 :7 est réalisée. Quatre fractions sont obtenues (présence de flavonoïdes) (**Fig. 11**).

### I.1.8. Etude de la fraction *Po7*

Une MPLC (46 cm x 1,5 cm) dans du 60 :32 :7 est réalisée. Six sous fractions sont obtenues, après CCM sur du 60 :32 :7. La coloration des spots suppose la présence de flavonoïdes (**Fig. 11**).



**Fig. 11. Plaques CCM des fractions *Po6* et *Po7***

Une MPLC en phase inverse RP18, allant de 20% à 80% MeOH, en 1h30 min, sur colonne 46 x 1,5 cm est réalisée, suivie d'une CCM sur du 60 :32 :7. Cinq sous fractions paraissent avoir des spots bien définis : *Po7a* (0.12), *Po7b* (0.096), *Po7c* (0.069), *Po7d* (0.011), et *Po7f* (0.023).

Le  $P_{O7}$  de la fraction 7 (350 mg), est successivement soumis à une MPLC sur gel de silice ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  ; 60 :32 :7) et une RP-18 sur gel de silice ( $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  eau gradient), donnant trois composés 1 (11 mg), 2 (123 mg), et 3 (15 mg).

Leur caractérisation est effectuée, par méthodes spectroscopiques de résonance magnétique nucléaire (RMN 1D et 2D), notamment, la spectroscopie de corrélation (COSY), hétéro-nucléaire corrélation quantique unique (HSQC), corrélation hétéro-nucléaire liaison multiple (HMBC), expériences et spectrométrie de masse FAB. Ils sont identifiés comme l'adénosine (1), l'allantoïne (2) et l'adénine (3), par comparaison des données de spectroscopie RMN et de masse, avec des valeurs de la littérature (Pretsch *et al.*, 2000).

### I.1.9. Activité antioxydante de *Portulaca oleracea*

À la dose de  $1 \text{ g.L}^{-1}$ , l'extrait aqueux de *Po* développe une activité antioxydante importante, similaire à celle de  $422 \text{ mmol.L}^{-1}$  de trolox. Cette activité antioxydante augmente avec la concentration de l'extrait de *Po* (Fig.12).

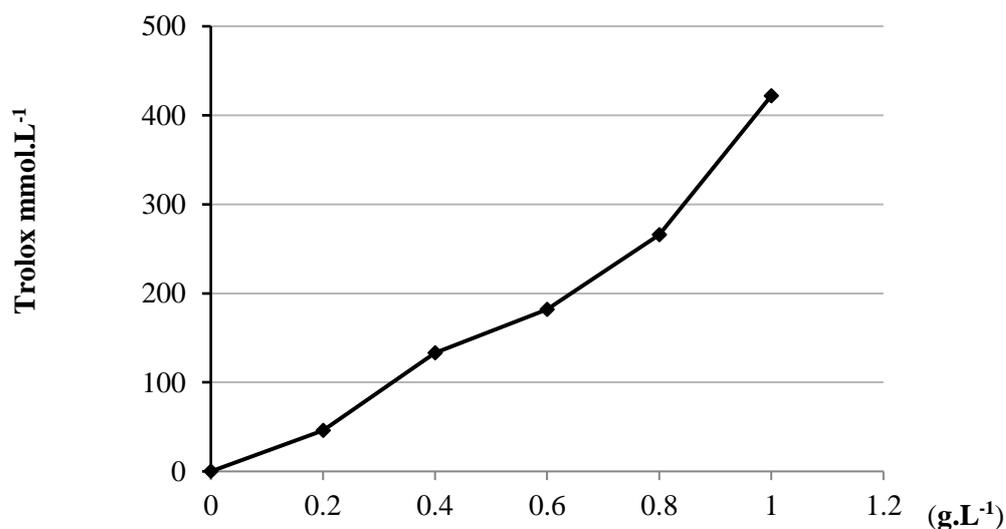


Fig. 12. Activité antioxydante de *Portulaca oleracea*, comparée au trolox

## 2. Evolution du poids corporel, nourriture ingérée, lipides ingérés et excrétés et digestibilité des lipides

Tout au long de l'expérimentation, une diminution du poids corporel (PC) est notée chez les rats rendus hypercholestérolémiques-diabétiques, traités avec l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* et chez les rats non traités (-14 et -19%, respectivement). À J28, les valeurs moyennes du PC, chez le groupe HD-Po présentent une augmentation significative de 10%, comparé au groupe HD, alors que la nourriture ingérée, exprimée en  $\text{g.j}^{-1}.\text{rat}^{-1}$  est similaire entre les groupes traités et non traités (Fig.13).

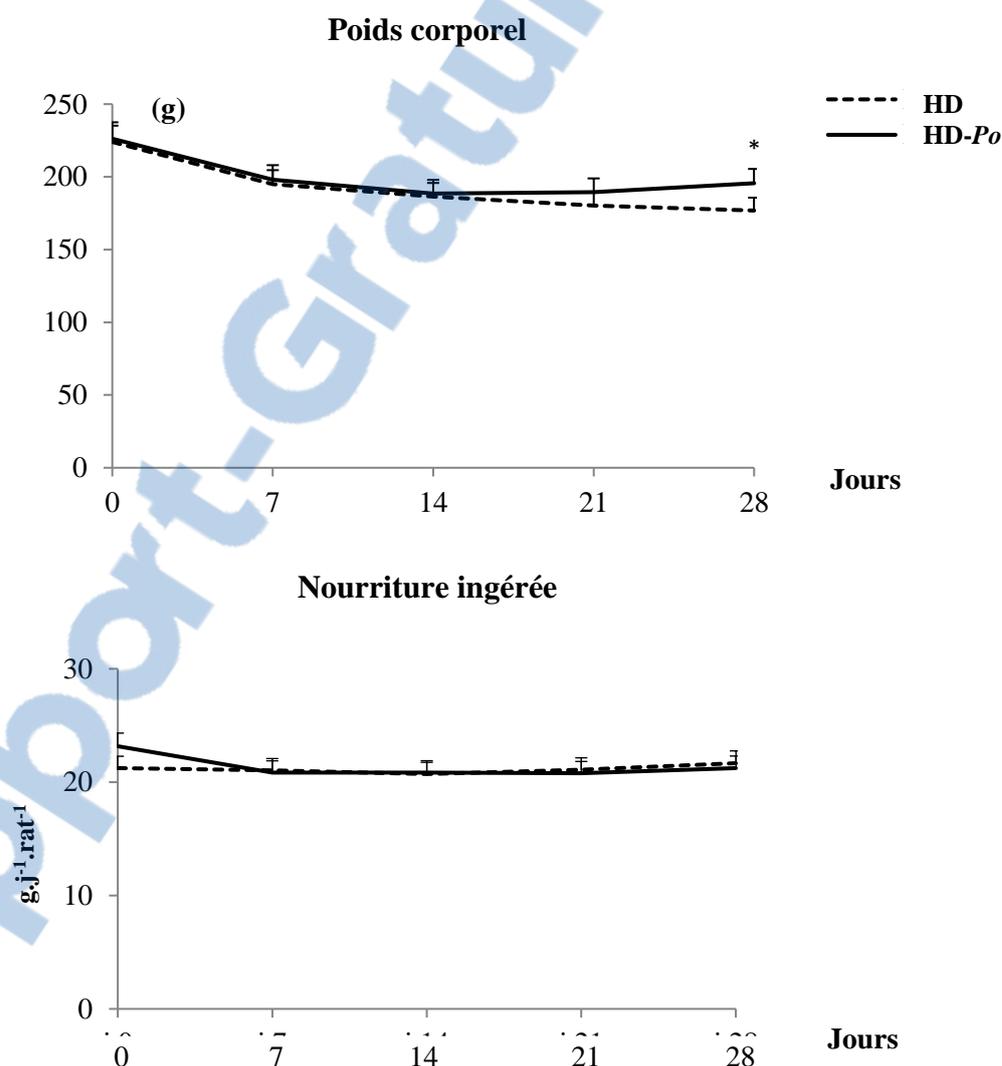


Fig. 13. Evolution du PC et nourriture ingérée

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ .

La consommation des lipides et du cholestérol sont similaires chez les deux groupes de rats. De même, le traitement avec l'extrait aqueux de *Po* ne modifie pas les teneurs de lipides fécaux, alors que l'excrétion fécale du cholestérol est 24% plus importante, chez le groupe HD-*Po*, comparé au groupe HD. Par ailleurs, aucune différence significative n'est observée dans les valeurs de la digestibilité des lipides (exprimée en %) (**Tableau IV**).

**Tableau IV. Lipides et cholestérol ingérés et excrétés et digestibilité des lipides**

	HD	HD- <i>Po</i>
Lipides ingérés (mg.j <sup>-1</sup> .rat <sup>-1</sup> )	1040,95±69,33	1045,25±34,45
Lipides excrétés (mg.j <sup>-1</sup> .rat <sup>-1</sup> )	181,64±17,13	192,13±12,59
Cholestérol ingéré (mg.j <sup>-1</sup> .rat <sup>-1</sup> )	208,19±13,87	209,05±6,89
Cholestérol fécal (mg.j <sup>-1</sup> .rat <sup>-1</sup> )	30,94±2,50	23,45±2,25*
Digestibilité des lipides <sup>1</sup> (%)	82,45±2,36	81,62±0,96

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-*Po* : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05.

<sup>1</sup>Digestibilité des lipides = [(Lipides ingérés – lipides excrétés) / Lipides ingérés] x 100.

### 3. Valeurs absolues et relatives du poids des organes

Chez le groupe consommant le régime supplémenté en extrait aqueux de *Po*, le poids du muscle est 1,2-fois plus élevé, par rapport au groupe non traité. En revanche, le poids du foie, du cœur, de l'aorte, du cerveau, des reins et du tissu adipeux ne présentent aucune différence significative entre les deux groupes (**Tableau V**).

Le poids relatif des organes (poids de l'organe/poids corporel du rat x 100) renseigne sur la croissance pondérale de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier. Le poids relatif du foie est 1,2-fois plus faible, alors que celui du muscle est 1,1-fois plus élevé, chez les rats supplémenté avec l'extrait aqueux de *Po*. Cependant, le poids relatif du cœur, de l'aorte, du cerveau, des reins et du tissu adipeux sont similaires chez les deux groupes (**Tableau V**).

### 4. Evolution de la glycémie, insuline plasmatique et hémoglobine glycosylée

Chez le groupe diabétique non traité, la glycémie s'élève de 10, 11 et 12% à J14, J21 et J28, respectivement, alors que le traitement avec l'extrait aqueux de *Po* induit une diminution significative de la glycémie à J7 et persiste tout au long de l'expérimentation.

En effet, comparé à la glycémie initiale (J0), les valeurs sont diminuées de 36, 54, 61 et 62% à J7, J14, J21 et J28, respectivement. Au début de l'expérimentation, la glycémie est similaire

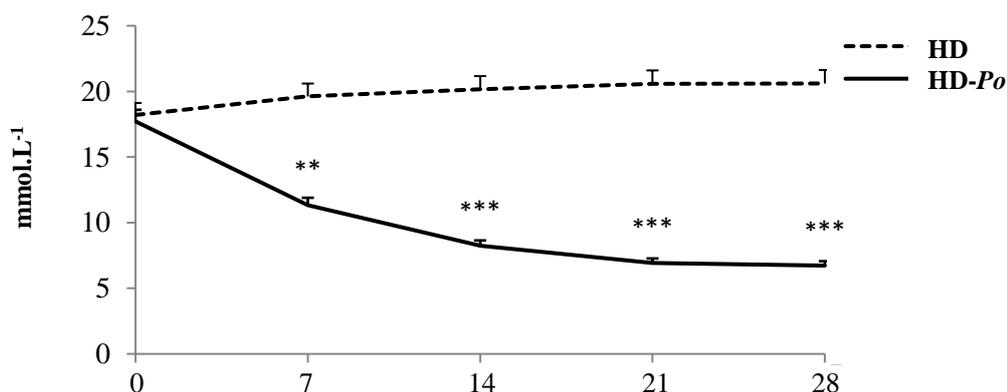
chez les deux groupes de rats. La valeur devient plus faible 1,7-fois à J7 et 3-fois à J28, chez le groupe HD-Po, comparé au groupe HD. (Fig.14).

Les valeurs plasmatiques de l'insuline sont augmentées de 11%, chez le groupe traité comparé au non traité (Tableau VI). Par ailleurs, le pourcentage d'hémoglobine glycosylée diminue significativement (-42%), chez les rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités vs non traités (Tableau VI).

**Tableau V. Valeurs absolues et relatives du poids des organes**

	HD	HD-Po
<b>Poids des organes (g)</b>		
Foie	7,14 ± 0,30	6,63 ± 0,55
Cœur	0,75 ± 0,05	0,76 ± 0,07
Aorte	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Cerveau	1,80 ± 0,03	1,84 ± 0,02
Rein	1,66 ± 0,13	1,70 ± 0,09
Muscle	0,54 ± 0,02	0,66 ± 0,03*
Tissu adipeux	0,70 ± 0,02	0,69 ± 0,04
<b>Poids relatif des organes (g)</b>		
Foie	4,06 ± 0,25	3,39 ± 0,30*
Cœur	0,42 ± 0,03	0,39 ± 0,04
Aorte	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Cerveau	1,02 ± 0,04	0,94 ± 0,03
Rein	0,94 ± 0,08	0,87 ± 0,07
Muscle	0,30 ± 0,01	0,34 ± 0,03*
Tissu adipeux	0,39 ± 0,02	0,36 ± 0,02

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05.



**Fig. 14. Evolution de la glycémie**

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\*P < 0,01 ; \*\*\*P < 0,001.

**Tableau VI. Insulinémie et hémoglobine glycosylée**

	HD	HD-Po
<b>Insulinémie (pmol.L<sup>-1</sup>)</b>	61,70±1,74	69,41±1,85*
<b>HbA1c (%)</b>	11,24±1,48	6,57±0,92**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. HbA1c : hémoglobine glycosylée. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01.

## 5. Concentrations plasmatiques et urinaires en urée et en créatinine

Chez le groupe hypercholestérolémique-diabétique traité, comparé au non traité, les concentrations en urée sont diminuées de 31%, au niveau du plasma, et augmentent de 19% au niveau urinaire. Par ailleurs, la valeur de la créatinine plasmatique est réduite de 28%, inversement, elle augmente de 49% au niveau urinaire (**Tableau VII**).

**Tableau VII. Concentrations plasmatiques et urinaires en urée et en créatinine**

	Plasma (mmol.L <sup>-1</sup> )		Urine (mmol.L <sup>-1</sup> )	
	Urée	Créatinine	Urée	Créatinine
<b>HD</b>	8,77±0,64	61,92±2,57	61,53±3,71	5,45±0,60
<b>HD-Po</b>	6,05±0,53**	44,76±1,60*	76,26±1,81*	10,59±0,52**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01.

## 6. Teneurs en protéines totales et en lipides du foie et du plasma

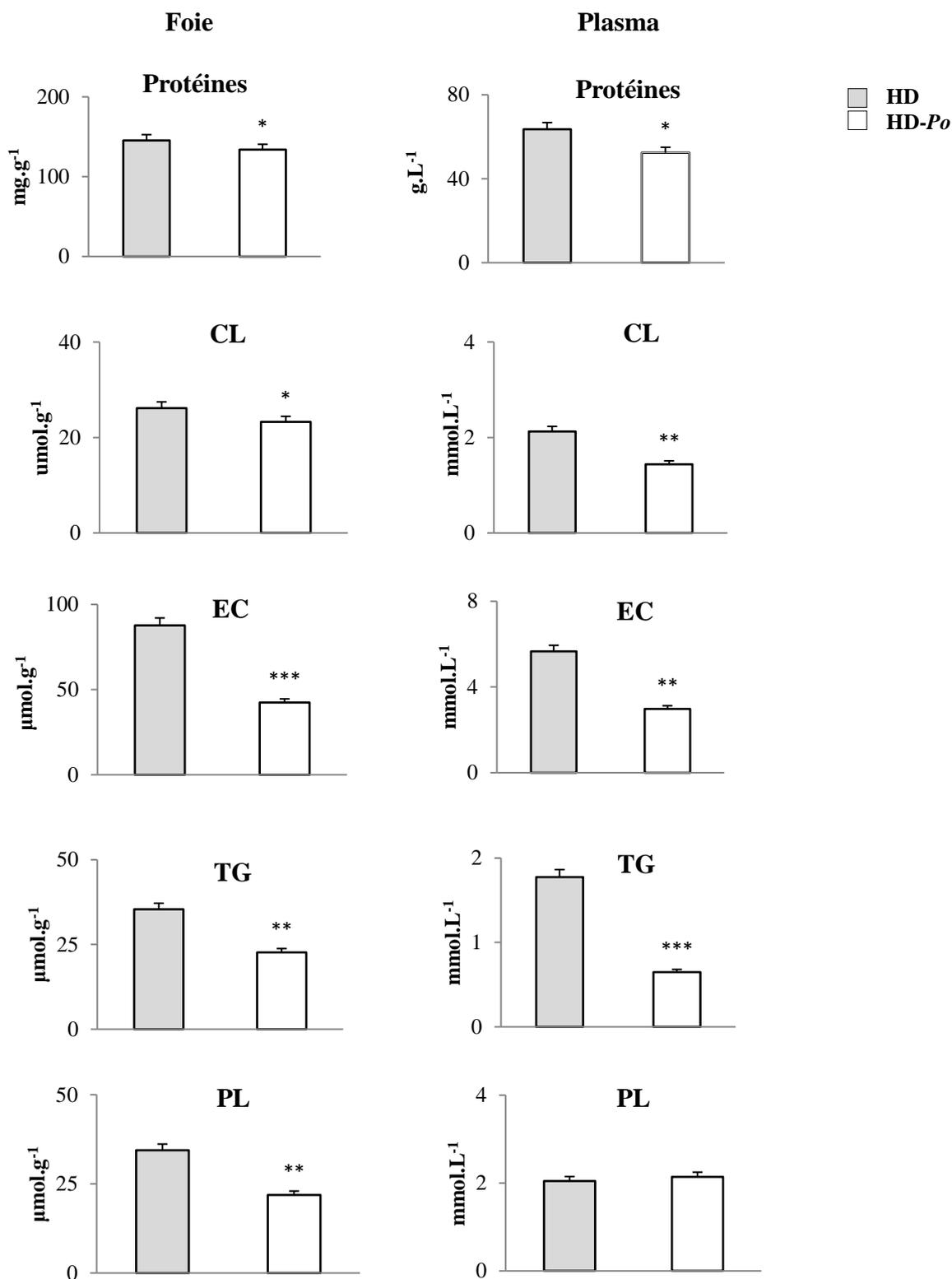
### 6.1. Teneurs en protéines totales

Au niveau hépatique et plasmatique, le traitement avec l'extrait aqueux de *Po* induit une diminution des teneurs en protéines totales de -10 et -18%, respectivement (**Fig.15**).

### 6.2. Teneurs en triglycérides, en cholestérol libre, en esters de cholestérol et en phospholipides

Au niveau hépatique, une diminution des teneurs en TG (-36%), en CL (-11%), en EC (-52%) et en PL (-36%) est notée, chez le groupe hypercholestérolémique-diabétique traité avec l'extrait aqueux de *Po*, comparé au groupe non traité.

Au niveau plasmatique, les contenus en TG, en CL et en EC sont diminués, respectivement, de 63%, 32% et 47%, chez les rats traités vs non traités, alors que les teneurs en PL ne montrent aucune différence significative entre les deux groupes (**Fig. 15**).



**Fig. 15. Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma**

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

## 7. Teneurs plasmatiques en apolipoprotéines A-I et B100

Chez le groupe HD-*Po* comparé au groupe HD, une augmentation des concentrations en apo A-I (+51%) et inversement, une diminution des valeurs en apo B100 (-45%), sont notées (Tableau VIII).

**Tableau VIII. Concentrations plasmatiques en apo A-I et apo B100**

	apo A-I (g.L <sup>-1</sup> )	apo B100 (g.L <sup>-1</sup> )
<b>HD</b>	1,21±0,12	2,12±0,17
<b>HD-<i>Po</i></b>	2,46±0,20***	1,17±0,15**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-*Po* : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

## 8. Indices d'athérogénicité

Le traitement avec *Po* améliore de façon significative les indices d'athérogénicité. En effet, une réduction des rapports C-LDL/C-HDL (-85%), CT/C-HDL (-57%), CT-C-HDL/CHDL (-82%) et apo B/apo A-I (-73%) est observée (Tableau IX).

**Tableau IX. Indices d'athérogénicité**

	C-LDL/C-HDL	CT/C-HDL	CT-CHDL/CHDL	apo B/apo A-I
<b>HD</b>	1,44 $\pm$ 0,03	3,25 $\pm$ 0,06	2,12 $\pm$ 0,06	1,76 $\pm$ 0,22
<b>HD-<i>Po</i></b>	0,21 $\pm$ 0,01***	1,40 $\pm$ 0,06***	0,39 $\pm$ 0,02***	0,48 $\pm$ 0,06***

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-*Po* : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\*\* $P < 0,001$ .

## 9. Teneurs et composition des apolipoprotéines et des lipides des différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> et HDL<sub>3</sub>)

### 9.1. Répartition du cholestérol total

Une diminution des teneurs plasmatiques en CT (-42%), est notée chez le groupe HD-*Po*, comparé au groupe HD non traité.

La distribution du cholestérol plasmatique entre les différentes fractions de lipoprotéines montre que chez le groupe HD-*Po*, la plus grande part de cholestérol (47%) est portée par la fraction anti-athérogène (HDL<sub>2</sub>), alors que chez le groupe hypercholestérolémique-diabétique non traité, c'est la fraction athérogène (LDL-HDL<sub>1</sub>) qui porte le plus de cholestérol (46%). Le traitement avec *Po* entraîne, une diminution des teneurs en cholestérol des VLDL (-66%), des

LDL-HDL<sub>1</sub> (-80%) et une augmentation du cholestérol des HDL<sub>2</sub> (+38%), sans influencer significativement sur les HDL<sub>3</sub> (**Tableau X**).

**Tableau X. Teneurs plasmatiques en cholestérol total et sa répartition au niveau des lipoprotéines (mmol.L<sup>-1</sup>)**

	CT	C-VLDL	C-LDL-HDL <sub>1</sub>	C-HDL <sub>2</sub>	C-HDL <sub>3</sub>
<b>HD</b>	5,52 ± 0,40	1,18 ± 0,02	2,44 ± 0,04	0,92 ± 0,02	0,78 ± 0,03
		<b>22%</b>	<b>46%</b>	<b>17%</b>	<b>15%</b>
<b>HD-Po</b>	3,22 ± 0,12**	0,40 ± 0,03***	0,49 ± 0,03***	1,49 ± 0,02**	0,81 ± 0,02
		<b>13%</b>	<b>15%</b>	<b>47%</b>	<b>25%</b>

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. CT : cholestérol total. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\*P < 0,01 ; \*\*\*P < 0,001.

### 9.2. Répartition des triglycérides

L'extrait aqueux de *Po* entraîne une réduction de la triglycéridémie (-63%). Chez le groupe HD traité, comparé au non traité, les teneurs en TG des VLDL, des LDL-HDL<sub>1</sub> et des HDL<sub>2</sub> sont diminuées (-73, -73 et -40%, respectivement), alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau des HDL<sub>3</sub>.

Par ailleurs, la répartition des TG entre les différentes fractions de lipoprotéines, chez les deux groupes de rats, montre que la plus grande proportion est retrouvée dans les VLDL (40 et 53%, chez les groupes HD-Po et HD, respectivement). Cependant, les TG portés par les LDL-HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> et HDL<sub>3</sub>, représentent respectivement 23, 19 et 18%, chez le groupe HD-Po vs 30%, 11% et 06% chez le groupe HD (**Tableau XI**).

**Tableau XI. Teneurs plasmatiques en triglycérides et leurs répartitions au niveau des lipoprotéines (mmol.L<sup>-1</sup>)**

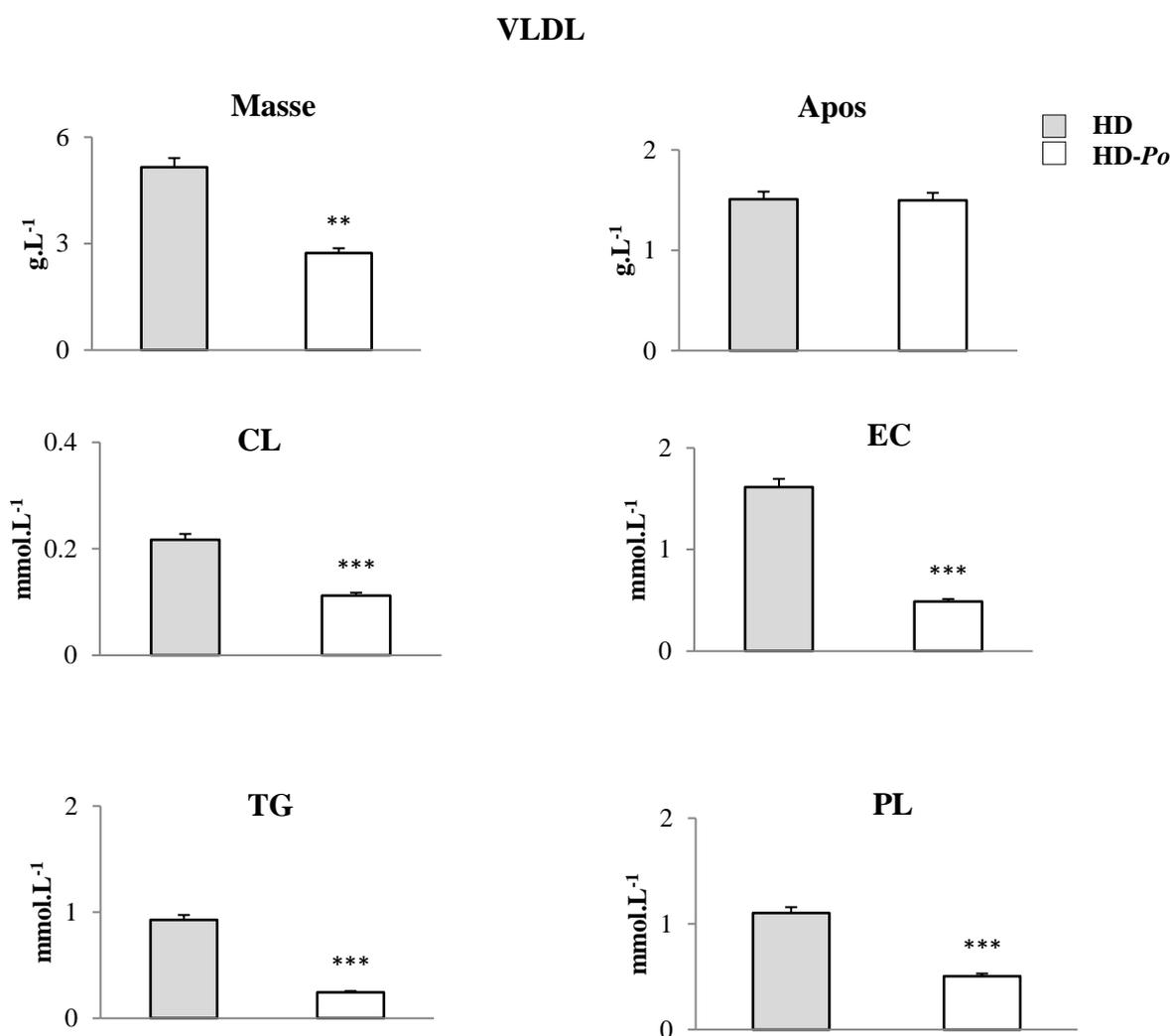
	TG	TG-VLDL	TG-LDL-HDL <sub>1</sub>	TG-HDL <sub>2</sub>	TG-HDL <sub>3</sub>
<b>HD</b>	1,78 ± 0,16	0,93 ± 0,07	0,52 ± 0,03	0,20 ± 0,05	0,11 ± 0,04
		<b>53%</b>	<b>30%</b>	<b>11%</b>	<b>6%</b>
<b>HD-Po</b>	0,65 ± 0,09***	0,25 ± 0,06***	0,14 ± 0,03***	0,12 ± 0,04**	0,11 ± 0,05
		<b>40%</b>	<b>23%</b>	<b>19%</b>	<b>18%</b>

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. CT : cholestérol total. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\*P < 0,01 ; \*\*\*P < 0,001.

### 9.3. Teneurs et composition des VLDL

La masse des lipoprotéines, exprimée en  $\text{g.L}^{-1}$ , représente la somme des contenus en apolipoprotéines, en TG, en PL en CL et en EC.

Quantitativement, la masse des VLDL est 1,9-fois plus faible chez le groupe de rats traités, rapport aux rats non traités. Qualitativement, une diminution des TG (-73%), des PL (-54%), du CL (-50%) et des EC (-70%) est notée, chez le groupe HD-Po, comparé au groupe HD. En revanche, aucune différence significative n'est observée, en ce qui concerne le contenu en apolipoprotéines, chez les deux groupes (**Fig. 16**).

