



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale.

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

**Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant d'un
extrait aqueux d'une plante médicinale sur des rats
rendus diabétiques par streptozotocine**

Présenté et soutenu par : AZIZI Imen

Le :27/06/2018

OUCHERIF baya hibat-allah

Jury d'évaluation :

Président du jury : ZAMA DjamilaPr- UFM Constantine1.

Rapporteur : BOULDADJ Redouane

MAA- UFM Constantine1.

Examineurs : MOURI Fouzia

MAA- UFM Constantine1.

IHOUEL Safia

MAA- UFM Constantine1.

Année universitaire

2017-2018

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr BOULDJEDJ Redouane, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur son soutien moral , sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire , ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Nos remerciement s'adresse à monsieur BAHRI Laidnotre co-encadreur pour son aide pratique et ses encouragements sa disponibilité et patience.

A notre professeur madame ZAMA Djamila: Permettez-nous de vous remercier Madame la présidente, pour ce grand honneur que vous nous faites, en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Nous tenons à vous adresser notre profonde reconnaissance pour les efforts que vous avez déployés durant notre cursus.

Nous avons été extrêmement sensibles à vos qualités humaines d'écoute et de compréhension. Pour cela, veuillez accepter nos remerciements les plus sincères.

Nous tenons également à remercier madame MOURI Fouzia pour son soutien , ses conseils avisés et ses remarques judicieuses durant ces années d'études ainsi. Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une aimabilité de siéger parmi notre jury de mémoire.

Veuillez accepter ce mémoire, en gage de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.

Nous tenons également à remercier madame IHOUALSafia membre de jury pour l'honneur qu'elle nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance.

Nos remerciement s'adresse également à tout nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles, en particulier monsieur LAALAOUI.

Vifs remerciement

Dedicace

*En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail
Je dédie ce mémoire à :*

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A mes chères et adorables sœurs Sara , Racha en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous

A mon chers frère Med Islem, qui est toujours été présent pour les bons conseils

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : ma tante Amel

A toute ma famille Azizi pour tout l'amour qu'ils m'apportent.

*A mon binôme et mon amie Baya hibat-allah
Une dédicace spéciale à Fatima et Hassiba pour leur aide et leur soutien au cours du travail pratique
A toutes mes amis Ibtisem et Kaouther.*

A tous mes professeurs leur générosité et leur soutien m'oblige de leur témoigner mon profond respect et ma loyale considération

A toute ma promotion de Master 2 Toxicologie et santé

Enfin, que tous ceux qui ont contribués, de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma

*profonde gratitude. Et Merci à tous ceux que j'ai oublié, qu'ils m'en
excusent....*

AZIZI

IMEN

DÉDICACES:

A mon très cher père : OUCHERIF Abdelaziz

Tu as dépensé toute ta vie pour assurer une éducation exemplaire
à tes enfants.

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A ma très chère mère: AIT RAHMANE razika

Mon refuge permanent dans mes moments d'angoisse devant
l'adversité.

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon très cher frère SMAIL, son épouse DJAMILA

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer
l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.
Mon ange gardien et mon fidèle compagnant dans les moments les plus délicats de cette vie
mystérieuse.
Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma très très chère sœur MERIEM

Plus qu'une sœur, tu es mon amie, ma confidente, ma complice qui m'a toujours aidé et
encouragé, qui était toujours à mes côtés.
Ce témoignage de mon affection est bien peu de choses au regard de tout ce que je te dois.
Toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

A MA TRÈS CHÈRE TANTE AIT RAHMOUNE FARIDA, SON MARI Ami ALI ET SES ENFANTS

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et
j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.
Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables
sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder
santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A MON CHER ONCLE SLIMENE ET SA FEMME ET SES ENFANTS

Mon conseiller, et ami fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement
par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles....

Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité, ton aide précieuse.

A la mémoire de mon grand père paternel et maternelle

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A mes chères grands-mères

Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières.

Qu'Allah vous préserve santé.

A ma très chère amie SELMA CHAMEKH

de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous remercie de tout mon cœur et je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et d'amour et que Dieu le tout puissant, vous protège et vous garde.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être
Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amour et le respect qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A toute ma promotion de Master 2 Toxicologie et santé, mes aimables amis, collègues, frères et sœurs du cœur en particulier mon amie et ma sœur SA RA, mon binôme et mon amie IMEN et mes chères FATIMA et HASSIBA je vous dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

A tous mes professeurs leur générosité et leur soutien m'oblige de leur témoigner mon profond respect et ma loyale considération et spécialement a monsieur BOULDJEDJ REDOUANE.

Enfin je le dédie à tous mes amis et mes collègues que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent.

baya hibat-allah

SOMMAIRE

Page

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION.....	1
SECTION I : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE	
I. LE STRESS OXYDANT.....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Les principaux radicaux libres.....	4
I.2.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$	4
I.2.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	4
I.2.3. Le radical hydroxyle OH^{\cdot}	5
I.2.4. L'oxygène singlet 1O_2	5
I.2.5. D'autres espèces des radicaux libres.....	5
I.2.5.1. Le monoxyde nitrique NO^{\cdot}	6
I.2.5.2. Le nitrique dioxyde NO_2	6
I.3. Sources des espèces réactives oxygénées ROS.....	6
I.3.1. Sources endogènes.....	7
I.3.2. Sources exogènes.....	8
I.4. Les cibles biologiques des ROS.....	8
I.4.1. Les acides nucléiques.....	8
I.4.2. Les lipides.....	9
I.4.3. Les protéines.....	10
I.5. Les systèmes de défenses antioxydants.....	11
I.5.1. Les systèmes de défense enzymatiques.....	12
I.5.1.1. Les superoxyde dismutases (SOD).....	12
I.5.1.2. La catalase.....	12
I.5.1.3. Les glutathion peroxydases (GPxs).....	12

I.5.1.4. Le système thiorédoxine TRX.....	13
I.5.2. Les systèmes de défense non enzymatiques.....	13
I.5.2.1. Le glutathion.....	14
I.5.2.2. La vitamine C.....	14
I.5.2.3. La vitamine E.....	14
I.5.2.4. Les caroténoïdes.....	14
I.5.2.5. Les polyphénols.....	15
I.5.2.6. Les flavonoïdes.....	15
I.5.2.7. Les oligoéléments.....	15
A. Le sélénium.....	15
B. Le cuivre.....	15
C. Le zinc.....	16
II. LE DIABETE SUCRE.....	16
II.1. Définition et les principaux types de diabète.....	16
II.1.1. Définition.....	16
II.1.2. Les principaux types de diabète.....	16
II.1.2.1. Le diabète de type 1.....	16
II.1.2.1.1. Physiopathologie du DT1.....	17
A. Facteurs génétiques.....	17
B. Facteurs environnementaux.....	18
II.1.2.2. Le diabète types 2.....	19
II.1.2.2.1. Physiopathologie du DT2.....	19
A. Résistance à l'insuline.....	19
B. Déficit insulino-sécrétoire.....	20
C. Facteurs génétiques.....	21
D. Facteurs environnementaux.....	21
II.1.2.3. Le diabète gestationnel.....	21
II.2. Complications liées au diabète.....	22
II.2.1. Complications aiguës.....	22
II.2.2. Complication chronique.....	22
II.2.2.1. La macro angiopathie.....	22

II.2.2.2. la micro angiopathie.....	22
III. LE MECANISME DE L'AUGMENTATION DU STRESS OXYDANT DANS LE DIABETE.....	23
III.1. Les sources des radicaux libres aux cours des états d'hyperglycémie.....	23
III.1.1. L'augmentation du flux de la voie des polyols.....	23
III.1.2. L'activation de la protéine kinase C(PKC).....	25
III.1.3. Voie des hexasamines.....	25
III.1.4. La production de produits terminaux de glycation (AGE).....	26
III.1.5. L'augmentation de la production des radicaux libres par la mitochondrie.....	27
III.2. Altération des défenses antioxydantes au cours du diabète.....	28
III.3. Apport des thérapeutiques antioxydants dans le traitement du diabète.....	28
VI. PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE.....	30
VI.1. Historique de la phytothérapie.....	30
VI.2. Les principes actifs.....	31
VI.3. Précautions d'emploi.....	32
VI.4. Apports de la phytothérapie dans le traitement du diabète.....	32
VI.5. Utilisation des plantes médicinales en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète en Algérie.....	33
SECTION II : MATERIELS ET METHODE	36
I.MATERIELS.....	36
I.1. Matériel animal (Entretien des animaux).....	36
I.2. Matériel végétal (Récolte de la plante).....	36
I.3. Matériel chimique et appareils.....	37
I.3.1. Réactifs.....	37
I.3.2.Appareils.....	37
II.METHODES	37
II.1. Méthodes d'extraction -Préparation de l'extrait aqueux infusé.....	37
II.2. Méthodes de l'étude de l'activité antidiabétique et antioxydante de l'extrait aqueux de la plante.....	39
II.2.1. Induction du diabète.....	39
II.2.2. Traitement des animaux.....	39

II.2.3. Prélèvement sanguin et mesure des paramètres physiologiques.....	40
II.2.4. sacrifice des animaux, récupération des organes et préparation de la fraction cytosolique de tissus 10%.....	40
II.3. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang.....	40
II.3.1. Dosage du glucose.....	40
II.3.2. Principe.....	41
II.4. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant.....	41
II.4.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique du foie et des reins.....	41
II.4.1.1.Principe.....	41
II.4.1.2. Méthode de dosage.....	41
II.4.2. Dosage du glutathion réduit rénal.....	42
II.4.2.1. Principe.....	42
II.4.2.2. Méthode de dosage.....	43
II.4.3. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique.....	43
II.4.3.1. Principe.....	43
II.4.3.2. Méthode de dosage.....	43
II.4.4. Dosage de l'activité de la SOD cytosolique.....	43
II.4.4.1. Principe.....	43
II.4.4.2. Méthode de dosage.....	43
II.4.5. Dosage de glutathion peroxydase (GPx).....	44
II.4.5.1. Principe.....	44
II.4.5.2. Méthode de dosage.....	44
II.4.6. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST).....	45
II.4.6.1. Principe.....	45
II.4.6.2. Méthode de dosage.....	45
III. EVALUATION STATISTIQUE.....	45
SECTION III : RESULTATS	
I. L'influence de l'administration de l' sur le changement du poids corporel.....	46
II. Effet de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la Glycémie.....	47
III. Effet de l'extrait aqueux de la plante sur le taux hépatique et rénal en MDA et en GSH.....	48

III.1. Variation des concentrations en molonydialdéhyde (MDA).....	48
III.2. Variation des taux hépatique et rénal en glutathion réduit GSH.....	49
VI. Effet de l'extrait aqueux de la plante sur l'activité des enzymes antioxydante..	50
VI.1. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique et rénale.....	50
VI.2. Activité de la catalase (CAT) hépatique et rénale.....	51
VI.3. Activité de la Glutathion peroxydase (GPx) hépatique et rénale.....	52
VI.4. Activité de la Glutathion-S-Transferase (GST) hépatique et rénal.....	53
SECTION VI : DISCUSSION	54
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	63
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	64

Liste des abréviations

% : Pourcentage

¹O₂ : Oxygène singlet

8-OH-dG : 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

AGEs : Advanced glycation end products

ATP : Adénosine triphosphate

C° : Degré celsius

CAT : Catalase

CD4 : Cluster of differentiation 4

CD8 : Cluster of differentiation 8

CD4 : Cluster of differentiation 4

CD8 : Cluster of differentiation 8

CDNB : 1-Chloro2,4-dinitrobenzène

DAG : Diacylglycérol

DHAP : Dihydroxyacétone phosphate

DT1 : Diabète type 1

DT2 : Diabète type 2

DTNB : 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque

FADH₂ : Dihydroflavine -adine dinucleotide

Fe⁺² : Oxyde ferreux

Fe⁺³ : Oxyde ferrique

G-6-P : Glucose-6-phosphate

G-6-PDH : Glucose-6-phosphate déshydrogénase

GAPDH : Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase.

GD : Diabète gestationnel

GFAT : Glutamine fructose-6-phosphate amidotransférase

GLUT2 : Transporteur de glucose

GLUT4 : Transporteur de glucose 4

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion Disulfure

GST : Glutathion-S-Transférase

H : Hydrogène

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HClO : Acide hypochloreux

HClO : Hypochloreux

HK : Hexokinase

HLA : Antigènes des leucocytes humains

ID : Insulino Dépendant

IR : Insulinorésistante

LDL : Lipoprotéines de densité légère

LDL : Low density lipoprotein

MDA : Molonyldialdéhyde

MnSOD : Mitochondrial antioxidant manganese superoxide dismutase

MPUP : Matières premières à usage pharmaceutique

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NADH,H⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphateréduit.

NADPH : Nicotinamide adénosine- dinucléotide phosphate

NO[•] : Monoxyde d'azote

NO₂ : Nitrique dioxyde

NO₂[•] : Dioxyde d'azote

O₂ : Oxygène

O₂⁻ : Anion superoxyde

[•]OH : Radical hydroxyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONAB : Office National des Animaux du Bétail

ONOO- : Peroxynitrite

PGE₂ : Prostaglandine E₂

PKC : Protéine kinase C

PK : Protéines kinases

PLA₂ : Phospholipase A₂

Protéine-S₂ : Protéine- sélénocystéine 2

PUFA: Polyunsaturated fatty acid

RAGE : Receptor for advanced glycation endproducts.

RL : Radicaux libres

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SH : Sulfhydryle

SOD : Superoxyde dismutase

STZ : Streptozotocin

TBA : Acide Thiobarbiturique

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Trichloroacide Acétique

TEP : 1,1,3,3-Tetraetoxypropane

TNB : Thionitrobenzoïque

Trx : Thiorédoxine

TrxR : Thiorédoxine réductase

UCP : une protéine découplante

UDP-GlcNac : Uridine DiPhosphate-N-acétylglucosamine

UV : Ultra-violet

µg/ml : Microgramme par millilitre

Liste des figures

Page

Figure 1: Stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxyant et système antioxydant.....	3
Figure 2: Origine et réponse cellulaire aux ROS.....	6
Figure 3 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	9
Figure 4: Relations entre hyperglycémie et stress oxydant	23
Figure 5: Voie des polyols et stress oxydant.....	24
Figure 6 : production de l'anion superoxyde par la mitochondrie suite à l'hyperglycémie	28
Figure 7 : Préparation de l'extrait aqueux de la plante.....	38
Figure 8 : Formule chimique du Glutathion réduit	42
Figure 9 : Réaction d'Ellman.....	42
Figure 10: L'influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur le poids corporel. (400 mg / kg pendant 28 jours).....	46
Figure 11: Influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la glycémie des différents groupes de rats (400 mg/kg pendant 28 jours).....	47
Figure 12: Influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la concentration hépatique et rénale en MDA. (400 mg / kg pendant 28 jours).....	48
Figure 13: Influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la concentration hépatique et rénale en GSH. (400 mg / kg pendant 28 jours).....	49
Figure 14: Effet de l'extrait aqueux de la plante sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD). (400 mg / kg pendant 28 jours).....	50
Figure 15: Effet de l'extrait aqueux de la plante sur l'activité de la catalase (CAT). (400 mg / kg pendant 28 jours).....	51
Figure 16: Effet de l'extrait aqueux de la plante sur l'activité de la Glutathion peroxydase (GPx). (400 mg / kg pendant 28 jours).....	52
Figure 17: Effet de l'extrait aqueux de la plante sur l'activité de la Glutathion-S-Transferase (GST). (400 mg / kg pendant 28 jours).....	53

Liste des tableaux

Page

Tableau 1(a) : Quelques plantes hypoglycémiantes utilisées en Algérie et leurs mécanismes d'action..... 34

Tableau 1(b):Quelques plantes hypoglycémiantes utilisées en Algérie et leurs mécanismes d'action..... 35

Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant d'un extrait aqueux d'une plante médicinale sur des rats rendus diabétiques par streptozotocine

Résumé:

Au cours du diabète, le stress oxydant est fréquent, prononcé et représente un facteur important en cause dans la genèse des macro et microangiopathies du diabète. L'équilibre glycémique joue un rôle très important dans cette balance. Une supplémentation par des antioxydants tels que la vitamine C et E a été proposée comme traitement complémentaire. De nombreuses études, cliniques et expérimentales, ont confirmé l'activité antioxydante de plusieurs extraits de plantes médicinales et de leurs métabolites secondaires ainsi que leurs capacités de prévenir les effets toxiques des radicaux libres lors du diabète.

L'objectif de cette étude était d'évaluer le possible effet hypoglycémiant et antioxydant d'un extrait aqueux d'une plante médicinale (400 mg/kg pendant 28 jours) chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine (60mg/kg). Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une élévation des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Cependant, l'administration orale de l'extrait aqueux de la plante pendant 28 jours à une dose journalière de 400 mg/kg a provoqué une nette diminution de la concentration sérique du glucose (50,47%) chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. D'autre part, l'extrait aqueux a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (foie et reins). En effet, la diminution de la concentration du malonyldialdéhyde (MDA) de 25,84 % et de 70,13 %, l'accroissement du taux du glutathion réduit (GSH) de 27,08 % et de 29,62 %, l'augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) de 42,13 % et de 32,78 % et de l'activité de la catalase (CAT) de 68,18 % et de 21,32 % de l'activité la Glutathion peroxydase (GPx) de 22,19% et de 19,90 % et l'activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) de 140 % et de 60 % respectivement dans le foie et les reins chez les rats diabétiques traités montrent que l'extrait aqueux de la plante possède une haute activité antioxydante.

En conclusion, la présente étude suggère que l'extrait aqueux de la plante a un effet bénéfique sur le contrôle de diabète par diminution de la glycémie et du stress oxydant, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique et rénale, ce qui permet de réduire le développement des complications associées au diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.

Mots clés: Diabète, Stress oxydant, Plante médicinale, Hypoglycémique, Antioxydant, Streptozotocine.

Antidiabetic and antioxidant effect of aqueous extract of a medicinal plant in streptozotocin induced diabetic rats

Abstract:

In the course of diabetes, oxidative stress is frequent, pronounced and represents an important factor in the genesis of the macro and microangiopathies of diabetes. Glycemic balance plays a very important role in this balance. Supplementation with antioxidants such as vitamin C and E has been proposed as a complementary treatment. Numerous clinical and experimental studies have confirmed the antioxidant activity of several medicinal plant extracts and their secondary metabolites as well as their ability to prevent the toxic effects of free radicals in diabetes.

The aim of this study was to investigate the possible hypoglycaemic and antioxidant effect of the lyophilised aqueous extract of a medicinal plant in normal and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Diabetes was induced by single intraperitoneal injection of streptozotocin (60 mg/kg) to male albino Wistar rats and 400 mg/kg body weight of the lyophilised aqueous extract of *a medicinal plant* were then administered orally to normal and experimental diabetic rats for 28 day. The results obtained in this study clearly show that STZ-induced animal diabetes characterized by hyperglycemia, elevated markers of oxidative stress and decreased antioxidant defense system of enzymatic and non-enzymatic. Oral administration of the lyophilised aqueous extract of a medicinal plant for 28 days at a daily dose of 400 mg / kg body weight resulted in a significant reduction in the level of serum glucose (50,47 %) in STZ-induced diabetic rats when compared with untreated diabetic rats. The aqueous extract also resulted in improved antioxidant status in the tissues studied (liver and kidneys). The decrease in the concentration of malondialdehyde (MDA) by 25,84 % and 70,13 %, increased the rate of reduced glutathione (GSH) by 27,08 % and 29,62 %, activity of superoxide dismutase (SOD) by 42,13 % and 32,78 % and the activity of catalase (CAT) by 86,18 % and 21,32 %, the activity of Glutathion peroxydase (GPx) by 22,19 % and 19,90 % and the activity of Glutathion-S-Transférase (GST) by 140% and 60% respectively in liver and kidneys in rats with diabetes treated with the extract clearly show the antioxidant properties of lyophilized aqueous extract of a medicinal plant.

In conclusion, this study suggests that *the lyophilised aqueous extract of a medicinal plant* has a beneficial effect in controlling diabetes by reducing blood glucose and oxidative stress by reducing lipid peroxidation and increasing antioxidant enzymes activities in liver and renal, which reduces the risk of developing complications of diabetes. However, further investigations to fully identify the biologically active ingredients and to define the precise molecular mechanism(s) of these effects are required.

Key words: Diabetes, Oxidative stress, Medicinal plant, Hypoglycemic, Antioxidant, Streptozotocin.

دراسة التأثير المضاد لداء السكري و الاجهاد التاكسدي للمستخلص المائي للنبات عند فئران سليمة و أخرى حرض
فيهداء السكري بواسطة streptozotocine

الملخص

اثناء مرض السكري يكون الاجهاد التاكسدي متكرر وواسع و يمثل عاملا مهما في ظهور اضطرابات على مستوى الاوعية الكبيرة و الدقيقة، ويتدخل في هذا توازن نسبة السكر في الدم و التي لها دور مهم. حيث اقترحت مضادات الاكسدة مثل الفيتامين c، e كموا د علاجية مكملة. و قد اكدت العديد من الدراسات السريرية التجريبية نشاط مضادات الاكسدة من العديد من المستخلصات النباتية الطبية والمستقلبات الثانوية فضلا عن قدرتها على منع الاثار السامة للجذور الحرة في مرض السكري. الهدف من هذه الدراسة هو اختبار الأثر المخفض للسكر و المضاد للاكسدة للمستخلص المائي للنبات (400مغ/كغ خلال 28 يوم) على جردان سليمة و أخرى حرض فيها داء السكري بواسطة streptozotocine (60مغ/كغ). النتائج المحتصل عليها توضح ان STZ يحرض عند الحيوان مرض السكري و الذي يتميز بارتفاع مستوى الغلوكوز في الدم و كذلك ارتفاع مؤشرات الاجهاد التاكسدي بالمقابل انخفاض نشاط الانزيمات المضادة للتاكسد. ادى الاعطاء الفموي المتكرر للمستخلص المائي المجفد للنبات الطبي لمدة 28 يوم بجرعة يومية 400 مع/كغ الى انخفاض معنوي في مستوى الغلوكوز 50.47% عند الجرذان المصابة بداء السكري مقارنة بالشواهد. من جهة أخرى احدث المستخلص المائي انخفاض معنوي في تكوين الجذور الحرة على الانسجة المدروسة (كبد، كلى). انخفاض تركيز الMDA المقدر ب25.84% و70.13%، ارتفاع مستوى الGSH ب27.08% و29.62%، ارتفاع نشاط الSOD 42.13% و32.78%، CAT ب68.18% و21.32%، GPx ب22.19% و19.90% كذلك نشاط GST ب140% و60% في كل من النسيج الكبدي و الكلوي عند الجرذان المصابة بداء السكري، أوضح الخصائص المضادة للاكسدة للمستخلص المائي للنبات الطبي. و في الختام أظهرت هذه الدراسة ان المستخلص المائي له اثر إيجابي في التحكم في مرض السكري و ذلك بخفضه لمستوى الغلوكوز و الاجهاد التنفسي من خلال انخفاض الاكسدة الليبيدية و زيادة النشاط الانزيمي في كل من الكبد و الكلى بحيث يؤدي الى التقليل من المخاطر المتعلقة بمرض السكري. لكن هذا لا ينفي انه يجب ان تكون هناك دراسات أخرى من اجل معرفة المركبات الثانوية و إعطاء بدقة الية او الاليات المسؤولة عن هذه الاثار.

الكلمات المفتاحية: داء السكري، النباتات الطبية، خافضة للسكر، مضاد للاكسدة، streptozotocine

Introduction

INTRODUCTION

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Cette découverte sera le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydant et les antioxydants. Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète.

Le diabète sucré est un groupe de troubles métaboliques caractérisés par une hyperglycémie, une glycosurie et une hyperlipidémie. Il a touché environ 177 millions de personnes dans le monde en 2000 et devrait augmenter de 72% pour arriver à 300 millions d'ici 2025 (**Tripathi et al., 2014; Boyer et al., 2016**). Le diabète est associé au développement de lésions macrovasculaires et microvasculaires responsables d'infarctus du myocarde, de néphropathie, de rétinopathie et de polyneuropathie (**Defraigne., 2005**).

L'incidence mondiale croissante du diabète sucré constitue un problème de santé publique mondial. Malgré le développement de nouveaux médicaments et leur validation par des critères scientifiques, la recherche se poursuit dans la communauté scientifique du monde entier pour évaluer les activités antidiabétiques de la matière première ou du produit naturel isolé sans effets indésirables (**Boyer et al., 2016**).

Un état de stress oxydant a été décrit dans le diabète 1 ou du type 2. Les marqueurs biologiques utilisés montrent une oxydation accrue des cibles cellulaires et/ou une baisse des systèmes de défense anti-oxydants. L'atteinte des cibles cellulaires peut être mise en évidence grâce à des marqueurs de peroxydation lipidique, d'oxydation des protéines et d'oxydation de l'ADN. La baisse des défenses anti-oxydantes est révélée par la détermination des anti-oxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).

Étant donné la production accrue de radicaux libres et la diminution des systèmes de défense anti-oxydants au cours du diabète, l'utilisation d'anti-oxydants est une voie de recherche prometteuse pour une thérapeutique complémentaire. À part les anti-oxydants classiques (vitamine E, N-acétylcystéine... Etc) utilisés pour diminuer le stress oxydant, les anti-diabétiques oraux eux-mêmes peuvent présenter une activité anti-oxydante indépendante de leur action sur le contrôle

glycémique, ce qui leur confère un fort potentiel thérapeutique. L'avenir pourrait se tourner vers la recherche de médicaments anti-diabétiques oraux présentant des propriétés anti-oxydantes et anti-AGE, tels que la metformine (**Bonnefont-rousset et al., 2004**).

Les plantes jouent un rôle majeur dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques et ont reçu beaucoup d'attention en tant que sources de substances biologiquement actives, notamment des antioxydants, des hypoglycémisants et des hypolipémisants (**Chikhi et al., 2014**).

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules hypoglycémisantes et/ ou antioxydantes originaires de plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antidiabétique d'une plante utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour traiter le diabète.

Le présent travail vise à étudier l'activité antidiabétique et antioxydante d'un extrait aqueux d'une plante médicinale sur des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine.

