

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 08 MAI 1945 GUELMA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS

DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option: Biologie Moléculaire des Procaryotes

Thème

Contribution à l'étude de l'effet de deux plantes (*Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*) sur les complications du diabète.

Présenté par : AIDAOUI Walid

BOULHOULOU Khawla

MENASRI Ammar Nour

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{elle}. BOUMAZA A (MAA)

Examineur: Mr. BOUDEN I (MAA)

Encadreur : M^{elle}. HAMDIKEN M (MAA)

JUIN 2013

REMERCIEMENTS

Avant tous nos plus sincères remerciements à notre Dieu « الله » qui nous a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

On tient à exprimer nos gratitudee à M^{elle}. BOUMAZA Awatif et à Mr. BOUDEN Ismail Maitre assistants à l'université de 08 Mai 1945 de Guelma pour avoir accepté de juger ce travail.

On voudrait remercier notre directeur du mémoire M^{elle}. HAMDIKEN Malika Maitre assistante à l'université de Guelma pour avoir acceptée de nous encadrer et pour la confiance, le suivie, l'aide, le soutien et les conseils qu'elle nous a accordé toute au long de notre travail du projet de fin d'étude.

Les travaux de notre projet de fin d'étude ont été réalisés au sein des laboratoires de département des sciences de la nature et de la vie, à l'université 08 Mai 1945 à Guelma. On remercie donc le Chef du département M^{elle}. DERBELL Noura et le doyen de la faculté Pr. BENOUARETH Djamel Eddine pour les facilités qu'ils nous ont donné pour réaliser notre travail.

Un très grand merci à M^{elle}. BOUZITOUNA Amina maitre assistante à l'université d'Annaba pour ses orientations, son aide à fin de réaliser cette étude.

On remercie également le Pr. BENSOUILIH Mourad directeur du laboratoire d'écolo-biologie des milieux marins et littéraux et le Pr. BOULAKOUD Mohamed Salah directeur du laboratoire écophysiologie animal à l'université Badji Mokhtar – Annaba pour leurs accueils chaleureux à leurs laboratoires.

On adresse également nos remerciements à Mr. BOUKKROU directeur de l'institut de pharmacie à l'université de Constantine pour son aide pour nous assurer le nombre suffisant des souris.

On voudrait remercier Mr. BACHAGHA Abdessalem, Médecin généraliste à Skikda pour son aide pour la réalisation des paramètres histologiques.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont aux personnels du service d'anatomie Hôpital Ibn Zohr à Guelma (ZAGHDOUDI Amira) et CHU Annaba (BOUZEGHAYA Lamya) pour la réalisation des coupes histologiques.

On remercie très chaleureusement Mr. BELADDI Abdenour technicien à la polyclinique de Héliopolis pour sa contribution et son aide concernant la réalisation des analyses biochimiques.

On tient à remercier maintenant très respectueusement Mme. HIMER Ratiba technicienne du laboratoire de biochimie, université de Guelma pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au laboratoire ainsi les techniciennes des laboratoires (Ghania, Asma, Leila et Houria) qui nous ont facilité notre travail.

Un grand merci à nos parents, pour tout l'amour et le soutien qu'ils nous ont apporté à tous les moments de notre vie. Ils sont toujours été une source de tendresse et un modèle de travail, de sagesse et d'humilité.

Nos sincères remerciements aussi :

- A nos frères.*
- A nos sœurs.*
- A nos amies et camarades.*

Table des matières:

Remerciements

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Première partie : Synthèse bibliographique

I. Définition de diabète	1
1. Diabète de Type 1 : (diabète insulino-dépendant «DID»).....	1
2. Diabète de Type 2 : (diabète non insulino-dépendant «DNID».....	1
3. Autres types de diabètes spécifiques	2
II. Facteurs déclenchant le diabète	4
III. Le diabète et le stress oxydatif	5
1. Définition du stress oxydatif.....	5
2. Origine du stress oxydant	5
3. Les entités oxydantes et leur production	6
4. Les cibles biologiques du stress oxydant.....	7
5 Les antioxydants.....	8
o 5.1. Classification des systèmes antioxydants	8
6. Implications du stress oxydant dans le diabète.....	13
IV. Traitement du diabète sucré	13
1. Les antioxydants	13
2. Les antidiabétiques	14
3. Plantes antidiabétiques : phytothérapie	14
V. Diabète expérimental	15
VI. Zinc et diabète	16
VII. Les plantes sélectionnées	17
1. <i>Bêta vulgaris</i> «var. <i>cicla</i> ».....	17
2. <i>Ruta chalepensis</i>	19

Deuxième partie : Matériels et Méthodes

I. Partie végétale	21
1. Matériel	21
○ 1.1. Matériel végétale	21
2. Méthodes	21
○ 2.1. Etude phytochimique	21
2.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique	21
2.1.2. Tests préliminaires de la composition chimique	22
2.1.3. Séparation et identification par chromatographie sur couche mince	24
2.1.4. Analyse de l'extrait méthanolique de <i>Bêta vulgaris</i> et <i>Ruta chalepensis</i>	25
II. Partie Biologique :	29
1. Matériel	29
○ 1.1. Matériel animal	29
2. Effets de l'extrait méthanolique de <i>Bêta vulgaris</i> et de <i>Ruta chalepensis</i> sur les animaux	29
○ 2.1. Le test de toxicité.....	29
○ 2.2. Test de l'activité hypoglycémiant sur des rats normo-glycémiques ...	29
○ 2.3. Test de l'activité anti-hyperglycémiant	30
3. L'étude sur les rats diabétiques	30
○ 3.1. Induction du diabète sucré chez les rats :	30
○ 3.2. La préparation de la nourriture	31
○ 3.3. Traitement des animaux.....	32
○ 3.4. Prélèvement sanguin	33
○ 3.5. Prélèvement des organes.....	33
4. Dosage biochimique	35
○ 4.1. Dosage de glucose	35
○ 4.2. Dosage de cholestérol	36
○ 4.3. Dosage des triglycérides	37
○ 4.4. Dosage de l'acide urique	39
○ 4.5. Dosage de l'urée	40
○ 4.6. Dosage de la créatinine	41
5. Etude histologique	42
III. Etude statistique	43

Résultats	44
Discussion	60
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexe	

Résumé :

L'objectif de cette étude est la recherche d'éventuel effet antidiabétique de *Bêta vulgaris* et de *Ruta chalepensis* chez le rat mâle Wistar adulte alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc, avec un suivi du poids corporel, la glycémie et l'évolution des paramètres biochimiques, ainsi que l'étude de l'histologie du pancréas.

Le diabète est souvent accompagné par des anomalies métaboliques et connu d'être associé au stress oxydatif, un facteur de risque majeur pour la pathogenèse des complications diabétiques qui peuvent être gérées par des antioxydants naturels. Pour cette raison, un screening phytochimique des composés et des tests de l'activité antioxydante in vitro ont été réalisés pour estimer les effets attendus. Les résultats ont montré la présence de différents composés: les flavonoïdes, Saponosides, mucilages, Un effet scavenger significatif et une activité antioxydante élevée sont également signalés.

Dans le but d'évaluer l'effet des plantes sélectionnées sur les complications du diabète provoquées par la carence en zinc, deux régimes alimentaires sont préparés l'un normal et l'autre pauvre en zinc, l'étude expérimentale est menée au laboratoire sur 40 rats répartis en huit lots de cinq rats chacun dont 05 lots sont rendus diabétiques par l'injection intrapéritonéale de streptozotocine à raison de 50 mg / kg. L'extrait méthanolique de *Bêta vulgaris* et de *Ruta chalepensis* est administré chaque jour par voie orale avec une dose de 500 mg/kg. Après 21 jours du traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés

A partir de l'analyse des résultats, on a observé que la carence en zinc dans l'alimentation à induit un déficit pondéral et une diminution de la consommation alimentaire.

Nous avons constaté aussi une augmentation significative de la concentration du glucose, du cholestérol, des triglycérides, de l'urée, de la créatinine, et de l'acide urique dans le sérum des rats alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par un régime alimentaire normal. L'histologie du pancréas a montré une nécrose au niveau des îlots de Langerhans conduisant à leur disparition totale.

Par ailleurs, le traitement des rats diabétiques par l'EMRC et l'EMBV a montré un effet anti-hyperglycémiant en améliorant tous les paramètres physiologiques et biochimiques approximativement à leurs niveaux normaux et surtout une activité cytoprotectrice vis-à-vis le pancréas en préservant la capacité de la sécrétion d'insuline

En conclusion; l'EMRC et l'EMBV sont doués d'une activité antidiabétique et antioxydante remarquables. De ce fait ils peuvent constituer une ressource naturelle pour les futures études sur le diabète sucré ses complications.

Mots clés: *Bêta vulgaris*, *Ruta chalepensis*, zinc, diabète expérimental, streptozotocine, DPPH,

Abstract

The objective of this study is to search for possible anti-diabetic effect of *Beta vulgaris* «var. *cicla*» and *Ruta chalepensis* in male adult Albinos Wistar rats fed a diet low in zinc according to the body weight, blood glucose and changes in biochemical parameters and study the histology of the pancreas.

Diabetes is often accompanied by metabolic abnormalities and known to be associated with oxidative stress, a major risk factor in the pathogenesis of diabetic complications can be managed by natural antioxidants. For this reason, a phytochemical screening and testing of antioxidant activity in vitro were performed to estimate its expected effects. The results showed the presence of different compounds: flavonoids, saponins, mucilage, a significant scavenger effect and high antioxidant activity are also reported.

This is an experimental study in the laboratory on 40 rats divided into eight batches of five rats each of which 05 batches are rendered diabetic by intraperitoneal injection of streptozotocin at 50 mg / kg. The methanol extract of *Beta vulgaris* and *Ruta chalepensis* is administered daily orally. After 21 days of treatment, the rats were sacrificed and the various parameters are determined.

From the analysis results, it was observed that zinc deficiency in the diet induced underweight and decreased food consumption.

We also found a significant increase in the concentration of glucose, cholesterol, triglycerides, urea, creatinine and uric acid in serum-fed a diet low in zinc compared to rats those fed a normal diet.

Furthermore, the treatment of diabetic by methanol extract of *Ruta chalepensis* and methanol extract of *Beta vulgaris* «var. *cicla*» rats showed a dose-dependent antihyperglycemic effect in improving all about physiological and biochemical parameters to normal levels.

In conclusion, the methanol extract of *Ruta chalepensis* and methanol extract of *Beta vulgaris* «var. *cicla*» are endowed with a remarkable antidiabetic and antioxidant activity. Therefore they can be a natural resource for future studies on diabetes mellitus caused by zinc deficiency and its complications.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن تأثير مضاد للسكري الممكن للنبتين: *Beta vulgaris*

«var. cicla» و *Ruta chalepensis* على جردان ذكور بالغة من سلالة: *albinos Wistar* التي تغذت على نظام غذائي منقوص من الزنك مع تتبع وزن الجسم، ومستوى السكر في الدم والتغيرات في القياسات البيوكيميائية ودراسة الأنسجة البنكرياسية.

غالبا ما يكون مرض السكري مصحوبا بشذوذ ايضية ومن المعروف أنه يترافق مع الإجهاد التأكسدي، وهو عامل رئيسي خطير يتسبب في تعقيد السكري يمكن أن يتحكم فيها بواسطة مضادات الأكسدة الطبيعية. لهذا السبب تم إجراء فحص للمواد الكيميائية النباتية المضادة للأكسدة و اختبارات مخبرية لتقدير آثار النشاط. أظهرت النتائج وجود مركبات مختلفة: فلافونيدات، الصابونين، والصمغ. ولها تأثير كبير كمركبات مستقبلة ونشاط عالية مضادة للأكسدة حسب ما افادت التقارير.

هذه الدراسة التجريبية المخبرية تمت على 40 جرد تم تقسيمها إلى ثماني مجموعات كل منها بها خمسة جردان، منها 05 مجموعات تمت اصابتها بداء السكري عن طريق الحقن داخل الصفاق من بالستربتوزوتوسين بـ: 50 ملغ / كغ. تم تقديم المستخلص الميثانولي لـ: «var. cicla» *Beta vulgaris* و *Ruta chalepensis* عن طريق الفم بشكل يومي. بعد 21 يوما من العلاج، تم قتل بالجردان وتم تحديد مختلف المعايير.

انطلاقا من تحليل النتائج، لاحظنا ان نقص مركب الزنك في التغذية ادى الى فقدان الوزن وتناقص في استهلاك الغذاء.

سجلنا ايضا ارتفاعا ملحوظا في تركيز الجلوكوز، الكوليستيرول، ثلاثي الغليسريد، البولة، الكرياتينين و الحمض البولي في المصل الخاص بالجردان التي تم تغذيتها وفق نظام غذائي فقير من الزنك مقارنة بالجردان التي غذيت وفق نظام غذائي عادي.

من ناحية اخرى فان علاج الجردان المصابة بالسكري بواسطة المستخلص الميثانولي لـ:

Ruta chalepensis و المستخلص الميثانولي لـ: «var. cicla» *Beta vulgaris* اظهر اثارا مضادة لارتفاع نسبة السكري لجرع مستقلة عبر تحسين جميع الخصائص الفيزيولوجية و البيوكيميائية بصورة قريبة من مستوياتهم العادية.

في الختام، نستنتج ان للمستخلص الميثانولي لـ: *Ruta chalepensis* و المستخلص الميثانولي لـ: «var. cicla» *Beta vulgaris* نشاطا ملحوظا مضادا للسكري و الاكسدة. من هذا المنطلق يمكن ان يشكل مصدرنا طبيعيا للدراسات المستقبلية حول تعقيدات داء السكري الناجمة عن النقص في مركب الزنك في الغذاء.

الكلمات المفتاحية: *Béta vulgaris* ، *Ruta chalepensis* ، داء السكري التجريبي، الستربتوزوتوسين، DPPH

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique.
AGE	Produits de glycation avancée.
DID	Diabète insulino- dépendant.
DPPH°	Diphényl picryl-hydrazine.
EMBV	Extrait méthanolique de Béta vulgaris.
EMRC	Extrait méthanolique de Ruta chalepensis.
EOA	Espèce oxygénée active.
ERO	Espèce réactive oxygénée.
GK	Goto-Kakizaki.
GPx	Glutathion peroxydases.
GSH	Glutathion réduit.
GSSG	Glutathion oxydé.
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène.
HOBr	Hypobromique.
HOCl	Acide hypochlorique.
LDL	Lipoprotéine de basse densité.
NO·	Monoxyde d'azote.
O ₂	Oxygène.
1O ₂	Oxygène singulet.
O ₂ ^{° -}	Radical Superoxyde.
OH•	Radical Hydroxyle.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
ONOO ⁻	peroxynitrites.
PKC	Proteine kinase C.
RCS	Reactive chlorine species.
RL	Radicaux Libres.
RNS	Reactive Nitrogen Species.
ROO·	Radical pyroxyle.
ROS	Reactive oxygen species.
SOD	Superoxyde dismutase.

STZ

Streptozotocine.

TRX

Thiorédoxine.

Liste des figures

Figure N°	Les titres des figures	N° page
Figure 1	Schéma montrant l'équilibre du stress oxydatif	5
Figure 2	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	10
Figure 3	<i>Bêta vulgaris</i>	18
Figure 4	<i>Ruta chalepensis</i>	19
Figure 5	Protocole de l'extraction (extrait méthanolique)	22
Figure 6	Droite d'étalonnage de l'acide gallique	26
Figure 7	Droite d'étalonnage de la quercétine	27
Figure 8	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	28
Figure 9	Schéma récapitulatif du Protocole expérimental	34
Figure 10	chromatographique sur couche mince des deux extraits méthanolique et de la quercétine.	45
Figure 11	Effet antiradicalaire de l'EMBV et l'EMRC sur le radical DPPH.	47
Figure 12	évaluation de l'activité hypoglycémiant sur les souris normoglycémique traités par l'EMBV et l'EMRC.	48
Figure 13	Pourcentage de la diminution de la glycémie par rapport à la glycémie basale des rats.	48
Figure 14	Test Anti-Hyperglycémique de l'EMRC (mg/dl).	49
Figure 15	Test Anti-Hyperglycémique de l'EMBV (mg/dl).	50
Figure 16	augmentation de la glycémie chez les rats traités avec de l'EMRC, l'EMBV à différentes dose, l'eau physiologique et le glibenclamide.	50
Figure 17	Courbe du suivie de la glycémie durant le traitement.	52
Figure 18	Evaluation de l'augmentation et la diminution de la glycémie chez les rats traités.	52
Figure 19	Suivie du poids de rats durant le traitement.	54
Figure 20	Le gain du poids des rats à la fin du traitement.	55
Figure 21	Concentration sérique de la créatinine.	57
Figure 22	Concentration sérique du cholestérol.	57
Figure 23	Concentration sérique de l'acide urique.	58
Figure 24	Concentration sérique de l'urée.	58
Figure 25	Concentration sérique du triglycéride.	58
Figure 26	Photos des coupes histologiques réalisées du pancréas.	59

Liste des tableaux

Tableaux N°	Les titres des tableaux	N° page
Tableau 1	Classification étiologique des diabètes sucrés.	3
Tableau 2	Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques.	9
Tableau 3	Composition de la nourriture.	31
Tableau 4	La quantité des métaux.	32
Tableau 5	La quantité des autres métaux.	32
Tableau 6	Rendement des deux plantes.	44
Tableau 7	Résultats des tests phytochimiques.	44
Tableau 8	Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'EMBV et l'EMRC.	46
Tableau 9	Effet de l'administration orale de l'EMBV, l'EMRC et de l'eau physiologique sur la glycémie.	53
Tableau 10	Effet de l'administration orale de l'EMBV, l'EMRC et de l'eau physiologique sur le gain du poids corporel.	54
Tableau 11	L'évaluation des tests biochimiques.	56

Introduction

Introduction

Le diabète est une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde .Elle touche environ 7% de la population mondiale .les patients atteints de diabète ont le stress oxydatif élevé et une altération des systèmes de défense anti-oxydante, qui semblent contribuer à l'initiation et la progression des complications du diabète induit.

Le zinc est un oligo-élément important. Il est indispensable à un certain nombre de fonctions biochimiques et physiologiques, il intervient dans l'activité de près de 300 enzymes [Judith J et al., 2009]. Il joue également un rôle dans la plupart des métabolismes (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Il agit aussi au niveau du métabolisme hormonal, il joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion d'insuline. La carence en zinc induit une augmentation des troubles métaboliques du diabète et favorise les complications de cette maladie.

Le traitement de ces complications constitue une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Ceci est en vue de trouver de nouvelles solutions pour prévenir, voir ralentir la survenue des complications organiques et métaboliques résultantes de l'hyperglycémie chronique.

Le traitement pharmacologique actuel du diabète est représenté essentiellement par l'insuline et les hypoglycémiantes oraux qui visent à soigner et non à guérir la maladie [Eddouks, 2007; Zhang, 2006] en plus, on remarque que l'utilisation continue des drogues antidiabétiques synthétiques causes des effets secondaires néfastes et la toxicité [Zhang, 2006; Hwang, 2005].

Par conséquent, les plantes médicinales sont largement utilisées, en raison de leur efficacité, des effets secondaires limités, et des coûts relativement bas [Hwang, 2005]. Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicament grâce à la richesse des produits dit du métabolisme secondaire [Eddouks, 2007].

Plus de 800 plantes sont utilisées actuellement dans le traitement de diabète [Alarcon-Aguilara, 1988], plusieurs études ont été effectuées pour identifier les composés bioactifs des plantes médicinales et diététiques responsables de l'activité hypoglycémique, certains composés sont isolés tel que : Tanins, Saponosides, mucilages, alcaloïdes, oses et holosides. et parmi lesquels les flavonoïdes qui sont les principaux composants actifs responsables de diverses activités biologiques.

L'objectif de la présente étude est la variation de l'effet de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris* «var. *cicla*» sur les complications du diabète provoquées par la carence en zinc ainsi que leur potentiel antioxydant en utilisant des outils biochimiques.

La première partie de travail s'attachera à donner quelques rappels bibliographiques sur le diabète, le diabète expérimental, le stress oxydatif, on mentionnera également la relation entre diabète zinc, et les plantes choisies.

La seconde partie du mémoire présentera les résultats de l'extraction, l'étude phytochimique, l'activité antioxydante et l'activité antidiabétique de l'extrait méthanolique de deux plantes chez les rats, en estimant les aspects suivants:

- Etude de la variation du poids corporel.
- Dosage des paramètres biochimiques.
- Etude histologique du pancréas endocrine.

En fin on discute les résultats obtenus dans cette étude.

Première partie :
Synthèse bibliographique

I. Définition de diabète

Selon l'OMS, le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline et/ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang.

L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins. Le critère biologique retenu par le Comité des Experts de l'OMS pour le diagnostic du diabète sucré est le suivant : constatation à deux reprises au moins d'une glycémie à jeun supérieure ou égale à 7 mmol/l (1,26 g/l) dans le plasma [OMS, 2011].

On peut distinguer plusieurs types de diabète :

1. Diabète de Type 1 : (diabète insulino-dépendant «DID»)

Le diabète de type 1 (précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou juvénile) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière. Ce type de diabète prend son origine suite à une destruction progressive des cellules bêta (β) du pancréas qui produisent l'insuline. Cette destruction est le résultat d'une agression auto-immune impliquant les lymphocytes T, observée chez des sujets génétiquement prédisposés. Néanmoins, la composante génétique ne suffit pas à expliquer la progression de ce diabète et on reconnaît que les facteurs environnementaux jouent un rôle certain dans l'établissement d'un diabète de type 1 [MacFarlane, 2009]. Compte-tenu du caractère spécifique de ce diabète et de la nature des facteurs environnementaux en cause, notamment nutritionnels et infectieux.

2. Diabète de Type 2 : (diabète non insulino-dépendant «DNID»)

Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux [Buysschaert et al., 1998 ; Racciah, 2004] et sa prévalence augmente avec l'âge [Peter-Riesch et al., 2002]. Il résulte de l'incapacité de l'organisme à

réagir correctement à l'action de l'insuline. L'insuline est soit basse ou soit élevée (insulinorésistance prédominante ou insulinopénie prédominante) [Racah, 2004 ; Calop et al., 2008].

En l'absence de traitement, le diabète se reconnaît par une élévation chronique de la glycémie. Celle-ci s'accompagne parfois par les symptômes suivants : polydipsie, polyurie, la fatigue, Polyphagie, amaigrissement ou obésité, et des troubles de la conscience aboutissant à un coma mortel [Sharma et al., 1993 ; Buyschaert et al., 1998 ; Racah, 2004 ; Calop et al., 2008].

Le diabète aboutit à des complications comme les maladies cardio-vasculaires et rénales. Ces Complications peuvent être retardées, diminuées ou empêchées en maintenant une glycémie près de la normale (0.7 - 0.8 g/l) [Racah, 2004].

3. Autres types de diabètes spécifiques

Les autres types de diabètes spécifiques sont regroupés dans le tableau 1 selon la nouvelle classification étiologique du diabète sucré :

Tableau 1 : Classification étiologique des diabètes sucrés – [Rodier, 2001].

<p>I- Diabète de type 1 : (Destruction des cellules B, conduisant habituellement à une carence en insuline absolue)</p> <p>A- D'origine immunologique. B- Idiopathique</p> <p>II- Diabète de type 2 : (Spectre variable, d'une résistance à l'action de l'insuline prédominante avec déficit insulinosécrétoire relatif à un déficit insulinosécrétoire prédominant avec résistance à l'action de l'insuline.)</p> <p>III- Autres types de diabètes spécifiques :</p> <p>A- Défauts génétiques de la fonction des cellules B.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Chromosome 12, HNF-1 (anciennement MODY3) 2- Chromosome 7, glucokinase (anciennement MODY2) 3- Chromosome 20, HNF-4 (anciennement MODY1) 4- Mutation de l'ADN mitochondrial 5- Autres <p>B- Défaut génétique de l'action de l'insuline</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Insulinorésistance de type A. 2- Le préchaunisme 3- Syndrome de Rabson- Mendenhall 4- Diabète lipoathrophique 5- Autres. <p>C- Diabètes pancréatiques (exocrines)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Pancréatites 2- Traumatisme/ pancréatectomie 3- Cancer du pancréas 4- Mucoviscidose 5- Hémochromatose 6- Pancréatite fibrocalculeuse <p>D- Endocrinopathies</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Acromégalie 2- Syndrome de Cushing 3- Glucagonome 	<ol style="list-style-type: none"> 4- Phéochromocytome 5- Hyperthyroïdie 6- Somatostatine 7- Hyperaldostéronisme primaire 8- Autres <p>E- Diabètes induits par des médicaments ou des toxiques</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Vacor (raticide) 2- Pentamidine 3- Acide nicotinique 4- Glucocorticoïdes 5- Hormones thyroïdiennes 6- Diazoscide 7- Agoniste B- adrénergiques 8- Diurétiques thiazidiques 9- Diphenylhydantoïne 10- Interféron α 11- Autres <p>F- Diabète d'origine infectieuse</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Rubéole congénitale 2- Cytomégalovirus 3- Autres <p>G- Formes rares d'origine auto-immune</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Syndrome de l'homme raide 2- Anticorps anti-récepteur de l'insuline 3- Autres <p>H- Autres syndromes d'origines génétiques parfois associés au diabète</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Trisomie 21. 2- Syndrome de Klinefelter 3- Syndrome de Turner 4- Syndrome de Wolfram 5- Ataxie de Friedreich 6- Chorée de Huntington. 7- Porphyrurie 8- Dystrophie myotonique 9- Syndrome de Prader- Willi. 10- Autres <p>IV- Diabète gestationnel</p>
--	---

II. Facteurs déclenchant le diabète

- **L'hérédité** : les différents types de diabète peuvent être induits par des facteurs héréditaires donc : la génétique à une action sur la présentation du diabète [**Bakour et Sioune, 2007**].
- **L'obésité** : est défini par un excès de la masse adipeuse qui représente le facteur de résistance de l'action d'insuline le plus fréquent [**Bakour et Sioune, 2007**].
- **Le stress** : le stress peut déclencher un diabète chez certaines personnes prédisposées génétiquement, il entraîne :
 - L'excrétion des catécholamines qui activent la néoglucogenèse et la glycogénolyse.
 - L'augmentation de l'activité de l'hypophyse qui a un effet anti-insuline périphérique. Ainsi l'effet du stress sur la glycémie peut varier d'une personne à l'autre [**Gribe et Mersougui, 2009**]
- **L'âge** : plus l'âge est avancé, plus le risque d'apparition du diabète est important dans la population, la sécrétion de l'insuline par le pancréas s'use chez certaines personnes [**Gribe et Mersougui, 2009**].
- **Les facteurs alimentaires** : Le diabète peut résulter d'une suralimentation et surtout d'un déséquilibre alimentaire, les modifications des habitudes alimentaires, provoquant une augmentation des apports caloriques, accroissement de la consommation de graisse saturée et de sucre simple ainsi qu'une carence alimentaire favorise l'apparition du diabète [**Bakour et Sioune, 2008**].
- **L'infection virale** : le virus *Coxsackie B* impliqué dans le déclenchement du DID et les virus des oreillons et la rubéole dans l'infection congénitale qui attaque la cellule Bêta du pancréas [**Bakour et Sioune, 2008**].

III. Le diabète et le stress oxydatif

1. Définition du stress oxydatif

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production des espèces réactive de l'oxygéné (ERO) et les systèmes de défense antioxydante (Figure 1) [pincemail et *al.*, 1999]. 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, 2008].

La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite «stress oxydant». Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant «un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels [Durackova, 2008] et à des dégâts cellulaires irréversibles [Abuja et *al.*, 2001 ; Pincemail et *al.*, 1999]

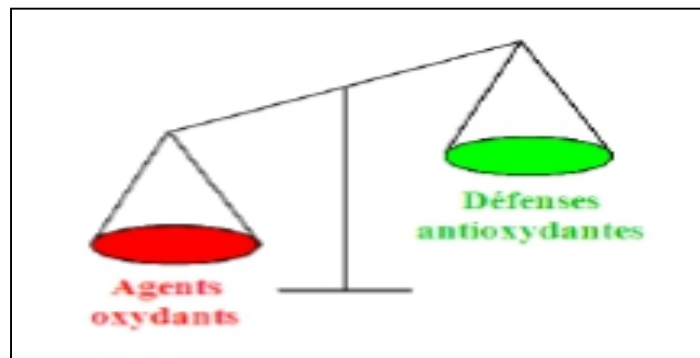


Figure 1 : Déséquilibre entre les molécules pro-oxydantes et les systèmes de défenses antioxydantes lors du stress oxydant [Nathalie, 2010].