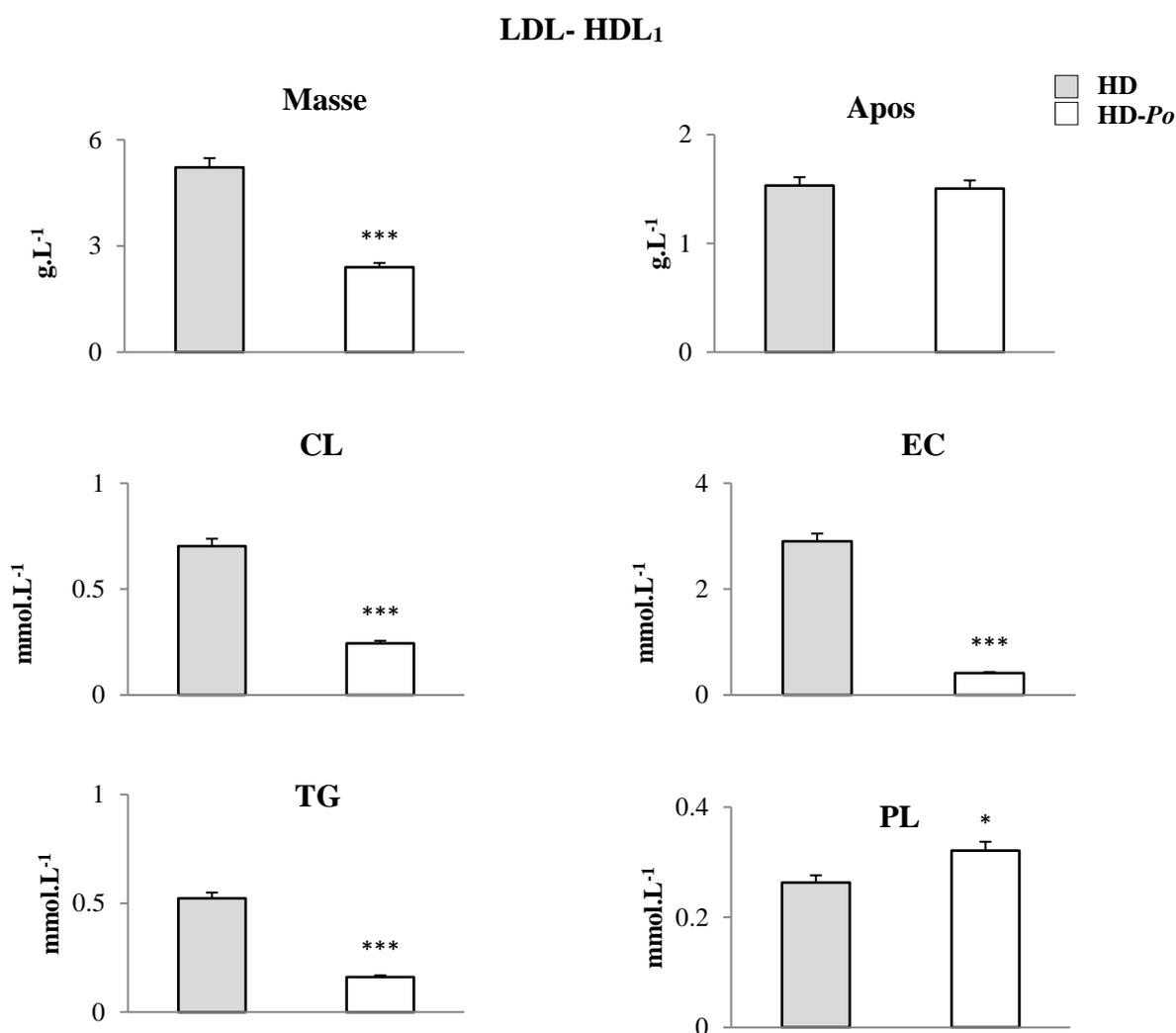


**Fig. 16. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Apos : apolipoprotéines ; CL : cholestérol libre ; EC : Esters de cholestérol, TG : triglycérides ; PL : phospholipides. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

#### 9.4. Teneurs et composition des LDL- HDL<sub>1</sub>

La masse des LDL-HDL<sub>1</sub> est 2,2-fois plus faible, chez le groupe consommant le régime supplémenté avec l'extrait aqueux de *Po*, par rapport au groupe consommant le régime standard. En effet, une diminution significative des teneurs en TG (-73%), en CL (-66%) et en EC (-86%) est notée, chez le groupe HD-*Po*, comparé au groupe HD. Inversement, les teneurs en PL sont augmentées de 23%. Cependant, aucune différence significative n'est notée dans le contenu en apolipoprotéines, chez les deux groupes de rats (**Fig. 17**).

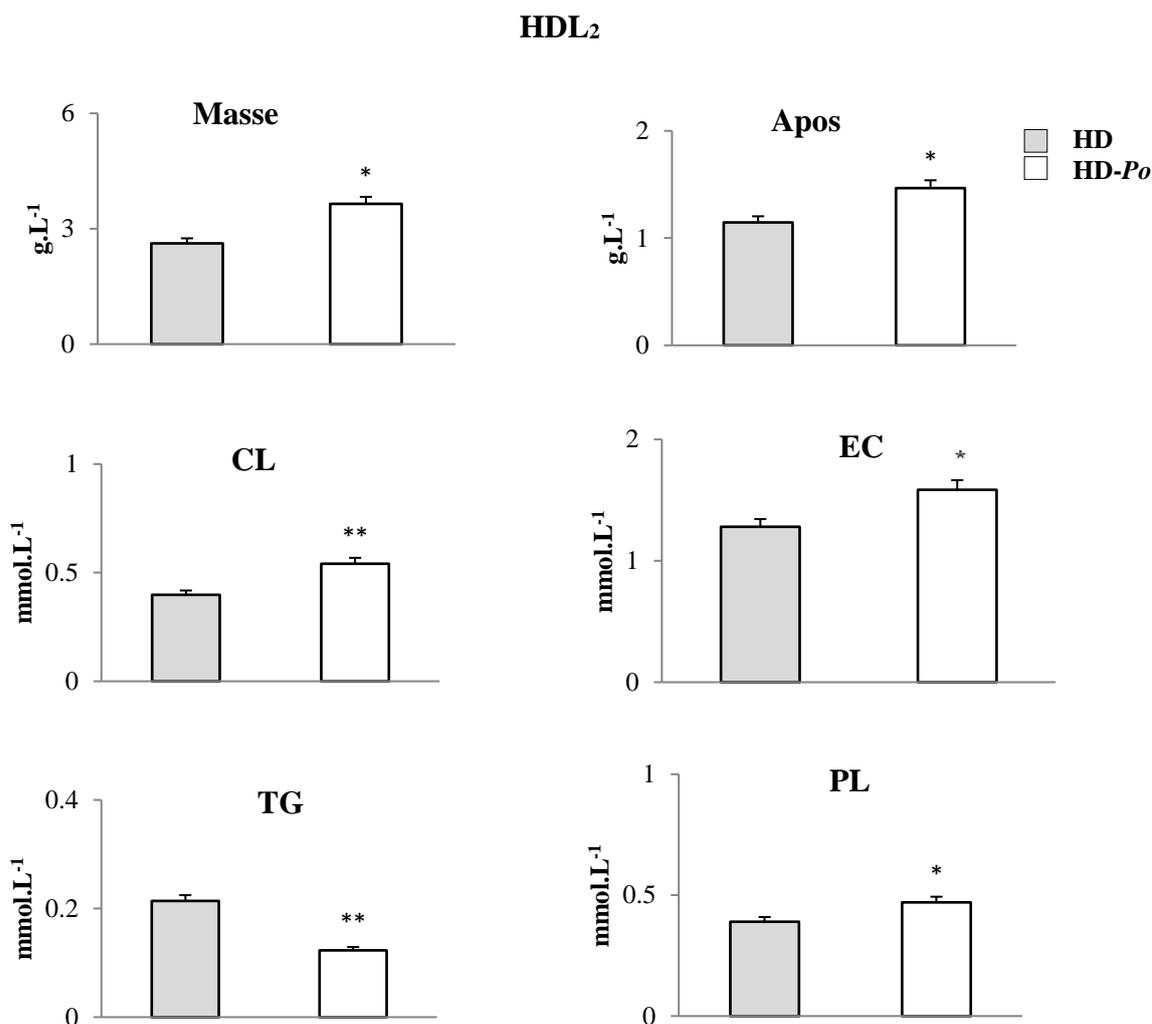


**Fig. 17. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL<sub>1</sub>**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-*Po* : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Apos : apolipoprotéines ; CL : cholestérol libre ; EC : Esters de cholestérol, TG : triglycérides ; PL : phospholipides. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

#### 9.4. Teneurs et composition des HDL<sub>2</sub>

Chez les rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités avec l'extrait aqueux de *Po*, la masse des HDL<sub>2</sub> est 1,4-fois plus élevée, par rapport à celle des rats non traités. La composition des HDL<sub>2</sub> montre une augmentation du contenu en apo (+22%), PL (+17%), CL (+35%) et EC (+19%), alors qu'une réduction des teneurs en TG (-40%) est notée (**Fig. 18**).

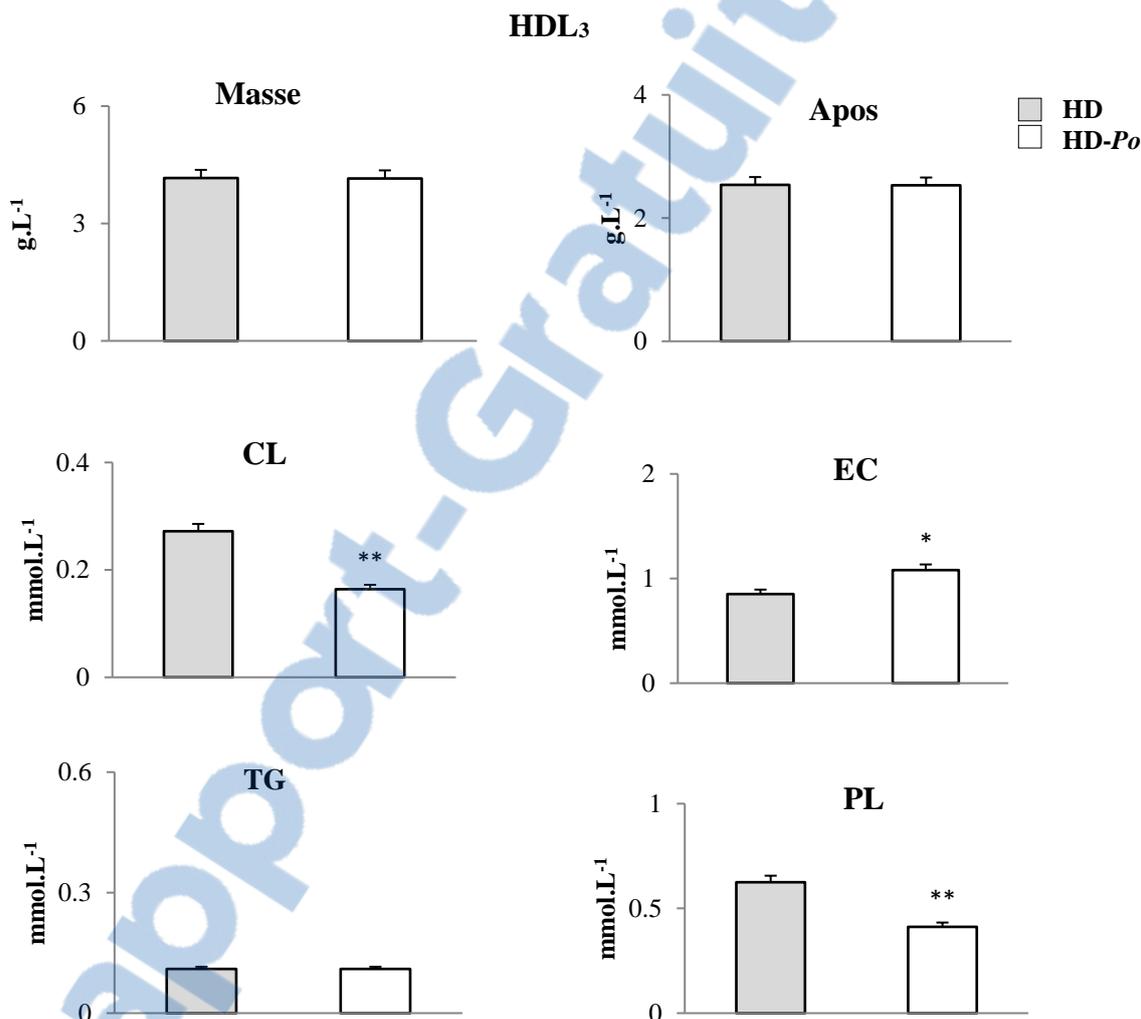


**Fig. 18. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL<sub>2</sub>**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Apos : apolipoprotéines ; CL : cholestérol libre ; EC : Esters de cholestérol, TG : triglycérides ; PL : phospholipides. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

### 9.5. Teneurs et composition des HDL<sub>3</sub>

Aucune différence significative n'est notée au niveau de la masse des HDL<sub>3</sub>, entre les deux groupes de rats. Qualitativement, une réduction des teneurs en PL (-35%) et en CL (-41%) est observée, chez le groupe traité, comparé au non traité, associée à une augmentation des taux d'EC (+21%). Cependant, les teneurs en TG et en apos n'ont révélé aucune différence significative, entre les deux groupes (**Fig. 19**).



**Fig. 19. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL<sub>3</sub>**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Apos : apolipoprotéines ; CL : cholestérol libre ; EC : Esters de cholestérol, TG : triglycérides ; PL : phospholipides. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

## 10. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase

La consommation d'un régime, supplémenté en extrait aqueux de *Po*, induit une stimulation de l'activité LCAT, qui est 1,6-fois plus élevée, par rapport au groupe HD non traité. Une augmentation des teneurs plasmatiques en apo A-I (+51%), qui est le cofacteur-activateur de la LCAT et en EC des HDL<sub>2</sub> (+19%), qui est le produit de la réaction enzymatique de la LCAT, est notée, chez le groupe HD-*Po*, comparé au groupe HD.

Néanmoins, le contenu en PL-HDL<sub>3</sub>, substrat de l'enzyme et la teneur en CL-HDL<sub>3</sub>, accepteur du groupement acyl de la lécithine, sont, respectivement, diminués de 35 et 41%, (**Tableau XII**).

**Tableau XII. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase et teneurs en apo A-I, CL-HDL<sub>3</sub>, PL-HDL<sub>3</sub> et EC-HDL<sub>2</sub>**

Groupes	LCAT (nmol.mL <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	apo A-I (g.L <sup>-1</sup> )	CL-HDL <sub>3</sub> (mmol.L <sup>-1</sup> )	PL-HDL <sub>3</sub> (mmol.L <sup>-1</sup> )	EC-HDL <sub>2</sub> (mmol.L <sup>-1</sup> )
HD...	40,80 ± 2,95	1,21 ± 0,12	0,27 ± 0,02	0,63 ± 0,06	1,28 ± 0,17
HD-Po	65,30 ± 4,22**	2,46 ± 0,20***	0,16 ± 0,04**	0,41 ± 0,06**	1,58 ± 0,11*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Apo A-I : apolipoprotéines A-I ; CL : cholestérol libre ; EC : Esters de cholestérol, PL : phospholipides. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01 ; \*\*\*P < 0,001.

## 11. Evaluation du statut redox

### 11.1. Teneurs de certains marqueurs du stress oxydant

Chez le groupe rendu hypercholestérolémique diabétique traité, comparé au groupe non traité, les valeurs de l'albumine plasmatique sont 1,1-fois plus élevées. Inversement, l'activité de l'Aspartate aminotransférase (AST) est réduite de -23%, et celle de l'Alanine aminotransférase (ALT) de -13%. De même, le taux plasmatique d'acide urique est 1,3-fois plus faible. (**Tableau XIII**).

**Tableau XIII. Concentrations de certains marqueurs du stress oxydant**

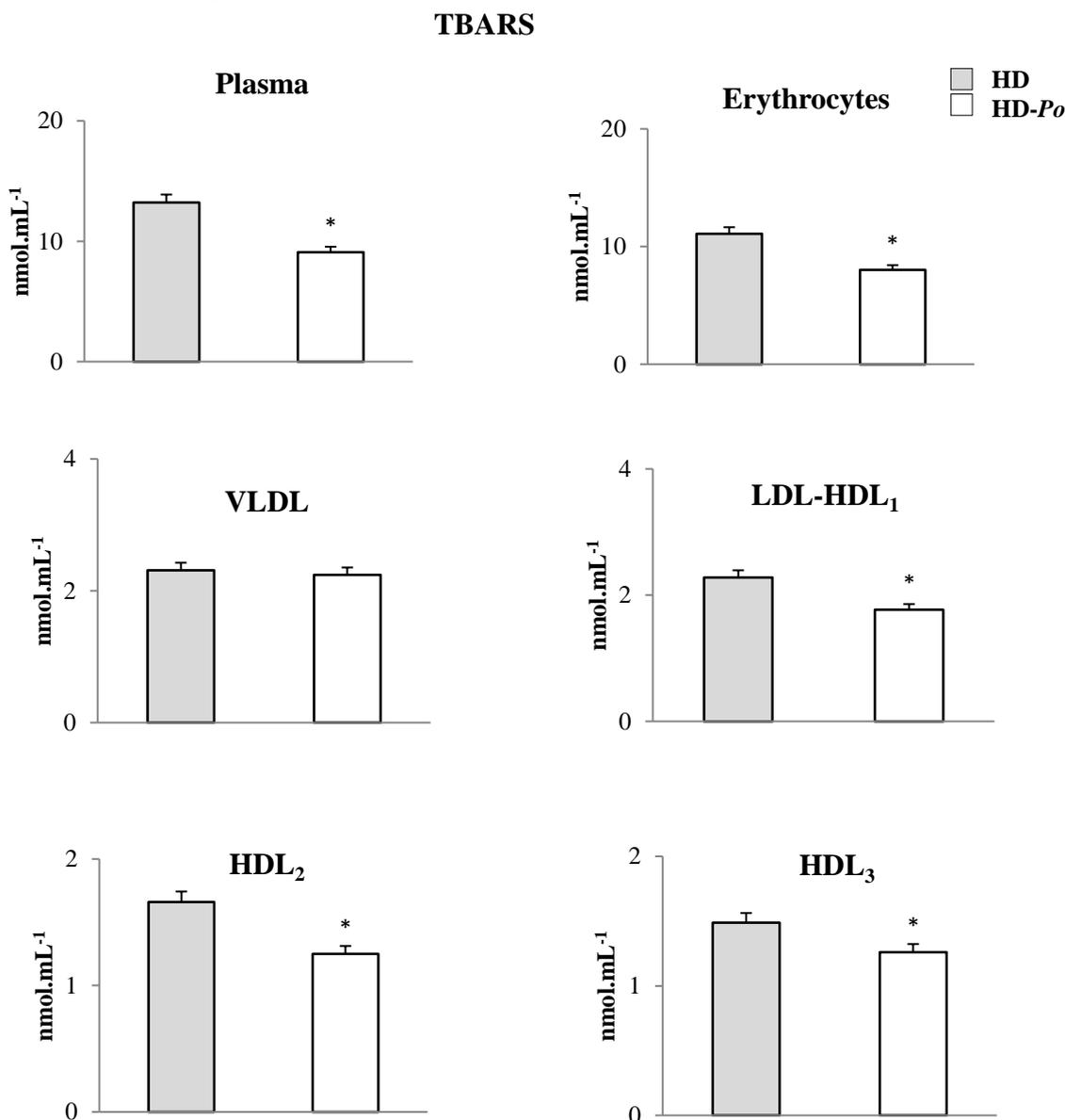
	Albumine (g.L <sup>-1</sup> )	Acide urique (µmol.L <sup>-1</sup> )	AST (U.L <sup>-1</sup> )	ALT (U.L <sup>-1</sup> )
HD	23,84 ± 1,56	386,04 ± 18,19	91,46 ± 3,56	74,27 ± 2,39
HD-Po	26,40 ± 1,21*	304,08 ± 16,69*	70,74 ± 2,96*	64,38 ± 2,84*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05.

## 11.2. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

### 11.2.1. TBARS des érythrocytes, du plasma et des différentes fractions de lipoprotéines

Chez le groupe HD-Po vs HD une diminution de la concentration en TBARS des érythrocytes (-28%), du plasma (-31%), des LDL-HDL<sub>1</sub> (-22%), des HDL<sub>2</sub> (-25%) et des HDL<sub>3</sub> (-15%), est observée. Cependant, aucune différence significative des teneurs en TBARS n'est observée, au niveau des VLDL (Fig. 20).

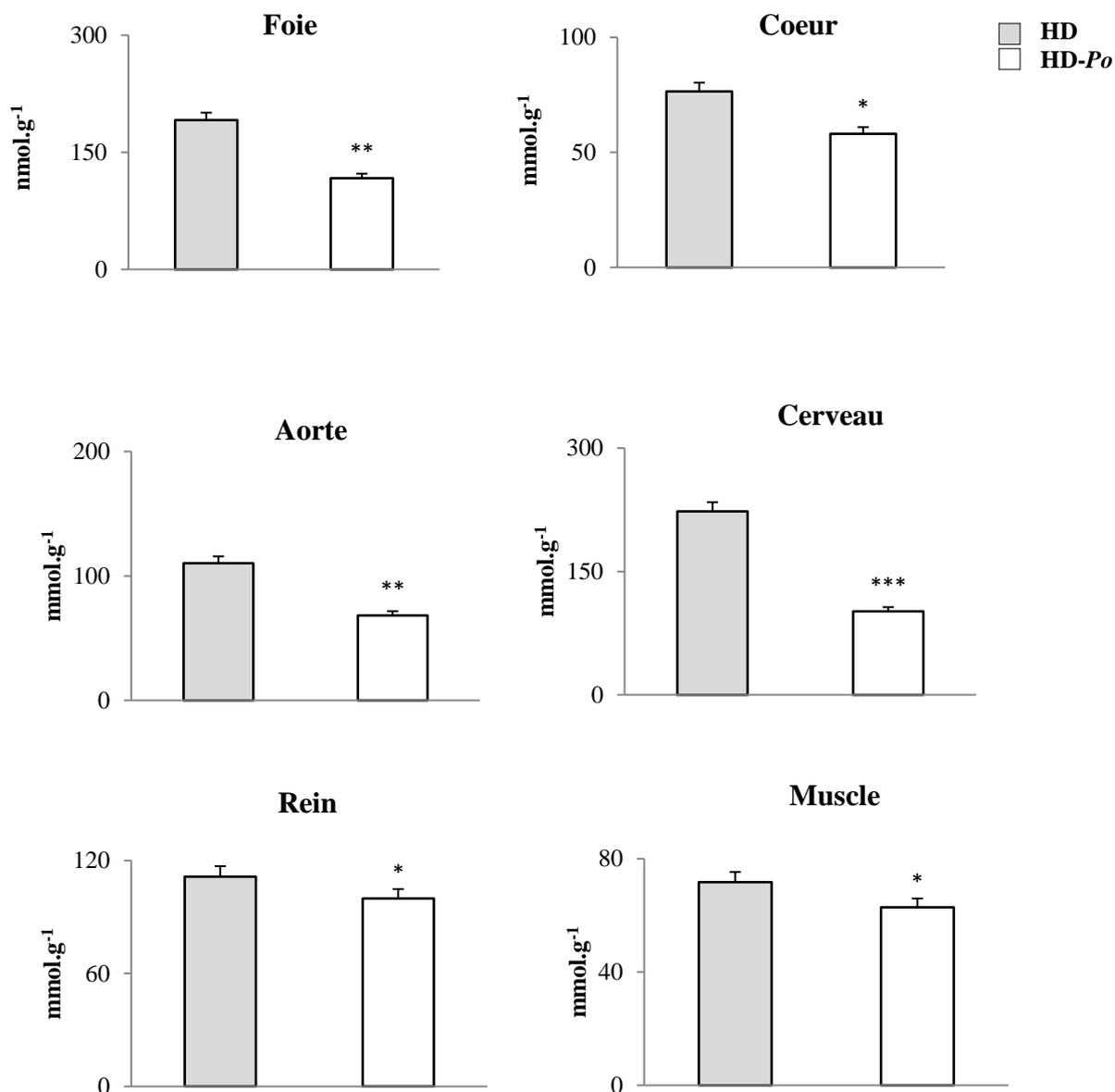


**Fig. 20.** Concentrations en TBARS des érythrocytes, du plasma et des lipoprotéines.

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ .

### 11.2.2. Concentrations en TBARS tissulaires

Les rats traités avec l'extrait de *Po*, comparés aux non traités, présentent une réduction des concentrations en TBARS, au niveau du foie, du cœur, de l'aorte, du cerveau du rein et du muscle. En effet, les valeurs sont diminuées, respectivement de 39, 29, 38, 54, 10 et 17% (Fig.21).

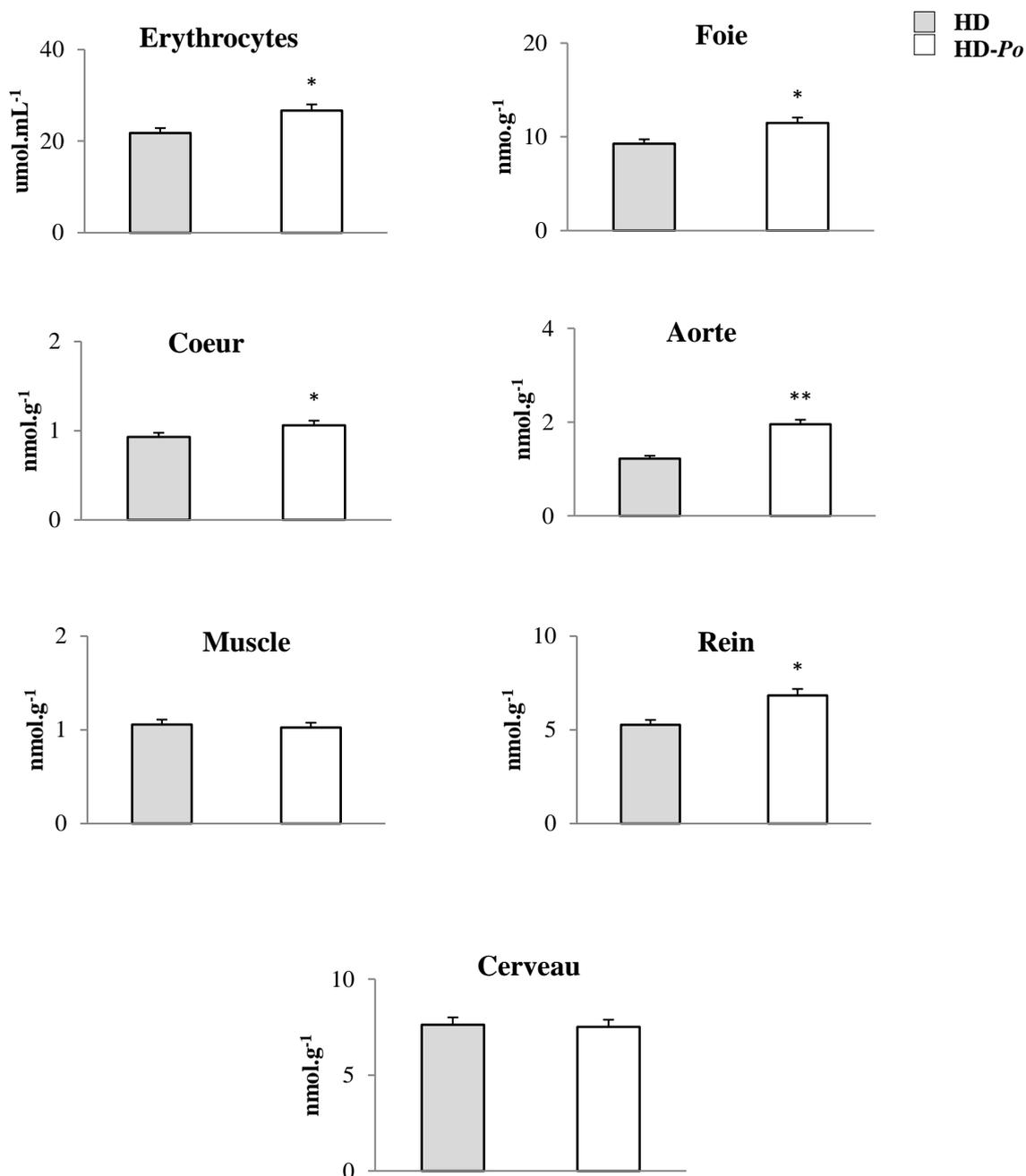


**Fig. 21. Concentrations en TBARS tissulaires**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

### 11.3. Concentrations tissulaires et érythrocytaires en glutathion réduit (GSH)

Chez le rat HD traité avec l'extrait aqueux de *Po*, les concentrations en GSH sont, respectivement 1,2-, 1,4-, 1,1-, 1,6- et 1,3-fois plus élevées au niveau des érythrocytes, du foie, du cœur, de l'aorte et des reins, par rapport au groupe non traité. Par contre, aucune différence significative n'est notée, au niveau du cerveau et du muscle (Fig. 22).