Notre travail sera réparti en quatre sections : La première section est une étude bibliographique. Le premier chapitre est consacré à une revue non exhaustive du stress oxydant, en particulier la notion des radicaux libres biologiques, le système de défense antioxydant et les cibles du stress oxydant. Nous avons ensuite abordé au second chapitre les différents types du diabète, les sources des ROS au cours de l'état de l'hyperglycémie, son impact sur le système de défense antioxydant et l'apport des thérapeutiques antioxydantes dans le traitement du diabète. Dans le troisième chapitre nous avons abordé le mécanisme de l'augmentation du stress oxydant dans le diabète. Nous avons enfin, dans un dernier chapitre, fait un survol bibliographique sur place de la phytothérapie dans le traitement du diabète. La seconde section décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental. La troisième et la quatrième section de ce mémoire exposent l'ensemble des résultats obtenus et la discussion. Elle comprend deux parties :

- Etude de l'effet de l'administration de l'extrait aqueux d'une plante médicinale à la dose quotidienne de 400 mg / kg pendant 28 jours sur la concentration sérique de glucose et le poids chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.
- Etude du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de la plante par mesure du taux du malonyldialdéhyde (MDA) du Glutathion réduit (GSH) de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) de la catalase (CAT) de la Glutathion peroxydase (GPx) et de la Glutathion-S-Transférase (GST) hépatique et rénal chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Rappels bibliographiques

I. LE STRESS OXYDANT

I.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale) (Goudable & Favier., 1997). Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Tremellen., 2008).

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de radicaux libres est normale et ne constitue pas une situation pathologique en soi. En effet, elle jouerait un rôle dans certaines voies de signalisation, en activant notamment la voie NF-κB. De plus, il existe divers systèmes permettant d'éliminer les ROS et de rétablir la balance oxydative. Ces systèmes peuvent être des enzymes (SOD, catalase par exemple) ou de simples molécules (vitamine E par exemple).

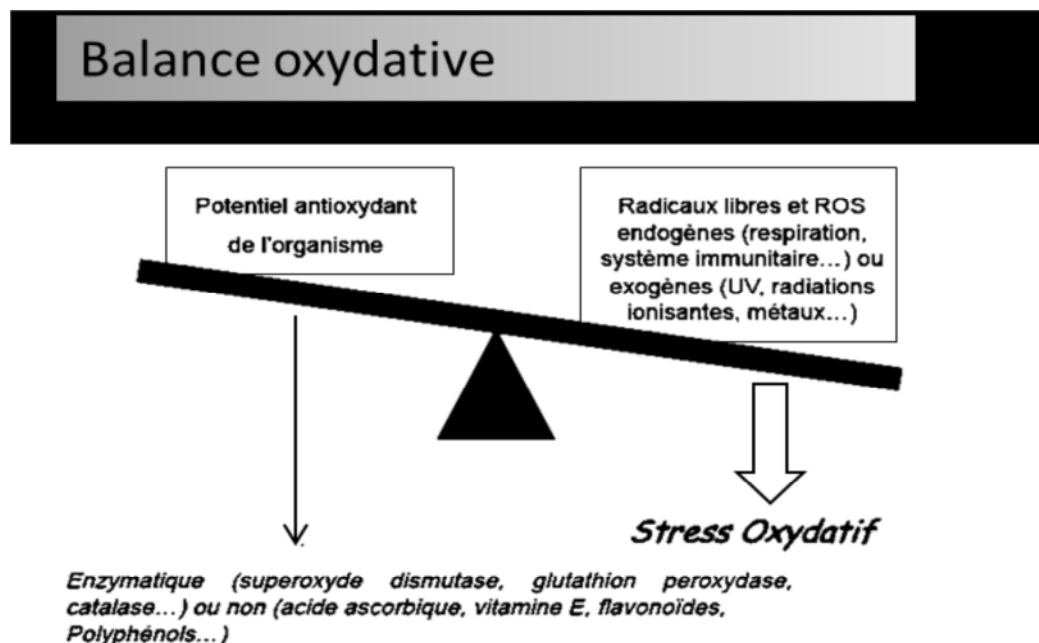


Figure 1 : Stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (Boyer ., 2016)

Le stress oxydant correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, il se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre du rapport entre les radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants dont dispose la cellule (figure1), avec comme conséquence l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour la cellule (Pincemail et al., 2002).

Lorsque l'un des systèmes protectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (Durackova et al., 2008).

I.2. Les principaux radicaux libres

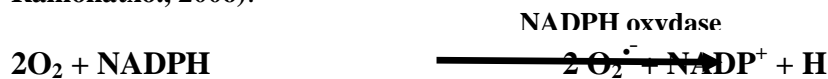
I.2.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Dans l'organisme, une partie de l'oxygène moléculaire peut capter d'une manière univalente un électron conduisant à la formation du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Koechlin-Ramonatxo., 2006 ; Al-Mamun et al., 2007).

Le radical super oxyde est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire (Harman., 2000).



L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ peut se former aussi lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase qui se trouve à la surface des membranes plasmiques des phagocytes (Koechlin-Ramonatxo., 2006).



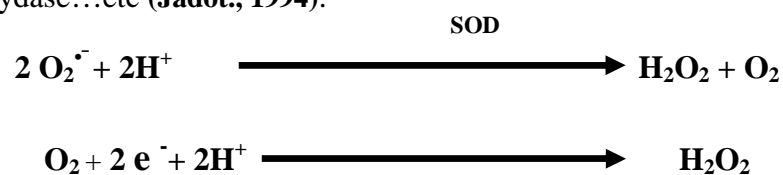
L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ joue un rôle très important dans la génération d'autres radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical hydroxyle OH^{\cdot} , et l'oxygène singlet O_2^{\cdot} (Stief., 2003).

L'anion superoxyde capable de réagir avec l'oxyde nitrique pour former le peroxyde nitrique ($ONOO^-$) qui est capable de donner par la suite des composés très toxiques comme le radical hydroxyle et le dioxyde nitrique (Halliwell., 1997).



I.2.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui n'est pas un radical libre (il n'a pas d'électrons non appariés) peut être formé secondairement à la dismutation de ($O_2^{\cdot-}$) par la superoxyde-dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acyl CoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase...etc (Jadot., 1994).

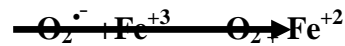


Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif ; c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp., 2010).

I.2.3. Le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$

Est le radical le plus dangereux dans l'organisme. Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique (Sorg., 2004). Il est produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferriques, au cours de des réactions suivantes (Lacolley., 2007) :

- Réaction de Fenton :



- Reaction d'Haber-Weiss:



Ils y a d'autres voies pour la formation du $\cdot\text{OH}$ telle que la décomposition de l'acide peroxonitrique et la réaction de l'acide hypochloreux avec ($\text{O}_2^{\cdot-}$) (Bartosz., 2003).

I.2.4. L'oxygène singlet $^1\text{O}_2$

La forme excitée de (O_2) est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité, réagit avec les macromolécules biologiques (ADN, Protéines, etc....) (Borg & Reeber., 2008).

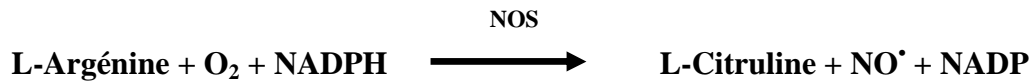
L'oxygène moléculaire peut être produit par plusieurs réactions biochimiques d'oxydation incluant la peroxydase et la lipooxygénase, par la réaction entre divers ROS (Sorg., 2004).

I.2.5. D'autres espèces des radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés mais aussi les radicaux libres dérivant d'autres espèces que l'oxygène par exemple : l'acide hypochloreux (HClO), le monoxyde d'azote NO^{\cdot} qui se combine aisément avec le $\text{O}_2^{\cdot-}$ pour former le peroxynitrite (ONOO^-) (Moussard., 2006), agent non radicalaire à la fois oxydant et nitrosant (Beaudeau et al., 2006 ; Kirsh & De-Groot., 2002).

I.2.5.1. Le monoxyde nitrique NO[•]

Le monoxyde d'azote NO[•] est un radical avec un électron non apparié, il est formé par l'action du NO synthétase sur L-arginine (Fang *et al.*, 2002).



L'oxyde nitrique lui-même est moins réactif que les autres radicaux libres, mais sa surproduction dans des conditions spécifiques capable de provoquer la déplétion des principaux antioxydants au niveau du plasma, tel que l'acide ascorbique et l'acide urique. Ce radical est capable d'entamer la peroxydation lipidique (Halliwell., 1997).

I.2.5.2. Le nitrique dioxyde NO₂[•]

Le dioxyde d'azote (NO₂[•]) est formé à partir de la réaction du radical peroxy avec NO. Le NO₂[•] est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés(Fang *et al.*, 2002).

I.3. Sources des espèces réactives oxygénées ROS

Les ROS sont produits dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant exogènes qu'endogènes(Halliwell., 2006).

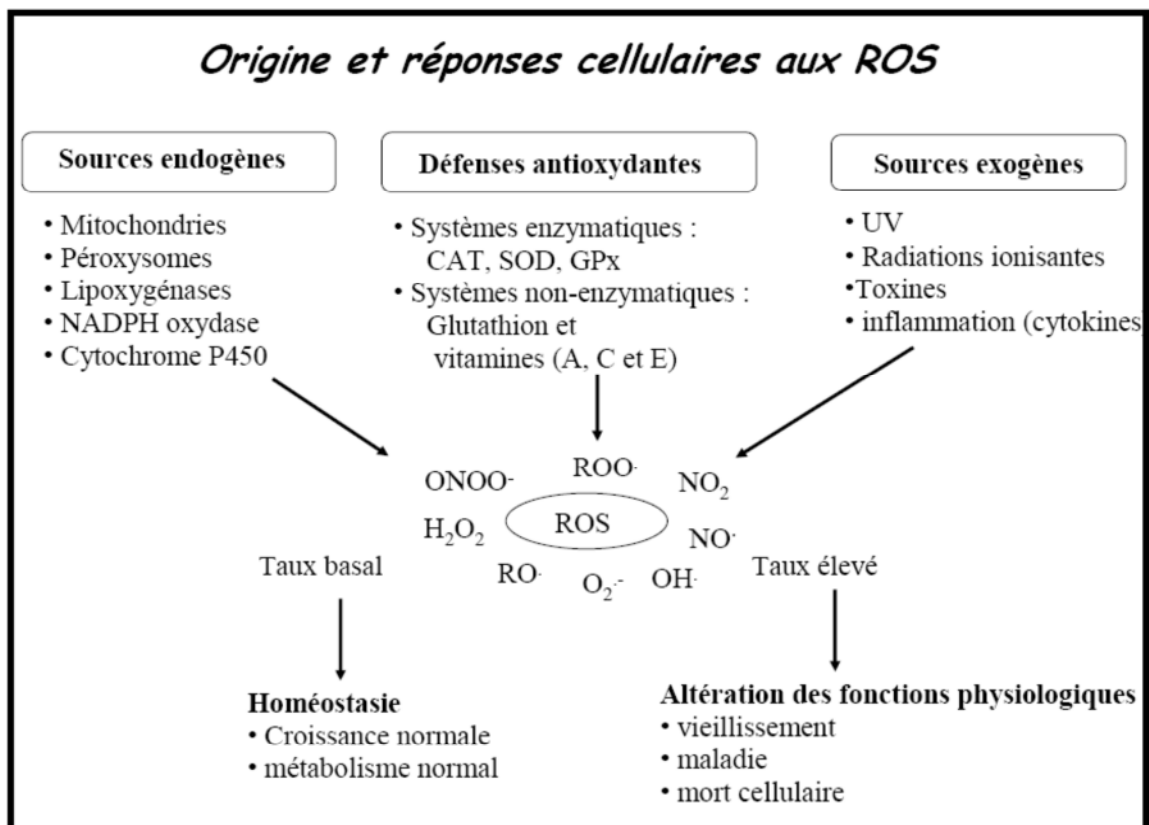
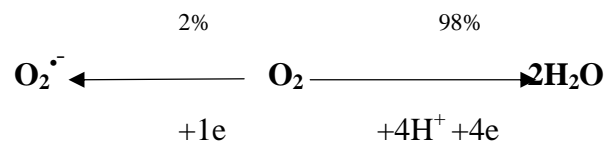


Figure 2 : Origine et réponse cellulaire aux ROS(Petropoulos., 2003).

I.3.1. Sources endogènes

La formation endogène de radicaux libres s'effectue au niveau de divers organites cellulaires :

- **Les mitochondries** : Une des plus grandes sources endogènes de production de radicaux libres, organite utilisant de l'oxygène pour produire de l'ATP. Au cours de la respiration cellulaire, 95 à 99 % de l'oxygène consommé est réduit en eau. La réduction de l'oxygène moléculaire par les cytochromes respiratoires cellulaires s'accompagne d'une formation parallèle d'environ 2% d'ions superoxyde, d'eau oxygénée et éventuellement de radicaux (OH^\cdot) (Sturtz *et al.*, 2001).



- **Les microsomes** : La production des radicaux libres ensuivre parallèlement une activation de l'oxygène par le cytochrome P-450 pour assurer les biotransformations.
- **Le cytosol** : C'est la localisation des différentes réactions enzymatiques responsables à la production du (O_2^\cdot). La réduction de l'oxygène par un électron pour devenir un anion superoxyde nécessite d'un cofacteur c'est le NADPH et des différentes enzymes. Parmi ces enzymes qui ont permettant cette réaction les plus important sont : La xanthine oxydase, la NADPH oxydase et aussi les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytrocrome P450) et celles de la chaine respiratoire mitochondriale (Cai & Harrison., 2000).

I.3.2. Sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des espèces réactives oxygénées (Priyadarsini., 2005).

- **Les rayonnements UV** : les radiations UV provoquent particulièrement des démâtements au niveau de l'ADN (Sutherland *et al.*, 1980). Les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que : (O_2^\cdot), (OH^\cdot), (O_2) et les molécules génératrices des radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants.
- **L'alimentation** : comme l'alcool, café, les aliments riches en protéines et en lipides pouvant être à l'origine de la production des radicaux libres, donc ils ont une faible consommation des antioxydants (Hu *et al.*, 2006 ; Moller *et al.*, 1996).
- **Certains médicaments** : les médicaments qui sont utilisés comme un traitement contre le cancer (anticancéreux comme les anthracyclines) peuvent provoquer aussi la production des radicaux libres (Moller *et al.*, 1996).

Les sources exogènes peuvent être aussi représentées par des facteurs environnementaux exemple : suie, goudron, tabac, polluants industriels. En plus, sont également responsables de la synthèse des radicaux libres (Priyadarsini., 2005).

I.4. Les cibles biologiques des ROS

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN (Hadj Salem., 2009), les lipides (peroxydation), les protéines...etc (Jacob., 2007). Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, cancer, diabète...) (Pincemail & Defraigne., 2003) et la dégradation des cellules et des tissus (Bonnet et al., 2010).

I.4.1. Les acides nucléiques

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Au minimum, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par OH^\bullet peuvent être générées, parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaires, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet et al., 2002). Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. La guanine va réagir avec le radical hydroxyle pour former du 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OH-dG). Le 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine va alors s'apparier avec l'adénine au lieu de la cytosine ce qui va induire des mutations au sein de l'ADN (Haleng et al., 2007). Le radical hydroxyle peut aussi réagir avec les groupements aromatiques des bases d'ADN (Nikitaki et al., 2015). Ces altérations de l'ADN peuvent entraîner des coupures de l'ADN simple brin et double brin.

Il existe plusieurs systèmes de réparation de l'ADN. Certaines enzymes permettent la réparation directe de l'ADN. La réparation de l'ADN peut se faire également par excision des bases endommagées, celles-ci sont remplacées en utilisant le brin intact comme matrice. Cependant, l'efficacité de ces systèmes dépend de plusieurs facteurs comme l'âge de la cellule ou le type de cellule. De plus, si les dommages sont trop importants, la cellule va entrer en apoptose ou dans un cycle de division cellulaire non contrôlé aboutissant à la formation de tumeurs cancéreuses (Boyer., 2016).

I.4.2. Les lipides :

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette

réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Esterbauer *et al.*, 1992).

Les hydro-péroxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution exemple être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en acides aldéhydes et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire.

Le radical peroxy, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malonalaldéhyde ou l'hydroxynonanal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes.(Gardès-Albert *et al.*, 2003).

Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux(Favier., 2003).

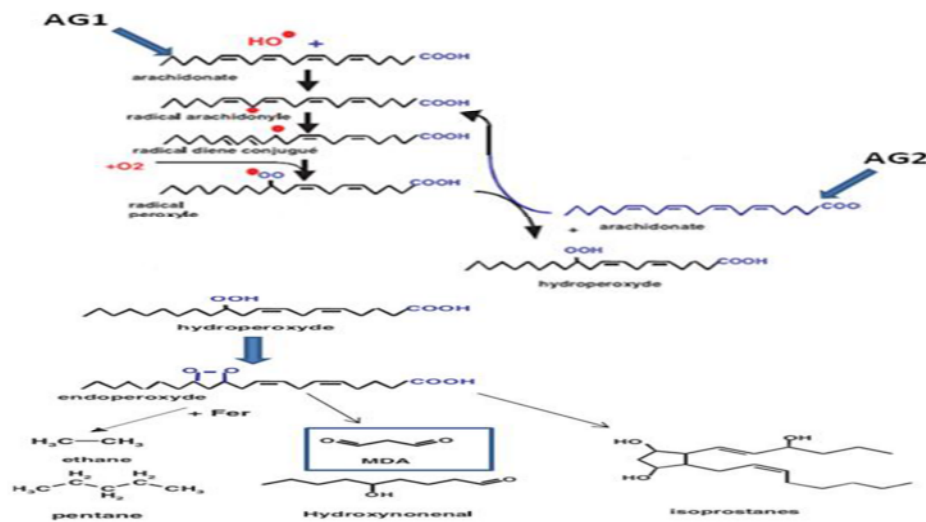


Figure 3 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés(Koechlin-Ramonatxo., 2006).

La peroxydation lipidique provoque une augmentation croissante de la perméabilité des membranes cellulaires induisant une altération irréversible des propriétés fonctionnelles de la cellule, pouvant aller jusqu'à la lyse complète des membranes cellulaires. La réaction en chaîne prolonge les effets intra-membranaires des radicaux libres, même si l'agression radicalaire s'estompe.

I.4.3. Les protéines :

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les ROS sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Quinlain et al., 1994**).

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH)(l'histidine, la proline, l'arginine et la lysine)(**Harman., 2000**). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire. Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, anti-enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome (**Favier., 2003**).

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que des stress importants provoquent une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates (**Duvall & Wyllie., 1986**).

I.5. Les systèmes de défenses antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des ROS, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (**Haleng et al., 2007**).

Les antioxydants ont été prouvés pour jouer un rôle important dans la régulation d'une vaste gamme physiologique et des processus pathologique, ils contribuent principalement à la protection des cellules et des tissus contre les effets délétères des ROS et d'autres RL (**Barber & Harris., 1994**).

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (**Abuja et Albertini ., 2001**), et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire (**Durackova et al ., 2008**). Les antioxydants peuvent agir en réduisant les ROS, en les piégeant pour former des composés stables(**Dan., 2008 ; Favier., 2003**).

On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), 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 (Haleng *et al.*, 2007).

I.5.1. Les systèmes de défense enzymatiques

Les antioxydants les plus efficaces sont des enzymes qui catalysent la réduction du ROS (Biewenga *et al.*, 1997). Les enzymes antioxydants ont une signification négligeable dans l'espace extracellulaire alors qu'ils jouent un rôle très significatif dans l'espace intracellulaire (Durackova *et al.*, 2008).

I.5.1.1. Les superoxyde dismutases (SOD)

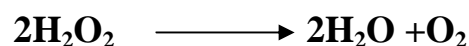
Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD₁ cytosolique, la Mn-SOD₂ mitochondriale et la Cu/Zn-SOD₃, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle: son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vaso-actifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Haleng *et al.*, 2007).

I.5.1.2. La catalase

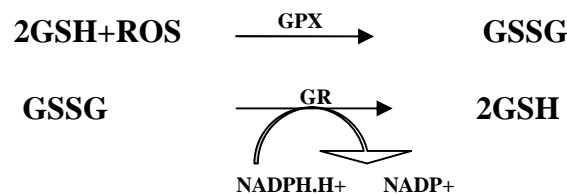
Le peroxyde d'hydrogène généré notamment lors de la dismutation de l'anion superoxyde est dégradé par la CAT qui est donc le responsable à leur détoxification. Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges, elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol (Droge., 2002 ; Packer *et al.*, 1997). Donc la catalase est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Beaudeau & Dominique., 2005).



I.5.1.3. Les glutathion peroxydases (GPxs)

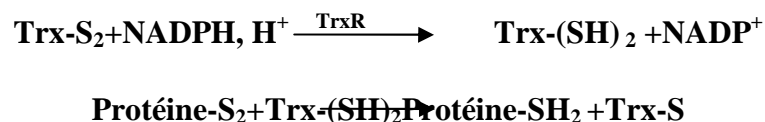
La GPx est une sélénoprotéine (cinq iso-formes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH) (Haleng., 2008).

La (GPx) est présente dans les liquides extracellulaires (sang), dans les cellules au niveau du cytoplasme et dans les membranes. Leur rôle principal est d'assurer la réduction du (H₂O₂) en H₂O et O₂. Lors de sa réaction deux molécules de glutathion (GSH) réduites sont oxydées en glutathion Disulfure (GSSG) (Droge., 2002 ; Packer *et al.*, 1997).



I.5.1.4. Le système thiorédoxine TRX

Le milieu intracellulaire est plutôt réducteur, les protéines contiennent des groupements thiols libres et les ponts disulfures sont rares. L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng., 2008).



I.5.2. Les systèmes de défense non enzymatiques

Ce sont des nutriments naturellement amenés par des composés endogènes ou par l'alimentation, ils ont la capacité de trapper les espèces oxydantes en captant leur électron libre et en formant ainsi des espèces plus stables qui pourront être éliminées par d'autres systèmes antioxydants. Dans cette catégorie d'antioxydant les principales molécules sont les oligoéléments, le glutathion réduit, l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C.

Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Koechlin-Ramonatxo., 2006).

I.5.2.1. Le glutathion

Le glutathion est un tri-peptide, dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques.

En situation du stress oxydant, son rôle protecteur de détoxifiant réside principalement dans sa fonction de Co-substrat des glutathion peroxydases. Mais il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vit C, la vit E et les SOD (Monnier & Chaudière, 1996).

I.5.2.2. La vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), l'oxygène singlet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (Evans, 2000). En plus, elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les α -tocophérol (Greff, 2011 ; Halliwell & Gutteridge, 1986).

I.5.2.3. La vitamine E

La vitamine E est un terme qui désigne un ensemble de composés phénoliques appelés tocophérols ou tocols (Haleng et al., 2007). Il a été déterminé que cette vitamine naturelle, semble être deux fois plus bio-disponible que la vitamine E synthétique (Burton et al., 1998).

La vitamine E, est considérée comme un puissant antioxydant reconnu pour son effet protecteur contre la peroxydation lipidique. Les noix, les graines, les huiles végétales sont de bonnes sources de vitamine E. Des études *in vivo* ont d'ailleurs montré que l' α tocophérol module l'activité des enzymes anti-oxydantes comme la SOD, CAT et laGPx (De Kumar & Rukmimi, 1988).

I.5.2.4. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont la bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène (Causse, 2005).

La β -carotène est un précurseur de la Vit A. Il possède une activité anti-oxydante totalement indépendante de son rôle pro-vitaminique ; il agit en désactivant l'oxygène singlet et possède la propriété de piéger les RL (Steven, 2006).

I.5.2.5. Les polyphénols

Les polyphénols, groupe de molécules de structures variées (Derbel & Ghedira., 2005) et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation (Hennebelle *et al.*, 2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif, 1, 3-6 Ils sont classés en flavonoïdes, anthocyanes, tanins et stilbènes(Scalbert & Williamson., 2000). Ce sont d'excellents piègeurs des ROS et de très bons chélateurs de métaux de transition comme le cuivre et le fer.

I.5.2.6. Les flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= *flavus* en latin) (Wilson., 1987).Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols.

Tous les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluant, infections etc....) ingérés avec nos aliments, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants cellulaires (lipides et macromolécules) contre le stress oxydant (Bors *et al.* , 1997).Ils sont susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (Gardès-Albert *et al.* , 2003). En effet, les flavonoïdes apportent une protection contre les radicaux libres en empêchant leur liaison avec les lipides membranaires des cellules (Venkateswara & Vijayakumar., 2008).

I.5.2.7. Les oligoéléments

A. Le sélénium

Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx (Haleng *et al.* , 2007).

B. Le cuivre

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il joue, en tant que métal dit de transition, un rôle important dans le déclenchement des réactions conduisant à la formation d'espèces oxygénées activées, par ses propriétés anti-oxydantes. Une concentration trop élevée en cuivre pourra donc refléter la présence d'un stress oxydant (Del-Corso *et al.* , 2000).

C. Le zinc

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydants comme les métallothioneines. Il protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre. Un déficit en zinc résulte généralement en une sensibilité plus accrue au stress oxydant (**Mezzetti *et al.*, 1998**).

II. LE DIABETE SUCRE

II.1. Définition et les principaux types de diabète

II.1.1. Définition

Le diabète est un trouble métabolique chronique, qui apparaît lorsqu'il y a un défaut dans la sécrétion d'insuline ou/et lorsque le corps ne peut pas utiliser l'insuline de manière efficace. Cela mène à une augmentation du taux sanguin de glucose, appelée hyperglycémie (Cefalu., 2006).

C'est est la plus fréquente des maladies endocriniennes. Il touche environ 5 % de la population mondiale qui compte environ 347 millions de diabétiques (**Richmonde N'doua et al.,2015**).L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la 7ème cause de décès dans le monde (OMS, 2011).

le dépistage du diabète est réalisé grâce à une prise de sang à jeun .on parle de diabète lorsque la concentration de glucose à jeun dans le sang veineux est supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) (Boyer.,2016 ;Boucher et al., 2011).

L'hyperglycémie chronique du diabète est associée à des dommages à long terme, à un dysfonctionnement et à une défaillance de différents organes, en particulier les yeux, les reins, les nerfs (microangiopathie), le cœur et les vaisseaux sanguins (macroangiopathie) (Turnanet et al., 2010).

