

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement

Mémoire de Fin de Cycle

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en Reproduction et
Biotechnologie Animale**

Thème

*Etude de l'effet de Rosmarinus officinalis sur les
spermatozoïdes. Statut oxydatif et glucotoxicité*

Réalisé par :

M^{elle}: DRICI Dania

M^{elle}: MADI Malia

Membres de jury :

Président :	Mr MOULAI R	Professeur
Promoteur :	Mr BELMOUHOU M	(M.A.A)
Co-promoteur :	Mr IGUER-OUADA M	Professeur
Examinatrices :	Mme SAAD-EDDINE O	(M.A.A)
	Mme TALBI A	(M.A.A)

2013/2014

Remerciements

Tout d'abord, on tient à remercier le «**Bon Dieu**» le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la force, le courage et la patience d'aller au bout de nos fins, pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons en particulier à remercier notre encadreur **M^f Belmouhoub.M** qui nous a fait l'honneur de diriger notre mémoire et nous lui sommes très reconnaissantes non seulement pour son aide et ses précieux conseils mais aussi pour ses qualités humaines.

Au professeur **M^f I.GUER-OUADA.M** pour avoir su proposer un sujet original, réalisable et d'avoir assuré la responsabilité scientifique. D'avoir été si disponible, d'avoir été si gentil et compréhensif et de nous avoir toujours encouragés et rassurés sur la qualité de notre travail, ainsi de nous avoir accueilli dans son laboratoire. Qu'il veuille bien recevoir ici l'expression de nos gratitudee et notre profond respect.

En tient également à exprimer nos sincères remerciements à **M^f MOULAI .R** professeur a l'université de Bejaia, d'avoir accepté de présider le jury et juger notre travail.

Nos vifs remerciements vont également à **M^{me} Saad dine.O** et **M^{me} Talbi.A** maitres assistantes à l'université de Bejaia, qui nous a fait l'honneur de leur présence et d'avoir consacré de leurs temps en acceptant d'examiner notre travail.

Nos sincères considérations et remerciements aux enseignants et aux personnels de laboratoire de biologie animale.

Enfin, nos chaleureux remerciements a tous ceux qui ont contribués et participés de prés ou de loin a la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Avec les sentiments de la plus profonde humilité, je dédie ce modeste travail :

-A la mémoire de ma mère, il ya un 2ans que tu nous as quitté brutalement, que dieu tout puissant t'accueille dans son vaste paradis.

-A papa qui est toujours la quand j'en ai besoin, quelque lignes ne suffisent pas a faire une longue et belle phrase digne de toi.

-A mes chères frères et sœurs, je leurs souhaite tout le bonheur du monde et un brillant parcours dans la vie, et que dieu les guides toujours dans le bon chemin.

-A mon fiancé Zoubir.

-A ma famille, grâce a qui j'en suis la aujourd'hui, parce que vous avez toujours cru en moi et m'avez soutenue, vous avez tous contriez a votre manière a cette réussite. On forme une sacrée belle famille.

-A ma chère binôme Dania et sa famille.

-A tous mes amis(es) : Naima, Meriem, Souhila, Silya, Salima, kenza, sihem, avec qui j'ai passé des moments agréables et inoubliables, je vous souhaite la réussite et tout le bonheur du monde inchallah

-A tous mes amis de la promotion RBA 2014.

-A tous ceux qui m'ont transmis leur savoir et leur passion.



Malia

Dédicace

Avec les sentiments de la plus profonde humilité, je dédie ce modeste travail :

-A la mémoire de mon oncle, vava Hamou, tu étais un 2ème père pour moi et tu as toujours souhaité me voir réussir, tu resteras dans mon cœur et que dieu tout puissant t'accueille dans son vaste paradis.

-A maman qui ma supporté pendant les périodes des examens et m'a merveilleusement bien accompagnée tout en long de mes études.

-A papa qui est toujours la quand j'en ai besoin, quelque lignes ne suffisent pas à faire une longue et belle phrase digne de toi.

-A 3amti Rbiha, qui à toujours prié pour moi, que dieu la protège et la garde.

-A ma sœur innée Samira et son mari Mostapha, je leur souhaite une belle vie pleine d'enfants.

-A mes deux petits frères Omar, Malek et ma petite sœur Sandra, à notre enfance partagée, je vous souhaite un brillant parcours dans la vie.

-A ma chère binôme Malia et sa famille.

-A tous mes amis(es) : Naima, Meriem, Souhila, Silya, Salima, Amel, Fahima, siham, nassim, alla-eddine, djamel, avec qui j'ai passé des moments agréables et inoubliables, je vous souhaite la réussite et tout le bonheur du monde inchallah.

-A tous mes amis de la promotion RBA.

-A tous ceux qui m'ont transmis leur savoir et leur passion.



Dania

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction.....1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur le diabète

I. Généralités sur le diabète.....2

I.1.Définition de diabète.....3

I.2.Classification.....3

I.2.1.Diabète type 1.....3

I.2.2.Diabète type 2.....4

I.3.Le stress oxydatif et diabète.....5

I.3.1.Définition de stress oxydatif.....5

I.3.2.Les radicaux libres.....5

I.3.3.Mécanismes d'action du stress oxydatif dans le diabète.....5

I.3.3.1.La glucotoxicité liée à l'hyperglycémie.....6

I.3.3.2.Effet de stress oxydatif sur l'insulino-sécrétion7

I.3.3.3.Effet de stress oxydatif sur l'insulino-résistance.....8-9

Chapitre II : Diabète et infertilité masculine

II. Diabète et infertilité masculine10

II.1. Définition de l'infertilité masculine.....10

II.2. Facteurs de style de vie des patients diabétiques peuvent affecter leur fertilité.....	10
II.3. Diabète et sécrétion de la testostérone	11
II.3.1. Effet de diabète de type 2 sur le taux de testostérone.....	11
II.3.2. Effet de diabète de type 1 sur le taux de testostérone.....	12

Chapitre III : Généralités sur le romarin

III. Généralités sur le romarin.....	13
III.1. Historique du romarin.....	13-14
III.2. Description botanique de romarin.....	14
III.3. Systématique.....	14-15
III.4. Répartition géographique	15
III.5. Domaines d'application.....	15
III.5.1. Industrie agro-alimentaire.....	15-16
III.5.2. Industrie cosmétique et parfumerie	16
III.5.3. La thérapie	16
III.6. Composition phénolique	16
III.6.1. Les acides phénoliques.....	16-17
III.6.2. Les flavonoïdes.....	17
III.6.3. Les tanins.....	17

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels & Méthodes

I. Matériel et méthodes	18
I.1. Matériel	18
I.1.1. Spermatozoïdes bovins	18
I.1.2. Matériel végétale	18
I.1.2.1. Polyphénols de <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
I.1.3. Matériel d'analyse de la qualité Spermatique	18
I.1.4. Produits chimiques	19
I.2. Méthodes	19
I.2.1. La récolte de la semence de l'épididyme	19
I.2.2. Préparation du milieu de dilution du sperme	20
I.2.3. Préparation des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i>	20
I.2.3.1. Extraction	20
I.2.3.2. Préparation des concentrations en extraits	21
I.2.4. Préparation des concentrations de glucose	21
I.3. Protocole expérimental	21
I.3.1. Etude de la glucotoxicité sur les cellules spermatiques	21-22
I.3.2. Etude de la toxicité des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les cellules spermatiques	22
I.3.3. Etude de l'effet protecteur des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la glucotoxicité	22
I.3.4. Etude de l'effet protecteur des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> contre la toxicité du H₂O₂	

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion.....	23
II.1. Effet du glucose sur les cellules spermatiques.....	23
II.1.1. Effet sur la mobilité totale.....	23-24
II.1.2. Effet sur la vitesse progressive (VSL) des gamètes.....	24
II.2. Effet des polyphénols de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les spermatozoïdes.....	25
II.2.1. Effet sur la mobilité totale.....	25-26
II.2.2. Effet sur la vitesse progressive (VSL).....	26-27
II.3. Effet des polyphénols de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la glucotoxicité.....	27
II.3.1. Effet sur la mobilité totale et la VSL.....	27-29
II.4. Effet protecteur des polyphénols de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la toxicité de H ₂ O ₂	29
II.4.1. Effet sur la mobilité totale.....	29-30
Conclusion et perspectives	31
Références bibliographique	

Liste des abréviations

µl : microlitre.

µmol : micromole.

ABp : Androgen Binding protein.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ADP : Adénosine diphosphate.

AGEs : Advanced Glycation End Products.

ATP : Adénosine triphosphate.

DID : Diabète insulino-dépendant.

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

ED : Erectil Dysfunction.

FID : Fédération Internationale du Diabète.

FSH : follicule stimulating hormone.

g : gramme.

GLUT : Glucose Transporter.

GnRH : Gonadotrophine Releasing hormone.

h : heure.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale.

Hz : heurtz.

IR : Insulin receptor.

IRS : Insulin receptor substrate.

L : litre.

LH : Luteinizing hormone.

MG : Milieu avec glucose.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

mmol : millimole.

MSG : Milieu sans glucose.

NaCl : Chlorure sodium.

NO : Monoxyde d'azote.

O₂ : Oxygène moléculaire.

OH : Hydroxyde.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PI : Phosphatidylinositol.

PI3-K : Phosphatidylinositol 3-kinase.

PKB : Protéine kinase B.

PKC : Protéine kinase C.

ROS : Reactive oxygen species.

SCA : Sperm class analyzer.

SPTZ : Spermatozoïdes

V : Volume.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

VSL : Straight line velocity.

Liste des figures

Figure 1 : régulation de la glycémie : le rôle de l'insuline dans l'utilisation et la transformation du glucose.....	4
Figure 2 : Effet de stress oxydatif sur la sécrétion d'insuline	8
Figure 3 : Mécanismes de résistance a l'insuline induite par les ROS.....	9
Figure 4 : Effet de diabète sucré sur la fertilité.....	11
Figure 5 : <i>Rosmarinus officinalis</i>	15
Figure 6 : Analyseur informatique des paramètres spermatiques (SCA).....	19
Figure 7 : La collecte de la semence bovine par la méthode rétrograde.....	20
Figure 8 : Schéma récapitulatif de la méthode d'extraction des polyphénols.....	21
Figure 9 : courbes représentant l'effet de différentes concentrations de glucose sur la mobilité spermatique par rapport au témoin sans glucose.....	24
Figure 10 : courbes représentant l'effet de différentes concentrations de glucose sur la VSL des spermatozoïdes par rapport au témoin sans glucose (SPZMSG).....	25
Figure 11 : Courbes représentant l'effet des différentes concentrations en extraits de romarin sur le pourcentage de mobilité spermatique par rapport au témoin sans extraits.....	26
Figure 12 : Courbes représentant l'effet des différentes concentrations en extraits de romarin sur la VSL par rapport au témoin sans extraits.....	27
Figure 13 : courbes représentant le pourcentage de mobilité spermatique en présence d'extraits du romarin et du glucose à 50mg/ml. SPTZ+MG est un témoin positif (avec glucose sans extraits) et SPTZ+MSG est un témoin négatif (sans glucose et sans extraits).....	28
Figure 14 : courbes représentant la VSL spermatique en présence d'extraits du romarin et du glucose à 50mg/ml. SPTZ+MG est un témoin positif (avec glucose sans extraits) et SPTZ+MSG est un témoin négatif (sans glucose et sans extraits).....	28

Figure15 : courbe représentant les différents pourcentages de mobilité des spermatozoïdes en testant l'effet protecteur des polyphénols de *R.officinalis* contre la toxicité d' H_2O_230

Introduction générale

Parmi les produits de la digestion, les hydrates de carbone sont absorbés au niveau de l'intestin pour gagner la circulation sanguine. Parmi ces molécules le glucose est considéré comme une importante source d'énergie sous forme d'ATP dans les cellules de l'organisme **(Marieb, 1999)**.

Le diabète est une maladie chronique causé par la sécrétion inadéquate d'insuline ou l'altération de son action ou les deux, caractérisé par l'augmentation du taux de la glycémie au-dessus de la valeur normale **(Donath et al, 2006)**.