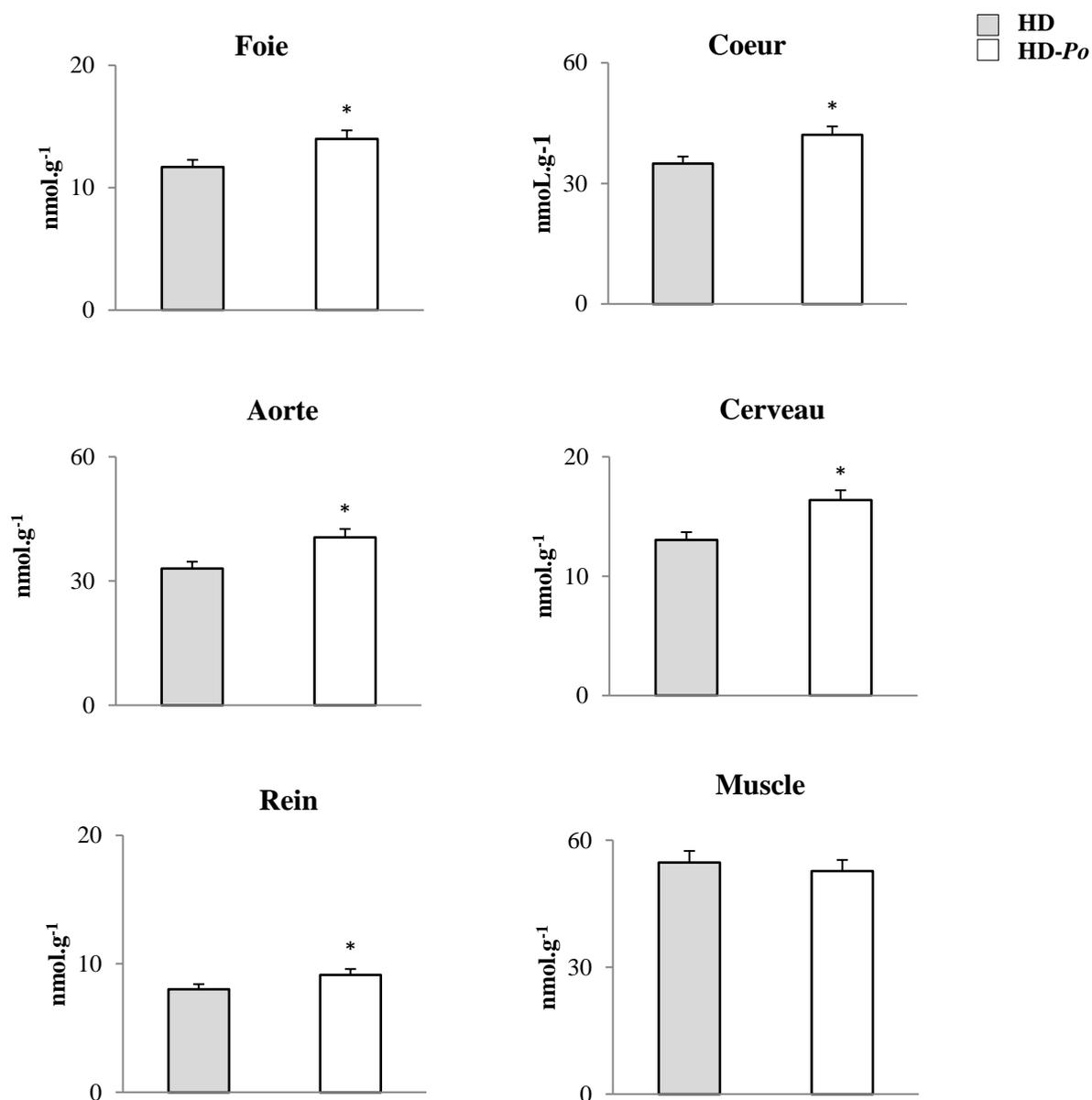
**Fig. 22. Concentrations tissulaires et érythrocytaires en glutathion réduit**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

## 12. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires

### 12.1. Activité de la superoxyde dismutase

Après 28 jours de traitement, l'activité de la SOD est augmentée de 21% dans le foie, de 17% dans le cœur, de 18% dans l'aorte, de 16% dans les reins et de 20% dans le cerveau. En revanche, aucune différence n'est notée au niveau des muscles (**Fig. 23**).

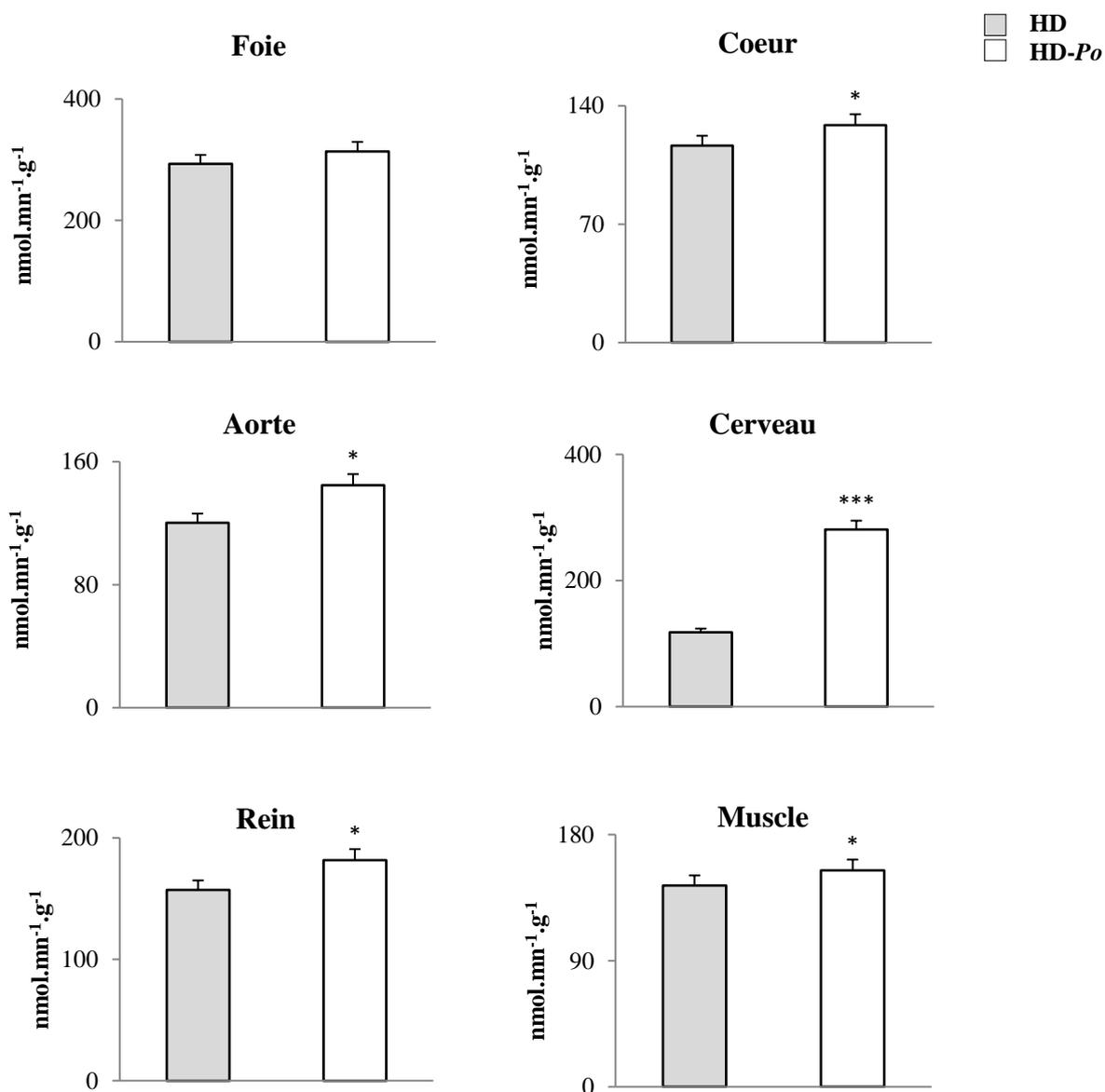


**Fig. 23. Activité de la superoxyde dismutase**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ .

### 12.2. Activité de la catalase

Chez le groupe HD-Po vs HD, l'activité de la CAT est plus élevée, au niveau du cœur et des muscles (1,1-fois), de l'aorte et des reins (1,2-fois), ainsi que celle du cerveau (2,4-fois). Cependant, aucune différence significative n'est notée au niveau hépatique (**Fig. 24**).

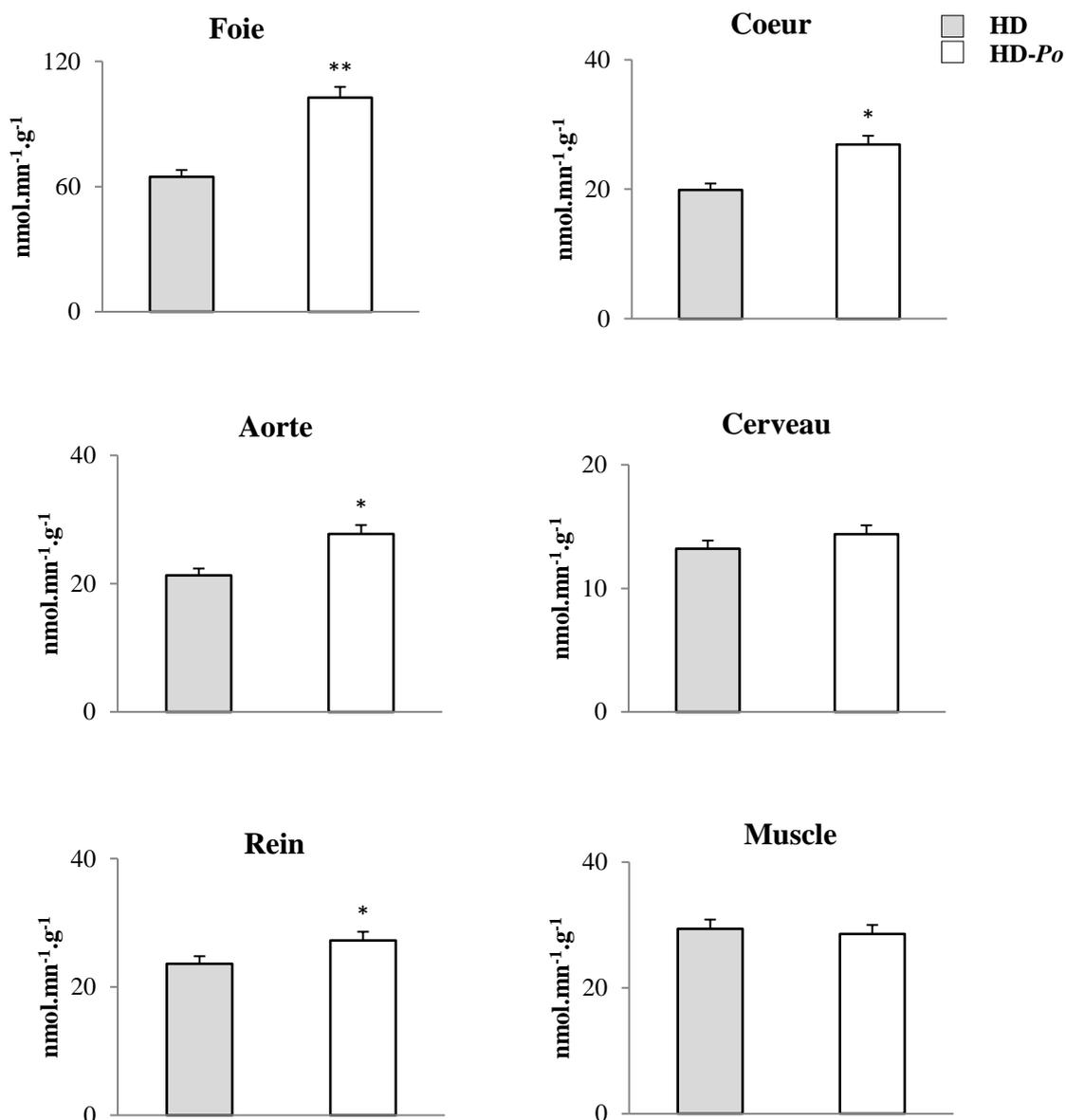


**Fig. 24. Activité de la catalase**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

### 12.3. Activité de la glutathion peroxydase

L'activité de la GPx hépatique est 1,6-fois plus élevée, chez les rats traités par rapport aux non traités, aussi bien au niveau du cœur (1,3-fois), de l'aorte (1,3-fois) et des reins (1,2-fois). Cependant, aucune différence significative n'est retrouvée, dans l'activité de la GPx, au niveau du cerveau et du muscle, entre les deux groupes HD-Po et HD (Fig. 25).

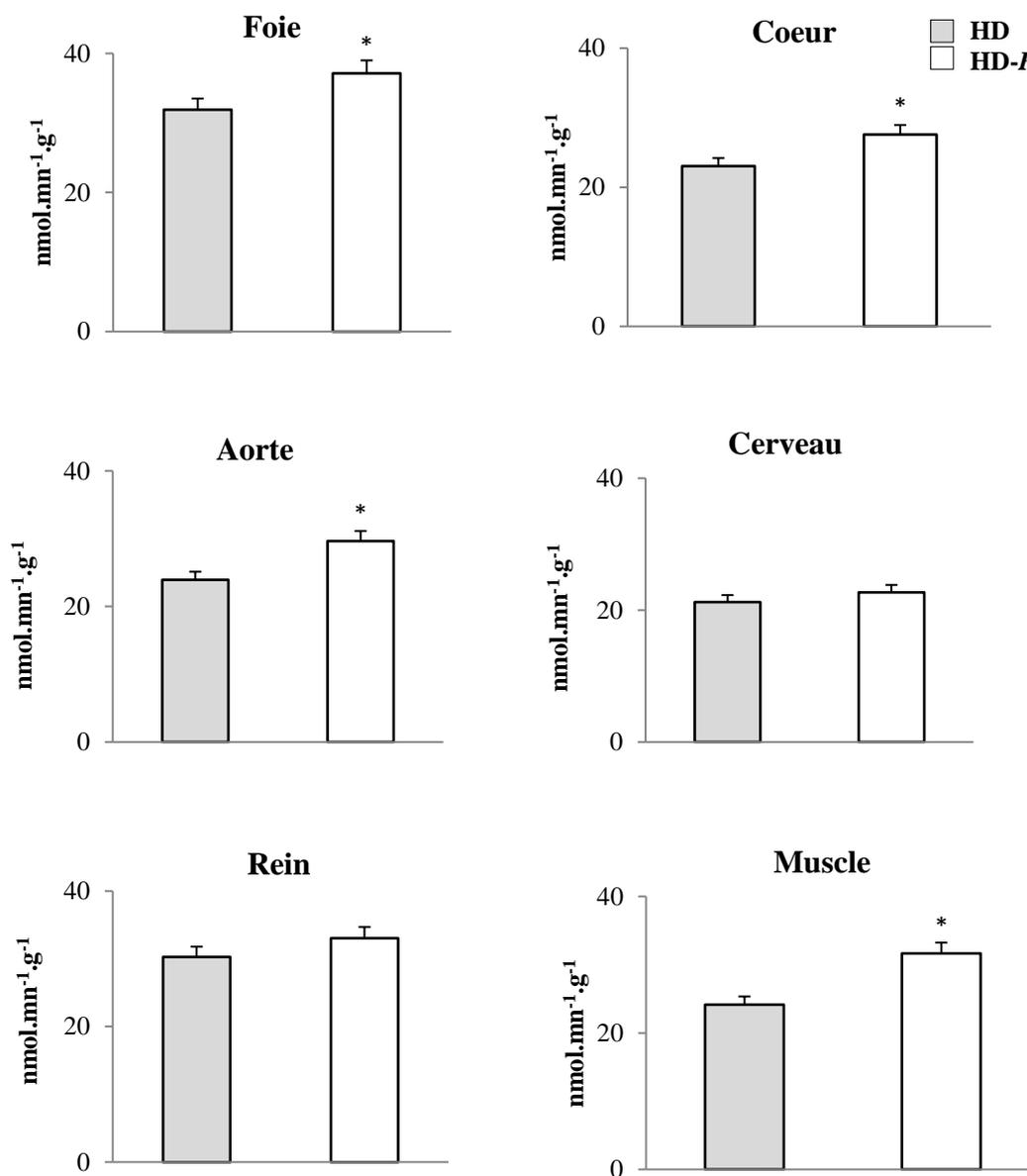


**Fig. 25. Activité de la glutathion peroxydase**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

#### 12.4. Activité de la glutathion réductase

Le traitement avec l'extrait aqueux de *Po* induit une augmentation de l'activité de la GRed au niveau du foie et du cœur (1,2-fois), de l'aorte et du muscle (1,3-fois). En revanche, des valeurs similaires sont retrouvées, au niveau cérébral et rénal (Fig. 26).

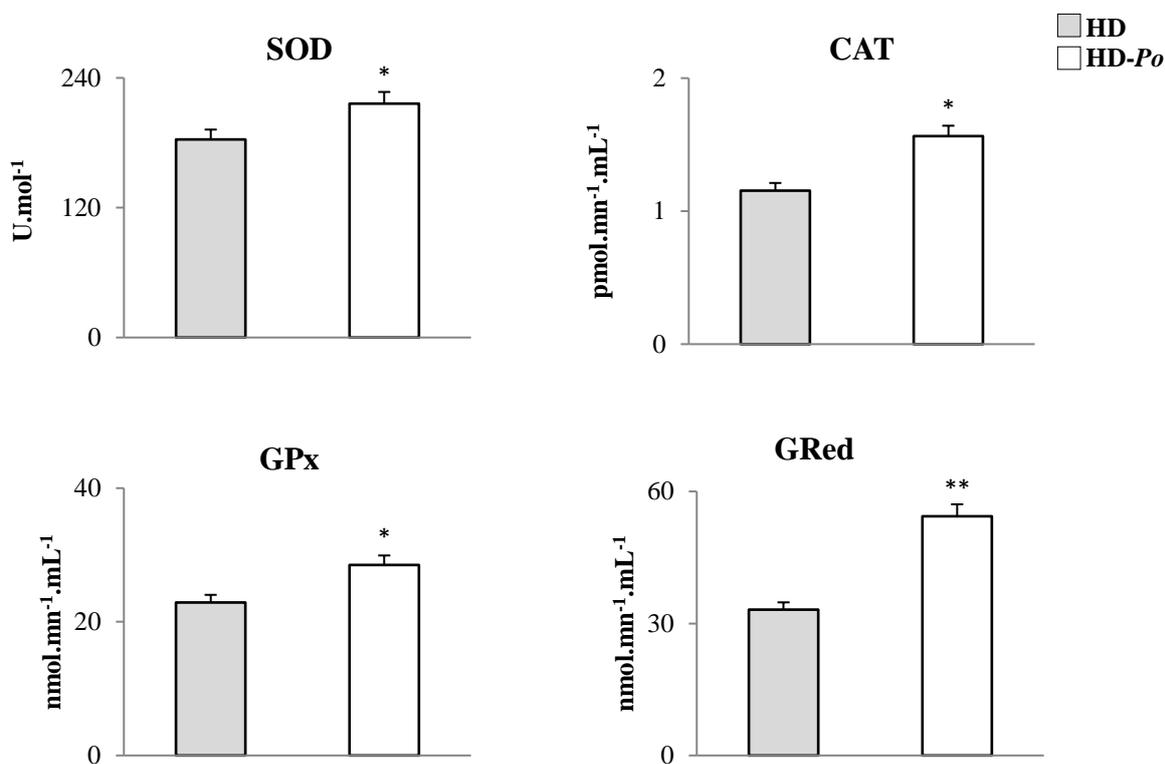


**Fig. 26. Activité de la glutathion réductase (GRed)**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ .

### 12.5. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires

Les rats HD-*Po*, comparés aux HD non traités, montrent, au niveau des érythrocytes, une amélioration des activités enzymatiques de la SOD et de la CAT, qui augmentent, respectivement de 16% et 26%, celles de la GPx de 20% et celle de la GRed de 39% (**Fig. 27**).

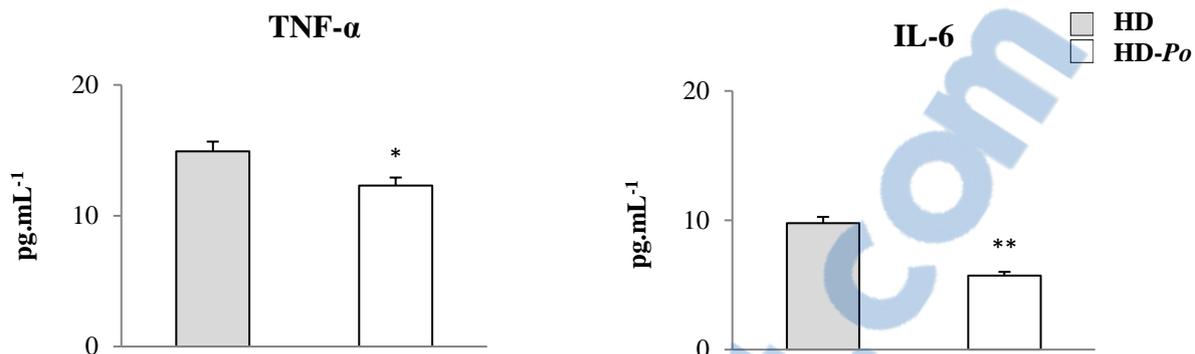


**Fig. 27. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-*Po* : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

### 13. Concentrations plasmatiques du facteur de nécrose tumorale- $\alpha$ et de l'inter-leukine-6

Chez le groupe hypercholestérolémique-diabétique traité avec l'extrait aqueux de *Po*, comparé au non traité, les concentrations plasmatiques en TNF- $\alpha$  sont diminuées de 18%. Par ailleurs, les teneurs en IL-6 sont réduites de 41% (**Fig. 28**).



**Fig. 28. Concentrations plasmatiques en TNF- $\alpha$  et en IL-6**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

## **DISCUSSION**

L'utilisation des plantes, à des fins curatives, est largement répandue à travers le monde. De nombreuses études ont rapporté les effets bénéfiques de certaines plantes et/ou leurs extraits sur le diabète, l'hypercholestérolémie, le statut antioxydant et le processus inflammatoire (Azhar *et al.*, 2015 ; Ntchapda *et al.*, 2015 ; Agbai *et al.*, 2015 ; Andrade-Cetto *et al.*, 2015 ; Otunola *et al.*, 2014).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui consiste en l'évaluation des effets de l'extrait aqueux de *Po*, sur certains paramètres lipidiques, glucidiques, le statut redox et les marqueurs de l'inflammation, chez le rat soumis à un régime hypercholestérolémiant et rendu diabétique par injection de STZ.

Préalablement à la partie expérimentale, nos résultats quand à l'analyse phytochimique de *Portulaca oleracea*, révèlent la présence de composés bioactifs, tels que les tanins, les polysaccharides, les alcaloïdes et les flavonoïdes ; ce qui confère à cette plante une haute valeur nutritionnelle. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres auteurs (Melilli *et al.*, 2019 ; Meng *et al.*, 2016 ; Zhao *et al.*, 2015 ; Zhou *et al.*, 2015).

Lors de notre expérimentation, les rats hypercholestérolémiques subissent une perte pondérale significative, après injection intra-péritonéale de STZ, utilisée afin d'induire le diabète, et provoquant ainsi une perte sévère du poids corporel, chez le rat Wistar (Omary *et al.*, 2011). Cette réduction pondérale peut être due à une augmentation de la lipolyse, une fonte musculaire et une perte des protéines tissulaires, causée par l'insulino-déficience (Ahmad *et al.*, 2016).

Toutefois, aucune différence significative de la nourriture ingérée n'est notée, après comparaison entre le groupe de rats traité et non traité par l'extrait aqueux de *Po*. L'amélioration du poids corporel, notée chez le groupe HD-*Po* vs HD, ne semble être due qu'à la consommation de l'extrait aqueux du pourpier, confortée par l'augmentation significative du poids du muscle et de son poids relatif chez ce groupe.

Nos résultats concordent avec ceux de Solanki & Bhavsar (2015), suite à l'administration de *Ficus racemosa*, à la dose de 250 et 500 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 8 semaines, à des rats rendus diabétiques par injection de STZ. De même que *Berberis integerrima* (500 mg.kg<sup>-1</sup> PC), administrée, par gavage, durant 6 semaines, aux rats rendus diabétiques par la STZ (Ashraf *et al.*, 2013).

Aussi, l'administration intra-gastrique d'un polysaccharide, appelé CPOP (crude *Portulaca oleracea* L. polysaccharide), extrait du pourpier, à la dose de 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC, est associé à une amélioration significative du PC, chez le rat diabétique (**Bai et al., 2016**).

Cependant, les polysaccharides, extraits à partir de *Po* (100, 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC), mélangés à l'eau abreuvant les rats, pendant un mois, ne possèdent aucune action sur leur poids corporel (**Xiaojuan et al., 2011**). Ce qui indiquerait que la réduction de la perte pondérale, chez le rat diabétique, serait dose-dépendante et en rapport avec le mode d'administration de l'extrait de *Po*.

Il est vrai que certains traitements, à base d'extraits aqueux de plantes médicinales, ne parviennent pas à prévenir la perte pondérale, chez le rat diabétique. En effet, **Elobeid & Ahmed, (2015)**, n'ont révélé aucune influence sur le PC du rat obèse, rendu diabétique par la STZ, après administration de l'extrait aqueux du fruit d'*Embllica officinalis*, par voie orale, à la dose de 400 et 200 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 11 semaines.

Dans notre étude, l'impact positif de *Po* sur le poids corporel est accompagné d'une baisse significative du poids relatif du foie, chez le groupe HD-*Po* vs HD. Ceci témoigne de l'efficacité de cette plante, à prévenir l'hypertrophie hépatique, probablement par l'amélioration de l'excrétion des lipoprotéines par ce dernier, l'augmentation de l'insulinémie, la réduction de l'afflux des AG et l'accumulation de TG dans le foie (**Eleazu et al., 2013 ; Zafar & Naqvi, 2010**).

D'autres travaux confirment nos résultats, telles que l'expérience de **Barakat & Mahmoud, (2011)**, menée chez le rat rendu hypercholestérolémique, traité avec une mixture *Po*/citrouille à ratio (5/1), pendant 6 semaines ; et celle de **Jeong et al., (2010)**, suite à la consommation d'*Agaricus bisporus* (200mg. kg<sup>-1</sup> PC), pendant 4 semaines, par le rat rendu diabétique par STZ et hypercholestérolémique.

De même, **El-Newary (2016)**, a rapporté l'effet bénéfique, sur le foie, d'un extrait éthanolique de *Po* (1g.kg<sup>-1</sup> PC), administré par gavage, avec une infusion pendant 8 semaines, chez le rat hyperlipidémique.

De plus, *Colocasia esculent* et *Musa paradisiaca*, incorporées dans le régime du rat rendu diabétique par la STZ, améliorent, significativement, le poids corporel et le poids relatif du foie (**Eleazu et al., 2013**).

La mesure des teneurs en urée et en créatinine permet d'évaluer l'état de la fonction rénale. Nos résultats révèlent une amélioration des teneurs en urée et en créatinine, au niveau plasmatique et urinaire après traitement avec l'extrait aqueux de *Po* ; ce qui peut être expliqué par l'amélioration des paramètres glycémiques et antioxydants.

Un tel potentiel néphroprotecteur a été constaté par **Nabi et al., (2013)**, chez le rat rendu diabétique par la STZ, consommant pendant un mois, un régime enrichi en extrait aqueux de *Piper longun* (200 mg.kg<sup>-1</sup> PC).

Aussi, la diminution des teneurs en protéines totales hépatiques et plasmatiques, chez le groupe HD-*Po* vs HD, rend compte de la légitimité d'utiliser *Po* afin d'améliorer la fonction rénale.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Ashraf et al., (2012)**, suite à l'administration, par gavage, de l'extrait aqueux de *Berberis intergerrima*, à la dose de 500 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 6 semaines, chez le rat rendu diabétique par la STZ.

L'amélioration de la fonction rénale peut être due à la diminution de la concentration du glucose plasmatique et à la glycosylation ultérieure des membranes basales rénales (**Guenzet et al., 2014**).

**À J28, chez le rat hypercholestérolémique et rendu diabétique par la STZ, le traitement avec l'extrait aqueux de *Po* améliore la fonte musculaire et la perte pondérale, sans influencer sur la nourriture ingérée. De plus, il améliore l'hypertrophie hépatique et la fonction rénale, conséquent aux complications diabétiques.**

Chez le groupe HD-*Po* vs HD, l'évaluation du profil lipidique révèle de faibles teneurs en CT plasmatique, principalement dues à une diminution du C-VLDL et du C-LDL-HDL<sub>1</sub>, associées à une augmentation significative du C-HDL<sub>2</sub>.

Ces résultats concordent avec ceux de **Amaechi et al., (2015)**, chez le rat rendu diabétique par la STZ et consommant un régime enrichi avec un extrait éthanolique de *Solenostemon monostachyus* (250 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 21 jours

Aussi, **Ntchapda et al., (2015)**, ont rapporté l'effet hypolipidémique de l'extrait aqueux de *Zanthoxylum heitzii* (225, 300, 375 mg.kg<sup>-1</sup> PC), chez le rat hypercholestérolémique, après 4 mois de son administration.

Dans notre étude, la réduction du C-VLDL et du C-LDL-HDL<sub>1</sub>, en réponse au traitement avec *Po*, reflète les faibles teneurs en cholestérol total hépatique qui peuvent être une conséquence à une faible absorption ou à une augmentation de l'excrétion des lipides fécaux et du cholestérol (Shehata & Soltan, 2012). En effet, nos résultats montrent une élévation du taux de cholestérol dans les fèces, similaire à celle obtenue par Zidan *et al.*, (2014).

L'amélioration de la cholestérolémie, par l'extrait de *Po*, peut être due à l'effet combiné des  $\omega$ 3 et des fibres contenues dans *Po*. Les fibres alimentaires peuvent promouvoir l'élimination biliaire et le manque de bile, dans le corps, peut être reproduit à partir du cholestérol alimentaire diminuant, ainsi, le cholestérol sérique (Shehata & Soltan, 2012).

De plus, plusieurs extraits aqueux de plantes présentent un pouvoir hypocholestérolémiant, chez le rat rendu hypercholestérolémique, comme celui de l'extrait de *Lagenaria siceraria*, consommé pendant 8 semaines, à la dose de 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC (Aslam & Najam, 2014) ; et celui de *Zanthoxylum heitzii* (225, 300 et 375 mg.kg<sup>-1</sup> PC), après 4 mois de son administration (Ntchapda *et al.*, 2015).

Par ailleurs, le régime avec l'extrait de *Po*, de notre étude, provoque une diminution des triglycérides au niveau plasmatique, mise en évidence par les faibles teneurs des TG, au niveau des fractions lipoprotéiques VLDL, LDL-HDL<sub>1</sub> et HDL<sub>2</sub> et du foie.

Ces résultats sont en accord avec ceux notés, chez le rat rendu diabétique par la STZ, recevant l'extrait hydroalcoolique de *Securigera securidaca*, pendant 4 semaines (Rajaei *et al.*, 2015) ; et ceux observés, chez le rat hypercholestérolémique (Guenzet *et al.*, 2014 ; Zidan *et al.*, 2014).

De même, l'effet hypolipémiant de l'extrait de *Po* résulte, probablement, de la réduction/inhibition de l'absorption intestinale du cholestérol et de son transport inverse élevé (Catapano *et al.*, 2014).

Le transport du cholestérol de la plaque artérielle vers le foie est effectué grâce à la lécithine: cholestrol acyltransférase (LCAT) (Manthei *et al.*, 2016), dont l'activité est plus importante, chez le groupe traité par l'extrait aqueux de *Po*, comparé au groupe non traité, confirmant une accélération de la conversion des HDL<sub>3</sub> en HDL<sub>2</sub> et leur captation par le foie.