II.1.2. Les principaux types de diabète

Deux formes majeures de diabète sont généralement identifiés, à savoir le diabète de type 1, également connu sous le nom de diabète juvénile et le diabète de type 2, anciennement appelé diabète de l'adulte (Cefalu., 2006).

II.1.2.1. Le diabète de type 1

Est le résultat de la destruction progressive plus ou moins rapide des cellules bêta par un processus auto-immun qui induit habituellement une carence absolue en insuline (valensi et al., 2005). Ce processus auto-immun débute plusieurs années (5 à 10 ans, voire plus) avant le début du diabète. C'est pourquoi le diagnostic est souvent brutal et les injections d'insuline sont vitales chez ces personnes (Fagot-Campagna et al., 2010). L'élévation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90% des cellules bêta (Hartemann et al., 2013)ce qui explique pourquoi ce type est également connu comme diabète sucré insulino-dépendant (Miroslav., 2015).

Cette forme de diabète survient essentiellement chez les enfants et les jeunes adultes. Au-delà de 18 ans, le diabète de type 1 représentait un peu plus de 5,6 % des cas de diabète traité pharmacologiquement en 2007 (Fagot-Campagna et al., 2010 ; Atkinson et al., 2014).

Il existe deux sous types de diabète insulino-dépendant :

- **Le diabète de type 1 auto-immun (90 % des diabètes de type 1) :** la destruction des cellules bêta est due à un processus auto-immun dont témoigne la présence dès la phase préclinique de la maladie, d'auto-anticorps dirigés contre divers constituants des îlots de Langerhans (Caquet., 2012). Survenant généralement chez le sujet jeune (enfants, adolescents), le diabète de type auto-immun peut apparaître à tous les âges, y compris après 70 ans (Drouin et al., 1999). La destruction des cellules bêta peut être rapide et lié à la rencontre d'une susceptibilité génétique et de facteurs d'environnement (Hartemann et al., 2008).
- **Le diabète de type 1 idiopathique :** d'étiologie inconnue non auto-immune, se rencontre généralement chez l'Africain ou l'Asiatique et se caractérise par des poussées d'acidocétose entre lesquelles un traitement par l'insuline n'est plus nécessaire (Valensi et al., 2003).

II.1.2.1.1. Physiopathologie du DT1

La physiopathologie du diabète de type 1 est complexe et multifactorielle (predisposition génétique, réaction immunitaire, rôle de l'environnement). Il est probable qu'il existe une susceptibilité individuelle de développer un diabète insulino-dépendant, et qu'un ou plusieurs facteurs environnementaux soient déterminants pour l'émergence clinique de ce diabète (Raverot et al., 2004).

A. Facteurs génétiques

Plusieurs gènes sont impliqués dans la prédisposition à développer un diabète de type 1, notamment les gènes codant pour les antigènes HLA DR3 ou DR4 du système HLA de classe II (Abner., 2002). Le terrain de susceptibilité génétique est décrit par une susceptibilité plurigénique avec au moins 10 gènes (Allan., 2008).

Le risque pour une mère DID d'avoir un enfant diabétique est environ 2% alors que le risque est de 4 à 5 % lorsque c'est le père qui est diabétique ID (Raverot et al., 2004). De plus, des facteurs environnementaux sont probablement à l'origine du déclenchement du processus auto-immunitaire, qu'il s'agisse de facteurs nutritionnels, toxiques ou viraux (Allan., 2008).

B. Facteurs environnementaux

- **Infections :** Le rôle des virus dans la pathogénie du diabète de type 1 est suspecté mais non démontré. En faveur de cette hypothèse, la haute prévalence du diabète de type 1 (environ 20%) en cas de rubéole congénitale ou la présence du virus coxsackie B4 isolé dans le pancréas d'enfant décédé lors d'une acido-cétose inaugurale. Certains virus pourraient présenter un antigène commun avec des protéines de cellule β (virus coxsackie ou

cytomégalovirus). L'infection virale pourrait être responsable de la sécrétion de cytokines, en particulier d'interféron γ , favorisant par différents mécanismes le développement de la réaction auto-immune au niveau pancréatique (Allan., 2008).

Le rôle potentiel d'une infection virale dans la pathogénie du diabète de type 1 fut suspecté initialement à partir d'études épidémiologiques (augmentation de l'incidence du diabète en automne et en hiver, association significative entre diabète et rubéole congénitale, oreillons, coxsackie B4, cytomégalovirus, virus Epstein-Barr) et par l'existence de modèles de diabètes viro-induits chez l'animal (Raverot et al., 2004).

- **Facteurs immunitaires** : Le diabète de type 1 est une maladie auto-immunitaire due à la destruction des cellules β des îlots de Langerhans par des cellules T (Ongagna et al., 2004). Bien que la destruction des cellules β par médiation des cellules T, l'implication des anticorps ont été d'une grande importance, permettant un diagnostic précis et la prédiction des individus risquant de développer ce type de diabète (Ongagna et al., 2004).

La destruction de la cellule β est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper CD4 et des lymphocytes T cytotoxiques CD8. Ce processus se déroule à bas bruit pendant plusieurs années. Au cours de cette réaction sont produits des auto-anticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces auto-anticorps n'ont pas en eux-mêmes de rôle pathogène mais sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique (Allon., 2008).

- **Toxiques** : L'alloxane, la streptozocine, la pentamidine et le pyrinuron (raticide) affectent directement la cellule bêta ; la susceptibilité à chaque agent est variable selon les espèces (Raverot et al., 2004).
- **Alimentation** : L'implication possible des protéines du lait de vache ou des nitrosamines dans la pathogénie du diabète de type 1 a été envisagée, mais il n'existe aucune preuve en ce domaine (Raverot et al., 2004).

II.1.2.2. Le diabète types 2

Il remplace le terme de diabète non insulino-dépendant. Il est retrouvé chez 3 % de la population. Il représente 90 à 95 % des cas de diabète et résulte d'une dysfonction de l'insuline (Blyer et al., 2007). Il est défini comme étant une maladie chronique évolutive caractérisée par une insulino-résistance accompagnée d'une carence insulinaire relative, ou encore comme une anomalie de sécrétion accompagnée d'une insulino-résistance (Cho et al., 2013 ; Goldenberg et al., 2013). L'insuline peut être produite pendant plusieurs années après le diagnostic et la production peut totalement cesser. Le taux d'insuline varie, il est souvent similaire à celui des patients non diabétiques d'un poids identique (Blyer et al., 2007). La maladie n'est découverte qu'à la faveur de la survenue de complications graves comme la rétinopathie diabétique, cause majeure de cécité, et

les neuropathies, pouvant être à l'origine d'une amputation (François et al., 2014). Le diabète de type 2 affecte 10 % des individus de plus de 65 ans. Il existe une forte prédisposition génétique (Blyer et al., 2007).

II.1.2.2.1. Physiopathologie du DT2

Sur le plan physiopathologique, le développement du DT2 résulte de la coexistence entre une insulino-résistance (IR) et un développement progressif d'un déficit de l'insulinosécrétion. De plus, le DT2 est une maladie complexe s'inscrivant généralement dans le cadre plus large du syndrome métabolique (Benammar., 2009). De manière générale, le déficit insulino sécrétoire du diabète de type 2 s'aggrave au cours du temps, la sécrétion insulino est souvent conservée au stade précoce de la maladie ; le sujet peut même avoir un hyperinsulinisme absolu réactionnel à l'insulino-résistance, l'anomalie étant un défaut de la sécrétion insulino (hypo-insulinisme relatif) par rapport à des besoins insulino qui sont augmentés en raison de l'insulino-résistance (DeFronzo., 1995).

A. Résistance à l'insuline

L'insulino-résistance se définit comme la nécessité d'un excès d'insuline pour obtenir une réponse à l'hormone quantitativement normale. Elle se traduit par une moindre efficacité de l'insuline sur ces tissus cibles au cours du diabète de type 2. Elle concerne le foie et les tissus périphériques insulino-dépendant (muscle squelettique et tissus adipeux), au niveau hépatique, elle se traduit par une augmentation de la production hépatique de glucose, et au niveau des tissus périphériques par une moindre capacité de l'hyperinsulinémie à stimuler l'utilisation de glucose (Girard., 2008).

Le mécanisme cellulaire de l'insulino-résistance peut se situer à différents niveaux :

- Anomalie de la liaison de l'insuline à son récepteur : on note une réduction de la liaison de l'insuline avec son récepteur par diminution du nombre de récepteur « down régulation».
- Anomalie de la transduction du signal insulino : une diminution de l'activité tyrosine kinase du récepteur d'insuline a été mise en évidence dans le tissu adipeux, le muscle et le foie des sujets diabétiques de type 2. Plusieurs études récentes montrent l'existence de molécules qui pourraient inhiber l'action de l'insuline chez les diabétiques de type 2 (Grimaldi., 2004).
- Anomalie de système effecteur : plusieurs anomalies des transporteurs spécifiques de glucose au sein du tissu adipeux et particulièrement au sein des muscles squelettiques (GLUT4) ont été notées. Elles portent sur la synthèse, la translocation ou la fonction de ces récepteurs (Grimaldi., 2004).

B. Déficit insulino-sécrétoire

L'insulino-résistance ne suffit pas à expliquer l'apparition d'un diabète de type 2. Après une surproduction compensatoire d'insuline par les cellules β apparaissent des anomalies plus au moins sévères de l'insulino-sécrétion sur le plan quantitatif et qualitatif. Le diabète de type 2 se caractérise par la perte de la phase précoce de la sécrétion insulinique en réponse au glucose, par la perte du caractère pulsatile de la sécrétion d'insuline et par l'augmentation du pourcentage de pro-insuline circulante dans le plasma ; dix fois moins active que l'insuline. Une autre anomalie du pancréas endocrine observée chez les sujets diabétiques de type 2 est une hyper- glucagonémie.

Le défaut de la sécrétion d'insuline est lié à une mauvaise reconnaissance du glucose comme signal direct et comme agent potentialisateur de l'insulinosécrétion par les cellules β pancréatiques. Les hypothèses pathologiques de ce cas sont (Makhlouf *et al.*, 2015) :

- Diminution de la captation de stimulus glucose par les cellules β par diminution du nombre de transporteurs de glucose spécifiques GLUT2.
- Mutation du gène de la glucokinase.
- Le déficit en clivage de la pro-insuline en insuline, les anomalies de l'exocytose des granules sécrétoires, la production excessive d'amyline et son accumulation dans les cellules β pourrait être impliqué dans le défaut d'insulino-sécrétion.

Chez les sujets diabétiques, une diminution de la masse des cellules β a été mise en évidence de l'ordre de 50% par rapport à des sujets normaux d'âge et de poids comparable. Cette diminution est due à la présence de dépôts amyloïdes dans les îlots. On estime qu'au moment du diagnostic de diabète, il existe une perte d'environ 50% de la sécrétion d'insuline (Buysschaert., 2006).

C. Facteurs génétiques

La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres de cette famille, ce qui est en faveur d'une participation génétique dans l'apparition du diabète de type 2. De plus, des études de concordance entre jumeaux dont l'un au moins est atteint de diabète de type 2 montrent une concordance plus importante chez les homozygotes (58 % à 80 % selon les études) que pour les hétérozygotes (17 % à 40 %). Cela suggère un support génétique important au diabète de type 2, mais l'absence de concordance à 100 % suggère aussi que cette participation est dépendante d'autres facteurs (Guillaume., 2004).

D. Facteurs environnementaux

Le diabète de type 2 est lié au mode de vie. Les facteurs de risque principaux sont le surpoids, la sédentarité et une alimentation trop riche et inadaptée (excès de sucre et de graisse saturée) (Jeanrenaud *et al.*, 2012).

II.1.2.3. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel (DG) est défini par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostique pour la première fois pendant la grossesse (Leperc *et al.*, 2011). Cette anomalie englobe à la fois les états d'intolérance au glucose diabètes patents qui sont détectés pendant la grossesse. Cette définition est indépendante du devenir des anomalies de la glycorégulation après la grossesse. Certains de ces états peuvent disparaître, d'autres peuvent persister, voire même s'aggraver. Etant donné les risques encourus par la mère et le nouveau-né, ces états doivent être dépistés. Les résultats de Metzger *et al.*, (2008) ont démontré que les risques pour la mère, le fœtus et l'enfant augmentent de manière progressive en fonction de la glycémie de la mère entre la 24^e et la 28^e semaine de la grossesse, même lorsque les glycémies sont dans une fourchette qui était autrefois considérée comme normale (Carpenter *et al.*, 1982). Le DG représente cependant un problème de santé publique par sa fréquence et son retentissement materno-foetal. Dans tous les cas, il s'agit d'une grossesse à risque, qui nécessite une prise en charge rigoureuse par une équipe pluridisciplinaire.

II.2. Complications liées au diabète

*Dans la plupart des études sur la prise en charge du diabète, les complications sont liées à une multitude de facteurs (environnement médical, disponibilité des moyens de traitement et des centres de références, profil des patients, parcours de soins etc) (Belhadj *et al.*, 2016). Ces complications qui procèdent de mécanismes complexes associant l'hyperglycémie, insulino-résistance, inflammation et athérogénèse accélérée (Schlienger., 2013). On distingue deux types :*

II.2.1. Complications aiguës

Les principales complications diabétiques aiguës est le coma acido-cétosique avec hyperglycémie apparaît en cas de déficit sévère en insuline ou bien hypoglycémie par la quelles les causes sont multiples (inadéquation entre le régime alimentaire et la dose d'insuline pour le DT1 et une interaction médicamenteuse avec un sulfamide hypoglycémiant pour le DT2) (Allan., 2008 ; Bouldjedj ., 2009).

II.2.2. Complication chronique

Les complications chroniques du diabète, aussi bien du type 1, que du type 2, comprennent deux composantes : la micro angiopathie et la macro angiopathie (Raccah., 2003).

II.2.2.1. La macro angiopathie

La macro angiopathie est définie comme l'atteinte des artères de moyen et gros calibre. Elle regroupe des atteintes des artères coronaires, des artères à destinée cervicale et celles des membres inférieures. La physiopathologie de la macroangiopathie associe un processus

accélération de l'athérosclérose lequel est potentialisée par l'hyperglycémie. Ce qui va conduire à un vieillissement de la paroi artérielle (souffrance endothéliale) (**Géraldine., 2015**).

La macroangiopathie diabétique associe deux maladies artérielles distinctes : d'une part, l'athérosclérose qui semble histologiquement identique à l'athérosclérose du non diabétique, d'autre part, l'artériosclérose, caractérisée par une prolifération endothéliale et une dégénérescence de la média aboutissant à la médiocalcose (**Duron & Heurtier., 2006**). Ce second mécanisme explique probablement que la localisation de l'effet délétère du diabète sur les grosses artères ait un caractère particulier. Ainsi, alors que l'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur pour les accidents vasculaires cérébraux et l'insuffisance coronaire, que l'hypercholestérolémie est responsable principalement d'atteinte coronarienne et de lésions aortiques, et que le tabac favorise l'insuffisance coronaire et l'artérite des membres inférieurs, le diabète, lui, entraîne un risque relatif d'athérosclérose hiérarchisé : de 1,5 à 2% pour les accidents vasculaires cérébraux, de 2 à 4% pour l'insuffisance coronaire, de 5 à 10% pour l'artérite des membres inférieurs (**Duron & Heurtier., 2006**).

II.2.2.2. la micro angiopathie :

Les microangiopathies touchent les petits vaisseaux sanguins, elles se manifestent au niveau de l'œil, rétinopathie (touche 60% des diabétiques de type 2). Au niveau des reins et des nerfs c'est la néphropathie et la neuropathie dont leurs fréquences est environ 20% et 50% respectivement (**Grimaldi et al., 2009**). Elle est liée essentiellement à l'hyperglycémie chronique entraînant une altération de la paroi des microvaisseaux dont la membrane basale va s'épaissir, ce qui va fragiliser leur paroi et entraîner un ralentissement du flux vasculaire et une augmentation de la perméabilité vasculaire, source ultérieure d'hémorragies et d'exsudats ; on observe également une augmentation de la coagulabilité sanguine avec à terme un risque ischémique (**Rouzaud., 1999**).

Dans la rétinopathie diabétique, la disparition des péricytes rétinien semble jouer un rôle majeur, conduisant à la dilatation des capillaires, à l'augmentation de leur perméabilité et à la formation de micro-anévrysmes (**King et al., 1996**). Plus tard, l'ischémie rétinienne favorise le développement de néovaisseaux pauvres en péricytes, et donc à risque hémorragique élevé (**Andrés et al., 1999**).

Dans la néphropathie diabétique, c'est l'expansion mésangiale qui, à côté de l'atteinte capillaire proprement dite, est responsable de la perte de la surface de filtration, d'altérations de la perméabilité capillaire, et finalement, de la sclérose glomérulaire (**King et al., 1996**).

Bien que celles-ci ne résultent qu'en partie de lésions ischémiques liées à l'atteinte des *vasa nervorum*, on rattache classiquement la microangiopathie des neuropathies diabétiques, dans

la mesure où les deux types de complications mettent en jeu des mécanismes communs (**Andrés et al., 1999**).

III. LE MECANISME DE L'AUGMENTATION DU STRESS OXYDANT DANS LE DIABETE

III.1. Les sources des radicaux libres aux cours des états d'hyperglycémie

Au moins cinq principales mécanismes peuvent être impliqués dans la genèse d'un stress oxydant dans des conditions d'hyperglycémie chronique : la voie des polyols, la voie des hexosamines, l'activation de la voie de la protéine kinase C, la formation de produits de glycation avancée et la surproduction de radicaux superoxyde par la chaîne respiratoire mitochondriale (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2004).

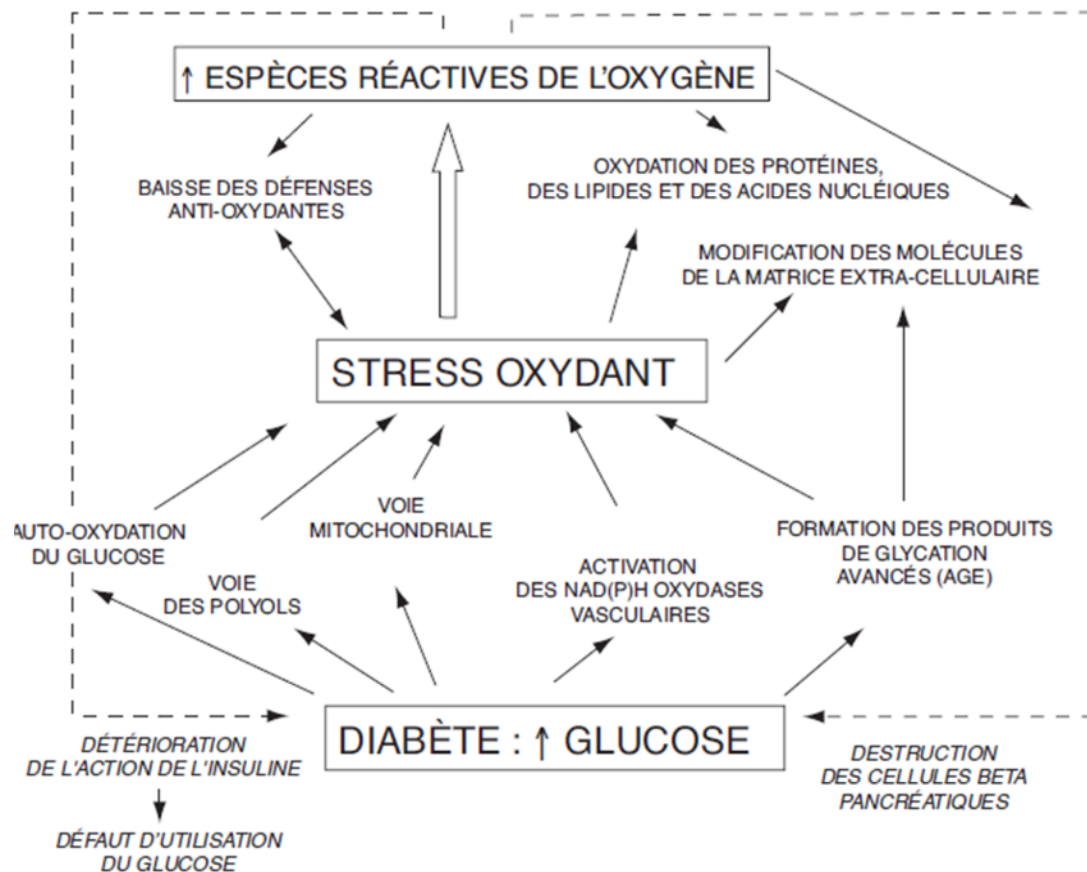


Figure 4 : Relations entre hyperglycémie et stress oxydant (Bonnefont-Rousselot *et al.* , 2004).

III.1.1. L'augmentation du flux de la voie des polyols.

A l'état de normoglycémie, le glucose est transformé par l'hexokinase en glucose-6-phosphate pour rejoindre la glycolyse et la voie des pentoses phosphates. Cependant, dans le cas d'une hyperglycémie, l'hexokinase est saturée. Le glucose, de ce fait, est dirigé vers une voie accessoire, la voie des polyols (Haleng *et al.*, 2007). Dans le diabète, lorsque le taux du glucose augmente, l'hexokinase est alors saturée et le glucose en excès est en partie métabolisé par la voie des polyols dans les tissus insulino-indépendants, comme les reins, le tissu neuronal ou les microvaisseaux rétinien (l'absorption du glucose est proportionnelle à sa concentration sanguine). Cette voie fait intervenir deux enzymes ; L'aldose réductase et la sorbitol déshydrogénase.



Figure 5 : Voie des polyols et stress oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).

Sous l'effet de l'aldose réductase, le glucose est réduit en sorbitol par le nicotinamide adénosine- dinucléotide phosphate (NADPH) (Racch., 2004). Le sorbitol est ensuite oxydé en fructose en présence de NAD⁺ par la sorbitol déshydrogénase (figure 5). L'accumulation de sorbitol et de fructose, peu diffusibles à travers la membrane cellulaire, a de nombreuses conséquences physiologiques qui peuvent expliquer l'élévation d'espèces radicalaires :

- *Une augmentation de la pression osmotique intracellulaire*: L'hyperosmolarité provoque la baisse de l'entrée dans les cellules d'osmolytes physiologiques dont la myo-inositol et la taurine (Mohora et al., 2007). La déplétion cellulaire en myo-inositol entrave le métabolisme des phosphoinositides, la production du diacylglycérol (DAG), formé à partir de ces phosphoinositides, et d'inositol triphosphate (Lietal., 2004). La baisse du DAG induit alors un défaut d'activation de la PKC et une diminution de l'activité Na⁺/K⁺ATPase (Moeckel et al., 2002).
- *Une augmentation du rapport NADH/NAD⁺* : Responsable d'une activation de la protéine kinase C via la biosynthèse de novo de diacylglycérol et la production accrue de radicaux libres (rétine, rein, vaisseaux) (Ido et al., 1997).
- *Une inhibition de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase* : Ce qui conduit à une accentuation de la formation de produits terminaux de glycation (AGE) (Danoda et al., 1996).
- *L'activation de la voie des polyols induit également une altération du potentiel redox des cellules* : La formation du sorbitol s'accompagne d'une baisse des ressources en NADPH au détriment d'autres réactions qui nécessitent également ce cofacteur. Par exemple, la glutathion réductase requiert des niveaux élevés de NADPH pour réduire le glutathion oxydé (GSSG) et restaurer ainsi les niveaux endogènes du glutathion réduit (GSH). La diminution en NADPH entrave le cycle redox de régénération de GSH et aboutit ainsi à la génération du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribue ainsi à la pathogenèse des complications diabétiques (Bravi et al., 1997).

III.1.2. L'activation de la protéine kinase C (PKC)

Un second mécanisme pathogénique proposé dans le développement des complications microvasculaire du diabète et l'activation de protéines kinases (PKC) (Idris *et al.*, 2001). C'est le résultat de la modification des taux de diacylglycérol (DAG) (Idris *et al.*, 2001). Parmi les douze isoformes décrites de PKC, seules trois semblent être activées par les DAG dans la rétine la PKC- α , ϵ et β II (koya & king., 1998). Cette dernière serait plus particulièrement impliquée lors du diabète (Inoguchi *et al.*, 1992). L'augmentation des DAG observées dans des divers tissus, notamment la rétine (Inoguchi *et al.*, 1992 ; Shiba *et al.*, 1993) résulte majoritairement de la stimulation de la voie de biosynthèse de novo à partir des trioses phosphates. L'accumulation de ces intermédiaires provient en effet de l'activation de la voie de glycolyse et pouvant être associée à une diminution de leur métabolisme vers le pyruvate de fait du fait d'une altération de l'activité GAPDH ase, dépendante des cofacteurs NAD⁺.

Les conséquences de l'activation de la PKC par l'hyperglycémie sont multiples. Il a été rapporté qu'une activation de la phospholipase A2 (PLA2) cytosolique, entraîne une libération d'Acide arachidonique, la formation de prostaglandine E2 (PGE2) et l'inhibition des pompes Na⁺/K⁺ATPase (Brownlee., 2005) et contribuant ainsi aux anomalies des flux sanguins locaux, consécutives à l'augmentation des facteurs vasoconstricteurs (d'endothéline) en diminuant ceux vasodilatateurs (NO). Elle induit également l'expression des gènes pro-inflammatoires et augmente la production des ROS (Haleng *et al.*, 2007).

III.1.3. Voie des hexosamines

L'hyperglycémie générerait une augmentation du flux du glucose dans la voie des hexosamine qui consiste en la conversion du glucose en UDP-N-acétylglucosamine (Schleicher & weigert., 2000). L'augmentation du glucose intracellulaire conduit à la formation accrue de Fructose-6-Phosphate, qui est métabolisé en Glucosamine-6-Phosphate en présence de glutamine, par la glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT), puis finalement transformé en UDP-N-acétylglucosamine (UDP-GlcNac) (Kolm-Litty *et al.*, 1998). La formation de (UDP-GlcNac) aurait comme conséquence l'activation du facteur de transcription Sp-1 (Du *et al.*, 2000) en augmentant sa O-glycosylation et réduisant sa phosphorylation (Kadonaga *et al.*, 1998 ; Haltiwanger *et al.*, 1998). L'accumulation de l'intermédiaire métabolique, fructose-6-phosphate, résulterait d'une altération de l'activité GAPDHase, par une production mitochondrial des ROS (Du *et al.*, 2000) et ou une baisse du rapport NAD⁺/NADH, H⁺ par la voie des polyols. L'activation de cette voie aboutit pour sa part à une augmentation de Glucosamine-6-Phosphate qui stimule à son tour l'expression de gènes tels que PAI-1 et TGF- β 1, favorisant probablement le développement de complications en particulier vasculaires et rénale (Kerlanet *et al.*, 2003).