Il est admis que le diabète cause des complications diverses touchant plusieurs organes et altérant des fonctions vitales. Plusieurs études épidémiologiques rapportent des problèmes de fertilité dans les couples où le mari est diabétique, dans certaines études il a même été rapporté des dysfonctionnements dans la production d'hormones de la reproduction **(Aramal,2006)**.

Un des mécanismes par lequel le diabète induit des altérations non spécifiques aux tissus est le stress oxydatif. Cette anomalie résultant d'un déséquilibre entre les espèces antioxydantes de l'organisme et les espèces oxydantes, conduit à des altérations moléculaires touchant indépendamment toutes les molécules cellulaires y compris celles des cellules germinales. Cependant à ce jour très peu d'études existent sur l'impact de la glucotoxicité (hyperglycémie) sur les spermatozoïdes via les mécanismes oxydatifs ou tout simplement via des valeurs élevées en glucose **(Bonnefont-Rousselot., D, 2002)**.

Les antioxydants jouent un rôle majeur dans la protection contre les dommages oxydatifs moléculaires, et l'une des principales sources qui peut garantir des antioxydants naturels est le règne végétal, en particulier les plantes qui sont reconnues dans la thérapeutique du diabète **(Favier, 2003)**.

Rosmarinus officinalis de la famille des labiatae, est considéré comme l'une des plante les plus prometteuse dans la thérapie antioxydante en raison de sa richesse en polyphénols **(Ibanez et al, 2000 ; Pérez et al, 2007 ; Wang et al, 2008)**. Cependant, son effet protecteur sur les spermatozoïdes face à des valeurs excessives en glucose (glucotoxicité) reste non exploré.

C'est justement dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de la présente étude, nous visons particulièrement à :

- Démontrer l'effet toxique de valeurs élevées en glucose sur les spermatozoïdes (glucotoxicité)
- Etudier la toxicité de différentes concentrations d'extraits du romarin (phytotoxicité)
- Etudier l'effet protecteur des extraits du romarin face à la glucotoxicité sur spermatozoïdes.
- Etudier l'effet protecteur de ces extraits sur des spermatozoïdes exposés au H₂O₂

I. Généralité sur le diabète

Le diabète est un problème majeur de santé publique, il est considéré par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme épidémie et dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années. Actuellement, près de 285 millions de personnes dans le monde sont atteintes de cette pathologie. En effet, en 2000 on comptait 171 millions de diabétiques dans le monde soit une prévalence de 2,8% et en 2003 la Fédération Internationale du Diabète (FID) estimait à 194 millions de personnes vivants avec le diabète dans le monde. Cependant, d'ici 2030, on prévoit le dédoublement de ce chiffre dans les pays en voie de développement (principalement chez les 45-64 ans) et toujours une augmentation de (+41%) dans les pays industrialisés. Ainsi, le nombre de diabétiques peut atteindre les 366 millions dans le monde soit une prévalence de 4,4% dans 20 ans (**Wild et al, 2011**).

Ces estimations sous-évaluent probablement l'ampleur du problème puisque elles ne tiennent pas compte de l'augmentation constante de l'obésité. En 2010, le nombre des décès dus au diabète à travers le monde était de 3,96 millions de personnes chez les 20-79 ans. En Europe, on compte aujourd'hui 33 millions de diabétiques, avec une prévision de 50 millions en 2030 (**Roglic et Unwin, 2010**).

L'augmentation de l'espérance de vie participe également à l'augmentation de la prévalence du diabète. En effet, il existe une disparité importante selon les âges: 0,4% pour les personnes entre 0 et 44 ans, 5,8% pour les 45 à 64 ans, 13,3% pour les 65 à 74 ans et 13,4% pour les 75 ans et plus. Ainsi la prévalence et le dépistage diabétique, la prise en charge des patients diabétiques, la prévention et le traitement des complications diabétiques sont des enjeux majeurs de santé publique sur le plan mondiale. On cite parmi les pays les plus affectés par cette pathologie: l'Inde, la Chine et les Etats-Unis (**Kusnik et al, 2008**).

I.1.Définition du diabète

Le diabète se définit par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à **1,26g/l (7mmol/l)** mesurée à deux reprises. Cette définition repose sur plusieurs études épidémiologiques prospectives qui ont montré de façon convergente que lorsque la glycémie à la deuxième heure de l'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) est supérieure ou égale à **2g/l**, il existe un risque de survenue dans les 10 à 15 ans suivants, d'une rétinopathie diabétique (**Perlemutier et al, 2000**).

I.2.Classification

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), on peut diviser le diabète en deux types principaux, le diabète de type1 et le diabète de type2 qui ont de très différentes causes (**Buyschaert, 2006**).

I.2.1.Diabète type 1

Dite diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète maigre, ce type de diabète connu auparavant comme diabète juvénile où le patient dépend de l'insuline, est du à une maladie auto-immune qui s'attaque aux cellules productrices d'insuline au niveau du pancréas pour les détruire progressivement suite à l'infiltration des macrophages dans les îlots de Langerhans. Il est remarquable par son début brutal avec un syndrome cardinal associant polyuropolydipsie, polyphagie, amaigrissement et asthénie chez un sujet jeune, mince, avec cétonurie associée à la glycosurie (**Athanasius et al, 2005**). On ne retrouve d'antécédent familial que dans un cas sur dix. Le taux de destruction des cellules varie d'un patient à l'autre mais tend à être plus agressive chez les enfants. La maladie est souvent présente pendant l'enfance et l'adolescence, cependant elle peut se développer à un âge plus avancé sous l'action de différents déterminants génétiques et environnementaux. La cause de cette maladie étant un manque en insuline, elle nécessite un traitement qui consiste en l'apport d'insuline (fig 2) par des injections (**Kathleen, 2006**).

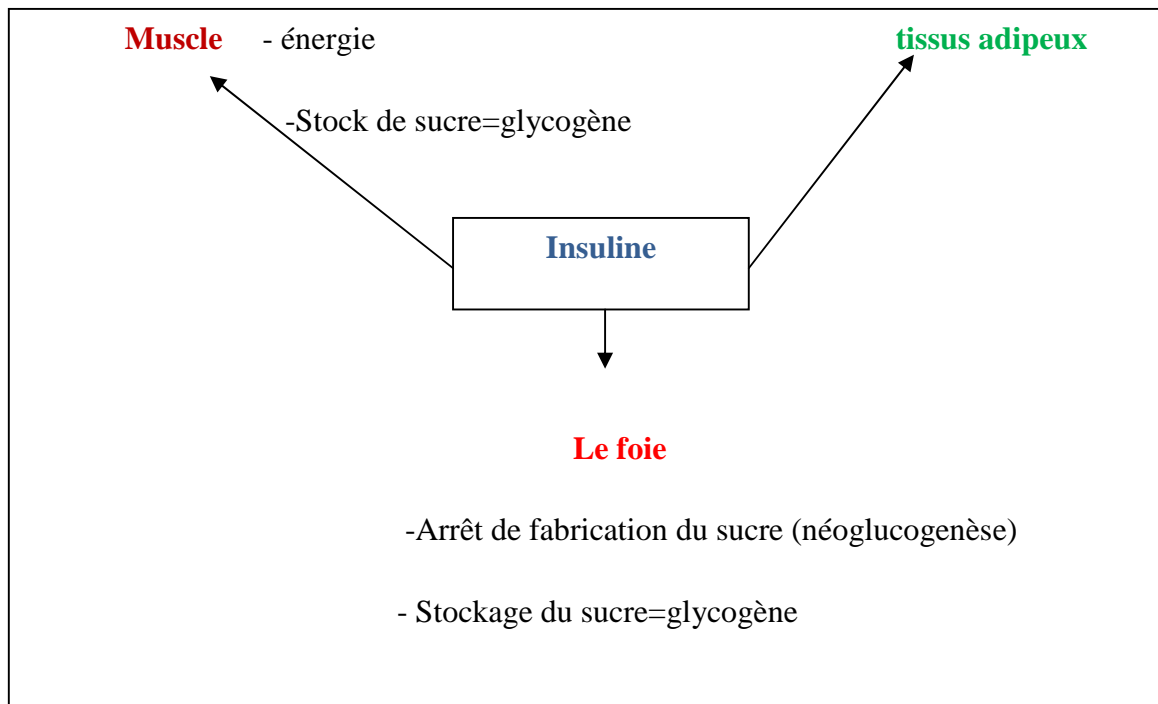


Figure 1 : régulation de la glycémie : le rôle de l'insuline dans l'utilisation et la transformation du glucose

I.2.2. Diabète type 2

A l'opposé de diabète de type 1, le diabète de type 2 appelé aussi diabète non insulino-dépendant (DNID) ou diabète gras, se caractérise typiquement par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un sujet de plus de 40 ans avec un surpoids ou ayant été obèse, avec une surcharge pondérale de prédominance abdominale. Il se caractérise par une résistance à l'insuline associée à une carence de sécrétion d'insuline plus ou moins importante. Le plus souvent, on trouve une hérédité familiale de ce type de diabète (**Grimaldi et Heurtier, 1999**).

Le diabète type 2 est souvent associé à une hypertension artérielle et/ou à une hypertriglycéridémie, fait notable, les sujets intolérants au glucose ou les diabètes de type 2 au moment du diagnostic sont dyslipidémiques dans les mêmes proportions que le sont les diabètes de type 2 de plus grande ancienneté d'évolution. Ceci signifie qu'il existe une très longue période durant laquelle la dyslipidémie fait le lit des atteintes vasculaires, et

probablement rénales avant l'apparition d'une hyperglycémie marquée. Au moment où le diagnostic de diabète de type 2 est posé, les atteintes cardiovasculaires sont déjà engagées (Brun, 1997).

I.3. Le stress oxydatif et le diabète

I.3.1. Définition du stress oxydatif

La notion de stress oxydatif dans les systèmes biologiques a été initiée suite aux connaissances obtenues sur l'activation de l'oxygène moléculaire (O₂) et son potentiel de toxicité. Le concept de stress oxydatif développé initialement a évolué et il est défini actuellement comme un déséquilibre entre les niveaux d'oxydants et antioxydants en faveur des oxydants pouvant causer des dommages. Un oxydant est défini comme toute molécule acceptant un ou plusieurs électrons, la molécule fournissant ce dernier passant alors d'un état réduit à un état oxydé. Les deux états (réduit et oxydé) d'une même molécule forment un couple redox qui croit avec le pouvoir oxydant de l'espèce oxydée du couple (Sies, 1985).

I.3.2. Les radicaux libres

Un radical est un atome, une molécule ou une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Généralement transitoire, ce déséquilibre structural est comblé par l'acceptation d'électrons venant d'autres molécules vers une autre molécule. Les électrons libres augmentent sensiblement la réactivité des molécules et les rendent instables. Les réactions d'acceptation et de transfert des électrons dépendent de l'instabilité du radical libre considéré : lorsque modérée, l'instabilité va favoriser l'acceptation d'électrons alors que le transfert d'électrons se produira en cas de grande instabilité. De plus, la spécificité du radical va diminuer avec l'importance de son instabilité. C'est ainsi qu'en raison de leur manque de spécificité réactionnelle, les radicaux libres sont susceptibles de réagir avec de nombreuses molécules biologiques (ADN, protéine, lipides, glucides...) pour les oxyder et retrouver alors un état énergétique plus stable (Yoshikawa, 2000).

I.3.3. Mécanismes d'action du stress oxydatif dans le diabète

Il est admis que le stress oxydatif est incriminé dans la genèse de diverses pathologies chroniques et leurs complications dégénératives (athérosclérose, cancers, maladies d'Alzheimer, arthrite rhumatoïde, emphysème, insuffisance rénale, hypertension artérielle).

Dans les diabètes de type 1 ou de type 2, l'activation de la glycolyse liée à l'hyperglycémie chronique, est responsable d'un stress oxydatif. Ce stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène ou ROS (reactive oxygen species) et les systèmes de défense anti-oxydante. L'équilibre glycémique joue un rôle important dans cette balance. Le stress oxydatif est suspecté dans l'aggravation de l'état d'insulino-résistance dans le diabète de type 2 et dans son évolution dans le diabète d'insulino-requérant par apoptose de la cellule bêta pancréatique (**Lenzen, 2008**). Plusieurs mécanismes semblent intervenir dont les effets délétères, tant au niveau cellulaire que moléculaire trouvent leur impact au niveau mitochondrial. En outre, les ROS jouent un rôle important dans la genèse des macros et micro-angiopathies du diabète (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) par glycation des protéines de la matrice extracellulaire avec formation de produits de glycation avancés ou AGEs (Advanced Glycation End Products). Les AGEs diminuent la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) et par conséquent la relaxation endothéliale, ce qui est l'une des causes dans l'émergence de l'hypertension chez les diabétiques (**Reddy, 2009**).