2. Origine du stress oxydant

La rupture de l'équilibre antioxydant-pro-oxydant, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines [Favier, 2003]. En effet, le stress oxydant peut provenir soit :

- ✓ D'une production endogène massive des radicaux libres par activation de macrophages, de polynucléaires, des cellules endothéliales et de la mitochondrie, ou par une exposition à des générateurs environnementaux (soleil, radioactivité, pollution atmosphérique, tabac, alcool, médicaments...etc.).
- ✓ D'une défaillance du système antioxydant provoquée, d'une part, par un affaiblissement des défenses enzymatiques due d'une carence en cofacteur oligoélément ou à une anomalie génétique ou acquise touchant leurs gènes correspondant. D'une autre part, cette déficience antioxydante peut aussi être causée par une carence en molécules non-enzymatiques antioxydantes surtout celles apportées par la nutrition. [Favier, 2006]

3. Les entités oxydantes et leur production

Les entités oxydantes sont souvent des radicaux libres, c'est-à-dire des espèces chimiques qui possèdent un électron célibataire ou non apparié sur la dernière couche électronique. Cet électron célibataire n'est pas compensé ce qui provoque des dérèglements dans leur champ magnétique, rendant ainsi ces espèces très instables. Elles vont alors tenter de récupérer des électrons sur d'autres molécules comme les substrats biologiques, en les oxydant [Delattre, 2005 ; Durackova, 2008]. Il existe majoritairement trois grandes familles d'espèces réactives :

- ❖ *Les espèces réactives de l'oxygène ou ROS (Reactive Oxygen Species)*, issues de la réduction incomplète de l'oxygène, dont le précurseur est l'anion superoxydes O_2^- . Il est à l'origine de la formation d'autres ROS tel que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et le radical hydroxyle OH. L'oxygène singulet O_2 est également une entité oxydante.
- ❖ *Les espèces réactives de l'azote ou RNS (Reactive Nitrogen Species)* qui donnent entre autres des peroxydinitrites ($ONOO^-$), du monoxyde d'azote NO et le radical peroxyde (ROO).
- ❖ *Les espèces réactives du chlore ou RCS (Reactive Chlorine Species)* comme l'acide hypochlorique, HOCl.

Enfin, il existe d'autres variétés d'entités oxydantes ou de radicaux, comme par exemple l'acide hypobromique HOBr.

4. Les cibles biologiques du stress oxydant

Les entités oxydantes étant très réactives, elles réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cibles les lipides, les acides nucléiques, les protéines et les sucres [Beckman et Ames, 1998].

❖ Les lipides

Les cibles des ROS sont principalement les acides gras polyinsaturés, en raison de la présence de nombreuses doubles liaisons, comme l'acide linoléique ou l'acide eicosapenténoïque. Les réactions radicalaires sont à l'origine de la peroxydation lipidique qui se traduit *in vitro* par le rancissement. Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison [Halliwell et Gutteridge, 1989].

❖ Les acides nucléiques

Les dommages médiés par le stress oxydant au niveau de l'ADN sont de cinq types : l'oxydation des bases, la formation de sites abasiques, d'adduits intra-caténaux, des cassures des brins et des pontages ADN-protéines [Cadet et al., 2002].

❖ Les protéines

Les protéines subissent des modifications au cours du stress oxydant, soit sous l'action des radicaux libres oxygénés, soit en présence de métaux de transition [Stadtman, 1990 ; 1993]. Il s'ensuit plusieurs types de modifications : fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des acides aminés et formation de liaisons croisées entre deux protéines [Bonfont et al., 2001].

Tous les acides aminés peuvent être oxydés ; ainsi la méthionine peut se transformer en méthionine sulfoxyde et la tyrosine en nitrotyrosine [Tratner, 2003]

❖ **Les sucres**

En présence de métaux, l'oxydation du glucose peut libérer des céto-aldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et des anions superoxydes (OH[•]), et entraîner la coupure de protéines et leur glycation par attachement du céto-aldéhyde [Wolff et al., 1989] formant un dérivé de produit de glycation avancée (AGE, Advanced Glycation End product).

5. Les antioxydants

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant». 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, 2008].

5.1. Classification des systèmes antioxydants

- ❖ **Les antioxydants enzymatiques** : Les enzymes antioxydants ont une signification négligeable dans l'espace extracellulaire alors qu'ils jouent un rôle très significatif dans l'espace intracellulaire [Durackova, 2008]. On note principalement: les enzymes responsables de la dismutation de l'ion superoxyde, ce sont les superoxydes dismutases, les enzymes agissant sur les peroxydes, c'est la catalase, et les glutathion peroxydases, ainsi que les enzymes intervenant dans la protection des protéines à fonction thiol, c'est la thiorédoxine comme il est illustré dans (Tableau 2 et Figure 02) [Goudable et Favier, 1997]

Tableau 02 : Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques [Beaudeau et al., 2005]

Antioxydants enzymatiques	Caractéristiques et réaction catalysée
<p><i>Superoxyde dismutase</i> SOD :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cu, Zn SOD1 - Mn SOD2 - Cu, Zn SOD3 	<p>Appartient à la famille des métallo enzymes, possède trois iso-enzymes : SOD1, SOD2 intracellulaires et SOD3 extracellulaire, catalyse la dismutation de l'ion superoxyde.</p> $\text{O}_2^{\circ-} + \text{O}_2^{\circ-} \xrightarrow{2\text{H}^+} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
<p>La catalase :</p>	<p>C'est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.</p> $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$
<p>Les glutathion peroxydases GPx sélénium- indépendant (GST) : GPx sélénium-dépendant</p>	<p>La GST catalyse les réactions de détoxification des xénobiotiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Présente sous forme de 5 isoenzymes tétramériques, agissant sur les peroxydes d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques par l'intermédiaire de GSH.
<p>La thiorédoxine TRX</p>	<p>-Sélénoprotéine, à activité oxydoréductase, protectrice des protéine à fonction thiol</p> $\begin{array}{l} \text{Trx-S}_2 + \text{NADPH, H}^+ \xrightarrow{\text{TrxR}} \text{Trx-(SH)}_2 + \text{NADP}^+ \\ \text{Protéine-S}_2 + \text{Trx-(SH)}_2 \longrightarrow \text{Protéine-SH}_2 + \text{Trx-S} \end{array}$

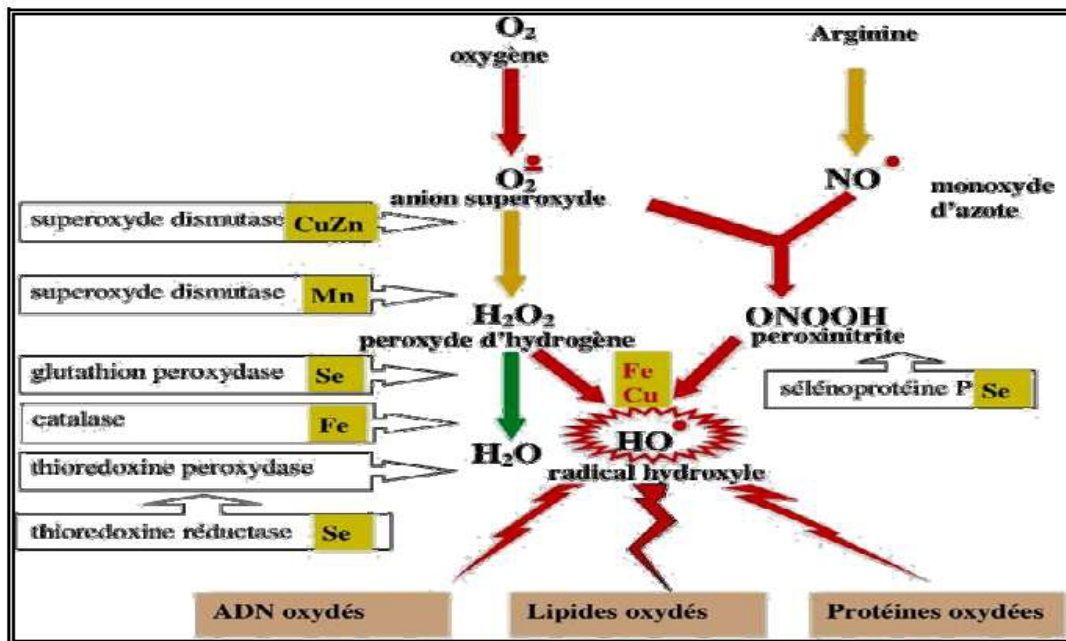


Figure 2 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques [Nicolosis, 1999]

❖ Les antioxydants non enzymatiques

➤ Glutathion

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique. Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté. la glutathion agit comme Co-substrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase [ravi *et al.*, 2004]

➤ **Vitamine E et vitamine C**

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant. La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique [Evans, 2000].

La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l' O_2^{\bullet} et l' OH^{\bullet} . Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E [Evans, 2000].

➤ **L'acide urique**

L'acide urique constitue le produit terminal majeur du métabolisme des purines chez les primates. Possédant des propriétés antioxydantes, il peut interagir avec les espèces oxygénées actives (EOA), et tout particulièrement avec le radical hydroxyle. Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus efficace en termes de réactivité avec les EOA [Durackova, 2008]

➤ **La bilirubine**

Protection des acides gras libres et de l'albumine contre l'attaque radicalaire. [Beaudeau, 2005].

➤ **β -carotènes**

Contrôlent efficacement la génération de radicaux libres notamment en captant l'oxygène singulet. [Beaudeau, 2005]

❖ *Autres molécules antioxydantes*

➤ *Les oligo- éléments*

Les oligo-éléments, appelés aussi éléments traces sont des éléments métalliques indispensables à l'organisme, mais en toute petite quantité.

➤ *Le sélénium*

Le sélénium est nécessaire à l'activité de nombreuses sélénoenzymes antioxydantes : GPx, TRX...etc. [Baskin, 1994].

➤ *Polyphénols*

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les coumarines, et les phénols.

Ce sont des composés que l'on retrouve dans les plantes. Depuis quelques années les Polyphénols attirent l'attention des chercheurs à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique et de réduire les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices [Delattre, 2005].

➤ **Le zinc**

La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothioneines. L'importance du zinc dans La prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres est primordiale. En effet, le zinc joue un rôle dans l'activité et le maintien de la SOD qui est un piègeur capital des ions superoxydes [Baskin, 1994].

6. Implication du stress oxydant dans le diabète (Glutotoxicité liée à l'hyperglycémie)

Les mécanismes de la toxicité du glucose au niveau des tissus cibles des complications du diabète sont multiples [Benhamou, 1991]. Le glucose exerce son effet toxique et forme des ROS par différents mécanismes. Il a été montré chez des rats Goto-Kakizaki (GK), diabétiques de type 2, non obèses, une augmentation des marqueurs du stress oxydant suite à une hyperglycémie [Nathalie, 2010]. Les mécanismes conduisant à la formation de ROS sont notamment, le phénomène d'auto oxydation du glucose, la voie des polyols, la voie de la PKC et la glycation des protéines avec formation des produits avancés de fin de glycation (AGEs).

IV. Traitement du diabète sucré

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 (Produits de glycation avancée) jouant un rôle dans les complications du Diabète.

1. Les antioxydants

Les études variées ont montré que les vitamines et les suppléments antioxydants peuvent aider à diminuer les marqueurs indicatifs du stress oxydant et de la peroxydation lipidique chez les sujets et les animaux diabétiques [Rahim, 2005]. Parmi ces antioxydants étudiés avec le diabète on note :

- La *vitamine E* : qui baisse la glycosylation des protéines et l'insulinorésistance avec son effet préventif de l'athérosclérose [Thomas et Stocker, 1999].
- La *vitamine C* : qui diminue le taux de l'hémoglobine glyquée et améliore l'action de l'insuline [Nicolosis, 1999].

- Le *vanadium* : inhibant la peroxydation lipidique au niveau du pancréas [**Krzystek-Korpacka et al., 2007**].
- Le *zinc* et le *sélénium* : qui font augmenter l'activité des enzymes antioxydantes et le taux de GSH (Glutathion réduit) dans le foie et le cerveau [**Tessier et al., 2008**].
- les *β-carotènes* : qui diminuent la susceptibilité des LDL (Lipoprotéine de basse densité) à l'oxydation, et améliore les taux de GSH et l'activité des GPx (Glutathion Peroxydase) [**Oranje et al., 2000 ; Renard et Obberghen, 2006**].

2. Les antidiabétiques :

Généralement, tous ces agents antidiabétiques causent différents effets secondaires qui varient selon la classe et la génération du médicament [**Marles et Farnsworth, 1994**] oraux utilisés dans le traitement du diabète possédant, outre leurs effets normoglycémiant, des propriétés antioxydantes et /ou anti AGE [**Dey lucey et al., 2002**].

- Les sulfamides hypoglycémiant stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas en les sensibilisant à l'action du glucose [**Dey et al., 2002**].
- Les biguanides classés en deuxième lieu n'agissent pas sur la sécrétion insulinaire, ce sont des potentialisateurs d'effets de l'insuline [**Srivastava et al., 1993**].

3. Plantes antidiabétiques : phytothérapie

Actuellement, des études faites sur des plantes médicinales ont révélé leur effet antidiabétique accompagné de leur effet antioxydant élevé, qui semble jouer un rôle primordial dans les complications et les lésions des organes associées au diabète [**Srinivasan, 1997 ; Gupta, 2008**], ce qui donne plus d'espoir pour prévenir et/ou guérir le diabète et ses

Complications. C'est pour cela les plantes antidiabétiques ont pris un grand intérêt comme source énorme d'antioxydant [Halliwell, 2009].

V. Diabète expérimental :

Afin d'étudier l'étiologie de ce diabète et en raison de la gravité de ces nombreuses répercussions métaboliques et dégénératives, l'utilisation de modèles expérimentales représente autant de voies d'accès dans la compréhension de la genèse et la complication de cette pathologie [Duhault, 1997 ; Frøde et Medeiros, 2008].

Les études visant la mise au point des modèles adéquats de diabète chez l'animal, diabète non insulino-dépendant ont abouti à différents types de modèles obtenus essentiellement chez le rat [Cefalu, 2006].

L'exploitation de ces modèles de diabète apporte des confirmations en faveur de l'idée selon laquelle les anomalies de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline seraient secondaires à une réduction plus ou moins marquée de la population des cellules β [Duhault, 1997 ; Rees et Alcolado, 2005].

L'installation du diabète chez les modèles animaux se fait par diverses méthodes :

- Diabète induit par des méthodes de génie génétique. [Frøde et Medeiros, 2008]
- Diabète induits par le régime alimentaire. [Malaisse et Sener, 2008].
- Diabète induit par des substances médicamenteuses (la pentamidine). [Sai et Boillot, 1983].
- Diabète induit par inoculation des virus. [Rees et Alcolado, 2005].
- Diabète induit chirurgicalement. [Shafrir, 1992].
- Diabète induits par des substances chimiques :
 - Diabète induit par l'Alloxane [Lenzen et al., 1996],
 - Diabète induit par la cyclophosphamide [Charlton et Bacely, 1989].
 - Diabète induit par la Streptozotocine.

Diabète induit par la Streptozotocine :

La Streptozotoïne (STZ, 2-deoxy-2-(3-méthyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) est un antibiotique anti-tumoral de synthèse utilisé en chimiothérapie anti-cancéreuse. Ce médicament, toxique pour le pancréas endocrine, est indiqué dans le traitement des adénocarcinomes métastatiques des îlots de Langerhans. Comme les autres agents alkylants la Streptozotocine inhibe l'initiation de la synthèse de l'ADN et est faiblement active sur la synthèse de protéine et de l'ARN. Le mécanisme de l'action diabétogène est encore incomplètement connu [Hwang *et al.*, 2005].

La Streptozotocine induit un diabète chez l'animal non prédisposée. Les mécanismes impliqués dans l'agression des cellules β sont toujours sujets à controverse, certains auteurs plaident en faveur d'une réaction auto-immune à médiation cellulaire, d'autres en faveur d'une toxicité directe provoquant l'insulite. L'un des mécanismes proposés, suggère l'action de la Streptozotocine au niveau de l'ADN, cette dernière traverse la membrane des cellules β via le transporteur GLUT 2 et cause l'alkylation de l'ADN. Par la suite, la Streptozotocine induit l'activation de la polymérase (ADP-ribose) et la libération de l'oxyde nitrique. Le résultat de cette action est la destruction des cellules β par nécrose cellulaire [Mythili *et al.*, 2004].

VI. Zinc et diabète

Le zinc joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion de l'insuline [Comms *et al.*, 1971]. Chez l'animal, la carence en zinc induit une diminution de la concentration de zinc du pancréas et du chélate insuline – zinc stocké dans les cellules bêta des îlots de Langerhans, de la sécrétion d'insuline et augmenterait soit la dégradation de l'insuline circulante, soit la résistance des tissus périphériques à l'insuline [Grotsky *et Schmid*, 1985].

La baisse de la sécrétion insulinaire pourrait être secondaire à la perte d'appétence provoquée par la carence en zinc [Engelbart *et Keif*, 1970].

Le zinc pourrait également jouer un rôle dans la synthèse de l'insuline. Il participe à la polymérisation de l'insuline au niveau des cellules bêta [Chausmer, 1998].

La carence induirait des modifications structurales de l'insuline. La sécrétion de proinsuline ne semble pas être modifiée par la carence en zinc. Le zinc interviendrait enfin dans la fixation de l'insuline à son récepteur [Mooradian et Morley, 1987].

Le zinc pourrait également jouer un rôle dans l'utilisation du glucose par les muscles et les cellules adipeux [Song, 1998]. Il intervient au niveau de la voie de la glycolyse, des pentoses, de la néoglucogenèse [Riordan et Vallee, 1976]. L'absence ou la carence de ce métal favorise les complications du diabète.

VII. Les plantes sélectionnées

1. *Bêta vulgaris* « var. *cicla* »

➤ Présentation et taxonomie

Bêta vulgaris «var. *cicla*», connue sous le nom de « bette à cardé » est une espèce du *Bêta vulgaris* de la famille des chénopodiacées tribu des *Cyclolobae* (située dans les Amaranthacées par la classification phylogénétique) (Figure 3).

Nom commun : bette à cardes, blette, côte de blette, côte de bette, poirée à cardes cette plante, dicotylédone, apétale, dériverait de la betterave maritime (actuellement classée comme *Bêta vulgaris* L. subsp. *maritima* (L.) Arcang) qui est spontanée sur les rivages maritimes en Europe.

C'est une plante très proche de la betterave. Ce sont en fait des formes dérivées de la même sous-espèce.

➤ **Systématique**

Règne: *Plantae*

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordre: *Caryophyllales*

Famille: *Chénopodiacée*

Genre: *Beta*

Espèce: *vulgaris*

Nom vernaculaire : السلق



Figure 3: *Bêta vulgaris* [Prise Personelle].

➤ **Description**

Bette à carde (espèce *Bêta vulgaris*) est une plante herbacée bisannuelle de légumes feuilles cultivés dans de nombreuses régions du monde pour sa disponibilité toute l'année, peu coûteux et largement utilisées dans de nombreux plats traditionnels [Gao et al., 2009]. La plante est plus robuste et plus facile à cultiver que les épinards et le céleri. Les feuilles de bette à carde contiennent des concentrations significatives sur le plan nutritionnel de vitamines A, C et B, en calcium, en fer et en phosphore [Pyo et al., 2004]. Chard (*Bêta vulgaris* L. «var. cicla»: Chenopodiaceae) a indiqué avoir des propriétés hypoglycémiques [Bolkent et al., 2000]. Ces espèces sont utilisées comme un remède folklorique populaire pour le foie et les reins, pour la stimulation des systèmes immunitaires et hématopoïétiques, et comme un régime spécial dans le traitement du cancer [Kanner et al., 2001].

L'études phytochimiques de blettes ont révélé la présence de certains acides gras (acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléinique), des phospholipides, des glycolipides, des polysaccharides, l'acide ascorbique, l'acide folique, de la pectine, des saponines, des flavonoïdes, des acides phénoliques [Bolkent et al., 2000], des bétalaïnes [Kugler et al., 2004] et de l'épigénines [Gao et al., 2009].

2. *Ruta chalepensis*

Ruta chalepensis est une plante aromatique, appartenant à la famille des rutacées, appelée communément par la population locale « Fidjel ».

La rue est une plante médicinale encore utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme laxatif, anti-inflammatoire, analgésique, antispasmodique, abortif, antiépileptique, emménagogue et pour le traitement de pathologies cutanées.

C'est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale [Baba Aissa, 1999], au nord-est de l'Afrique, sud de l'Europe et le sud-ouest de l'Asie [Mioulane, 2004].

Appelée aussi: Ruta angustifolia / Ruta graveolens var. angustifolia [Duke et al., 2008].

La rue est citée sous le terme de سذاب *sadzab* par Abdalbasset et Abde Tawab, 2008, elle est aussi dite en berbère: *أورمي ouermi, Issel, Issin* [Baba Aissa, 1999]. *Autres noms* sont indiqués par Duke et al en 2008: *Al Shathap الشذاب, Bou Ghans*, en grec : *Pigam, zent*.

➤ *Systématique:* [Bonnier, 1999 ; Wiart, 2006; Takhtajan, 2009]

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)

Super division : Spermatophyta (plantes à graine)

Division : Magnoliophyta (plantes à fleurs)

Sous division : Angiospermae

Classe : Magnoliopsida (dicotylédons)

Sous classe : Rosidae

Super ordre : Rutanae

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : Ruta

Espèce : chalepensis



Figure 4 : *Ruta chalepensis* [Prise Personelle].

➤ **Description botanique**

La rue d'Alep, plante herbacée à tige ligneuse à la base, pouvant atteindre 1 m [Baba Aissa, 1999]. Les feuilles de 6 à 12 cm de long, sont aromatiques, ovales, larges, pennatiséquées, bleu-vert, elles présentent de nombreux lobes oblongs, lancéolés ou aborales. En été, s'épanouissent des fleurs de 1 à 2 cm de diamètre, en coupe, de couleur jaune foncé, portant quatre ou cinq pétales frangés de longs poils. Elles sont réunies en cymes lâches [Mioulane, 2004]. (Figure 4)

Deuxième partie :
Matériels et Méthodes

Matériels et Méthodes

I. Partie végétale

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

La partie aérienne (les feuilles et les tiges) a été récoltée au mois de décembre 2012 au niveau de deux régions :

- La région de hadjar Mangoube sud de la wilaya de Guelma pour *Rûta chalepensis*.
- la région d'El Nadhour wilaya de Guelma pour *Bêta vulgaris* «var. *cicla*».

Après une identification botanique par le professeur ZAAFOUR (faculté des sciences, département de biologie – Université Badji Mokhtar, Annaba). Les deux plantes sont nettoyées puis mis à sécher à température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre. Le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à la préparation de l'extrait méthanolique.

Localisation de la récolte [google Earth]

<i>Bêta vulgaris</i>	<i>Rûta chalepensis</i>
Nord : 36°27'16.79"N	Nord : 36°24'26.02"N
Sud : 36°25'16.48"N	Sud : 36°20'56.30"N
Est : 7°38'6.92"E	Est : 7°29'17.41"E
Ouest : 7°35'30.84"E	Ouest : 7°24'56.98"E

2. Méthodes :

2.1. Etude phytochimique :

2.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique:

L'extrait méthanolique est préparé selon la méthode de [Markhan, 1982]. 250 g de la poudre de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* est débarrassé des cires et des lipides par trois lavages successifs de 24 heures par l'éther de pétrole puis filtré à chaque fois. Le résidu est débarrassé de la chlorophylle par trois lavages successifs de 24 heures par le chloroforme. L'extraction s'effectue par macération de 24 heures dans le méthanol (85%) suivie d'une filtration. Cette procédure est répétée pendant trois fois.

Les trois filtrats récupérés sont mélangés et évaporés dans un rotavapor (Bûchi) à 40°C puis lyophilisés. Le lyophilisat est pesé pour calculer le rendement de l'extraction (Figure 5).

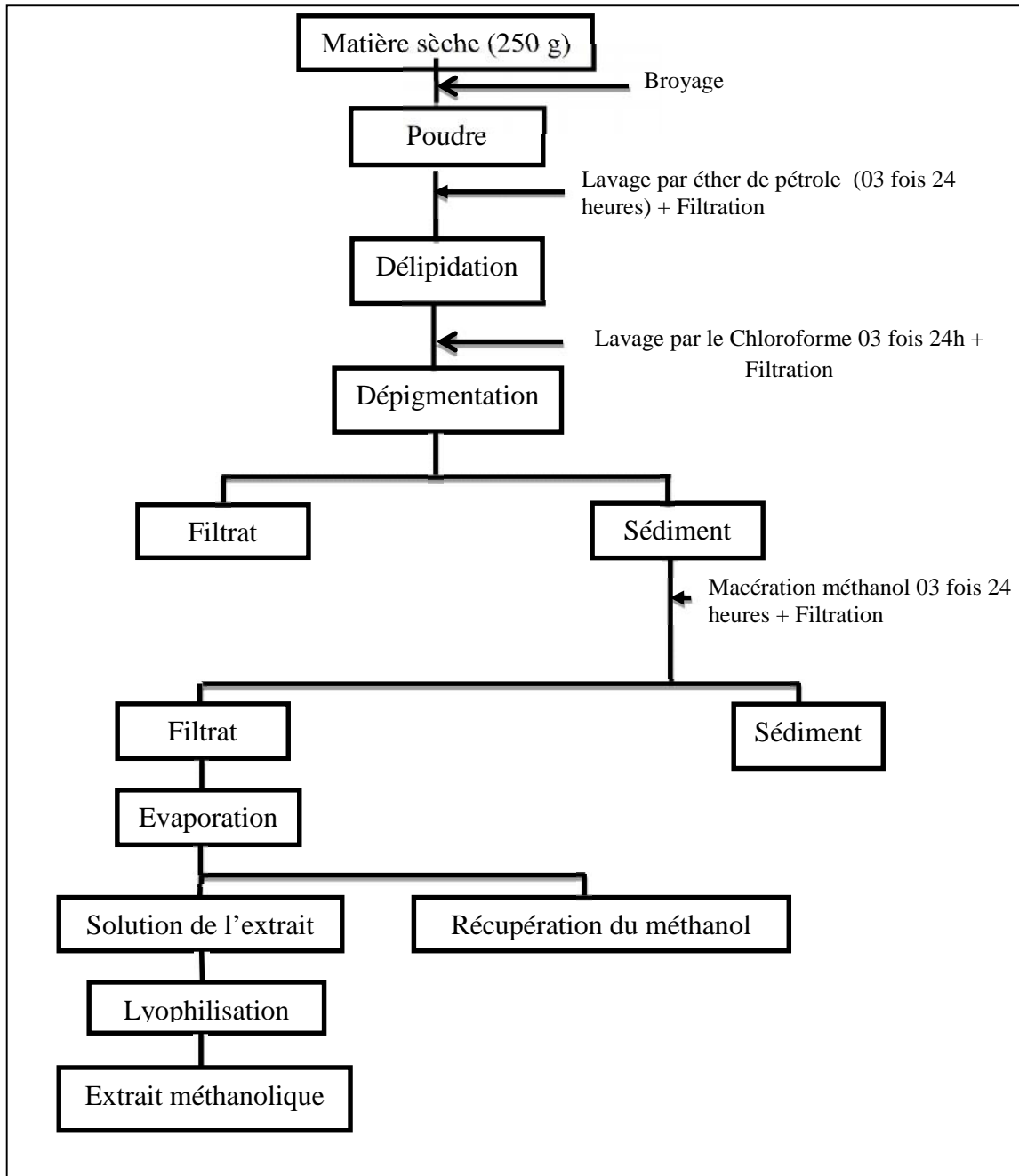


Figure 5 : Protocole de l'extraction (extrait méthanolique)

2.1.2. Tests préliminaires de la composition chimique

- **Alcaloïdes**

Introduire 10 g de poudre végétale séchée dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 50 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, laisser macérer 24 heures à la

température du laboratoire, puis filtré sur papier filtre. Ensuite, compléter le filtrat à 50 ml avec de l'eau distillée.

Introduire 1 ml de filtrat dans un tube à essais puis ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre.[Edeoga1 et al., 2005].

- **Tanin**

Dans un Erlenmeyer, disperser 5 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, filtrer et compléter le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

Introduire 5 ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis ajouter 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir [Edeoga1 et al., 2005].

- **Flavonoïdes**

Macérer 10g de la poudre sèche dans 150 ml d'HCl dilué à 1% pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant : prendre 10 ml du filtrat, rendu basique par l'ajout du NH₄OH à (10%) en utilisant le pH mètre.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai [Edeoga1 et al., 2005].

- **Saponosides**

Porter à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml puis ajouter 1g de la poudre ensuite maintenir une ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, ajuster le filtrat à 100 ml.