Les cibles potentielles intracellulaires de l'UDP-GlcNac sont nombreuses, diverses protéines cytoplasmiques et nucléaires peuvent effectivement être O-glycosylées. L'activation de

la voie des hexosamines pourrait ainsi induire plusieurs modifications biochimiques, comme l'expression des gènes et la fonction de protéines, impliquée dans la pathogenèse des complications diabétiques. La voie des hexosamines serait également responsable des dysfonctionnements cellulaires qui mènent à l'insulino-résistance liée à l'hyperglycémie ou l'hyperlipidémie (Hawkins *et al.*, 1997 ; Buse, 2005).

III.1.4. La production de produits terminaux de glycation (AGE)

Les produits de glycation avancés, ou AGEs (*Advanced glycation end products*), sont générés en situation d'hyperglycémie, par réaction non enzymatique entre des oses simples et des acides aminés. Leur accumulation conduit à des altérations des protéines intracellulaires, matricielles, et sécrétées, responsables d'un dysfonctionnement biologique, en particulier au niveau endothélial (Wautier *et al.*, 2014). Une partie importante des effets des AGEs est relayée par l'activation de récepteurs spécifiques, les RAGE, qui permet l'induction d'un stress inflammatoire et oxydatif. De nombreux arguments cliniques et expérimentaux plaident en faveur d'un rôle important du système AGE/RAGE dans la physiopathologie des complications micro ou macrovasculaires du diabète. Il est donc légitime dans ce contexte de développer des stratégies ciblant soit la production des AGEs soit la destruction des RAGE (Vatier *et al.*, 2010).

Les conséquences de la formation des AGE, directement ou via leur liaison avec des récepteurs membranaires (RAGE) sont multiples : altérations de la viabilité cellulaire, anomalies de la perméabilité cellulaire et de la vasomotricité (diminution de la vasodilatation par réduction de la production de NO et/ou augmentation de l'endothéline), stress oxydant, altérations de la matrice extra-cellulaire (hyperproduction du mésangium, anomalies de l'élasticité pariétale, réactions de pontage inter-protéines, modifications des charges électro-négatives des membranes (Wautier & Guillausseau, 2001). Les AGE extracellulaires sont également capables de se fixer sur des récepteurs membranaires spécifiques dénommés RAGE (receptor for advanced glycation endproducts), présents sur de nombreux types cellulaires comme les monocytes, les macrophages, les lymphocytes ou les cellules endothéliales. Le taux de ces récepteurs semble régulé de façon négative par l'insuline (Vlassara & Bucala, 1996). La fixation des AGE à leur récepteur induit un stress oxydant qui s'accompagne d'une augmentation de l'activité du facteur de transcription NF- κ B (Yan *et al.*, 1994).

III.1.5. L'augmentation de la production des radicaux libres par la mitochondrie

L'efficacité de la chaîne respiratoire et, en particulier, des mécanismes intervenant au niveau du complexe IV est que 98% de l'oxygène consommé au niveau de la mitochondrie sont transformés en eau. Des «fuites» dans le système entraînent néanmoins une faible production d'une espèce radicalaire, l'anion superoxyde (obtenu par réduction univalente de l'oxygène). La mitochondrie dispose cependant de superoxyde dismutase (MnSOD, forme mitochondriale à manganèse) qui transforme l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce peroxyde d'hydrogène est alors transformé en eau par la catalase également présente dans la mitochondrie (Defraigne., 2005).

Cependant, dans certaines circonstances (Ischémie suivie de reperfusion, par exemple), la proportion de forme semiquinone contenue dans la mitochondrie augmente. Dans ce cas, la forme semiquinone transfère ses électrons directement à l'oxygène, ce qui conduit à une production accrue du radical superoxyde. De même, lorsque la différence de potentiel électrochimique à travers la membrane mitochondriale interne est élevée, le transport d'électrons dans le complexe III est partiellement inhibé; ceci augmente la proportion de forme semi-radicalaire de l'ubiquinone (ubisemiquinone). La prolongation de la durée de vie de l'ubisemiquinone conduit à un fort accroissement de la production d'anion superoxyde. Il semble exister une valeur seuil de potentiel au-delà de laquelle la production d'anion superoxyde est fortement accrue (Brownlee.,2001 ; Brownlee., 2003 ; Defraigne., 2005).

Différents arguments suggèrent que l'hyperglycémie est impliquée dans ce processus, en particulier parce que les mécanismes de régulation de la chaîne respiratoire sont perturbés. En effet, suite à une production excessive d'équivalents de réduction (de donneurs d'électrons) par le cycle de Krebs, l'hyperglycémie augmente le gradient de protons au-delà de cette valeur-seuil, comme cela a été démontré dans des cellules endothéliales en culture. Néanmoins si, toujours en culture de cellules, on induit une surexpression de la MnSOD et de la protéine de découplage-1 (UCP-1) qui entraîne le collapsus du gradient électrochimique mitochondrial, le signal enclenché par l'hyperglycémie est aboli (Brownlee., 2001).

L'accumulation de l'anion superoxyde inhibe partiellement une enzyme de la glycolyse, la GAPDH, détournant de fait les métabolites de la glycolyse en aval vers les différentes voies de conversion du glucose en excès (Du et al., 2000) ce qui induit une augmentation de flux de dihydroxyacétone phosphate (DHAP) vers la production de DAG, activateur de PKC, et des trioses phosphate vers la formation de méthylglyoxal, l'un des précurseurs intracellulaires majeurs d'AGE, hautement réactif avec les protéines (Artigu et al., 2005).

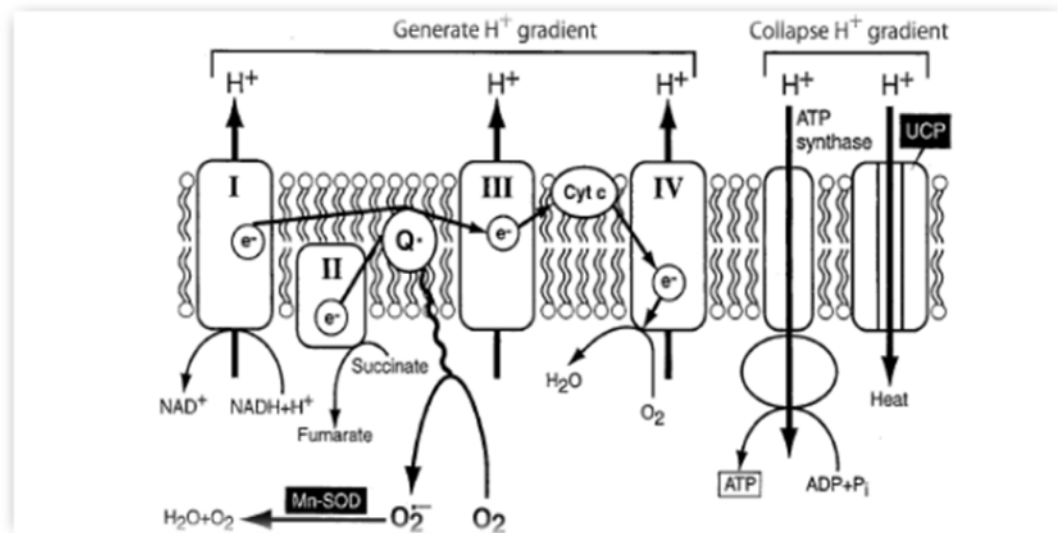


Figure6 : production de l'anion superoxyde par la mitochondrie suite à l'hyperglycémie (Brownlee., 2005)

III.2. Altération des défenses antioxydantes au cours du diabète

L'effet de la production accrue des ROS est potentialisé par la réduction des défenses antioxydantes. Une diminution des défenses antioxydantes ou non enzymatiques comme le GSH ou la Vitamine E peut conduire à l'apparition d'un stress oxydant dans les tissus. De nombreuses études, chez les patients diabétiques de types 1 ou 2 ont montré une diminution significative de la capacité antioxydante dans de la plasma (Maritim *et al.*, 2003). Si la glycation des enzymes pourrait être en partie responsable de la diminution de l'activité antioxydante, l'augmentation suggère plutôt un mécanisme compensatoire des cellules en réponse à la production excessive de radicaux libres (Benaïcha., 2008).

III.3. Apport des thérapeutiques antioxydants dans le traitement du diabète

Etant donné l'implication du stress oxydant dans la pathologie diabétique, il est intéressant de considérer l'apport potentiellement bénéfique des antioxydants, mais aussi des substances limitant l'action cellulaire des AGE jouant un rôle dans les complications du diabète.

Si le stress oxydant, par ses multiples effets, est impliqué dans les complications du diabète, et en particulier dans les complications vasculaires, la supplémentation en antioxydants, comme thérapeutique d'appoint, pourrait se révéler d'un grand intérêt; elle permettrait de retarder la survenue de ces complications ou d'en ralentir l'évolution. Les informations dont on dispose actuellement sur les effets bénéfiques d'un traitement à base d'antioxydants comme la Vitamine E, Vit C, l'acide lipoïque sont encore très fragmentaires. Cependant, les résultats de quelques essais cliniques sur de courtes périodes semblent encourageants (Nasri & Hadj-Brahim., 2014).

Une supplémentation en vitamine E chez des patients diabétiques a eu comme conséquences de favoriser l'action de l'insuline, d'améliorer le maintien de l'équilibre glycémique en abaissant les valeurs de la glycémie, de l'hémoglobine A1c, des fructosamines (**Jain et al., 1996 ; Paolisso et al. 1993**), de diminuer le taux plasmatique des marqueurs de la peroxydation lipidique et de réduire la susceptibilité à l'oxydation des LDL (**Jain et al., 2000**).

Des essais cliniques ont également été réalisés pour évaluer les effets de l'administration d'acide alpha -lipoïque, molécule possédant des propriétés antioxydantes, dans le traitement de neuropathies chez des patients diabétiques. Dans une étude multicentrique en double aveugle, effectuée sur 328 patients diabétiques de types 2, certaines anomalies cliniques de la neuropathie sont nettement améliorées après un traitement par l'acide alpha-lipoïque pendant trois semaines (**Zeigler et al., 1995**).

De nombreuses plantes médicinales sont traditionnellement utilisées dans le traitement du diabète et les polyphénols contenus dans certaines de ces plantes seraient à l'origine de leurs effets thérapeutiques (**Scalbert et al., 2005**). L'administration aiguë ou chronique de polyphénols dans des modèles animaux a montré des effets sur la glycémie.

VI. PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE

VI.1. Historique de la phytothérapie

L'humanité n'a pas attendu la seconde moitié du XX^e siècle pour se soigner. Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des médecines selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé et de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement. L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité (Eddouks *et al.*, 2007).

La phytothérapie peut se prévaloir d'une histoire multiséculaire qui remonte aux premières civilisations. L'œuvre d'Hippocrate, rassemblant les drogues de l'Occident et celles qui ont été héritées des Perses, domine toute l'antiquité gréco-latine. Durant la période médiévale se développent les jardins botaniques dans les couvents et les monastères où l'on cultive les simples. La Renaissance est l'ère de découvertes nombreuses tant sur le plan des espèces que sur celui de la science avec Paracelse, puis Linné.

Au XIX^e siècle, avec les progrès de la chimie, de nombreux principes actifs d'origine végétale sont isolés : morphine, quinine, alcaloïdes de l'ergot de seigle. C'est ainsi qu'au fil des siècles la notion de médicament s'est dégagée de celle plus vaste de drogue active, mais les deux concepts coexistent encore de nos jours.

Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à la richesse des produits dits du métabolisme secondaire, celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal (Eddouks *et al.*, 2007).

De manière similaire, l'intrication actuelle entre plantes et aliments a des racines remontant aux premières civilisations humaines. De nos jours, la notion de vitamines et de minéraux semble acquise pour tout à chacun, favorisant l'apparition de nombreux compléments alimentaires contenant des extraits végétaux (Clément., 2005).

Actuellement, selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 75 % de la population mondiale, principalement dans le monde en développement, dépendent des médicaments botaniques pour leurs besoins de base en matière de soins de santé.

Le mot phytothérapie provient de 2 mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels. On peut la distinguer en trois (3) types de pratiques :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.
- Une pratique basée sur les avancées et preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs dans les plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique débouche suivant les cas sur la fabrication de médicaments pharmaceutiques ou de phytomédicaments, et selon la réglementation en vigueur dans le pays, leur circulation est soumise à l'autorisation de mise sur le marché pour les produits finis, et à la réglementation sur les matières premières à usage pharmaceutique (MPUP) pour les préparations magistrales de plantes médicinales, celles-ci étant délivrées exclusivement en officine.
- On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.
- Une pratique de prophylaxie déjà utilisée dans l'antiquité. Nous sommes tous phytothérapeutes sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage de la ciboulette, de l'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert ...Etc. Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (**Benghanou., 2012**).

VI.2. Les principes actifs

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pour-cent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel.

Des principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés. Par exemple : L'oranger; ses fleurs sont sédatives; et son écorce est apéritive. Chez certaines plantes, seule une partie de la plante peut être utilisée par exemple: le ginseng (une plante originaire d'Asie du Nord-est) dont seule la racine contient des substances tonifiantes (**Benghanou., 2012**).

Pour plusieurs plantes, les composés actifs responsables de l'activité pharmacologique ont été identifiés et isolés et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets thérapeutiques ont été partiellement ou complètement élucidés. Les plantes sont une source inépuisable de substances biochimiques : tanins, glucosides, mucilages, flavonoïdes, saponines,

résines, gommés etc., et qui procurent des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie synthétique et combinatoire ne peut nous offrir (Eddouks et al.,2007).

VI.3. Précautions d'emploi

Certaines plantes contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement puissants, d'autres sont toxiques à faible dose. Le fait que l'on n'utilise que des plantes ne signifie pas que cela est sans danger.

La pharmacologie reconnaît l'action bénéfique de certaines plantes et s'attache donc à extraire le principe actif. La consommation « brute » de la plante induit la consommation d'autres produits contenus dans la plante que le principe actif, ne permettant ainsi pas de connaître la dose exacte de principe actif ingéré entraînant un risque de sous-dosage ou de surdosage. Pour certains médecins phytothérapeutes, les autres principes vont atténuer les effets secondaires en entrant en interaction (Bouxiid., 2012).

Il faut noter que la composition d'une plante peut varier d'un spécimen à l'autre, dépendant du terrain, des conditions de croissance, d'humidité, de température, d'ensoleillement, de même, il ne faut pas utiliser des plantes d'origine douteuse puisque les facteurs de pollution : la cueillette et les méthodes de conservation, de stockage... peuvent altérer les propriétés des plantes. Il convient aussi d'éviter les plantes sèches vendues sous sachet transparent car la lumière altère en partie leurs propriétés (Bouxiid., 2012).

VI.4. Apports de la phytothérapie dans le traitement du diabète:

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés. L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, surtout dans le cas des maladies chroniques, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les pays en voie de développement font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle, complémentaire ou parallèle pour se soigner (Eddouks et al., 2007).

Longtemps avant l'élucidation des mécanismes physiopathologiques impliqués dans le diabète, le traitement traditionnel de cette maladie était particulièrement centré sur le traitement de ses symptômes externes, la soif et la polyurie. Comme traitement du diabète, les médecins grecs préconisaient alors à leurs patients un traitement de la soif intense. Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles. Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1 200 espèces végétales, soit plus

de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes. Les investigations ethnopharmacologiques sont actuellement centrées sur la validation expérimentale des propriétés curatives, traditionnellement attribuées à ces remèdes. Dans 81 % des cas, les indications traditionnelles de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement confirmées. Certaines de ces plantes, dont l'activité pharmacologique a été confirmée sur des modèles animaux, ont également fait l'objet de plusieurs études cliniques (Eddouks *et al.*, 2007).

Les plantes médicinales ou leurs extraits utilisés dans le traitement du diabète peuvent agir par différents mécanismes, certains se révèlent véritablement hypoglycémiantes en agissant à la manière de l'insuline ou des autres médicaments hypoglycémiantes, en empêchant l'absorption intestinale du glucose, ainsi, son réabsorption rénale, en stimulant la sécrétion d'insuline à partir des cellules β et en diminuant également la sécrétion du glucagon. Ils accélèrent la consommation du glucose, en stimulant la glycogénèse et la glycolyse hépatique. D'autres substances, agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire en améliorent la sensibilité des tissus cibles à l'insuline ou sur les complications du diabète en neutralisant l'effet des radicaux libres qui peuvent être impliqués dans le dysfonctionnement des cellules β pancréatiques, et en favorisant la régénération de ces dernières.

Ces composants ont d'autres propriétés, tels que : l'apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules β , la diminution des activités du cortisol, la prévention de la conversion de l'amidon en glucose, ainsi, ils ont une action inhibitrice sur les enzymes digestives tels que l' α -amylase, l' α -glucosidase et la β -galactosidase (Jarald *et al.*, 2008 ; Hertel., 2003).

VI.5. Utilisation des plantes médicinales en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète en Algérie

L'Algérie, de par sa situation géographique, bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif.

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris le diabète.

Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales antidiabétiques dans l'Ouest Algérien et l'Est Algérien soulignent l'importance

qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète (Abourejajal, 2016).

Dans la région de Constantine, les informations ethnobotaniques recueillies par en Talaa et al., (2016) confirment l'importante dépendance de la population locale vis-à-vis les plantes médicinales pour traiter le diabète. Bouzabata., (2013) a identifié 28 espèces de plantes traditionnellement utilisées pour traiter le diabète dans le nord-est de l'Algérie et sont utilisées seules ou en combinaison avec les médicaments de synthèse. Azzi et al., (2012) ont identifié 60 espèces dans le sud-ouest et Allali et al., (2008) 58 espèces dans la région nord-ouest. Ces résultats soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète.

Les plantes médicinales ayant un effet sur le diabète semblent agir à des niveaux différents. D'après les études pharmacologiques, plusieurs mécanismes d'action des groupements actifs ont été rapportés. Des exemples de plantes pour lesquels le mode d'action a été mis en évidence sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1(a) : Quelques plantes hypoglycémiantes utilisées en Algérie et leurs mécanismes d'action

Nom scientifique	Partie utilisée	Mécanismes d'action
<i>Ficus carica L</i>	– Fruits – Feuilles	Augmentation de l'absorption périphérique du glucose, augmentation de la glycogénèse, action possible à travers la stimulation de la synthèse de l'insuline (EL-Shobaki et al., 2010 ; Rashidi & Nouredini., 2011).
<i>Trigonella Foenum-greacum L</i>	– Graines – Feuilles	Action sur la sécrétion d'insuline, inhibition de l'activité de l' α -glucosidase (Vats et al., 2002), action possible sur la régénération des cellules β (Abdel-Barry et al., 1997), Inhibition de l'absorption du glucose, augmentation de la glycogénèse hépatique (Oueslati & Ghédira., 2015).
<i>Artemisia herba-alba Asso</i>	– Parties aériennes	Réduction de l'insulinorésistance (Hamza et al., 2010), augmentation de l'utilisation périphérique du glucose (Al-Shamaony et al., 1994)
<i>Ajuga iva L</i>	– Plante entière	Inhibition de l'activité de l' α -glucosidase, inhibition de l'absorption du glucose (Hsieh et al., 2014)
<i>Cinnamomum cassia</i>	– L'écorce du cannellier	Inhibition de l'activité de α -amylase et α -glucosidase (Adisakwattana et al., 2011)
<i>Allium sativum L</i>	– Bulbes	Stimulation de l'insulinosécrétion, action possible sur l'augmentation de l'utilisation du glucose et l'inhibition de son absorption intestinale (Eidi et al., 2006).

Tableau 1(b) : Quelques plantes hypoglycémiantes utilisées en Algérie et leurs mécanismes d'action

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Mécanismes d'action
<i>Phoenix dactylifera</i> <i>L</i>	- Dattier - Nakhla	Inhibition de l'activité de α -glucosidase et α -amylase (Khan et al., 2016).
<i>Olea europea L</i>	- Olive - Zitoun	Inhibition de l'activité de α -glucosidase et α -amylase, inhibition de l'absorption du glucose (Wainstein et al., 2012)
<i>Punica granatum L</i>	- Grenadier - Romman	Inhibition de l'absorption intestinale du glucose, augmentation de la sécrétion d'insuline, protection du pancréas, augmentation de nombre de cellules β (Khalil., 2004).
<i>Marrubium vulgare</i>	- Marrube blanc - Maroubia	Action sur la sécrétion de l'insuline et/ou inhibition de sa dégradation (Boudjelal et al., 2012).
<i>Allium cepa L</i>	- Oignon - Besla	Augmentation de la sécrétion d'insuline, inhibition de l' α -glucosidase, augmentation de l'adiponectine (Akash et al., 2014).
<i>Centaurium erythraea Rafn</i>	- Petite centaurée - Meraet el h'nech	Inhibition de l'action de α -glucosidase et α -amylase (Tahraoui et al., 2010).
<i>Anabasis articulata</i>	- Forssk	Action sur l'insulinosécrétion, effet insulino-like des saponines (Kambouche et al., 2009).
<i>Camellia Sinensis</i>	- Thé vert	Action possible sur : la régénération des cellules β , la diminution de l'absorption intestinale du glucose, l'augmentation de l'activité de l'insuline (Tas et al., 2005)

Matériels et méthodes

MATERIEL ET METHODES

MATERIELS

I.1. Matériel animal (Entretien des animaux)

L'étude a été réalisée sur des rats mâles de souche *Wistar albinos*, pesant entre 200 et 250 g, âgés entre 10 et 12 semaines (au début de l'expérimentation) et produits au niveau de l'animalerie du département de biologie animale, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine.

Les 24 rats sont logés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable de dimensions (36cm ×25cm) où chaque cage regroupe 2 rats. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture « type d'aliment standard, fournies par l'Office National des Animaux du Bétail d'Alger (ONAB) ».

Avant leur utilisation les rats subissent une période d'adaptation de 3 semaines au niveau de l'animalerie à une température constante (22 ± 2) °C 12h, une humidité relative de 40 à 60% et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique. Ils ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

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

- Le rat est le mammifère d'expérimentation le plus utilisé et compte pour à peu près 20% du nombre total de mammifères utilisés dans la Recherche
- Il dispose des gènes homologues de presque tous les gènes humains associés à des maladies connues chez l'homme (Olivier, 2006).
- Une résistance vis à vis de diverses contaminations.
- Une facilité de contention et de manipulation.
- Il représente l'organisme modèle de plusieurs études similaires citées par la littérature (Matthias *et al.*, 1996).

I.2. Matériel végétal (Récolte de la plante)

La plante est récoltée dans la région de Bouhmama wilaya de Khanchla dont l'altitude est d'environ 1200 m. La récolte est réalisée à la fin du mois de Mai 2016. L'échantillon est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre pendant 21 jours. Devenue sèche, la partie aérienne de la

plante est mouluée, stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son utilisation.

I.3. Matériel chimique et appareils

I.3.1. Réactifs

- La Streptozotocin (STZ), l'Acide Thiobarbiturique (TBA), le 1,1,3,3-Tetraoxypropane (TEP), l'Acide Thionitrobenzoïque (DTNB), le Glutathion réduit (GSH) sont achetés du *SIGMAALDRICH CO., ST Louis, Mo.*
- Le Tris, le KH_2PO_4 , le K_2HPO_4 , le NaH_2PO_4 et le Na_2HPO_4 et l'EDTA sont achetés de *SIGMAALDRICH CO., ST Louis, Mo.*
- L'acide citrique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), Citrate de Sodium ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5$) sont achetés de Panreac quimica, sa ; Espana.
- Le Trichloroacide Acétique (TCA) est acheté de *FLUKA CHEMIKa ; Switzerland.*
- Le peroxyde d'hydrogène, et le KCl sont achetés de *PANREAC QUIMICA, SA ; Espana.* Len-butanol et acheté de *PROLAB, MERK EUROLAB.*

I.3.2. Appareils

- Centrifugeuse *Sigma.*
- pH-mètre *Hanna.*
- Spectrophotomètre.
- Balance.
- Agitateur avec plaque chauffante.
- Glucomètre *Acut Chek.*
- Etuve.