I.3.3.1. La glucotoxicité liée à l'hyperglycémie

L'hyperglycémie est considérée comme élément initiateur des dommages tissulaires diabétiques visant notamment les cellules endothéliales des capillaires de la rétine, les cellules mésangiales des glomérules rénaux, les neurones et les cellules de Schwann des nerfs périphériques. En effet, ces cellules n'étant pas capables de maintenir constantes leurs concentrations en glucose, en condition d'hyperglycémie, il en résulte une augmentation de concentration intracellulaire (**Vuguin et al, 2004**).

La glucotoxicité est consécutive à une hyperglycémie chronique qui va être à la base d'un accroissement de la résistance à l'insuline et du dysfonctionnement de la sécrétion d'insuline et également impliquée dans la survenue d'évènements macro et surtout micro angiogéniques, par l'intermédiaire de l'activation de manière anormalement importante de différents mécanismes qui sont notamment, le phénomène d'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, glycation des protéines et formation des produits avancés (AGEs) et la voie de la protéine kinase C (PKC). Toutes ces voies auront comme conséquences une altération de la voie de signalisation de l'insuline et le développement d'un stress oxydatif (**Kawahito et al, 2009**).

En effet, toutes les cellules de l'organisme possèdent des transporteurs du glucose, GLUT1. Ces transporteurs de la famille GLUT, travaillent à l'équilibre, quand il y a un gradient de concentration de glucose qui se met en place de part et d'autre de la membrane, il y a un flux de glucose au travers de la membrane via ce transporteur pour arriver à un équilibre de concentration. Cela signifie que dans des conditions d'hyperglycémie, toutes les cellules seront soumises à un afflux de glucose intracellulaire. Cet afflux va amplifier la glycolyse, puis va amplifier le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire dans la mitochondrie ce qui favorise la production des espèces réactives de l'oxygène et la diminution de la capacité antioxydante cellulaire (Ihara et al, 1999).

I.3.3.2.Effet de stress oxydatif sur l'insulino-sécrétion

La sécrétion de l'insuline par les cellules bêta est régulée par une série d'événements électrogéniques conduisant à l'exocytose de granules contenant l'hormone. Elle est déclenchée par le glucose selon une séquence complexe (figure 2): l'entrée du glucose dans la cellule et sa métabolisation par la voie de la glycolyse conduisent à une augmentation du ratio ATP/ADP cytosoliques. S'en suit une fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants, une ouverture des canaux calciques voltage-dépendant et l'exocytose des granules d'insuline. Il a été montré qu'en conditions de stress oxydatif, les ROS perturbent et inhibent l'insulino-sécrétion en inhibant la transduction du signal du glucose dans la cellule, l'exocytose est inhibé via des effets sur la glycolyse et la production d'ATP (Krippeit, 1999). L'hyperpolarisation membranaire produite par ces espèces réactives, active directement les canaux K_{ATP} et maintient la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants en altérant la sécrétion d'insuline. La baisse de la concentration en ATP est due à une attaque des ROS sur la mitochondrie. Les ROS peuvent ainsi inhiber la chaîne respiratoire et endommager des composés mitochondriaux comme l'ADN mitochondrial. Ce dernier est dépourvu d'histones et de système de réparation comparé à l'ADN nucléaire, il reste donc plus sensible à l'attaque des ROS. Une fois l'ADN mitochondrial altéré, il y a perturbation par voie de conséquence du fonctionnement de la chaîne respiratoire (Lowell, 2005).

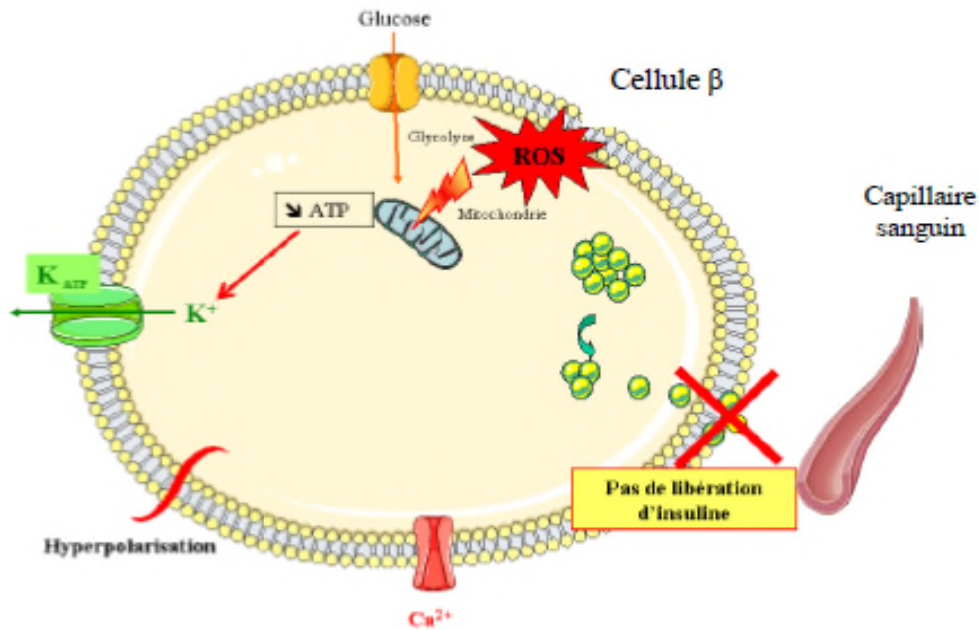


Figure 2 : Effet du stress oxydatif sur la sécrétion d'insuline (Lowell, 2005).

I.3.3.3. Effet du stress oxydatif sur l'insulino-résistance

Le stress oxydatif et ses effets dans le contexte de la résistance à l'insuline ont été particulièrement étudiés avec H_2O_2 et OH^* et leur conséquence sur le récepteur à l'insuline (IR) et ses substrats (IRS-1 et 2) et la complexe voie de la signalisation de l'insuline (Evans et al, 2003). En conditions normales, la phosphorylation de la sous-unité α du récepteur induite par la liaison avec l'hormone conduit à l'activation des molécules de IRS-1 et de phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-K). Cette dernière est nécessaire et suffisante pour induire la phosphorylation et l'activation de PKB. Des études sur des cellules en culture démontrent que les ROS inhibent la transduction du signal de l'insuline (Evans et al, 2005). Elles empêchent l'autophosphorylation du récepteur à l'insuline et par conséquent celle de la protéine IRS-1, conduisant à un blocage des voies en amont de la (PI 3-K). La translocation de récepteur GLUT4 est alors inhibée ne permettant l'entrée du glucose dans la cellule (figure 3) (Rudich et al, 1998). En effet, des concentrations de l'ordre de micromolaire (μmol) en peroxyde d'hydrogène suffisent à inhiber l'autophosphorylation du récepteur à l'insuline sur des cellules en culture entraînant ou favorisant l'insulino-résistance (Hansen et al, 1999).



Figure 3 : Mécanismes de résistance à l'insuline induite par les ROS (Hansen et al, 1999).

II. Le diabète et infertilité

II.1. Définition de l'infertilité masculine

L'infertilité masculine, encore appelée stérilité masculine, s'agit de l'impossibilité pour un homme d'assurer une procréation du fait d'une défaillance qualitative ou quantitative de semence. L'infertilité masculine est à l'origine de plus d'un tiers des infertilités du couple. Elle est en relation avec une altération quantitative et/ou qualitative du sperme d'origine congénitale ou acquise (**Pontonnier et al, 1996**).

II.2. Facteurs de style de vie des patients diabétiques

Bien que le diabète sucré soit connu pour provoquer de nombreuses complications systémiques, l'infertilité masculine, sur la base de l'impuissance, l'éjaculation rétrograde et hypogonadisme, n'est pas largement reconnu comme l'un d'entre eux. En raison de la rareté des études et des cohérences en ce qui concerne l'impact de diabète sucré sur la qualité du sperme, cette maladie est rarement recherchée chez le patient infertile. Récemment, ce point de vue a été constaté par les résultats montrant que le diabète sucré induit des changements moléculaires subtils pour la qualité et la fonction du sperme (**Akbar et al, 2006**).

Une étude réalisée sur plus de 500 partenaires masculins des couples infertiles a montré une prévalence de ~1,2% de diabète. Dans une autre étude récente, la prévalence de l'infertilité chez les hommes diabétiques de type 2 était de 35,1%. Les facteurs de risque chez les diabétiques sont principalement : dysfonction érectile (ED), éjaculation rétrograde et les problèmes organismiques ainsi que la baisse de désir (réduite libido), mais aussi l'altération de la spermatogenèse qui est également associée au diabète (**Anderson et al, 2010**).

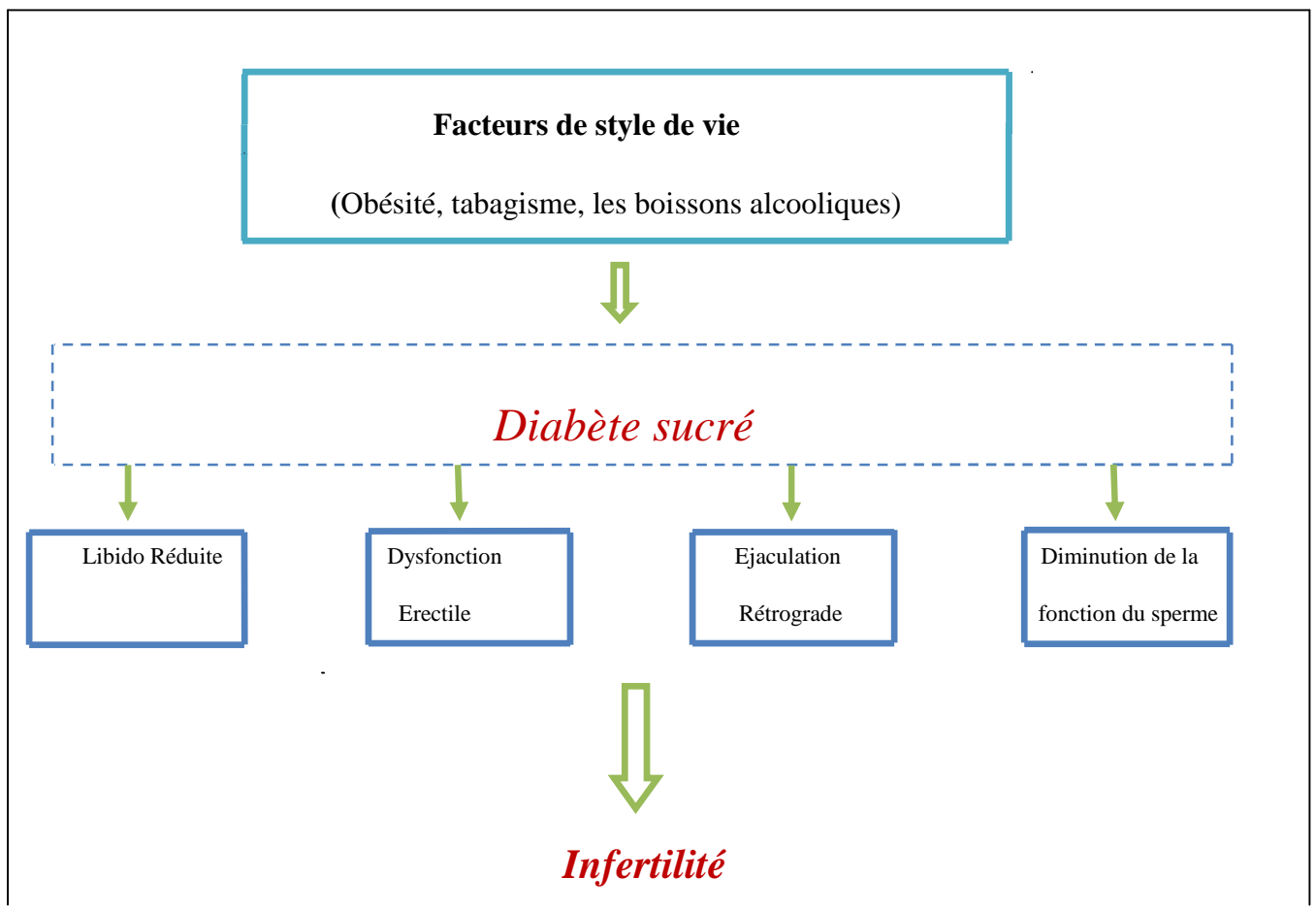


Figure 4 : Effet de diabète sucré sur la fertilité

II.3. Diabète et sécrétion de la testostérone

La testostérone est la principale hormone sexuelle de l'homme. Elle est importante non seulement pour garantir une activité sexuelle normale, mais aussi pour la solidité des os, la force musculaire, l'énergie mentale et physique et le bien être général. Un faible taux de testostérone est associé à une diminution de la libido, des dysfonctionnements érectiles, une augmentation de la masse grasseuse, une diminution de la masse musculaire et osseuse et de l'énergie, la dépression et l'anémie. Le diabète pourrait être une des causes les plus fréquentes d'hypogonadisme qui affecte la production de la testostérone (**Barrett, 1990**).