Remplir 1ml du décocté à 1 % préparé dans un tube à essais et ajuster le volume à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agiter le tube. Pour confirmer la présence de saponosides, il faut qu'une mousse apparaît après avoir laissé au repos pendant 15 minute le tube à essais [Karumi et al., 2004].

- **Composés réducteurs**

Mettre 5 ml de décocté aqueux à 10% dans un bécher de 100ml, et évaporer à sec au bain-marie, puis ajouter 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B) la présence de composés réducteurs est indiquée par la formation d'un précipité rouge brique [Karumi et al., 2004].

- **Oses et holosides**

Introduire les 5 ml de décocté aqueux à 10% au résidu obtenu dans un bécher de 100ml et évaporer à sec au bain-marie, 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ (>99%) concentré et après 5 minutes, additionner 03 à 04 gouttes d'éthanol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides [Karumi et al., 2004].

- **Mucilages**

Introduire 1 ml du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages [Karumi et al., 2004].

2.1.3. Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (C.C.M)

C'est une méthode rapide de contrôle dont l'adsorbant ou phase stationnaire est constitué d'une couche mince et uniforme, de 0,25 mm d'épaisseur, de silice séchée, finement pulvérisée et appliqué sur un support approprié (feuille d'aluminium ou de verre).

La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité.

Phase stationnaire

Des plaques de silice Kieselgel 60F254 de 0,2 mm d'épaisseur (Merck) ont été employées pour la chromatographie sur couche mince en phase normale.

Phase mobile :

Solvant:

Acétate d'éthyle - méthanol - eau distillée aux Proportions de : (100V : 135V : 10V).

- Dépôts de la solution à tester

- Déposer 8µl de chaque extrait sur la plaque à l'aide d'un capillaire.
- Déposer 8 µl de quercétine (la référence standard).

- Migration

Introduire la plaque dans la cuve à chromatographie contenant l'éluant approprié. La phase mobile parcourt alors la phase stationnaire provoquant ainsi une succession de partage des constituants entre les deux phases, ce qui permet une séparation des constituants entre les deux phases.

- Révélations

Pour révéler les taches de substances sur la plaque, on utilise soit la détection UV, soit la Ninhydrine [Oomah, 2003].

Après évaporation de l'éluant, les plaques sont pulvérisées par la Ninhydrine.

Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité, de turbidité et la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

Ainsi :

- Une réaction franchement positive est représentée par : +++.
- Une réaction moyennement positive est représentée par : ++.
- Une réaction faiblement positive est représentée par : +.
- L'absence de la substance est représenté par : .

Les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence plusieurs groupes chimiques.

2.1.4. Analyse de l'extrait méthanolique de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* :

- **Dosage des polyphénols**

La teneur en composés phénoliques des deux extraits de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* (EMBV et EMRC) a été estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon [Li et al., 2007] basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstic (WO_4^{-2}) phosphomolybdic (MoO_4^{-2}) du réactif de Folin par les groupement oxydables des

composés polyphénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon [Georgé *et al.*, 2005]. Brièvement, 1 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (0,75%) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg/ml) et est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (Figure 6).

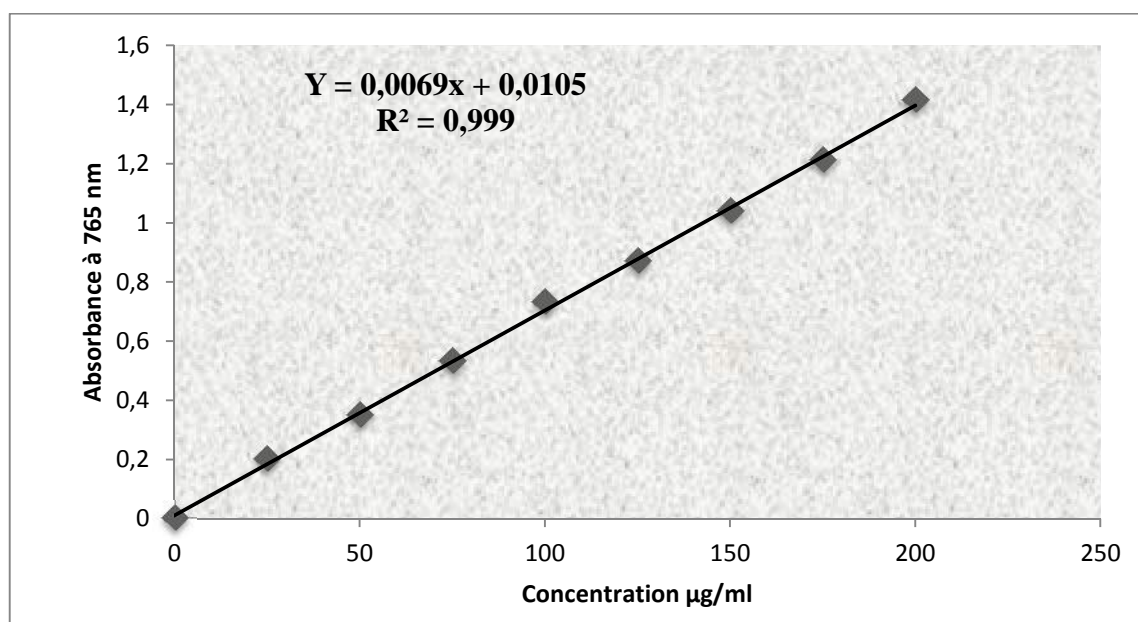


Figure 6 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

- **Dosage des flavonoïdes**

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les deux extraits selon la méthode du trichlorure d'aluminium [Bahorun *et al.*, 1996]. Brièvement, les échantillons sont préparés par la dissolution de 1mg (extrait) / ml (méthanol). 1 ml de chaque échantillon est ajouté 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2%, dans le méthanol). Dix minutes après le début de la réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une gamme étalon est établie séparément avec la quercétine (0-40 µg/ml) (Figure 7) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de lyophilisat.

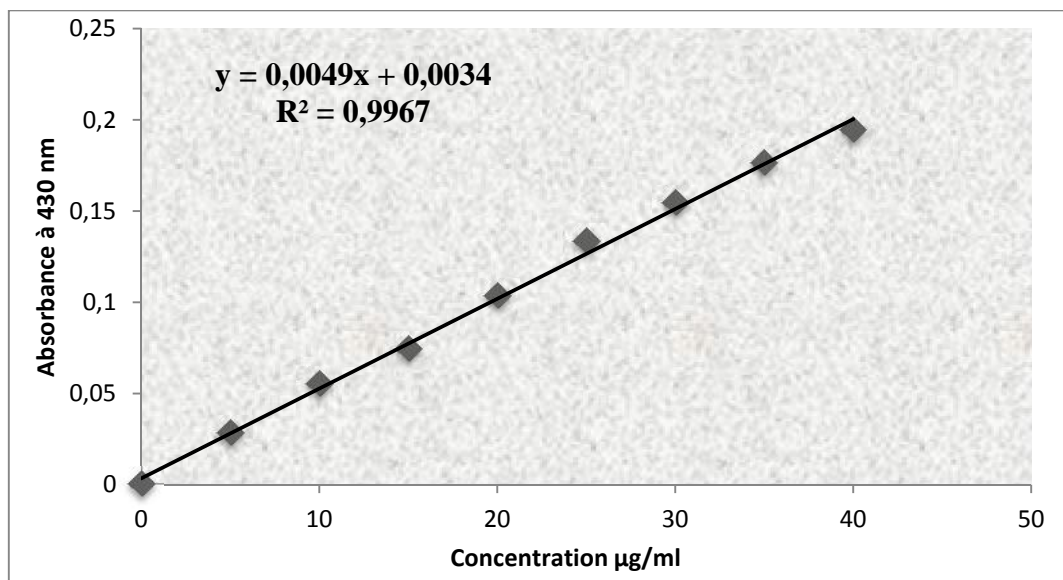


Figure 7: Droite d'étalonnage de la quercétine.

- **L'évaluation de l'activité anti-oxydante : Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)**

Pour étudier l'activité antiradicalaire des deux extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement instable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites anti oxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicryl-hydrazine: de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance [Sanchez-moreno, 2002].

Selon le protocole décrit par Mansouri *et al.* en [2005]. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 µl des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 µl DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{(\text{Abs contrôle}) - (\text{Abs échantillon})}{(\text{Abs contrôle})} \times 100$$

L'activité antioxydante de l'EMBV et l'EMRC *vis-à-vis* du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

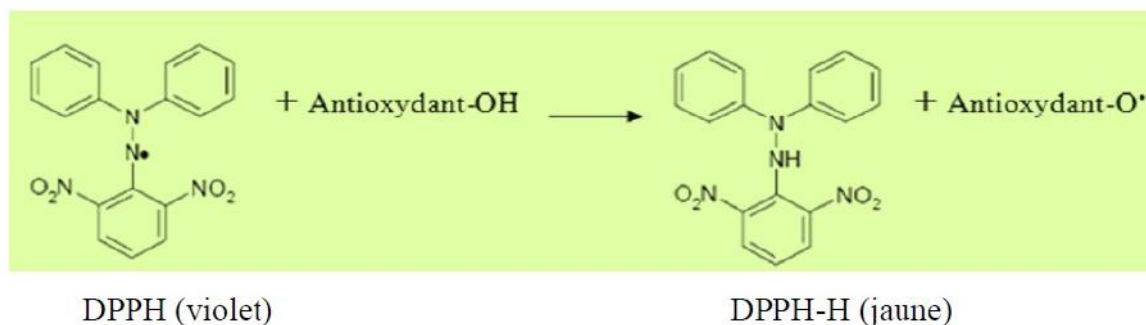


Figure 08: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

Pour l'évaluation de cette activité, on a préparé une gamme de dilutions allant de 0 à 2 mg/ml pour l'acide ascorbique et des deux EM.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe d'allure exponentielle, ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel.

Calcul des IC₅₀

IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (*Efficient concentration 50*), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées [Torres et al, 2006].

N.B : L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

II. Partie Biologique

1. Matériel

1.1. Matériel animal

- Cette étude a été réalisée sur des rats males *Wistar albinos* âgés de 2.5 à 3 mois et dont le poids varie de 120 à 200 gramme et des souris albinos dont le poids varie de 20g à 40g. Les rats et les souris sont maintenus dans l'animalerie de département des sciences de la nature et de la vie de l'université 08 mai 1945 – Guelma, où règne une température ambiante et un éclairage qui varie selon un rythme circadien. Les animaux ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson.

2. Effets des extraits méthanoliques de *Bêta vulgaris* et *Rûta chalepensis*

2.1. Le test de toxicité

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité. Pour cela, six doses des deux extraits méthanoliques de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* ont été testées sur des lots de cinq souris de poids homogène. Les doses de ; 100, 250, 500, 1000, 2000 et 5000 mg/kg sont administrées par voie orale (gavage). Les souris sont mises à l'observation continue durant 72h concernant les symptômes de toxicité, le changement de comportement et la mortalité [Litchfield et Wilcoxon, 1949].

2.2. Test de l'activité hypoglycémiant sur des rats normo-glycémiques

Afin de tester l'activité hypoglycémiant des deux extraits méthanoliques *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* une dose de 500 mg/kg est administrée per os aux souris normo-glycémiques étaient à jeun depuis 16 heures. A l'aide d'un glycomètre, la glycémie est déterminée immédiatement après l'administration de l'extrait (t_0), puis après 1, 2 et 3 heures. Le pourcentage de la variation de la glycémie par rapport à la glycémie initiale (t_0) est calculé chaque heure pendant 3 heures. Des souris traitées avec 10 ml/kg d'eau physiologique à 0.9% sont utilisés comme contrôles.

2.3. Test de l'activité anti-hyperglycémiant

Afin de tester l'activité anti-hyperglycémiant et de choisir une dose à effet remarquable des deux extraits méthanolique *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*, on a évolué l'effet anti-hyperglycémiant de trois doses croissantes 100, 250, 500 mg/kg pendant trois heures.

- **Induction de l'hyperglycémie :** L'hyperglycémie est provoquée par l'administration de glucose aux souris à raison de 4 g/kg per os selon la méthode de [N'Diaye et al., 2008].
- **Protocole du traitement des souris :** Pour ce test, un total de 40 souris réparties en huit lots de cinq souris est traité ainsi :

Lot1 : Représente le groupe contrôle qui reçoit 10 ml/kg d'eau physiologique (EP) per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot2 : Reçoit 2.5 mg/g de médicament (glibenclamide) + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot3: Reçoit 100mg/10 ml/kg de EMBV per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot4: Reçoit 250mg/10 ml/kg de EMBV per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot5: Reçoit 500mg/10 ml/kg de EMBV per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot6 : Reçoit 100mg/10 ml/kg de EMRC per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot7 : Reçoit 250mg/10 ml/kg de EMRC per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot8 : Reçoit 500mg/10 ml/kg de EMRC per os + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

La glycémie des huit lots est évoluée à l'aide d'un glycomètre sur un intervalle de 60 minutes pendant trois heures.

3. L'étude sur les rats diabétiques

3.1. Induction du diabète sucré chez les rats

Le diabète sucré est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit par une injection intrapéritonéale unique d'une solution de streptozotocine à raison de 50 mg/kg. La solution de la streptozotocine est fraîchement préparée dans une solution froide de tampon citrate 0,01M (pH 4,5).

La streptozotocine est capable d'induire une hypoglycémie fatale résulte d'une sécrétion pancréatique massive de l'insuline [Palsamy et Subramanian, 2008]. Après l'administration de la streptozotocine et pour prévenir son effet fatal, les rats reçoivent une solution glucosée à 5 % pendant 48 heures. Généralement, le diabète se stabilise chez les rats après trois jours de l'injection. Après 72 heures de l'administration de la STZ, la glycémie est mesurée à jeun à l'aide d'un glucomètre [Chandra A et al., 2007]. Les rats qui ont montré une glycémie supérieure à 200 mg/dl ont été sélectionnés [Singh N et al., 2005] et répartis en cinq groupes représentant les groupes diabétiques.

3.2. La préparation de la nourriture

La préparation de la nourriture est basée sur les matières premières mentionnées dans le Tableau 3 selon la méthode suivante :

- ✓ Peser chaque métal seul et le broyer.
- ✓ Peser et mélanger les autres élémentaires (maïs, saccharose, cellulose, protéines et les vitamines) pendant minutes.
- ✓ Ajouter les métaux avec les pourcentages mentionnés dans le tableau (4 et 5).

La nourriture préparée est répartie en deux parties, ajouter le zinc dans la première partie (régime alimentaire normal) et la deuxième partie reste sans zinc (régime alimentaire pauvre en zinc).

- ✓ Ajouter la quantité adéquate de l'huile de maïs dans chaque partie et mélanger pendant 15 minutes [HAMDIKEN, 2009].

Tableau 3: Composition de la nourriture [Southon et al., 1984]

les matières premières	la quantité (g/kg nourriture)	le pourcentage (%)
Mais	326	32,6
Saccharose	326	32,6
Protéines	168	16,8
Cellulose	40	4
Métaux	40	4
Vitamines	20	2
l'huile de maïs	80	8

Tableau 4: La quantité des métaux [Southon et al., 1984].

Le métal	Qtt mg/ Kg de nutrition
ZnCO ₃	100
FeSO ₄	144
CuSO ₄ , 5H ₂ O	23
KIO ₃	1
MnSO ₄ , H ₂ O	180

Tableau 5: La quantité des autres métaux [Southon et al., 1984].

Le métal	Qtt g/ Kg de nutrition
CaHPO ₄	13
Na ₂ HPO ₄	7,4
CaCO ₃	8,2
KCl	7,03
MgSO ₄ , H ₂ O	4

3.3. Traitement des animaux

Les 40 rats sont répartis en huit lots égaux (05 rats /lot) :

- **Lot 1** : Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique.
- **Lot 2** : Rats diabétiques sous un régime alimentaire normal traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique.
- **Lot 3** : Rats diabétiques sous à un régime pauvre en zinc traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique.
- **Lot 4** : Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités pas Glibenclamide 2,5 mg/kg. [SCHORDERET et al., 1988].
- **Lot 5** : Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par l'EM *Rûta chalepensis* 500 mg/kg.

- **Lot 6 :** Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par l'EM *Bêta vulgaris* 500 mg/kg.
- **Lot 7 :** Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal avec traitement par l'EM *Rûta chalepensis* 500 mg/kg.
- **Lot 8 :** Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal avec traitement par l'EM *Bêta vulgaris* 500 mg/kg.

Le traitement a été effectué par gavage pendant 21 jours.

3.4. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins se font après sacrifice à la fin du traitement (21^{ème} jour). Les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes héparinés, puis centrifugés à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes. Le plasma est séparé en deux ou trois fractions dans des tubes Eppendorf, puis mis à (-20°C) jusqu'au moment du dosage des paramètres biochimiques.

3.5. Prélèvement des organes

Le pancréas est prélevé après la dissection des rats, puis débarrassés de leur tissu adipeux dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9%, puis conservé dans une solution de formol 10% jusqu'au moment de réalisation des coupes histologiques.

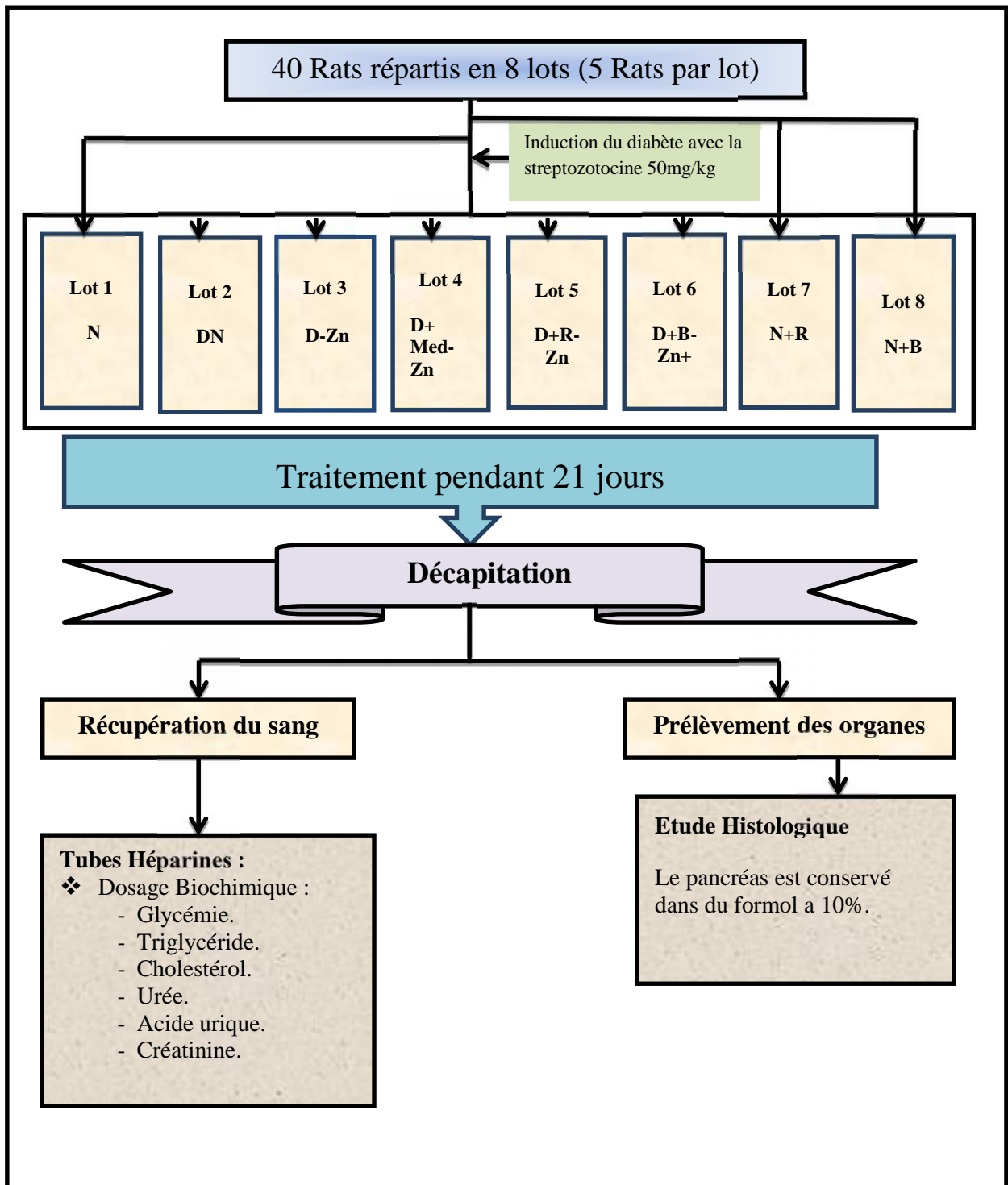


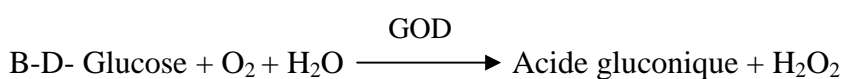
Figure 9: Schéma récapitulatif du Protocole expérimental

II.4. Dosage biochimique :

4.1. Dosage de glucose : selon la fiche technique Spinreact

a- Principe :

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec un phénol et la 4- amino- phénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré, selon les réactions suivantes [Kaplan, 1984; Trinfer, 1969] :



b- Echantillon : Sérum

c- Les réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R1)	TRIS pH 7,4	92 m mol/ L
Tampon	Phénol	0,3 m mol/ L
Réactif (R2)	Glucose oxydase (GOD)	15000 U/L
Enzymes	Peroxydase (POD)	1000 U/L
	4- aminophénazone (4- AP)	2,6 m mol/ L
Etalon	Glucose	100/dl

d- Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

-Mélanger et incuber pendant 10 min à 37°C.

-Lire l'absorbance optique à 500 nm de l'étalon et de l'échantillon contre le blanc dans les 30 minutes.

e- Calcul :

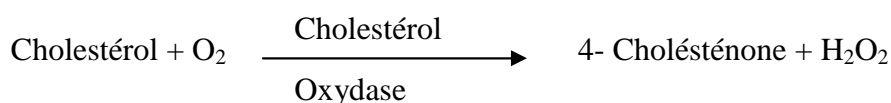
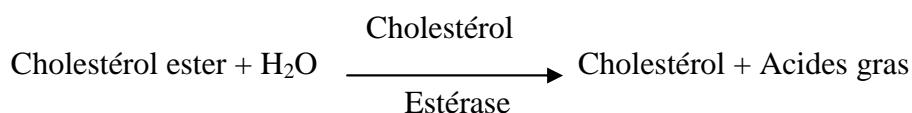
La concentration du glucose plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Glucose}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 100 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

4.2. Dosage de cholestérol : selon la fiche technique Spinreact

a- Principe :

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon les réactions suivantes [Naito, 1984; Meiattini, 1978] :



b- Echantillon : Sérum

c- Les réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
R ₁	PIPES pH 6,9	90 m mol/ L
Tampon	Phénol	26 m mol /L
R ₂	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/L
Enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4- Aminophénazone (4- AP)	0,4 m mol/ L
Étalon	Cholestérol	200 mg/ dl

Préparation du réactif de travail (RT) :

Dissoudre le contenu du réactif R2 dans la fiole du réactif R1.

Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif est stable 4 mois à 2-8°C ou 40 jours à 15-25°C.

d- Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

-Mélanger et incuber les tubes pendant 10 min à la température ambiante.

-Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc, la couleur est stable pendant une heure.

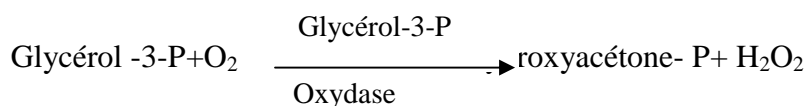
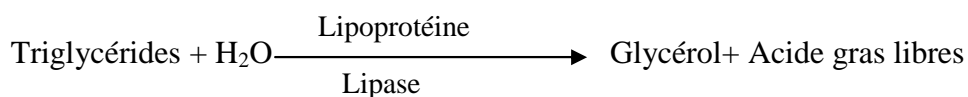
e- Calcul :

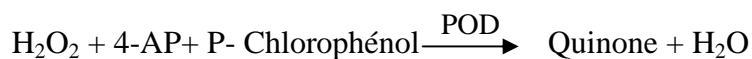
$$[\text{Cholestérol}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 200 \text{ (concentration de l'étalon).}$$

4.3. Dosage des triglycérides : selon la fiche technique Spinreact

a- Principe :

Les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipases. L'indicateur est une quinone formée d'après les quatre réactions suivantes[Buccolo, 1973 ; Fossati, 1980] :





b- **Echantillon** : Sérum

c- **Les réactifs utilisés** :

Réactifs	Composition	Concentration
R ₁	GOOD pH 7,5	50 m mol/L
Tampon	P- chlorophénol	2 m mol/ L
R ₂	Lipoprotéine Lipase (LPL)	150000 U/L
Enzymes	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3- P- Oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase	440U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0,1 m mol/ L
	ATP	0,1 m mol/ L
Etalon	Triglycérides	200 m mol/L

Préparation du réactif de travail (RT) :

- Dissoudre le contenu du réactif R2 dans la fiole de réactif R1.
- Mélanger bien la solution jusqu'à ce qu'elle devienne homogène. Ce réactif est stable pendant 6 semaines à 2-8°C ou une semaine à la température ambiante.

d- Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

- Mélanger et incuber les tubes pendant 10 min à 15-25°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon contre le blanc à 505 nm dans les 30 minutes.

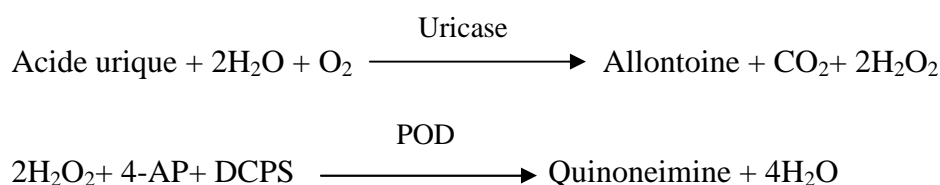
e- **Calcul:**

$$[\text{Triglycérides}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 200$$

4.4. Dosage de l'acide urique : selon la fiche technique Spinreact

a- **Principe :**

L'acide urique présent dans l'échantillon donne selon les réactions décrites ci-dessous un complexe coloré : quinoneimine où l'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique plasmatique [Fossati, 1980 ; Schultz et al., 1984].



b- **Echantillon :** Sérum

c- **Les réactifs utilisés :**

Réactifs	Composition	Concentration
R ₁	Phosphate pH 7,4	50 m mol/ L
Tampon	2-4 Dichlorophénol sulfonate (DCPS)	4 m mol/ L
R ₂	Uricase	60 U/L
Enzymes	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbate oxydase	200 U/L
	4- Aminophénazone (4- AP)	1 m mol/ L
Etalon	Acide urique	6 mg/dl

Préparation du réactif de travail (RT) :

- Dissoudre le contenu du réactif R2 dans la fiole du réactif R1.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif est stable pendant un mois à 2-8°C ou 10 jours à 15-25°C.

d- Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Étalon (µl)	-	25	-
Echantillon (µl)	-	-	25

- Mélanger et incuber les tubes pendant 10 min à la température ambiante.
- Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 520 nm contre le blanc dans les 30 minutes.

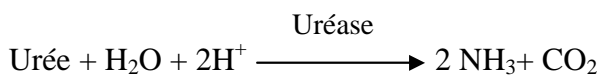
e- Calcul :

$$[\text{Acide urique}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 6(\text{concentration de l'étalon})$$

4.5. Dosage de l'urée : selon la fiche technique Spinreact

a- Principe :

La technique utilisée pour la détermination du taux de l'urée est la méthode cinétique utilisant l'uréase selon les réactions suivantes [Kaplan, 1984] :



La concentration de l'urée plasmatique est proportionnelle à la disparition du NADH^+ .

b- Echantillon : Sérum

c- Les réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
R ₁ Tampon	TRIS pH 7,8 - cétoglutarate	80 m mol/ L 6 m mol/ L
Étalon	Uréase Glutamate déshydrogénase GLDH NADH	3750 U/L 6000 U/L 0,32 m mol/ L
Réactif optionnel	Urée	50 mg/ dl

Préparation du réactif de travail (RT) :

- Dissoudre le contenu du réactif R2 dans la fiole du réactif R1.
- Mélanger bien jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif préparé est stable pendant 6 semaines à 2-8°C ou une semaine à 15-25°C.

d- Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Étalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

- Agiter bien les tubes et lire l'absorbance après 30 secondes (A1) et après 90 s (A2) à la longueur d'onde 340 nm.

e- Calcul :

$$[\text{Urée plasmatique}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(\Delta A)_{\text{échantillon}}}{(\Delta A)_{\text{étalon}}} \times 50$$

4.6. Dosage de la créatinine : selon la fiche technique Spinreact

a- Principe :

La créatinine présentée dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin pour donner un complexe dans des périodes initiales courtes en évitant ainsi l'interférence d'autre composé [Murray et Kaplan, 1980].

b- Echantillon : Sérum

c- Les réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
R ₁	Acide picrique	17,5 m mol/ L
R ₂	Hydroxyde de sodium	0,29 m mol/ L
Étalon	Créatinine	2 mg/ dl

Préparation du réactif de travail (RT) :

- Mélanger des volumes égaux des réactifs R1 et R2. Ce réactif de travail est stable 10 jours à 15-25°C.

d- Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-	-	100

- Mélanger bien puis lire l'absorbance après 30 sec (A1) et après 90 sec (A2) à la longueur d'onde 492 nm.

e- Calcul :

$$[\text{Créatinine}] \text{ (mg/dl)} = \frac{\Delta A_{\text{éch}} - \Delta A_{\text{blanc}}}{\Delta A_{\text{étalon}} - \Delta A_{\text{blanc}}} \times 2$$

5. Etude histologique

Les coupes histologiques du pancréas ont été réalisées suivant la technique classique du Houlot.