Cette hypothèse est confortée, par l'augmentation des teneurs plasmatiques en apo AI, cofacteur-activateur de la LCAT, en EC-HDL<sub>2</sub>, produit de la réaction enzymatique. Ainsi, une

diminution du contenu en PL-HDL<sub>3</sub>, substrat de l'enzyme et du CL-HDL<sub>3</sub>, accepteur du groupement acyl provenant de la lécithine, est notée.

La présence de composés bioactifs dans les plantes médicinales serait à l'origine de l'amélioration des paramètres lipidiques (Vázquez-Castilla *et al.*, 2013 ; Bouderbala *et al.*, 2012 ; Udem *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes, retrouvés lors de notre étude phytochimique, pourraient avoir un effet hypolipémiant, en diminuant la biosynthèse du cholestérol, par l'augmentation de l'expression de la protéine-kinase AMPc dépendante, enzyme responsable de l'inhibition de l'hydroxyméthyl-glutaril-Coenzyme A (HMG-CoA) réductase (Sharma *et al.*, 2012).

De même, ces flavonoïdes peuvent être responsables de l'amélioration de l'activité de la LCAT, enzyme responsable de la régulation des lipides sanguins et de l'incorporation du cholestérol par les HDL (Aslam & Najam, 2014).

En plus des flavonoïdes, l'extrait de *Po* contient d'autres composés bioactifs, telles que les saponines qui, selon plusieurs études, améliorent le profil lipidique, en diminuant l'absorption intestinale du cholestérol, en augmentant son excrétion fécale. De plus, les saponines augmentent l'activité de la lipoprotéine lipase, en favorisant l'élimination des acides gras circulants, ce qui induit à une réduction du CT circulant (Aslam & Najam, 2014 ; Devi & Sharma, 2004 ; Fukushima *et al.*, 1997 ; Sidhu & Oakenful 1986).

Nos résultats indiquent que l'extrait aqueux de *Po* prévient le développement de l'athérosclérose, en diminuant certains rapports d'athérogénicité, tels que CT/C-HDL, C-LDL/C-HDL, CT-C-HDL/C-HDL et apo B/apo A-I, chez le groupe traité, comparé au non traité.

Ces données concordent avec celles rapportées par Azhar *et al.*, (2015), chez le rat rendu hypercholestérolémique et traité avec l'extrait aqueux des feuilles de noix, à la dose de 200 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 4 semaines.

***Au vu de ces résultats, il apparaît que le régime supplémenté avec l'extrait aqueux de Po exerce un effet bénéfique sur les paramètres lipidiques, chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol et rendu diabétique par injection de STZ et améliore les rapports d'athérogénicité.***

Plusieurs études expérimentales ont rapporté l'effet hypoglycémiant de certaines plantes, telles que *Kalanchoe pinnata*, dont l'extrait de feuille, administré oralement, à la dose de 140

mg.kg<sup>-1</sup> PC, induit, après 4 semaines, une diminution significative du taux de glucose sanguin, chez le rat rendu diabétique par injection de STZ (**Menon et al., 2015**).

De même, l'extrait aqueux de *Po* à 1g.kg<sup>-1</sup> PC, durant 28 jours, provoque une baisse significative de la glycémie et du taux d'HbA1c, indicateur de l'équilibre glycémique, chez le rat rendu diabétique par la STZ (**Guenzet et al., 2014**).

Aussi, l'administration de l'extrait d'*Evolvulus alsinoides* (150 mg.kg<sup>-1</sup> PC), durant 45 jours, provoque une élévation de l'insulinémie, chez le rat rendu diabétique par la STZ (**Gomathi et al., 2013**).

Les résultats, obtenus dans notre étude, sont en accord avec toutes ces données. En effet, l'administration journalière de l'extrait aqueux de *Po* réduit le taux de glycémie. Cette baisse des résidus de glucose circulant est accompagnée d'une diminution significative du taux d'HbA1c et d'une augmentation de l'insulino-sécrétion. Ceci serait dû à un effet protecteur contre la dégénérescence et une stimulation de l'activité des cellules  $\beta$  pancréatiques, sécrétrices d'insuline (**Ramadan, 2017**), la fermeture des canaux K<sup>+</sup>/ATP et l'intensification de l'afflux de Ca<sup>2+</sup>, à travers les canaux calcium volto-sensibles (**Souza et al., 2011**), une favorisation de l'utilisation musculaire du glucose et l'inhibition de sa sortie du foie (**Chauhan et al., 2010 ; Malviya et al., 2010**), l'utilisation périphérique du glucose par un mécanisme extra pancréatique (**Lalromawii et al., 2014 ; Nabi et al., 2013**).

Aussi, certains composés actifs, retrouvés lors de notre analyse phytochimique de l'extrait aqueux de feuilles sèches de *Po*, tels que les terpénoïdes, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols et les polyphénols, auraient une activité insulino-mimétique (**Patel et al., 2012 ; Ayodhya et al., 2010**).

***L'extrait aqueux de Po révèle un effet hypoglycémiant, associé à une diminution significative du taux d' HbA1c et une augmentation de la sécrétion d'insuline.***

L'hypercholestérolémie et le diabète, peuvent être à l'origine d'un stress oxydant délétère, pour les cellules concernées et leurs fonctions vasculaires (**Bhattacharya et al., 2013 ; Das et al., 2012 ; Stapleton et al., 2010**).

La peroxydation lipidique est communément évaluée, par le dosage des TBARS, dont le taux réduit, noté dans notre étude, au niveau du plasma, des érythrocytes, du foie, du cœur, de l'aorte, du cerveau, du rein et du muscle du groupe HD-*Po*, par rapport au groupe HD, indique la capacité antioxydante de l'extrait aqueux de *Po*.

Nos résultats viennent soutenir ceux de l'étude menée par **Guenzet *et al.*, (2017)**, sur le rat rendu diabétique par injection de STZ, consommant un régime supplémenté avec 1 g.kg<sup>-1</sup> PC d'extrait aqueux de *Po*, pendant 4 semaines ; et ceux de **Zidan *et al.*, (2016)**, Chez le rat hypercholestérolémique traité pendant 4 semaines, avec 0,5% d'extrait aqueux de *Po*, dont les faibles teneurs en TBARS au niveau des érythrocytes, du tissu adipeux et du cœur, indiquent le potentiel réducteur de *Po* sur la peroxydation lipidique.

Dans des conditions pathologiques, l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur des pro-oxydants, favorisant une surproduction d'ERO (**Tangvarasittichai, 2015 ; Small *et al.*, 2012**).

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. Le GSH est l'un des agents le plus important de la défense antioxydante endogène, il protège les cellules contre les dommages résultant, après une exposition à des xénobiotiques et/ou à des composés naturels délétères comme les radicaux libres, les hydroperoxydes, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, connus pour causer des dommages et la mort des cellules par apoptose et nécrose (**Choi *et al.*, 2011 ; Atakisi *et al.*, 2010 ; Srinivasan *et al.*, 2010**).

Lorsque la cellule est exposée à des agents oxydants, la GPx catalyse la réduction des hydroperoxydes, incluant le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec le GSH, procurant une protection en formant le GSSG et protège contre les dommages oxydatifs (**Ferreira *et al.*, 2013**).

L'étude phytochimique, nous a permis de mettre en évidence l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Po*, suite à sa comparaison avec celle du Trolox (1g.L<sup>-1</sup> vs 422 mmol.L<sup>-1</sup>).

En effet, nos résultats, indiquent que cet extrait permet de réduire le stress oxydatif, en augmentant les teneurs en GSH au niveau des érythrocytes, du foie, du cœur, de l'aorte et du rein, en stimulant l'activité de la GPx au niveau du foie, du cœur, de l'aorte et du rein, ainsi que de la GRed au niveau du foie, du cœur, de l'aorte et du muscle. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Dkhil *et al.*, (2011)**, avec l'administration du jus de *Po* (1,5 ml.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 12 jours, à des rats mâles Wistar.

L'homéostasie du GSH est maintenue grâce à des enzymes antioxydantes (GPx, CAT et SOD) (**Abdel-Moneim *et al.*, 2010**). Lors de notre étude, les taux élevés de GSH sont corrélés avec l'augmentation de l'activité de la GPx, au niveau du foie, du cœur, de l'aorte, du rein et des érythrocytes, de la CAT, au niveau du cœur, de l'aorte, du muscle, du rein et du cerveau et de la SOD, au niveau du foie, du cœur, de l'aorte, du cerveau, et des rein.

Ces données sont similaires à celles de l'étude menée par **Sunmonu et al., (2015)**, sur le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec l'extrait aqueux des racines de *Strophanthus hispidus* (500 et 1000 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 14 jours.

Les propriétés antioxydantes de *Po* sont probablement dues à sa richesse en composés bioactifs, tels que les vitamines (A, B1, B2, B3, B6, B9, C, E), les minéraux (zinc, potassium, phosphore, manganèse, magnésium, fer et calcium), les  $\omega$ 3, les flavonoïdes, les saponines, les polysaccharides et les composés phénoliques. Ces antioxydants non enzymatiques pourraient influencer sur le statut redox (**D'Amelia et al., 2018 ; Haque et al., 2014 ; Carocho & Ferreira, 2013 ; Zhao et al., 2013 ; Erkan, 2012 ; Chinese Pharmacopoeia Commission, 2010 ; Zhu et al., 2010**).

Les concentrations en albumine retrouvées lors de notre étude reflètent le fort potentiel antioxydant de l'extrait aqueux de *Po*.

Dans des conditions normales, les marqueurs du stress oxydatif, l'AST et l'ALT sont retrouvés en faibles concentrations, au niveau plasmatique (**Menon et al., 2015**). Lors de notre expérimentation, les teneurs réduites en AST et ALT, chez le groupe traité par *Po*, reflètent son potentiel hépato-protecteur.

En effet, **Ghahramani et al., (2016)**, ont rapporté que l'administration d'un extrait hydro-éthanolique de *Po*, à la dose de 50, 100 et 200 mg.Kg<sup>-1</sup> PC réduit significativement les taux plasmatiques de ces enzymes hépatiques, chez le rat rendu diabétique par l'alloxane.

De plus, **Lee et al., (2011)**, ont montré une diminution de l'activité de l'AST et de l'ALT, chez le rat hypercholestérolémique, consommant la poudre de *Po*.

**Lors de notre étude, le taux réduit des TBARS, l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, SOD, GPx et GRed), l'amélioration des concentrations en albumine, ainsi que la diminution des marqueurs du stress oxydant (AST et ALT), renseignent sur la capacité antioxydante de l'extrait de Po.**

L'inflammation vasculaire joue un rôle clef dans la pathogenèse et la progression de l'athérosclérose, aggravée au cours du diabète (**Wu et al., 2016 ; Lee et al., 2012**). Le dysfonctionnement et les altérations structurelles de l'endothélium provoquent une augmentation des molécules d'adhésion (VCAM-1), des cytokines (TNF- $\alpha$ ), des interleukines (IL-1, IL-6), et des molécules chimiotactiques (MCP-1), un recrutement des leucocytes et une surproduction des ERO (**Tousoulis et al., 2012**).

Les niveaux élevés de TNF- $\alpha$  provoquent une augmentation de la lipolyse adipocitaire, entraînant un accroissement des acides gras libres circulants et une perturbation de la voie de signalisation de l'insuline (El-Abhar & Schaalán, 2012).

L'IL-6 joue un rôle central dans l'inflammation par l'activation du signal transducteur et de la transcription, conduisant au blocage de l'apoptose des cellules et leur maintien en vie dans des environnements toxiques (Hodge *et al.*, 2005).

Les résultats de notre expérimentation montrent une réduction significative des concentrations plasmatiques d'IL-6 et de TNF- $\alpha$ , chez le groupe HD-*Po* vs HD, témoignant du potentiel anti-inflammatoire de *Po*. Ces données sont en accord avec celles rapportées par Ayepola *et al.*, (2014), chez le rat mâle adulte Wistar, rendu diabétique par la STZ, après gavage par l'extrait éthanolique des graines de *Garcinia kola* (100 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 1 semaine.

De même, une baisse significative des taux de TNF- $\alpha$  sériques a été constatée, chez le rat Wistar, rendu hypercholestérolémique, consommant un régime enrichi par l'extrait méthanolique d'*Artemisia vulgaris*, pendant 4 semaines (El - Tantawy, 2015).

Aussi, l'extrait éthanolique des feuilles d'*Anchomanes difformis* (800 et 1600 mg.kg<sup>-1</sup> PC), provoque, chez le rat, une inhibition de l'induction inflammatoire, traduite par la diminution de la taille de l'œdème, après 60, 90 et 120 minutes d'expérimentation (Adebayo *et al.*, 2014).

De plus, après avoir provoqué une colite ulcéreuse à la souris (C57BL/6), Yang *et al.*, (2016), ont mis en évidence l'effet protecteur de l'extrait éthanolique de *Po* (100, 200 et 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC), pendant 7 jours, se traduisant par une diminution de l'expression de l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires, tels que le TNF- $\alpha$  et l'IL-6.

Chez le rat rendu diabétique par la STZ, la consommation d'un extrait aqueux de *Po* à la dose de 400 mg.kg<sup>-1</sup> PC, pendant 4 semaines, entraîne une amélioration des valeurs de GSH ainsi qu'une diminution des teneurs en TNF- $\alpha$  et en IL-6. Cet effet peut être conséquent à une diminution de la production de radicaux libres et à une élévation de la teneur en antioxydants. (Samarghandian *et al.*, 2017).

En effet, certains composés phytochimiques des plantes médicinales, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes, sont de véritables agents anti-inflammatoires, compte tenu de leur capacité à réguler l'expression génétique des signaux pro-inflammatoires (Shailasree *et al.*, 2012).

*Le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Po a été mis en évidence par la réduction significative des concentrations hépatiques et plasmatiques d'IL-6 et du TNF- $\alpha$ , chez le rat hypercholestérolémique et diabétique traité vs non traité.*

# CONCLUSION

Ce travail a pour objectif l'évaluation de l'effet d'un régime supplémenté avec l'extrait aqueux des feuilles de *Portulaca oleracea*, dans le traitement de deux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires combinés, à savoir l'hypercholestérolémie associée au diabète.

Lors de notre étude, le traitement, à base d'un extrait aqueux de *Po*, administré au rat rendu diabétique par injection de STZ et soumis à un régime enrichi en cholestérol, limite la perte pondérale, sans agir sur la quantité de nourriture ingérée et en favorisant le gain musculaire, comparé au rat non traité.

Aussi, *Po* préserve la fonction rénale des méfaits du diabète, en réduisant les teneurs plasmatiques en protéines totales, et en améliorant les concentrations en urée et en créatinine qui diminuent au niveau plasmatique et augmentent au niveau urinaire.

Il est vrai que le traitement avec l'extrait aqueux de *Po*, chez le rat hypercholestérolémique et diabétique, améliore les perturbations lipidiques et glucidiques de façon significative.

Concernant le profil lipidique, nos résultats révèlent que, chez le groupe HD-*Po* vs HD, les faibles teneurs plasmatiques en CT sont, principalement, dues à une diminution du C-VLDL et du C-LDL-HDL<sub>1</sub>, associée à une augmentation significative du C-HDL. Ces taux réduits reflètent une faible absorption ou une augmentation de l'excrétion fécale des lipides et du cholestérol.

De même, l'activité de la LCAT est plus importante chez le groupe traité vs non traité. Une augmentation des teneurs en apo A-I, cofacteur-activateur de la LCAT et en EC-HDL<sub>2</sub>, produit de la réaction enzymatique ainsi qu'une diminution du contenu en PL-HDL<sub>3</sub> substrat de l'enzyme et en CL-HDL<sub>3</sub>, accepteur du groupement acyl de la lécithine, sont notées. Nos résultats indiquent que l'extrait aqueux de *Po* prévient l'initiation et le développement de l'athérosclérose, en diminuant les rapports d'athérogénicité CT/HDL-C, LDL/HDL, CT-HDL-C/HDL-C et apo B/apo A-I.

Le régime supplémenté en *Po* induit une réduction des teneurs hépatiques en TG, tout en diminuant la triglycéridémie plasmatique, mise en évidence par de faibles contenus en TG au niveau des VLDL, des LDL-HDL<sub>1</sub> et des HDL<sub>2</sub>.

Aussi, *Portulaca oleracea* diminue l'hyperglycémie, provoquée par la STZ et ce, dès la première semaine de traitement, chez le rat hypercholestérolémique et diabétique. Cette baisse des résidus de glucose circulants est accompagnée d'une diminution significative du taux d'HbA<sub>1c</sub> et une augmentation de l'insulino-sécrétion. Ces résultats témoignent de l'effet hypoglycémiant de l'extrait et prouvent son efficacité, à court et à long terme.

L'hypercholestérolémie et le diabète peuvent être à l'origine d'un stress oxydant délétère, pour les cellules concernées et leurs fonctions vasculaires. La peroxydation lipidique, communément, évaluée par le dosage des TBARS et les teneurs en AST et ALT, dont les taux réduits, retrouvés lors de notre étude, indiquent la capacité antioxydante de l'extrait aqueux de *Po*.

Aussi, nos résultats indiquent que l'extrait de *Po* réduit le stress oxydatif en augmentant les teneurs en GSH, dont l'homéostasie est maintenue par la stimulation des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GPx et GRed).

Par ailleurs, l'extrait aqueux de *Po* provoque une réduction significative des concentrations hépatiques et plasmatique d'IL-6 et de TNF- $\alpha$ , chez le groupe HD-*Po* vs HD, témoignant du potentiel anti-inflammatoire de *Po*.

À partir de cette étude, nous pouvons conclure que les désordres métaboliques, causés par la combinaison de l'hypercholestérolémie et du diabète, chez le rat, telle que l'élévation des paramètres lipidiques, glycémiques et ceux du statut oxydants/antioxydants et inflammatoire, peuvent être améliorés significativement par le régime, supplémenté en extrait aqueux de feuilles de *Po*.

Ces effets bénéfiques cumulés font de *Po*, une plante utile dans la prévention et le traitement de l'hypercholestérolémie et du diabète, qui sont tous deux des facteurs de risque majeurs de l'athérosclérose.

Ces résultats donnent lieu à un certain nombre de perspectives, afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques de l'extrait aqueux de *Po* et de se projeter vers des essais cliniques de cette plante, à fort potentiel thérapeutique.

Des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les différents effets observés. Par conséquent, notre travail pourrait être complété par:

- La détermination des teneurs en acides biliaires et en stérols neutres fécaux.
- L'estimation des activités des enzymes impliqués dans le métabolisme du cholestérol à savoir: la cholestérol 7 $\alpha$ -hydroxylase (enzyme de synthèse des acides biliaires), l'hydroxy-méthyl-glutaryl-Co A réductase (HMG-CoA réductase) (synthèse du cholestérol endogène) et l'acyl-CoA cholestérol acyltransférase (ACAT) (estérification cholestérol au niveau cellulaire).

- La détermination des activités des enzymes impliquées dans le métabolisme des triglycérides, en particulier la lipoprotéine lipase (LPL) et la triglycéride lipase hépatique (HTGL)
- La détermination des marqueurs de l'oxydation protéique par le dosage des carbonyles et des sulfhydryles.
- La détermination des espèces réactives de l'oxygène, tel que le monoxyde d'azote (NO).
- L'étude de l'effet de l'extrait aqueux de *Po*, à une dose plus élevée, avec réalisation de coupes histologiques sur différents organes comme le foie, le rein, le cœur, l'aorte et le cerveau.
- L'isolement et l'identification des composés actifs de l'extrait aqueux de *Po*, afin de déterminer leur potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.
- L'étude de l'impact d'une alimentation équilibrée, incluant la plante fraîche *Po* sur des individus diabétiques et hypercholestérolémiques présentant un risque cardiovasculaire.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## A

- Abdel-Moneim AE., Dkhil MA., Al Quraishy S. 2010.** The Redox Status in Rats Treated with Flaxseed Oil and Lead- Induced Hepatotoxicity. *Trace Elem Res.* 144(3): 904-913.
- Abdelwehab SA., El-Nagerabi SAF., Elshafie AE. 2014.** Mycobiota Associated with Imported Seeds of Vegetable Crops in Sudan. *Open Mycology J.* 8: 156-173.
- ADA. 2011.** Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 34(1): 62-69.
- ADA. 2017.** Classification and diagnosis of diabetes, Sec 2, in Standards of Medical Care in Diabetes-2017. *Diabetes Care.* 40(1): 11-24.
- Adebayo AH., John-Africa LB., Agbafor AG., Omotosho OE., Mosaku TO. 2014.** Antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract of *Anchomanes difformis* in rats. *Pak J Pharm Sci.* 27(2): 265-70.
- Adholavi RA. 2012.** Review on medicinal importance of *Basella alba* L. *Int J Pharm Sci Drug Res.* 4(2): 110-114.
- Aebi H. 1974.** Catalase In: Bergmeyer HV. *Methods in enzymatic analysis.* Vol 2, New York: Academic press. 674-684.
- Agbai EO., Njoku CJ., Nwanegwo CO., Nwafor A. 2015.** Effect of aqueous extract of *Annona muricata* seed on atherogenicity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Afr J Pharm Pharmacol.* 9(30): 745-755.
- Agyare C., Baiden E., Apenteng JA., Boakye YB., Adu-Amoah L. 2015.** Anti-infective and Anti-inflammatory properties of *Portulaca oleraceae* (L). *Don J Med Plant Res.* 2(1): 1-6.
- Ahmad MD., Jairajpuri DS., Aeri V., Jairajpuri ZS., Akhter MDS., Jain M., Sharma M. 2016.** Protective Effect of *Caesalpinia Bonducella* (Linn.) Seed Kernel Extract in Streptozotocin-Induced Hyperglycaemia and Oxidative Damage in Wistar Rats. *Int J Pharm Sci Res.* 7(8): 3406-3422.
- Akbari F., Ansari-Samani R., Karimi A., Mortazaei S., Shahinfard N., Rafieian-Kopaei M. 2013.** Effect of turnip on glucose and lipid profiles of alloxan-induced diabetic rats. *Iran J Endocrinol Metab.* 14(5): 492-497.
- Alexandru I. 2011.** Experimental use of animals in research spa. *Balneo Res J.* 2: 65-69.
- Aljohi H., Dopler-Nelson M., Cifuentes M., Wilson TA. 2019.** The consumption of 12 Eggs per week for 1 year does not alter fasting serum markers Journal of cardiovascular disease in older adults with early macular degeneration. *J Nutr Intermediary Metab.* 15(2019): 35-41.
- Al-Rejaie SS., Abuohashish HM., Alkhamees OA., Aleisa AM., Alroujayee AS. 2012.** Gender difference following high cholesterol diet induced renal injury and the protective role of rutin and ascorbic acid combination in Wistar albino rats. *Lipids Health Dis.* 11: 41.
- Amaechi D., Udosen EO., Edet EE., Asanga EE., Mbakwe IE. 2015.** Lipid profile status of streptozotocin induced diabetic rats treated with ethanolic leaf extract of *Solenostemon monostachyus*. *J Med Plts Res.* 9(8): 289-293.
- Andrade-Cetto A., Escandón-Rivera S., Garcia-Luna V. 2015.** Hypoglycemic effect of *Hamelia patens* Jacq aerial part in Stz-Na induced diabetic rats. *Pharmacol on line (phOl).* 3: 65-69.

**Anitschkow N., Chalатов S.** Traduction par **Pelias MZ.** 1983. Classics in Arteriosclerosis Research On Experimental Cholesterin Steatosis and Its Significance in the Origin of Some Pathological Processes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 3(2): 178-182.

**Annema W., Tietge UJ.** 2012. Regulation of reverse cholesterol transport a comprehensive appraisal of available animal studies. *Nutr Metab (Lond).* 9(1): 25.

**Anusha M., Venkateswarlu M., Prabhakaran V., Shareen TS., Pushpa KB., Ranganayakulu D.** 2011. Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Portulaca oleracea* in combination with lycopene in rats. *Indian J Pharmacol.* 43(5): 563-567.

**Asgary S., Sahebkar A., Afshani MR., Keshvari M., Haghjooyjavanmard S., Rafieian-Kopaei M.** 2014. Clinical evaluation of blood pressure lowering, endothelial function improving, hypolipidemic and anti-inflammatory effects of pomegranate juice in hypertensive subjects. *Phytother Res.* 28(2): 193-99.

**Ashraf H., Heidari R., Nejati V., Ilkhanipoor M.** 2013. Aqueous extract of *Berberis integerrima* root improves renal dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. *Avicenna J Phytomed.* 3(1): 82-90.

**Ashraf H., Heydari R., Nejati V., Ilkhanipoor M.** 2012. Preventive Effect of *Berberis Integerrima* on the Serum Levels of Glucose and Lipids in Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetes in Rats. *J Fasa University Med Sci.* 2(3): 148-155.

**Aslam M., Najam R.** 2014. Hypolipidemic and Anti-Atherogenic Activity of Aqueous Extract of Leaves of *Lagenaria Siceraria* in Wistar Rats. *J Natural Remedies.* 14(1): 51-57.

**Asmat U., Abad K., Ismail K.** 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J.* 24(5): 547-553.

**Atakisi O., Oral H., Atakisi E., Merhan O., Metin Pancarci S., Ozcan A., Marasli S., Polat B., Colak A., Kaya S.** 2010. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. *Res Vet Sci.* 89(1): 10-3.

**Ayepola OR., Cerf ME., Brooks NL., Oguntibeju OO.** 2014. Kolaviron, a biflavonoid complex of *Garcinia kola* seeds modulates apoptosis by suppressing oxidative stress and inflammation in diabetes-induced nephrotoxic rats. *Phytomedicine.* 21(14): 1785-93.

**Ayodhya S., Kusum S., Anjali S.** 2010. Hypoglycaemic activity of different extracts of various herbal plants Singh. *Int J Ayurveda Res Pharm.* 1(1): 212-224.

**Azhar R., Siddiqui A., Ali S.** 2015. Effect of Aqueous Extract of Walnut Leaves on Lipid Profile and Atherogenic Ratio in Hypercholesterolemic Rats. *J Islamic Int Medical College.* 10(3): 224-229.

## B

**Badimon L., Chiva-Blanch G.** 2019. Lipid Metabolism in Dyslipidemia and Familial Hypercholesterolemia. *The Molecular Nutrition of Fats.* 24: 307-322.

**Bahmani M., Banihabib E., Rafieian-Kopaei M., Gholami-Ahangaran M.** 2014. Comparison of disinfection activities of nicotine with copper sulphate in water containing *Limnatis nilotica*. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 21(1): 9-11.

**Bai Y., Zang X., Ma J., Xu G.** 2016. Anti-Diabetic Effect of *Portulaca oleracea* L. Polysaccharide and its Mechanism in Diabetic Rats. *Int J Mol Sci.* 17(8): 1201.

- Barakat LA., Mahmoud RH. 2011.** The antiatherogenic, renal protective and immunomodulatory effects of purslane, pumpkin and flax seeds on hypercholesterolemic rats. *N Am J Med Sci.* 3(9): 411-417.
- Barquissau V., Morio B. 2011.** Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutr Clin Métab.* 25(3): 114-130.
- Baudin B. 2006.** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt Cardio.* 2(1): 43-52.
- Bedakhanian M., Entezari MH., Ghanadian M., Askari G., Maracy MR. 2017.** The effects of *Portulaca oleracea* on lipid profile, C-reactive protein, and fasting blood glucose in men with metabolic syndrome: A double-blind randomized clinical trial. *J Health System Res.* 12(4).
- Beliard S., Lesnik P. 2011.** Diabète et obésité. *Inflammation Athérosclérose.* 6(47): 96-99.
- Berger S., Raman G., Vishwanathan R., Jacques PF., Johnson EJ. 2015.** Dietary cholesterol and cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 102(2): 276-294.
- Berzou S., Taleb-Senouci D., Guenzet A., Krouf D. 2014.** Zygophyllum gaetulum attenuates hypercholesterolemia and protects against oxidative stress in rats fed a high-cholesterol diet. *J Exp Integr Med.* 4(4): 255-260.
- Bharvad PB., Mohan JSS., Vasant RA., Narasimhacharya AVR. 2011.** Antihyperlipaemic and antioxidant effects of aqueous and methanolic leaf extracts of *Schweinfurthia Papilionacea* in streptozotocin induced diabetes. *Pharmacologyonline.* 2: 312-321.
- Bhattacharya S., Manna P., Gachhui R., Sil PC. 2013.** D-saccharic acid 1,4-lactone protects diabetic rat kidney by ameliorating hyperglycemia mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via NF- $\kappa$ B and PKC signaling. *Toxicol Appl Pharmacol.* 267(1): 16-29.
- Blache D., Prost M. 1992.** Free radical attack: biological test for human resistance capability, in proceedings of the IX college park colloquium on chemical evolution: a lunar-based chemical analysis laboratory (LBCAL), edited by C. Ponnampereuma, and C.W. Gehrke, NASA, Washington, D.C.pp 82-98.
- Blesso CN., Fernandez ML. 2018.** Dietary Cholesterol, Serum Lipids, and Heart Disease: Are Eggs Working for or Against You?. *Nutrients.* 10(4): 426.
- Bouderbala S., Prost J., Bouchenak M. 2015.** *Ajuga iva* treatment increases post-heparin lipase activity and decreases serum and VLDL-triacylglycerols in rats fed a cholesterol rich diet. *Int J Pharm Pharmaceutic Sci.* 7(6): 136-140.
- Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois MA., Bouchenak M. 2012.** Iridoid enriched fraction from *Ajuga iva* reduce cholesterolemia, triacylglycerolemia and increase the lecithin:cholesterol acyltransferase activity of rats fed a cholesterol-rich diet. *J Exp Integr Med.* 2(1): 55-60
- Burstein M., Fine A., Atger V., Wirbel E., Girard-Globa A. 1989.** Rapid method for isolation of two purified subfractions of high density lipoproteins by differential dextran sulfate-magnesium chloride precipitation. *Biochem.* 71(6): 741-746.
- Burstein M., Scholnick HR., Morfin R. 1970.** Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res.* 11(6): 583-595.