II.3.1. Effet de diabète de type 2 sur le taux de la testostérone

Diverses études épidémiologiques menées au cours des vingt dernières années ont montrés que les personnes atteintes de diabète de type 2 présentent un faible taux de testostérone. Ces études étaient toutefois basées sur la testostérone totale, laquelle peut ne pas refléter avec précision les niveaux de la testostérone libre biologiquement active (**Tamar et al, 2006**). La testostérone d'un homme normale est principalement liée à la globuline spécifique (44%) et à l'albumine (54%), seuls 2% environ circulant sous forme libre. Une étude a établi qu'un tiers des hommes atteints de diabète de type 2 présentaient un faible niveau de testostérone libre. Ce problème a été associé à une hormone lutéinisante (LH) et une hormone de stimulation folliculaire anormales entraînant un hypogonadisme hypogonadotrophique (**Dhindsa et al, 2004**).

II.3.2. Effet de diabète de type 1 sur le taux de la testostérone

L'hypogonadisme hypogonadotrophique ne se développe par contre pas chez les hommes atteints de diabète de type 1, ceci est confirmé par des études menées sur des hommes jeunes et d'âge moyen. Il est néanmoins intéressant de noter que les concentrations de la testostérone sont également inversement proportionnelles à l'indice de masse corporelle chez les hommes atteints de diabète de type 1 (**Chandel et al, 2008**).

III. Généralités sur le romarin

Pendant des siècles, des plantes médicinales ont été employées comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leur richesse en composants de valeur thérapeutique. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative thérapeutique, notamment avec le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, a conduit des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (**Nestro et al, 2000**), mais ce développement est aussi lié à une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes (**Schnaubelt, 2000**).

On trouve dans les civilisations chinoises, indiennes et aztèques, des traces très anciennes d'utilisation des plantes médicinales. Le premier livre de matière médicale *Shen Nung Ben Cao Jing* (Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung), fut rédigé vers 2900 ans avant J-C. 4000 ans avant J-C, les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner : 600 tablettes d'argile mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens (**Fouché et al, 2000**). Le soin de la peau a commencé 3000 ans avant la naissance du Christ, quand les égyptiens ont enregistré en forme hiéroglyphique le soin de la peau sur les murs des temples (**Dweck, 2002**).

Le continent africain en général et l'Algérie en particulier est doté d'une biodiversité en plantes parmi les plus riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme aliments naturels ou à des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles ont été identifiées et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (**Benkiki, 2006**). Parmi ces plantes, on retrouve le romarin (*rosmarinus officinalis*) très fréquemment employé dans le pourtour méditerranéen.

III.1. Historique du romarin

L'usage traditionnel du romarin comme épice ainsi que les propriétés antioxydantes de leurs feuilles a poussé plusieurs chercheurs à étudier sa composition en constituants qui sont à l'origine de cette activité. La première approche pour l'utilisation des plantes aromatiques comme antioxydant est décrite par Chipault et al, en 1952. Rac et Ostric, en 1955 ont utilisé l'extrait des feuilles de romarin comme antioxydant naturel (**Culvier et al, 1996**). En 1966,

Briscorn et *al*, ont isolé le carnosol du romarin auquel ils ont attribué l'activité antioxydant importante. Dans les années soixante et soixante-dix, la plus part des travaux dans cet axe sont effectués par des chercheurs Japonais Satio et *al*, en 1976.

Chang et *al*, à la fin des années soixante-dix, proposent un système d'extraction des antioxydants naturels du romarin et du soja. Une revue complète à ce sujet est publiée en 1985 par Kramer. En 1992, Schwarz et Ternes ont montré que les propriétés antioxydantes du romarin sont principalement dues à la présence des déterpènes phénoliques, tel que l'acide carnosique, le carnosol, le rosmanol...etc (Karin et Waldemar, 1992).

Au début des années quatre-vingt-dix, les recherches sont orientées vers l'isolation de l'acide carnosique à partir du romarin et la synthèse des autres déterpènes phénoliques avec l'étude des différentes activités biologiques de cette fraction phénolique *in vivo* et *in vitro* (Inatani et *al*, 1983).

III.2. Description botanique du romarin

Le romarin du latin *Rosmarinus officinalis* (rosée de la mère), est un arbrisseau aromatique, toujours vert, de 1 à 2 m et qui peut vivre plus de trente ans. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulées, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La fleuraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'à avril-mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches, *Rosmarinus officinalis albiflorus*). Comme pour la plupart des lamiacées, le fruit est un tetrakène de couleur brune (Souza, 2008).

III.3. Systématique

La systématique de *Rosmarinus officinalis* (figure 5) est comme suit : (Lawrence, 1995).

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous- embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédone
Sous-classe :	Gamopétales
Ordre :	Tubiflorales

Sous-ordre:	Lamiales
Famille :	Lamiacée
Genre :	Rosmarinus
Espèce :	Rosmarinus officinalis



Figure 5 : *Rosmarinus officinalis* (Lawrence, 1995).

III.4. Répartition géographique

Le romarin pousse dans tous les pays méditerranéens, de l'Europe, comme l'Allemagne, la France, l'Espagne et le sud-ouest de l'Asie. En Algérie, c'est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire national. Le romarin est souvent cultivé dans les jardins comme clôtures, il affectionne particulièrement les terrains calcaires et secs (Beniston, 1982). La récolte des fleurs est possible pendant toute l'année, mais on le pratique avec plus de profit de mai à juillet ou en septembre en temps chaud et sec.

III.5. Domaines d'application

On utilise le romarin (*Rosmarinus officinalis*) dans des domaines différents grâce à la richesse de ses extraits qui ont des propriétés biologiques très importantes.

III.5.1. Industrie agro-alimentaire

Le romarin en sa forme d'extrait présente un pouvoir antioxydant important, ses extraits sont utilisés dans la conservation des aliments et les huiles lipidiques, ses propriétés biologiques sont dues aux acides phénoliques comme l'acide rosmarinique et caféique (Muzon, 1999).

Dans l'alimentation on utilise l'épice et l'huile de romarin. L'épice est utilisé dans les aliments cuits, les boissons alcoolisées, la viande et les produits de viande et les aliments industriels. L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées et aussi dans les desserts glacés, confiseries, aliment cuits, gélamines et pouding, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement et autres (Albert, 1996).

III.5.2. Industrie cosmétique et parfumerie

Au 19^{ème} siècle, l'essence du romarin servait à la préparation de très célèbre eaux de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui, le romarin rentre dans la composition de certains produits cosmétiques comme les savonneries, les crèmes, détergents et dans la plupart des eaux de Cologne (Albert, 1996).

III.5.3. La thérapie

Pour ses propriétés hépatotropes, diurétique et emménagogue qui sont dues aux présences des flavonoïdes, le romarin était cité déjà en médecine arabe classique (Leclerc 1877). Ses feuilles sont utilisées dans la phytothérapie européenne pour les brûlures d'estomac et pour la thérapie d'appui, les maladies rhumatismales, en usage externe pour les problèmes de circulation et en bain. Les diterpènes phénoliques présents dans le romarin tel que l'acide carnosique et le carnosol ont des effets d'inhibition contre le virus du VIH-1 et certains cancers (Piozzi, 1994).

III.6. Composition phénolique

En plus des huiles essentielles, le romarin est riche en polyphénols ou également dénommés composés phénoliques qui sont des composés aromatiques naturels produits lors du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans les processus vitaux les plus divers (Middleton et al, 2000). Parmi ces composés phénoliques on cite :

III.6.1. Les acides phénoliques

Actuellement, plus de douze acides phénoliques sont isolés et identifiés pour le romarin, ils sont responsables de l'activité antioxydante de la plante, on peut citer: l'acide carnosique, l'acide rosmarinique, l'acide caféique, le carnosol,... etc. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotiques antioxydants, de chélation et anti-inflammatoire, leur toxicité est faible. L'acide carnosique est le constituant majoritaire dans cette fraction phénolique, pharmacologiquement le mieux caractérisé est l'acide caféique (Psotova et al, 2003).

III.6.2 Les flavonoïdes

Le romarin est très riche en flavonoïdes, ils sont localisés dans les feuilles, les fleurs, les tiges et les racines. Leur concentration change durant l'évolution de la plante. Se sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone, portant des fonctions phénols libres éther ou glycosides. L'intérêt nutritionnel des flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C à la suite des travaux de Szent Gyorgyi en 1938. Plus de dix flavonoïdes ont été isolés et identifiés dans le romarin parmi lesquels: l'apéginine, le genkwanine, cirsimaritrine,...etc (Hadi, 2004).

III.6.3 Les tanins

Se sont des polyphénols polaires, présents presque dans chaque partie de la plante. Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal, sur le plan structural, ils sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables qui sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyol et d'un acide phénol et les tanins condensés qui peuvent être constitués par la condensation des dérivés flavanes qui ont été transportés aux tissus de bois des plantes (Berthodet, 1999).

I. Matériel et méthodes**I.1. Matériel****I.1.1. Spermatozoïdes bovins**

Les spermatozoïdes utilisés dans cette expérimentation ont été collectés à partir d'épididymes de testicules de bovins. Les testicules ont été collectés frais après abattage dans l'abattoir de la ville de Bejaia.

I.1.2. Matériel végétale**I.1.2.1. Polyphénols de *Rosmarinus officinalis***

Les polyphénols totaux de *Rosmarinus officinalis* utilisés dans cette étude ont été extraits au niveau du laboratoire de biologie animale de l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

I.1.3. Matériel d'analyse de la qualité spermatique

Les paramètres spermatiques ont été analysés par l'analyseur informatique SCA (Sperm Class Analyzer) Barcelone, (figure 6). Cet outil sert à réaliser une analyse automatique des vidéos de spermatozoïdes en mouvement et de générer des valeurs objectives telles que la vitesse de progression des spermatozoïdes et la mobilité totale. Ce système comporte un microscope lié à une camera digitale, le tout est associé à un ordinateur doté d'un logiciel d'analyse. Les échantillons sont analysés en utilisant une cellule de Makler. Pour cette étude nous avons retenu deux paramètres le pourcentage de la mobilité, qui prend compte l'ensemble des cellules qui bougent sans considérer la qualité de la mobilité, et la VSL (vitesse de progression), qui elle est un paramètre de qualité et qui prend en compte l'aptitude des spermatozoïdes à parcourir une longue distance pendant une unité de temps.



Figure 6 : Analyseur informatique des paramètres spermatiques (SCA)

I.1.4. Produits chimiques

La streptomycine (Saidal, Algérie) a été obtenue d'un centre médical dans la ville de Bejaia. La pénicilline injectable (Saidal, Algérie) a été achetée d'une pharmacie locale. Les autres réactifs chimiques tels que le glucose, NaCl et autres, sont disponibles au niveau du laboratoire de biologie animale de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia.