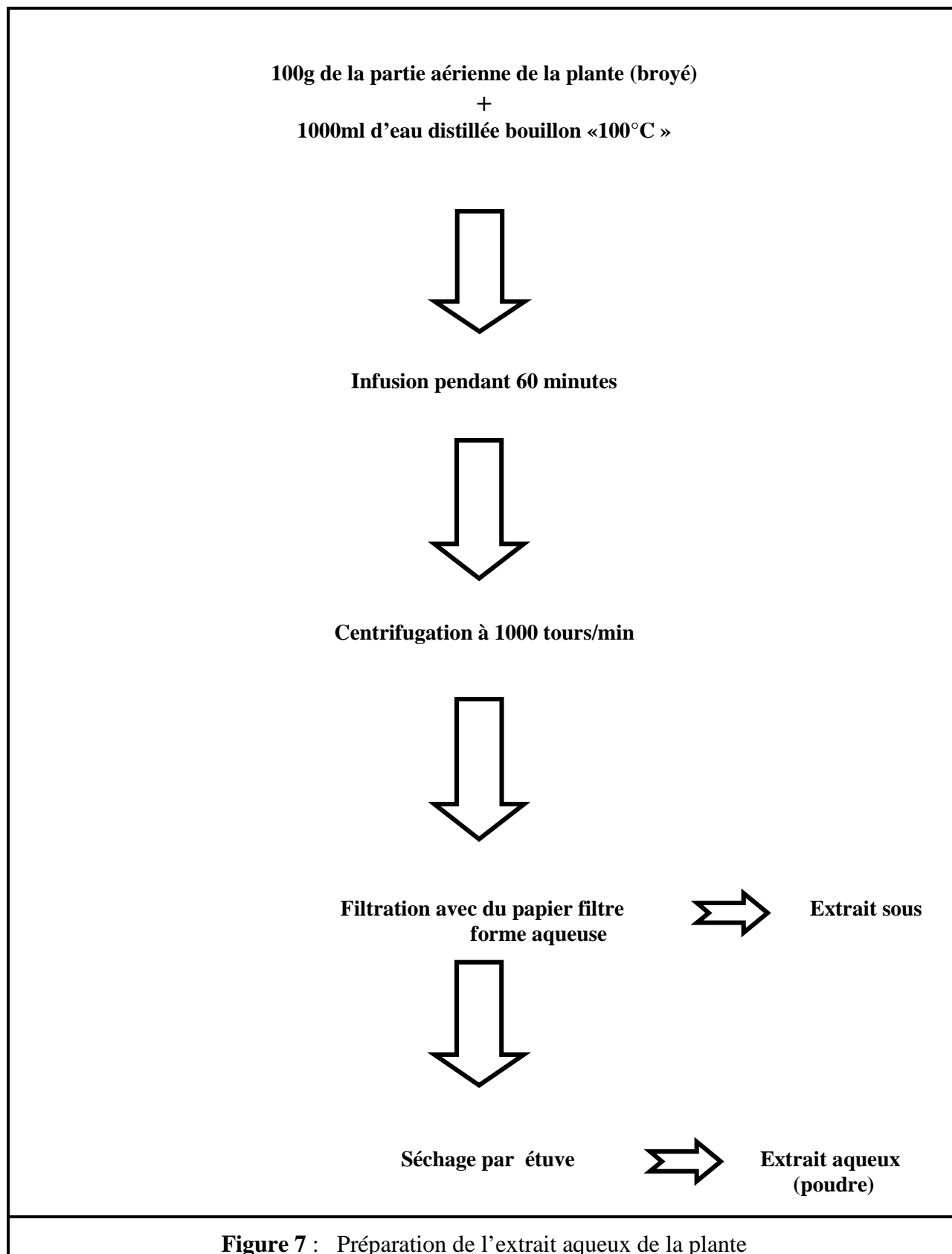
II. METHODES

II.1. Méthodes d'extraction -Préparation de l'extrait aqueux infusé-

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de la plante est réalisée par infusion dans l'eau distillée bouillon. 100g de poudre de la partie aérienne de la plante est additionné à 1000 ml d'eau distillée bouillon.

Après broyage de la partie aérienne de la plante par un moulin à café et chauffage de l'eau distillée à 100°C par une plaque chauffant ; 100 g de poudre de la plante sont additionnés à 1 litre d'eau distillée bouillon puis laissé 60 minutes pour infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite filtrée trois fois sur du coton hydrophile, centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 minutes pour se débarrasser des débris puis filtré sur papier Wattman N°1.

Le filtrat (720 ml \pm 40) est ensuite séché à l'étuve à 40 °C. La poudre obtenue constitue l'extrait aqueux de la plante.



La conservation de l'extrait aqueux de la plante à au congélateur est une condition nécessaire afin de garder intacte les molécules extraite de la partie aérienne de la plante (figure N 7)

II.2. Méthodes de l'étude de l'activité antidiabétique et antioxydante de l'extrait aqueux de la plante

II.2.1. Induction du diabète

Après une période de jeûne d'une nuit (privation de la nourriture pendant 16 heures mais pas de l'eau), le diabète a été induit chez les rats par injection intrapéritonéale d'une solution fraîchement préparée de STZ (Sigma ST Louis, Mo) à une dose de 60 mg/kg de poids corporel soit un volume de 2 ml/kg (qui détruit les cellule β). La streptozotocine est dissoute dans un tampon citrate de sodium 0,1M pH 4,5.

Les groupes de rats non diabétiques ont reçus par voie intrapéritonéale le même volume de tampon citrate de sodium 0,1M pH 4,5.

Après injection, les bouteilles d'eau ont été remplacées par des bouteilles contenant une solution de glucose 5% pendant la nuit afin de surmonté l'hypoglycémie induite par la STZ suite à la destruction des cellules β pancréatiques et la libération massive d'insuline. Cette hypoglycémie peut être fatale pour les rats.

Après 48 heures de l'injection (temps de développement du diabète), le diabète a été confirmé chez les rats à STZ par mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre de type *Acut Chek*. Seuls les rats ayant le taux de glucose sanguin supérieur à 2,5 g/l ont été considérés comme diabétiques et retenus pour cette expérimentation.

II.2.2. Traitement des animaux

Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en quatre groupes de six rats chacun et gardés dans des mêmes conditions. Le début du traitement par l'extrait aqueux de la plante ou par l'eau distillée pour les témoins commence une semaine après l'induction du diabète et dure 28 jours (durée du traitement).

Les groupes des animaux

- **Groupe I (6 rats)Contrôle sainou témoin sain** : Qui reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 4 ml/kg d'eau distillée pendant 28 jours.
- **Groupe II (6 rats)Contrôle diabétiqueou diabétique témoin** : Ces rats reçoivent chaque jour par gavage gastrique 4 ml/kg d'eau distillée pendant 28 jours.

- **Groupe III (6 rats) Sain + Extrait aqueux de la plante** : Reçoivent chaque jour par gavage gastrique 400 mg/kg de l'extrait aqueux de la plante pendant 28 jours.
- **Groupe IV (6 rats) Diabétique + Extrait aqueux de la plante** : Des rats qui reçoivent quotidiennement par voie orale 400 mg/kg de l'extrait aqueux de la plante pendant 28 jours.

II.2.3. Prélèvement sanguin et mesure des paramètres physiologiques

Le sang est prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital et mis dans des tubes contenant de l'héparine pour prévenir la coagulation. Ces prélèvements sont effectués, sur des rats à jeun (12 heures), une journée avant le début de l'expérimentation (une semaine après l'injection de la streptozotocin) puis après chaque semaine de traitement de traitement (J0, J8, J15, J22 et J29).

Après chaque prélèvement sanguin, le sang est mis dans des tubes héparinés, centrifugé à 6000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré et utilisé pour les dosages biochimiques de la glycémie.

La mesure du poids est effectuée à l'aide d'une balance sur des rats à jeun, de façon régulière ; avant l'induction de diabète, avant le début du traitement puis après chaque semaine de traitement juste avant les prélèvements sanguins ou la mesure de la glycémie.

II.2.4. sacrifice des animaux, récupération des organes et préparation de la fraction cytosolique de tissus 10%

Au moment du sacrifice (J29) les organes, les reins et le foie, sont récupérés, rincés par l'eau physiologique saline 0.9 %, aliquotés, puis traités avec de l'azote liquide et conservés à -80. Le jour du travail (dosage), 0.5 g d'organe (une aliquote) est additionné à 5ml de solution tampon Tris-HCl-EDTA 0.1 M pH 7.4, le mélange est homogénéisé à 1200 tours/minute par un homogénéisateur. L'homogénat est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 15 minutes à 4°C.

Le surnageant est récupéré puis centrifugé à 10000 tour /minute pendant 45 minutes à 4°C, La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages du taux de molonyldialdéhyde (MDA), la concentration de glutathion réduit (GSH), l'activité de la catalase (CAT) de la superoxyde dismutase SOD, de la Glutathion peroxydase GPx et de la Glutathion-S-Transférase.

II.3. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang

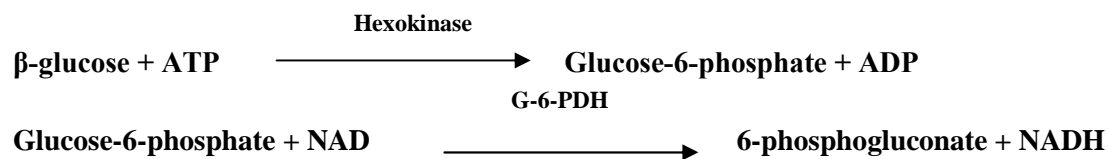
II.3.1. Dosage du glucose

La glycémie peut être dosée par de très nombreuses méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétriques alors que celles pratiquées actuellement sont enzymatiques.

Dans notre étude, la glycémie a été déterminée suivant une méthode enzymatique (Hexokinase /G-6-PDH) en utilisant le Kit de réactif de glucose par un autoanalyseur de type (*Prolab*).

II.3.2. Principe

Le glucose est phosphorylé par l'hexokinase (HK) en présence d'adénosine triphosphate (ATP) et d'ion de magnésium, produisant ainsi du glucose-6-phosphate (G-6-P) et d'adénosine diphosphate (ADP). La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) oxyde en particulier le G-6-P en 6-phosphogluconate avec réduction simultanée du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH).



Une micromole de NADH est produite pour chaque micromole de glucose consommée. Le NADH produit absorbe la lumière à 340 nm et cette augmentation de l'absorbance peut être détectée par spectrophotométrie.

II.4. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant

II.4.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique du foie et des reins.

La peroxydation lipidique hépatique et rénale a été évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'*Ohkawahawa et al., 1979*.

II.4.1.1.Principe

Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress. En milieu acide et à chaud (pH 2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose (lecture à 532 nm), extractible par les solvants organiques comme le butanol.

II.4.1.2. Méthode de dosage

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) des reins nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 25% et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de *n*-butanol.

Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/min, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm. La quantité du MDA dans l'échantillon est

exprimée en nm/gramme des reins. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1,3,3 tetraoxypropane dans les mêmes conditions.

II.4.2. Dosage du glutathion réduit rénal et hépatique.

Le glutathion est un thiol intracellulaire le plus abondant présent dans toutes les cellules animales à des concentrations variables allant de 0.5 à 10 m M et de l'ordre du μM dans le plasma. Le glutathion se compose de trois aminoacides (schéma 8) : l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. De ces trois éléments, la cystéine est l'acide aminé essentiel à la synthèse du glutathion et la plus rare (Lahouel., 2005).

Le glutathion se trouve dans la cellule sous deux formes : une forme oxydée « GSSG » et une forme réduite « GSH » représentant plus de 99% de la quantité total.

SH

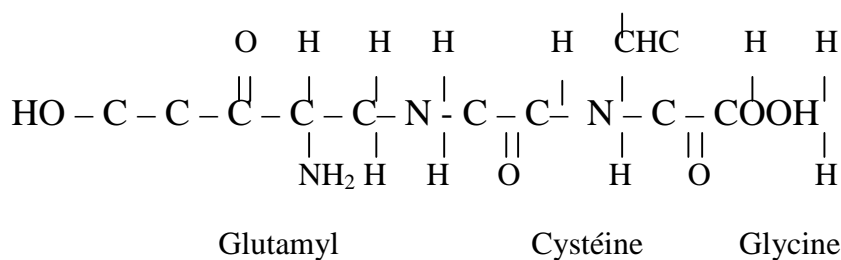


Figure 8 : Formule chimique du Glutathion réduit

II.4.2.1. Principe

Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la méthode la plus employée (Ellman.,1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 mn selon la réaction suivante :

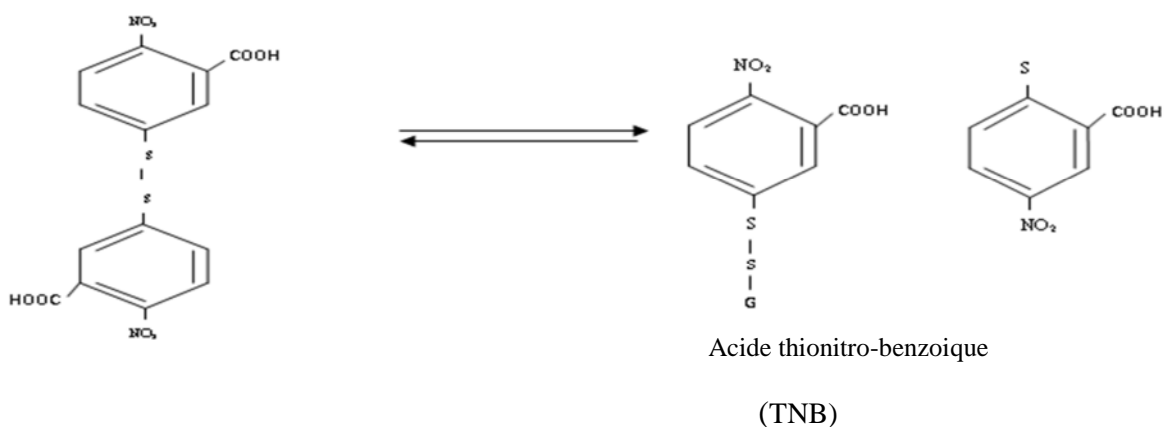


Figure 9: Reaction d'Ellman

II.4.2.2. Méthode de dosage

A 0.5ml de la fraction cytosolique du foie ou des reins nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 10% puis centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 minutes. Ensuite, à 1.7 ml du tampon phosphate 0.1 M, pH : 8 nous avons additionné 0.2 ml de surnageant et 0.1 ml du réactif d'Ellman 0.1M.

La lecture de la densité optique est effectuée après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 10%. Les concentrations du GSH dans l'échantillon sont exprimées en μm /gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du GSH dans les mêmes conditions.

II.4.3. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique :

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode de Clairborne, 1985.

II.4.3.1. Principe :

Le principe repose sur la disparition de l' H_2O_2 à 25°C par la présence de la source enzymatique dans la fraction cytosolique.

II.4.3.2. Méthode de dosage :

Un mélange est constitué de 780 μl de tampon phosphate 0.1 M, pH 7.4, 200 μl d' H_2O_2 (500mM) fraîchement préparé et de 20 μl de la fraction cytosolique.

L'absorbance est lue 240nm chaque 15 seconde pendant 1 minutes et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par minute et par gramme de protéine tissulaire (foie ou reins).

II.4.4. Dosage de l'activité de la SOD cytosolique

L'activité de la SOD cytosolique est déterminée selon la méthode de **Marklund., 1985**.

II.4.4.1. Principe

Le principe repose sur la capacité de l'inhibition de l'autoxydation du pyrogallol par la SOD.

II.4.4.2. Méthode de dosage

Le dosage est réalisé dans un volume final de 3 ml. A 2.85 ml de tampon Tris HCL (0.1M, pH : 7,8) nous avons additionné 0.1 ml de la fraction cytosolique de l'échantillon (foie ou reins), 25 μl de la catalase (30 $\mu\text{mole/l}$ préparé dans un tampon phosphate 0.1M, pH : 9) et 25 μl

pyrogallol (24 mM préparé dans 10mM d'HCl). Le changement de l'absorbance est mesuré à 420 nm après chaque minute dans un intervalle de temps de trois minutes.

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine tissulaire (foie ou reins).

Une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50 % de l'autoxydation de pyrogallol.

II.4.5. Dosage de glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **Flohe & Gunzler., (1984)**, en utilisant H₂O₂ comme substrat.

II.4.5.1. Principe

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984), en utilisant H₂O₂ comme substrat. La formation de GSH peut être détectée indirectement grâce à l'ajoute de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Le groupe sulfhydryl (-SH) du glutathion réagit spontanément avec le DTNB et forme un composé jaune, l'acide 5-thio-2nitrobenzoïque (TNB).

La glutathion réductase catalyse la réaction suivante :



La formation de GSH peut être détectée indirectement grâce à l'ajout de 5,5' dithiobis (2-acide nitrobenzoïque) (DTNB).



Le TNB absorbe à 412 nm et permet de quantifier l'activité de la glutathion réductase. Ainsi, pour chaque molécule de GSH formée, il y aura formation d'une molécule de TNB.

II.4.5.2. Méthode de dosage

Un volume de 0.2ml de cytosol/matrice est récupéré dans un tube contenant 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8. Le mélange est incubé au bain marie à 25°C pendant 05min. 0.2ml d'H₂O₂ 1.3mM est ajouté pour initier la réaction. Après 10min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30min et centrifugé durant 10min à 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans un tube auquel on ajoute 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm après 05min.

II.4.6. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.*, (1974).

II.4.6.1. Principe

Le principe est basé sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

II.4.6.2. Méthode de dosage

Le dosage consiste à faire réagir 25 µl du surnageant avec 100 µl du mélange CDNB (30 mM) ,100 %l GSH (30 mM) et 2,5 ml de BPS. La lecture des absorbances est effectuée chaque min pendant 3 minute à une longueur d'onde de 340 nm pendant 3 min contre un blanc contenant 25 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

III. EVALUATION STATISTIQUE

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type.

Résultats

RESULTATS

I. L'influence de l'administration de l' sur le changement du poids corporel :

La figure 10 représente les résultats obtenus de la variation de poids corporel des groupes des rats normaux et des rats rendus diabétiques par STZ après un traitement quotidien de 28 jours par un extrait aqueux de la plante.

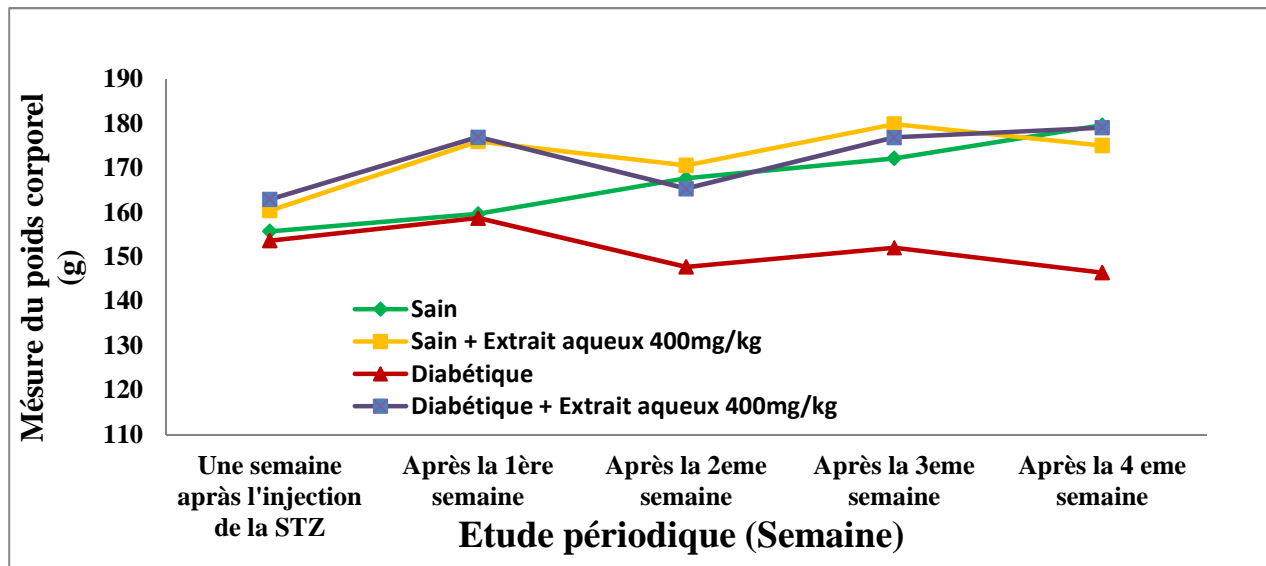


Figure 10 : L'influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur le poids corporel. (400 mg / kg pendant 28 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que l'injection de la STZ induisait un diabète caractérisé par une perte sévère du poids corporel chez le groupe de rats diabétiques témoins. Cette diminution est à l'ordre de 4,69 % par rapport au poids corporel initial après quatre semaines de traitement par l'eau distillée. Par ailleurs, le groupe sain témoin a subi durant les mêmes périodes une augmentation de 15,33 %.

Chez le groupe diabétique traité, l'administration par gavage de l'extrait aqueux de la plante à la dose quotidienne de 400 mg/kg pendant quatre semaines a permis d'améliorer le changement du poids corporel par rapport au groupe diabétique témoin. Chez ce groupe on a constaté une augmentation de 9,89 % après quatre semaines de traitement par rapport au poids initial des rats.

Chez le groupe sain, l'administration de la même dose de l'extrait pendant 4 semaines n'a pas altéré de façon significative la variation de poids corporel par rapport au témoin avec respectivement une augmentation de 14,06 %.

II. Effet de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la Glycémie

Les résultats obtenus dans notre étude « figure 11 » ont montré que la STZ a provoqué après une semaine de son injection une augmentation de la glycémie chez les deux groupes de rats diabétiques (témoin et traité par l'extrait aqueux) par rapport au groupe de rats sains témoins ($4,17 \pm 1,04$ g/l et $3,95 \pm 1,12$ g/l contre $0,60 \pm 0,01$ g/l).

Chez le groupe diabétique témoin, la concentration sérique de glucose est restée élevée durant toute la période de l'expérience et elle est arrivée à $3,57 \pm 1,05$ g/l après 28 jours de traitement par l'eau distillée.

Par contre chez l'autre groupe de rats diabétiques, l'administration par voie orale de l'extrait aqueux plante pendant 28 jours à une dose de 400 mg/kg a provoqué une nette diminution de la glycémie de 54,31% après la 1^{ère} semaine, de 64,23 % après la 2^{ème} semaine, de 73,70 % après la 3^{ème} semaine et de 55,65% et après 4^{ème} semaine du traitement par rapport au groupe diabétique témoin. Cependant la moyenne de la glycémie après la 4^{ème} semaine reste supérieure à celle des témoins sains ($1,58 \pm 0,49$ g/l contre $1,05 \pm 0,14$ g/l).

Concernent le groupe des rats sains, l'administration journalière de la même dose de l'extrait pendant quatre semaines n'a pas altéré la glycémie.

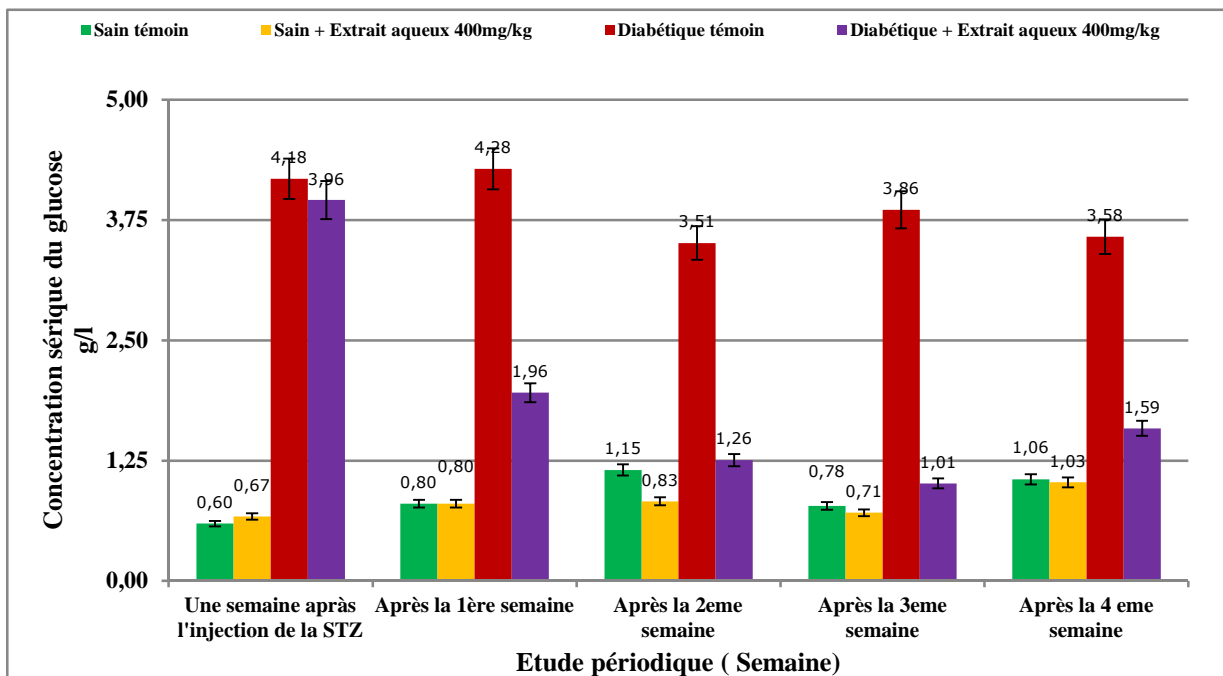


Figure 11: Influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la glycémie des différents groupes de rats (400 mg/kg pendant 28 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

III. Effet de l'extrait aqueux de la plante sur le taux hépatique et rénal en MDA et en GSH

III.1. Variation des concentrations en molonydialdéhyde (MDA)

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante sur le taux tissulaire du MDA sont rassemblés dans la figure 12.

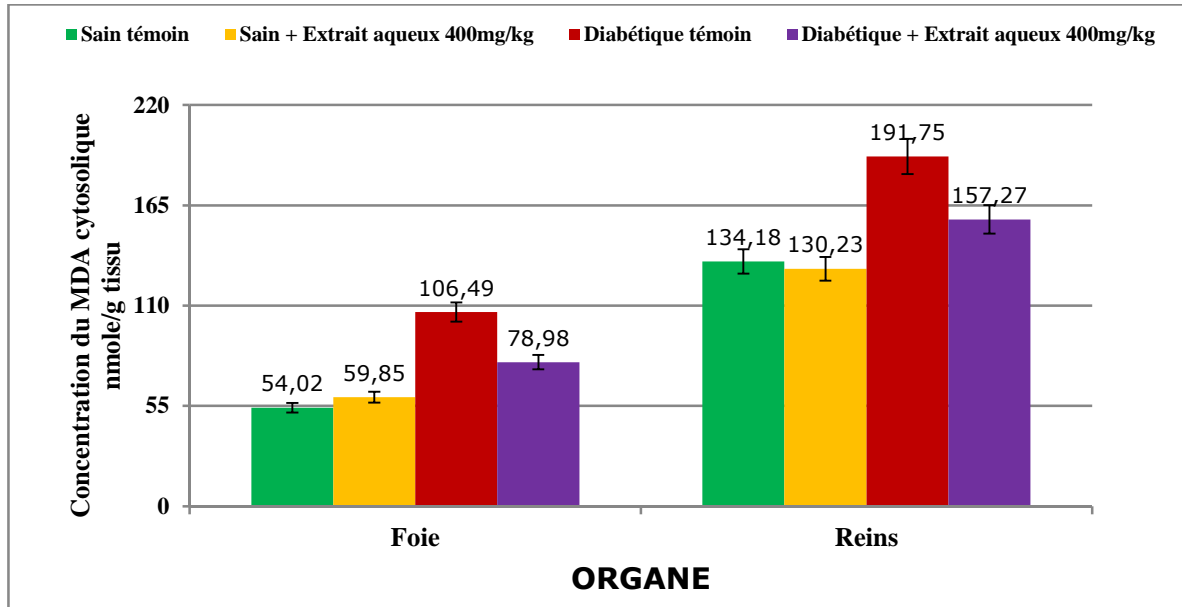


Figure 12: Influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la concentration hépatique et rénale en MDA. (400 mg / kg pendant 28 jours)

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Chez les rats diabétiques témoins, nous avons constaté une augmentation du taux du MDA hépatique cette augmentation est à l'ordre de 97,13 % ($106,49 \pm 10,24$ contre $54,02 \pm 8,81$) et rénal de 42,90 % ($191,75 \pm 7,46$ contre $134,18 \pm 9,05$) par rapport à celui enregistré chez les témoins sains. Par contre chez les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de la plante pendant 28 jours à la dose quotidienne de 400 mg/kg nous avons constaté une diminution du taux du MDA hépatique et rénal. Cette diminution est à l'ordre de 25,84 % dans le foie et de 70,13 % dans les reins. En effet, le taux hépatique en MDA reste supérieur à celui des rats sains témoins ($78,98 \pm 12,78$ contre $54,02 \pm 8,81$).