## C

- Carocho M., Ferreira IC. 2013.** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol.* 51: 15-25.
- Catapano AL., Pirillo A., Bonacina F., Norata GD. 2014.** HDL in innate and adaptive immunity. *Cardiovasc Res.* 103(3): 372-383.
- Chauhan A., Sharma PK., Srivastava P, Kumar N., Dudhe R. 2010.** Plants Having Potential Antidiabetic Activity: A Review. *Schol Res Library Der Pharmacia Lettre.* 2(3): 369-387.
- Chavan VU., Melinkeri RR. 2013.** Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Natl J Community Med.* 4(2): 294-299.
- Chen A., Lacko M. 1986.** Determinations of endogenous cholesterol esterification by Lecithin: cholesterol acyltransferase in plasma. *Methods Enzymol.* 129: 781-782.
- Chen B., Zhou H., Zhao W., Zhou W., Yuan Q., Yang G. 2012.** Effects of aqueous extract of *Portulaca oleracea* L. on oxidative stress and liver, spleen leptin, PAR $\alpha$  and FAS mRNA expression in high-fat diet induced mice. *Mol Biol Rep.* 39(8): 7981-7988.
- Chen ZY., Ka YM., Yintong L., Cheng P., Yuanyuan Z. 2011.** Role and classification of cholesterol-lowering functional foods. *J Functional Foods.* 3(2): 61-69.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. 2010.** Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Vol. 1). *Chinese Medicine Science and Technology Press, Beijing.* 222-223.
- Cho NH., Shaw JE., Karuranga S., Huang Y., Da Rocha Fernandes JD., Ohlrogge AW., Malanda B. 2018.** IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diab Res Clin Pract.* 138: 271-281.
- Choi HD., Kim JH., Chang MJ., Kyu-Youn Y., Shin WG. 2011.** Effects of astaxanthin on oxidative stress in overweight and obese adults. *Phytother Res.* 25(12): 1813-1818.
- Chowdhary CV., Meruva A., Naresh K., Elumalai RKA. 2013.** A review on phytochemical and pharmacological profile of *Portulaca oleracea* Linn (Purslane). *Int J Res Ayur Pharm.* 4(1): 34-37.
- Cicero AFG., Fogacci F., Bove M., Giovannini M., Veronesi M., Borghi C. 2018.** Short-Term Effects of Dry Extracts of Artichoke and Berberis in Hypercholesterolemic Patients Without Cardiovascular Disease. *Am J Cardiol.* 123(4): 588-591.
- Codario RA. 2011.** Type 2 diabetes, pre-diabetes, and metabolic syndrome. *Curr Clin Pract Springer Link.* 2<sup>nd</sup> ed. XVI, 368p. doi: 10.1007/978-1-60327-441-8
- Council of European Communities. 1986.** Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Off J European Communities.* 358: 1-28.
- Csont T., Sárközy M., Szűcs G., Szűcs C., Bárkányi J., Bencsik P., Gáspár R., Földesi I., Csonka C., Kónya C., Ferdinandy P. 2013.** Effect of a multivitamin preparation supplemented with phytosterol on serum lipids and infarct size in rats fed with normal and high cholesterol diet. *Lipids Health Dis.* 12: 138.

## D

- D'Amelia V., Aversano R., Chiaiese P., Carputo D. 2018.** The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. *Phytochem Rev.* 17(3): 611-625.
- Das J., Vasan V., Sil PC. 2012.** Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 258(2): 296-308.
- Dehghan F., Soori R., Gholami K., Abolmaesoomi M., Yusof A., Muniandy S., Heidarzadeh S; Farzanegi P., Ali azarbayjani M. 2016.** Purslane (*Portulaca oleracea*) seed consumption and aerobic training improves biomarkers associated with atherosclerosis in women with type 2 diabetes (T2D). *Sci Rep.* <https://doi.org/10.1038/srep37819>.
- Delsal J. 1941.** Nouveaux procédés d'extraction des lipides du sérum par le méthylal, application aux microdosages du cholestérol total, des phosphoaminolipides et des protides. *Bull Soc Biol.* 26: 99-104.
- Devi R., Sharma DK. 2004.** Hypolipidemic effects of different extracts of clerodendron colebrookinum walp in normal and high fat diet rats. *J Ethnopharmacol.* 90(1): 63-68.
- Dhande SR., Gursahani MS., Kadam VJ. 2014.** Standardization of cholesterol suspension induced hyperlipidemia in rats. *World J Pharm Pharmaceut Sci.* 3(2): 1107-1123.
- Ding Y., Yao H., Yao Y., Fai LY., Zhang Z. 2013.** Protection of dietary polyphenols against oral cancer. *Nutrients.* 5(6): 2173-2191.
- Dkhil MA., Abdel Moniem AE., Al-Quraishy S., Saleh AR. 2011.** Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. *J Med Plants Res.* 5(9): 1589-1593.
- Doucet C., Flament C., Sautier C., Lemonnier D. 1987.** Effect of an hypercholesterolemic diet on the level of several serum lipids and apolipoproteins in nine rat strains. *Rep Nutr Dev.* 27(5): 897-906.

## E

- Ekoé JM., Punthakee Z., Ransom T., Prebtani APH., Goldenberg R. 2013.** Screening for Type 1 and Type 2 Diabetes. *Can J Diabetes.* 37(1): 12-15.
- El-Abhar HS., Schaalán MF. 2012.** Topiramate-induced modulation of hepatic molecular mechanisms: an aspect for its anti-insulin resistant effect. *PLoS One.* 7(5): e37757.
- Eleazu CO., Eleazu KC., Chukwuma S., Essien UN. 2013.** Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diab Metab Disord.* 12(1): 60.
- El-Newary SA. 2016.** The hypolipidemic effect of *Portulaca oleracea* L. stem on hyperlipidemic Wistar Albino rats. *Annals Agric Sci.* 61(1): 111-124.
- Elobeid MA., Ahmed EA. 2015.** Antidiabetic Efficacy of Aqueous Fruit Extract of Amla (*Emblca officinalis, Gaertn*) in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Male Rats. *Tropic J Pharmaceut Res.* 14(5): 801-806.

- El-Sayed MI. 2011.** Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *J Ethnopharmacol.* 137(1): 643-651.
- El-Tantawy WH. 2015.** Biochemical effects, hypolipidemic and anti-inflammatory activities of *Artemisia vulgaris* extract in hypercholesterolemic rats. *J Clin Biochem Nutr.* 57(1): 33-38.
- Emmerich J., Bruneval P. 2000.** L'athérosclérose. *John Libbey Eurotext.* 143p.
- Erejuwa OO., Sulaiman SA., Abdul Wahab MS., Salam SKN., Salzihan Md., Gurtu S. 2010.** Antioxidant Protective Effect of Glibenclamide and Metformin in Combination with Honey in Pancreas of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Int J Mol Sci.* 11(5): 2056-2066.
- Erkan N. 2012.** Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. *Food Chemistry.* 133(3): 775-781.
- Esmailzadeh A., Zakizadeh E., Faghihimani E., Gohari M0., Jazayeri S. 2015.** The effect of purslane seeds on glycemic status and lipid profiles of persons with type 2 diabetes: A randomized controlled cross-over clinical trial. *J Res Med Sci.* 20(1): 47-53.

## F

- Farzanegi P. 2014.** Impact of the synchronization of *Portulaca oleracea* and aerobic training on levels of MMP2 and MMP9 and TIMP1 in diabetic women type II. *Res Mol Med.* 2(2): 34-39.
- Fernandez ML. 2012.** Rethinking dietary cholesterol. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 15(2) 117-121.
- Ferreira B., Mendes F., Osorio N., Caseiro A., Gabriel A., Valado A. 2013.** Glutathione in multiple sclerosis. *Br J Biomed Sci.* 70(2): 75-79.
- Fisher EA., Feig JE., Hewing B., Hazen SL., Smith JD. 2012.** High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 32(12): 2813-2820.
- Fukushima M., Mastuda T., Yamagishi K., Nakano M. 1997.** Comparative hypercholesteremic effects of six dietary oils in cholesterol fed rats after long term feeding. *Lipids.* 32(10): 1069-1074.

## G

- Gao WQ., Feng QZ., Li YF., Li YX., Huang Y., Chen YM., Yang B., Lu CY. 2014.** Systematic study of the effects of lowering low-density lipoprotein-cholesterol on regression of coronary atherosclerotic plaques using intravascular ultrasound. *BMC Cardiovasc Disord.* 14(60): 18p.
- Gaudet D., Drouin-Chartier JP., Couture P. 2017.** Lipid Metabolism and Emerging Targets for Lipid-Lowering Therapy. *Can J Cardiol.* 33(7): 872-882.
- GBD 2015 Risk Factors Collaborators. 2016.** Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England).* 388(10053): 1659-1724.

- Gersch C., Pali SP., Imaram W., Kim KM., Karumanchi SA., Johnson RJ., Henderson GN. 2009.** Reactions of peroxynitrite with uric acid of reactive intermediates, alkylated products and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 28(2): 118-149.
- Ghahramani R., Eidi M., Ahmadian H., Nomani MH., Abbasi R., Alipour M., Anissian A. 2016.** Anti-diabetic Effect of *Portulaca oleracea* (Purslane) Seeds in Alloxan-induced Diabetic Rats. *IJML*. 3(4): 282-289.
- Giribabu N., Rao PV., Kumar KP., Muniandy., Rekha SS., Salleh N. 2014.** Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Leaves Displays In Vitro Antioxidant Activity and Prevents the Elevation of Oxidative Stress in the Kidney of Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Evid Based Compl Altern Med*. Vol 2014, Article ID 834815, 10p. doi:10.1155/2014/834815.
- Goldenberg R., Punthakee Z. 2013.** Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. Lignes directrices de pratique clinique. *Can J Diabetes*. 37(5): 369-372.
- Gomathi D., Ravikumar G., Kalaiselvi M., Devaki K., Uma C. 2013.** Efficacy of *Evolvulus alsinoides* L. on insulin and antioxidants activity in pancreas of streptozotocin induced diabetic rats. *J Diab Metab Disord*. 12(1): 39.
- Gordon T., Castelli WP., Hjortland MC., Kannel WB., Dawber TR. 1977.** High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med*. 62(5): 707-714.
- Grochot-Przeczek A., Dulak J., Jozkowicz A. 2012.** Haem oxygenase-1: non-canonical roles in physiology and pathology. *Clin Sci (Lond)*. 122(3): 93-103.
- Guenzet A., Krouf D., Berzou S. 2014.** *Portulaca oleracea* extract increases lecithin:cholesterol acyltransferase and paraoxonase 1 activities and enhances reverse cholesterol transport in streptozotocin-induced diabetic rat. *Phcog J*. 6(3): 1-9.
- Guenzet A., Krouf D., Berzou S. 2017.** *Portulaca oleracea* Leaf Aqueous Lyophilized Extract Reduces Hyperglycemia and Improves Antioxidant Status of Red Blood Cells and Liver in Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5 (2017): 139-148.
- Guenzet A., Krouf D., Dida N., Berzou S. 2018.** Comparative study of antihypertensive and antioxidant effects of clove and metformin on renal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Nutr*. 6(1): 37-44.
- Gui T., Shimokado A., Sun Y., Akasaka T., Muragaki Y. 2012.** Diverse Roles of Macrophages in Atherosclerosis: From Inflammatory Biology to Biomarker Discovery. *Mediators Inflammation*. vol 2012, Article ID 693083, 14 p.
- Guillausseau PJ., Meas T., Virally M., Laloi-Michelin M., Médeau V., Kevorkian JP. 2008.** Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *Diab Metab*. 34(2): 43-48.
- Gülçin I. 2012.** Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol* .86(3): 345-391.
- Gyamfi D., Awuah EO., Owusu S. 2019.** Lipid Metabolism: An Overview. *Mol Nutr Fats*. 2: 17-32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811297-7.00002-0>

H

- Hafiane A., Genest J. 2013.** HDL, Atherosclerosis, and Emerging Therapies. *Cholesterol*. vol 2013, Article ID 891403, 18 p. <https://doi.org/10.1155/2013/891403>.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne JO., Charlier C., Chapelle JP. 2007.** Le stress oxydant. *Rev Med Liège*. 62(10): 628-663.
- Hansel B., Giral P. 2015.** Cholestérol alimentaire et morbi/mortalité cardiovasculaire. *Cah Nutr Diét*. 50(4): 202-08.
- Hansson GK., Hermansson A. 2011.** The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunology*. 12(3): 204-212.
- Hao W., Friedman A. 2014.** The LDL-HDL Profile Determines the Risk of Atherosclerosis: A Mathematical Model. *PLoS One* . 9(3): e90497.
- Haque M., Islam J., Rahaman A., Selina FA., Azizur M. 2014.** *Raphanus sativus* ameliorates atherogenic lipid profiles in hypercholesterolemic rats and hypercholesterolemia-associated peroxidative liver damage. *J Adv Chem*. 7(3): 1385-1394.
- Herron KL., Vega-Lopez S., Conde K., Ramjiganesh T., Roy S., Shachter NS., Fernandez ML. 2002.** Pre-menopausal women, classified as hypo- or hyperresponders, do not alter their LDL/HDL ratio following a high dietary cholesterol challenge. *J Am Coll Nutr*. 21(3): 250-258.
- Herron KL., Vega-Lopez S., Conde K., Ramjiganesh T., Shachter NS., Fernandez ML. 2003.** Men classified as hypo- or hyper-responders to dietary cholesterol feeding exhibit differences in lipoprotein metabolism. *J Nutr*. 133(4): 1036-1042.
- Hirano T., Nohtomi K., Nakanishi N., Watanabe T., Hyodo T., Taira T. 2010.** Ezetimibe decreases serum amyloid A levels in HDL<sub>3</sub> in hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 74(4): 282-287.
- Hodge DR., Hurt EM., Farrar WL. 2005.** The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *European Journal of Cancer*. 41(16): 2502-2512.
- Hosseini S., Huseini HF., Larijani B., Mohammad K., Najmizadeh A., Nourijelyan K., Jamshidi L. 2014.** The hypoglycemic effect of *Juglans regia* leaves aqueous extract in diabetic patients: A first human trial. *DARU*. 22(1): 19.
- Huang Y., Dong L. 2011.** Protective effect of purslane in a rat model of ulcerative colitis. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 36(19): 2727-2730.
- Husain K., Hernandez W., Ansari RA., Ferder L. 2015.** Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis. *World J Biol Chem*. 6(3): 209-217.
- Hyman M. 2010.** Clinical approaches to environmental inputs: Diet and nutrition. In: Jones DS, Quinn S, eds. *Textbook of Functional Medicine*. Boulder, CO: Johnson Printing. 26: 347-387.

I

- Imes CC., Austin MA. 2013.** Low-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein B, and risk of coronary heart disease: from familial hyperlipidemia to genomics. *Biol Res Nurs*. 15(3): 292-308.

**IDF. 2012.** International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 5th edition, update. <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/20-atlas-5th-edition.html>.

**IDF. 2017.** International Diabetes Federation Diabetes Atlas. 8th edition. [https://www.researchgate.net/publication/324412296\\_IDF\\_Diabetes\\_Atlas\\_8th\\_Edition](https://www.researchgate.net/publication/324412296_IDF_Diabetes_Atlas_8th_Edition).

**Iqbal J., Hussain MM. 2009.** Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 296(6): 1183-1194.

**Itabe H. 2012.** Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of in vivo oxidative stress: from atherosclerosis to periodontitis. *J Clin Biochem Nutr.* 51(1): 1-8.

## J

**Jagan Rao N., Jayasree T., Mallikarjuna Rao B., Sandeep Kumar K., Vijay Kumar S. 2012.** Evaluation of the Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of the Pet: Ether Extract of *Portulaca Oleracea* (Linn.). *J Clin Diag Res.* 6(2): 226-230.

**Jang MJ., Wang MH. 2009.** Effect of fermented soybean-derived chung koo kjang on diet-induced hyperlipidemia in Bio FIB hamsters. *Food Biotechnol.* 23(1): 74-82.

**Jeong SC., Jeong YT., Yang BK., Islam R., Koyyalamudi SR., Pang G., Cho KY., Song CH. 2010.** White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutr Res.* 30(1): 49-56.

**Jiangwei Ma., Zengyong Q., Xia X. 2011.** Aqueous extract of *Astragalus mongholicus* ameliorates high cholesterol diet induced oxidative injury in experimental rats models. *J Medicinal Plants Res.* 5(5): 855-858.

**Jones PJ. 2009.** Dietary cholesterol and the risk of cardiovascular disease in patients: a review of the Harvard Egg Study and other data. *Int J Clin Pract Suppl.* 63(163): 1-8.

## K

**Kapourchali FA., Surendiran G., Goulet A., Moghadasian MH. 2016.** The Role of Dietary Cholesterol in Lipoprotein Metabolism and Related Metabolic Abnormalities: A Mini-review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 56(14): 2408-2415.

**Karimi G., Khoei A., Omid A., Kalantari M., Babaei J., Taghiabadi E., Razavi BM. 2010.** Protective effect of aqueous and ethanolic extracts of *Portulaca oleracea* against cisplatin induced nephrotoxicity. *Iran J Basic Medical Sci.* 13(2): 31-35.

**Katan MB., Beynen AC., De Vries JH., Nobels A. 1986.** Existence of consistent hypo- and hyperresponders to dietary cholesterol in man. *American J Epidemiology.* 123(2): 221-234.

**Kayama Y., Raaz U., Jagger A., Adam M., Schellinger IN., Sakamoto M., Suzuki H., Toyama K., Spin JM., Tsao PS. 2015.** Diabetic Cardiovascular Disease Induced by Oxidative Stress. *Int J Mol Sci.* 16(10): 25234-25263.

**Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z., Soulimani R. 2011.** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie.* 9(5): 274-282.

**Kern Fjr .1991.** Normal Plasma Cholesterol in an 88-Year-Old Man Who Eats 25 Eggs a Day Mechanisms of Adaptation. *N Engl J Med.* 324: 896-899.

- Khattab HAH., El-Shitany NA., Abdallah IZA., Yousef FM., Alkreathy HM . 2015.** Antihyperglycemic Potential of *Grewia asiatica* Fruit Extract against Streptozotocin-Induced Hyperglycemia in Rats: Anti-Inflammatory and Antioxidant Mechanisms. *Oxid Med Cell Longev.* Vol 2015, Article ID 549743, 7 p. <https://doi.org/10.1155/2015/549743>.
- Khosravi-Boroujeni H., Mohammadifard N., Sarrafzadegan N., Sajjadi F., Maghroun M., Khosravi A., Alikhasi H., Rafieian M., Azadbakht L. 2012.** Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population. *Int J Food Sci Nutr.* 63(8): 913-920.
- Khosravi-Boroujeni H., Sarrafzadegan N., Mohammadifard N., Sajjadi F., Maghroun M., Asgari S., Rafieian-Kopaei M., Azadbakht L. 2013.** White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *J Health Popul Nutr.* 31(2): 252-261.
- Kilari EK., Koratana R., Putta S. 2015.** Effect of aqueous pericarp extract of *Litchi chinensis* on hypoglycemic and antihyperglycemic activities in normal and in streptozotocin induced diabetic rats. *Pharmaceut Biological Evaluations.* 2(1): 29-35.
- Kim JE., Campbell WW. 2018.** Dietary Cholesterol Contained in Whole Eggs Is Not Well Absorbed and Does Not Acutely Affect Plasma Total Cholesterol Concentration in Men and Women: Results from 2 Randomized Controlled Crossover Studies. *Nutrients.* 10(9).
- Kishore DV., Moosavi F., Varma RK. 2013.** Effect of ethanolic extract of *Portulaca oleracea* linn. on ethylene glycol and ammonium chloride induced urolithiasis. *Int J Pharm Pharm Sci.* 5(2): 134-140.
- Kontou P., Pavlopoulou A., Braliou G., Bogiatzi S., Dimou N., Bangalore S., Bagos P. 2018.** Identification of gene expression profiles in myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med Genomics.* 11: 109.
- Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R. 2011.** A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod Process.* 89(3): 217-233.
- Krychtiuk KA., Kastl SP., Speidl WS., Wojta J. 2013.** Inflammation and coagulation in Atherosclerosis. *Hamostaseologie.* 33(4): 269-282.
- Krzystek-Korpacka M., Patryn E., Kustrzeba-Wojcicka I., Chrzanowska J., Gamian A., Noczynska A. 2011.** Gender-specific association of serum uric acid with metabolic syndrome and its components in juvenile obesity. *Clin Chem Lab Med.* 49(1): 129-136.

## L

- Lalromawii., Devi AS., Meetei UD., Devi RKB. 2014.** Evaluation of *Portulaca oleracea* linn. for hypoglycaemic effects. *Int J Pharm Sci Res.* 5(5): 1908-1913.
- Lee AS., Lee YJ., Lee SM., Yoon JJ., Kim JS., Kang DG., Lee HS. 2012.** *Portulaca oleracea* Ameliorates Diabetic Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction in db/db Mice. *Evidence-based Complem Altern Med.* 741824. doi: 10.1155/2012/741824.
- Lee SM., MJ Kang., MJ Kim., SH Kim., NJ Sung. 2011.** Effect of *Portulaca oleracea* powder on lipid levels of rats fed hypercholesterolemia inducing diet. *J Food Nutr.* 16(3): 202-206.
- Legein B., Temmerman L., Biessen EAI. 2013.** Inflammation and immune system interactions in atherosclerosis. *Cell Mol life Sci.* 70(20): 3847-3869.

- Li Y., Wang X., Shen Z. 2017.** Traditional Chinese medicine for lipid metabolism disorders. *Am J Translat Res.* 9(5): 2038-2049.
- Li Y., Zheng M., Zhai X., Huang Y., Khalid A., Malik A., Shah P., Karim S., Azhar S., Hou X. 2015.** Effect of *Gymnema Sylvestre*, *Citrullus Colocynthis* and *Artemisia Absinthium* on blood glucose and lipid profile in diabetic human. *Acta Pol Pharm.* 72(5): 981-985.
- Liao SL. 2015.** The Role of Bilirubin and Phototherapy in the Oxidative/Antioxidant Balance. *Pediatr Neonatology.* 56(2): 77-78.
- Libby P., Dicarli M., Weissleder R. 2010.** The vascular biology of atherosclerosis and imaging targets. *J Nucl Med.* 51(1): 33-37.
- Liu XF., Zheng CG., Shi HG., Tang GS., Wang WY., Zhou J., Dong LW. 2015.** Ethanol extract from *portulaca oleracea* L. attenuated acetaminophen-induced mice liver injury. *Am J Translat Res.* 7(2): 309-318.
- Londonkar RL., Nayaka HB. 2012.** Antibacterial activity of total flavonoids of *Portulaca oleracea* L. *Int J Phytomed.* 4(2): 254-260.
- Lowry OH., Rosebrough NJ., Farr AL., Randall RJ. 1951.** Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193(1): 265-275.
- Lu SC. 2013.** Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta.* 1830(5): 3143-3153.
- Lushchak VI. 2014.** Classification of oxidative stress based on its intensity. *EXCLI J.* 13: 922-937.

## M

- Maahs DM., Nadeau K., Snell-Bergeon JK., Schauer I., Bergman B., West NA., Rewers M., Daniels SR., Ogden LG., Hamman RF., Dabelea D. 2011.** Association of insulin sensitivity to lipids across the lifespan in people with Type 1 diabetes. *Diab Med.* 28(2): 148-155.
- Madihi Y., Merrikhi A., Baradaran A., Rafieian-kopaei M., Shahinfard N., Ansari R., Shirzad H., Mesripour A. 2013.** Impact of sumac on postprandial high-fat oxidative stress. *Pak J Med Sci.* 29(1): 340-345.
- Mallikarjuna Rao B., Rachineni K., Subash KR., Binoy verghese C., Rao NJ. 2012.** Evaluation of Anti arthritic activity of pet-ether extract of *Portulaca oleracea* (Linn). *IJABPT.* 3(3): 144-148.
- Malviya N., Jain S., Malviya SAPNA. 2010.** Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Pol Pharm.* 67(2): 113-118.
- Manthei KA., Glukhova A., Yuan W., Manett TD., Chang L., Schwendeman A., Tesmer JJG. 2016.** Structural and Biochemical Studies on the Activation Mechanism of Lecithin: Cholesterol Acyltransferase. *FASEB J.* 30 (1) Abstract number 1132.10.
- Mateescu I., Paun L., Popescu S., Roata G., Sidoroff M. 2014.** Medicinal and Aromatic Plants - A Statistical Study on the Role of Phytotherapy in Human Health. *Bulletin UASVM Animal Sci Biotechnologies.* 71(1): 14-19.
- McNamara DJ., Kolb R., Parker TS., Batwin H., Samuel P., Brown CD., Ahrens EHJR. 1987.** Heterogeneity of cholesterol homeostasis in man. Response to changes in dietary fat quality and cholesterol quantity. *J Clin Invest.* 79(6): 1729-1739.

- Melilli MG., Pagliaro A., Bognanni R., Scandurra S., Di Stefano V. 2019.** Antioxidant activity and fatty acids quantification in Sicilian purslane germplasm. *Nat Prod Res.* 19: 1-8.
- Meng Y., Ying Z., Xiang Z., Hao D., Zhang W., Zheng Y., Gao Y., Ying X. 2016.** The anti-inflammation and pharmacokinetics of a novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L. *J Pharm Pharmacol.* 68(3): 397-405.
- Menon N., Sparks J., Omoruyi F. 2015.** Hypoglycemic and hypocholesterolemic activities of the aqueous preparation of *Kalanchoe pinnata* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Biomed.* 5(1): 3-9.
- Menon N., Sparks J., Omoruyi FO. 2016.** Oxidative Stress Parameters and Erythrocyte Membrane Adenosine Triphosphatase Activities in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Administered Aqueous Preparation of *Kalanchoe Pinnata* Leaves. *Pharmacognosy Res.* 8(2): 85-88.
- Migdal C., Serres M. 2011.** Reactive oxygen species and oxidative stress. *Med Sci .* 27(4): 405-412.
- Moghadasian MH. 2002.** Experimental atherosclerosis: a historical overview. *Life Sci.* 70: 855-865.
- Moghadasian MH., Frohlich JJ., McManus BM. 2001.** Advances in experimental dyslipidemia and atherosclerosis. *Lab Invest.* 81(9): 1173-1183.
- Montonen J., Boeing H., Fritsche A., Schleicher E., Joost HG., Schulze MB., Steffen A., Pischon T. 2013.** Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. *Eur J Nutr.* 52(1): 337-345.
- Moradi MT., Samani KG., Farrokhi E., Koupaei MR., Karimi A. 2012.** The effects of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) on serum level of lipids, lipoproteins and paraoxanase 1 (PON1) activity in hypercholesterolemia patients. *Life Sci J.* 9(4): 5548-5552.

## N

- Nabi SA., Kasetti RB., Sirasanagandla S., Tilak TK., Kumar MV., Rao CA. 2013.** Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Piper longum* root aqueous extract in STZ induced diabetic rats. *BMC Complem Altern Med.* 13: 37. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-37>.
- Nasri H., Rafieian-Kopaei M. 2014.** Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *J Res Med Sci.* 19(1): 82-83.
- Nguinambaye MM., Nana R., Savadogo A., Djinet I., Tamini Z. 2015.** Composés organiques et activités antioxydantes de *Ampelocissus multistriata* du Tchad. *J Appl Biosci.* 91: 8470-8479.
- Ntchapda F., Maguirgue K., Adjia H., Etet PFS., Dimo T. 2015.** Hypolipidemic, antioxidant and anti-atherosclerogenic effects of aqueous extract of *Zanthoxylum heitzii* stem bark in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Asian Pacific J Tropical Med.* 8(5): 359-365.

## O

**Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 95(2): 351-358.

**Ojha S., Alkaabi J., Amir N., Sheikh A., Agil A., Fahim MA., Adem A. 2014.** *Withania coagulans* Fruit Extract Reduces Oxidative Stress and Inflammation in Kidneys of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Oxid Med Cell Longev.* Vol 2014, Article ID 201436, 9 p.

**Olaniyan M., Ozuruoke D., Afolabi T. 2019.** Possible inflammatory responses in hypercholesterolemia patients receiving treatment using raw liquid extract of young cashew leaves in herbal homes in Nigeria. *Int J Health Sci.* 13(1): 14-18

**Olivieri F., Mazzanti I., Abbatecola AM., Recchioni R., Marcheselli F., Procopio AD., Antonicelli R. 2012.** Telomere/Telomerase system: a new target of statins pleiotropic effect?. *Curr Vasc Pharmacol.* 10(2): 216-224.

**Omary N., Dahmani-Ait Akli Y., Labrousse F., Hadj Bekkouche F. 2011.** Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). *Bull Soc Royale Sci Liège.* 80: 907-938.

**OMS. 2018.** Diabetes. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.

**OMS. 2018.** Non communicable Diseases (NCD) Country Profiles. <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-profiles-2018/en/>.

**OMS. 2016.** Hearts technical package for cardiovascular disease management in primary health care. ISBN 978 92 4 151137 7. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/252661>.

**OMS. 2016.** Profils des pays pour le diabète. [https://www.who.int/diabetes/country-profiles/dza\\_fr.pdf?ua=1](https://www.who.int/diabetes/country-profiles/dza_fr.pdf?ua=1).

**Orekhov AN., Bobryshev VY., Sobenin IA., Melnichenko AA., Chistiakov DA. 2014.** Modified Low Density Lipoprotein and Lipoprotein-Containing Circulating Immune Complexes as Diagnostic and Prognostic Biomarkers of Atherosclerosis and Type 1 Diabetes Macrovascular Disease. *Int J Mol Sci.* 15(7): 12807-12841.

**Otunola GA., Oloyede OB., Oladiji AT., J Afolayan. 2014.** Selected spices and their combination modulate hypercholesterolemia-induced oxidative stress in experimental rats. *Biol Res.* 47(1): 5.

## P

**Packard RR., Libby P. 2008.** Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. *Clin Chemistry.* 54(1): 24-38.

**Parhofer KG. 2011.** Pathophysiology of diabetic dyslipidemia: implications for atherogenesis and treatment. *Clin Lipidol.* 6: 401-411.

**Park JE., Han JS. 2018.** A *Portulaca oleracea* L. extract promotes insulin secretion via a  $K^+_{ATP}$  channel dependent pathway in INS-1 pancreatic  $\beta$ -cells. *Nutr Res Pract.* 12(3): 183-190.

**Patel DK., Prasad SK., Kumar R., Hemalatha S. 2012.** An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2(4): 320-330.