I.2. Méthodes

I.2.1. La récolte de la semence de l'épididyme

Après l'isolation de l'épididyme du testicule, une seringue remplie d'air est introduite dans la lumière du canal déférent, au niveau de la queue de l'épididyme, une incision réalisée au préalable, permet de récupérer le sperme épididymaire dans un tube eppendorf de 2 ml par injection de l'air de la seringue (figure 7).

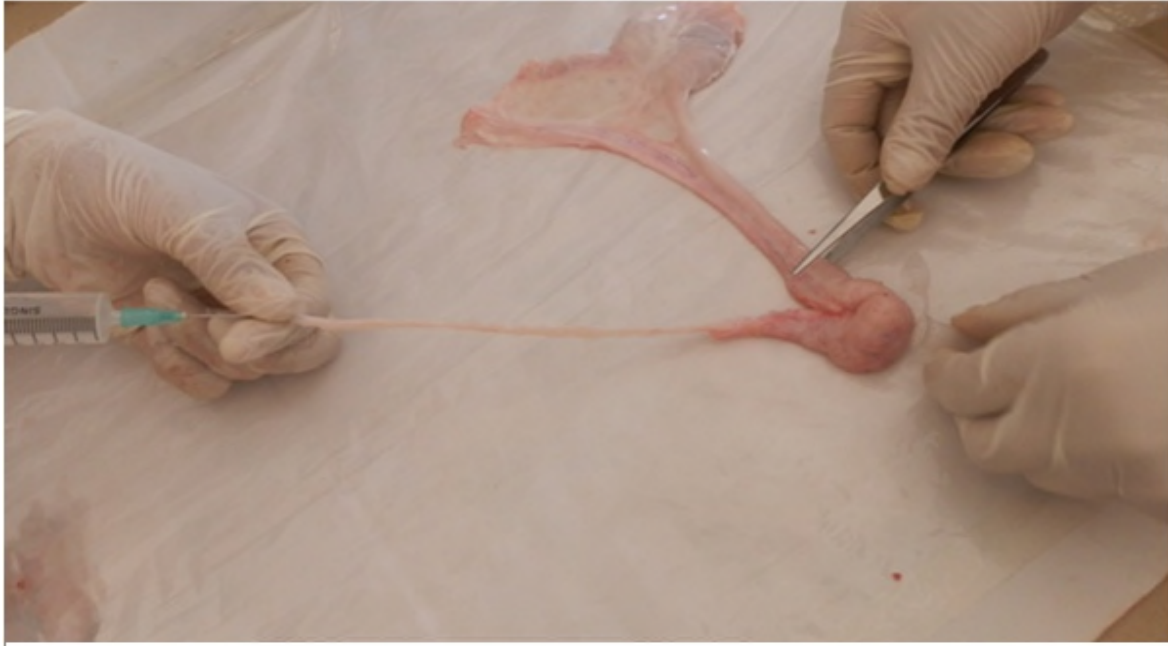


Figure 7 : La collecte de la semence de l'épididyme bovin par la méthode rétrograde

I.2.2. Préparation du milieu de dilution du sperme

Après la collecte, le sperme est dilué (1/20) dans un milieu de conservation qui est préparé avec 2,53g de citrate de sodium, 2g de glucose, pénicilline (1 000 000 UI), streptomycine (1 000 000 UI) et 75ml d'eau distillé, le PH est de 6,75. Ce milieu est conservé au réfrigérateur (5°C) jusqu'à utilisation. Ce milieu permet une viabilité plus importante des spermatozoïdes.

I.2.3. Préparation des extraits de *Rosmarinus officinalis*

I.2.3.1. Extraction

La méthode d'extraction a été réalisée par macération (figure 8). Le romarin utilisé est sous forme de poudre d'un poids total de 147,50g. La 1^{ère} macération est lancée avec un mélange de méthanol (80%) et d'eau (20%) avec un volume total de 720ml pour 80g de poudre de *Rosmarinus officinalis*. Ce mélange est mis dans un bicher sur agitateur à une température de 25°C et une vitesse d'agitation de 5 Hz pendant 24h. Ensuite avec le papier de Wattman n°3 et à l'aide d'un entonnoir, une filtration est réalisée pour récupérer le 1^{er} filtrat. Une 2^{ème} macération avec le sédiment est ensuite lancée pendant 24h. La 2^{ème} macération est réalisée avec le même rapport méthanol/ eau (80/20). La 3^{ème} macération est réalisée quant à

elle avec un rapport méthanol/eau de 1/1. Après cette 3^{ème} macération, les 3 trois filtrats ont été mélangés pour les mettre dans une étuve pendant 3 jours à une température de 45°C.

Le produit est ensuite récupéré de l'étuve et a été dilué avec l'eau distillé. Le volume obtenu est ensuite mélangé à l'éther de pétrole pour lancer l'étape de décantation à l'aide d'une ampoule à décanter. Après la décantation, le mélange est séché dans une étuve.



Figure 8 : schéma récapitulatif de la méthode d'extraction de l'extrait du romarin.

I.2.3.2. Préparation des concentrations en extraits

Une quantité de 160mg de l'extrait est solubilisée dans 2ml d'eau physiologique. Ensuite par dilution 50/50, nous sommes arrivés à des concentrations de 1.25, 2.5, 5, et 10 mg/ml dans le sperme pour l'étude de toxicité des extraits de romarin et à des concentrations de 0.125, 0.25, 0.5, 1 et 2mg/ml pour étudier l'effet protecteur contre la glucotoxicité.

I.2.4. Préparation des concentrations du glucose

Pour tester la toxicité du glucose, nous avons préparé une solution de 800mg de glucose mélangés dans 2ml d'eau physiologique. Par dilution 50/50 nous sommes arrivés à des concentrations dans le sperme de 6.25, 25, 50 et 100mg/ml.

I.3. Protocole expérimental

Les paramètres spermatiques sont mesurés dans les différents échantillons étudiés selon un timing de t_0 , 1h, 6h, 24h, 48h et 72h. Après chaque analyse les échantillons seront réfrigérés à une température de 5°C.

I.3.1. Etude de la glucotoxicité sur les cellules spermatiques

Pour étudier l'effet toxique du glucose, les cellules spermatiques sont incubées dans quatre concentrations de glucose (6.25, 25, 50 et 100mg/ml). Le pourcentage de mobilité et la VSL sont déterminés durant 72 heures.

I.3.2. Etude de la toxicité des extraits du romarin sur les cellules spermatiques

Pour étudier l'effet toxique des extraits du romarin, les cellules spermatiques sont incubées dans quatre concentrations d'extraits (1.25, 2.5, 5, et 10 mg/ml). Le pourcentage de mobilité et la VSL sont déterminés durant 72 heures.

I.3.3. Etude de l'effet protecteur des extraits du romarin contre la glucotoxicité

Pour étudier l'effet protecteur des extraits du romarin contre la toxicité du glucose, les cellules spermatiques sont incubées dans une concentration de 50mg/ml de glucose à laquelle nous avons ajouté 0.125, 0.25, 0.5, 1 ou 2 mg/ml des extraits du romarin. Le pourcentage de mobilité et la VSL sont déterminés durant 72 heures.

I.3.4. Etude de l'effet protecteur des extraits du romarin contre la toxicité du H₂O₂

Une concentration de 1mM de H₂O₂ a été préparée avec un volume de 9ml d'eau physiologique pour 1ml de H₂O₂, pour arriver à une concentration finale dans le sperme de 100µM. Pour étudier l'effet protecteur des extraits du romarin contre le H₂O₂, les cellules spermatiques sont incubées dans quatre concentrations d'extraits de *Rosmarinus officinalis* : 1, 0.5, 0.25 et 0.125mg/ml.

II. Résultats et discussion

Dans cette partie nous allons exposer l'ensemble des résultats obtenus dans le cadre du présent travail. L'objectif que nous nous sommes fixés est d'explorer le rôle protecteur des extraits du romarin à l'égard de la glucotoxicité et du stress oxydatif. Ainsi, nous allons commencer par présenter les résultats de la glucotoxicité, ils seront suivis de ceux de la toxicité des extraits du romarin, puis de ceux de l'effet protecteur de ces extraits sur la toxicité du glucose, pour finir avec l'effet protecteur à l'égard du H₂O₂.

II.1.Effet du glucose sur les cellules spermatiques

Il a été démontré par des études notamment par celle de **Benhamou (1991) et Simmons (2003)**, que le glucose exerce un effet toxique sur les tissus cibles et est à l'origine de formation de radicaux libres par différents mécanismes. Dans la présente étude nous avons testé cet effet toxique sur les spermatozoïdes bovins. A notre connaissance, c'est la première fois que l'effet glucotoxique est exploré sur la cellule spermatique. Cependant il est tout à fait admis que les diabétiques présentent de nombreux troubles liés à la fonction de reproduction **Agbaje (2007)**.

II.1.1.Effet sur la mobilité totale

Le paramètre de mobilité représenté ci-dessous considère le pourcentage de spermatozoïdes qui sont mobiles indépendamment de leur qualité de mobilité. Il suffit qu'un spermatozoïde bouge dans le champ d'analyse pour être comptabilisé comme mobile. Sur la figure N° 9, nous avons représenté l'effet de différentes concentrations de glucose sur la mobilité des spermatozoïdes et ceci durant 72 heures.

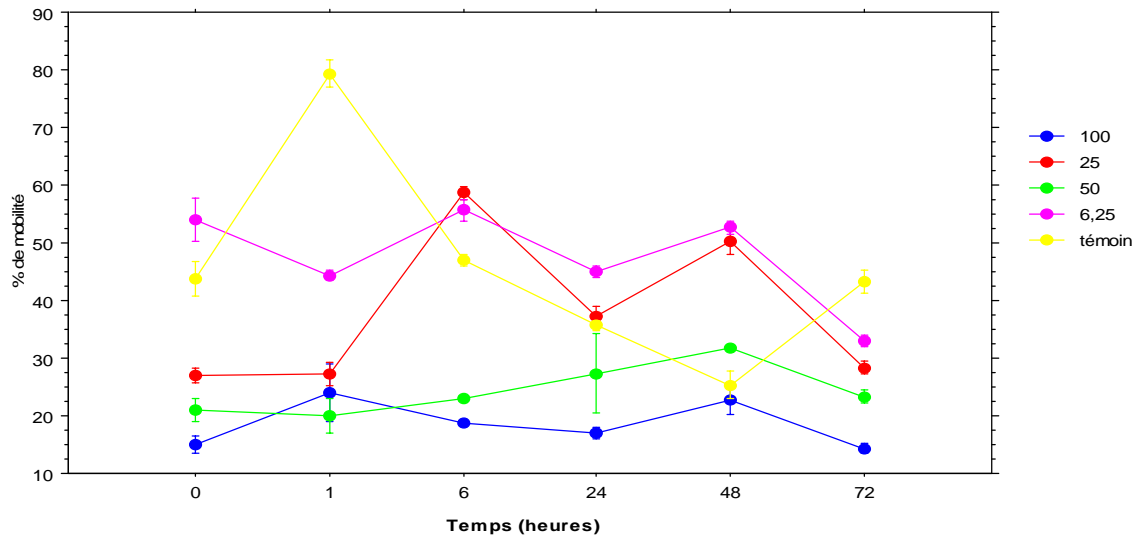


Figure 9 : courbes représentant l'effet de différentes concentrations de glucose sur la mobilité spermatique par rapport au témoin sans glucose.

Nous constatons qu'en fonction du temps, le pourcentage de mobilité spermatique dans les échantillons traités par des concentrations élevées de glucose de (50 et 100) mg/ml est significativement diminué par rapport aux échantillons traités par des concentrations plus faibles (6.25 et 25) mg/ml et par rapport au témoin.

Malgré que le glucose soit une source d'énergie pour la survie et la mobilité des spermatozoïdes, à de fortes concentrations il devient toxique et entraîne une altération de la qualité de mobilité. Les effets positifs sont plutôt observés aux concentrations de 6.25 et 25 mg/ml.