Pour chaque rat, on prélève un fragment du pancréas de 0,5 cm³, ces fragments sont mis directement dans du formol, fixateur couramment utilisé. Puis ces morceaux sont retirés et coupés à l'aide du couteau tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1-2 cm² et une épaisseur proche de 1,5 mm. Les pièces obtenues sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

- **Déshydratation**

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus, cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%).

- **Inclusion**

Les pièces anatomiques sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide, puis on procède à l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 µm en moyenne) sont possibles grâce d'un microtome. Ces coupes sériées sont reliées entre elle sous forme des rubans ; les quels sont par la suite

étalés sur des lames porte-objets, dépliés et fixés sur les lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

- **Coloration**

Selon la technique à l'hémalum-éosine, la coloration suit les étapes suivantes:

- 1- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillé.
- 2- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- 3- Différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70% + 50 ml HCl) puis les rincer à l'eau de robinet.
- 4- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillé + 2 ml d'ammoniaque).
- 5- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).
- 6- Déshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.
- 7- Enfin, passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.

III. Etude statistique

L'étude statistique est réalisée à l'aide du système Origin Pro 8 en utilisant le test de variance univariée (one-way ANOVA) suivie du test de Tukey.

Pour l'étude expérimentale sur les animaux, les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M et en comparant les différents groupes où :

- a : Comparaison du lot N avec le DN.
- b : Comparaison du lot D-Zn avec le lot DN.
- c : Comparaison du lot N+R et N+B avec le lot N.
- d : Comparaison du lot D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn avec le D-Zn.

Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :

- N'est pas significative si $p > 0.05$ (NS).
- Est significative si $0.05 > p > 0.01$ (*).
- Est hautement significative si $0,05 > p > 0,01$ (**).
- Est très hautement significative si $p < 0,001$ (***)

Résultats

Les résultats

1. Préparation et étude du matériel végétal

1.1. Préparation de l'extrait méthanolique de *Bêta vulgaris* «var.cicla» et *Ruta chalepensis*

L'opération de l'extraction à partir de 250 g du matériel végétal à l'aide du méthanol et après lyophilisation a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brut tel que y est mentionnée dans le Tableau 6.

Tableau 6: rendement des deux plantes.

La quantité d'extrait à partir de 250 g	<i>Bêta vulgaris</i>	<i>Ruta chalepensis</i>
Rendement (g)	21,45	23,45
Rendement %	8,58	9,38

1.2. Etude phytochimiques

1.2.1. Tests phytochimiques

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques sur les deux plantes (*Bêta vulgaris* «var. cicla» et *Ruta chalepensis*) (Tableau 7).

Tableau 7: Résultats des tests phytochimiques.

Composés	<i>Bêta vulgaris</i>	<i>Ruta chalepensis</i>
Alcaloïdes	-	+++
Tanin	-	+
Flavonoïdes	++	+++
Saponosides	+	++
Composés réducteurs	+	+++
Oses et holosides	+	+++
Mucilages	+++	+

1.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)

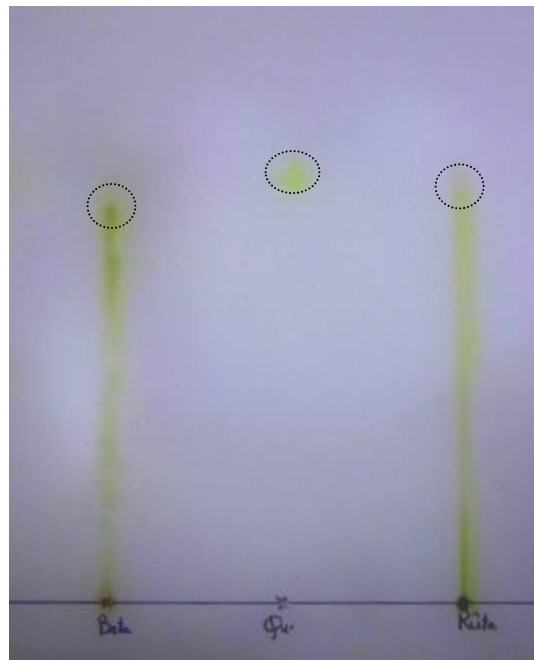


Figure 9: chromatographie sur couche mince des deux extraits méthanoliques et de la quercétine [prise personnel].

L'analyse du chromatogramme révèle la présence de trois taches avec une coloration jaune.

Les rapports frontaux sont calculés selon l'équation suivante :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Le front de solvant = 8,4 cm

Distance parcourue par la quercétine = 7,35

$$Rf_Q = 0,87.$$

Les 02 taches des échantillons :

Distance parcourue par EMBV = 6.85 cm

$$Rf_{EMBV} = 0,81.$$

Distance parcourue de EMRC = 7,2

$$Rf_{EMRC} = 0,85.$$

1.4. Analyses de l'EMBV et l'EMRC

1.4.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Dans le but de caractériser les deux extraits préparés, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard et la teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) en utilisant comme standard la quercétine, et est exprimée en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) Tableau 8.

Tableau 8 : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'EMBV et l'EMRC.

	Teneur en polyphénols (mg EAG /g)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g extrait)
<i>Bêta vulgaris</i> «var. <i>cicla</i> »	31,231 ± 0.0066	6,85 ± 0,087
<i>Ruta chalepensis</i>	43,405± 0.0122	36,44 ±0.042

1.4.2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH)

L'activité antiradicalaire *in vitro* des flavonoïdes est évaluée par la diminution du taux de DPPH° dosé après l'addition des flavonoïdes à différentes concentrations suivie à 517 nm après addition de 50 µl de chacune des concentrations des deux extraits a une concentration de 2 mg/ml. Le pouvoir antiradicalaire de l'EMRC (65,811%) et de l'EMBV (58,68%) est observé ; pouvoir inférieur à celui qu'exerce l'acide ascorbique (95,72%).

Ce test nous a permis de déterminer la concentration inhibitrice piégeant 50% du radical DPPH° (IC₅₀) qui était de (1,5 mg/ml) pour l'EMRC et (1,74 mg/ml) pour l'EMBV contre (0,12 mg/ml) pour l'acide ascorbique. (Figure11).

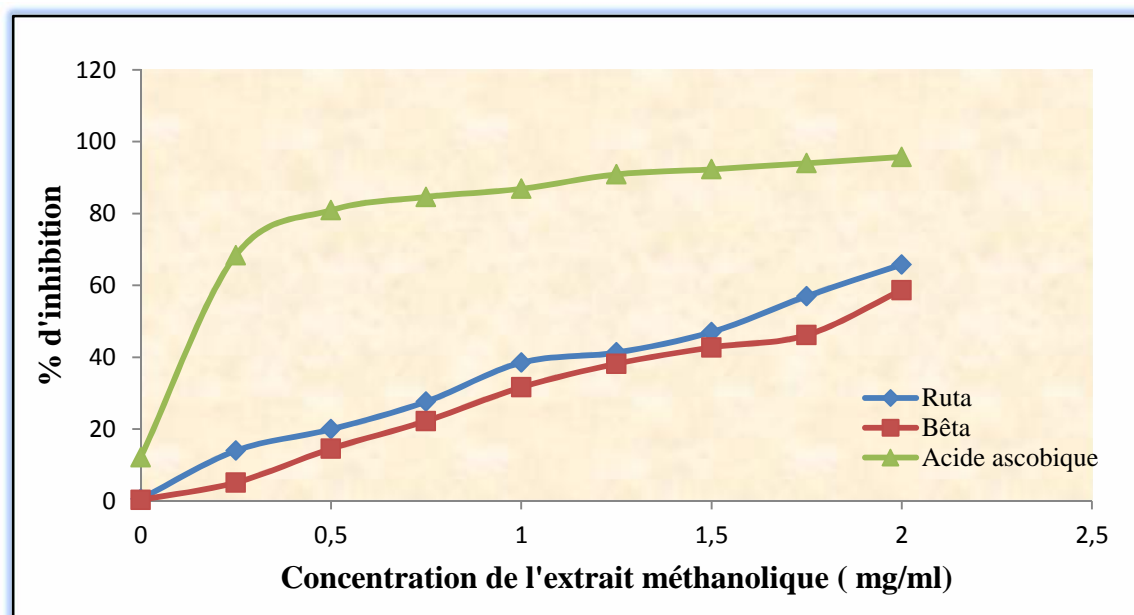


Figure 11 : Effet antiradicalaire de l'EMBV et l'EMRC sur le radical DPPH°.

2. Partie Biologique

2.1. Effets de l'EMBC et de l'EMRC

2.1.1. Test de toxicité

Avec les différentes doses testées; 100, 250, 500, 1000, 2000 et 5000 mg/kg aucune perte de souris n'a été constatée, ainsi toutes les souris étaient calmes, avec une respiration soutenue, aucune paralysie n'a été déplorée. On a constaté que les deux EM ne sont pas toxiques jusqu'à 5000 mg/kg.

2.1.2. Test de l'activité hypoglycémiant sur les souris normo-glycémiques

Les résultats de l'évaluation de l'activité hypoglycémiant sur les souris albinos normo-glycémiques traités par l'EMBV et l'EMRC sont illustrés dans les figures 12 et 13.

Nous constatons que la glycémie basale chez les souris qui sont traitées avec de l'eau physiologique ($98 \pm 3,44$ mg/dl) n'a pas été diminuée au bout de 4 heures ($91,418 \pm 0,47$ mg/dl) ($P > 0,05$), tandis que la dose de l'EMRC 500 mg/kg a un effet hypoglycémiant très hautement significatif ($P < 0,001$) ($79,2 \pm 0,37$ mg/ml) après quatre heures d'observation ($50,6 \pm 0,50$ mg/dl) et la dose de l'EMBV à 500 mg/kg a aussi un pouvoir hypoglycémiant significatif ($0,05 > P > 0,01$) ($84 \pm 10,4$ mg/ml) après 04 heures d'observation ($57 \pm 3,36$ mg/dl).

(Figure 12). Ainsi le pourcentage de la diminution de la glycémie par rapport à la glycémie basale est montré sur la figure 13.

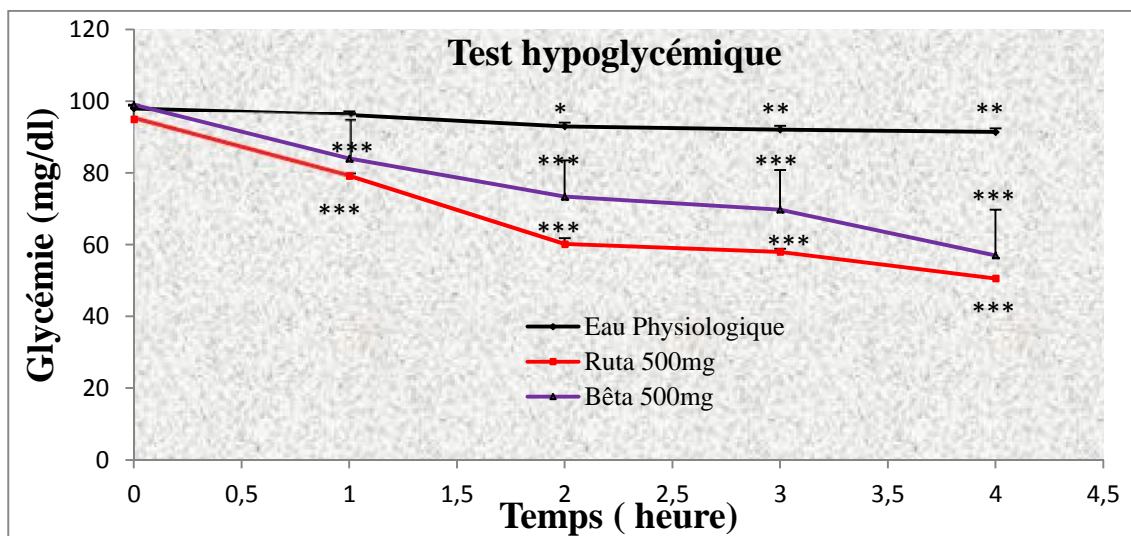


Figure 12 : évaluation de l'activité hypoglycémiant sur les souris normo-glycémique traités par l'EMBV et l'EMRC.

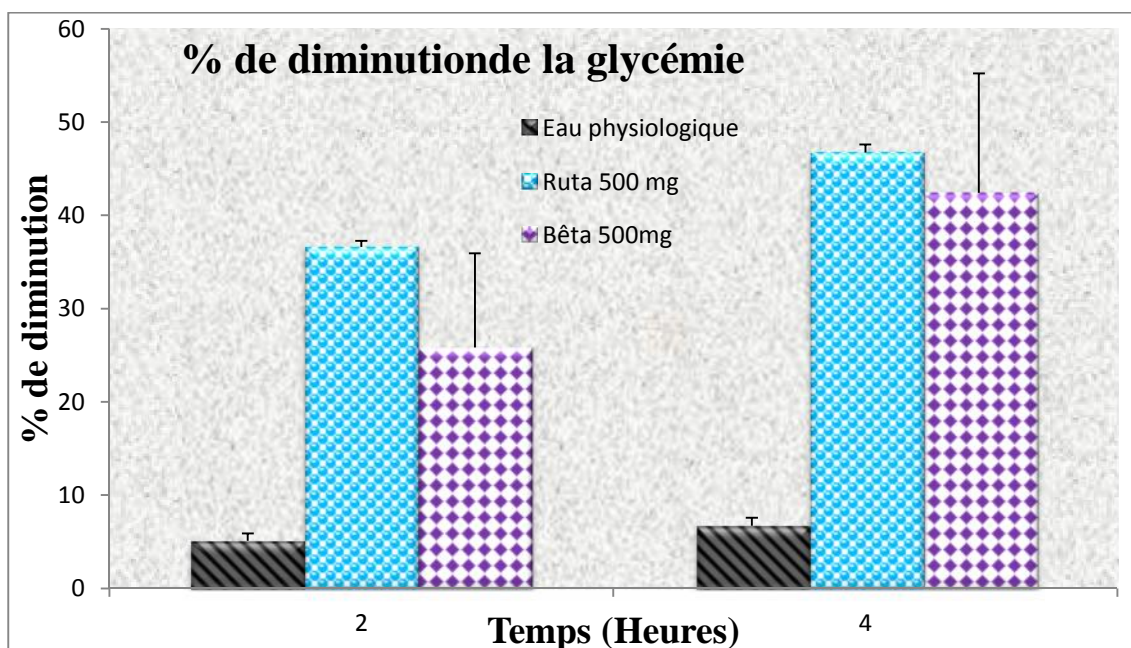


Figure 13: Pourcentage de la diminution de la glycémie par rapport à la glycémie basale des rats.

2.1.3. Test de l'activité anti-hyperglycémiant

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant chez les souris traités par l'EMBC et l'EMRC sont illustrés dans la (Figure 14 et 15).

Nous constatons un effet bénéfique de l'EMRC et l'EMBV et de la glibenclamide lorsque les souris sont prétraitées par ces substances : l'hyperglycémie est constatée au bout d'une heure du gavage de la solution de glucose.

Notons un effet non significative pour les rats traités par l'EMRC 500 mg/kg par rapport à leur lot initial, ce qui signifie qu'il y a une activité anti-hyperglycémique qui freine l'hyperglycémie du lot.

Ainsi le pourcentage de l'activité anti-hyperglycémiant a été illustré dans la figure 16.

On assiste à une augmentation de la glycémie presque similaire à celle du lot traité par le glibenclamide pour les lots traités par l'EMBV et par l'EMRC à 500 mg/kg.

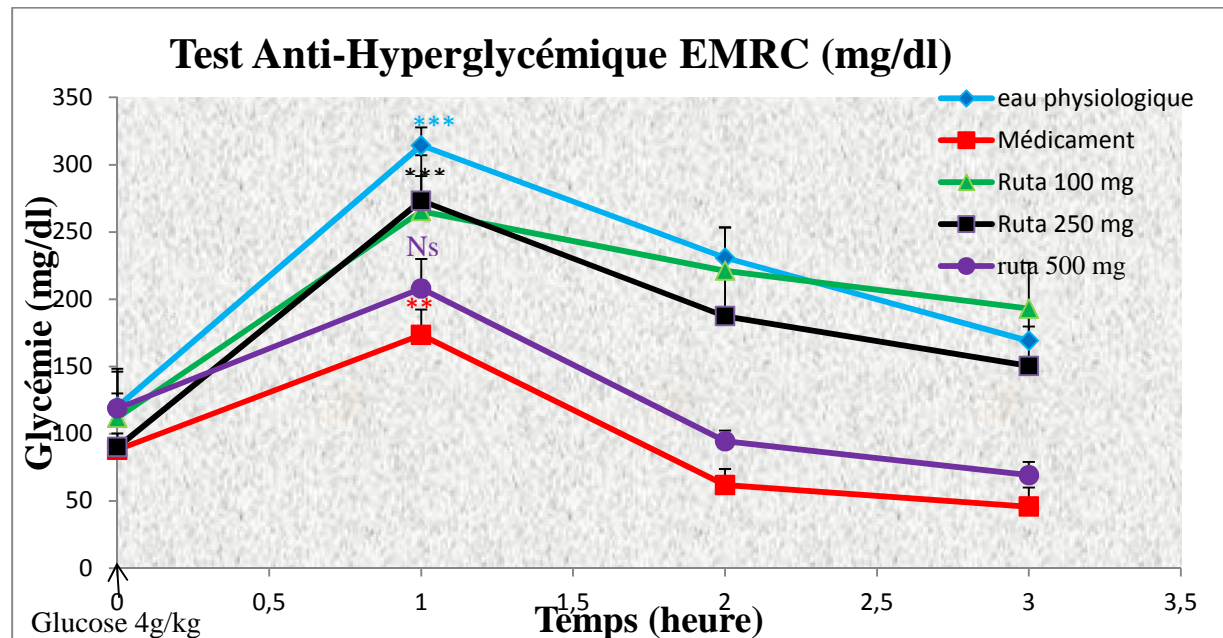


Figure 14: Test Anti-Hyperglycémique de l'EMRC (mg/dl). La comparaison est faite avec la glycémie initiale de chaque lot, (NS) : $P > 0,05$; (*) : $(0,05 > P > 0,01)$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$.

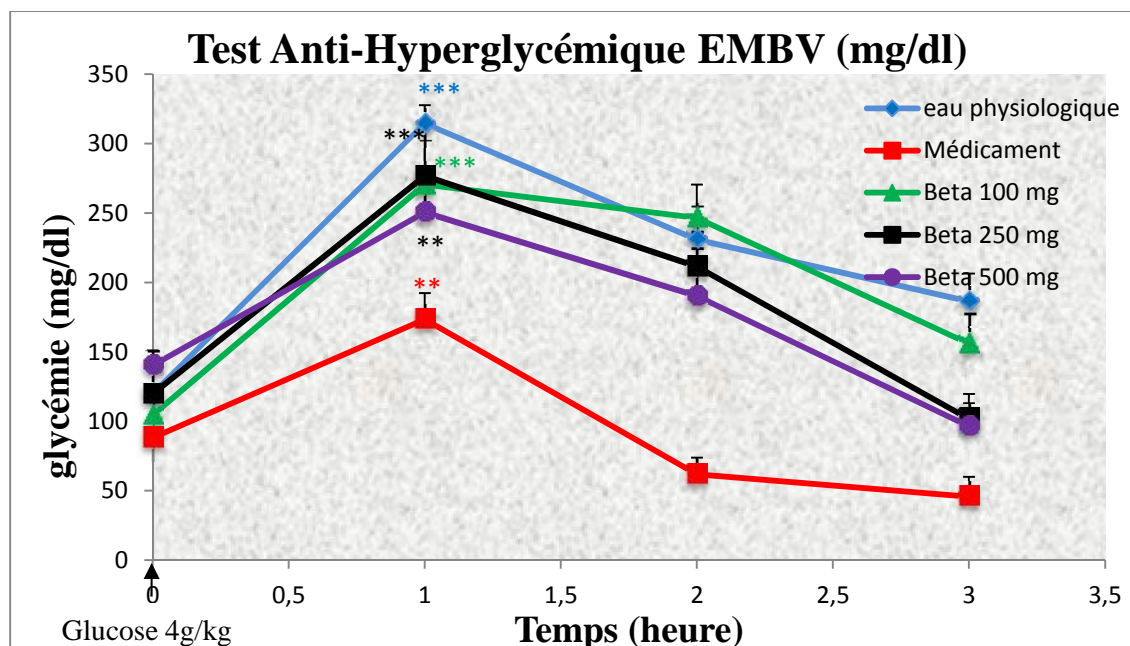


Figure 15: Test Anti-Hyperglycémique de l'EMBV (mg/dl). La comparaison est faite par rapport à la glycémie initiale de chaque lot, ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

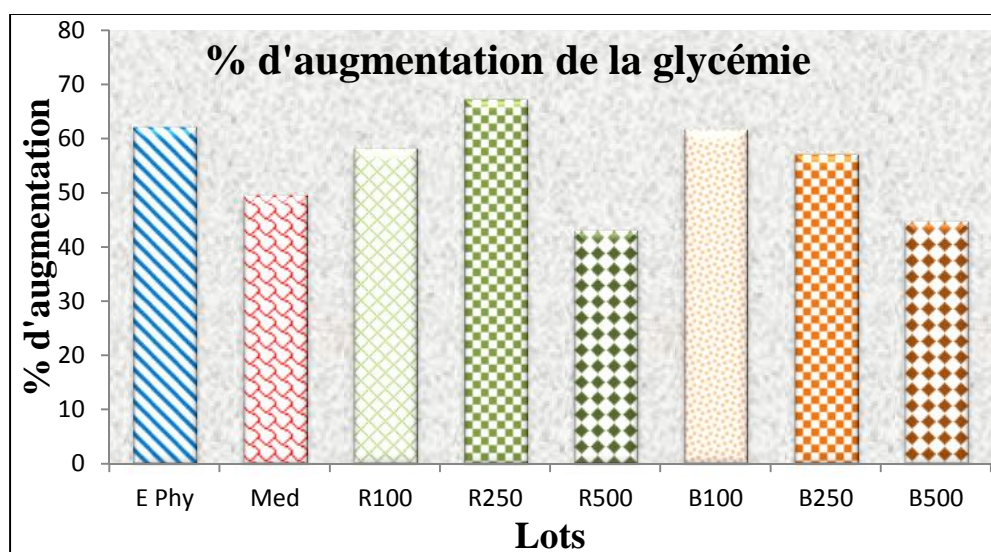


Figure 16: augmentation de la glycémie chez les rats traités avec de l'EMRC, l'EMBV (à différentes doses), l'eau physiologique et le glibenclamide.

2.2. Etude sur les rats

Après que les rats sont devenus diabétiques et la séparation des lots comme a été mentionnée précédemment, pour les premiers jours on a noté un état de polyurie chez tous les rats diabétiques par rapport aux rats normaux. Lors de la dernière semaine on a constaté une diminution de la glycémie ainsi que ces symptômes chez les rats diabétiques traités. Les

paramètres biochimiques et les coupes histologiques sont analysés après le sacrifice des animaux.

2.2.1. Le suivi de la glycémie pendant le traitement

Pendant le traitement, nous avons suivi les variations de la glycémie des rats qui sont illustrées dans la Figure 17 et le Tableau 9.

Nous constatons une augmentation très hautement significative de la glycémie des rats diabétiques (287 ± 24 mg/dl) par rapport aux rats normaux ($102 \pm 4,4$ mg/dl) au bout de 21 jours de traitement.

Une augmentation très hautement significative de la glycémie est notée chez les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc ($432,4 \pm 42,2$ mg/dl) par rapport aux rats diabétiques soumis à un régime normal (287 ± 24 mg/dl) au bout de 21 jours de traitement.

Les résultats obtenus révèlent aussi une diminution de la glycémie non significative des rats normaux soumis à un régime normal traités par l'EMRC ($103 \pm 11,68$ mg/dl) et des rats normaux soumis à un régime normal traités par l'EMBV ($94,8 \pm 6,24$ mg/dl) par rapport aux rats normaux ($102 \pm 4,4$ mg/dl), tandis qu'une diminution très hautement significative chez les rats diabétiques traités par le glibenclamide ($101,4 \pm 12,56$ mg/dl), chez les (D+R-Zn) ($125,6 \pm 3,52$ mg/dl) et chez les (D+B-Zn) ($249,2 \pm 22,5$) par rapport aux rats diabétiques soumis à un régime normal ($0,001 > P$).

Notons que le pourcentage de la diminution de la glycémie établie par le l'EMRC à 500 mg sur les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc (- 65,9%) est presque équivalent à celui qu'est effectué par le glibenclamide à 2,5 kg (-70,22 %) sur ces rats la figure 18.

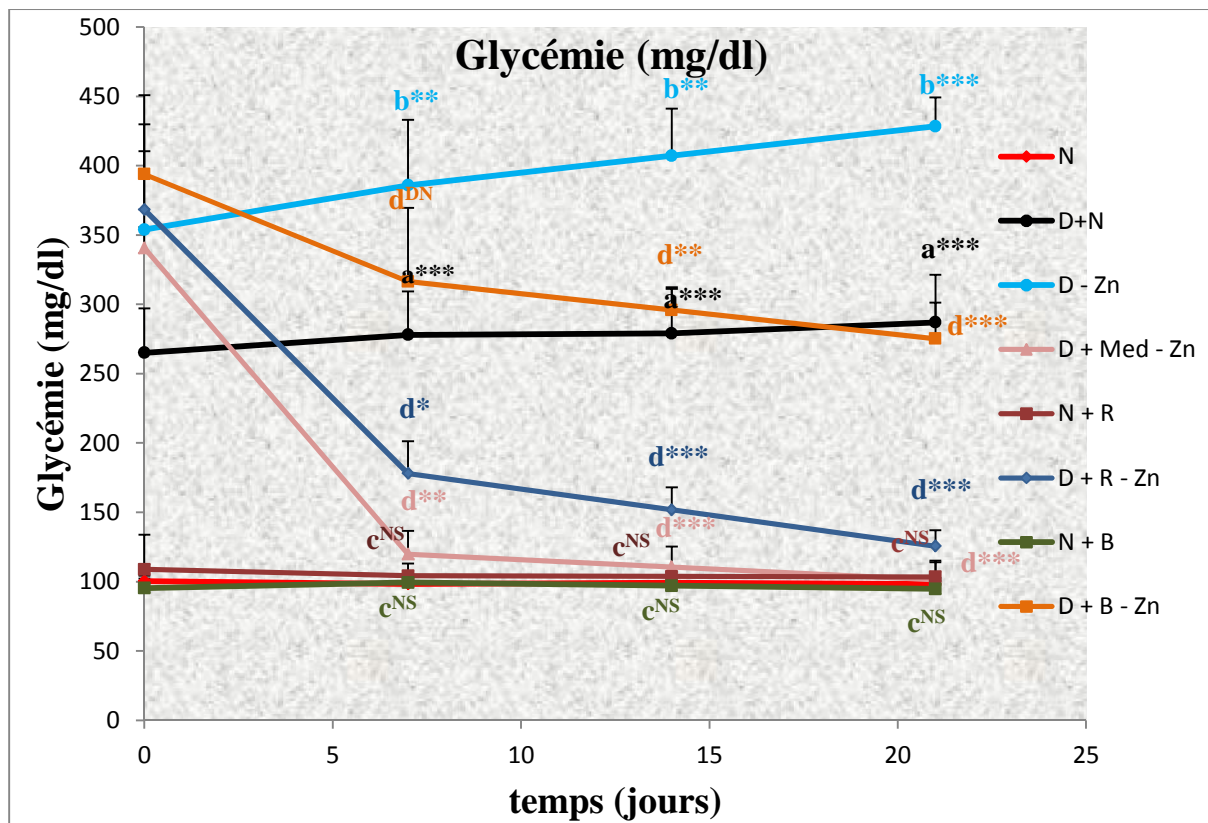


Figure 17 : Courbe du suivie de la glycémie durant le traitement.