D'autre part, chez les rats sains nous avons constaté également qu'un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante n'a pas influencé la concentration hépatique et rénale en MDA ($59,85 \pm 10,71$ contre $54,02 \pm 8,81$) dans le foie et ($134,18 \pm 9,05$ contre $130,23 \pm 18,94$) dans les reins.

III.2. Variation des taux hépatique et rénal en glutathion réduit GSH

Les concentrations en GSH ont été déterminées sur des fractions cytosoliques du foie et des reins.

La figure 13 représente la variation du taux hépatique et rénal en GSH chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ traités par un extrait aqueux de la plante par rapport aux témoins.

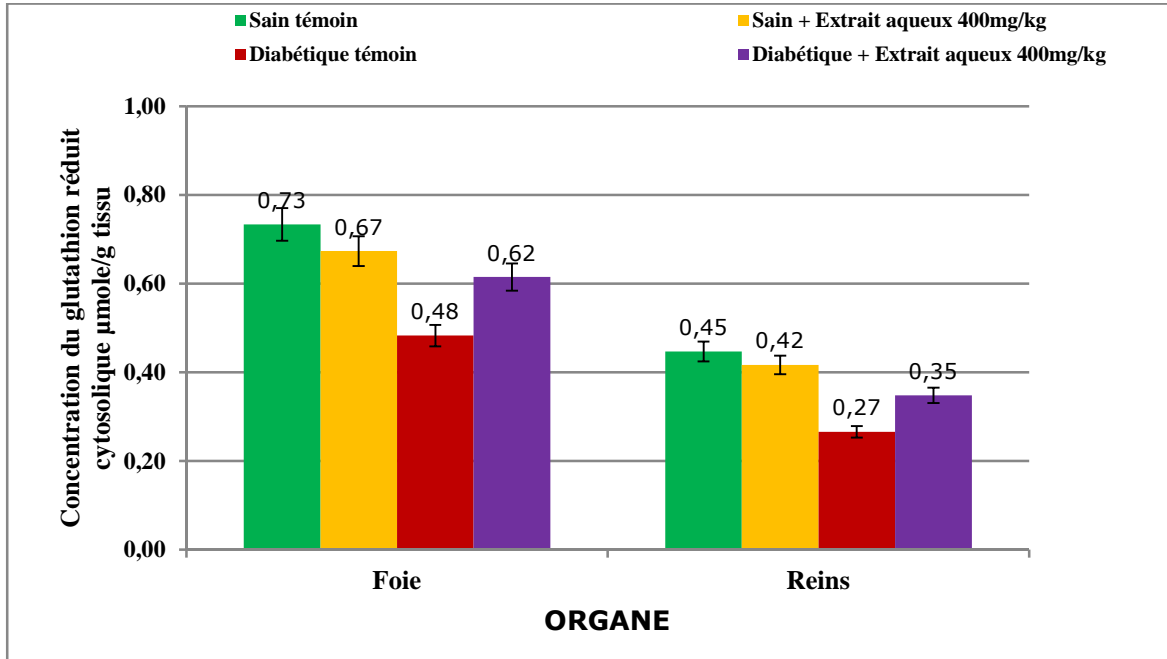


Figure 13: Influence de l'administration de l'extrait aqueux de la plante sur la concentration hépatique et rénale en GSH. (400 mg / kg pendant 28 jours)

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Nous avons constaté une diminution du taux du GSH hépatique et rénal chez les rats diabétiques témoins par rapport aux rats sains témoins. Cette diminution est de 34,24% ($0,483 \pm 0,056$ contre $0,733 \pm 0,104$) dans le foie et de 42,22% ($0,266 \pm 0,022$ contre $0,447 \pm 0,018$) dans les reins. Par contre un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante a augmenté le taux du GSH hépatique de 27,08 % et rénal de 29,62 % chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. En effet, ces taux restent inférieurs à ceux des rats sains témoins ($0,615 \pm 0,074$ et $0,348 \pm 0,014$ contre respectivement $0,483 \pm 0,056$ et $0,266 \pm 0,022$), mais l'étude statistique des résultats n'a révélé aucune différence significative.

VI. Effet de l'extrait aqueux de la plantesur l'activité des enzymes antioxydante

VI.1. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique et rénale

La figure 14 représente les résultats de l'influence d'un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plantesur l'activité de la SOD dans le foie et les reins des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

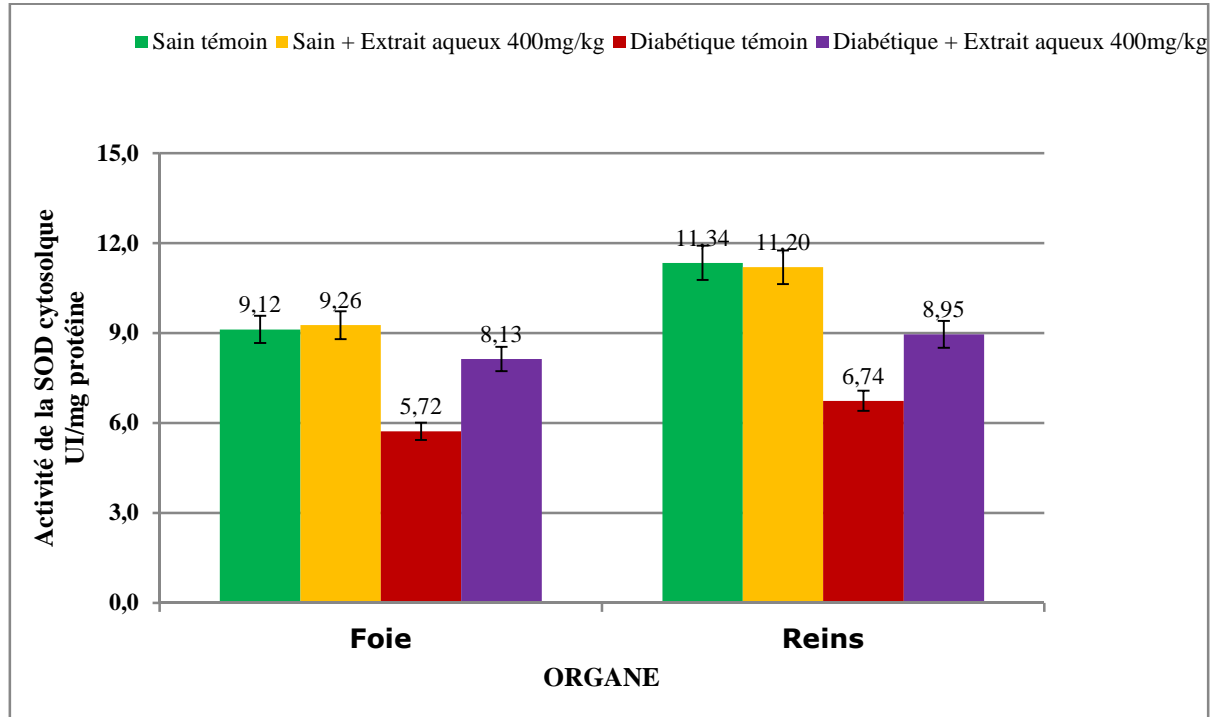


Figure14: Effet de l'extrait aqueux de la plantesur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD). (400 mg / kg pendant 28 jours)

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Nous avons constaté une réduction de l'activité de la SOD au niveau du foie et des reins chez les rats diabétiques témoins par rapport à celles des rats sains témoins. Cette réduction est à l'ordre de 37,28% ($5,72 \pm 0,63$ contre $9,12 \pm 0,50$) dans le foie et de 40,56% ($6,74 \pm 1,03$ contre $11,34 \pm 0,58$) dans les reins. Par contre un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante a provoqué une augmentation de 42,13 % et de 32,78 % de l'activité de la SOD au niveau hépatique et rénale chez les rats diabétiques ($8,13 \pm 1,01$ contre $5,72 \pm 0,63$ et $8,95 \pm 0,90$ contre $6,74 \pm 1,03$).

Nous avons également constaté que chez les rats sains traités par l'extrait aqueux de la plante l'activité de la SOD dans le foie et les reins n'a pas été influencée par rapport à celles enregistrées chez les rats sains témoins.

VI.2. Activité de la catalase (CAT) hépatique et rénale

L'activité de la CAT a été déterminée sur une fraction cytosolique du foie et des reins. La figure 15 présente les résultats l'influence d'un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plantesur l'activité de la CAT dans le foie et les reins des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

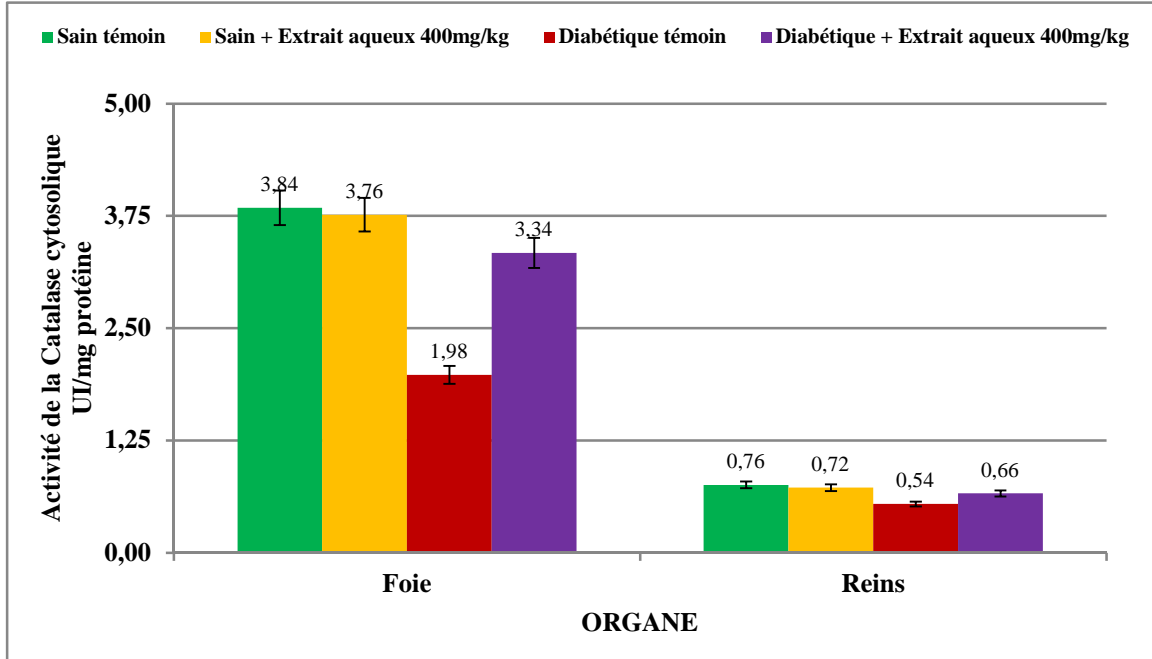


Figure 15: Effet de l'extrait aqueux de la plantesur l'activité de la catalase (CAT). (400 mg / kg pendant 28 jours)

UI/mg de Pro : μ mole d' H_2O_2 consommé/min/mg de protéine

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Dans notre étude nous avons constaté une réduction de l'activité de la CAT au niveau du foie et des reins chez les rats diabétiques témoins par rapport à celles des rats sains témoins. Cette réduction est à l'ordre de 48,98 % dans le foie ($1,980 \pm 0,107$ contre $3,841 \pm 0,151$) et de 28% dans les reins ($0,544 \pm 0,047$ contre $0,756 \pm 0,147$). Par contre un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante a provoqué une augmentation de l'activité de la CAT au niveau hépatique et rénale chez les rats diabétiques par rapport à celle enregistré chez les diabétiques témoins ($3,33 \pm 0,39$ contre $1,98 \pm 0,107$ et $0,66 \pm 0,055$ contre $0,544 \pm 0,047$ respectivement). Cependant, l'activité de la SOD au niveau des reins restent inférieure à celles observé chez les rats sains témoins ($0,661 \pm 0,055$ contre $0,756 \pm 0,147$).

Nous avons également constaté que chez les rats sains traités par l'extrait aqueux de la plante l'activité de la CAT dans le foie et les reins n'a pas été influencée par rapport à celles enregistrées chez les rats sains témoins.

VI.3. Activité de la Glutathion peroxydase (GPx) hépatique et rénale

La figure 16 représente les résultats de l'influence d'un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante sur l'activité de la GPx dans le foie et les reins des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

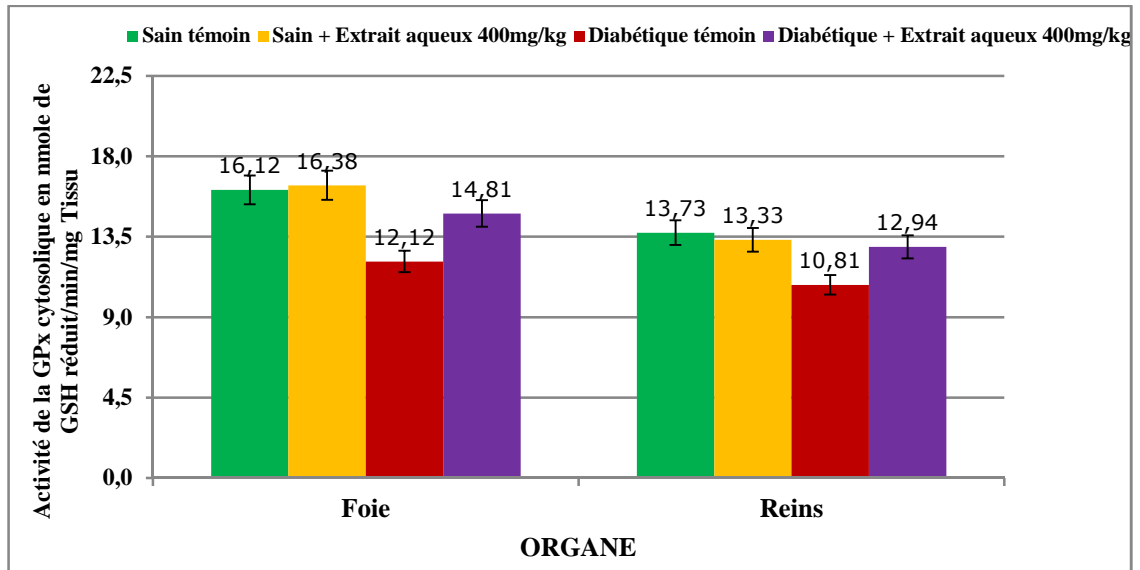


Figure 16: Effet de l'extrait aqueux de la plante sur l'activité de la Glutathion peroxydase (GPx). (400 mg / kg pendant 28 jours)

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Nous avons constaté une réduction de l'activité de la GPx au niveau du foie et des reins chez les rats diabétiques témoins par rapport à celles des rats sains témoins. Cette réduction est à l'ordre de 24,81 % dans le foie ($12,12 \pm 0,34$ contre $16,12 \pm 0,98$) et de 21,26 % dans les reins ($10,81 \pm 0,92$ contre $13,73 \pm 0,76$). Par contre un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante a provoqué une augmentation de 22,19 % et de 19,90 % de l'activité de la GPx au niveau hépatique et rénale chez les rats diabétiques ($14,81 \pm 1,02$ contre $16,12 \pm 0,98$ et $12,94 \pm 0,98$ contre $13,73 \pm 0,76$).

Nous avons également constaté que chez les rats sains traités par l'extrait aqueux de la plante l'activité de la GPx dans le foie et les reins n'a pas vraiment changé par rapport à celles enregistrées chez les rats sains témoins.

VI.4. Activité de la Glutathion-S-Transferase (GST) hépatique et rénal

L'activité de la GST a été déterminée sur une fraction cytosolique du foie et des reins. La figure 17 présente les résultats l'influence d'un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plantesur l'activité de la CAT dans le foie et les reins des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

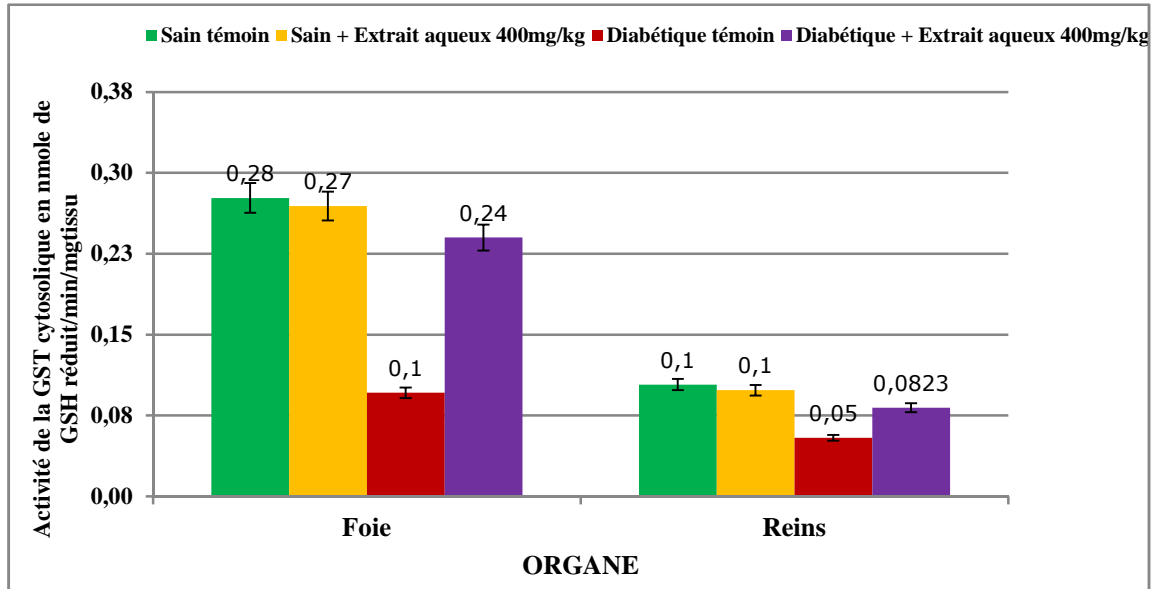


Figure 17: Effet de l'extrait aqueux de la plantesur l'activité de la Glutathion-S-Transferase (GST).
(400 mg / kg pendant 28 jours)

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6.

Dans notre étude nous avons constaté une réduction de l'activité de la GST au niveau du foie et des reins chez les rats diabétiques témoins par rapport à celles des rats sains témoins. Cette réduction est à l'ordre de 65,18 % dans le foie ($0,10 \pm 0,03$ contre $0,28 \pm 0,02$) et de 47,57% dans les reins ($0,05 \pm 0,02$ contre $0,10 \pm 0,01$). Par contre un traitement de 28 jours par l'extrait aqueux de la plante a provoqué une augmentation de l'activité de la GST au niveau hépatique et rénale chez les rats diabétiques par rapport à celle enregistré chez les diabétiques témoins ($0,24 \pm 0,02$ contre $0,10 \pm 0,03$ et $0,08 \pm 0,01$ contre $0,05 \pm 0,02$ respectivement).

Cependant, l'activité de la GST au niveau des reins restent inférieure à celles observé chez les rats sains témoins ($0,08 \pm 0,01$ contre $0,10 \pm 0,01$).

Nous avons également constaté que chez les rats sains traités par l'extrait aqueux de la plante l'activité de la GST dans le foie et les reins n'a pas changé de façon significative par rapport à celles enregistré chez les rats sains témoins.

Discussion

DISCUSSION

Le diabète sucré est un groupe de troubles métaboliques caractérisé par une hyperglycémie. Ces troubles métaboliques comprennent l'altération dans le métabolisme des glucides, des graisses et des protéines associées à des carences absolues ou relatives à des sécrétions d'insuline et / ou de l'action de l'insuline (**Bouhouche., 2014**).

De nombreuses études épidémiologiques et cliniques suggèrent que le stress oxydant est impliqué dans la genèse du diabète et ses complications (**Hamma et al., 2015**). En effet, diverses études ont mis en évidence une élévation des marqueurs du stress oxydant en mesurant notamment les marqueurs de la peroxydation lipidiques et du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique chez les diabétiques de type 1, de type 2 et dans le diabète expérimental.

Au cours du diabète le stress oxydant peut être partiellement réduit par les antioxydants. Une supplémentation par des antioxydants, tel que la vitamine C et E, a été proposée comme un traitement complémentaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2000**). Ainsi, plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète.

Plus de 400 plantes traditionnelles utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre eux ont subis un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités (**Bailey & Day., 1989**).

A partir de ces données, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Confirmer l'activité hypoglycémisante d'extrait aqueux d'une plante médicinale antidiabétique chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocin par mesure de la glycémie.
- Evaluer le pouvoir antioxydant de cette plante et de sa capacité de protéger les tissus hépatiques et rénaux des dommages tissulaires qui peuvent être causés par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et des produits de peroxydation lipidiques lors du diabète par mesure du taux du malondialdéhyde (MDA) du Glutathion réduit (GSH) de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) de la catalase (CAT) de la glutathion peroxydase (GPx) et de la Glutathion-S-transferase (GST) hépatique et rénal chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocin.

L'induction du diabète expérimental dans des modèles animaux est essentielle pour la promotion de la connaissance et la compréhension des divers aspects de la pathogénie (Abu Abeeleh et al., 2009) dont le but final est la mise au point de nouvelles thérapies. Actuellement, les deux produits chimiques les plus largement utilisés pour induire le diabète expérimental sont l'alloxane et la streptozocine (Pinheiro et al., 2011). La STZ aurait été utilisée dans 69% en 2010 (Maqsood et al., 2008).

La streptozotocine est un produit chimique naturel, utilisé pour produire le diabète de type 1 et le diabète de type 2, avec de multiples doses faibles, dans le modèle animal. Il est également utilisé en médecine pour le traitement du cancer métastatique des îlots de Langerhans (Brentjens et al., 2001).

Dans notre étude on a constaté que l'injection de la STZ à une dose de 60 mg/kg peut induire chez des rats le développement d'un diabète de type 1. La streptozotocine pénètre dans la cellule pancréatique via un transporteur de glucose-GLUT2 (Glucose transporteur 2) et provoque l'alkylation de l'ADN. En outre, la STZ induit l'activation de poly-adénosine-diphosphate ribose et la libération d'oxyde nitrique. A la suite de l'action de la STZ, les cellules pancréatiques sont détruites par la nécrose et le diabète insulino-dépendant est induit (Mythili et al., 2004 ; Patel et al., 2006).

Le diabète induit par la STZ est caractérisé par une polyphagie, une polydipsie, une polyurie et une perte sévère de poids corporel qui peut mener à plusieurs complications liées au diabète (Sarkhail et al., 2007; Yang et al., 2008).

La perte de poids corporel chez les rats rendus diabétiques par la STZ a été également observée dans notre étude où le groupe des rats diabétiques témoins a subi une perte de 7,39 g (4,69 %) par rapport à leur poids initial après quatre semaines de la confirmation du diabète (durée de l'expérimentation) alors que les rats sains témoins ont gagnés 15,33 %. durant la même période.

Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par Wei et al., (2003) qui ont constaté que la STZ produit les mêmes signes de diabète, tel que l'augmentation de l'apport de l'eau et la nourriture, l'incapacité à prendre du poids et augmentation des concentrations de glucose dans le sang.

Cette perte de poids des animaux est généralement attribuée à la stimulation de la gluconéogenèse. En effet l'accélération du catabolisme des protéines et des graisses, entraîne une

perte caractéristique du poids corporel après à une augmentation de l'atrophie musculaire et de la perte de protéines tissulaires (Daisy et al., 2012).

Chez le groupe diabétique traité, l'administration orale et journalière de l'extrait aqueux à une dose quotidienne de 400 mg/kg pendant quatre semaines a permis d'améliorer le changement du poids corporel par rapport au groupe diabétique témoin. Chez ce groupe on a constaté une augmentation de 9,89 % après quatre semaines de traitement par rapport au poids initial des rats.

La capacité de l'extrait de protéger les rats diabétiques de la perte massive du poids corporel semble être due premièrement, à sa capacité de réduire le taux des lipides, deuxièmement, à son effet hypoglycémique (Chen et al., 1980 ; Al-Shamaony et al., 1994 ; Tastekin et al., 2006) et donc à sa capacité de renverser la néoglucogenèse et de contrôler cette perte protéique (Swanston-Flat., 1990 ; Rajagopal & Sasikala., 2008).

Chez le groupe sain, l'administration de la même dose de l'extrait aqueux montre qu'il y a une augmentation du poids corporel de 9,09 %. Ce gain du poids corporel est lié à une croissance normale des animaux.

L'hyperglycémie est la manifestation clinique clé du diabète sucré (Prakasam et al., 2005), deux mécanismes fondamentaux qui causeraient une hyperglycémie lors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogenèse et la glycogénolyse) d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (Shirwaikar et al., 2004).