II.1.2. Effet sur la vitesse progressive (VSL) des gamètes

La figure N°10 illustre les variations de la vitesse progressive (VSL) des spermatozoïdes en fonction du temps dans les différents échantillons traités par le glucose. La VSL est un paramètre qui mesure la qualité de mouvements des spermatozoïdes, à la différence du pourcentage de mobilité (figure 9), elle donne une information sur l'aptitude des gamètes à parcourir une plus grande distance par unité de temps. Et là aussi, de la même que pour le pourcentage de mobilité mais de manière encore plus explicite, l'effet toxique du glucose est mis en évidence et ceci même à T0. D'ailleurs les vitesses restent inférieures par rapport à l'échantillon qui contient uniquement des spermatozoïdes sans glucose (SPZMSG), à

l'exception du T48h. Les plus faibles vitesses sont observées aux concentrations de 50 et 100 mg/ml, et ces deux dernières pourraient donc être considérées comme franchement glucotoxiques.

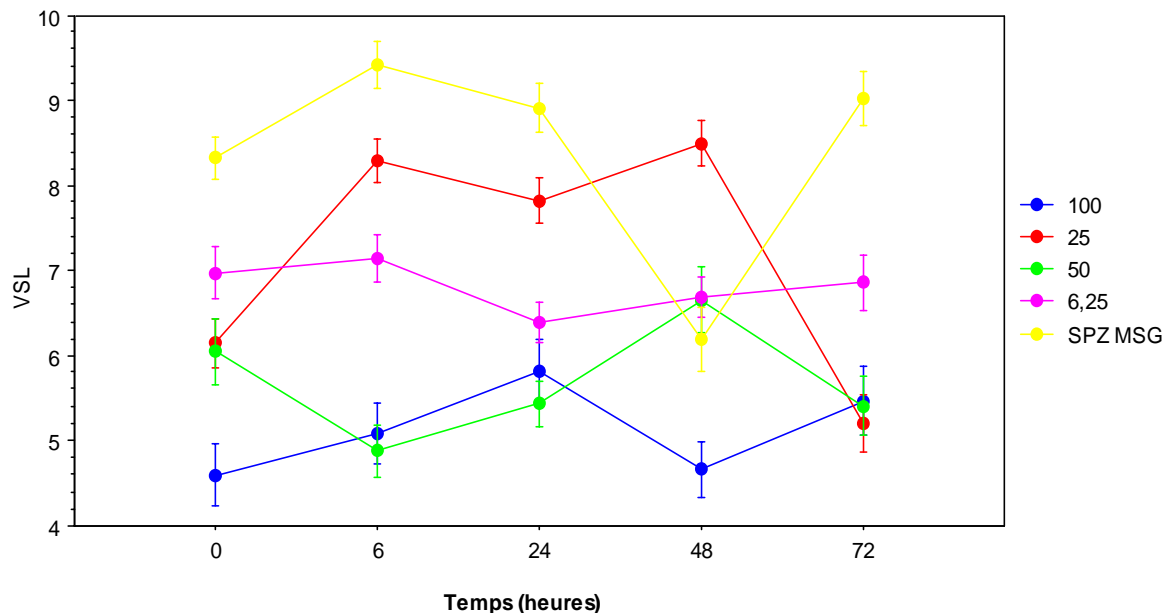


Figure10: courbes représentant l'effet de différentes concentrations de glucose sur la VSL des spermatozoïdes par rapport au témoin sans glucose (SPZMSG)

II.2.Effet des polyphénols de *Rosmarinus officinalis* sur les spermatozoïdes

Une fois les doses toxiques du glucose déterminées, nous sommes fixés comme objectif de déterminer les doses toxiques des extraits du romarin. Plusieurs études ont été réalisées notamment celles de **Aitken et Baker, (2004)** et **Gomez et al, (1998)** où les spermatozoïdes sont utilisés comme modèle cellulaire pour tester la cytotoxicité.

L'objectif de cette expérimentation est double, d'abord déterminer les doses toxiques à écarter mais aussi déterminer celles qui présentent un effet protecteur à l'égard du spermatozoïde pour les utiliser contre la glucotoxicité.

II.2.1. Effet sur la mobilité totale

Sur la figure N°11 nous pouvons voir que la mobilité spermatique reste élevée dans l'échantillon témoin notamment avant 48 heures. A T0 nous constatons déjà une différence

entre les différents traitements, mais la concentration où la mobilité semble être le moins affectée est celle de 1.25 mg/ml. La concentration de 10 mg/ml est celle qui affecte le plus le pourcentage de mobilité des gamètes.

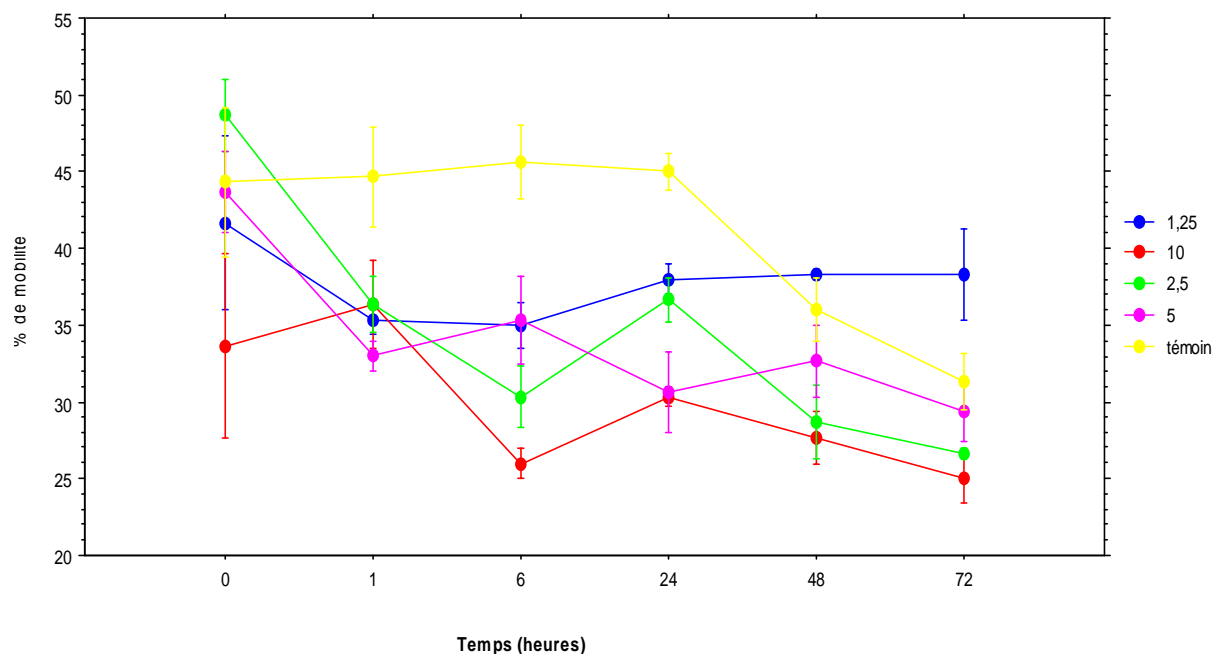


Figure11 : Courbes représentant l'effet des différentes concentrations en extraits de romarin sur le pourcentage de mobilité spermatique par rapport au témoin sans extraits.

II.2.2. Effet sur la vitesse progressive (VSL)

La figure N°12 montre l'effet des extraits de *R. officinalis* sur la vitesse progressive (VSL) des spermatozoïdes. Là aussi de la même manière que pour la mobilité, les fortes concentrations affectent le plus la vitesse de progression des gamètes. Cependant à la différence du pourcentage de mobilité c'est plutôt la concentration de 2.5 mg/ml qui semble le plus donner des vitesses plus importantes. Sur la base de ces résultats, nous avons décidé de choisir des concentrations inférieures à 2.5 mg/ml pour tester l'effet protecteur contre la glucotoxicité et que nous développerons ci-dessous.

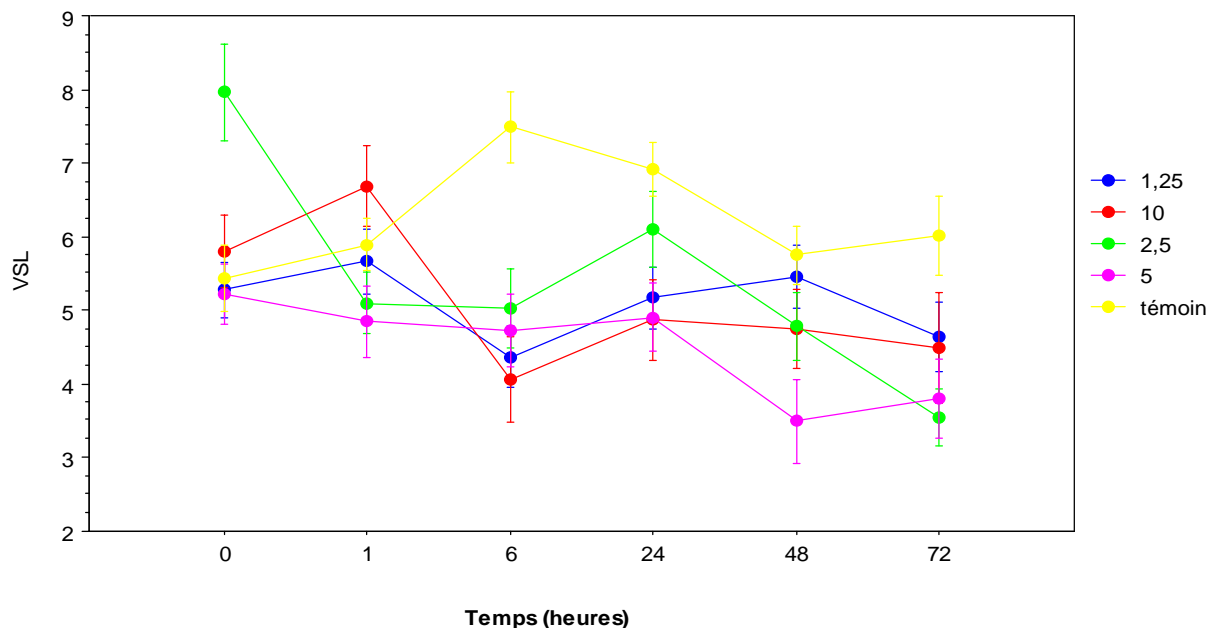


Figure 12: Courbes représentant l'effet des différentes concentrations en extraits de romarin sur la VSL par rapport au témoin sans extraits.

II.3.Effet des polyphénols de *Rosmarinus officinalis* sur la glucotoxicité

Selon **Richheiner et al, (1996)**, les polyphénols de *Rosmarinus officinalis* ont un pouvoir antioxydant avéré et ont été utilisés contre divers pathologies, c'est pour cela que nous avons utilisé des extraits préparés au laboratoire pour étudier leur potentiel protecteur à l'égard de la glucotoxicité.

II.3.1. Effet sur la mobilité totale et la VSL

La figure N°13 montre l'effet des extraits de *R. officinalis* sur la mobilité spermatique en présence d'une concentration glucotoxique de 50 mg/ml (Fig 9 et 10). Seul l'échantillon SPTZ + MSG (témoin négatif) ne contient pas cette dose toxique de glucose. D'ailleurs cet échantillon reste parmi ceux qui présentent une meilleure mobilité, signifiant une absence d'effet toxique du glucose et seule la concentration de 0.125 mg/ml est supérieure à ce témoin. Dans cette dernière concentration (0.125 mg/ml) l'effet protecteur à l'égard de la glucotoxicité s'est aussi pleinement exprimé. En effet, cet échantillon contient une concentration de 50mg/ml de glucose, supposée exercer un effet cytotoxique mais qui ne s'exprime pas alors qu'il est clairement présent dans le témoin positif (SPTZ + MG). Ceci est d'ailleurs complètement similaire à ce qui est observé sur la VSL (figure 14).