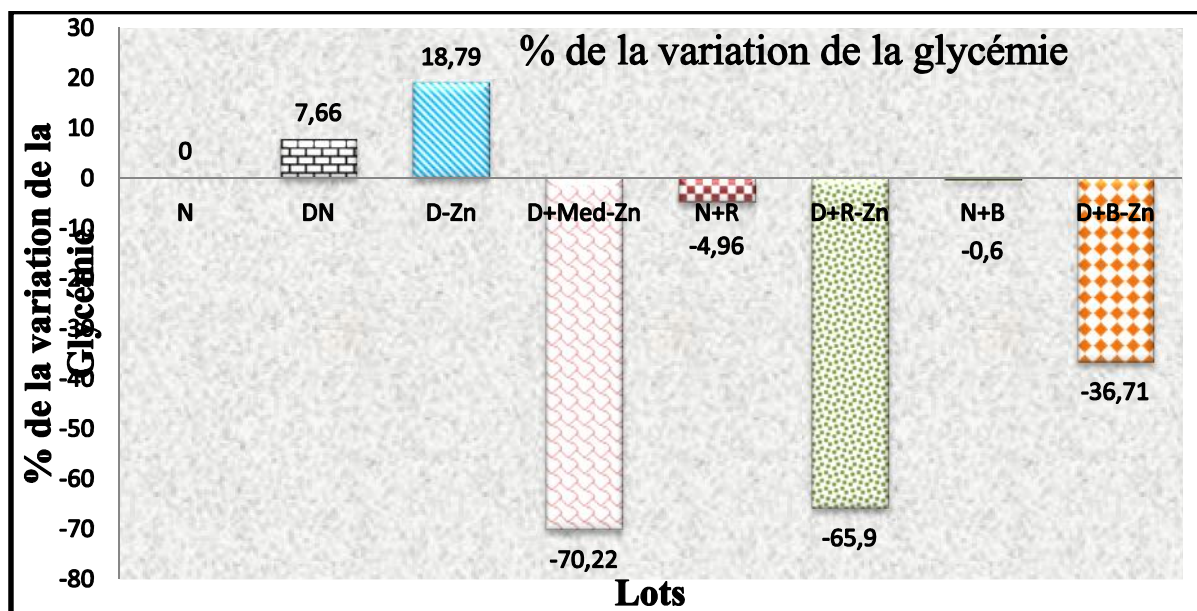


Figure 18: Pourcentage de la variation de la Glycémie chez les rats pendant la durée du traitement.

Tableau 9 : Effet de l'administration orale de EMBV, EMRC et de l'eau physiologique sur la glycémie (M ± S.E.M; n=5)(La comparaison: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; (NS) : P>0,05 ; (*) : 0,05>P>0,01; () : 0,01>P>0,001 ; (***) : P<0,001).**

Paramètres Lots	Glycémie initial (mg/dl)	Augmentation ou diminution de la glycémie (mg/dl)
N	100,4 ± 5,25	0,2 ± 6,16
DN	355,8 ± 33,36	22 ^a *** ± 12,4
D – Zn	353,8 ± 156,56	74,6 ^b *** ± 35,68
D + Med (2,5 mg) – Zn	340,6 ± 15,12	-238 ^d *** ± -17,2
N + R 500	108,8 ± 24,96	-5,4 ^c NS ± -13,28
D + R 500 – Zn	368,4 ± 61,44	-242,8 ^d *** ± -70,88
N + B 500	95,4 ± 6,72	-0,6 ^c NS ± -9,92
D + B 500 – Zn	392,8 ± 207,04	-120,4 ^d *** ± -186,08

2.2.2. Le suivi du poids des rats pendant le traitement

Le suivi de la variation de la masse corporelle des rats au cours de l'expérience, nous a permis de constater les variations par la comparaison du poids des lots par rapport à leurs poids initial les résultats sont illustrés dans le Tableau 10 et Figure 19.

Nous constatons une diminution très hautement significative du poids des rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc ($124,4 \pm 5,64\text{g}$) et une diminution hautement significative du poids des rats diabétiques normaux soumis à un régime normal ($155,2 \pm 6,64\text{g}$) et une augmentation non significative chez les lots : (D+Med-Zn) ($150 \pm 3.36 \text{ g}$), (N+R) ($170,1 \pm 5,23 \text{ g}$), (D+R-Zn) ($193,66 \pm 3,28 \text{ g}$), (N+B) ($182,6 \pm 2,32 \text{ g}$) et (D+B-Zn) ($159,33 \pm 18,77\text{g}$) par rapport au poids initial de chaque lot.

Notons qu'il y a une acquisition de poids pour les rats diabétique traités par l'EMBV et l'EMRC soumis à un régime pauvre en zinc tandis qu'une perte de poids considérable chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire normal (-18 g) et une perte plus

conséquente pour les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc (-36,4g) les résultats sont illustrés dans la Figure 20.

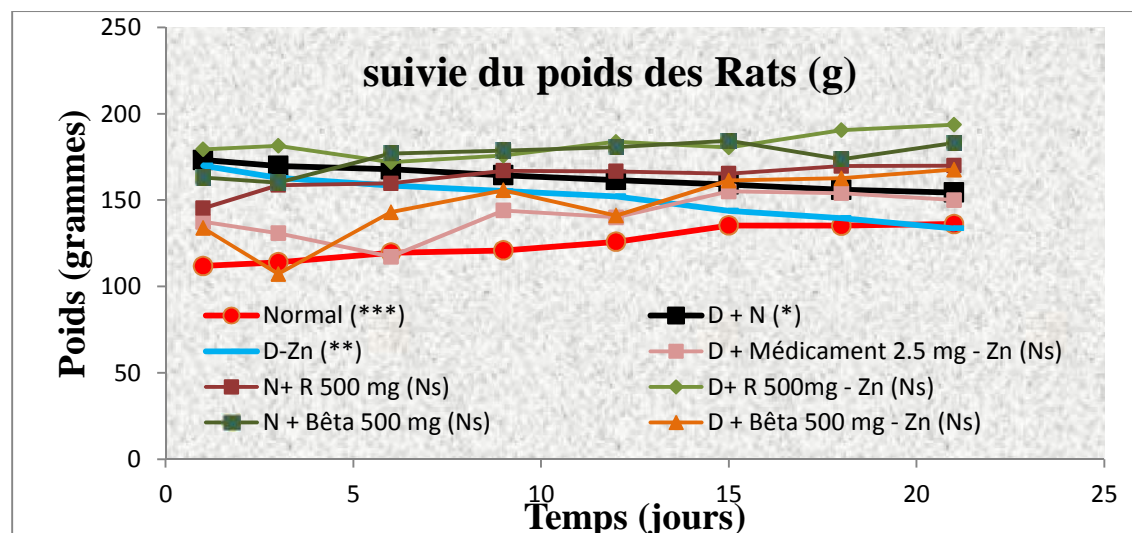


Figure 19 : Suivie du poids de rats durant le traitement (gramme) {la comparaison est faite par rapport au poids initial de chaque lot ; Ns : (P>0,05) ; (*) : (0,05>P>0,01) ; (**): (0,01>P>0,001) ; (***) : (P<0,001)}.

Ns : Différence non significative par rapport au poids initial du lot (P<0,05).

* : Différence significative par rapport au poids initial du lot (0,05>P>0,01).

** : Différence hautement significative par rapport au poids initial du lot (0,01>P>0,001).

*** : Différence très hautement significative par rapport au poids initial du lot (P<0,001).

Tableau 10: Effet de l'administration orale de EMBV, EMRC et d'eau physiologique sur le gain du poids corporel (M ±S.E.M; n=5) (la comparaison est faite par rapport au poids initial du lot).

Paramètres	Poids initial (g)	Gain ou perte du poids (g)
N	137 ± 6,4	25,2 ± 5,44
DN	173,2 ± 9,76	-18 ± 6,64
D - Zn	170 ± 8,4	-36,4 ± 5,84
D + Med (2,5 mg) - Zn	137,4 ± 18,32	12,6 ± 3,36
N + R 500	145,33 ± 14,53	24,80 ± 5,23
D + R 500 - Zn	179,4 ± 13,12	14,26 ± 3,28
N + B 500	163 ± 15,2	19,6 ± 2,32
D + B 500 - Zn	133,8 ± 22,64	25,53 ± 18,77

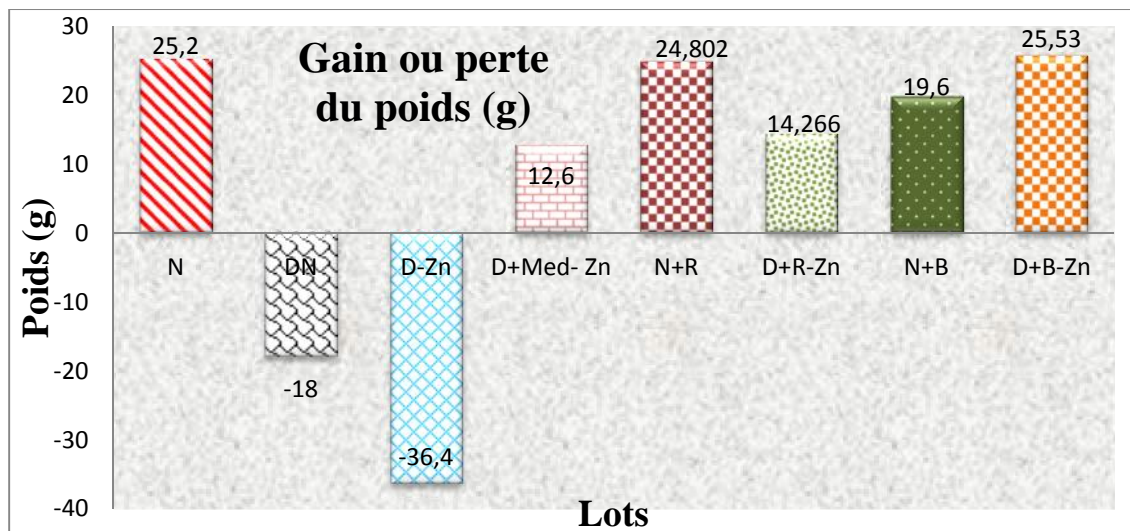


Figure 20: Gain ou perte du poids des rats à la fin du traitement.

2.3. Dosage Biochimiques

Les résultats illustrés dans le Tableau 12 et les Figures (21, 22, 23, 24 et 25) montrent qu'il existe une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) de la concentration sérique de l'urée, significative de l'acide urique et non significative du cholestérol, de la créatinine et des triglycérides chez le groupe diabétique par rapport au groupe normal.

Les résultats obtenue révèlent aussi que la carence du zinc dans l'alimentation a induit une augmentation de ces paramètres par rapport au rats diabétiques alimentés par un régime normal, cette augmentation est statistiquement très hautement significative pour le cholestérol, l'urée et créatinine et significative pour l'acide urique et les triglycérides.

D'autres parts on note que ces paramètres gardent leurs taux presque normaux avec une différence non significative chez les rats normaux traités par l'EMRC et l'EMBV par rapport au lot normal.

Notons que le traitement par: l'EMRC, l'EMBV, le glibenclamide a amélioré ces variables altérées.

Tableau 12: l'évaluation des paramètres biochimiques. (La comparaison: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : P>0,05 ; (*) : 0,05>P>0,01; () : 0,01>P>0,001 ; (***) : P<0,001).**

Paramètres Lots	Créatinine	Cholestérol	Acide urique	Urée	Triglycéride
N	0,66 ± 0,02	80 ± 4,8	2,4 ± 0,24	25,4 ± 0,48	56 ± 13,6
DN	0,65 ^{a*} ± 0,12	60,6 ^{a*} ± 4,72	3,18 ^{a*} ± 0,30	60,6 ^{a***} ± 4,72	73,2 ^{aNS} ± 8,64
D – Zn	1,25 ^{b***} ± 0,22	127 ^{b***} ± 10	3,9 ^{b*} ± 0,24	127 ^{b***} ± 10	96,4 ^{b*} ± 4,88
D + Med – Zn	0,73 ^{dNS} ± 0,30	99 ^{d**} ± 3,6	1,22 ^{d***} ± 0,06	37,2 ^{d***} ± 5,76	48,2 ^{d***} ± 16,8
N + R 500	0,49 ^{cNS} ± 0,05	109,4 ^{cNS} ± 2,88	2,12 ^{cNS} ± 0,11	14 ^{cNS} ± 3,2	86 ^{cNS} ± 16,64
D + R 500 – Zn	1,24 ^{dNS} ± 0,37	90 ^{d***} ± 9,6	2,12 ^{d***} ± 0,89	42 ^{d***} ± 13,6	71,8 ^{dNS} ± 14,16
N + B 500	0,61 ^{cNS} ± 0,04	95,2 ^{cNS} ± 1,92	2,66 ^{cNS} ± 0,44	15,8 ^{cNS} ± 4,32	95,8 ^{cNS} ± 14,88
D + B 500 – Zn	0,47 ^{dNS} ± 0,07	125,2 ^{dNS} ± 27,36	2,04 ^{d**} ± 0,43	11,6 ^{d***} ± 1,92	79,6 ^{dNS} ± 4,24

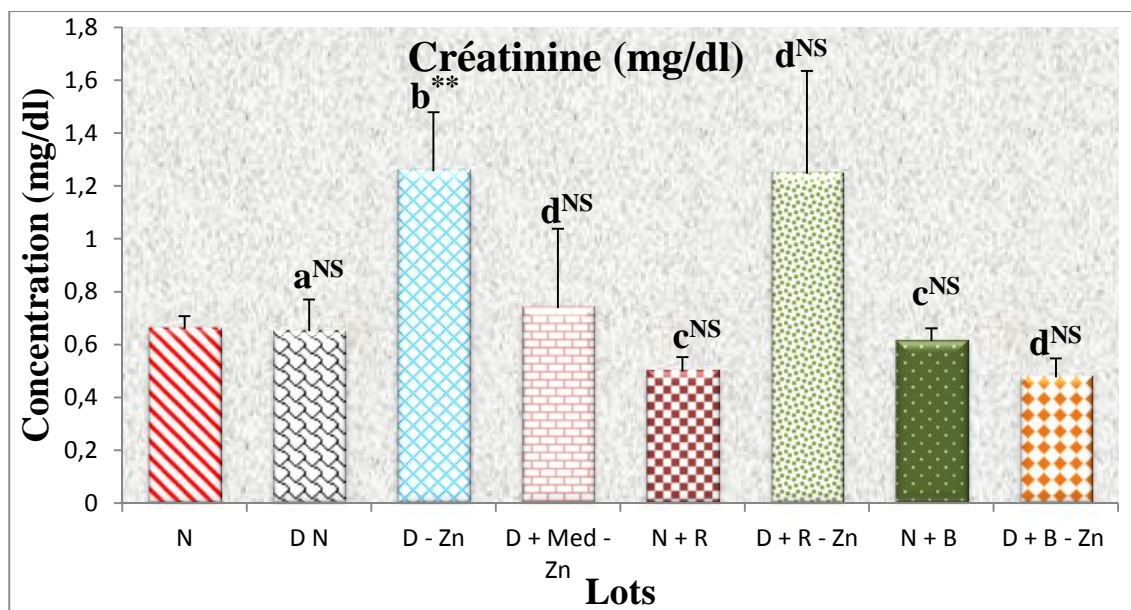


Figure 21 : concentration sérique de la créatinine. (La comparaison: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

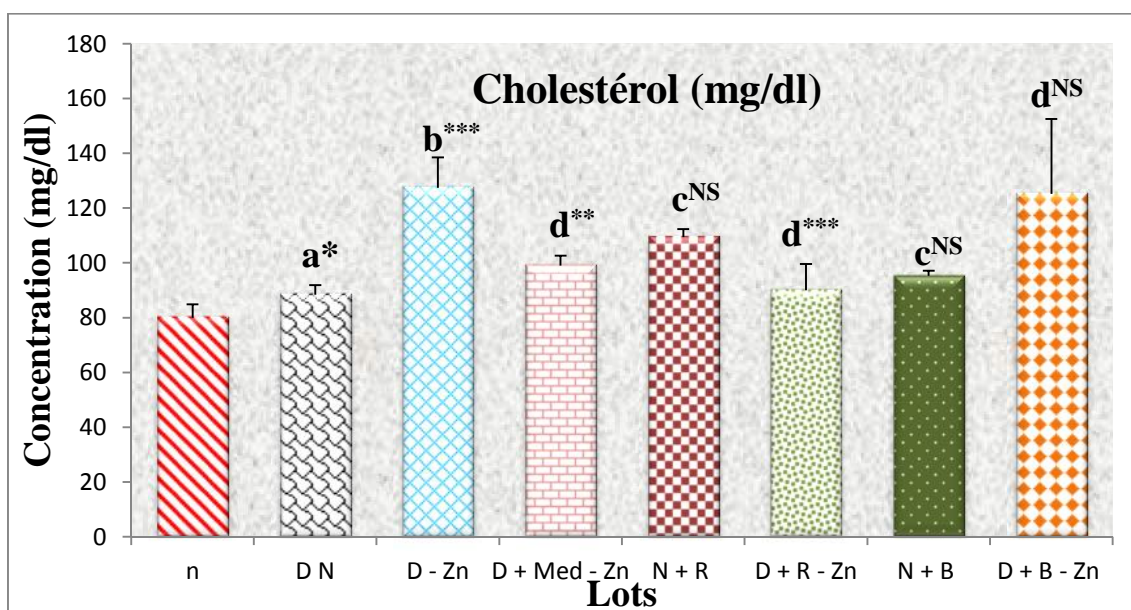


Figure 22 : concentration sérique du cholestérol. (Les comparaisons: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

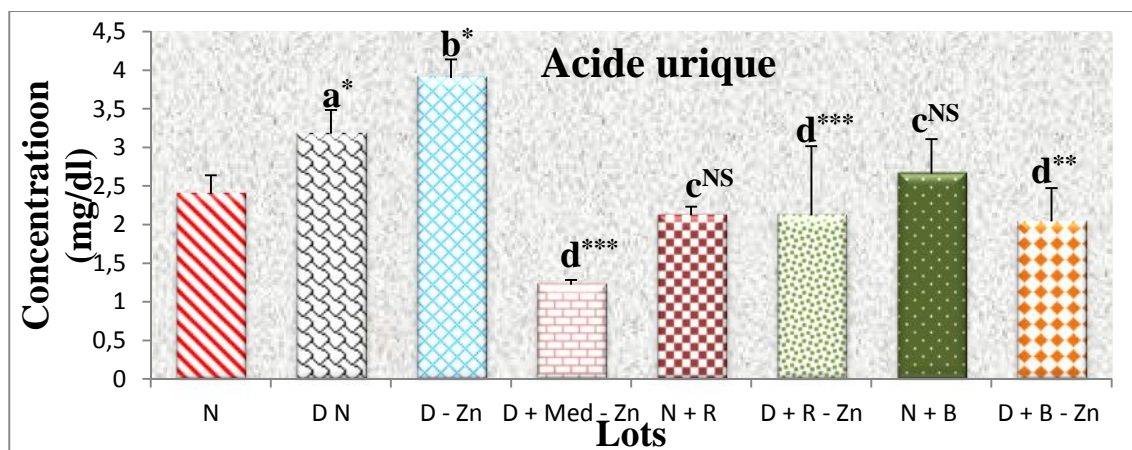


Figure 23: concentration sérique de l'acide urique. (La comparaison est faites tel que : (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

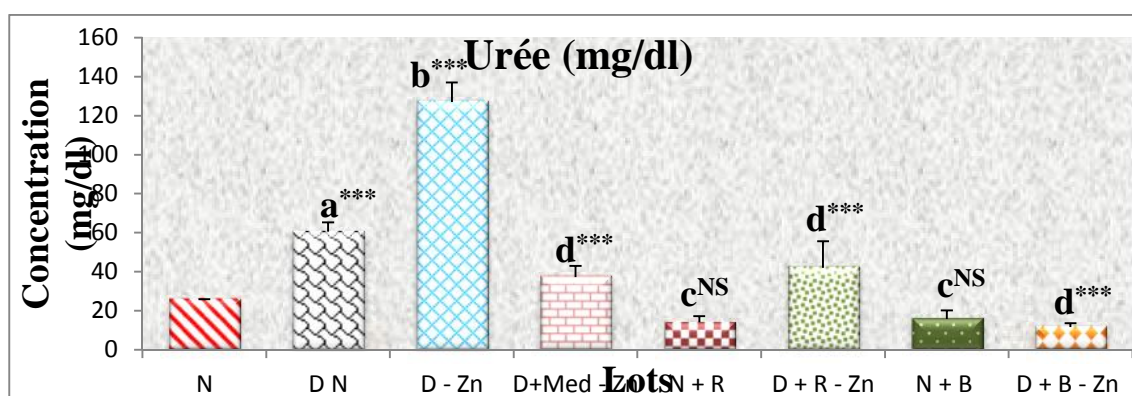


Figure 24: concentration sérique de l'urée. (La comparaison est faites tel que : (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

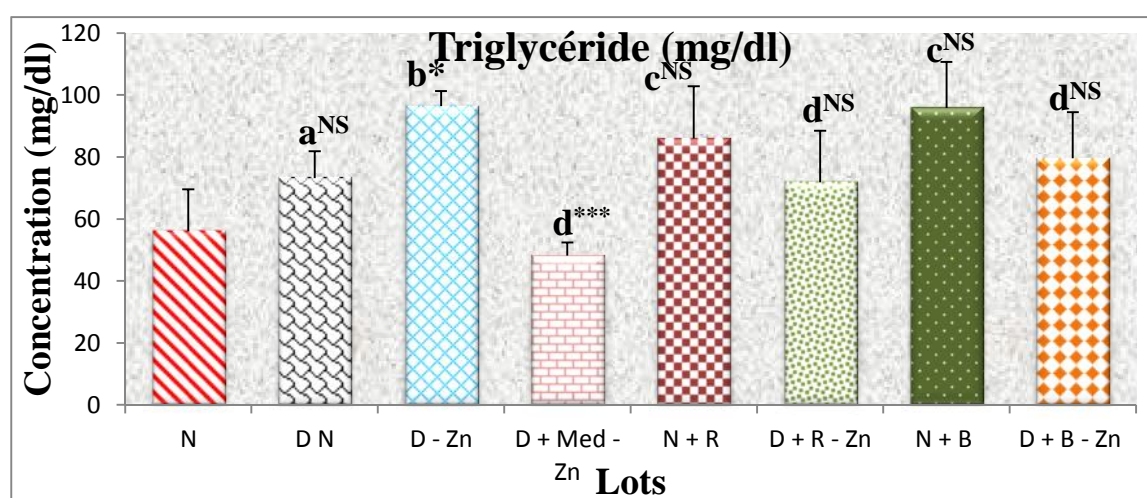


Figure 25: concentration sérique des triglycérides. (La comparaison est faites tel que : (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

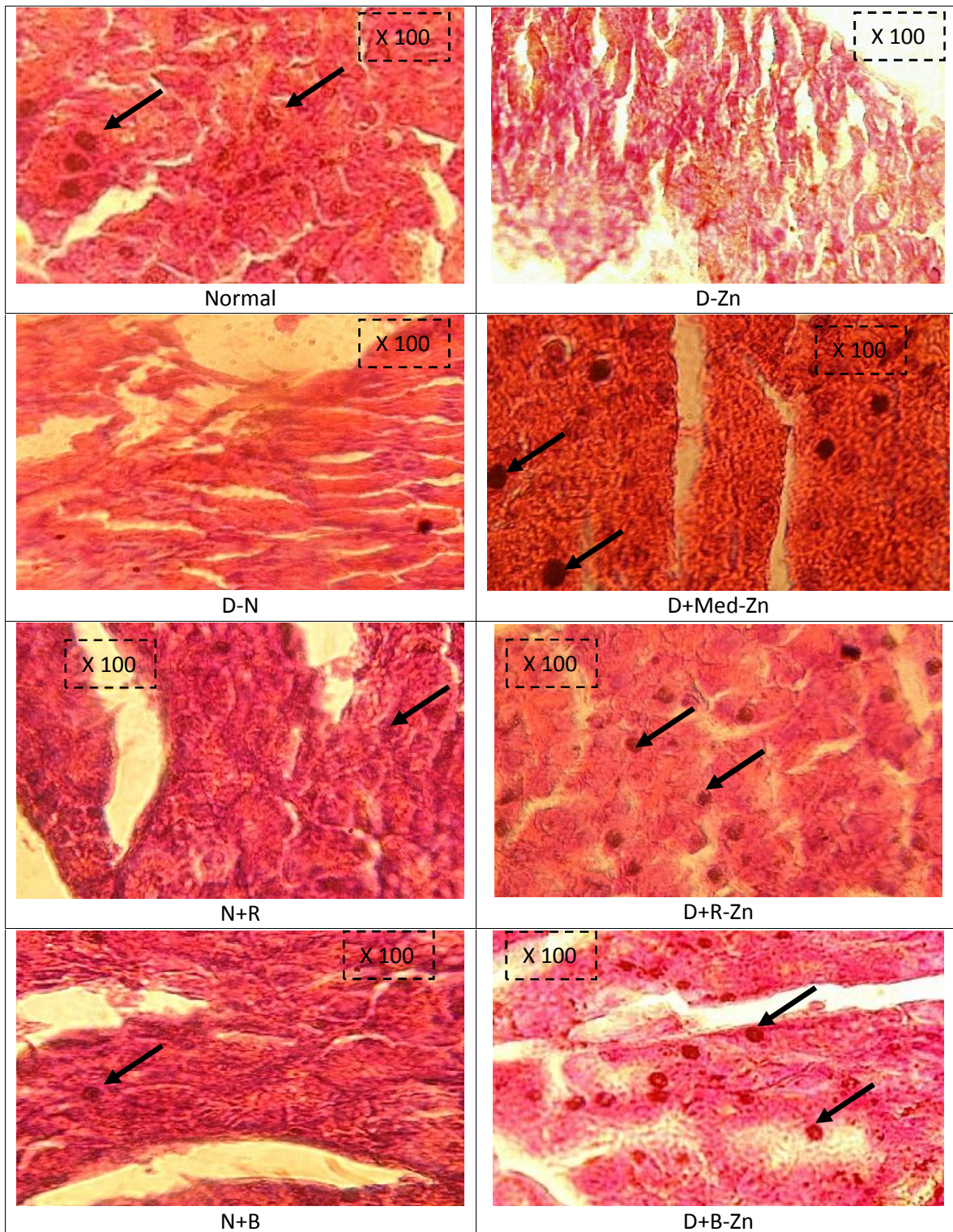


Figure 26: Photos des coupes histologiques réalisées du pancréas.

Discussion

Les résultats

1. Préparation et étude du matériel végétal

1.1. Préparation de l'extrait méthanolique de *Bêta vulgaris* «var.cicla» et *Ruta chalepensis*

L'opération de l'extraction à partir de 250 g du matériel végétal à l'aide du méthanol et après lyophilisation a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brut tel que y est mentionnée dans le Tableau 6.

Tableau 6: rendement des deux plantes.

La quantité d'extrait à partir de 250 g	<i>Bêta vulgaris</i>	<i>Ruta chalepensis</i>
Rendement (g)	21,45	23,45
Rendement %	8,58	9,38

1.2. Etude phytochimiques

1.2.1. Tests phytochimiques

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques sur les deux plantes (*Bêta vulgaris* «var. cicla» et *Ruta chalepensis*) (Tableau 7).

Tableau 7: Résultats des tests phytochimiques.

Composés	<i>Bêta vulgaris</i>	<i>Ruta chalepensis</i>
Alcaloïdes	-	+++
Tanin	-	+
Flavonoïdes	++	+++
Saponosides	+	++
Composés réducteurs	+	+++
Oses et holosides	+	+++
Mucilages	+++	+

1.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)

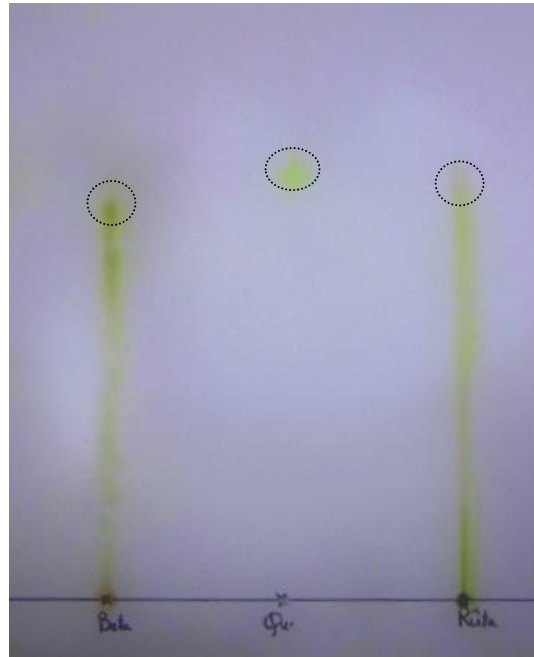


Figure 9: chromatographie sur couche mince des deux extraits méthanoliques et de la quercétine [prise personnel].