**Patel S. 2015.** *Portulaca oleracea*: An Untapped Bioactive Repository for Health Amelioration. Emerging Bioresources with Nutraceutical and Pharmaceutical Prospects. pp 43-52. <https://www.springer.com/gp/book/9783319128467>.

**Paul JL., Baudin B. 2009.** Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Revue Francophone Laboratoires*. 409: 41-50.

**Pellizzon M. 2008.** Diet-Induced Atherosclerosis/Hypercholesterolemia in Rodent Models. Brief Scientific Literature Review. *Res Diets*. pp1-3.

**Perk J., De Backer G., Gohlke H., Graham I., Reiner Z., Verschuren M., Albus C., Benlian P., Boysen G., Cifkova R., Deaton C., Ebrahim S., Fisher M., Germano G., Hobbs R., Hoes A., Karadeniz S., Mezzani A., Prescott E., Ryden L., Scherer M., Syväne M., Scholte op Reimer WJ., Vrints C., Wood D., Zamorano JL., Zannad F. 2012.** The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J*. 33(13): 1635-1701.

**Petersen KE., Lykkesfeldt J., Raun K., Rakipovski G. 2017.** Brief Communication: Plasma lipid oxidation predicts atherosclerotic status better than cholesterol in diabetic apolipoprotein E deficient mice. *Experim Biol Med*. 242(1): 88-91.

**Pirault J., Lesnik P. 2011.** Immuno-inflammation dans l'athérosclérose. *Oil Seeds Fats Crops Lipids OCL*. 18: 27-30.

**Pragda SS., Kuppast IJ., Mankani KL., Ramesh L. 2012.** Evaluation of antihyperlipidemic activity of leaves of *Portulaca oleracea* Linn against dexamethasone induced hyperlipidemia in rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 4: 279-283.

## Q

**Quantanilha AT., Packer L., Szyszlo DJA., Racnelly TL, Davies KJA. 1982.** Membrane effects of vitamin E deficiency bioenergetic and surface charge density of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci*. 393: 32-47.

## R

**Rahman MN., Vukomanovic D., Vlahakis JZ., Szarek WA., Nakatsu K., Jia Z. 2013.** Structural insights into human hemeoxygenase-1 inhibition by potent and selective azole-based compounds. *J R Soc Interface*. 10(78): 20120697.

**Rai Ak., Debetto P., Dabbeni Sala F. 2013.** Molecular regulation of cholesterol metabolism : HDL-based intervention through drugs and diet. *Ind J Exp Biol*. 51: 885-894.

**Rajaei Z., Hadjzadeh MA., Moradi R., Ghorbani A., Saghebi A. 2015.** Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of hydroalcoholic extract of *Securigera securidaca* seeds in streptozotocin-induced diabetic rats. *Adv Biomed Res*. 4: 33.

**Ramadan BK., Schaalán MF., Tolba AM. 2017.** Hypoglycemic and pancreatic protective effects of *Portulaca oleracea* extract in alloxan induced diabetic rats. *BMC Complementary Alternative Med*. 17(1): 37.

- Reddy S., Somasundaram G. 2013.** Acute toxicological evaluation of pet-ether extract of *Portulaca oleracea* (Linn.) on rodents. *Int J Med Res Health Sci.* 2: 130-136.
- Redler RL., Dokholyan NV. 2012.** The complex molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Prog Mol Biol Transl Sci.* 107: 215-262.
- Reto M., Almeida C., Rocha J., Sepodes B., Figueira ME. 2014.** Green Tea (*Camellia sinensis*): Hypocholesterolemic Effects in Humans and Anti-Inflammatory Effects in Animals. *FNS.* 5(22): 2185-2194.
- Riccioni G., Sblendorio V. 2012.** Atherosclerosis: from biology to pharmacological treatment. *J Geriatr Cardiol.* 9: 305-317.
- Rong Y., Chen L., Zhu T., Song Y., Yu M., Shan Z., Sands A., Hu FB., Liu L. 2013.** Egg consumption and risk of coronary heart disease and stroke: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ.* 346, e8539. doi: 10.1136/bmj.e8539
- Rudijanto A. 2007.** The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Med Indones.* 39: 86-93.

## S

- Saddala RR., Thopireddy L., Ganapathi N., Kesireddy SR. 2013.** Regulation of cardiac oxidative stress and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats treated with aqueous extract of *Pimpinella tirupatiensis* tuberous root. *Exp Toxicol Pathol.* 65(1-2): 15-19.
- Salinthon S., Kerns AR., Tsang V., Carr DW. 2013.** Alpha-Tocopherol (Vitamin E) Stimulates Cyclic AMP Production in Human Peripheral Mononuclear Cells and Alters Immune Function. *Mol Immunology.* 53: 173-178.
- Samarghandian S., Borji A., Farkhondeh T. 2017.** Attenuation of Oxidative Stress and Inflammation by *Portulaca oleracea* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *eCAM.* 22(4): 562-566.
- Sedlak J., Lindsay RH. 1968.** Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. *Analytic Biochem.* 25(1): 192-205.
- Sengupta P. 2013.** The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med.* 4(6): 624-630.
- Setorki M., Rafieian-Kopaei M., Merikhi A., Heidarian E., Shahinfard N., Ansari R., Nasri H., Esmael N., Baradaran A. 2013.** Suppressive impact of *Anethum graveolens* consumption on biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Prev Med.* 4: 889-895.
- Shafi S., Tabassum N. 2013.** Acute oral toxicity and hypoglycaemic study of ethanolic extract of *Portulaca oleracea* (whole plant) in swiss albino mice. *Int J Pharm Pharm Sci.* 5: 389-393.
- Shailasree S., Ruma K., Kini KR., Niranjana SR., Prakash HS. 2012.** Potential anti-inflammatory bioactives from medicinal plants of Western Ghats, India. *Pharmacognosy Communications.* 2(2): 11p.
- Shan Y., Zhang Q., Liu Z., Hu X., Liu D. 2010.** Prevalence and risk factors associated with chronic kidney disease in adults over 40 years: A population study from Central China. *Nephrology (Carlton).* 15: 354-361.

- Sharma AK., Bharti S., Kumar R., Krishnamurthy B., Bhatia J., Kumari S., Arya DSJ. 2012.** Syzygium cumini ameliorates insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction via modulation of PPAR, dyslipidemia, oxidative stress, and TNF- $\alpha$  in type 2 diabetic rats. *Pharmacol Sci.* 119(3): 205-213.
- Sharma M., Manoharlal R., Shukla S., Puri N., Prasad T., Ambudkar SV., Prasad R. 2009.** Curcumin modulates efflux mediated by yeast ABC multidrug transporters and is synergistic with antifungals. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(8): 3256-3265.
- Shehata A., Yousef OM. 2010.** Physiological Studies on the Risk Factors Responsible for Atherosclerosis in Rats. *Nature Sci.* 8: 144-151.
- Shehata MMSM., Soltan SSA. 2012.** The Effects of Purslane and Celery on Hypercholesterolemic Mice. *World J Dairy Food Sci.* 7: 212-221.
- Shen H., Tang G., Zeng G., Yang Y., Cai X., Li D., Liu H., Zhou N. 2013.** Purification and characterization of an antitumor polysaccharide from *Portulaca oleracea* L. *Carbohydr Polym.* 93: 395-400.
- Shidfar F., Rajab A., Rahideh T., Khandouzi N., Hosseini S., Shidfar S. 2015.** The effect of ginger (*Zingiber officinale*) on glycemic markers in patients with type 2 diabetes. *J Complement Integr Med.* 12(2): 165-170.
- Shin JY., Xun P., Nakamura Y., He K. 2013.** Egg consumption in relation to risk of cardiovascular disease and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 98(1): 146-159.
- Sidhu GS., Oakenful DG. 1986.** A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *Br J Nutr.* 55(3): 663-669.
- Sies H. 2014.** Role of metabolic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation: redox signalling and oxidative stress. *J Biol Chem.* 289(13): 8735-8741.
- Skulachev VP. 2012.** Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. *J Alzheimers Dis.* 28(2): 283-289.
- Small DM., Coombes JS., Bennett N., Johnson DW., Gobe GC. 2012.** Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology.* 17(4): 311-321.
- Solanki ND., Bhavsar SK. 2015.** An evaluation of the protective role of *Ficus racemosa* Linn. in streptozotocin-induced diabetic neuropathy with neurodegeneration. *Ind J Pharmacol.* 47(6): 610-615.
- Souza A., Mbatchi B., Herchuelz A. 2011.** Induction of insulin secretion by an aqueous extract of *Tabernanthe iboga* Baill. (Apocynaceae) in rat pancreatic islets of Langerhans. *J Ethnopharmacol.* 133(3): 1015-1020.
- Srinivasan K., Jagadish LK., Shenbhagaraman R., Muthumary J. 2010.** Antioxydant activity of endophytic Fungus *Phyllosticta* SP isolated from *Guazma Tomentosa*. *J Phytology.* 2(6): 37-41.
- Stapleton PA., Goodwill AG., James ME., Brock RW., Frisbee JC. 2010.** Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: interventional strategies. *J Inflamm.* 18(7): 54.
- Stone JA., Fitchett D., Grover S., Lewanczuk R., Lin P. 2013.** Protection vasculaire chez les personnes diabétiques. Lignes directrices de pratique clinique. *Can J Diabetes.* 37(5): 474-478.



**Sunmonu TO., Ugbaja RN., Ogunlesi O., Olafimihan D., Shodeinde T., Toriola MA., Akinloye DI., Balogun EA. 2015.** Effects of *Strophanthus hispidus* DC. (*Apocynaceae*) Aqueous Root Extract on Antioxidant Status in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biokemistri*. 27(3): 89-97.

**Suzuki Y., Tada-Oikawa S., Ichihara G., Yabata M., Izuoka K., Suzuki M., Sakai K., Ichihara S. 2014.** Zinc oxide nanoparticles induce migration and adhesion of monocytes to endothelial cells and accelerate foam cell formation. *Toxicol Appl Pharmacol*. 278(1): 16-25.

**Szkudelski T. 2012.** Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood)*. 237(5): 481-490.

## T

**Talukdar SN., Hossain MN. 2014.** Phytochemical, phytotherapeutical and pharmacological study of *Momordica diocia*. *eCAM*. Article ID 806082, p 11.

**Tangvarasittichai S. 2015.** Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 6(3): 456-480.

**Tavakoly R., Maracy MR., Mozhgan K., Entezari MH. 2018.** Does fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed improve inflammation, and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus? A parallel group randomized clinical trial. *Eur J IntegrMed*. 18: 13-17.

**Thomas J., Shentu TP., Singh DK. 2012.** Cholesterol: Biosynthesis, Functional Diversity, Homeostasis and Regulation by Natural Products. *Biochemistry*. ISBN: 978-953-51-0076-8. pp 419-442.

**Tibblin G., Wilhelmsen L., Werkö L. 1975.** Risk factors for myocardial infarction and death due to ischemic heart disease and other causes. *Am J Cardiol*. 35(4): 514-522.

**Tousoulis D., Kampoli AM., Tentolouris C., Papageorgiou N., Stefanadis C. 2012.** The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol*. 10(1): 4-18.

**Traber MG., Atkinson J. 2007.** Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*. 43(1): 4-15.

**Tucker JJ., Soslowsky LJ. 2016.** Effect of simvastatin on rat supraspinatus tendon mechanical and histological properties in a diet-induced hypercholesterolemia model. *J Orthop Res*. 34(11): 2009-2015.

## U

**Uddin MK., Juraimi AS., Ali ME., Ismail MR. 2012.** Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) at different growth stages. *Int J Mol Sci*. 13(8): 10257-10267.

**Uddin MK., Juraimi AS., Hossain MS., Nahar MA., Ali ME., Rahman MM. 2014.** Purslane Weed (*Portulaca oleracea*): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidant Attributes. *Scientific World J*. Article ID 951019, 6 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/951019>.

**Udem SC., Ezeonuegbu UC., Obidike RI. 2011.** Experimental Studies on the Hypolipidemic and Haematological Properties of Aqueous Leaf Extract of *Cleistopholis Patens* Benth & Diels (Annonaceae) in Hypercholesterolemic Rats. *Annals Med Health Sci Res.* 1(1): 115-121.

**United States Department of Agriculture USDA. 2012.** National resources conservation service, plants database- plant profile. <https://plants.sc.egov.usda.gov/java/>.

**Usharani P., Mateen AA., Naidu MU., Raju YS., Chandra N. 2008.** Effect of NCB-02, atorvastatin and placebo on endothelial function, oxidative stress and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, parallel-group, placebo-controlled, 8-week study. *Drugs R D.* 9(4): 243-250.

## V

**Valko M., Rhodes CJ., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 160(1): 1-40.

**Vázquez-Castilla S., De la Puerta R., Giménez MDG., Fernández-Arche MA., Guillén-Bejarano R. 2013.** Bioactive Constituents from “Triguero” Asparagus Improve the Plasma Lipid Profile and Liver Antioxidant Status in Hypercholesterolemic Rats. *Int J Mol Sci.* 14(11): 21227-21239.

**Vergès B. 2013.** Lipides et diabète de type 1. *Méd Mal Métab.* 7: 437-442.

**Vijaya Lakshmi N., Naga Manasa CH., Jaswanthi P., Avinash P SK., Tahseen S., Rosemary P. 2018.** Review on phytochemistry and pharmacological activities of *Portulaca oleracea*. *WJPPS.* 7(3): 271-283.

**Von Eckardstein A., Nofer JR., Assmann G. 2001.** High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21(1): 13-27.

## W

**Wainstein J., Landau Z., Dayan YB., Jakubowicz D., Grothe T., Perrinjaquet Moccetti T., Boaz M. 2016.** Purslane Extract and Glucose Homeostasis in Adults with Type 2 Diabetes: A Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Efficacy and Safety. *J Med Food.* 19(2): 133-140.

**Wang CY., Chau LY. 2010.** Heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical perspectives. *Chang Gung Med J.* 33(1): 13-24.

**Williams MWY., Guiffre AK., Fletcher JP. 2014.** Platelets and smooth muscle cells affecting the differentiation of monocytes. *PLoS One.* 9(2): e88172.

**Wu CH., Lin JA., Hsieh WC., Yen GC. 2009.** Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose in vitro. *J Agric Food Chem.* 57(11): 5058-5064.

**Wu D., Li C., Chen Y., Xiong H., Tian X., Wu W., Huang W., Zhang YT., Zhang H. 2016.** Influence of blood pressure variability on early carotid atherosclerosis in hypertension with and without diabetes. *Medicine (Baltimore).* 95(24): e3864.

**Wu J., Yan LJ. 2015.** Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic  $\beta$  cell glucotoxicity. *Diab Metab Syndr Obes.* 8:181-188.

**X**

**Xiaojuan L., Yong H., Xueqi G., Fanhui Z., Zhihong J., Ping YY. 2011.** Polysaccharides from *Portulaca oleracea* (purslane) supplementation lowers acute exercise induced oxidative stress in young rats. *Afric J Pharm Pharmacol.* 5(3): 381-385.

**Y**

**Yang M., Chen M., Wang J., Xu M., Sun J., Ding L., Lv X., Ma Q., Bi Y., Liu R., Hong J., Ning G. 2016.** Bisphenol A Promotes Adiposity and Inflammation in a Nonmonotonic Dose-response Way in 5-week-old Male and Female C57BL/6J Mice Fed a Low-calorie Diet. *Endocrinology.* 157(6): 2333-2345.

**Yoshihara D., Fujiwara N., Suzuki K. 2010.** Antioxidants: benefits and risks for longterm health. *Maturitas.* 67(2): 103-107.

**Z**

**Zakaria AS., Hazha JH. 2013.** Cytogenetic toxicity effects of local purslane (*Portulaca oleracea*) leaf crude extracts on normal and cancer cell lines in vitro. *Int J Drug Discov.* 5(1): 173-180.

**Zhang H., Temel RE., Martel C. 2014.** Cholesterol and lipoprotein metabolism: Early Career Committee contribution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 34(9): 1791-1794.

**Zhao R., Gao X., Cai Y., Shao X., Jia G., Huang Y., Qin X., Wang J., Zheng X. 2013.** Antitumor activity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides against cervical carcinoma in vitro and in vivo. *Carbohydr Polym.* 96(2): 376-383.

**Zhao R., Zhang T., Zhao H. 2015.** Effects of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides on phenotypic and functional maturation of murine bone marrow derived dendritic cells. *Nutr Cancer.* 67(6): 987-993.

**Zhou YX., Xin HL., Rahman K., Wang SJ., Peng C., Zhang H. 2015.** *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. *Biomed Res Int.* 2015:925631. doi: 10.1155/2015/925631.

**Zhu H., Wang Y., Liu Y., Xia L., Tang T. 2010.** Analysis of Flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. *Food Analytical Methods.* 3(2): 90-97.

**Zidan Y., Bouderbala S., Djellouli F., Lacaille-Dubois MA., Bouchenak M. 2014.** *Portulaca oleracea* reduces triglyceridemia, cholesterolemia, and improves lecithin: cholesterol acyltransferase activity in rats fed enriched-cholesterol diet. *Phytomedicine.* 21(12): 1504-08.

**Zidan Y., Bouderbala S., Mitaine-Offer AC., Lacaille-Dubois MA., Bouchenak M. 2016.** *Portulaca oleracea* aqueous extract reduces oxidative stress in erythrocytes and tissues, in rats fed enriched-cholesterol diet. *J Exp Integr Med.* 6(1): 21-25.

# **ANNEXES**

Tableau XIV. Evolution du poids corporel et de la nourriture ingérée

	J0	J7	J14	J21	J28
<b>Poids (g)</b>					
<b>HD</b>	218,76±7,62	194,85±7,92	186,47±7,36	180,32±8,06	176,34±5,56
<b>HD-Po</b>	226,19±9,25	198,13±4,41	188,50±6,69	189,45±4,29	195,59±6,67*
<b>Nourriture ingérée (g.j<sup>-1</sup>)</b>					
<b>HD</b>	23,17±3,24	20,84±1,71	20,85±1,19	20,79±1,92	21,24±2,25
<b>HD-Po</b>	21,623±6,66	21,03±1,28	20,72±0,90	21,09±0,73	21,67±0,80

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ .

Tableau XV. Evolution de la glycémie (mmol.L<sup>-1</sup>)

	J0	J7	J14	J21	J28
<b>HD</b>	18,21±1,30	19,62±1,23	20,16±1,09	20,57±0,93	20,60±1,22
<b>HD-Po</b>	17,72±1,40	11,33±1,26***	8,23±0,50***	6,92±0,25***	6,73±0,46***

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\*\* $P < 0,001$ .

Tableau XVI. Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma

	HD	HD-Po
<b>Protéines Totales (mg.g<sup>-1</sup>)</b>		
Foie	147,71±4,43	133,29±4,68*
Plasma	63,60±2,08	52,41±3,11*
<b>Triglycérides (mmol.L<sup>-1</sup>)</b>		
Foie	35,39±2,56	22,66±1,01**
Plasma	1,78±0,16	0,65±0,09***
<b>Cholestérol libre (mmol.L<sup>-1</sup>)</b>		
Foie	26,15±1,76	23,27±1,89*
Plasma	2,13±0,19	1,44±0,09**
<b>Esters de cholestérol (mmol.L<sup>-1</sup>)</b>		
Foie	87,66±3,19	42,40±2,23***
Plasma	5,66±0,68	2,98±0,25**
<b>Phospholipides (mmol.L<sup>-1</sup>)</b>		
Foie	34,44±2,46	21,90±1,63**
Plasma	2,14±0,10	2,05±0,14

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

Tableau XVII. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL

Groupes	Masse (g.L <sup>-1</sup> )	Apo (g.L <sup>-1</sup> )	TG (mmol.L <sup>-1</sup> )	PL (mmol.L <sup>-1</sup> )	CL (mmol.L <sup>-1</sup> )	EC (mmol.L <sup>-1</sup> )
HD	5,15±0,10	1,51±0,02	0,93±0,07	1,10±0,03	0,22±0,03	1,61±0,06
HD-Po	2,73±0,10**	1,50±0,05	0,25±0,06***	0,51±0,03***	0,11±0,03***	0,49±0,09***

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*\*P < 0,01 ; \*\*\*P < 0,001.

Tableau XVIII. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL<sub>1</sub>

Groupes	Masse (g.L <sup>-1</sup> )	Apo (g.L <sup>-1</sup> )	TG (mmol.L <sup>-1</sup> )	PL (mmol.L <sup>-1</sup> )	CL (mmol.L <sup>-1</sup> )	EC (mmol.L <sup>-1</sup> )
HD	5,22±0,16	1,53±0,03	0,52±0,03	0,26±0,04	0,70±0,08	2,90±0,15
HD-Po	2,40±0,11***	1,50±0,04	0,14±0,03***	0,32±0,04*	0,24±0,05***	0,41±0,07***

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*\*P < 0,001.

Tableau XIX. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL<sub>2</sub>

Groupes	Masse (g.L <sup>-1</sup> )	Apo (g.L <sup>-1</sup> )	TG (mmol.L <sup>-1</sup> )	PL (mmol.L <sup>-1</sup> )	CL (mmol.L <sup>-1</sup> )	EC (mmol.L <sup>-1</sup> )
HD	2,62±0,20	1,15±0,09	0,20±0,05	0,47±0,05	0,40±0,04	1,28±0,17
HD-Po	3,65±0,30*	1,47±0,07*	0,12±0,04**	0,39±0,04*	0,54±0,03**	1,58±0,11*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01.

Tableau XX. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL<sub>3</sub>

Groupes	Masse (g.L <sup>-1</sup> )	Apo (g.L <sup>-1</sup> )	TG (mmol.L <sup>-1</sup> )	PL (mmol.L <sup>-1</sup> )	CL (mmol.L <sup>-1</sup> )	EC (mmol.L <sup>-1</sup> )
HD	4,16±0,08	2,54±0,09	0,14±0,02	0,63±0,06	0,27±0,02	0,85±0,04
HD-Po	4,15±0,09	2,53±0,06	0,13±0,01	0,41±0,06**	0,16±0,04**	1,08±0,09*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01.

**Tableau XXI. Concentrations en TBARS des érythrocytes, du plasma, des VLDL, LDL-HDL<sub>1</sub>, des HDL<sub>2</sub> et des HDL<sub>3</sub> (nmole.L<sup>-1</sup>)**

	Plasma	Erythrocytes	VLDL	LDL-HDL <sub>1</sub>	HDL <sub>2</sub>	HDL <sub>3</sub>
<b>HD</b>	13,22±0,87	11,09±0,68	2,31±0,14	2,28±0,08	1,66±0,13	1,48±0,09
<b>HD-Po</b>	9,09±0,76*	8,01±0,90*	2,24±0,09	1,77±0,10*	1,25±0,06*	1,26±0,05*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05.

**Tableau XXII. Concentrations en TBARS tissulaires (mmole.g<sup>-1</sup>)**

	Foie	Cœur	Aorte	Cerveau	Rein	Muscle
<b>HD</b>	195,22±7,71	78,61±4,52	110,22±6,76	228,09±10,62	111,43±4,64	73,53±4,12
<b>HD-Po</b>	119,83±5,97*	55,93±2,98*	68,29±4,68**	105,53±6,69***	99,85±4,9*	60,84±3,90*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01 ; \*\*\*P < 0,001.

**Tableau XXIII. Concentrations tissulaires et érythrocytaires en glutathion réduit (GSH) (nmole.g<sup>-1</sup>)**

	Erythrocyte	Foie	Cœur	Aorte	Muscle	Rein	Cerveau
<b>HD</b>	21,77±1,12	8,97±0,73	0,93±0,05	1,19±0,10	1,03±0,09	5,27±0,86	7,62±0,31
<b>HD-Po</b>	26,68±1,43*	12,48±0,84*	1,03±0,05*	1,95±0,27**	1,06±0,08	6,84±0,63*	7,51±0,45

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01.

**Tableau XXIV. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) (nmole.g<sup>-1</sup>)**

	Foie	Cœur	Aorte	Cerveau	Rein	Muscle
<b>HD</b>	11,29±0,77	34,94±0,57	33,02±1,04	13,03±0,39	8,01±0,24	55,33±1,79
<b>HD-Po</b>	14,28±0,66*	42,09±0,68*	40,14±1,62*	16,37±0,56*	9,49±0,48*	52,51±1,47

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \*P < 0,05.

**Tableau XXV. Activité de la catalase (CAT) ( $\mu\text{mole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )**

	Foie	Cœur	Aorte	Cerveau	Rein	Muscle
<b>HD</b>	293,04±31,87	116,79±6,15	121,65±5,79	117,95±4,69	157,11±3,07	143,48±3,16
<b>HD-Po</b>	313,50±28,21	130,60±5,56*	144,71±4,34*	280,91±9,14***	181,62±3,88*	159,45±1,95*

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\*\* $P < 0,001$ .

**Tableau XXVI. Activité de la glutathion peroxydase (GPx) ( $\text{nmole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )**

	Foie	Cœur	Aorte	Cerveau	Rein	Muscle
<b>HD</b>	64,68±5,61	19,89±1,02	21,29±1,73	13,21±1,22	22,31±1,52	28,58±0,81
<b>HD-Po</b>	103,63±6,20**	26,91±1,93*	28,74±2,20*	14,38±1,36	27,04±1,35*	29,39±1,52

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

**Tableau XXVII. Activité de la glutathion réductase (GRed) ( $\text{nmole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )**

	Foie	Cœur	Aorte	Cerveau	Rein	Muscle
<b>HD</b>	31,91±1,17	23,04±0,77	24,14±0,61	21,12±1,46	30,27±1,07	24,14±0,79
<b>HD-Po</b>	37,14±1,50*	27,58±0,98*	31,75±0,82*	22,69±1,24	32,54±1,29	31,65±0,48*

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$ .

**Tableau XXVIII. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires**

	SOD ( $\text{U}\cdot\text{mol}^{-1}$ )	CAT ( $\text{pmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	GPx ( $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	GRed ( $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
<b>HD</b>	183,09±10,79	1,15±0,07	22,89±1,07	33,14±2,69
<b>HD-Po</b>	218,41±13,87*	1,56±0,12*	28,50±1,87*	54,36±4,11**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .

**Tableau XXIX. Concentrations plasmatiques en TNF- $\alpha$  et en IL-6 (pg.mL<sup>-1</sup>)**

	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>IL-6</b>
<b>HD</b>	14,92 $\pm$ 0,49	5,72 $\pm$ 0,55
<b>HD-Po</b>	12,21 $\pm$ 0,79*	9,77 $\pm$ 0,41**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 10 rats par groupe. HD : rats hypercholestérolémiques-diabétiques non traités. HD-Po : rats hypercholestérolémiques-diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student-Fischer à \* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,01$ .



## **Portulaca oleracea Reduces Lipemia, Glycemia, and Oxidative Stress in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Fed Cholesterol-enriched Diet**

**F. Djellouli<sup>1</sup>, D. Krouf<sup>1\*</sup>, M. A. Lacaille-Dubois<sup>2</sup> and M. Bouchenak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique, Department of Biology, Faculty of Nature and life Sciences, Université Oran 1, BP 1524 El M'Naouer, 31000 Oran, Algérie.

<sup>2</sup>EA 4267, PEPITE, Laboratoire de Pharmacognosie, Université de Bourgogne Franche-Comté, 21000 Dijon, France.

### **Authors' contributions**

This work was carried out in collaboration between all authors. Author FD collected and prepared the samples, participated in the laboratory procedures and wrote the first draft of the manuscript. Authors DK and MALD managed the analyses and the literature searches and performed the statistical analysis. Author MB designed the study and managed the literature searches. All authors read and approved the final manuscript.

### **Article Information**

DOI: 10.9734/JPRI/2018/43495

Editor(s):

(1) Dr. Vijay Ramani, College of Pharmacy, University of Oklahoma Health Sciences Center, Oklahoma City, OK, USA.

Reviewers:

(1) Alcibey Alvarado, Costa Rica.

(2) Emmanuel Ifeanyi Obeagu, Michael Okpara University of Agriculture, Nigeria.

(3) E. Siva Rami Reddy, Tantia University, India.

Complete Peer review History: <http://www.sciencedomain.org/review-history/26220>

**Original Research Article**

**Received 11<sup>th</sup> June 2018**

**Accepted 27<sup>th</sup> August 2018**

**Published 13<sup>th</sup> September 2018**

### **ABSTRACT**

**Aims:** In this study, the effects of *Portulaca oleracea* (*Po*) in the treatment of hypercholesterolemia combined with diabetes in rats were investigated.

**Place and Duration of Study:** Laboratory of Clinical and Metabolic Nutrition, Department of Biology, Nature and Life Sciences Faculty, University of Oran1, Algeria, between September and July 2017.

**Study Design:** The effects of an aqueous extract from the leaves of *Po* were studied on glucose homeostasis, lipid parameters, and oxidative stress markers, in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats on a cholesterol-enriched diet.

**Methodology:** Experimental hypercholesterolemia was induced by feeding rats with 1% cholesterol-enriched diet for 15 days. Hypercholesterolemic male Wistar rats (n=28) were rendered diabetic by

\*Corresponding author: E-mail: [Incmkrouf@gmail.com](mailto:Incmkrouf@gmail.com);

a single intraperitoneal injection dose (55 mg/kg BW) of STZ. Hypercholesterolemic diabetic rats were divided into two groups (n=10): Hypercholesterolemic diabetic group (HC-D), and hypercholesterolemic-diabetic group supplemented with 1% of *Po* aqueous extract (HC-D*Po*) during 28 days. Assessed parameters were blood glucose, insulinemia, glycosylated haemoglobin (HbA<sub>1c</sub>), liver and plasma lipids, lipid peroxidation, and antioxidant enzymes in plasma, red blood cells (RBCs), and tissues.

**Results:** A significant increase in final body weight was found between both groups. In HC-D*Po* vs HC-D group, glyceemic parameters were improved by decreasing glucose, HbA<sub>1c</sub> levels, and by enhancing insulinemia. Low plasma values of total cholesterol (TC) (-42%), triacylglycerols (TG) (-63%), very low and low density lipoprotein cholesterol (VLDL-C, LDL-C) (-66% and -80%), and increase of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (-26%), leading to decreased atherogenic indices TC/HDL-C (-57%) and LDL-C/HDL-C (-85%) were noted in rats treated by *Po* compared to untreated group. In the liver, heart and aorta, lipid peroxidation was lowered, and inversely, antioxidant enzymes activities were increased after treatment with *Po*.