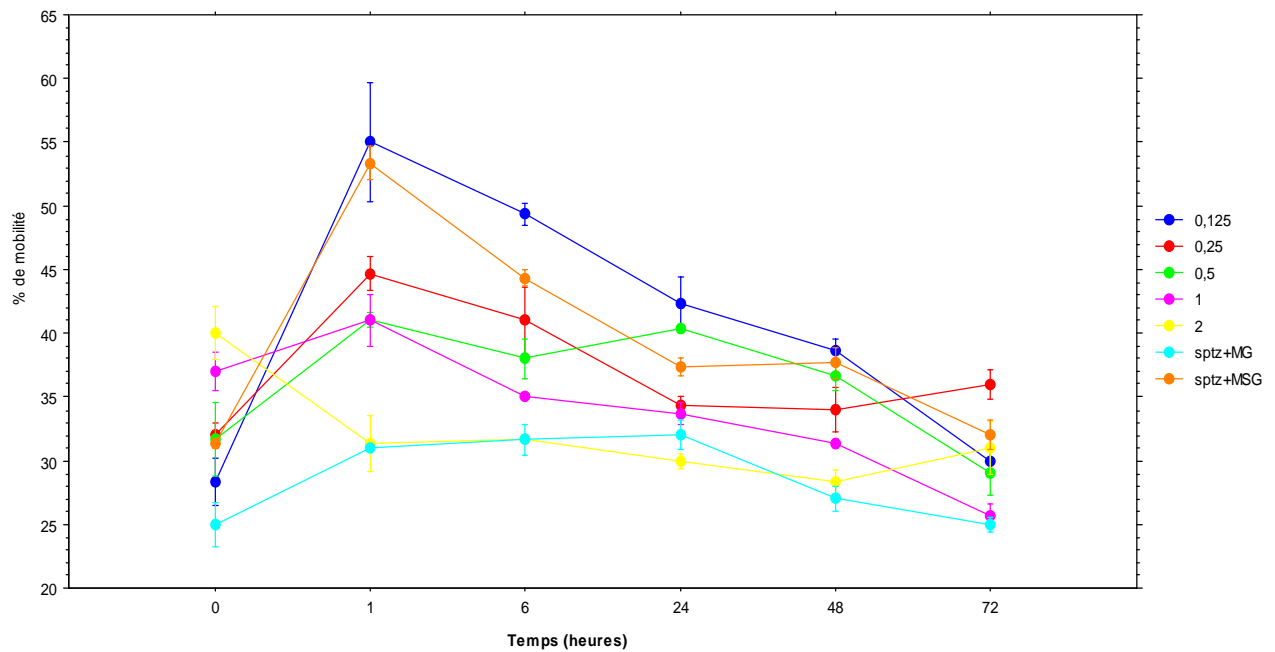


Figure 13 : courbes représentant le pourcentage de mobilité spermatique en présence d’extraits du romarin et du glucose à 50mg/ml. SPTZ+MG est un témoin positif (avec glucose sans extraits) et SPTZ+MSG est un témoin négatif (sans glucose et sans extraits).

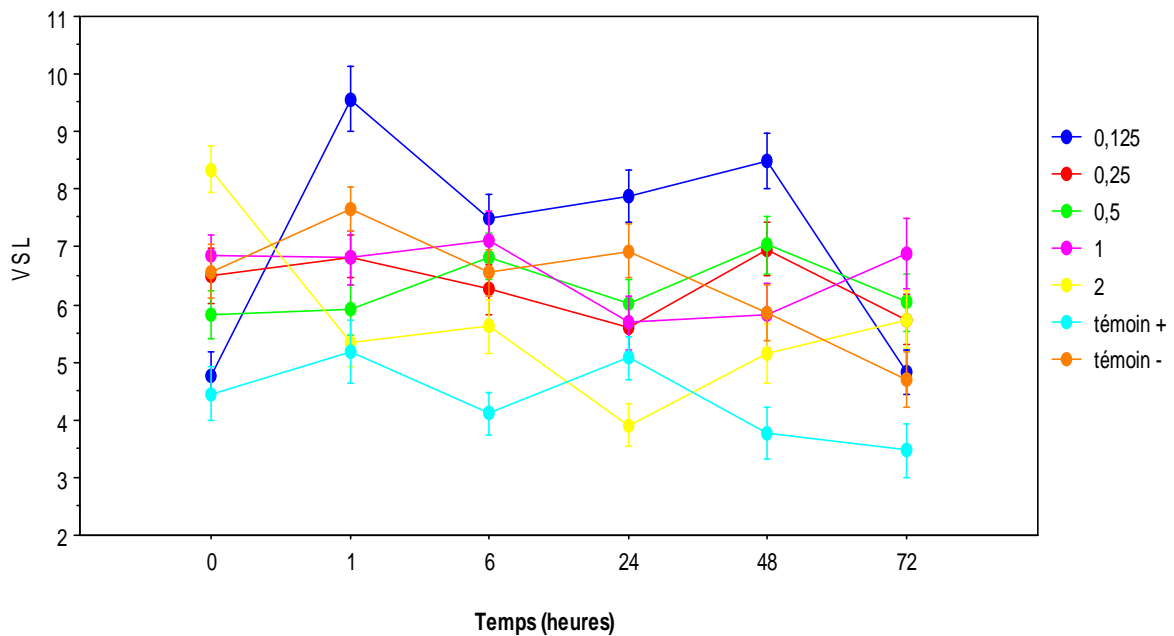


Figure 14 : courbes représentant la VSL spermatique en présence d’extraits du romarin et du glucose à 50mg/ml. SPTZ+MG est un témoin positif (avec glucose sans extraits) et SPTZ+MSG est un témoin négatif (sans glucose et sans extraits).

II.4.Effet protecteur des polyphénols de *Rosmarinus officinalis* sur la toxicité de H₂O₂

Les dérivés actifs de l'oxygène ont des effets néfastes sur les spermatozoïdes, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) particulièrement provoque un arrêt total de la mobilité dû à un épuisement de l'ATP intracellulaire comme déjà démontré par les études d'Aitken *et al*, (1993).

Dans notre travail nous avons fixé comme objectif de tester l'aptitude des extraits du romarin à contrecarrer cet effet négatif du H₂O₂ et par la même démontrer leur intérêt dans la lutte contre le stress oxydatif généré chez les diabétiques.

II.4.1. Effet sur la mobilité totale

Les variations de la mobilité spermatique des échantillons traités par une concentration de 100µM de H₂O₂ en présence de concentrations d'extraits du romarin allant de 0.125 à 1mg/ml sont présentées sur la figure N° 15. Nous pouvons observer clairement que la concentration de 1 mg/ml permet de contrecarrer efficacement l'effet délétère du H₂O₂, suivi par la concentration de 0.5. Ceci témoigne du potentiel antioxydant intrinsèque contenu dans les extraits et qui seraient lié à leur richesse en polyphénols. Les doses de 0.125 et 0.25 semblent ne pas procurer une protection optimale et restent sensiblement proches du témoin positif, qui contient du H₂O₂ sans extraits.

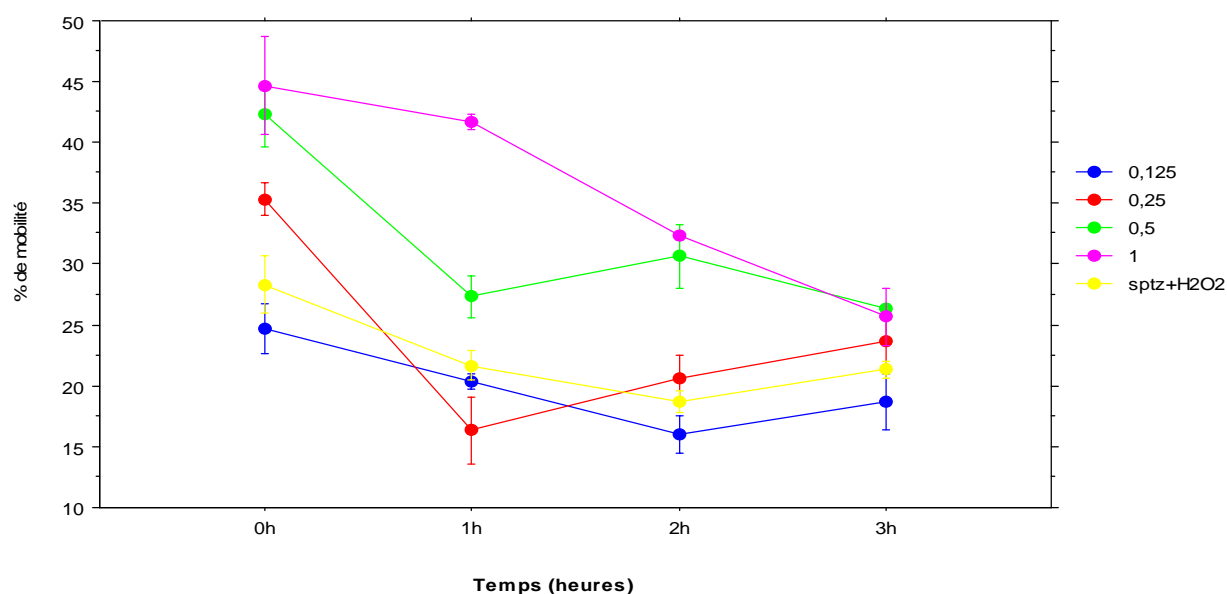


Figure15 : courbe représentant les différents pourcentages de mobilité des spermatozoïdes en testant l'effet protecteur des polyphénols de *R.officinalis* contre la toxicité d'H₂O₂

Conclusion et perspectives

Diverses études expérimentales suggèrent que les patients atteints du diabète présentent des problèmes de fertilité liés à plusieurs mécanismes tels que les troubles de la spermatogenèse, les changements hormonaux et le stress oxydatif provoqué par la présence en excès de certaines substances chimiques dans l'organisme.

Dans le présent travail, nous avons démontré malgré que le glucose sert d'un substrat énergétique très utilisé par toutes les cellules et particulièrement par la cellule spermatique, il reste toxique à des concentrations élevées. Cette glucotoxicité *in vitro* vis-à-vis des spermatozoïdes est probablement celle qui s'exprime *in vivo* avec des répercussions sur la fertilité.

Les extraits de romarin ont eux aussi exprimé des effets cytotoxiques à des concentrations élevées. Cependant, des concentrations faibles semblent plutôt protéger les cellules spermatiques. Nous avons également remarqué que ces faibles concentrations permettent de contrecarrer les effets glucotoxiques et de préserver la cellule spermatique.

De même, ces extraits ont montré un puissant effet antioxydant en inhibant l'action du H₂O₂ sur les spermatozoïdes. Ceci met en évidence l'utilité du romarin dans la lutte contre les processus oxydatifs, y compris celui contre les spermatozoïdes, extrêmement présents chez les diabétiques.

L'ensemble des résultats semblent ainsi montrer le potentiel intrinsèque du romarin dans l'apport qu'il pourrait apporter dans la prise en charge des diabétiques contre les complications liées à l'hyperglycémie chronique, plus particulièrement celles liées à la fertilité. Cependant, d'autres travaux se profilent à l'horizon notamment la détermination des molécules responsables et leur expérimentation sur des modèles animaux.

Références bibliographiques

A

AGBAJE, I.M., ROJERS, D.A., MC VICAR, C.M., MC CLURE, N., ATKINSON, A.B., MALLIDUS, C., LEWIS, S.E. (2007). Insulin dependant diabetes mellitus : implications for male reproductive fonction. Hum Reprod ; 22(7) : 1871-1877.

AITKEN, R.J., and BAKER, M.A. (2004). Oxidative stress and male reproductive biology. Roprod Fertil Dev ; 16(5) : 581-8.

AITKEN, R.J., BUCKINGHAM, D., HARKISS. (1993). Use of a free radical generating system to invistigate the toxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa, J Repro Fertil ; 97 : 451-62.

AKBAR, DH., AHMED, MM., AL-MUGHALES, J. (2006). Thyroïd dysfonction and thyroïd autoimmunity in saudi type 2 diabetes. Acta diabetol ; 43 (1) : 14-18.

ALBERT, Y., LEUNG., STEVEN FOSTER. (1996). Encyclopedia of comman natural ingradients used in foods, drugs and cosmetics. 2^{ème} édition, awrley-interscience publication ; P 445.

ANDERSON, K., NISENBLAT, V., NORMAN, R. (2010). Lifestyle factors in people seeking infertility treatment- A review. Aust NZJ obstet gynaecol ; 50 (1) : 8-20.