L'analyse du chromatogramme révèle la présence de trois taches avec une coloration jaune.

Les rapports frontaux sont calculés selon l'équation suivante :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Le front de solvant = 8,4 cm

Distance parcourue par la quercétine = 7,35

$$Rf_Q = 0,87.$$

Les 02 taches des échantillons :

Distance parcourue par EMBV = 6.85 cm

$$Rf_{EMBV} = 0,81.$$

Distance parcourue de EMRC = 7,2

$$Rf_{EMRC} = 0,85.$$

1.4. Analyses de l'EMBV et l'EMRC

1.4.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Dans le but de caractériser les deux extraits préparés, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard et la teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) en utilisant comme standard la quercétine, et est exprimée en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) Tableau 8.

Tableau 8 : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'EMBV et l'EMRC.

	Teneur en polyphénols (mg EAG /g)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g extrait)
<i>Bêta vulgaris</i> «var. <i>cicla</i> »	31,231 ± 0.0066	6,85 ± 0,087
<i>Ruta chalepensis</i>	43,405± 0.0122	36,44 ±0.042

1.4.2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH)

L'activité antiradicalaire *in vitro* des flavonoïdes est évaluée par la diminution du taux de DPPH° dosé après l'addition des flavonoïdes à différentes concentrations suivie à 517 nm après addition de 50 µl de chacune des concentrations des deux extraits a une concentration de 2 mg/ml. Le pouvoir antiradicalaire de l'EMRC (65,811%) et de l'EMBV (58,68%) est observé ; pouvoir inférieur à celui qu'exerce l'acide ascorbique (95,72%).

Ce test nous a permis de déterminé la concentration inhibitrice piégeant 50% du radical DPPH° (IC₅₀) qui était de (1,5 mg/ml) pour l'EMRC et (1,74 mg/ml) pour l'EMBV contre (0,12 mg/ml) pour l'acide ascorbique. (Figure11).

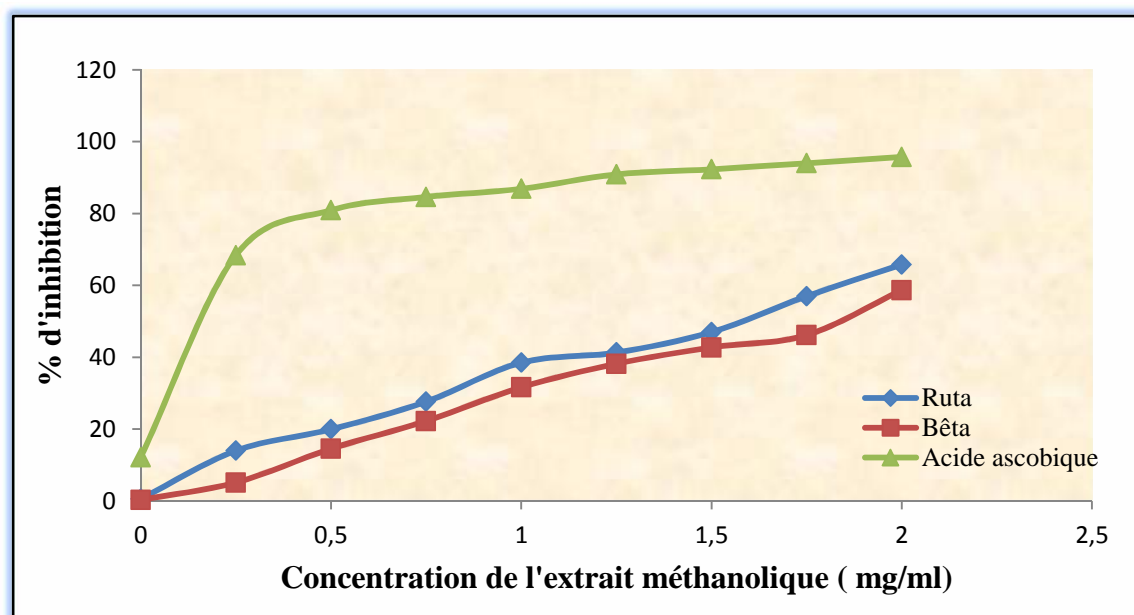


Figure 11 : Effet antiradicalaire de l'EMBV et l'EMRC sur le radical DPPH°.

2. Partie Biologique

2.1. Effets de l'EMBC et de l'EMRC

2.1.1. Test de toxicité

Avec les différentes dose testées; 100, 250, 500, 1000, 2000 et 5000 mg/kg aucune perte de souris n'a été constatée, ainsi toutes les souris étaient calmes, avec une respiration soutenue, aucune paralysie n'a été déplorée. On a constaté que les deux EM ne sont pas toxique jusqu'à 5000 mg/kg.

2.1.2. Test de l'activé hypoglycémiant sur les souris normo-glycémiques

Les résultats de l'évaluation de l'activé hypoglycémiant sur les souris albinoses normo-glycémiques traités par l'EMBV et l'EMRC sont illustrés dans les figures 12 et 13.

Nous constatons que la glycémie basale chez les souris qui sont traités avec de l'eau physiologique ($98 \pm 3,44$ mg/dl) n'a pas été diminuée au bout de 4 heures ($91,418 \pm 0,47$ mg/dl) ($P > 0,05$), tandis que la dose de l'EMRC 500 mg/kg a un effet hypoglycémiant très hautement significative ($P < 0,001$) ($79,2 \pm 0,37$ mg/ml) après quatre heures d'observation ($50,6 \pm 0,50$ mg/dl) et la dose de l'EMBV à 500 mg/kg a aussi un pouvoir hypoglycémiant significative ($0,05 > P > 0,01$) ($84 \pm 10,4$ mg/ml) après 04 heures d'observation ($57 \pm 3,36$ mg/dl)

(Figure 12). Ainsi le pourcentage de la diminution de la glycémie par rapport à la glycémie basale est montré sur la figure 13.

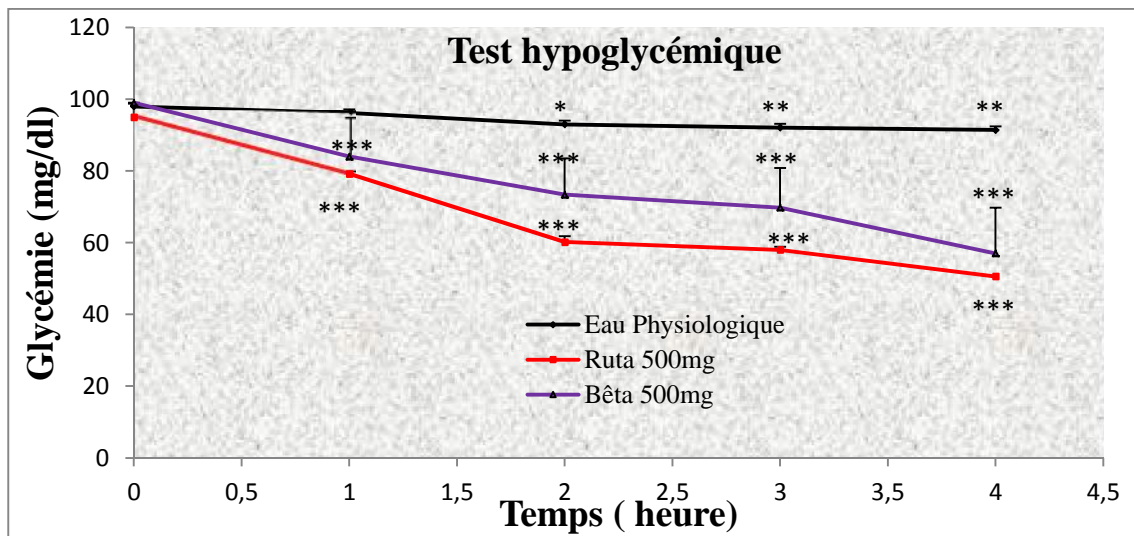


Figure 12 : évaluation de l'activité hypoglycémiant sur les souris normo-glycémique traités par l'EMBV et l'EMRC.

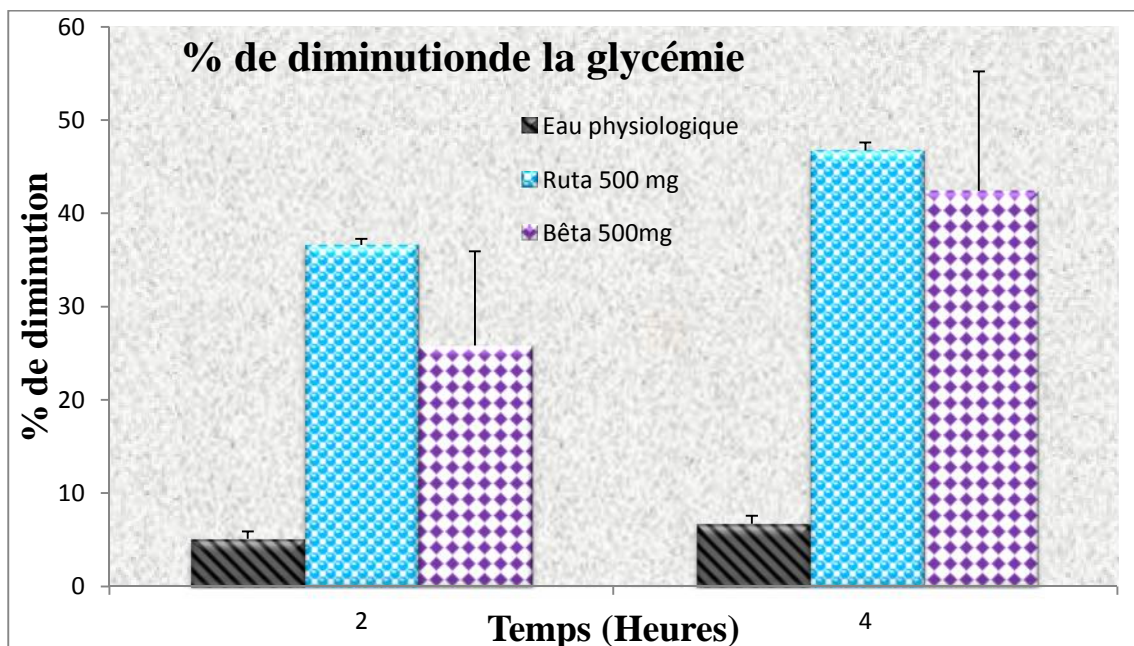


Figure 13: Pourcentage de la diminution de la glycémie par rapport à la glycémie basale des rats.

2.1.3. Test de l'activité anti-hyperglycémiant

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant chez les souris traités par l'EMBC et l'EMRC sont illustrés dans la (Figure 14 et 15).

Nous constatons un effet bénéfique de l'EMRC et l'EMBV et de la glibenclamide lorsque les souris sont prétraitées par ces substances : l'hyperglycémie est constatée au bout d'une heure du gavage de la solution de glucose.

Notons un effet non significative pour les rats traités par l'EMRC 500 mg/kg par rapport à leur lot initial, ce qui signifie qu'il y a une activité anti-hyperglycémique qui freine l'hyperglycémie du lot.

Ainsi le pourcentage de l'activité anti-hyperglycémiant a été illustré dans la figure 16.

On assiste à une augmentation de la glycémie presque similaire à celle du lot traité par le glibenclamide pour les lots traités par l'EMBV et par l'EMRC à 500 mg/kg.

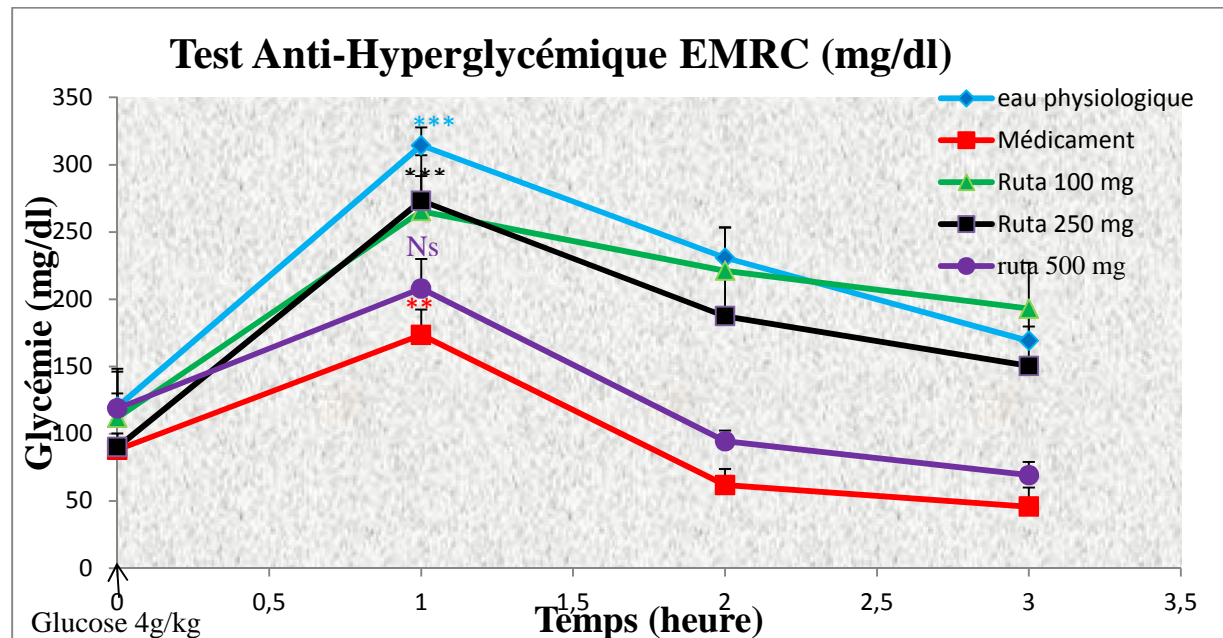


Figure 14: Test Anti-Hyperglycémique de l'EMRC (mg/dl). La comparaison est faite avec la glycémie initiale de chaque lot, (NS) : $P > 0,05$; (*) : $(0,05 > P > 0,01)$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$.

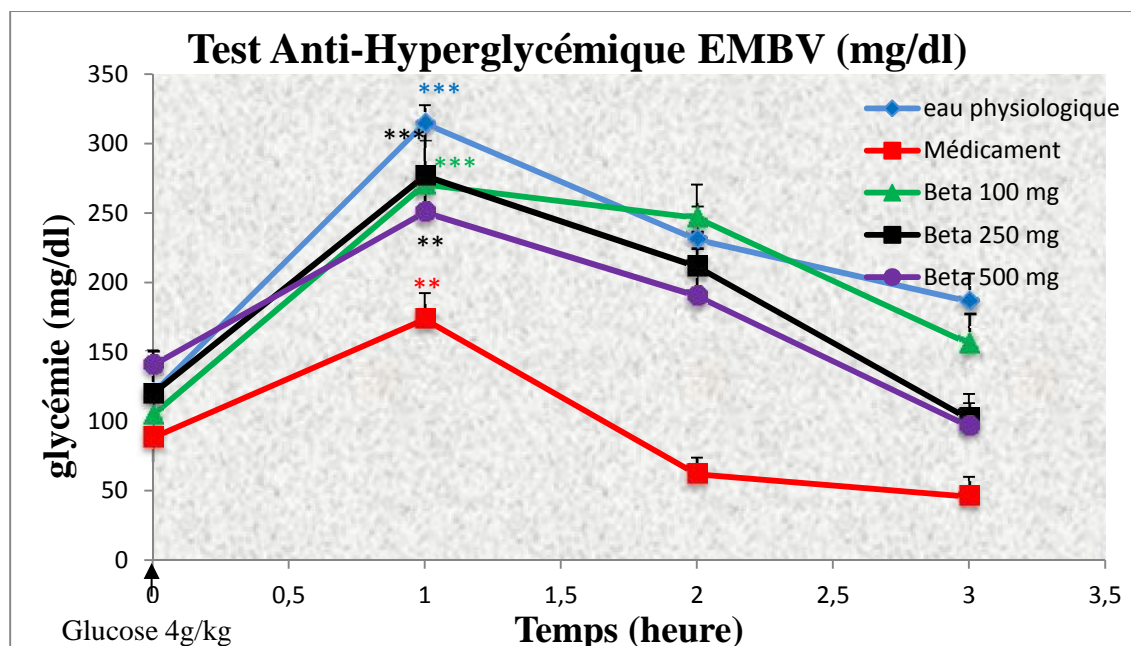


Figure 15: Test Anti-Hyperglycémique de l'EMBV (mg/dl). La comparaison est faite par rapport à la glycémie initiale de chaque lot, ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

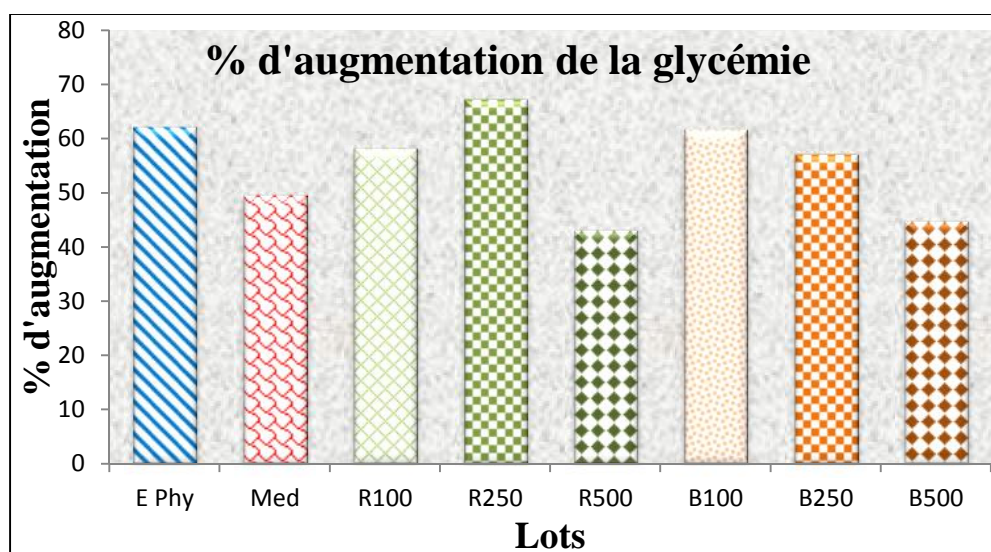


Figure 16: augmentation de la glycémie chez les rats traités avec de l'EMRC, l'EMBV (à différentes doses), l'eau physiologique et le glibenclamide.

2.2. Etude sur les rats

Après que les rats sont devenus diabétiques et la séparation des lots comme a été mentionnée précédemment, pour les premiers jours on a noté un état de polyurie chez tous les rats diabétiques par rapport aux rats normaux. Lors de la dernière semaine on a constaté une diminution de la glycémie ainsi que ces symptômes chez les rats diabétiques traités. Les

paramètres biochimiques et les coupes histologiques sont analysés après le sacrifice des animaux.

2.2.1. Le suivi de la glycémie pendant le traitement

Pendant le traitement, nous avons suivi les variations de la glycémie des rats qui sont illustrées dans la Figure 17 et le Tableau 9.

Nous constatons une augmentation très hautement significative de la glycémie des rats diabétiques (287 ± 24 mg/dl) par rapport aux rats normaux ($102 \pm 4,4$ mg/dl) au bout de 21 jours de traitement.

Une augmentation très hautement significative de la glycémie est notée chez les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc ($432,4 \pm 42,2$ mg/dl) par rapport aux rats diabétiques soumis à un régime normal (287 ± 24 mg/dl) au bout de 21 jours de traitement.

Les résultats obtenus révèlent aussi une diminution de la glycémie non significative des rats normaux soumis à un régime normal traités par l'EMRC ($103 \pm 11,68$ mg/dl) et des rats normaux soumis à un régime normal traités par l'EMBV ($94,8 \pm 6,24$ mg/dl) par rapport aux rats normaux ($102 \pm 4,4$ mg/dl), tandis qu'une diminution très hautement significative chez les rats diabétiques traités par le glibenclamide ($101,4 \pm 12,56$ mg/dl), chez les (D+R-Zn) ($125,6 \pm 3,52$ mg/dl) et chez les (D+B-Zn) ($249,2 \pm 22,5$) par rapport aux rats diabétiques soumis à un régime normal ($0,001 > P$).

Notons que le pourcentage de la diminution de la glycémie établie par le l'EMRC à 500 mg sur les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc (- 65,9%) est presque équivalent à celui qu'est effectué par le glibenclamide à 2,5 kg (-70,22 %) sur ces rats la figure 18.

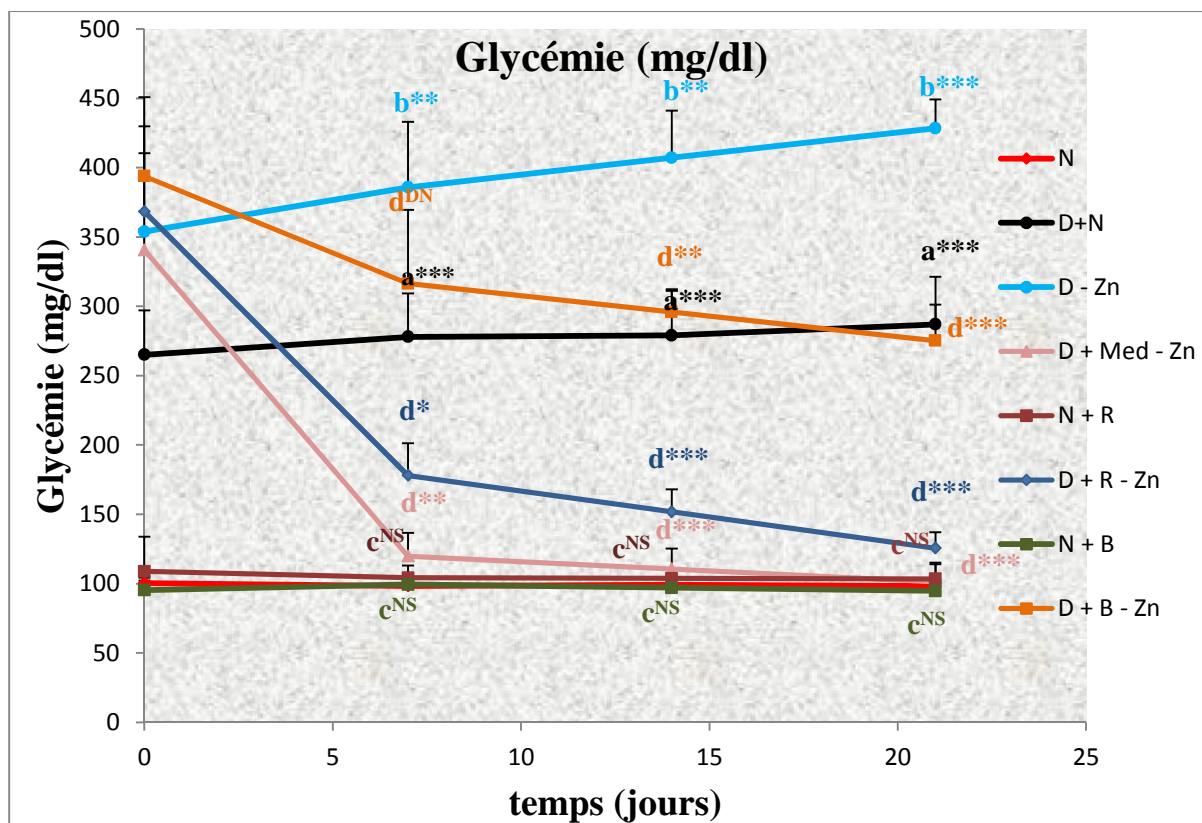


Figure 17 : Courbe du suivie de la glycémie durant le traitement.

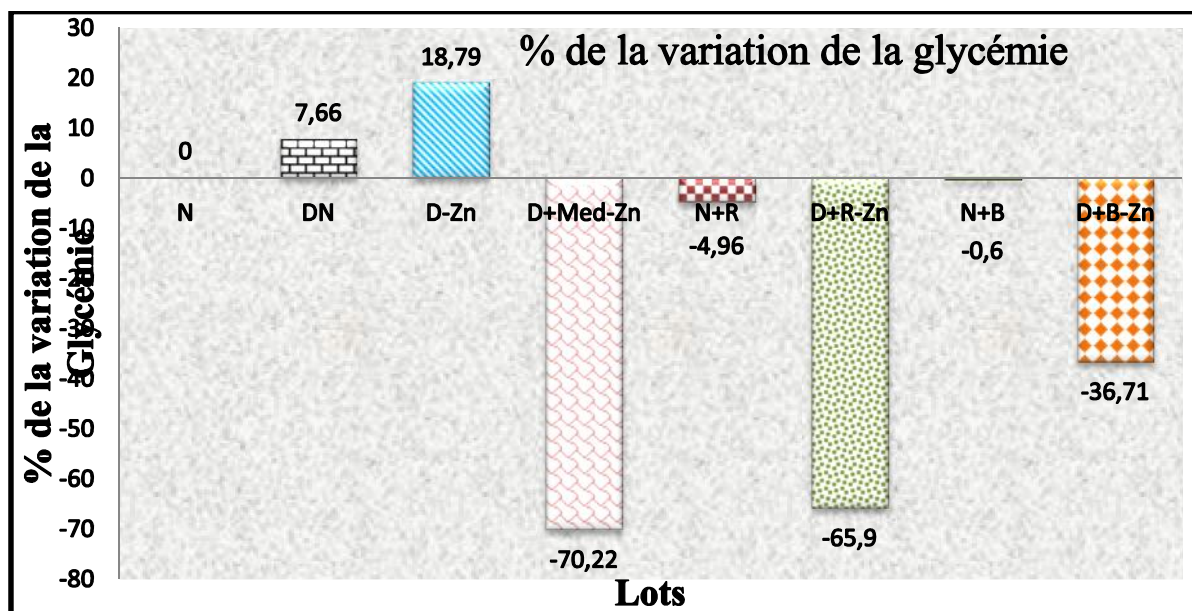


Figure 18: Pourcentage de la variation de la Glycémie chez les rats pendant la durée du traitement.

Tableau 9 : Effet de l'administration orale de EMBV, EMRC et de l'eau physiologique sur la glycémie (M ± S.E.M; n=5)(La comparaison: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; (NS) : P>0,05 ; (*) : 0,05>P>0,01; () : 0,01>P>0,001 ; (***) : P<0,001).**

Paramètres Lots	Glycémie initial (mg/dl)	Augmentation ou diminution de la glycémie (mg/dl)
N	100,4 ± 5,25	0,2 ± 6,16
DN	355,8 ± 33,36	22 ^a *** ± 12,4
D – Zn	353,8 ± 156,56	74,6 ^b *** ± 35,68
D + Med (2,5 mg) – Zn	340,6 ± 15,12	-238 ^d *** ± -17,2
N + R 500	108,8 ± 24,96	-5,4 ^c NS ± -13,28
D + R 500 – Zn	368,4 ± 61,44	-242,8 ^d *** ± -70,88
N + B 500	95,4 ± 6,72	-0,6 ^c NS ± -9,92
D + B 500 – Zn	392,8 ± 207,04	-120,4 ^d *** ± -186,08

2.2.2. Le suivi du poids des rats pendant le traitement

Le suivi de la variation de la masse corporelle des rats au cours de l'expérience, nous a permis de constater les variations par la comparaison du poids des lots par rapport à leurs poids initial les résultats sont illustrés dans le Tableau 10 et Figure 19.

Nous constatons une diminution très hautement significative du poids des rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc ($124,4 \pm 5,64\text{g}$) et une diminution hautement significative du poids des rats diabétiques normaux soumis à un régime normal ($155,2 \pm 6,64\text{g}$) et une augmentation non significative chez les lots : (D+Med-Zn) ($150 \pm 3.36 \text{ g}$), (N+R) ($170,1 \pm 5,23 \text{ g}$), (D+R-Zn) ($193,66 \pm 3,28 \text{ g}$), (N+B) ($182,6 \pm 2,32 \text{ g}$) et (D+B-Zn) ($159,33 \pm 18,77\text{g}$) par rapport au poids initial de chaque lot.