L'injection de STZ conduit à la dégénérescence des cellules β des îlots de Langerhans, cliniquement, les symptômes du diabète sont clairement observés chez les rats dans les 2-4 jours après l'injection intraveineuse ou intra-péritonéale de 60 mg/kg de STZ (Aldo et al., 1977). Il est hautement soutenu que la réduction de l'hyperglycémie diminue le risque du développement des complications liées au diabète (Zhang et al., 2000).

Dans notre étude, on a constaté, chez le groupe diabétique témoin, que la concentration sérique du glucose est restée élevée durant toute la période de l'expérience et elle est arrivée à $3,57 \pm 1,05$ g/l après 28 jours de traitement par l'eau distillée. Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par Bouhouche., (2014) qui ont constaté que l'injection intrapéritonéale de la STZ à une dose de 60mg/kg provoquait une augmentation hautement significative de la glycémie 48h après l'injection. D'autres part Daisy et al., (2012), expliquent ce mécanisme par une toxicité directe sur les cellules β , aboutissant à une nécrose après 48 à 72 heures et provoquant une hyperglycémie permanente.

L'injection de la STZ provoque la destruction sélective des cellules β des îlots de Langerhans. Elle induit une réponse tri-phasique : élévation aiguë de la glycémie entre la première et la deuxième heure (en rapport avec une glycogénolyse intense), puis une hypoglycémie profonde de la 7^{ème} à la 10^{ème} heure (libération de l'insuline par les cellules β en voie de lyse), puis diabète sucré durable ; entraînant une hyperglycémie chronique et une altération du métabolisme lipidique et protéique, résultante d'un défaut de la sécrétion d'insuline (Azzi.,2013).

Chez le lot des diabétiques traités, l'administration de l'extrait aqueux de la plante pendant les 28 jours avec une dose de 400mg/kg à causer une diminution de la glycémie sérique de 54,31% après la 1^{ere} semaine, de 64,23 % après la 2^{eme} semaine, de 73,70 % après la 3^{eme} semaine et de 55,65% et après 4^{eme} semaine du traitement par rapport au groupe diabétique témoin. Cependant la moyenne de la glycémie après la 4^{eme} semaine reste supérieure à celle des témoins sains ($1,58 \pm 0,49$ g/l contre $1,05 \pm 0,14$ g/l).

Les mêmes effets ont été observés par Singh & Kakkar.,(2009) et Ladouari., (2013) qui, en effet, ont montré que la *Berberis aristata* (Berberidaceae) et le *Zygophyllum album* (Zygophyllaceae) réduisent respectivement de 50 % et 33 % l'hyperglycémie chez les rats diabétiques traités par rapport aux témoins.

Plusieurs hypothèses ont été proposées quand un effet hypoglycémiant de certains extraits de plantes médicinales chez les rats. L'amélioration de sécrétion d'insuline par les cellules β expliquerait la diminution de la glycémie (Dawei et al.,2010 ; Abdollahi et al., 2010). Par ailleurs, il a été rapporté que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso peut agir de la même façon que certains antidiabétiques oraux par la fermeture des canaux K^+ /ATP, la dépolarisation membranaire et la stimulation de l'afflux Ca^{+2} , première étape clé pour la sécrétion d'insuline (Pari & Latha.,2005).

Dans notre travail, les effets hypoglycémiant notés avec l'extrait aqueux de plante seraient probablement directement liés à sa capacité antioxydante chez les rats rendus diabétiques par la STZ. Devaki et al.,(2011) ont suggéré que l'effet hypoglycémiant des feuilles de *Bauhinia tomentosa*, plante antidiabétique, est dû à la présence de composés actifs comme les phénols et les flavonoïdes. Par ailleurs, El-Ghoul et al.,(2011) ont montré que les polyphénols présents dans l'extrait éthanolique de *Zygophyllum album* possèdent une activité similaires à celle de l'insuline. Donc, ce possible effet peut être dû à ces molécules bioactives contenues dans l'extrait aqueux de la plante.

Etant donné que la STZ provoque la destruction des cellules β pancréatiques, l'extrait aqueux de la plante peut avoir une action extra pancréatique en influençant ainsi l'absorption de

glucose et son utilisation par les différents tissus (**Lakache et al., 2017**). Un autre mécanisme possible pour l'action de l'extrait aqueux de la plante qui peut l'être par le biais du foie, en influant la gluconéogenèse, la glycogénogenèse ou la glycogénolyse.

Il serait difficile de rapprocher le mode d'action de l'extrait à celui des substances hypoglycémiantes à cause du mélange de composés pouvant interférer ou avoir une action synergique dans cet extrait.

Les radicaux libres sont formés de manière disproportionnée dans le diabète par l'oxydation du glucose, la glycation non-enzymatique des protéines et la dégradation oxydative subséquente des protéines glyquées. En outre, il a été rapporté que les diabétiques sont très sensibles au stress oxydatif (**Alanazi et al., 2017**).

De nombreuses preuves expérimentales et cliniques suggèrent que le stress oxydatif joue un rôle majeur dans la pathogènes des deux types de diabète sucré (**Alanazi et al., 2017**). Les ROS peuvent endommager les composants cellulaires, tels que les protéines, l'ADN et les lipides, entraînant le développement de complications diabétiques et l'aggravation du contrôle glycémique (**Paula et al., 2017**). Ces ROS vont interagir avec la bicouche lipidique et provoquent la production des lipoperoxydes (**Sivajothi et al., 2008**). Toutefois, des antioxydants endogènes enzymatiques tels que la SOD, CAT, GPx et non enzymatique comme le GSH sont responsables de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères (**Cho et al., 2002**).

Plusieurs études expérimentales ont montré les effets bénéfiques de l'administration des extraits aqueux de plusieurs plantes, utilisés en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète, sur la balance oxydant/antioxydant ainsi que leurs capacités de prévenir le développement des complications liées au diabète. Donc on a consacré cette partie de l'étude pour l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de la plante et de sa capacité de protéger les tissus hépatiques et rénaux des dommages tissulaires qui peuvent être causés par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et des produits de peroxydation lipidiques lors du diabète.

La peroxydation lipidique représente un marqueur clé du stress oxydant et elle est déterminée par la mesure de la TBARS (MDA). Dans le diabète, la mesure des produits de la peroxydation lipidique peut refléter le degré du stress oxydant (**Limaye et al., 2003**). Les ROS attaquent les phospholipides membranaires et provoquent la conversion des acides gras insaturés en peroxydes lipidiques. La peroxydation des acides gras contenant trois liaisons doubles ou plus génère du MDA. Ces peroxydes lipidiques sont des produits hautement toxiques qui peuvent entraîner l'inactivation et l'altération des enzymes membranaires, des protéines et des membranes

cellulaires soit par attaque directe par les radicaux libres, soit par modification chimique par ses produits finaux, comme le MDA (Erejuwa et al., 2010).

Plusieurs études réalisées sur l'homme et sur des modèles animaux utilisant le dosage de la TBARS ont constaté une augmentation du malonyldialdéhyde (MDA) dans le sang et les tissus (le foie, les reins et le cerveau) des sujets diabétiques. Cette condition est adéquate avec nos résultats ou on a constaté une augmentation de la concentration du MDA dans le foie (97,13 %) et les reins (42,90 %) chez le groupe des rats rendus diabétiques par STZ par rapport au groupe des rats sains témoins.

L'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit le fonctionnement des membranes par la baisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes et des récepteurs liés aux membranes (Pallavi et al., 2003). Ces produits de la peroxydation lipidique sont nocifs pour les cellules de l'organisme et sont associés à l'athérosclérose, les dommages des reins ainsi que plusieurs autres dommages tissulaires (Kakkar et al., 1998).

Les résultats obtenus dans notre étude ont révélé que l'administration quotidienne d'un extrait aqueux de la plante (400 mg/kg) pendant 28 jours a permis de réduire le taux du MDA dans le foie (25,84%) et les reins (70,13 %) chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. Nos résultats concordent avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par Alanazi et al., (2017) qui ont constaté que chez des rats rendus diabétiques par STZ, un traitement de 21 jours par un extrait éthanolique du *Morus alba* provoque une diminution hautement significative du taux hépatique et rénale en MDA.

Ces résultats suggèrent que l'extrait de la plante a pu protéger les tissus hépatiques et rénaux contre le stress oxydant et l'action cytotoxique induite par la STZ, donc il a pu améliorer l'état pathologique du diabète par inhibition de la peroxydation lipidique. En outre, la réduction de la peroxydation lipidique chez les rats diabétiques traités par la plante peut être due à l'augmentation du statut antioxydant, car l'extrait aqueux de la plante a présenté une haute activité antioxydante (une augmentation de l'activité de la SOD, CAT, GPx, GST et de la concentration du GSH par rapport aux groupes témoins) (Figure 14, 15, 16 et 17).

D'autre part, la réduction de la peroxydation chez les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de la plante peut être également due à l'amélioration du contrôle de la glycémie, car l'extrait a aussi montré une haute activité hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques par STZ (Figure 11). Ces résultats suggèrent donc que l'extrait aqueux de la plante a pu exercer une activité antioxydante et protéger les tissus hépatiques et rénaux des attaques radicalaires.

Le glutathion est l'antioxydant non enzymatique, à base de thiol, le plus répandu dans les cellules. Il représente la première ligne de défense contre le stress oxydatif et il joue un rôle important dans le maintien de l'intégrité des cellules. Le glutathion réduit (GSH) et ses enzymes exaltées jouent un rôle clé dans la protection de la cellule contre les effets des ROS (Aouachria *et al.*, 2017) et joue un rôle important dans la prévention des lésions diabétiques.

Plusieurs études soutiennent l'hypothèse que lors d'un diabète, l'hyperglycémie chronique augmente la voie des polyols, la formation des AGE et donc le niveau de production des radicaux libres, ce qui entraîne une augmentation de l'oxydation GSH ainsi qu'une diminution de sa régénération (Baynes & Thorpe., 1999 ; Ou *et al.*, 1996). Dans notre étude, nous avons trouvé une diminution des niveaux de GSH de 34,24% et 42,22 respectivement dans les tissus hépatiques et rénaux chez les rats rendu diabétiques par rapport aux rats sains témoins.

Sefi *et al.*, (2011) ont trouvé des résultats similaires et indiquent que cette condition est probablement due à une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation induite par le stress oxydant.

On outre, dans notre étude on a constaté que l'administration quotidienne de l'extrait aqueux de la plante a permis d'augmenter la concentration du GSH dans le foie (27,08 %) et les reins (29,62 %) chez les rats diabétiques par rapport aux rats diabétiques témoins. Nos résultats concordent avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par Sefi *et al.*, (2011) qui ont constaté que chez des rats rendus diabétiques par STZ, un traitement de 30 jours par un extrait de feuille de *Centaurium erythraea* a entraîné une augmentation marquée des taux de glutathion.

Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux de notre plante peut soit augmenter la biosynthèse du glutathion soit réduire le stress oxydatif conduisant à une baisse de sa dégradation ou bien en influençant les deux mécanismes en même temps (Sefi *et al.*, 2011).

D'autre part, les composés polyphénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres cela peut donc participer directement dans la réduction de l'utilisation du GSH (Babu *et al.*, 2006 ; Bouldjedj., 2009). L'augmentation de la concentration du GSH dans le foie et les reins chez les rats traités par la plante pourrait être un facteur responsable de la réduction de la concentration du MDA dans ces tissus (Pari & Latha., 2005).

La destruction des ROS par enzymes antioxydantes améliore la toxicité induite par la STZ. La modification de l'équilibre des enzymes antioxydantes causée par baisse de l'activité de ces enzymes peut être responsable de l'insuffisance des défenses antioxydantes et donc une disponibilité excessive de l'anion superoxyde (O_2^{\cdot}) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui à leur tour génèrent

l'OHentraînant l'initiation et la propagation de la peroxydation lipidique qui provoque des dommages tissulaires (Sivajothi et al., 2008 ; Arivazhagam et al., 2000).

Dans le diabète, la diminution de l'activité des enzymes antioxydantes ont été signalées dans différents tissus (Kakkar et al., 1998 ; Szaleczky et al., 1999; Taleb-Senouci et al., 2009). De nombreuses études ont rapporté que l'activité de la SOD, de la CAT de la GPx et de la GST diminue au cours du diabète sucré.

Cette condition est adéquate avec nos résultats où on a constaté une baisse de l'activité de la SOD (37,28% dans le foie et 40,56% dans les reins), de la CAT (48,98 % dans le foie et 28% dans les reins), de la GPx (24,81 % dans le foie et 21,26 dans les reins) et de la GST (65,18 % dans le foie et 47,57% dans les reins) chez les rats rendus diabétiques par STZ par rapport au groupe des rats sains témoins. Nos résultats en accord avec Ghosh et al., (2015) et Nitin et al., (2016) qui ont trouvé une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité des enzymes antioxydantes chez les rats diabétiques par rapport aux rats sains

La diminution observée de l'activité de la SOD et de la CAT pourrait être due à l'inactivation de ces enzymes par leurs substrats ou par leur glycation à cause de l'hyperglycémie (Sozmen et al., 2001 ; Subramani & Leelavinothan., 2012). Alors que pour la GPx et GST, elle peut être induite par les radicaux libres, la glycation de ces enzymes et de la non disponibilité de son substrat, GSH, qui s'est avéré être appauvri pendant le diabète (Ugochukwu et al., 2004).

Chez les rats traités par l'extrait aqueux de plante les résultats montrent une augmentation des activités antioxydantes de la SOD, de la CAT, de la GPx et de la GST au niveau hépatique et rénale. Nos résultats sont en accord avec plusieurs d'autres études. Ghoh et al., (2012) ont constatés que l'administration de Curcumin restaurait ces activités enzymatiques vers la valeur normale.

Ces résultats montrent que l'extrait aqueux de la plante a pu protéger le foie et les reins des rats diabétiques contre la physiopathologie du diabète induit par STZ principalement en exerçant ses propriétés antioxydantes.

Les éléments minéraux font partie de certaines enzymes. Par exemple, la catalase contient de fer, la SOD contient du cuivre et du zinc tandis que la glutathion peroxydase du sélénium. Les résultats obtenus chez les rats diabétiques traités avec l'extrait aqueux de plante peuvent être une indication de la disponibilité de ces métaux pour la formation de ces enzymes (Aberoumand., 2009 ; Madan et al., 2009).

La présente étude suggère que l'extrait aqueux de la plante à un effet bénéfique dans le contrôle de diabète par diminution de la glycémie et du stress oxydant au niveau hépatique et rénale. Ces résultats soutiennent plus ou moins son utilisation, en Algérie, en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires pour identifier les molécules biologiquement actives afin de donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de cet effet antioxydant.

Conclusionet perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Bien qu'il existe des traitements conventionnels qui permettent de traiter le diabète, la phytothérapie constitue une alternative intéressante pour améliorer l'état de santé des populations qui ont toujours recours aux plantes médicinales pour se soigner.

Notre travail constitue une contribution à l'évaluation de l'activité hypoglycémisante d'une part et les statuts redox d'autre part d'un extrait d'une plante médicinale antidiabétique. Cette plante peut être sélectionnée comme ressource naturelle de base afin d'isoler de nouveaux composés antidiabétiques à la base de la production de nouveaux médicaments originaux efficaces et moins toxiques. Ils peuvent servir, en outre, comme complément ou adjuvant dans le traitement du diabète sucré améliorant ainsi la prise en charge des patients diabétiques.

Dans la première partie, nous avons confirmé l'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux de cette plante. Nos résultats confirment que l'extrait a une activité hypoglycémisante chez les rats rendus diabétiques par streptozotocine par laquelle il y a une diminution de la concentration du glucose.

Dans la deuxième partie, nous avons confirmé que l'extrait aqueux de la plante a une activité antioxydante où nos résultats ont montré une nette amélioration du statut antioxydant hépatique et rénal. En effet, la diminution de la concentration du MDA, l'accroissement du taux de glutathion réduit (GSH), de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), de l'activité de la catalase (CAT), de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion-S-transferase (GST) dans le foie et les reins chez les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de la plante montrent clairement les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux.

A vu de ces résultats, il apparaît que l'extrait aqueux des plantes a un effet hypoglycémisant. De plus, il est efficace dans la protection contre l'attaque radicalaire par la stimulation des systèmes antioxydants. Tous ces effets bénéfiques contribuent à la réduction des complications liées au diabète.

En effet, notre étude reste préliminaire et plus superficielle, donc elle nécessite d'autres études approfondies pour mieux comprendre les mécanismes régissant l'effet diabétogène et des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour identifier les molécules impliquées dans l'effet hypoglycémique et antioxydant de l'extrait aqueux de la plante.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakiem MH.(1997).** Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol**58** :149-155.
- Abdollahi M, Zuki ABZ ,Goh YM, Rezaeizadeh A, Noordin MM.(2010).**The effects of *Momordica charantia* on the liver in streptozotocin-induced diabetes in neonatal rats.*African journal of biotechnology* .Vol **9**(31):5004-5012.
- Abdulrahman S, AlanaziMd, Jamir A , AlamMd.(2017).** Hypoglycemic and Antioxidant Effect of Morusalba L. Stem Bark Extracts in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Journal of Applied PharmacyPharm* 9: 234 .
- Abner L.N.(2002).** Immunologic and genetic factors in type 1 diabetes. *Biol Chem.*277: 43545-43548.
- Abu Abeeleh M, Bani Ismail Z ,Alzaben KR, Abu-Halaweh SA, Al-Essa, JaafarAbuabeeleh MK, Alsmady MM.(2009).** Induction of Diabetes Mellitus in Rats Using Intraperitoneal Streptozotocin: A Comparison between 2 Strains of Rats. *European Journal of Scientific Research* ;Vol 32 (3) :398-402 .
- Abuja PM, Albertini R. (2001).** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *ClinicaChimicaActa* 306 (1-17).
- Aldo A, Rossini, Arthur A, Liket, William L, Chick, et al.(1977).**Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol 74(6) : 2485-2489 .
- Allali H, Benmehdi H, Dib M-A ,Tabti B, Ghalem S ,Benabadji N .(2008).**Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian Journal of Chemistry*. Vol 20, No 4: 2701-2710.
- Allan Langlois. (2008).**Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique. Thèse de doctorat .Université Louis Pasteur Strasbourg I.
- Al-Mamun M, Yamaki K, Masumizu T, Nakai Y, Saito K, SanoH ,Tamura Y. (2007).**Superoxide anion radical scavenging activities of herbs and pastures in northern japan determined using electron spin resonance spectrometry. *Int. J. Biol. Sci.* 3, 349-355.
- Al-Shamaony L, Al-Khazraji SM, Twaij HA (1994).**Hypoglycaemic effect of *Artemisia herbaalba II*. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *Journal of Ethnopharmacology*.Vol 43, No 3:167- I71.
- Andrès E, Blicklé J F.(1996).** Métabolismes - Hormones - Nutrition .Microangiopathie diabétique : de la physiopathologie au traitement. pp :4-10. Volume III, n°1.
- Anne V.(2011).**Médecine des maladies Métaboliques. Le diabète gestationne- Février 2011 - Vol. 5 - Hors-série 2.pp :1-5.
- Aouachria S, BoumerfegS,Benslama A, Benbacha F, GuemmezT,Khennouf S, Arrar L, Baghiani A. (2017) .** Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of Reichardiapicroide crude extract. *Journal of Ethnopharmacology* 208 (2017) 105–116.
- Asad M, Aslam M, Munir TA, Nadeem A.(2011).**Effect of acacia nilotica leaves extract on hyperglycaemia,lipid profile and platelet aggregation in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2011;23(2) : 3-7 .
- Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW.(2014)** Type 1 diabetes. *Lancet* 2014;**383**:69–82.
- Augustin A, Nunes de Senna P, Mestriner P R G,Souto, Achaval M.(2014).**“Resveratrol prevents akinesia and restores neuronal tyrosine hydroxylaseimmunoreactivity in the substantia nigra pars compacta of diabetic rats.” *BrainRes.*, vol. 1592, pp. 101–12.

AZZI R (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse doctorat, Université Tlemcen.

Bagatini PB, Xavier L, Neves L, Saur L, Barbosa S, Baptista PPA, Barber O, Harris SR. (1994). Oxygen free radicals and antioxidants: A review. *J. Am. Pharmacol.* 534, 26-35.

Bartosz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology.* 9: 5-21.

Beaudeau JL, Dominique BR. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales p : 550.

Beaudeau, JL, Delattre J, Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Legrand A, Peynet J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 21, 144–150.

Belhadj M, Abrouk S, Nadir-Azirou D, Gari S, Nicolucci A. (2016). Une clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(2), 175-181.

Benaïcha. N. (2008). Effets hypoglycémiant, hypolipémiant et antioxydant des protéines de sardine (*sardinapilchardus*), chez des rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine. thèse de Magestre. Université d'Oran Es-Sénia.

Benammar E. (2009). L'insulinothérapie chez les diabétiques de type 2. Thèse de Doctorat. Université Joseph.

Biessels GJ. (2013). "Sweet memories: 20 years of progress in research on cognitive functioning in diabetes." *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 719, no. 1–3, pp. 153–60.

Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. (1997). The pharmacology of the antioxidant-lipoic acid, *Gen. Pharmacol.* 29 (3), 345-331.

Blyer SM et Yelon JA. (2006). American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 29 : S4–42. The perioperative management of metformin for the oral and maxillofacial surgery patient : risks and recommendations. *J Oral Maxillofac Surg* ; 65 : 122–7.

Bonnefont-Rousselot DJ, Beaudeau L, Théron P, Peynet J, Legrand A, Delattre J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm Fr* 2004, 62 : 147-157.

Bonnet C, Alamigeon F, Micheels P. (2010). Guide complet des soins esthétiques : du côté de ma vie. Edition Eyrolles, p 14.

Borg JM, Reeber A. (2008). Biochimie métabolique, Ellipses, France, pp : 257-269.

Bors W, Michel C, Stettmaier K. (1997). Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors*

Boucher J, Barbara. (2011). Vitamin D Insufficiency and Diabetes Risks. *Current Drug Targets* .12(1):61-87.

Bouhouch I. (2014). Etude comparative de l'alloxane et de la streptozotocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins. thèse du Magistère. Université Constantine 1.

Bouxi H. (2012). Les plantes médicinales et diabète de type 2.

Bouzabata A. (2013). Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy.* Vol 5, No 1:12-20.

Boyer F. (2016). Stress oxydant et pathologie diabétique Impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses.

Bravi MC, Pietrangeli P, Laurenti O, Basili S, Cassone F, Faldetta M, Ferri C, De Mattia, G. (1997). Polyol pathway activation and glutathione redox status in non-insulin dependent diabetic patients. *Metabolism*, 46 ; 1194 - 1198.

Brentjens R, Saltz L. (2001). Islet cell tumors of the pancreas: the medical oncologist's perspective. *The Surgical Clinics of North America*; 81(3):527-42.

- Brownlee M.** A radical explanation for glucose-induced β cell dysfunction. *J Clin Invest*, 2003, **112**, 1788-1790 .in **Derraigne J O .(2005).**Uu mécanisme physiopathologique general à l'origine des complications du diabète .Rev Med Liege ;472 60 :472-478.
- Brownlee M.(2001).**Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, **414**, 813- 820.
- Brownlee M.(2005).**The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism. *Diabetes*, Vol. 54:1615-1625.
- Burton GW, TraberMG, AcuffRVet al. (1998).** Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr*.67: 669-684.
- Buse MG (2006).**Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *Am J PhysiolEndocrinolMetab*, 290 : 1-8.
- Buyschart M, (2006).** Diabétologie clinique, 3eme édition. Paris : De Boeck Université. P : 16-17-18-23-135(180).
- Cadet J, Bellon S, Berger M, Bourdat AG, Douki T, Duarte V, Frelon S, Gasparutto D, Muller E, Ravanat JL, Sauvaigo S. (2002).** Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol. Chem.*, 383(6), p. 93.
- Cai H, Harrison DG. (2000).**Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxydant stress. *CircRes* ; 87(10):840-4.
- Caquet R. (2012).**Diabète sucré. Analyses de laboratoire en odontostomatologie.158 -168.
- Carpenter MW ,Coustan.(1982).** Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J ObstetGynecol* 1982 ; 144 : 768-73.
- Causse C, (2005).** Les secrets de santé des antioxydants : C'est naturel, c'est ma santé. Alpen éditions.s.a.m. p 30.
- Cefalu WT. (2006).** Animal models of type 2 diabetes: clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition. *ILAR Journal*, 47,186-198.
- Chandrana R, Parimelazhagana T, Shanmugamb S, Thankarajana S.(2016).** Antidiabetic activity of *Syzygiumcalophyllifolium* in Streptozotocin-Nicotinamide induced Type-2 diabetic rats: 547–554.
- ChandanaVenkateswara R, Vijayakumar M. (2008).** Effect of quercetin, flavonoids and α -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *Eur. J.Pharmacol*; 589 (1-3): 233-8.
- Chen R, Schmidmayr W, Kramer C, Chen-Schmeisser U, Henning U (1980).**Primary structure of major outer membrane protein II (ompA protein) of *Escherichia coli* K12. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. Vol 77, No 8: 4592-4596 .
- Chen Q, Xia, Y, Qiu, Z. (2006).** Effect of ecdysterone on glucose metabolism in vitro. *Life sciences*, 78(10), 1108-1113.
- Cheng D, Liang B, Li Y.(2013).** Antihyperglycemic effect of Ginkgo biloba extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Biomed ResInt* 2013; <http://dx.doi.org/10.1155/2013/1>.
- Chikhi I, Allali H, Dib M E A, Medjdoub H, Tabet B. (2014).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplexhalimus L.*(Chenopodiaceae) in streptozotocin–induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(3), 181-184.
- Cho NH, Whiting D, Guariguata L, et al.(2013).**IDF Diabetes Atlas.
- Clairborne A.(1985).** Catalase activity. In: *Handbook of Methods for Oxygen RadicalResearch*. Greenwald, R.A. ed Boca Raton, Fla: CRC Press, 283-284.
- Clément R-P.(2005).** Aux racines de la phytothérapie: entre tradition et modernité (1partie). *Phytothérapie*(2005)Numéro4: 171-175.