ARAMAL, S., MORENO, A.J., SANTOS, M.S., SEICA, R., RAMALHO-SANTOS, J. (2006). Effects of hyperglycemia on sperm and testicular cells og Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated rat models for diabetes. Theriogenology ; 66 : 2056-2067.

ATHANASIOS, F.M., MITSUHIR, K., CHERYL, D., MAREK, L.E., DIANE, T.F., LEAH, E. (2005). Quantifying macrophage defects in type 1 diabetes. Journal of theoretical biology. Vol 233 :533-551.

B

BARRETT-CONNOR, E., KHAW, K.T., YENSS. (1990). Endogenous sex hormone levels in older adult men with diabetes mellitus. *Am J epidemiol* ; 132 : 895-901.

BENHAMOU, P.Y. (1991). Biochimie des complications vasculaires du diabète. Synthèse du 14^{ème} congrès de l'IDF, Washington DCC.

BENISTON, B. (1982). Fleurs d'Algérie- E.N.A. 2P 47.

BENKIKI, N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *matricaria pubescens* et *hypericum perforatum*. Thèse de doctorat de l'université hajlakhder de batna.

BERTHOD, A., BILLARDELLO, B., et GEOFFROY, S. (1999). Poluphenols in countercurrent chromatography. An exemple of large scale separation. *Analisis. EDP sciences, Wiley-VCH* ; 27 : 750-757.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Met Care* ; 5 : 561-68.

BROWNLEE, M. (2005). The pathology of diabetic complications : A unifying mechanism. *Diabetes* ; 54(6) : 1615-25.

BRUN, J.M. (1997). Dyslipoproteinnémies et diabète sucré. *STV* ; 9 : 31-8.

BUYSSCHAERT, M. (2006). Diabétologie clinique. 3^{ème} édition. S.L : Deboeck ; pp-33-34.

Ƨ

CHANDEL, A., DHINDSA, S., TOPIWALA, S., et al. (2008). Testosterone concentration in young patients with diabetes. *Diabetes care* ; 31 : 2013-7.

CULVIER, M., et al. (1996). Sage and rosmaroy phenolic antioxidants, *JAOCS* ; vol (73) : n°5.

Ƨ

DHINDSA, S., PRABHAKAR, S., SETHI, M., et al. (2004). Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes. *J clin endocrinol metab* ; 89 : 5426-8.

DONATH, M.Y., EHSES, A.J. (2006). Type 1, type 1-5, and type 2 diabetes : NOD the diabetes we thought it was. Proc Natl Acad Sci USA. Vol 103 : 12217-12218.

DWECK, A.C. (2002). Herbal medicine for the skin. Their chemistry and effects on skin and mucous membranes. Personal care magazine ; 3(2) : 19-21.

E

EVANS, J.L., GOLDFINE, I.D., MADDUX, B.A., and GRODSKY, G.M. (2003). Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta cell dysfunction ? Diabetes ; 52 : 1-8.

EVANS, J.L., MADDUX, B.A., and GOLDFINE, I.D. (2005). The molecular basis for oxidative stress induced insulin resistance. Antioxid. Redox signal ; 7 : 1040-1052.

F

FAVIER, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité chimique ; 108-115.

FOUCHE, J.G., MARQUET, A., et HAMBUECKERS, A. (2000). Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du monde des plantes Sart-Tilman.

G

GOMEZ, E.D.S., IRVINE and AITKEN, R.J. (1998). Evaluation of spectrophotometric assay for the measurement of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals in human spermatozoa relationships with semen quality and sperm function. Int J Androl ; 21(2) : 81-94.

GRIMALDI, A., HEURTIER, A. (1999). Les critères de diagnostic du diabète de type 2. Rev. Prat ; 49 : 16-21.

H

HADI, M. (2004). La quercitrine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; Etude et application thérapeutique. Thèse présentée en vue de

l'obtention du grade de docteur en science de l'université Louis Pasteur, domaine : pharmacochimie. 155p.

HANSEN, L.L., IKEDA, Y., OLSEN, G.S., BUSCH, A.K., MOSTHAF, L. (1999). Insulin signaling inhibited by micromolar concentration of H₂O₂. Evidence for a role of H₂O₂ in tumor necrosis factor alpha- mediated insulin résistance J. Biol. Chem ; 274(35) : 25078-84.

J

IBANEZ, E., CIFUENTES, A., CREGO, A.L., SENORONS, F.J., CAVERO, S., et REGLERO, G. (2000). Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electrokinetic chromatography and reserve phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis*, L). Journal of agricultural and food chemistry ; 48(9) : 4060-4065.

IHARA, Y., TOYOKUNI, S., UCHIDA, K., ODAK, H., TANAKA, T., IKEDA, H., HIAI, H., SEINO, Y., YAMADA, Y. (1999). Hyperglycemia causes oxidativz stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2diabetes. Diabetes ; 48(4) : 927-32.

INATANI, R., NAKATANI, N., FUWA, H.H., and SETA, H. (1983). Structure of new antioxidants phenolic diterpens isolated from rosmary (*Rosmarinus officinalis*, L.), Agric Biol Chem ; 46 : p 1661.

L

JASURIYA, D.C. The regulation of medicinal plants- a preliminary review of selected aspects of national legislation. Unpublished report.

K

KARIN SCHWARZ and WALDEMAR TERNES. (1992). Isolation and formation of other phenolic diterpens, Z, Lebenson unter frsch, vol 195 : P 99.

KATHLEEN, G. (2006). Type 1 diabetes : pathogenesis and prevention. GMAJ. Vol 175 : 165-170.

KAWAHITO, S., KITAHATA, H., and OSCHITA, S. (2009). Problems associated with glucose toxicity. Role of hyperglycemia induced oxidative stress. *World J Gastroenterol* ; 15 : 4137-4142.

KRIPPEIT-DREWS, P., KRAMER, C., WILKER, S., LANG, F., AMMON, H.P., and DRAWS, G. (1999). Interference of H₂O₂ with stimulus-secretion coupling in mouse pancreatic beta-cells. *J physiol* ; 514(pt2) : 471-481.

KUSNIK, O., WEILL, A., RICARDEAU, P., et al. Diabète traité en France en 2007 : un taux de prévalence proche de 4% et des disparités géographiques croissantes. *BEH in VS* 12 nov 2008 ; 43 : 409-413.

L

LAWRENCE, B.M. (1995). Progress in essential oils : Rosemary oil, perfumer and flavorist, 20, Jan-Feb ; p 48.

LENZEN, S. (2008). Oxidative stress : the vulnerable beta-cell. *Biochem. Soc. Trans* ; 36 : 343-347.

LOWELL, B.B. and SHULMAN, G.I. (2005). Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* ; 307 : 384-387.

M

MARIEB, E.N. (1999). Anatomie et physiologie humaine 2^{ème} édition. Edition de Renouveau Pédagogique Inc. Ed. Saint-Laurent : the benjamin/ cummings publishing company, Inc.

MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C. (2000). The effects of plants flavonoids on mammalian cells : implication of inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev* ; 52 : 673-839.

MIDDLETON, P., STEWART, F., AL-QAHTAMI, S., EGAN, P., O'ROURKE, C., ABDULRAHMAN, A. et al. (2005). Antioxydant, antibacterial activity and general toxicity of *alnus glutiosa*, *fraxinus excelsior* and *papaver rhoeas*. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 2, 81, 86.

MUZON OZCAN. (1999). Antioxydant activity of rosmary ; 50(50) : p 355.

N

NESTRO, A., GERMANO, M.P., D'ANGELO, V., MARINO, A., et CANNATELLI, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plants antimicrobial activity. *Lettres en microbiologie appliquée* ; 30(5) : p 379.

P

PEREZ, M.B., CALDERON, N.L. et CROCI, C.A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *food chemistry* ; 104 : 585-592.

PERLEMUTIER, L., COLLIN De L'HORTET, G., et SELAN, J.L. (2000). Diabète et maladies métaboliques. 3^{ème} édition, Paris : Masson.

PIOZZI, F.J. (1994). *Phytochemistry*, vol : 6, p146.

PONTONNIER, F., MANSAT, A., MIEUSSET, R., BUJAN, L. (1996). Infertilité masculine, *Encycl. Med. Chir. (Paris-France). Néphrologie-Urologie* ; 18-603-A20.

PSOTOVA, J., LAVOSKY, J. et VICAR, J. (2003). Metal-chelating proprieties, electrochemical Behavior, Scavenging and cytoprotective activity of six natural phenolics. *Biomed. Papers* ; 147(2) : 147-153.

R

REDDY, V.P., ZHU, X., PERRY, G. and SMITH, M.A. (2009). Oxidative stress in diabete and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's. Dis* ; 16 :763-774.

RICHEINER, S.L et al. (1996). Rosmary antioxidants, *JAACS* ; vol 73, n°4 : p 507.

ROGLIC, G., UNWIN, N. (2010). Mortality attributable to diabetes : estimates for the year 2010. *Diabetes Res. Clin. Pract* ; 87(1) : 15-9.

RUDICH, A., TIROSH, A., POTASHNIK, R., HEMI, R., KANETY, H., BASHAN, N. (1998). Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT 4 translocation in 3T 3-L1 adipocytes. *Diabetes* ; 47 (10) : 1562-9.

§

SCHNAUBELT, K. (1998). Advanced aromatherapy. Vermont : Healing Arts Press.

SIES, H. and CADENAS, E. (1985). Oxidative stress : damage to intact cells and organs. *Philos, Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci* ; 311 : 617-631.

SIMMONS, R.A ., TEMPLENT, L.J., and GERTZ, S. J. (2001). Intrauterine growth retardation leads to the development of type2 diabetes in the rat. *Diabètes* 50,2279-2286.

SOUZA, C.R.F., SCHIAVETTO, I.A., TOMAZINI, F.C.F., et OLIVIEIRA, W.P. (2008). Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal chemical engineering* ; 25(1) : 59-69.

§

TAMAR, R., DHINDS, S., CHAUDHURI, A. et al. (2006). Contrasting testosterone concentration in type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes care* ; 29 : 1120-2.

§

VUGUIN, P., REAB, E., LIU, B., BRAZILAI, N. and SIMMONS, R. (2004). Hepatic insulin resistance precedes the developement of diabetes in a model of intrauterin growth retardation. *Diabetes* ; 53 : 2617-2622.

W°

WANG, W., WU, N., ZU.Y.G., et FU, Y.J. (2008). Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry* ; 108(3) : 1019-1022.

WILD, S., ROGLIC, G., GREEB, A., et al. (2011). Global prevalence of diabetes : estimates for the year 2000 and projections of WHO consultation ; 25p.

24

YOSHIKAWA, T., YAMMATO, Y., NAITO, Y. (2000). Free radicals in chemistry. Biology and Medicine, Ed. Oica International, Londres.

Résumé

L'objectif principal de la présente étude est d'évaluer l'effet des extraits du *Rosmarinus officinalis* sur les cellules spermatiques soumises *in vitro* à une situation de glucotoxicité et parallèlement à l'action du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les paramètres de mobilité spermatique, mesurés d'une manière objective à l'aide d'un analyseur informatique, nous ont permis de mettre en évidence un effet cytotoxique des hautes concentrations en glucose mais aussi des hautes concentrations en extraits de romarin. Cependant, de faibles concentrations en romarin ont permis de lutter efficacement contre la glucotoxicité protégeant ainsi les spermatozoïdes. Ces mêmes concentrations, ont permis aussi de montrer un pouvoir antioxydant réel, qui s'est matérialisé dans la protection des cellules spermatiques contre l'action néfaste du H₂O₂.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, glucotoxicité, stress oxydatif, spermatozoïdes.

Abstract

The main objective of this study is to evaluate the effect of *Rosmarinus officinalis* extracts on sperm cells exposed *in vitro* to a situation of glucotoxicity and in parallel to the action of hydrogen peroxide (H₂O₂). The parameters of sperm motility, measured objectively by computer analyzer, demonstrated a cytotoxic effect of high glucose concentrations as well as the high concentrations rosemary extracts. However, low concentrations of rosemary have been effective against glucotoxicity, protecting thus the gametes. These concentrations have also demonstrated a real antioxidant power, which was materialized in the protection of sperm cells against the harmful effects of H₂O₂.

Keywords : *Rosmarinus officinalis*, glucotoxicity, oxidative stress, spermatozoa.