Notons qu'il y a une acquisition de poids pour les rats diabétique traités par l'EMBV et l'EMRC soumis à un régime pauvre en zinc tandis qu'une perte de poids considérable chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire normal (-18 g) et une perte plus

conséquente pour les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc (-36,4g) les résultats sont illustrés dans la Figure 20.

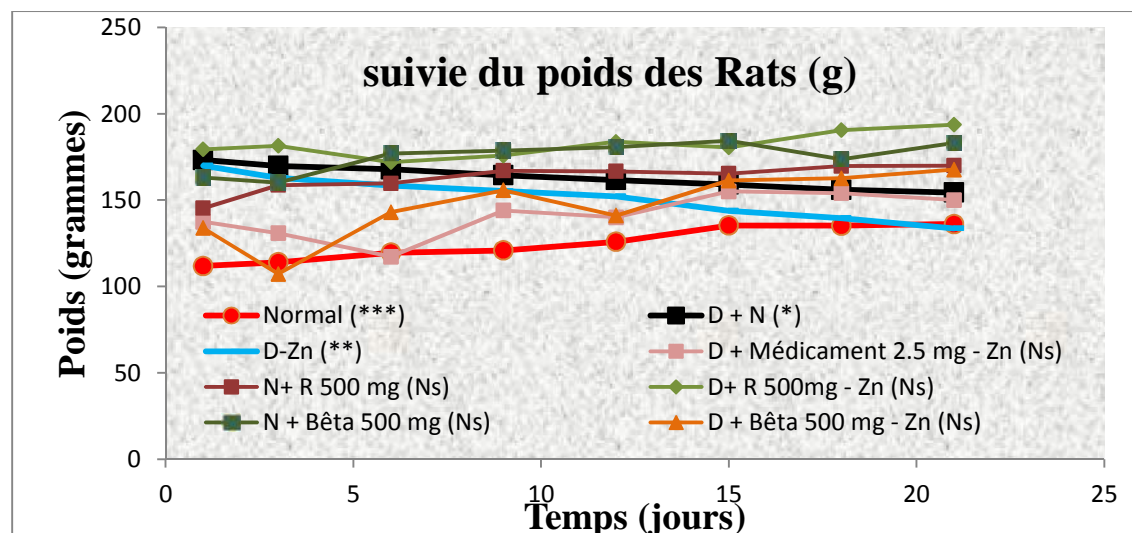


Figure 19 : Suivie du poids de rats durant le traitement (gramme) {la comparaison est faite par rapport au poids initial de chaque lot ; Ns : (P>0,05) ; (*) : (0,05>P>0,01) ; (**) : (0,01>P>0,001) ; (***) : (P<0,001)}.

Ns : Différence non significative par rapport au poids initial du lot (P<0,05).

* : Différence significative par rapport au poids initial du lot (0,05>P>0,01).

** : Différence hautement significative par rapport au poids initial du lot (0,01>P>0,001).

*** : Différence très hautement significative par rapport au poids initial du lot (P<0,001).

Tableau 10: Effet de l'administration orale de EMBV, EMRC et d'eau physiologique sur le gain du poids corporel (M ±S.E.M; n=5) (la comparaison est faite par rapport au poids initial du lot).

Paramètres	Poids initial (g)	Gain ou perte du poids (g)
N	137 ± 6,4	25,2 ± 5,44
DN	173,2 ± 9,76	-18 ± 6,64
D - Zn	170 ± 8,4	-36,4 ± 5,84
D + Med (2,5 mg) - Zn	137,4 ± 18,32	12,6 ± 3,36
N + R 500	145,33 ± 14,53	24,80 ± 5,23
D + R 500 - Zn	179,4 ± 13,12	14,26 ± 3,28
N + B 500	163 ± 15,2	19,6 ± 2,32
D + B 500 - Zn	133,8 ± 22,64	25,53 ± 18,77

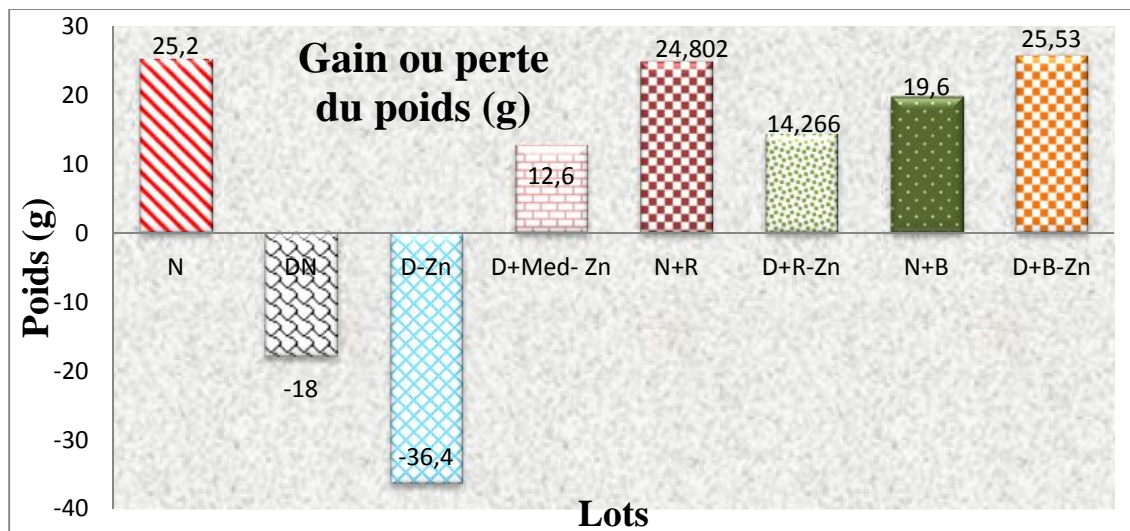


Figure 20: Gain ou perte du poids des rats à la fin du traitement.

2.3. Dosage Biochimiques

Les résultats illustrés dans le Tableau 12 et les Figures (21, 22, 23, 24 et 25) montrent qu'il existe une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) de la concentration sérique de l'urée, significative de l'acide urique et non significative du cholestérol, de la créatinine et des triglycérides chez le groupe diabétique par rapport au groupe normal.

Les résultats obtenue révèlent aussi que la carence du zinc dans l'alimentation a induit une augmentation de ces paramètres par rapport au rats diabétiques alimentés par un régime normal, cette augmentation est statistiquement très hautement significative pour le cholestérol, l'urée et créatinine et significative pour l'acide urique et les triglycérides.

D'autres parts on note que ces paramètres gardent leurs taux presque normaux avec une différence non significative chez les rats normaux traités par l'EMRC et l'EMBV par rapport au lot normal.

Notons que le traitement par: l'EMRC, l'EMBV, le glibenclamide a amélioré ces variables altérées.

Tableau 12: l'évaluation des paramètres biochimiques. (La comparaison: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : P>0,05 ; (*) : 0,05>P>0,01; () : 0,01>P>0,001 ; (***) : P<0,001).**

Paramètres Lots	Créatinine	Cholestérol	Acide urique	Urée	Triglycéride
N	0,66 ± 0,02	80 ± 4,8	2,4 ± 0,24	25,4 ± 0,48	56 ± 13,6
DN	0,65 ^{a*} ± 0,12	60,6 ^{a*} ± 4,72	3,18 ^{a*} ± 0,30	60,6 ^{a***} ± 4,72	73,2 ^{aNS} ± 8,64
D – Zn	1,25 ^{b***} ± 0,22	127 ^{b***} ± 10	3,9 ^{b*} ± 0,24	127 ^{b***} ± 10	96,4 ^{b*} ± 4,88
D + Med – Zn	0,73 ^{dNS} ± 0,30	99 ^{d**} ± 3,6	1,22 ^{d***} ± 0,06	37,2 ^{d***} ± 5,76	48,2 ^{d***} ± 16,8
N + R 500	0,49 ^{cNS} ± 0,05	109,4 ^{cNS} ± 2,88	2,12 ^{cNS} ± 0,11	14 ^{cNS} ± 3,2	86 ^{cNS} ± 16,64
D + R 500 – Zn	1,24 ^{dNS} ± 0,37	90 ^{d***} ± 9,6	2,12 ^{d***} ± 0,89	42 ^{d***} ± 13,6	71,8 ^{dNS} ± 14,16
N + B 500	0,61 ^{cNS} ± 0,04	95,2 ^{cNS} ± 1,92	2,66 ^{cNS} ± 0,44	15,8 ^{cNS} ± 4,32	95,8 ^{cNS} ± 14,88
D + B 500 – Zn	0,47 ^{dNS} ± 0,07	125,2 ^{dNS} ± 27,36	2,04 ^{d**} ± 0,43	11,6 ^{d***} ± 1,92	79,6 ^{dNS} ± 4,24

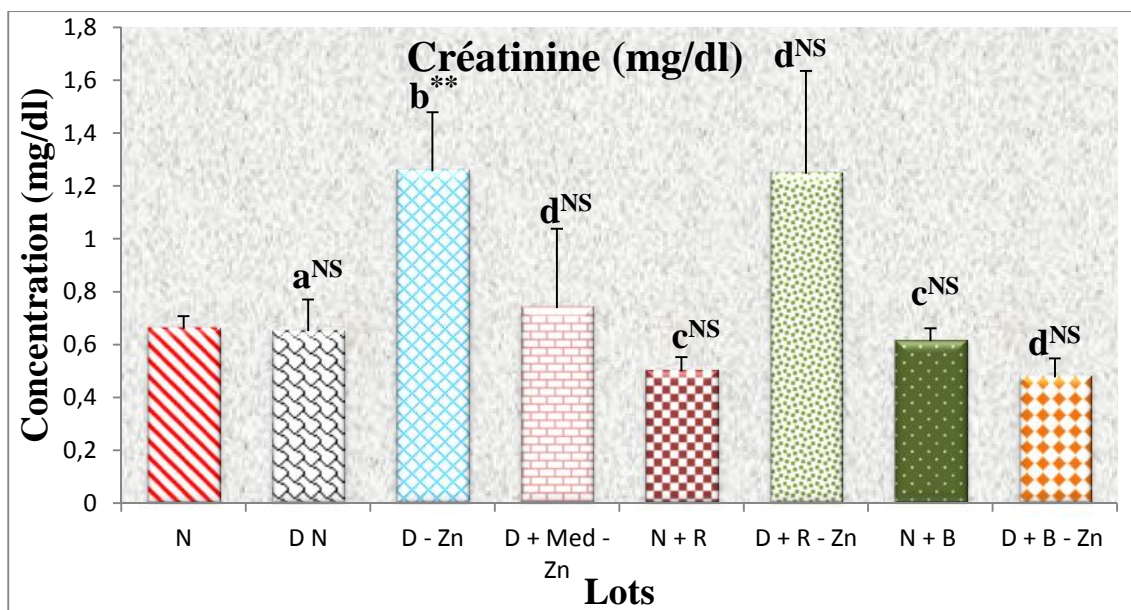


Figure 21 : concentration sérique de la créatinine. (La comparaison: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

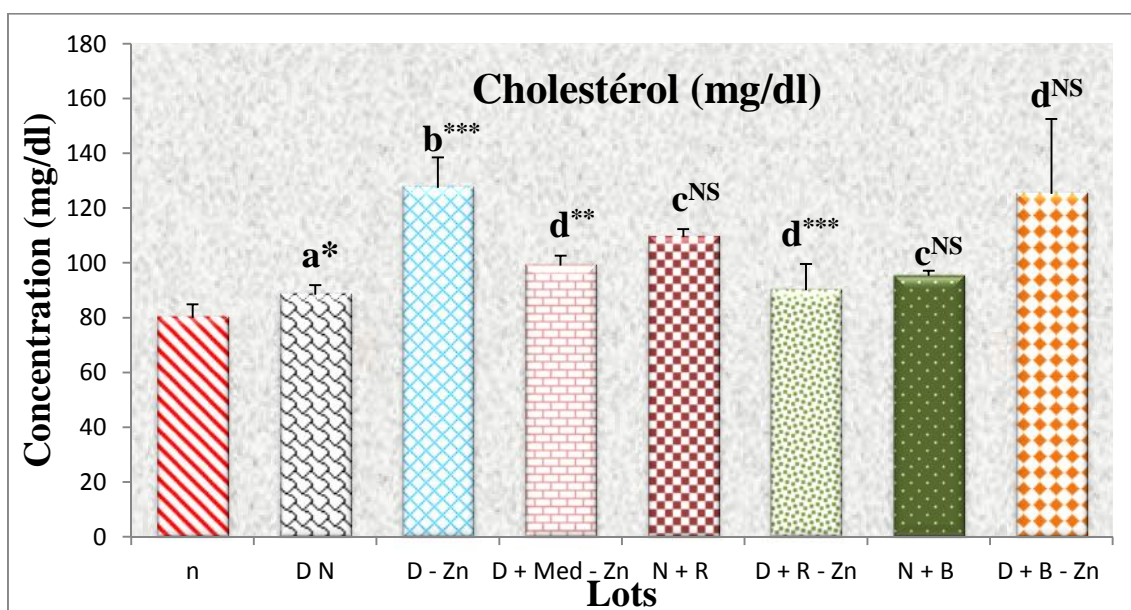


Figure 22 : concentration sérique du cholestérol. (Les comparaisons: (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

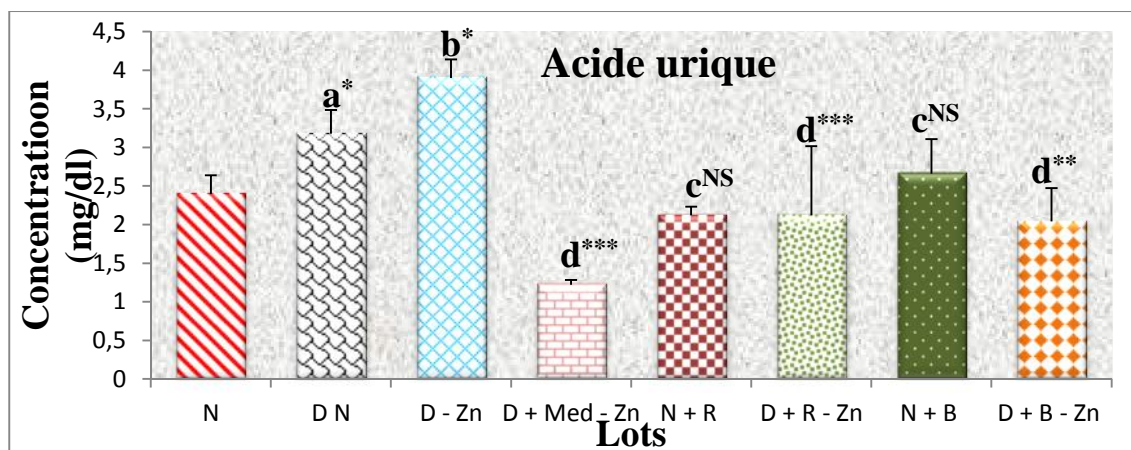


Figure 23: concentration sérique de l'acide urique. (La comparaison est faites tel que : (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

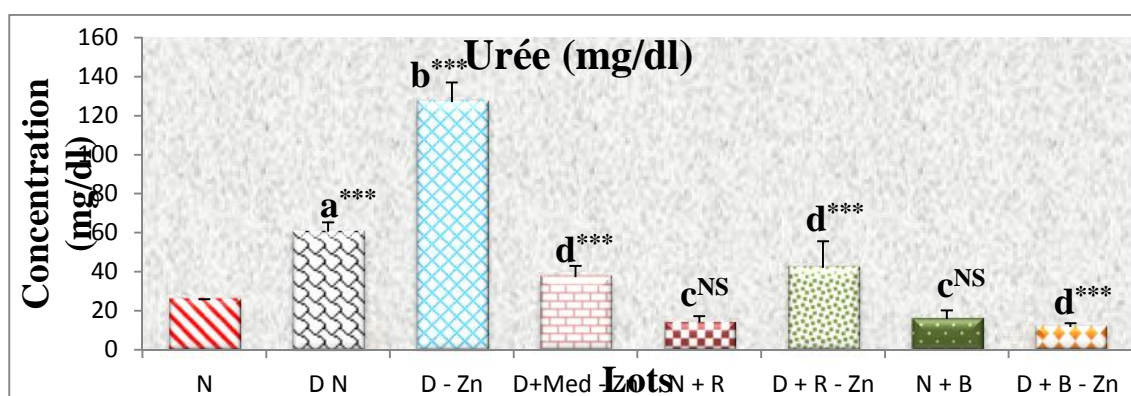


Figure 24: concentration sérique de l'urée. (La comparaison est faites tel que : (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

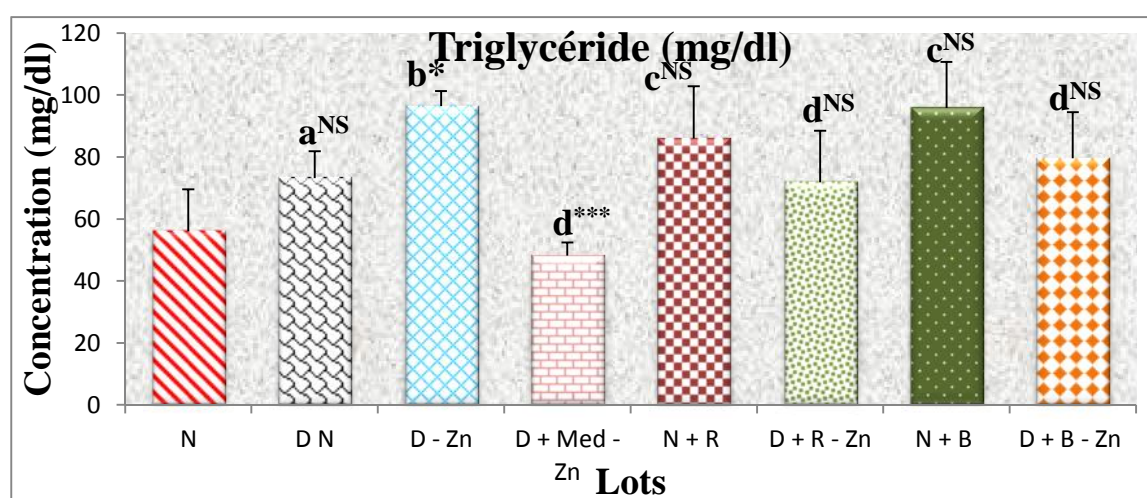


Figure 25: concentration sérique des triglycérides. (La comparaison est faites tel que : (a :DN vs N), (b : DN vs D-Zn), (c : N+R et N+B vs N), (d : D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn vs D-Zn) ; ((NS) : $P > 0,05$; (*) : $0,05 > P > 0,01$; (**) : $0,01 > P > 0,001$; (***) : $P < 0,001$).

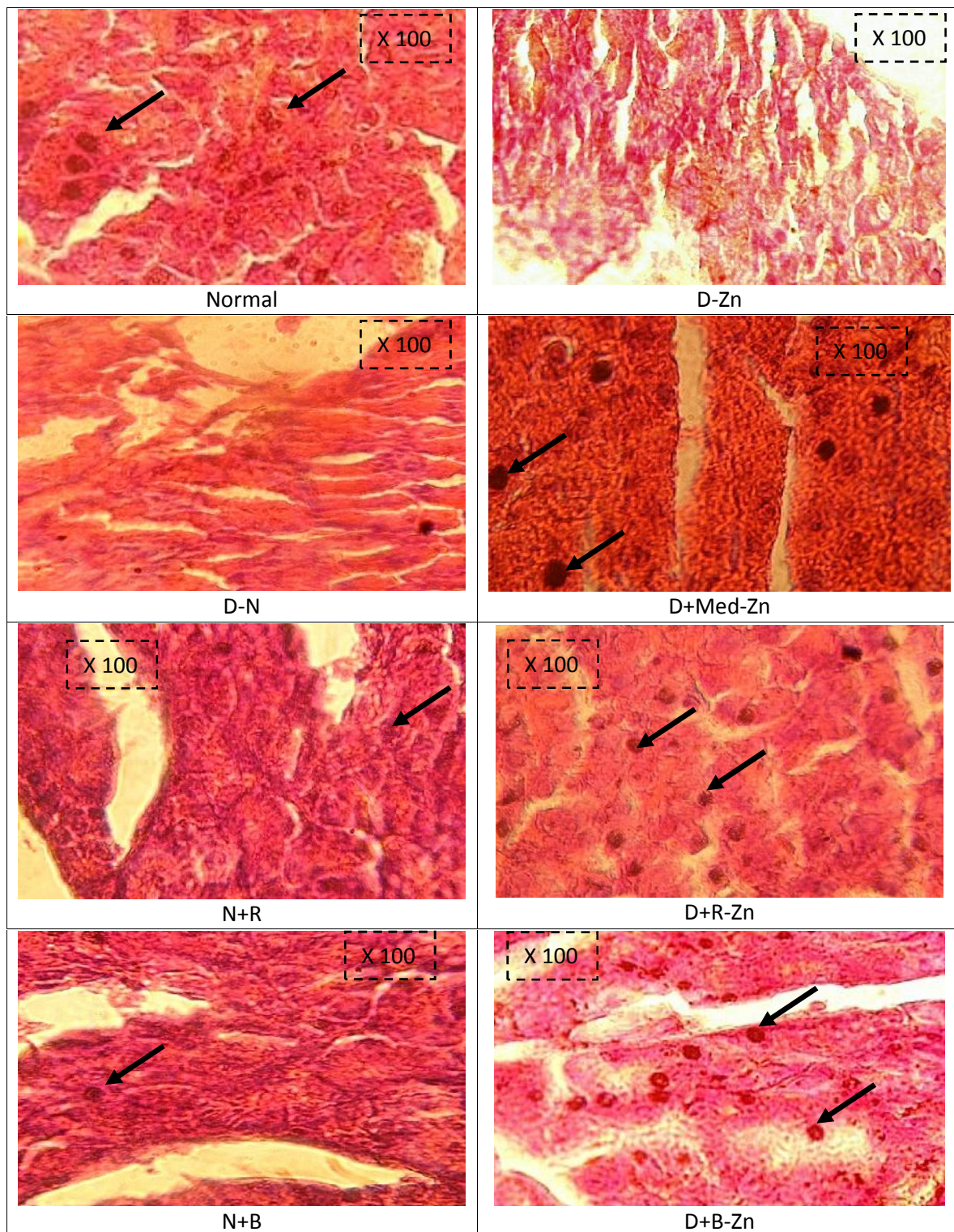


Figure 26: Photos des coupes histologiques réalisées du pancréas.

Discussion

Discussion

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique qui touche 5 à 7% de la population mondiale [Singh et Kakkar, 2009 ; Zhou et al., 2009]. Cette maladie est constituée un exemple des maladies associées au stress oxydant. Sa prévalence à travers le monde, et ses complications s'ajoutent à la nouvelle notion du stress oxydant et constituent un sujet d'actualité. Il est maintenant admis que des concentrations élevées en glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants et qui est considéré comme le moteur mobilisant des différents facteurs pathologiques vers les complications du diabète [Baynes, 1991]

Le zinc est un oligo-élément important. Il est indispensable à un certain nombre de fonctions biochimiques et physiologiques, il intervient dans l'activité de près de 300 enzymes [Judith J et al., 2009]. Il joue également un rôle dans la plupart des métabolismes (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Il agit aussi au niveau du métabolisme hormonal, il joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion d'insuline. La carence en zinc induit une augmentation des troubles métaboliques du diabète et favorise les complications de cette maladie.

Le traitement de ces complications constitue une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Ceci est en vue de trouver de nouvelles solutions pour prévenir, voir ralentir la survenue des complications organiques et métaboliques résultantes de l'hyperglycémie chronique.

Les médicaments antidiabétiques ont généralement des effets secondaires, une diminution de l'efficacité au fil du temps, une inefficacité contre les complications diabétiques à long terme et un faible rapport coût-efficacité [Grover et al., 2002]. En conséquence, la découverte et le développement de nouveaux médicaments antidiabétiques est encore plus qu'indispensable.

La médecine populaire pratiquée par l'homme à travers le monde est basée essentiellement sur l'utilisation des plantes comme sources de substances naturelles actives. Parmi ces substances, les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes qui occupent

une place importante dans le traitement de nombreuses pathologies entre autres le diabète sucré.

L'utilisation des plantes médicinales et diététiques est aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques. De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes dont la présente étude qui est consacrée à la recherche d'éventuels effets antidiabétiques à partir de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris*

1- La partie phytochimique :

Les deux plantes utilisées dans cette recherche sont récoltées dans la région de Guelma (Est de l'Algérie), elles sont de deux familles botaniques, douées de différentes caractéristiques. Ces plantes sont : *Bêta vulgaris* «*var. cicla*» appartenant à la famille de Chenopodiaceae et *Ruta chalepensis* de la famille de Rutaceae.

Le rendement en extrait méthanolique est variables selon les espèces des deux plantes. Cependant, le rendement le plus important est enregistré dans *Ruta chalepensis* (9,38 %) contre (8,58 %) de *Bêta vulgaris*.

Selon une étude mener par **Mansour et al.** en [1990] sur la même espèce *Ruta chalepensis*, le rendement en extrait brut de la partie aérienne entière est de 3.75%. Rendement nettement inférieure à celui obtenu dans notre étude. Cela est peut être dû à l'utilisation de soxhlet où la température élevée pendant plusieurs heures qui peut dégrader certains constituants sensibles (tels les polyphénols...) [**Andersen et Markham, 2006**], ce qui n'est pas le cas dans notre étude où l'extraction est réalisée à froid par simple macération.

L'analyse phytochimique est réalisée sur la base des tests de coloration caractéristiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques présents dans la plante. Notre étude nous a permis en premier lieu d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*.

Le screening phytochimique a montré la présence des groupes chimiques suivants: les flavonoïdes, les Saponosides, les Mucilages, les composées réducteurs, les oses et les holosides dans les deux plantes. En note aussi la présence des tanins et des alcaloïdes chez *Ruta chalepensis*. Tandis que l'absence de ces composées chez *Bêta vulgaris*.

De façon général, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux de **Hnatyszyn et al.** en [1974] ; **Mohr et al.** en [1982] ; **Ulubelen et Terem** en [1988] et aussi **Mansour et al.** en [1990] sur *Ruta chalepensis* et de **Bolkent et al., en [2000]**; **Kugler et al. en [2004]** ; **Gao et al. en [2009]** sur *Bêta vulgaris*.

En plus la chromatographie sur couche mince que nous avons effectuée sur l'extrait de deux plantes nous a permis de confirmer la présence des composés similaires à la quercétine.

2. L'analyse de l'EMBV et l'EMRC

2.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

La méthode modifiée de Folin-ciocalteu s'est avérée efficace pour le dosage des polyphénols totaux dans les deux extraits méthanoliques. Cette méthode a été choisie car elle satisfait aux critères de reproductibilité et de faisabilité. L'évaluation quantitative de ces composés phénoliques montre que la quantité de polyphénols dans l'extrait méthanoïque de RC ($43,405 \pm 0.0122 \mu\text{g EQ/g}$) est plus importante que celle de BV ($31,231 \pm 0.0066 \text{ mg EQ/g}$) Il a été rapporté que la quantité de composés phénoliques totaux dans la variété *rutacea* est plus élevé que dans des autres familles. En effet, les quantités de composés phénoliques totaux dans les extraits de plantes que nous avons testés ont été élevées par rapport à ce qui a été rapporté dans d'autres plantes [**Kaur et Kapoor, 2002**]. Ces différences peuvent être dues à la variabilité du métabolisme phénolique dans différentes plantes mais aussi à la différence dans les conditions climatiques (température, l'exposition solaire, la sécheresse et la saison de croissance).

En conclusion, tous ces résultats ont montré la richesse de ces plantes en le contenu phénolique permettant d'étudier leurs activités biologiques potentielles.

Il est intéressant de déterminer la quantité de flavonoïdes dans les extraits méthanoliques d'afin de mieux les caractériser. Le dosage des flavonoïdes par la méthode de

trichlorure d'aluminium révèle ($6,85 \pm 0,087$ mg EQ/g extrait) pour *Bêta vulgaris* contre ($36,44 \pm$ mg EQ/g extrait) pour *Ruta chalepensis*, ce résultat des flavonoïdes dans *Ruta Chalepensis* est supérieur à la quantité retrouvée dans les travaux de **Daycem et al.** en [2013] qui était de ($12,78 \pm 0,08$), est cela du probablement à l'utilisation d'une extraction au Soxhlet pendant 48h à 65°C qui peut détruire les composés des flavonoïdes.

Selon **Djeridane et al.** en [2006], les flavonoïdes représentent un groupe important de composés phénoliques chez le genre *Ruta*.