**Conclusion:** On the basis of these finding, it can be concluded that the *Po* aqueous extract is an interesting natural product to prevent hypercholesterolemia in diabetic rats. Protocols in hypercholesterolemia diabetic patients are needed to verify and validate these results.

**Keywords:** *Portulaca oleracea*; streptozotocin; hypercholesterolemia; diabetes; oxidative stress antioxidant enzyme.

## 1. INTRODUCTION

Vascular homeostasis can be broken in numerous physiopathological circumstances, at the origin of noxious effects of oxidative stress for the concerned cells and their vascular functions. The causes of this imbalance are multiple and recruit at least partially the classic cardiovascular risk factors such as hypercholesterolemia and diabetes [1,2,3]. Hypercholesterolemia is one of the main factors of the atherogenic risk, directly bound to the increased serum level of small-dense low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and conversely linked to the lower rate of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) [4,5]. Previous studies have shown that a hypercholesterolemic diet-induced in animal models and man results in numerous metabolic disorders concomitant with antioxidant defence deficiency and altered inflammatory response [1,6], which could induce a cardiovascular metabolic disorder [7]. Diabetes is related to a glyceemic biological regulation mechanisms deficiency, leading to hyperglycemia [8]. In addition, it has been reported that the lipid profile during diabetes is impaired, characterised by high concentrations of triacylglycerols (TG), total cholesterol (TC), LDL-C, and reduced HDL-C [9]. These abnormalities in lipid metabolism are intensified by the over-consumption of cholesterol [10]. Moreover, elevation levels of apolipoproteins glycation, oxidised LDL and oxidative stress are also observed [11,9]. In the presence of diabetes and Hypercholesterolemia, two cardiovascular risk

factors, namely, the balance between pro-oxidant and antioxidant species is broken in favour of pro-oxidants, favouring an overproduction of oxygen-reactive species (ROS) [12,13].

Traditional medicinal plants play an important role in the research and development of new medicines. Recent studies revealed promising results for the prevention and treatment of diseases, such as atherosclerosis [14,15], diabetes [16,17] and cardiovascular diseases [18,19].

*Portulaca oleracea* L. (Portulacaceae), known as purslane "Rigla" in Arabic is a succulent annual herbaceous plant found in the temperate and tropical regions of the world. *Po* can be consumed fresh as salad and pickle or can be cooked as a vegetable similar to spinach [20, 21,22]. In Algeria, it is used for the preparation of traditional couscous sauce. *Po* is a great source of beneficial health compounds including alkaloids, polysaccharides,  $\omega$ 3 fatty acids, proteins, carbohydrates, flavonoids, tannins, vitamins (vitamin A, vitamin C, vitamin B and carotenoids), and minerals (magnesium, calcium, potassium and iron) [23,24,25,26,27,28,20]. Besides of its culinary uses, *Po* is widely prescribed in folk medicine. Experimental research has shown an important pharmacological potential of *Portulaca* in the treatment of hyperglycemia [29], hyperlipidemia [23] and oxidation [30].

There were no reports of *Po* supplementation in Wistar rats with hypercholesterolemia (HC) and

diabetes (D). Hence, the present study was designed to evaluate the protective effect of *Po* extract on glycemia, lipid profile and oxidative stress in a rat model with HC-D.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### Sources of Animals, Plant Material and Diets

Twenty-eight adult male Wistar rats were obtained from the Animal Research Center, Pasteur Institute, Algiers, Algeria. *Portulaca oleracea* L. was collected on July 2016 in Ouargla southeastern city (Algeria). This plant was identified taxonomically and authenticated by the Botanical Research Laboratory of Oran 1 University. A voucher specimen has been deposited in the herbarium of the Laboratory of Clinical and Metabolic Nutrition, Faculty of Natural and Life Sciences, under the number P0 1965.

The casein, 20%, was obtained from Prolabo, Paris, France. Cellulose, 5%, cornstarch, 59%, minerals, 4%, and vitamins, 2%, were collected from Merck, Darmstadt, Germany. Sunflower oil, 5%, and sucrose, 4%, were obtained at a local market in Oran city, Algeria.

### Extraction of Plant Material

Fresh aerial parts (leaves) were air dried at an ambient temperature (24°C) for 7 days, and then grounded. The *Po* extract was prepared as follows: a fine powder of *Po* (50 g) was suspended in 500 ml of distilled water, heated under reflux for 45 min and then filtered. The filtrate was frozen at -70°C and lyophilised (CHRIST, ALPHA 1-2 LD, Germany). The crude extraction yield of the *Po* lyophilised extract was approximately 30% (wt/wt). It was stored in the dark at ambient temperature until further use.

### Chemical Separation

A previous phytochemical analysis of the aqueous extract of *Po* Zidan et al. [23] was achieved leading to the conclusion of the presence of phenolic compounds including flavonoids, tannins and other phenolic compounds, carbohydrates and terpenoids. Furthermore, some pure secondary metabolites were isolated by successive column chromatography techniques [column chromatography on Sephadex LH 20, Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC) on normal and reversed-phase silica gel] and identified by 1D and 2D NMR and mass

spectroscopic techniques as adenosine, allantoin, and adenine by comparing with NMR and mass spectroscopic data with literature values.

### Evaluation of the Antioxidant Activity of *Po* Extract

*In vitro* test for the antioxidant activity of the *Po* extract was measured by using KRL test [31]. This evaluates the resistance to free radical aggression by measuring the capability of total blood to resist free radical-induced hemolysis. Trolox, a water-soluble synthetic analogue of vitamin E was used as a standard, and the antioxidant activity of the extract was compared with those of trolox (mmol/l).

### Treatment of Animals

Adult male Wistar rats (Animal Research Center, Pasteur Institute, Algiers, Algeria) ( $n = 28$ ) weighing  $138 \pm 12$  g were housed in wire bottom cages at a temperature of  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , relative humidity of 60% and light were automatically turned on from 07:00 to 19:00 h. Diets and tap water were freely available. Food consumption and weight gain were measured in every three days. This study was approved by the Institutional Animal Research Committee (*International Research grants 04 MDU 629*). The General Guidelines on the Use of Living Animals in Scientific Investigations Council of European Communities (1987) were followed.

Hypercholesterolemia was experimentally induced by feeding rats a cholesterol-enriched diet (1%) and cholic acid (0.5%) (Merck, Darmstadt, Germany), for 15 days. After this phase, cholesterolemia value was  $5.76 \pm 0.80$  mmol/l vs value in normal rat  $< 3.90$  mmol/l [32]. Diabetes was induced by the administration to hypercholesterolemic rats of an intraperitoneal injection of STZ diluted in citrate buffer (0.1 mol/l, pH 4.5) at a single dose of 55 mg/kg body weight (BW). After 48 h, the response to the injection of STZ was checked. The diabetic state was assessed by measuring glycemia using a glucometer (One-touch glucometer Accu-Chek Active, Germany). Only rats in which fasting blood glucose levels were greater than 16 mmol/l within 3 days after STZ injection were considered diabetic. Hypercholesterolemic-diabetic ( $n = 20$ ) rats were divided into two groups ( $n = 10$ ) and fed for 28 days with the same diet supplemented (HC-D*Po*) or not (HC-D) with *Po* lyophilised aqueous extract (1 g/100 g diet).

## Collection of Samples

At d 28, the animals were food deprived for 12 h, weighed, anaesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg BW) (Sigma, St Louis, MO, USA), and euthanised with an overdose. Blood was obtained from the abdominal aorta and collected into tubes containing Na<sub>2</sub>-EDTA (0.1%) (Sigma, St Louis, MO, USA). Plasma was achieved by low-speed centrifugation at 1000 × g for 20 min at 4°C. Red blood cell sediment was washed twice with ice-cold distilled water (1/4, v/v) and centrifuged (1000 × g for 10 min, 4°C). Liver, heart, aorta and adipose tissue were quickly excised, rinsed with a cold saline solution (0.9%), blotted on filter paper and weighed. Aliquots of plasma, red blood cells and tissues were stored at -70°C until analysis.

## Chemicals

All the chemicals and reagents used were of analytical grade and purchased from Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) and Merck (Darmstadt, Germany). Kits used in this study for HbA1c, cholesterol, triacylglycerol, urea and creatinine were from Biocon, Germany and for insulin release, chemicals were obtained from Spi-Bio, Bertin groupe, Montigny Le Bretonneux, France. Other EIA kits for the determination of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione reductase (GSSH-Red) were supplied by the Sigma Chemical Company.

## Methodology

Fasting glycemia was determined by the glucose oxidase method using a one-touch glucometer (Accu-Chek® Active, Germany). HbA1c was measured by ion exchange chromatography method (kit Biocon, Germany). Plasma urea, creatinine, TC and TG were determined with the enzymatic methods (Kits Biocon, Germany).

Insulin was measured at d28 using an enzyme immunoassay (EIA), based on the competition between unlabeled rat insulin and acetylcholinesterase (AChE) linked to rat insulin (tracer) for limited specific Guinea-Pig anti-rat insulin antiserum sites (EIA kit, SpiBio, Montigny-le-Bretonneux, France). The colouration intensity was determined spectrophotometrically at 405 nm.

Plasma VLDL, LDL and HDL lipoproteins were isolated by differential dextran sulphate

magnesium chloride precipitation using MgCl<sub>2</sub> (Merck, Germany) and phosphotungstate (Prolabo, Paris, France) by the method of Burstein et al. [33,34]. Total cholesterol of each lipoprotein was estimated by enzymatic colourimetric method (kit Biocon Germany).

RBCs lipid peroxidation was measured by the determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) Quintanilha et al. [35], using malondialdehyde as a standard. Liver, heart and aorta were homogenised in four volumes of 0.1 M phosphate buffered saline (PBS) and centrifuged at 2000 × g, at 4°C, for 10 min. Tissue homogenates were used for determination of tissues susceptibility to lipid peroxidation according to the method of Ohkawa et al. [36]. GSH concentration was determined by the method of Sedlak and Lindsay [37]. GSH reacts with DTNB [5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)] to form TNB (5-thio-2-nitrobenzoic acid) which can be quantified at 412 nm. One ml of RBCs was mixed with 800 µl of ice-cold distilled water and 200 µL of 50% trichloroacetic acid (TCA), and incubated for 15 min. After centrifugation at 1200 × g for 15 min, 400 µl of the supernatant was mixed with 800 µl of Tris buffer (0.4 mol/l, pH = 8.9) and 20 µl of DTNB reagent (0.01 mol/l). After 5 min of incubation, the absorbance of the reaction mixture was measured at 412 nm and reduced glutathione was used as a standard.

SOD (EC. 1.15.1.1) is a metalloenzyme that catalyses the dismutation of the superoxide anion to molecular oxygen and hydrogen peroxide. Superoxide dismutase assay uses a tetrazolium salt for detection of superoxide radicals generated by xanthine oxidase and hypoxanthine (kit; Cayman). One unit of SOD was defined as the amount of enzyme needed to exhibit 50% dismutation of the superoxide radical. SOD activity in RBCs and tissues was measured at 440 to 460 nm using a plate reader. Glutathione peroxidase assay (kit Cayman, Ann Arbor USA) measures GSH-Px activity indirectly by a coupled reaction with glutathione reductase. Oxidised glutathione, produced upon reduction of hydroperoxide by GSH-Px, was recycled to its reduced state by glutathione reductase and NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form). The oxidation of NADPH to NADP<sup>+</sup> was accompanied by a decrease in absorbance at 340 nm. One unit of GSH-Px is defined as the amount of enzyme that catalyses the oxidation of 1 nmol of NADPH per min at 25°C. GSH-Px activity in RBCs and

tissues was measured at 340 nm using a plate reader.

GSSH-Red (EC 1.6.4.2) is a flavoprotein that catalyses the NADPH-dependent reduction of GSSG to GSH. The oxidation of NADPH to NADP<sup>+</sup> is accompanied by a decrease in absorbance at 340 nm and is directly proportional to the GSSH-Red activity in the sample. The procedure for assays was according to the instructions provided by the manufacturer (kit; Cayman). CAT (EC. 1.11.1.6) catalyses the decomposition of hydrogen peroxide to water and oxygen. Catalase activity was assayed in RBCs and tissues by measuring the rate of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) decomposition according to the method described by Aebi [38]. The absorbance was measured at 240 nm.

### Statistical Analysis

Data are expressed as means  $\pm$  SEM or 10 rats per group. Statistical analysis was performed

using Student's- *t* test using a statistical package program STATISTICA 6.1 (StatSoftInc. software, Tulsa, USA). The limit of statistical significance was set at: \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001 between the hypercholesterolemic-diabetic group treated with *Po* extract (HC-D*Po*) and untreated group (HC-D).

### 3. RESULTS

At the dose of 1 g/l, the *Po* aqueous extract developed an important antioxidant activity similar to those of 422 mmol/l of trolox. This antioxidant activity increased with the concentration of the *Po* extract (Fig. 1).

At d28, in treated group vs untreated group, FBW was increased by 10% and liver relative weight was decreased by 16%. However, there was no significant difference in food intake, relative weight of the heart, aorta and adipose tissue (Table 1).

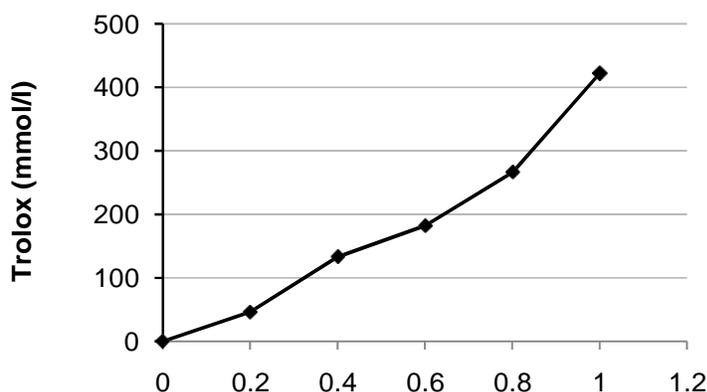


Fig. 1. *Po* (g/l) antioxidant activity compared to trolox

Table 1. Body weight (BW), food intake and relative organ weight of hypercholesterolemic-diabetic rats treated or not with *Portulaca oleracea*

	HC-D	HC-D <i>Po</i>
BW (g)	176.34 $\pm$ 5.56	195.59 $\pm$ 6.67*
Food intake (g.d <sup>-1</sup> .rat <sup>-1</sup> )	21.38 $\pm$ 1.57	21.15 $\pm$ 0.85
<b>Relative organ weights</b>		
Liver	4.06 $\pm$ 0.25	3.39 $\pm$ 0.30*
Heart	0.42 $\pm$ 0.03	0.39 $\pm$ 0.04
Aorta	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01
Adipose tissue	0.39 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.02

Values are means  $\pm$  SEM of 10 rats per group. HC-D: Untreated hypercholesterolemic-diabetic rats, HC-D*Po*: *Portulaca oleracea* treated hypercholesterolemic-diabetic rats.

Relative weight = [organ weight/BW]  $\times$  100. Statistical analysis was performed using the student's -*t* test. \**p* < .05; HC-D*Po* vs. HC-D group

As shown in Table 2, daily administration of *Poto* hypercholesterolemic-diabetic rats induced a significant reduction in glycemia (-67%), and HbA1c (-42%) ( $p < .05$ ). Inversely, insulinemia was increased by 11%. The renal function markers showed a reduction of plasma urea and creatinine concentrations (-31% and -28%, respectively).

Table 3 displays the treatment effect on the liver and plasma lipids concentrations and atherogenic index. It was observed that the plasma TC and TG were reduced by 42 and 63%, respectively, in hypercholesterolemic-diabetic rats fed with *Po* aqueous extract supplemented diet. Furthermore, in liver, CT and TG values were lowered by 39% and 36%, respectively. Moreover, VLDL-C and LDL-C concentrations were found to be 3-and 5-fold lower, inversely; HDL-C amounts were 1.4-fold higher in HC-D $Po$  than HC-D group. Treatment with *Po* lyophilised aqueous extract induced reduced atherogenic ratios LDL-C/HDL-C (85%) and TC/HDL-C (57%).

In hypercholesterolemic-diabetic rats RBCs, purslane caused a significant reduction of TBARS concentrations (28%), whereas, GSH amounts were increased by 18% (Table 4).

In RBCs of hypercholesterolemic-diabetic rats treated with *Po* extract, the antioxidant defence mechanism was ameliorated *via* enhancement of the enzymatic activities of SOD, CAT, GSH-Px and GSSH-Red. Indeed, these activities were increased by 15%, 26%, 20% and 39%, respectively.

Table 5 presents the data on the tissues antioxidant enzymes activities. In HC-D $Po$ , liver, heart and aorta SOD activities were 1.3-, 1.2- and 1.2-fold higher than those of HC-D group (Table 5). In addition, an increase of CAT activity was observed in the heart (11%) and aorta (16%), whereas, there was no significant difference in the liver. GSH-Px enzyme activity was 1.6-, 1.3- and 1.3-fold higher, in liver, heart and aorta, respectively. In addition, GSSH-Red activity was increased in liver (14%), heart (16%) and aorta (24%).

**Table 2. Glycemia, glycosylated haemoglobin percentage, plasma insulin, urea and creatinine concentrations**

	HC-D	HC-D $Po$
Glycemia	20.60 ± 1.22	6.73 ± 0.46***
HbA1c	11.24 ± 1.48	6.57 ± 0.92**
Insulin	61.70 ± 1.74	69.41 ± 1.85*
Urea	8.77 ± 0.64	6.05 ± 0.53**
Creatinine	61.92 ± 2.57	44.76 ± 1.60*

Values are means ± SEM of 10 rats per group. Statistical analysis was performed using the Student-t test. HC-D: Untreated hypercholesterolemic-diabetic rats, HC-D $Po$ : *Portulaca oleracea* treated hypercholesterolemic-diabetic rats.

\*\*\* $p < .001$ ; HC-D $Po$  vs. HC-D group; \*\* $p < .01$ ; HC-D $Po$  vs. HC-D group; \* $p < .05$ ; HC-D $Po$  vs. HC-D group

**Table 3. Liver and plasma lipids concentrations and atherogenic index**

	HC-D	HC-D $Po$
<b>Liver (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>		
Total cholesterol	79.86 ± 2.60	48.67 ± 3.21**
Triacylglycerols	35.39 ± 2.56	22.66 ± 1.01**
<b>Plasma (mmol/l)</b>		
Total cholesterol	5.52 ± 0.40	3.22 ± 0.12**
Triacylglycerols	1.78 ± 0.16	0.65 ± 0.09***
VLDL-C	1.18 ± 0.02	0.40 ± 0.03***
LDL-C	2.44 ± 0.04	0.49 ± 0.03***
HDL-C	1.70 ± 0.03	2.30 ± 0.03*
<b>Atherogenic index</b>		
LDL-HDL <sub>1</sub> -C/HDL-C	1.44 ± 0.03	0.21 ± 0.01***
TC/HDL-C	3.25 ± 0.06	1.40 ± 0.06***

Values are means ± SEM of 10 rats per group. Statistical analysis was performed using the Student's- t test. HC-D: Untreated hypercholesterolemic-diabetic rats, HC-D $Po$ : *Portulaca oleracea* treated hypercholesterolemic-diabetic rats.

\*\*\* $p < .001$ ; HC-D $Po$  vs. HC-D group; \*\* $p < .01$ ; HC-D $Po$  vs. HC-D group; \* $p < .05$ ; HC-D $Po$  vs. HC-D group

**Table 4. Lipid peroxidation and antioxidant defense in red blood cells**

	HC-D	HC-DPo
<b>Lipid peroxidation</b>		
TBARS (nmol/ml)	11.09 ± 0.68	8.01 ± 0.90*
<b>Antioxidant defense</b>		
GSH (nmol/ml)	21.77 ± 1.12	26.68 ± 1.43*
SOD (U/ml)	183.09 ± 10.79	218.41 ± 13.87*
CAT (pmol/min/ml)	1.15 ± 0.07	1.56 ± 0.12*
GSH-Px (nmol/min/ml)	22.89 ± 1.07	28.50 ± 1.87*
GSSH-Red (nmol/min/ml)	33.14 ± 2.69	54.36 ± 4.11**

Values are means ± SEM of 10 rats per group. Statistical analysis was performed using the Student's - t test. HC-D: Untreated hypercholesterolemic-diabetic rats, HC-DPo: *Portulaca oleracea* treated hypercholesterolemic-diabetic rats.

\*\*p < .01; HC-D vs. HC-DPo group; \*p < .05; HC-D vs. HC-DPo group

**Table 5. Tissues antioxidant enzymes activities**

		HC-D	HC-DPo
<b>SOD (U/g)</b>	Liver	11.29 ± 0.77	14.28 ± 0.66*
	Heart	34.94 ± 0.57	42.09 ± 0.68*
	Aorta	33.02 ± 1.04	40.14 ± 1.62*
<b>CAT (nmol/min/g)</b>	Liver	293.04 ± 31.88	313.50 ± 28.21
	Heart	116.79 ± 6.15	130.60 ± 5.56*
	Aorta	121.65 ± 5.79	144.71 ± 4.34*
<b>GSH-Px (nmol/min/g)</b>	Liver	64.68 ± 5.61	103.63 ± 6.20**
	Heart	19.89 ± 1.02	26.91 ± 1.93*
	Aorta	21.29 ± 1.73	28.74 ± 2.20*
<b>GSSH-Red (nmol/min/g)</b>	Liver	31.91 ± 1.17	37.14 ± 1.50*
	Heart	23.04 ± 0.77	27.58 ± 0.98*
	Aorta	24.14 ± 0.61	31.75 ± 0.82*

Values are means ± SEM of 10 rats per group. Statistical analysis was performed using the Student's - t test. HC-D: Untreated hypercholesterolemic-diabetic rats, HC-DPo: *Portulaca oleracea* treated hypercholesterolemic-diabetic rats.

\*\*p < .01; HC-D vs. HC-DPo group; \*p < .05; HC-D vs. HC-DPo group

#### 4. DISCUSSION

The present study aims to evaluate the effects of *Po* aqueous extract on certain plasma lipids, and glycemic markers, oxidative stress, and antioxidant defence, in streptozotocin-induced-diabetic rats fed with a cholesterol-enriched diet.

In rats treated by *Po* extract compared to the untreated group, low levels in plasma amounts of TC, TG, VLDL, LDL, were associated with significant increase of HDL-C, leading to decreased atherogenicity indices TC/HDL-C, LDL/HDL, and TC-HDL-C/HDL-C. Similar results have been obtained in hypercholesterolemic rats treated with a 0.5 g/100 g diet of *Po* aqueous lyophilised extract for 28 d [23]. As compared to this study, there is no aggravation, due to the association of hypercholesterolemia and

diabetes. In fact, in our study, plasma and liver TC, TG, and CT/HDL-C ratio is respectively decreased by 42%, 63%, 39%, 36% and 57%. These values are sensitively similar to those observed by Zidan et al. [23].

Hypocholesterolemic potential of other medicinal plants is reported in many studies, using aqueous extract in hypercholesterolemic rats. For example, Aslam and Najam reported the result of consumption of *Lagenaria siceraria* at the doses of 200 and 400 mg/kg BW for 8 weeks [39]. Ntchapda et al. reported the effect of *Zanthoxylum heitzii* (225, 300 and 375 mg/kg BW) after four months of administration [40].

Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia due to impaired insulin secretion, or altered glucose utilization in

the vital organs or both [41,42,8]. The STZ is generally used to induce diabetes in Wistar rat, leading to a severe loss of body weight [43], in spite of increased food intake, and relative liver weight [44]. This body weight loss in diabetes is due to high lipolysis, and muscle wasting, and reduced tissue proteins caused by insulin deficiency [45].

In the present study, the FBW of *Po* treated group increased significantly, as compared to the untreated rats. However, no significant difference was noted in food intake in both groups. In a study done by Ashraf et al., the aqueous extract of *Berberis integerrima* root (250 and 500 mg/kg of BW) improved FBW in STZ-induced diabetic male Wistar rats when administered daily by gavage, for six weeks, [46]. Similar findings were reported by Solanki and Bhavsar, after four weeks treatment with *Ficus racemosa* aqueous extract (250 and 500 mg/kg of BW), in STZ-induced diabetic rats [47]. In the present study, the decrease in relative liver weight in the treated group indicated the ability of *Po* aqueous extract to reduce the diabetic liver hypertrophy. These results are in accordance with those of Eleazu et al. [44], where, STZ diabetic rats were fed pelletised *Colocasia esculent*, and *Musa paradisiacal* for 21 days. Furthermore, *Po* ethanolic extracts (1 g/kg BW), administered by gavage for 8 weeks to hyperlipidemic rats, and had significant beneficial effects on the liver [48]. This is probably due to improved liver lipoprotein excretion, and increased insulinemia, lowering AG influx, and TG accumulation in the liver [49,44].

In the present study, glycemic parameters (Glycemia and HbA1c) are significantly reduced. These results are in accordance with those of Guenzet et al. [29] in STZ-diabetic rats (60 mg/kg BW) treated with *Po* (1 g/kg BW), for 28 days. In both studies, *Po* treatment induced a decrease of glycemia (-67% and -65%, respectively), and HbA1c (-42% and -41%, respectively). The relating data between these two studies revealed that enriched cholesterol diet (or induced hypercholesterolemia) did not aggravate the diabetic state in treated and untreated groups.

Several experimental studies revealed a hypoglycemic effect of aqueous extract of some plants, in STZ-induced diabetic rats. Indeed, The consumption of *Kalanchoe pinnata* (140 mg/kg BW), for one month, had a significant decrease in blood glucose [8]. Also, the administration of *Evolvulus alsinoides* (150 mg/kg BW) involved

high insulinemia [50]. These results are similar to the current results, i.e., oral administration of *Po* induced hypoglycemia; reduced the levels of HbA1c, and increased the insulin secretion. This improvement in glycemic parameters can result in increased insulin-like action [51], stimulation of insulin secretion from partial cells of pancreas which might involve the closure of K<sup>+</sup>-ATP and the intensification of calcium influx through voltage-sensitive Ca<sup>2+</sup> channels [52], protection against degeneration of  $\beta$  cells, promoting glucose utilisation in muscle, and inhibiting the glucose output from the liver [53,54].

Also, natural products classified into terpenoids, alkaloids, flavonoids, phenolics, and some other categories have shown antidiabetic potential through the insulinomimetic activity of the plant extract [55]. Elevated levels of serum urea and creatinine, which are considered as significant markers of renal dysfunction [56], were significantly decreased in HC-D*Po* group vs HC-D. This could be explained by the reduction of plasma glucose concentration, and subsequent glycosylation of glomerular renal basement membranes [29]. Such a nephroprotector potential was noted by Nabi et al. [57], in STZ-induced diabetic rats fed with an enriched diet with *Piper longum* aqueous extract (200 mg/kg BW), for one month.

Hypercholesterolemia and diabetes can be at the origin of a noxious oxidative stress for concerned cells, and their vascular functions [1, 2,3]. In the present study, the decreased levels of TBARS in RBCs showed the antioxidant capacity of *Po*. These results are corroborated by the study of Ntchapada et al. [40] on hypercholesterolemic rats treated with *Zanthoxylum heitzii* (225, 300 and 375 g/kg BW). Under pathological conditions, the imbalance between prooxidants and antioxidants encourages the overproduction of reactive oxygen species (ROS). This elevated rate is counterbalanced and eliminated from the enzymatic and/or non-enzymatic antioxidants in regulated cellular redox status [12,13]. Phenolic compounds contribute largely to the plant's antioxidant activities [58]. Our data showed that *Po* extract treatment enhances antioxidant enzymes activities (CAT, SOD, GSH-Px and GSSH-Red). Indeed, Dkhil et al., (2011) noted similar results with *Po* juice (1.5 ml/kg BW) administered in rats for 12 days [30]. At the moment, there is no scientific evidence to link the constituents which have been detected in the preliminary phytochemical screening to the pharmacological actions revealed in this study.

However many secondary metabolites isolated from plants such as terpenoids, alkaloids, flavonoids, phenolics have shown antidiabetic and hypocholesterolemic potential. The antioxidant properties of *Po* are attributed to their compounds, as gallotannins, fatty acid omega-3, ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, kaempferol, quercetine, apigenine [59,20].

## 5. CONCLUSION

The current experimental evidence demonstrates that metabolic disorders induced by combined hypercholesterolemia and diabetes in rats, such as high levels of lipids, glycemic and oxidative stress parameters can significantly be improved by *Po* supplementation in the diet. The richness of *Portulaca* in different nutrients such as alkaloids, polysaccharides,  $\omega$ 3 fatty acids, proteins, carbohydrates, flavonoids, tannins, vitamins, minerals and other healthful compounds improves its ability to control and to reduce side effects of associated hypercholesterolemia and diabetes in rats. These cumulated beneficial effects encourage the experimentation of this potent safety plant on a human to make *Po* as a useful plant in the prevention and treatment of patients with combined hypercholesterolemia and diabetes.

## CONSENT

It is not applicable.

## ETHICAL APPROVAL

As per the international standard or university standard written ethical approval has been collected and preserved by the authors.

## COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

## REFERENCES

1. Stapleton PA, Goodwill AG, James ME, Brock RW, Frisbee, J.C. Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: Interventional strategies. *Journal of Inflammation*. 2010;7(1):54.
2. Das J, Vasan V, Sil PC. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012;258:296-308.
3. Bhattacharya S, Manna P, Gachhui R, Sil PC. D-saccharic acid 1, 4-lactone protects diabetic rat kidney by ameliorating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via NF- $\kappa$ B and PKC signaling. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013;267:16-29.
4. Montonen J, Boeing H, Fritsche A, Schleicher E, Joost HG, Schulze MB, Steffen A, Pischon T. Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. *Eur J Nutr*. 2013;52(1):337-45.
5. Hao W, Friedman A. The LDL-HDL profile determines the risk of atherosclerosis: A mathematical model. *PLoS ONE*. 2014;12;9(3):e90497. DOI: 10.1371 / journal.pone.0090497
6. Dong XY, Tang SQ, Chen JD. Dual functions of Insig proteins in cholesterol homeostasis. *Lipids in Health and Disease*. 2012;11:173.
7. Imes CC., Austin MA. Low-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein B, and risk of coronary heart disease: From familial hyperlipidemia to genomics. *Biol Res Nurs*. 2012;15:292-308.
8. Menon, N, Sparks J., Omoruyi F. Hypoglycemic and hypocholesterolemic activities of the aqueous preparation of *Kalanchoe pinnata* leave in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2015;5(1):3-9.
9. Vergès B. Lipides et diabète de type 1. *Médecine des Maladies Métaboliques*. 2013;7(5):437-442.
10. Shin JY, Xun P, Nakamura Y, He K. Egg consumption in relation to risk of cardiovascular disease and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2013;(98):146-59.
11. Kebièche M, Lakroun Z, Mraïhi Z, Soulimani R. Effet antidiabéto-gène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*. 2011;9(5): 274-282.
12. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology*. 2012;17:311-321.

13. Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2015;6(3):456-480.
14. Madihi Y, Merrikhi A, Baradaran A, Rafieian-kopaei M, Shahinfard N, Ansari R, Shirzad H, Mesripour A. Impact of sumac on postprandial high-fat oxidative stress. *Pak J Med Sci*. 2013;29(1):340-345.
15. Setorki M, Rafieian-Kopaei M, Merrikhi A, Heidarian E, Shahinfard N, Ansari R, Nasri H, Esmael N, Baradaran A. Suppressive impact of *Anethum graveolens* consumption on biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Prev Med*. 2013;4(8):889-895.
16. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *J Res Med Sci*. 2014;19(1):82-83.
17. Akbari F, Ansari-Samani R, Karimi A, Mortazaei S, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. Effect of turnip on glucose and lipid profiles of alloxan-induced diabetic rats. *Iran J Endocrinol Metab*. 2013;14(5):492-497.
18. Khosravi-Boroujeni H, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Sajjadi F, Maghroun M, Asgari S, Rafieian-Kopaei M, Azadbakht L. White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *J Health Popul Nutr*. 2013;31(2):252-261.
19. Khosravi-Boroujeni H, Mohammadifard N, Sarrafzadegan N, Sajjadi F, Maghroun M, Khosravi A. Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population. *Int J Food Sci Nutr*. 2012;63(8):913-920.
20. Zhu HB, Wang YZ, Liu YX, Xia YI, Tang T. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods*. 2010;3(2):90-97.
21. Abdelwehab SA, El-Nagerabi SAF, Elshafie AE. Mycobiota associated with imported seeds of vegetable crops in Sudan. *The Open Mycology Journal*. 2014;8:156-173.
22. Kamal Uddin MD, Juraimi AS, Sabir Hossain MD, Un Nahar MA, Eaquib Ali MD, Rahman MM. Purslane Weed (*Portulaca oleracea*): A prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. Hindawi Publishing Corporation Scientific World Journal. Article ID 951019. 2014;6. DOI: 10.1155/2014/951019
23. Zidan Y, Bouderbala S, Djellouli F, Lacaille-Dubois MA, Bouchenak M. *Portulaca oleracea* reduces triglyceridemia, cholesterolemia, and improves lecithin: Cholesterol acyltransferase activity in rats fed enriched-cholesterol diet. *Phytomedicine*. 2014;21:1504-1508.
24. Shen H, Tang G, Zeng G, Yang Y, Cai X, Li D, Liu H, Zhou N. Purification and characterization of an antitumor polysaccharide from *Portulaca oleracea* L. *Carbohydr Polym*. 2013;93:395-400.
25. Zhao R, Gao X, Cai Y, Shao X, Jia G, Huang Y, Qin X, Wang J, Zheng X. Antitumor activity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides against cervical carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *Carbohydr Polym*. 2013;96:376-383.
26. Kamal Uddin MD, Juraimi AS, Ali ME, Ismail MR. Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) at different growth stages. *Int J Mol Sci*. 2012;13:10257-10267.
27. Chen B, Zhou H, Zhao W, Zhou W, Yuan Q, Yang G. Effects of aqueous extract of *Portulaca oleracea* L. on oxidative stress and liver, spleen leptin, PAR $\alpha$  and FAS mRNA expression in high-fat diet induced mice. *Mol Biol Rep*. 2012;39:7981-7988.
28. Chen T, Wang J, Li YY, Shen J, Zhao T, Zhang H. Sulfated modification and cytotoxicity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides. *Glycoconjugate J*. 2010;27:635-642.
29. Guenzet A, Krouf D, Berzou S. *Portulaca oleracea* extract increases lecithin: Cholesterol acyltransferase and paraoxonase 1 activities and enhances reverse cholesterol transport in streptozotocin-induced diabetic rat. *Phcog J*. 2014;6(3):1-9.
30. Dkhil MA, Moniem AEA, Al-Quraishy S, Saleh AR. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(9):1589-1563.
31. Blache D, Prost M. Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In: Ponnampereuma C, Gehrke CW. (Eds.), a lunar-based chemical analysis laboratory. A. Deepak, Hampton. 1992;82-98.
32. Zidan Y, Bouderbala S, Bouchenaka M. Aqueous extract of *Portulaca oleracea*

- prevents lipid peroxidation and increases serum paraxonase-1 activity, in rats fed enriched-diet. *Nutr. Santé.* 2016;5(2):107-114.
33. Burnstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res.*1970;11(6):95-583.
  34. Burstein M, Fine A, Atger V, Wirbel E, Girard-Globa A. Rapid method for isolation of two purified subfractions of high density lipoproteins by differential dextran sulfate-magnesium chloride precipitation. *Biochem.* 1989;71:741-46.
  35. Quantanilha AT, Packer L, Szyszlo DJA, Racnelly TL, Davies KJA. Membrane effects of vitamin E deficiency bioenergetic and surface charge density of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY AcadSci.* 1982;393:32-47.
  36. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Biochemistry.* 1979;95:351-358.
  37. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non protein sulhydryl groups in tissues with elman's reagent. *Analytical Biochemistry.* 1968;25:192-205.
  38. Aebi H. Catalase in methods of enzymatic analysis. Bergmayer HU, Ed, second edition. Verlag Chemie, Weinheim, Germany. 1974;2:673-684.
  39. Aslam M, Najam R. Hypolipidemic and anti-atherogenic activity of aqueous extract of leaves of *Lagenaria Siceraria* in Wistar Rats. *Journal of Natural Remedies.* 2014;14(1):52-57.
  40. Ntchapda F, Maguirgue K, Adjia H, Etet PFS, Dimo T. Hypolipidemic, antioxidant and anti-atherosclerogenic effects of aqueous extract of *Zanthoxylum heitzii* stem bark in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2015;359-365.
  41. Patel H, Chen J, Das KC, Kavdia M. Hyperglycemia induces differential change in oxidative stress at gene expression and functional levels in HUVEC and HMVEC. *Cardiovascular Diabetology.* 2013;12(1):1.
  42. Sultan MT, Butt MS, Karim R, Zia-UI-Haq M, Batool R, Ahmad S, Aliberti L, De Feo V. *Nigella sativa* fixed and essential oil supplementation modulates hyperglycemia and allied complications in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2014;8:1-8.
  43. Omari N, Dahmani-Ait Akli Y., Labrousse F, Hadj Bekkouche F. Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* 2011;80:907-938.
  44. Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diabetes Metab Disord.* 2013;23:12(1): 60.
  45. Ahmad MD, Jairajpuri DS, Aeri V, Jairajpuri ZS, Akhter MDS, Jain M, Sharma M. Protective Effect of *Caesalpinia Bonducella* (Linn.) Seed kernel extract in streptozotocin-induced hyperglycaemia and oxidative damage in Wistar Rats. *Int J Pharm Sci Res.* 2016;7(8):3406-22.
  46. Ashraf H, Heidari R, Nejati V, Ilkhanipoor M. Aqueous extract of *Berberis integerrima* root improves renal dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. *Avicenna J Phytomed.* 2013;3:82-90.
  47. Solanki ND, Bhavsar SK. An evaluation of the protective role of *Ficus racemosa* Linn. In streptozotocin-induced diabetic neuropathy with neurodegeneration. *Indian J Pharmacol.* 2015;47:610-615.
  48. El-Newary SA. The hypolipidemic effect of *Portulaca oleracea* L. stem on hyperlipidemic Wistar Albino rats. *Annals of Agricultural Sciences.* 2016;61:111-124.
  49. Zafar M, Naqvi SNH. Effects of STZ-induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in Albino Rats: A Comparative Study. *Int. J. Morphol.* 2010;28:135-142.
  50. Gomathi D, Ravikumar G, Kalaiselvi M, Devaki K, Uma C. Efficacy of *Evolvulus alsinoides* (L.) L. on insulin and antioxidants activity in pancreas of streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders.* 2013;12(1):39.
  51. Ayodhya S, Kusum S, Anjali S. Hypoglycaemic activity of different extracts of various herbal plants Singh. *Int J Ayurveda Res Pharm.* 2010;1(1):212-224.
  52. Souza A, Mbatchi B, Herchuelz A. Induction of insulin secretion by an aqueous extract of *Tabernanthe iboga* Baill. (Apocynaceae) in rat pancreatic islets

- of Langerhans. *J Ethnopharmacol.* 2011; 133(3):1015-1020.
53. Chauhan A, Sharma PK, Srivastava P, Kumar N, Duehe R. Plants having potential antidiabetic activity: A review. *Der Pharm Lett.* 2010;2(3):369-387.
54. Malviya N, Jain S, Malviya S. Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Pol Pharm.* 2010;67(2):113-118.
55. Patel DK, Prasad SK, Kumar R, Hemalatha, S. An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012; 2(4):320-330.
56. Atlas of end stage renal disease in the United States. National institutes of health, national institute of diabetes and digestive and kidney diseases: Annual Data Report. Bethesda; 2011.
57. Nabi SA, Kasetti RB, Sirasanagandla S, Tilak TK, Kumar MVJ, Rao CA. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of piper longum root aqueous extract in STZ induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2013;13:37.
58. Nile SH, Nile AS, Keum YS. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. *3 Biotech.* 2017;7:76. Available:<https://doi.org/10.1007/s13205-0170706-9>
59. Committee for the Pharmacopoeia of PR China. China medical science and technology press, Beijing, China. Pharmacopoeia of PR China. 2010; Part I.

© 2018 Djellouli et al.; 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.

*Peer-review history:*  
The peer review history for this paper can be accessed  
here: <http://www.sciencedomain.org/review-history/26220>

## Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* (*Po*) on hypercholesterolemia combined to diabetes, in Wistar rat, by the measurement of lipid parameters, glucose homeostasis, oxidative stress markers and pro-inflammatory cytokine levels.

Prior to the experimental study, phytochemical analysis of the *Po* aqueous extract, using some chromatographic techniques, revealed the presence of bioactive compounds, such as tannins, polysaccharids, alkaloids, and flavonoids. The antioxidant activity of *Po* aqueous extract was confirmed, compared to that of Trolox ( $1\text{g.L}^{-1}$  vs  $422\text{mmol.L}^{-1}$ ).

Experimental hypercholesterolemia was induced by dietary supplementation with 1% cholesterol and 0.5% of cholic acid, for 15 days. Male hypercholesterolemic Wistar rats ( $n = 28$ ) were made diabetic by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) ( $55\text{mg.kg}^{-1}$  body weight). The hypercholesterolemic and diabetic (HD) rats were divided into two homogeneous groups: untreated HD group and HD-*Po* group treated with 1% *Po* aqueous extract, for 28 days.

In *Po*-treated, compared to untreated group, a significant improvement in weight loss was observed (+10%), while the amount of food intake remained the same in the both groups. Regarding the lipid profile, in liver, a decrease in triglycerides (TG) amounts (-36%), due to the low TG values of very low density lipoproteins (VLDL) (-73%), low-density-high density lipoproteins<sub>1</sub> (LDL-HDL<sub>1</sub>) (-73%), and high density lipoproteins (HDL<sub>2</sub>) (-40%), was noted in the HD-*Po* group vs HD. In plasma, reduced levels of total cholesterol (TC) (-42%) were mainly due to the decrease in VLDL-C and LDL-HDL<sub>1</sub>-C (-66 and -80%), associated with an increase in HDL-C (+38%). This effect resulted, probably, from the high cholesterol faecal excretion, and the increase in its reverse transport. Indeed, the activity of lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) was 1.6-fold higher, in treated group compared to untreated. This was confirmed by the elevated apolipoprotein A-I (apo A-I) (+51%) which was the cofactor-activator of LCAT, and the HDL<sub>2</sub> cholesterol esters (HDL<sub>2</sub>-EC) (+19%), the enzymatic reaction product, The phospholipid content of HDL<sub>3</sub> (HDL<sub>3</sub>-PL) (-35%), the substrate of the enzyme, and unesterified cholesterol of HDL<sub>3</sub> (HDL<sub>3</sub>-UC) (-41%), the lecithin acyl group acceptor, were lowered. Also, treatment with *Po* improved significantly the atherogenicity index, by reducing LDL-C/HDL-C, TC/HDL-C, TC-HDL-C/HDL-C, and apo B/apo A-I ( $P < 0.001$ ) ratios. After STZ injection, hyperglycemia was similar in the both groups, but tended to reduce (1.7-fold), from day 7, in HD-*Po* group vs HD. The decrease in glycemia reached its maximum on d28, when it was treefold lower. In addition, glycated hemoglobin (HbA1c) level was reduced ( $P < 0.01$ ) whereas that of insulin was increased ( $P < 0.05$ ). Oxidative stress, which was a consequence of hypercholesterolemia associated with diabetes, tended to be reduced, after *Po* treatment. In fact, thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) were reduced in erythrocytes (-28%), plasma (-31%), LDL-HDL<sub>1</sub> (-22%), HDL<sub>2</sub> (-25%), HDL<sub>3</sub> (-15%), liver (-39%), heart (-29%), aorta (-38%), brain (-54%), kidneys (-10%), and muscle (-17%). In addition, glutathione (GSH) values were 1.2-, 1.4-, 1.1-, 1.6- and 1.3-fold higher, in erythrocytes, liver, heart, aorta, and kidneys, indicating the enhanced activity of glutathione peroxidase (GPx), in liver, heart, aorta, kidney and erythrocytes (1.6-, 1.3-, 1.3-, 1.2 and 1.2-fold higher respectively). Similarly, glutathione reductase (GRed) activity was increased in liver, heart, aorta and muscle ( $P < 0.05$ ). Catalase activity (CAT) was 1.1-, 1.1-, 1.2-, 1.2- and 2.4-fold higher in heart, muscle, aorta, kidneys and brain respectively, and that of superoxide dismutase (SOD) was increased by 21, 17, 18, 20 and 16% in liver, heart, aorta, brain and kidneys respectively.

The anti-inflammatory potential of *Po* compounds was demonstrated by the significant reduction in plasma levels of interleukin-6 (IL-6) ( $P < 0.01$ ), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ( $P < 0.05$ ), in HD-*Po* vs HD group.

**In conclusion, aqueous extract of *Portulaca oleracea* induces hypotriglyceridemic, hypocholesterolemic, hypoglycemic, antioxidant, and anti-inflammatory effects, in rats with two combined cardiovascular risk factors: hypercholesterolemia associated with diabetes. The *Po* extract enriched in bioactive compounds, such as tannins, polyphenols,  $\omega$ -3, vitamins, and minerals makes it an interesting natural product to prevent hypercholesterolemia, in diabetic patients.**

**Keywords:** *Portulaca oleracea*, Aqueous Extract, Wistar Rat, Hypercholesterolemia, Streptozotocin, Diabetes, Lipids, Oxidative Stress, Antioxidant Enzyme, Inflammation.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن تأثير المستخلص المائي لـ *Portulaca oleracea L.* (*Po*) على فرط كوليستيرول الدم المقترن بالسكري، في جرد *Wistar*، عن طريق قياس معلمات الدهون، توازن الجلوكوز، علامات الإجهاد التأكسدي ومستويات السيوكينات المؤيدة للالتهابات.

قبل الدراسة التجريبية، يتم كشف التحليل الكيميائي النباتي للمستخلص المائي لـ *Po*، باستخدام بعض الأساليب الكروماتوجرافية، عن وجود مركبات نشطة بيولوجياً، مثل العفص والسكريات والقلويدات والفلافونويدات. وبالمثل، تم تأكيد نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص المائي لـ *Po* مقارنةً بنشاط Trolox  $1 \text{ g.L}^{-1}$  مقابل  $422 \text{ mmol.L}^{-1}$ .

ينجم بعد اضافة 1 % من الكوليسترول و 0.5 % من حمض الكوليك إلى الغذاء لمدة 15 يوماً إلى ارتفاع لنسبة الكوليسترول في الدم. جردان ويستار المصابة بارتفاع الكوليسترول في الدم (ن = 28) يتم حقنها بمادة الستربتوزوتوسين (STZ)  $155 \text{ mg.kg}^{-1}$  من وزن الجسم. تقسم الفئران المصابة بارتفاع الكوليسترول والسكري إلى مجموعتين متجانستين: مجموعة غير المعالجة (HD) ومجموعة HD-*Po* التي عولجت بمستخلص *Po* المائي بنسبة 1% لمدة 28 يوماً.

في المجموعة المعالجة HD-*Po*، مقارنة مع غير المعالجة، لوحظ تحسن كبير في فقدان الوزن (+10 %)، في حين أن كمية تناول الطعام ظلت متساوية في كلا المجموعتين. فيما يتعلق بنسب الدهون، لوحظ في المجموعة المعالجة أن على المستوى الكبدي، هناك انخفاض في مستويات الدهون الثلاثية TG-36 %، الناتج عن انخفاض قيم TG للبروتينات الدهنية جد منخفضة الكثافة VLDL-73 %، البروتينات الدهنية المنخفضة الكثافة LDL-HDL-73 % والبروتين الدهني عالي الكثافة HDL<sub>2</sub>-40 %.

على مستوى البلازما، يرجع انخفاض مستويات الكوليسترول الكلي-42 % بشكل رئيسي إلى انخفاض في C-VLDL-66 % HDL<sub>1</sub>-C-LDL-80 % و ارتفاع في C-HDL-38 %.

هذا التأثير ناتج على الأرجح عن ارتفاع إفراز الكوليسترول في البراز وزيادة النقل العكسي. في الواقع، فإن نشاط الليسيثين: كوليسترول أسيل ترانسفيراز LCAT، هو 1.6 أضعاف، في المجموعة المعالجة مقارنة مع غير المعالجة ويدعم ذلك زيادة البروتين apo A-I+51 %، المنشط المشارك لـ LCAT، استرات الكوليسترول HDL<sub>2</sub>-EC+19 %، نتاج التفاعل الأنزيمي وانخفاض في محتوى الفوسفوليبيد PL-HDL<sub>3</sub>-35 %، ركيزة الأنزيم و CL-HDL<sub>3</sub>-41 %، متقبل مجموعة أسيل من الليسيثين.

العلاج بـ *Po* يحسن بشكل كبير مؤشرات تصلب الشرايين عن طريق الحد من نسب، CT / C-HDL، CT-C-HDL و C-HDL / apo B / apo AI ( $P > 0.001$ )

بعد الحقن بـ STZ، ترتفع نسبة السكر في الدم في كلا المجموعتين ولكنها تميل إلى الانخفاض (1.7 مرة)، في اليوم 7، في المجموعة HD-*Po*، مقابل HD. يصل الانخفاض في نسبة السكر في الدم إلى أقصى حد في اليوم 28 عندما يكون أقل بثلاثة أضعاف. بالإضافة إلى ذلك، انخفض مستوى الهيموغلوبين السكري (HbA1c) بشكل ملحوظ ( $P > 0.01$ ) و ارتفع مستوى الأنسولين ( $P > 0.05$ ).

يميل الإجهاد التأكسدي، الناتج عن فرط كوليستيرول الدم المرتبط بمرض السكري، إلى القلة بعد تناول *Po*، وفي الواقع، يتم تخفيض المواد التي تتفاعل مع حمض الثيوباربيتوريك (TBARS) في كريات الدم الحمراء (-28 %)، البلازما (-31 %)، الكبد (-39 %)، القلب (-29 %)، الشريان الأورطي (-38 %)، الدماغ (-54 %)، الكلى (-10 %) والعضلة (-17 %). بالإضافة إلى ذلك، قيم الجلوتاثيون (GSH) هي 1،2، 1،4، 1،1، 6،1 و 1،3 أضعاف في كريات الدم الحمراء والكبد والقلب، الشريان الأورطي والكلى على التوالي، مما يشير إلى تحفيز نشاط الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) في الكبد والقلب والشريان الأورطي والكلى والكريات الحمراء 6،1، 3،1، 2،1، 3،1 و 2،1 أضعاف، على التوالي.

وبالمثل، تم زيادة نشاط الجلوتاثيون ريدوكتاز (GRed) في الكبد والقلب والشريان الأورطي والعضلات ( $P > 0.05$ ). نشاط الكاتالاز (CAT) هو 1،1، 1،1، 1،2، 1،2 و 2،4 أضعاف في القلب، العضلات، الشريان الأورطي، الكلى والدماغ على التوالي، أما السيبرأكسيد ديسماتاز (SOD) فترتفع بنسبة 21 و 17 و 18 و 20 و +16 % في الكبد والقلب والشريان الأورطي والدماغ والكلى على التوالي.

يؤدي تناول *Po* إلى احتمال انخفاض مستويات مؤشرات الالتهاب في البلازما IL-6  $> 0.01$  TNF- $\alpha$   $> 0.05$ . في الختام، المستخلص المائي *Portulaca oleracea* يساعد على تخفيض نسبة الدهون، السكر في الدم، الأوكسدة، و اللالتهابات لدى *Wistar* مع عاملين خطرين للإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية: فرط كوليستيرول الدم المرتبط بالسكري. ثراء هذا النبات بالمركبات النشطة بيولوجياً، مثل العفص والبوليفينول و  $\omega 3$  والفيتامينات والأملاح المعدنية، يجعله منتجاً طبيعياً مثيراً للاهتمام لمنع ارتفاع الكوليستيرول في الدم لدى مرضى السكري.

الكلمات المفتاحية: *Portulaca oleracea*، المستخلص المائي، *Wistar*، فرط كوليستيرول الدم، الستربتوزوتوسين، السكري، الدهون، الإجهاد التأكسدي، إنزيم مضادات الأكسدة، الالتهاب.

## Résumé

Le but de cette étude est de révéler l'effet d'un extrait aqueux de *Portulaca oleracea* (*Po*) sur traitement de l'hypercholestérolémie combinée au diabète, chez le rat Wistar, par la mesure des paramètres lipidiques, de l'homéostasie du glucose, des marqueurs du stress oxydatif et du taux de cytokines pro-inflammatoires.

En amont de l'étude expérimentale, l'analyse phytochimique de l'extrait aqueux de *Po*, faisant appel à quelques techniques chromatographiques a permis de déceler la présence de composés bioactifs, tels que les tanins, les polysaccharides, les alcaloïdes et les flavonoïdes. De même, l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Po* est confirmée, par comparaison à celle du Trolox ( $1\text{g.L}^{-1}$  vs  $422\text{ mmol.L}^{-1}$ ). 1-L.lomm

L'hypercholestérolémie expérimentale est induite par la supplémentation du régime par du cholestérol à 1% et d'acide cholique à 0,5%, pendant 15 jours. Les rats Wistar mâles hypercholestérolémiques ( $n = 28$ ) sont rendus diabétiques, par injection intrapéritonéale de streptozotocine (STZ) ( $55\text{ mg.kg}^{-1}$  poids corporel). Les rats hypercholestérolémiques et diabétiques (HD) sont divisés en deux groupes homogènes: groupe HD non traité et groupe HD-*Po* traité avec 1% d'extrait aqueux de *Po*, pendant 28 jours.

Chez les rats traités par *Po*, comparés aux non traités, une amélioration significative de la perte pondérale est observée (+10%), alors que la quantité de nourriture ingérée reste la même chez les deux groupes.

Concernant le profil lipidique, au niveau hépatique, une diminution des teneurs en triglycérides (TG) (-36%), consécutive à la diminution des valeurs en TG des lipoprotéines de très faible densité (VLDL) (-73%), des lipoprotéines de faible-haute densité<sub>1</sub> (LDL-HDL<sub>1</sub>) (-73%), et des lipoprotéines de haute densité (HDL<sub>2</sub>) (-40%), est notée, chez le groupe HD-*Po* vs HD. Au niveau plasmatique, les faibles teneurs en cholestérol total (CT) (-42%) sont, principalement, dues à une diminution du C-VLDL et C-LDL-HDL<sub>1</sub> (-66 et -80%), associée à une augmentation du C-HDL (+38%). Cet effet résulte, probablement, de l'augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol et de l'augmentation de son transport inverse. En effet, l'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT), est 1,6-fois plus élevée, chez le groupe traité par rapport au non traité. Ceci est conforté par l'augmentation des teneurs en apolipoprotéine A-I (apo A-I) (+51%), cofacteur-activateur de la LCAT, en esters de cholestérol des HDL<sub>2</sub> (EC-HDL<sub>2</sub>) (+19%), produit de la réaction enzymatique et la diminution du contenu en phospholipides des HDL<sub>3</sub> (PL-HDL<sub>3</sub>) (-35%), substrat de l'enzyme et en cholestérol libre des HDL<sub>3</sub> (CL-HDL<sub>3</sub>) (-41%), accepteur du groupement acyl de la lécithine. Aussi, le traitement avec *Po* améliore, de façon significative, les indices d'athérogénicité, en réduisant les rapports C-LDL/C-HDL, CT/C-HDL, CT-C-HDL/C-HDL et apo B/apo A-I ( $P < 0,001$ ).

Après injection de STZ, l'hyperglycémie est similaire chez les deux groupes mais tend à baisser (1,7-fois), à partir de J7, chez le groupe HD-*Po*, vs HD. La diminution de la glycémie atteint son maximum à J28 où elle est 3-fois plus réduite. De plus, le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) diminue significativement ( $P < 0,01$ ) et celui de l'insuline augmente ( $P < 0,05$ ).

Le stress oxydant, conséquent à l'hypercholestérolémie associée au diabète, tend à être réduit, après supplémentation en *Po*. En effet, les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont réduites au niveau des érythrocytes (-28%), du plasma (-31%), des LDL-HDL<sub>1</sub> (-22%), des HDL<sub>2</sub> (-25%), des HDL<sub>3</sub> (-15%), du foie (-39%), du cœur (-29%), de l'aorte (-38%), du cerveau (-54%), des reins (-10%) et du muscle (-17%). Par ailleurs, les valeurs du glutathion (GSH) sont 1,2-, 1,4-, 1,1-, 1,6- et 1,3-fois plus élevées au niveau des érythrocytes, du foie, du cœur, de l'aorte et des reins respectivement, ce qui indique une stimulation de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx), au niveau du foie, du cœur, de l'aorte, du rein et des érythrocytes (1,6-, 1,3-, 1,3-, 1,2- et 1,2-fois, respectivement).

De même, l'activité de la glutathion réductase (GRed) est augmentée, au niveau du foie, du cœur, de l'aorte et du muscle ( $P < 0,05$ ). L'activité de la catalase (CAT) est 1,1-, 1,1-, 1,2-, 1,2- et 2,4-fois plus élevée, au niveau du cœur, du muscle, de l'aorte, des reins et du cerveau respectivement, et celle de la superoxyde dismutase (SOD) est augmentée de 21, 17, 18, 20, et de +16% dans le foie, le cœur, l'aorte, le cerveau et les reins respectivement.

Le potentiel anti-inflammatoire des composés de *Po* est mis en évidence par la réduction significative des taux plasmatiques d'interleukine-6 (IL-6) ( $P < 0,01$ ) et du facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ( $P < 0,05$ ), chez le groupe traité vs non traité.

***En conclusion, l'extrait aqueux de Portulaca oleracea induit un effet hypotriglycéridémiant, hypocholestérolémiant, hypoglycémiant, antioxydant, et anti-inflammatoire, chez le rat présentant deux facteurs de risque cardiovasculaire combinés : l'hypercholestérolémie associée au diabète. La richesse de cette plante en composés bioactifs, tels que les tannins, les polyphénols, les  $\omega$ -3, les vitamines, et les sels minéraux en font un produit naturel intéressant pour prévenir l'hypercholestérolémie, chez les patients diabétiques.***

**Mots clés :** *Portulaca oleracea*, Extrait aqueux, Rat Wistar, Hypercholestérolémie, Streptozotocine, Diabète, Lipides, Stress oxydant, Enzyme antioxydante, Inflammation.

## Résumé

Le but de cette étude est de révéler l'effet d'un extrait aqueux de *Portulaca oleracea* sur traitement de l'hypercholestérolémie combinée au diabète, chez le rat Wistar. En amont de l'étude expérimentale, l'analyse phytochimique de *Po* a permis de déceler la présence de composés bioactifs. Les rats hypercholestérolémiques et diabétiques sont divisés en deux groupes homogènes: groupe HD non traité et groupe HD-*Po* traité avec 1% d'extrait aqueux de *Po*, pendant 28 jours. Chez les rats traités par *Po*, comparés aux non traités, l'amélioration significative de la perte pondérale, des teneurs en triglycérides et en cholestérol est concomitante à l'augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol ainsi qu'à l'augmentation de son transport inverse par la lécithine: cholestérol acyltransférase. Aussi, le traitement avec *Po* améliore, de façon significative les indices d'athérogénicité. Chez le groupe HD-*Po* vs HD, une diminution de la glycémie est notée, de même que pour les taux d'hémoglobine glyquée avec une augmentation significative de l'insulinémie. Le stress oxydant, conséquent à l'hypercholestérolémie associée au diabète, tend à être réduit, après supplémentation en *Po*. Le potentiel anti-inflammatoire de *Po* est mis en évidence par la réduction significative des taux plasmatiques d'interleukine-6 et du facteur de nécrose tumorale- $\alpha$ .

### Mots clés :

*Portulaca oleracea*; Extrait aqueux; Rat Wistar; Hypercholestérolémie; Streptozotocine; Diabète; Lipides; Stress oxydant; Enzyme antioxydante; Inflammation.