- Corrêa MM, da Rosa M, Rubin, A ChitolinaSchetinger MR, Morsch MV.(2009).** “Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats.” *Eur. J.Pharmacol.*, vol.610, no. 1–3, pp. 42–8.
- Daisy P, Feril G, KANI J.(2012).**Evaluation of antidiabetic activity of various extracts of cassia auriculata Linn. Bark on streptozotocin induced diabetic wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci.* 4 (4):312-318.
- Dan Y. (2008).** Biological functions of antioxidants in plant transformation. *In vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, 44:149-161.
- Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera, T. (1996).** Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *The Lancet*, 347(8999), 444-445.
- Dawei G, Qinwang L, Yusheng F.(2010).**Hypoglycemic effect and mechanisms of *portulacaoleracea* L. in alloxan-induced diabetic rats *.Journal of medicinal Plants Research.*4(19):1996-2003.
- De Kumar A, Rukmimi D. (1988).**Physiological antioxidants and antioxidative enzymes in vitamin E-deficient rats. *Toxicology Letters* 44: 47-54.
- Defrance JO.(2005).**Un Mécanisme physiopathologique centrale à l’origine des complications du diabète *.60:5-6:472-478.*
- Defronzo R.(1997).** Pathogenesis of type 2 diabetes : metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 1997 ; 5 : 177-269.
- Derbel S, Ghedira k. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé.*Phytothérapie*, 1, 28-34
- Derraigne JO. (2005).**Un mécanisme physiopathologique general à l’origine des complications du diabète *.Rev Med Liege ;472 60 :472-478.*
- Devaki K, Beulah U, Akila G, Sunitha M, Narmadha R, Gopalakrishnan VK.(2010).**Effect of aqueous leaf extract of *B.Tomettosa* on GTT of normal and diabetic rats *.3:195-202.*
- Droge W. (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82: 47-95.
- Drouin P, Blicke JF, Charbonnel B, Eschwege EE, Guillausseau PJ, Plouin PF, Daninos J M, Balarac N, Sauvanet JP (1999).**diagnostic et classification du diabete sucre les nouveaux critères. *Diabetes & Metabolism (Paris).* Vol 25, No 1 : 72-83.
- Du X L (2000).** Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 97 : 12222 - 12226.
- Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj M. (2008).**Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine.* Gvozdkakova A (ed). P: 19-43.
- Duron ,Heurtier ,(2006).**Endocrinologie .Complications chroniques du diabète sucré .pp :232.
- Duvall E, Wyllie AH. (1986).**Death and cell. *Immunol. Today*; 7:115-119.
- Eddouks M, Ouahidi ML, Farid A, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A.(2007).** L’utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* (2007) 5: 194–203.
- El Ghouli J, Smiri M, Ghrab S, Boughattas N, Ben-Atti M.(2011).**Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice *.Biomedicine & Preventive Nutrition.*1:79-83.
- Ellman G. (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*,82: 70 -7.
- EL-Shobaki FA, EL-Bahay MA, Esmail RSA, Abd El Megeid AA, Esmail NS. (2010).** Effect of figs fruit (*Ficus carica* L) and its leaves in hyperglycemia in alloxan diabetic rats. *World journal of Dairy & Food sciences*, 5(1) :47-57.

Erejuwa O O, Sulaiman S A , Wahab M S, Sirajudeen K N S , MD. Salleh M S, Gurtu. S.(2010). Antioxidant protection of Malaysian tualang honey in pancreas of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Annales d'Endocrinologie* 71 (2010) 291–296.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. (1992) The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Rad. Biol. Med.*, 13, p. 341.

Evans W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr.*; 72: 647S-652S.

Fagot-Campagna A, Romon I, Fosse S, Roudier C.(2010). Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France – Synthèse épidémiologique. Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire, novembre 2010, 12p.

Fang Y, Yang Z, Wu SG. (2002).Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. Vol 18:872–879.

Favier A. (2003). Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.pp: 108-115.

Gardès-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Z, Jore D.(2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*,- novembre-décembre pp : 91-96.

Géraldine R .(2015). Présentation d'une classe thérapeutique innovante dans le traitement du diabète de type 2 : Les inhibiteurs de la DPP-4, 2015.

Gerard-Monnier D, Chaudiere J. (1996).Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol Biol*. Vol 44: 77-85.

Girard J, (2008).Diabète de type 2 Physiopathologie. Elsevier Masson. Vol 2 ; n° 81, PP 16 – 20.

Goldenberg R, Punthakee Z. Canadian Diabetes Association 2013 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Can J Diabetes* 2013; **37(suppl 1)**: S8-S11.

Goudable J, Favier A. (1997).Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 11, 115-120.

Greff, M. (2011).Post'U FMC-HGE : Paris, du 24 au 27 mars 2011. Springer Edition, p 39.

Grimaldi A, Bosquet F (2009).Microangiopathie diabétique fonctionnelle. *Revue de Médecine interne*. Vol 6, No 2 : 127-141.

Grimaldi A, (2004).Diabète de type 2, Paris : Elsevier Sas, P : 48 -50-51 (504).

Guenzeta A .(2012).effet des extraits aqueux lyophilisés de *Portulaca Oleracea* et *Zygophyllum gaetulum* sur le profil lipidique et le statut redox chez les rats diabétiques par injection de streptozotocine .

Guillaume L.(2004).L'âge moyen de découverte du diabète de type 2 diffère significativement selon la catégorie sociale. Thèse de Doctorat . . Université Paris 7 .

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB.(1974).Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation.

Hadj Salem J. (2009). Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrariaretusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE.

Hajzadeh M ., Rajaei Z., Ghamami G., Tamiz A.(2011).The effect of salvia officinalis leaf extract on blood glucose in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacologyonline* ; 1: 213-220 .

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O, Charlier C, Chapelle JP. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.).

Halliwell B. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev* .Vol 55:44–49.

- Halliwell B. (2006).** Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *Trends in Biochemical Sciences*. 31 (9):509-515.
- Halliwell B, Gutteridge J M C. (2007).** Free Radicals in Biology and Medicine. Four th ed. Oxford University Press, pp.: 20-31.
- Halliwell B, Gutteridge J M C. (1986).** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.* 246, 501-514.
- Haltiwanger RS, Philipsberg GA. (1998).** Mitotic arrest with nocodazole induces selective changes in the level of O-linked N-acetylglucosamine and accumulation of incompletely processed N-glycans on proteins from HT29 cells. *J Biol Chem* 272:8752–8758.
- Hamma S A, Nouri N, Fergani I, Lakehal A, Abadi N, Benlatreche C. (2015).** Paramètres du stress oxydant d'une population diabétique de type 2 constantinois <http://dx.doi.org/10.1016/j.ando.07.236>.
- Harman D. (2000).** Aging: overview. *Ann N Y Acad Sci...* Vol 928:1–21.
- Hartemann A, Grimaldi A, Andreelli F, et al. (2008).** Guide pratique du diabète .5^{ème} Edition :13.
- Hawkins M. (1997).** Role of the glucosamine pathway in fat-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 99 : 2173 - 2182.
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif, 1, 3-6
- Hu Y, Block G, Norkus E. P, Morrow J D., Dietrich M., Hudes M. (2006).** Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. *Am J Clin Nutr* ; 84: 70-76 quiz 266-267.
- Ido Y, Kilo C, Williamson JR.** Cytosolic NADH/NAD⁺, free radicals, and vascular dysfunction in early diabetes mellitus. *Diabetologia* 1997; 40 suppl 2: 115-117.
- Idris I, Gray S, Donnelly R. (2001).** Protein kinase C activation: isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes.
- Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Etoh T, Kakimoto M, Sonoda N, Sato N, Sekiguchi Jacob L. (2007).** L'insuffisance rénale aiguë. Edition Springer, p 88.
- Jadot G. (1994).** Antioxydants et vieillissement, Edition John Libbey Eurotext, p 35.
- Jain K, Mc vie R, Jaramillo JJ, Palmer M, Smith T. (1996).** effect of modest vitamin E supplementation on blood glycated hemoglobin and triglyceride levels and red cell indices in type 1 diabetic patients. *J Am Coll Nutr* , 15 :458 61.
- Jain K, Mc vie R, Smith T. (2000).** Vitamin E supplementation restores glutathione and malondialdehyde to normal concentration in erythrocyte of type one diabetic children diabetes care , 23 :1389-1394.
- Jeanrenaud c, Dreyer G. (2012).** Les coûts directs médicaux du diabète une estimation pour le canton de Vaud. Institut de recherches économiques Université de Neuchâtel.
- Kadonaga JT, Courey AJ, Ladika J, Tjian R. (1998).** Distinct regions of Sp1 modulate DNA binding and transcriptional activation. *Science* 242:1566–1570.
- Kanter M. (2009).** Protective Effects of Thymoquinone on β -cell Damage In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Tip Arařtırmaları Dergisi*; 7 (2) :64 -70 .
- Karp G. (2010).** Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts and experiments. Edition De Boeck Supérieur, p 35.
- Kaur G, Kamboj P, Kalia A N. (2011).** Antidiabetic and anti-hypercholesterolemic effects of aerial parts of *Sidacordifolia* Linn. on Streptozotocin-induced diabetic rats. *INDIAN J NAT PROD RESOUR* ; 2(4) : 428-434.

- Kerlan ,Halimi, ALFEDIAM.(2003).**Mécanisme des complications du diabète : perspectives « thérapeutiques » Diabète-Bordeaux 2003 Annales d'Endocrinologie Vol 64, N° 6 - décembre 2003 pp. 474-476
- King GL, Brownlee M.(1996).** The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. Chronic complications of diabetes. *EndocrinolMetabClin North Am* 1996 ; 25 :255-70.
- Kirsh M et De Groot H. (2002).**Formation of peroxynitrite from reaction of nitroxyl anion with molecular oxygen. *Journal of Biological Chemistry* 277(16), 13379-13388.
- Kobayashi M, Sumimoto H, Utsumi H, Nawata H (2003).** Protein Kinase C-Dependent Increase in Reactive Oxygen Species (ROS) Production in Vascular Tissues of Diabetes: Role of Vascular NAD(P)H Oxidase. *J Am Soc Nephrol*, **14** : 227 - 232.
- Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygen , oxidative stress and antioxidant supplementation ,or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177.
- Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehmann R, Schleicher ED (1998).** High glucoseinduced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosaminepathway in porcine glomerular mesangial cells. *J. Clin. Invest*, **101** : 160 - 169.
- Koya D, King GL.(1998).**Protein kinase C activation and its role in the development of vascular complications in diabetes mellitus.
- Lacolley P. (2007).** Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Edition John LibbeyEurotext, p 312.
- Ladouari A. (2013).** Effet du décocté de *Zygophyllum album* Coss (Zygophyllaceae) sur le diabète et sur le stress oxydant associé. *Thèse de doctorat de Pharmacie de l'Université d'Alger (Algérie)*, 81 p.
- Lakache M, Zeghib R, HouadegKh.(2017).**L'Impact d'un traitement par un extrait aqueux d'une plante medicinale sur la glycémie et le profil lipidique chez les rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.
- N'doua L A R ,Jean Claude Abo K , Aoussi S,GbogboM ,Paul Yapo A , Ehile EE .(2015).** effets hypoglycémique et anti-hyperglycémique de l'extrait éthanolique 70% de racines de *Rauwolfia Vomitoria* Afzel (APOCYNACEAE). *European Scientific Journal* February 2015 edition vol.11, No.6 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- Lewis C, Barbiers AR.**Streptozotocin, a new antibiotic: In vitro and in vivo evaluation. *Antibiot Ann* 1960;7:247-54.
- Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpeb N (2004).** Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol*,**92** : 1 - 21.
- Luke U O, Ebong P E,Eyong E U, Robert A E, Ufot S U, Egbung G E.(2013).** Effect of ethanolic root and twig extracts of *vernonia amygdalina* (ETIDOT) on liver function parameters of streptozotocin induced hyperglycaemic and normal wistar rats. *European Scientific Journal* October ; 9(30): 199 – 211 .
- Makhlouf S ,Chahboub S.(2015).**Evaluation des facteurs de risques chez les diabétiques au niveaux de Ain Dafla .
- Maqsood A, Zaman F, Tanveer S, Zabta M.(2008).** Antidiabetic and Hypolipidemic Effects of *Aqueous Methanolic* Extract of *Acacia Nilotica* Pods in Alloxan-Induced Diabetic Rabbits. *Scand. J. Lab. Anim. Sci* ; 35 (1) :29-34 .
- Maritim.AC,Sanders.RA,Wathins.JB.(2003).**Diabetes,oxydative stress and antioxydants :a review.*JBiochemMolToxicol.*, 17:24-38.
- MarklundSL .(1985).** Pyrogallolautooxidation. In: *Handbook of Methods for Oxygen Radical* Greenwald, R.A. ed. Boca raton, Fla: *CRC Press*, 243-247.
- Metzger BE ,Lowe LP ,Dyer AR, et al.(2008).** Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008 ; 358 :1991-2002.

- Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini, F et al. (1998).** Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases *Free Rad Biol Med*, 25,676-681
- Moeckel GW, Shadman R, Fogel JM, Sadrzadeh SMH (2002).** Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocyte membrane ATPases. *LifeSciences*, 71 : 2413 - 2424.
- Mohora M, Greabu M, Muscurel C, DuÑă C, Totan A (2007).** The sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications. *Romanian J. Biophys*, 17 (2) ; 63 - 84.
- Moller P, Wallin H, Knudsen LE. (1996).** Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *ChemBiolInteract* ; 102: 17-36.
- Moussard, C. (2006).** Biochimie structurale et métabolique, Edition De Boeck Supérieur, p 336.
- Mythili MD, Vyas R, Akila G, Gunasekaran S.(2004).**Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. *Microscopy research and technique* ;63(5):274-81.
- Nasri I, Hadj-Brahim M.(2014).**Apport des thérapeutiques antioxydantes dans le traitement du diabète .
- NgueguimTsofack Florence, Massa Zibi Benoit, Kouamouo Jonas, Tchuidjang Alexandra, DzeufietDjomeni Paul Désiré, Kamtchouing Pierre, DimoThéophile.(2014).** Antidiabetic and antioxidant effects of *Annonamuricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 151 (2014) 784–790.
- Nikitaki Z , Hellweg CE , Georgakilas AG , Ravanat J-L.(2015).**stress-induced DNA damage biomarkers :applications and limitations.
- Okhawa H, Ohishi N, Yagi K, (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95: 351–358.
- Omari N, Dahmani-ait akli Y , Labrousse F , Hadj bekkouche F.(2011).** Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* ; 80 : 907 – 938.
- OMS .(2011).**Global status report on noncommunicable diseases 2010. World Health Organization, Geneva.
- Ongagna J C, Sapin R.(2004).** Diabète de type 1 et autoimmunité. *biotribune*.2004 ; 9 :42-43.
- Oueslati H A, Ghédira K (2015).** Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenumgraecu*. *Phytothérapie*, 13(4) : 234-238.
- Packer L, Tritschler H J, Wessel K. (1997).** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med*. 22: 359-378.
- Paolisso G, D'amore A ,Galzerano D .(1993).**Daily vitamine E supplements improve metabolic control but not insulin secretion in elderly type 2 diabetic patients .*Diabetes care* ,161 :433-7.
- Pari L, Latha M.(2005).**Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis* :effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes .*Gen Physiol Biophys*.24 :13-26.
- Patel R, Shervington A, Pariente JA, Martinez-Burgos MA, Salido GM, Adeghate E, et al.(2006).** Mechanism of exocrine pancreatic insufficiency in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences* ;1084:71-88.
- Paulo CP ,Daniele OB, Jose TA, Ana FU ,Bella G T , Mirella L , Davi F , Martonio P, Flavia A, Talita C ,Ilka M.(2017).** A Protein Isolate from *Moringaoleifera* Leaves Has Hypoglycemic and Antioxidant Effects in Alloxan-Induced Diabetic Mice. *Molecules*2017, 22, 271 .
- Petropoulos I. (2003).** Stress oxydant et vieillissement modifications oxydatives des protéines au cours du vieillissement. *Diderat*.Paris.p5.
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne JO. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et Métabolisme*, 16 : 233-239.

- Pincemail J, Defraigne JO. (2003).** Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 18 (2), 55-60.
- Pinheiro L S, Dutra de Melo A, Andreazzi A E, de Caires Júnior L C, Costa M B, González Garcia R M. (2009).** Protocol of Insulin Therapy For Streptozotocin-Diabetic Rats Based on a Study of Food Ingestion and Glycemic Variation. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* ; 38 (2) :117-127 .
- Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi KV. (2005).** Antiperoxidative and Antioxidant Effects of *Casearia Esculenta* Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *yale journal of biology and medicine*; 78 : 15 - 23.
- Priyadarsini KI, (2005).** Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotector. *Founder's Day Special Issue*. 15:1-6.
- Quinlain G J, et al (1994).** Oxidative damage to plasma proteins in adult respiratory distress syndrome. *Free Rad Res Comm* ; 20: 289- 98.
- Rabah B, Bbah L, Abouejal .(2016).** Utilisation des plantes médicinales chez les diabétiques au service de médecine interne du CHU Tlemcen.
- Racah.D.(2003).** Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré : 10.1016/S1762 5653(03)00005-4
- Racch.D.(2004).** Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénérative du diabète sucré. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* 10-366-I-10 .
- Rajagopal K, Sasikala K (2008).** Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of Nymphaeastellata in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Med J.* Vol 49, No 2: 137 - 142.
- Rashidi AA, Nouredini M (2011).** Hypoglycemic Effect of the Aromatic Water of Leaves of *Ficus Carica* In Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Pharmacologyonline*, **1**: 372-379.
- Raverot G. (2004).** Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. Hippocrate. Paris.. Ongagna J.C., Sapin R. (2004). Diabète de type 1 et autoimmunité. *biotribune*. 2004 ; 9 :42-43.
- Reagan L P. (2012).** "Diabetes as a chronic metabolic stressor: causes, consequences and clinical complications," *Exp. Neurol.*, vol. 233, no. 1, pp. 68–78.
- Rouzaud JF. (1999).** Complications du diabète sucré ; module G LE DIABETE (1998-1999). Université P Sabatier, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse.
- Saini S, Sharma S. (2013).** Antidiabetic effect of helianthus annuus L seeds ethanolic extract in streptozotocin-nicotinamides induced type 2 diabetes mellitus. *Int J Pharm PharmSci*; 5(2) :382-387 .
- Sathishsekar D, Subramanian S. (2005).** Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Asia pac J Clin Nutr*. **14**(2) :153-158.
- Scalbert A., Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*, 130, 85-2073.
- Scalbert A, Manach C, Morand C. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **45**:287-306.
- Schleicher ED, Weigert C. (2000).** Role of the hexosamine biosynthetic pathway in diabetic nephropathy.
- Schlienger J L. (2013).** Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42(5), 839-848.
- Schmatz R, Mazzanti CM, Spanevello R, Stefanello N, Gutierrez J, Sebai M, Boudali M, Benghanou M. (2012).** la phytothérapie entre la confiance et méfiance.
- Sefi M, Fetoui H, Lachkar N, Tahraoui A, Lyoussi B, Boudawara T, Zeghal N. (2011).** Centaurium erythraea (Gentianaceae) leaf extract alleviates streptozotocin-induced oxidative stress and -cell damage in rat pancreas. *Journal of Ethnopharmacology* **135** (2011) 243–250.

- Sherien KH Nermin M, Amria MM, Maha HM, Abd el Razik Hussein Farrag, Amani Nassir Eldin Hashim, Victoria Werner, Ulrike Lindequist, Mahmoud Abd El-Moein Nawwar.** 2015. Hypoglycemic and antioxidant activities of *Caesalpinia ferrea* Martius leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats.
- Shiba T, Inoguchi T, Sportsman J R, Heath W F, Bursell S, King G L.** (1993). Correlation of diacylglycerol level and protein kinase C activity in retina to retinal lipids in rat circulation.
- Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, Bodla R.** (2004). Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* Linn. in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 91 : 171 - 175.
- Singh J, Kakkar P.** (2009). Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 123 (1):22-6
- Sorg O.** (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Série II*. 327: 649-662.
- Steven C.** (2006). Antioxidants in veterinary nutrition, *Veterinary Clinics Small Animal Practice*. 36, 1183-1198.
- Stief TW.** (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypoth*. Vol 60:567–572.
- Sturtz L A., Diekert K, Jensen L T, Lill R, Culotta V C.** (2001). A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localizes to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem*; 276: 38084-38089.
- Sutherland B M, Harber LC, Kochevar IE.** (1980). Pyrimidin dimer formation and repair in human skin. *Cancer Res*; 40:3181-5.
- Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR** (1990). Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia*. Vol 33, No 8: 462-464
- Tastekin D, Atasever M, Adigüzel G, Keles M, Tastekin A** (2006). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*. Vol 50 : 235-238.
- Tellaa Cha, Ayad NH, Boulhadid R.** (2016). Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète de types 2 dans la région de Constantine.
- Tremellen K.** (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update*; 14: 243-258.
- Turan K, Mecit Y, Ibrahim H, York A, Sema Uslu.** (2010). Effects of extract of Green Tea and Ginseng on pancreatic beta cells and levels of serum glucose, insulin, cholesterol and triglycerides in rats with experimentally streptozotocin-induced diabetes: a histochemical and immunohistochemical study. *Journal of animal and veterinary advances*. 9 (9):102-107.
- Udoamaka F, Ezuruike, Jose M, Prieto.** (2014). The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: Pharmacological and toxicological considerations: 857–924.
- Valansi P, Viviani V, Duteil R.** (2003). *Diabète, maladies métaboliques et nutrition*. 2^{ème} Edition.
- Vatier, C, Fève B.** (2010). Place des produits de glycation avancés (AGEs) dans les complications du diabète: Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic complications. *Médecine des maladies métaboliques*, 4(6), 637-642.
- Vats V, Grover J.K, Rathi S.S** (2002). Evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn, *Ocimum sanctum* Linn and *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 79 :95–100.
- Venturini C D, S. Merlo, A. A. Souto, M. D. C. Fernandes, R. Gomez, and C. R. Rhoden.** "Resveratrol and Red Wine Function as Antioxidants in the Nervous System without Cellular Proliferative Effects during Experimental."

- Vineeta T, Janeshwer V.(2014).** Different models used to induce diabetes: a comprehensive review. *Int J Pharm PharmSci*, Vol 6, Issue 6, 29-32.
- Vlassara H, Bucala R (1996).** Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptor. *Diabetes*, **45** : 65 - 72.
- Wautier JL, Guillausseau PJ (2001).** Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *DiabetesMetab (Paris)*, **27** : 535 - 542.
- Wautier M P, Tessier F J, Wautier J L. (2014).** Les produits de glycation avancée: un risque pour la santé humaine. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol.72, No. 6, pp. 400-408).
- Wei M,1 Leslie Ong,1 Maree T Smith, Fraser B Ross, Katrina Schmid, Andrew J Hoey, Darryl Burstow, and Lindsay Brown.(2003).** The Streptozotocin-Diabetic Rat as a Model of the Chronic Complications of Human Diabetes.
- Wilson A. (1987).** Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridonpoda*) and other lycaenid butterflies. *J. Chem. Ecol*; 13 (3): 473-493.
- Yan SD, Schmidt Am, Anderson GM, Zhang J, Zou Ys, Pinsky D, Stern D (1994).** Enhanced cellular oxidative stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *T BiolChem*, **269** : 9889 - 9897.
- Yang J Q, Chen J H, Liu J (2008).** A new genus and a new species of Braconidae (Hymenoptera, Braconidae) from China. *Acta Zootaxonomica Sinica*. Vol 33, No 1: 61–64.
- Zeigler D , Hanefeld M, Ruhanau KJ.(1995).** the Aladin study group. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid .*Diabetologia* ,**38**:1425-33.
- Zhang XF, Tan BK (2000).** Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. Vol 27, No 5-6 : 358 - 363.

NOM ET PRENOM : - AZIZI Imen
-OUCHERIF Baya hibat-allah

DATE DE SOUTENANCE

27JUN 2018

TITRE : Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant d'un extrait aqueux d'une plante médicinale sur des rats rendus diabétiques par streptozotocine

NATURE DE MASTER : Sciences Biologiques

OPTION : Toxicologie

RESUME

Au cours du diabète, le stress oxydant est fréquent, prononcé et représente un facteur important en cause dans la genèse des macro et microangiopathies du diabète. L'équilibre glycémique joue un rôle très important dans cette balance. Une supplémentation par des antioxydants tels que la vitamine C et E a été proposée comme traitement complémentaire. De nombreuses études, cliniques et expérimentales, ont confirmé l'activité antioxydante de plusieurs extraits de plantes médicinales et de leurs métabolites secondaires ainsi que leurs capacités de prévenir les effets toxiques des radicaux libres lors du diabète. L'objectif de cette étude était d'évaluer le possible effet hypoglycémiant et antioxydant d'un extrait aqueux d'une plante médicinale (400 mg/kg pendant 28 jours) chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine (60mg/kg). Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une élévation des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Cependant, l'administration orale de l'extrait aqueux de la plante pendant 28 jours à une dose journalière de 400 mg/kg a provoqué une nette diminution de la concentration sérique du glucose (50,47%) chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. D'autre part, l'extrait aqueux a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (foie et reins). En effet, la diminution de la concentration du malonyldialdéhyde (MDA) de 25,84 % et de 70,13 %, l'accroissement du taux du glutathion réduit (GSH) de 27,08 % et de 29,62 %, l'augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) de 42,13 % et de 32,78 % et de l'activité de la catalase (CAT) de 68,18 % et de 21,32 % de l'activité la Glutathion peroxydase (GPx) de 22,19% et de 19,90 % et l'activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) de 140 % et de 60 % respectivement dans le foie et les reins chez les rats diabétiques traités montrent que l'extrait aqueux de la plante possède une haute activité antioxydante. En conclusion, la présente étude suggère que l'extrait aqueux de la plante a un effet bénéfique sur le contrôle de diabète par diminution de la glycémie et du stress oxydant, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique et rénale, ce qui permet de réduire le développement des complications associées au diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.

Mots clés: Diabète, Stress oxydant, Plante médicinale, Hypoglycémique, Antioxydant, Streptozotocine.

LABORATOIRE DE RECHERCHE:

- Génie Microbiologique et Applications.
- Laboratoire de Biologie et d'Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Mentouri, Constantine

Président : ZAMA Djamilia Pr. Université Mentouri Constantine1

Encadreur : BOULDJADJ Redouane MAA. Université Mentouri Constantine1

Examineurs : MOURI Fouzia MCA. Université Mentouri Constantine1

: IHOUEL Safia MCA. Université Mentouri Constantine1