2.2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH)

Le modèle de balayage le radical DPPH instable est une méthode largement utilisée pour évaluer les activités anti-oxydantes dans relativement peu de temps par rapport à d'autres méthodes. DPPH est un radical libre instable et accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir un diamagnétique stable molécule.

L'évaluation de l'effet de deux plantes contre le stress oxydant est un objectif principal dans notre étude, raison pour laquelle il était indispensable de l'étudier in vitro avant de passer à l'étude in vivo. Pour cela on a réalisé le test de DPPH qui montre une IC_{50} de 1,74mg/ml pour le *Bêta vulgaris* Cette valeur est inférieure à l'étude de **Pyo et al.** en [2004] et de 1,5mg/ml pour le *Ruta chalepensis*, cette valeur est inférieure à l'étude menée par **Daycem et al.** en [2013] sur l'activité anti radicalaire DPPH des mêmes espèces.

2. La partie Biologique

2.1. Test de toxicité

Dans nos conditions expérimentales l'extrait de *Ruta chalepensis* et de *beta vulgaris* jusqu'à 5000 mg / kg, n'a pas induit, ni des lésions tissulaires macroscopiques ni perte de poids ni la mortalité des souris au cours de la période d'observation (3 jours). Étant donné que les effets létaux n'ont pas été observés à l'un des doses administrées, la LD50 orale de deux extraits doit être supérieure à 5000 mg /kg. Les résultats de la toxicité de *Ruta Chalepensis* sont en accord avec le travail de **Gonzalez-Trujano et al.** en [2006].

2.2. Etude de l'activité anti-hyperglycémiant

Les résultats de cette étude montrent que les extraits utilisés sont d'une activité anti-hyperglycémiant. La meilleure activité est obtenue avec *Ruta Chalepensis* 500 mg/kg donnant un effet comparable à celle de l'hypoglycémiant oral, le glibenclamide. En effet, à partir de 60 min après le gavage, les différents extraits et la glibenclamide ont freiné l'augmentation de la glycémie, tandis qu'avec *Bêta vulgaris* on a eu une activité anti-hyperglycémiant importante avec la dose de 500 mg/kg mais elle reste inférieure par rapport à celle de *Ruta chalepensis*.

Plus encore, ces substances actives ont provoqué une hypoglycémie plus ou moins importante à partir de 60 min de l'administration telle que l'a bien montrée la courbe de l'effet des extraits sur la glycémie des animaux traités en fonction du temps.

Les tests de l'activité anti-hyperglycémiant de trois doses de l'EMRC et de l'EMBV a montré que la dose de 500 mg/kg était la plus efficace, où un prétraitement par les extraits à cette dose prévient significativement le pic hyperglycémique.

2.3. L'effet antidiabétique

Plusieurs techniques sont couramment utilisées afin de produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelle thérapie.

La streptozotocine est un dérivé nitrosurique isolé de *Streptomyces griseus* [Szkudelski, 2001] et qui représente l'une des plusieurs substances utilisées pour induire un diabète chez les rats [Szkudelski, 2001]. Ces rats peuvent servir comme un modèle de choix du diabète sucré humain [Sarkhail et al., 2007]. Dans notre étude on a constaté que l'injection de la STZ à une dose de 50 mg/kg peut induire chez des rats le développement d'un diabète de type 1 [Lenzen, 2008]. La STZ engendre une nécrose des cellules pancréatiques et une carence sévère en insuline avec une hyperglycémie diabétique établie dans les deux jours suivants [Szkudelski, 2001]. Les effets toxiques de la substance semble être associés à une formation accrue des radicaux libres [Nukatsuka et al., 1988 ; Takasu et al., 1991 ; Bedoya et al., 1996], à une altération de la membrane plasmique des cellules ainsi d'une fragmentation d'ADN conduisant à l'activation de poly (ADP-ribose) synthétase

et une déplétion de taux de NAD⁺ cellulaire [Yamamoto *et al.*, 1981; Uchigata *et al.*, 1982 ; Sandler et Swenne, 1983 ; Wilson, 1989].

La STZ induit un diabète caractérisé par une polyphagie et une perte sévère de poids corporel qui peut mener à plusieurs complications liées au diabète [Sarkhail *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2008]. Ces caractéristiques sont associées au diabète sucré [Yang *et al.*, 2008].

La perte de poids corporel et l'augmentation du taux de consommation journalière de nourriture chez les rats rendus diabétiques par la STZ sont également observées dans notre étude où le groupe des rats diabétiques témoins a subi une perte de (18 g) par rapport à leur poids initial après trois semaines de la confirmation du diabète (durée de l'expérimentation), alors que les rats sains témoins ont gagnés (25,2 g) durant la même période.

Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par **Pari et Latha** en [2005] qui ont constaté que, chez des rats mâles de souche Wistar, l'injection de la STZ provoquait en trois semaines une diminution significative de poids corporel (137 ± 7 contre 181 ± 7) accompagnée d'une polyphagie et ils ont indiqué ces conditions sont dues à la perte excessive de protéines tissulaires. De même, **Sathishsekar et Subramanian** en [2005] et **Taleb-Senouci et al.** en [2009] ont eux aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que la perte de poids corporel chez le groupe diabétique témoin peut être expliquée par le résultat du catabolisme des lipides et des protéines structuraux due au manque des carbones hydratés qui sont utilisés comme source d'énergie [Bouldjadj, 2009]

Dans nos conditions expérimentales, nous avons remarqué aussi un déficit pondéral chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par une nourriture normale. Ceci est en accord avec les constatations de [McNall *et al.*, 1995; Kechrid *et al.*, 1998]. Ce déficit pondéral peut s'expliquer par la dégradation des protéines structurales qui sont connues par leur contribution au poids corporel [Rajkumar et Govindarajulu, 1991; Vats *et al.*, 2004].

D'autre part, **Levin** en [1992] a justifié l'anorexie dans le cas d'une carence en zinc dans l'alimentation des rats par le rôle central du zinc dans l'activation des nombreux systèmes enzymatiques qui synthétisent et dégradent certains peptides biologiquement actifs, également appelés les neuropeptides qui sont impliqués dans le règlement de l'ingestion de nourriture

tels que (Choecystokinin (CCK), Ghrelin, sérotonine). Ces peptides sont synthétisés par l'hypothalamus [Williams, 2004]. Il a été signalé que l'hypophyse est responsable de moduler l'ingestion de nourriture ; elle reçoit des signaux de l'hypothalamus et puis elle transmet ces signaux à d'autres tissus ou organes périphériques cibles [Song et al., 2000; Bjurset et al., 2005].

L'administration orale et journalière de 500 mg/kg de l'extrait méthanolique lyophilisé de RC et de BV pendant trois semaines a permis de protéger les rats diabétiques de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis d'augmenter d'une manière significative le poids corporel des rats diabétiques alimentés par un régime pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par régime normal. Les résultats de poids corporel sont en accord avec ceux publiés par [Shah et al., 1991] 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 [Tastekin et al., 2006] et donc à sa capacité de renverser la néoglucogenèse et de contrôler cette perte protéique [Rajagopal et Sasikala, 2008].

Comme il a été décrit auparavant, la STZ inhibe la sécrétion de l'insuline par le pancréas, après destruction sélective et irréversible des cellules pancréatique [Zhang et Than, 2000]. Deux mécanisme fondamentaux qui causerait 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'analyse des résultats a montré que la carence en zinc a induit une augmentation plus élevée de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques. Cette hyperglycémie est due à des troubles dans l'utilisation du glucose par les tissus ce qui traduit l'effet positif du zinc sur le métabolisme glucidique [Hendricks et Mahoney, 1972 ; Schauder et al., 1983]. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Fairweather et al. en [1985] qui ont observé une augmentation de la concentration sérique du glucose chez des rats au cours de la gestation, après une consommation alimentaire pauvre en zinc.

Nous avons constaté aussi que l'extrait méthanolique de deux plantes a pu jouer un rôle crucial dans la baisse de la concentration sérique de glucose, soit par la stimulation de la

sécrétion de l'insuline, soit par une action extra-pancréatique et donc par l'influence de l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus. Ces résultats viennent donc confirmer les premières conclusions d'**Osama Mohamed** en [2009] qui a constaté que l'administration de l'extrait de la rue provoque une diminution hautement significative de la glycémie juste après quatre semaines de traitement.

Bolkent et al. en [2000] ont rapporté que l'extrait aqueux de blettes a diminué la glycémie induite par l'alloxane chez des lapins. Il a été rapporté que plusieurs molécules bioactives isolés de plantes tels que les terpènes et les flavonoïdes influencent les cellules pancréatique et stimulent la sécrétion de l'insuline par leurs activités antioxydantes [**Jang et al., 2004; Sarkhail et al., 2007**]. Etant donné qu'au cours du diabète le stress oxydant et les radicaux libres affectent et détruisent les cellules , donc l'extrait méthanolique de deux plantes peut aussi augmenter la sécrétion de l'insuline via son activité antioxydante [**Osama Mohamed, 2009; Bolkent et al., 2000**] Ce qui est justifié amplement par la constatation au niveau des coupes histologiques du pancréas endocrine conduisant à la libération de l'insuline.

Le diabète sucré est aussi associé avec une hyperlipidémie et provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides [**Cooperstin et Watkin, 1981**]. Ces anomalies représentent un important facteur de risque de maladies cardiovasculaires [**Al-Shamaony et al., 1993**]. Il a été indiqué que l'élévation des lipides sérique chez les rats rendus diabétiques par STZ joue un rôle important dans la pathologie du diabète [**Sharma et al., 2008**]. Dans notre étude, on a enregistré une augmentation significative de la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides chez les rats rendus diabétiques par STZ.

Le niveau élevé du cholestérol total dans le sang représente un facteur de risque majeur dans le développement des maladies coronaires [**Brown et al., 1993**].

Ces résultats sont en accord avec ceux publié par **Eddouks et al.** en [2005], **Ravi et al.** en [2005] et **Sharma et al.** en [2008] où ils suggèrent que la forte concentration anormale des lipides sériques observée chez les sujets diabétiques est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras à partir des tissus adipeux [**Ravi et al., 2005**]. En effet, **Betteridge** en [2002] indique que la carence en insuline ou

l'insulinorésistance peut être responsable d'une hyperlipidémie, car l'insuline, a une action inhibitrice sur 3-hydroxy-3- méthyle-glutaryl coenzyme A réductase (HMG-COA reductase), une enzyme clé pour la biosynthèse du cholestérol. D'autre part, le glucagon, la catécholamine ainsi que d'autres hormones augmentent la lipolyse. Au cours du diabète, l'hyperlipidémie peut être considérée comme un résultat de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques sur les tissus adipeux [Goodman et Gilman, 1985].

Nous avons constaté également une augmentation bien claire du cholestérol et des triglycérides chez les rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc. Cette augmentation peut s'expliquer par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux. D'autre part, l'hyperglycémie provoque un désordre métabolique traduit par des changements de la voie normale du glucose, où une partie du glucose est transformée en acides gras et glycérol et puis la synthèse des triglycérides et cholestérol [Patricia et al., 1995]. Une autre étude a confirmé que la carence en zinc dans l'alimentation des rats a induit une augmentation de la pénétration de glucose marqué par le carbone radioactif (C^{14}) dans les tissus adipeux et transformé en acides gras [O'dell et Reervers, 1982].

Le traitement des rats diabétiques avec l'EMRC et l'EMBV a amélioré ces variables de profil lipidique altérées. Il est bien connu que l'hyperlipidémie qui caractérise les rats rendus diabétiques par STZ est la conséquence de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques sur les tissus adipeux. Étant donné que dans les tissus adipeux l'insuline a une action anti-lipolytique en inhibant la lipase hormonosensible, donc l'extrait méthanolique peut soit imiter l'action de l'insuline, soit stimuler la synthèse de l'insuline. Il est également connu que le contrôle de la glycémie est le principal déterminant de la concentration sérique du cholestérol et des triglycérides [Eddouks et al., 2004]. Auparavant, nous avons signalé que l'EMRC et l'EMBV ont produit une puissante activité hypoglycémiant chez les rats rendus diabétique par STZ, de sorte que ce puissant effet hypolipidémique de l'extrait peut également être la conséquence de l'amélioration de la glycémie.

Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypolipidémique de plusieurs flavonoïdes, terpènes et d'autres composés phénoliques [Sarkhail et al., 2007]. Donc l'effet hypolipidémique de l'EMRC et l'EMBV peut être lié à la présence de certaines de ces molécules. Ceci est en accord avec les résultats d'Osama Mohamed et al. en [2009].

Comparant au témoin, les résultats concernant le taux sérique de l'urée, de l'acide urique et de la créatinine, qui sont considérés comme marqueurs significatifs du dysfonctionnement rénal [Almadal et Vilstrup, 1988] montrent une augmentation caractéristique chez le lot diabétique non traité. Ceci est expliqué par le fait que les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine. De plus, la glycation des protéines dans le diabète peut entraîner une atrophie musculaire et augmente la libération de la purine ; la principale source de l'acide urique [Anwar et Meki, 2003]. Nos résultats suggèrent que l'augmentation de la concentration sérique de la créatinine, d'acide urique et d'urée causée par le diabète a été déclinée après l'administration de l'EMRC et de l'EMBV. Cet effet est lié à l'amélioration du métabolisme glucidique ainsi que la sécrétion de l'insuline.

En ce qui concerne l'histologie; le pancréas des rats rendus diabétiques présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules . Ceci est dû, mentionné précédemment, à l'effet cytotoxique de la streptozotocine ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défection apparue de la sécrétion insulinaire. En revanche, l'histologie pancréatique des rats traités par l'EMRC et l'EMBV comparable à celle des rats normaux par la distribution et la forme intacte des îlots de Langerhans. Il est, peut être, constatable que les deux extraits possèdent des effets préventifs sur la dépréciation du pancréas. Cette conclusion trouve son utilité également dans d'autres études où ils ont visualisé l'efficacité de ces extraits sur la protection du tissu pancréatiques [Bolkent et al., 2000 ; Osama Mohamed et al., 2009]

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abdulbasset M.E.S et AbdeTawabA.H. (2008).** Médicinal Herbal Guide. Ed: ALFA–PUBLISHING; p: 428 - 429.
- **Abuja P.M et Albertini R. (2001).** Methods for monitoring oxidative stress. Lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 306 ; p : 1-6.
- **Alarcon-Aguilara F.J., Roman-Ramos R., Perez-Gutierrez S., Aguilar-Contreras A., Contreras-Weber C.C et Flores-Saenz J.L. (1998).** Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as anti-diabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61; p: 101–110.
- **Al-Shamaony L, Al Khazraji M.S., Twaij Ha. (1994).** Hypoglycemic effects of *Artemisia herba-alba* . II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *J Ethnopharmacol*, 43(3); p: 167 - 171.
- **Almadal T.P et Vilstrup H. (1988).** Strict insulin treatment normalizes the organic nitrogen contents and the capacity of urea–N synthesis in experimental diabetes in rats *Diabetologica*; 31; p:114–118.
- **Andersen Ø.M et Markham K.R. (2006).** Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications; Ed: CRC PRESS: TAYLOR & FRANCIS; p: 1-247.
- **Anwar M.M et Meki A.R. (2003).** Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. Molecular and Integrative Physiology*; 135; p: 347–539
- **Baba Iassaf. (1999).** Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d’Algérie et du Maghreb. Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA ; p : 243 - 244.
- **Bakour Fet Siouane Z. (2007).** L’apport du dosage de Hubglauque dans le diagnostic de diabèteinsulino-dépendant. MEMOIRE LICENCE biochimie, univrsité Badji Mokhtar, Annaba. P: 39.
- **Baskin S.I et Salem H. (1994).** Oxidant, antioxidant and free radicals. *Academic press Inc.* 363 ; p : 25-62.
- **Baynes J.W. (1991).** Perspectives in diabetes, role of oxidative stress on development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40; p: 405 - 412.
- **Beaudeau J.L et Dominique B.R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspectsbiologiques et pathologiques. Edition médicales. *Internationales* ; p : 550.

- **Beckman K.B., Ames B.N.(1998).**The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.*, 78(2); p: 547-81.
- **Bedoya F.J., Solano F et Luas M. (1996).** N-monomethyl argenin and nicotinamid prevent STZ induced double strand DNA break formation in pancreatic rats islets experiantus ; p : 52-344.
- **Benhamou P.Y. (1991).** Biochimie des complications vasculaires du diabète. *Synthèse du 14ème Congrès de l'IDF*, Washington DC.
- **Betteridge J. (2002).** Lipid disorders in diabetes mellitus. In: Pickup J and Williams G. (eds.) *Textbook of Diabetes. Blackwell Science, London*; p: 551 - 553.
- **Bjursell M., Egecioglu E., Gerdin A.K et Svensson, L. (2005).** Importance of melanin-concentrating hormone receptor for the acute effects of ghrelin. *Biochem. Biophys. Res .Commun.* **326**; p: 759-765.
- **Bolkent S., Yanardagç R., Tabakogçlu-Ogçuz A et Ozsoy-Sacan O. (2000).**Effects of Chard (*Beta vulgaris L var. cicla*) extract on pancreatic B cells in streptozotocindiabetic Rats: a morphological and biochemical study. *J. Ethnopharmacol.* 73 ; p : 251–259.
- **Bonnefont-Rousselot D.,Thérond P., Beaudoux J.L., Peynet J., Legrand A et Delattre J. (2001).**Aging and oxidative stress. Which potential markers. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*; 59(4) ; p: 453-9.
- **Bouldjadj R. (2009).** Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse de Magistère. Université Mentouri, Constantine ; p: 111.
- **Boumaza A. (2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum coss* contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse de Magistère. Université Mentouri, Constantine ; p : 126.
- **Boriky D., Berrada M., Talbi M., Keravis G., Rouessac F. (1996).** Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 43; p: 309 - 311.
- **Brown G.B., Xue-Qiao Z., Soccoand D.E et Albert J.J. (1993).** Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical vents in coronary disease. *Circulation*, 8; p: 1781 - 1791.
- **Buccolo G. (1973).** Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *ClinChem*; 19(5); p: 476-482.

- **Buyschaert M., Vandeleene B., Parus I., Hermans M.P. (1999).** Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. *Louvain Med.*118 ; p: 189-195.
- **Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat AG., Douki T., Duarte V., Frelon S., Gasparutto D., Muller E., Ravanat J.L et Sauvaigo S. (2002).** Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol. Chem.*, 383(6); p: 933-43.
- **Calop J., Limat S., Frnandez C. (2008).** Pharmacie clinique et thérapeutique. 3ème Ed. Masson, *Elsevier Masson*, Paris ; p: 417-427.
- **Chandra A., Mahdi A.A., ahmed S., sigh R.K. (2007).** Indian herbs result in hypoglycemic responses in STZ induced diabetic rats. *Nutrition research* 27; p: 161-168.
- **Charlton B et Bacely A. (1989).** Cyclophosphamide induced diabetes in NOD/WEHI mice. Evidence for suppression in spontaneous autoimmune diabetes mellitus. *Diabetes*; 38; p: 441-447.
- **Chausmamer A.B. (1998).** Zinc, insulin and diabètes. *Am.Coll. Nutr.* .17; p: 109-115.
- **Cefalu W. T. (2006).** Animal Models of Type 2 Diabetes: Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition. *ILAR Journal*; 47 (3); p: 186-198.
- **Comms T .C., Grant P.T et Frank R.H. (1971)** .Differences in the binding of zinc ion by insulin and pro-insulin . *Bioch.*125; p: 62.
- **Cooperstin S.J et Watkin D. (1981).** Action of toxic drugs on islet cells. In the Islets of Langerhans. *Academic Press, New York*; p: 387 – 425.
- **Dave Oomah. (2003).** L'isolation, la caractérisation et l'évaluation des métabolites secondaires dérivés de plantes pour utilisation dans le domaine de la santé humaine. Les plantescuratives .Programme national de bio produits et de bio processus, Agriculture et Agroalimentaire Canada. Bulletin IBP N° 1.
- **Daycem K., Rabiaa M.S., Sameh A., Dhafer L., Mokhtar H et Bouajila J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis L.* and *Peganum harmala L.* *Food and Chemical Toxicology*; 55; p: 202–208.
- **Delattre J. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres- Paris – New york ; p:620.

- **Dey Lucey M.D, Anoja S., Attele D.D.S et Chun-Su Yuan M.D. (2002).** Altaernative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review*; 7(1); p: 45-58.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P et Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97; p: 654–660.
- **Duhault J et Koenig-Berard E. (1997).** Diabetes mellitus and its animal models. *Thérapie*; 52; p: 375-84.
- **DUKE A.J, DUKE P.A.K. et DUCCELLIE J.L. (2008).** DUKE'S HANDBOOK of Medicinal Plants of the Bible, Ed: *CRC PRESS*; p: 394 – 397.
- **Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N et Avimadj M. (2008).** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdjakova A (ed); p: 19- 43.
- **Eddouks M., Lemhadri A., Michel J.B. (2005).** Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 98; p: 345 - 350.
- **Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri A. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* 5 ; p: 194–203.
- **Edeoga1 H.O., Okwu D. E. et Mbaebie B.O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (7); p: 685-68.
- **Engelbart K et Kief H. (1970).** Ulber das funktionnelleverhalten von zinc und insulin in der B-Zellen das ruten pancreas. *Virchouus .Arch.* 4; p: 249
- **Evans J.L. (2000).** Goldfine ID. Alpha-lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technol. Ther.*, 2(3); p: 401-13.
- **Fairweather-Tait S.J., Wright, A.J.A., Cook, J. (1985).** Studies of zinc metabolism in pregnant and placating rats. *Brit. Nutr.* 54 ; p : 401-413.
- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*; p:103-109.
- **Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* Vol 64, N° 6; p: 64 ,390-396.
- **Fossati P. (1982).** *Clin Chem*; 28(10) ; p: 2077-2080.

- **Fr de T.S. et Medeiros Y.S. (2008).** Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology*; 115; p: 73-183
- **Gao, Z.J., Han, X.H., Xiao, X.G. (2009).** Purification and characterization of polyphenoloxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) leaves. *Food Chem.*117; p: 342–348.
- **Georgé S., Brat P., Alter P et Amiot J.M. (2005)** .Rapid determination of polyphénols and Vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53; p: 1370-1373.
- **Gonzalez-Trujano M.E., Carrera D., Ventura-Martinez R., Cedillo-Portugal E., Navarrete A. (2006).** Neuro-pharmacological profile of an ethanol extract of *Ruta chalepensis* L. in mice. *Journal of Ethnopharmacology.*106; p:129–135.
- **Goodman L.S et Gilman A. (1985).** The Pharmacological Basis of Therapeutics. Macmillan. *New York*; p; 1490 – 1510.
- **Goudable J et Favier A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr.Clin.Métabol.* Vol 11 ; p: 115-20.
- **Gribe A et Merzougui I. (2009).** Mémoire de master biochimie : etude de l'effet antidiabetique de l'extrait aqueux de la graine de *lipinusalbus*. Université Badji Mokhtar, Annaba; p: 2-5.
- **Grodsky G.M et Schmid Y.F. (1985).** Kinetics and quantitative relationship between insulin release and Zn⁶⁵ efflux from perfused islet. *Endocr.*117; p: 704-711.
- **Grover J.K., Yadav S., Vats V. (2002).** Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology* 81: 81–100.
- **Gupta R.K., Kesari A.N., Diwakar S., Tyagi A., Tandon V., Chandra R et watal G. (2008).** Invivo evaluation of ant-oxidant and anti-lipidimic potential of *annonascanosa* aqueus extract in type 2 diabetic models. *Journal of ethnopharmacology* 118; p: 21-25.
- **Halliwell B. (1989).** Gutteridge JMC.Free Radicals in Biology and Medicine, Second edition, Clarendon Press, Oxford.
- **Halliwell B. (2009).** The wanderings of a free radical. *Free radial biology et Medicine*; 46; p: 531-542.
- **Hamdikene M. (2009).** Etude de l'effet de la vitamine D sur le diabète induit chez des rats Wistar alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc. Thèse de Magistère. Université de Badji Mokhtar, annaba ; p : 149.
- **Hendricks, D.G and Mahoney, A.W. (1972).** Glucose tolerance in zinc loss, hypogeusia, anorexia and hyposmia. *Clin. Invest.* 51; p: 44.

- **Henkin R.L., keiser, H.R et Bronzert D.A.** (1972). Histidine dependent zinc loss, hypogeusia, anorexia and hyposmia. *Clin. Invest.* 51 ; p : 44.
- **HNATYSZYN O., ARENAS P., MORENO A.R., RONDINA, R et COUSSIO J.D.** (1974). Plantas reguladoras de la fecundidad segun la medicina folklórica; Revista de la Sociedad Científica 14; p: 37.
- **Hwang H.J., Kim S.W., Lim J.M., Joo J.H., Kim H.M et Yun J.W.** (2005). Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides product by aedical mushroom *phellinusbaummi* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life sciences* 76; p: 3069-3080.
- **Jang Y.Y., Song J.H., Shin Y.K., Han E.S et Lee C.S.** (2000). Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in STZ-induced diabetic rats. *Pharmacol Res*, **42**; p: 361 -371.
- **Judith J., Wolfram K et Lothar R.** (2009). Division of Endocrinology and Diabetes, Medical Faculty, RWTH Aachen University, 52074 Aachen, Germany. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20; p: 399–417
- **Kanner J., Harel S et Granit R.** (2001). Betalains: a new class of dietary cationized antioxidants. *J. Agric. Food. Chem.* 49; p: 5178–5185.
- **Kaplan L.A et Kaplan A.** (1984). **Glucose.** *ClinChem* the C.V Mosby CO. St Louis.
- **Kaplan A et Kaplan A.** (1984). **Urea.** *ClinChem* the C.V; p: 1257-1260 and 437 and 418. Toronto. Princlon; p: 1032-1036.
- **Kaur C et Kapoor H.C.** (2002). Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 37; p: 53–161.
- **Kehrer J.P.** (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical review intoxicology*, 23 (1); p: 21-48.
- **Kechrid Z., Saka S and Bouzerna N.** (1998). Effects of reduced dietary zinc intake and carbohydrate metabolism in non-diabetic mice: heterozygous C57BL/Ksj Db+, homozygous C 57 BL/Ksjdb+/+Ksj. *Compte rendus de l'académie. Burlgare des sciences.* 51(10); p: 111-116.
- **Kugler F., Stintzing F.C et Carle R.** (2004). Identification of betalains from petioles of differently colored Swiss Chard (*Beta vulgaris* L. ssp. *cicla* [L]. Alef. Cv. Brightlights) by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52; p: 2975–2981.

- **Lenzen S. (2008)**. The mechanisms of alloxan and streptozotocine induced diabetes. *Diabetologia* 51; p: 216 - 226.
- **Lenzen S et Drinkgern J. (1996)**. Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic. Biol. Med.*, 20(3); p: 463-6.
- **Levin G., Cogan, V and Makady, S. (1992)**. Food restriction and membrane fluidity. *Mech. Aging. Dev.* 62; p: 137-141.
- **Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F et Jiang Y. (2007)**. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Foodchem.* 102; p: 771-776.
- **Litchfield J.T., Wilcoxon F. (1949)**. A simplified method of evaluating dose-effect. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 96; p: 99-113.
- **Luycky M. et Gazin M. (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *ArzneimForsch / Drug Res*; p: 1-6.
- **MacFarlane A.J, Strom A et Scott F.W. (2009)**. Epigenetics: deciphering how environmental factors may modify autoimmune type 1 diabetes. *Mamm Genome.*;20 (9-10); p: 624-32.
- **McCord J.M., Keele J.r., Fridovich I.(1971)**. An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 68; p: 1024–1027.
- **McNall A. D., Etherton T.D and Fosmire G.J. (1995)**. The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin. like growth factor I and growth hormone receptor genes. *J. Nutr.* 28 ; p : 874.
- **Malaisse W.J et Sener A. (2008)**. Animal Models of Diabetes. Dans: Sourcebook of Modes for Biomedical Research. Edition *Humana Press Inc.* , Totowa , NJ; p: 651.
- **Mansour S. (1990)**. Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine; *Journal of Ethnopharmacology* 28; Ed: *ELSEVIER SCIENTIFIC*; p: 305-3012.

- **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E et Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry* 89; p: 411-420.
- **Marles R.J et Farnwork N.R. (1994).** Plants as sources antidiabetic agents .*E con Med Plant Res*; 6; p: 179-187.
- **Marouf A. (2002).** Analyse instrumentale à l'usage des biologistes. 2eme édition Dar el Gharb . Oran ; p:17 – 24.
- **MIOULANE P. (2004).** Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins ; *Larousse* ; Ed : PROTEA ; p : 7-50.
- **Mohr N (1982).** Further Alkaloids from *Ruta chalepensis*; *Phytochemistry* 21 (7); PERGAMON PRESS, *Great Britain*; p: 1838-1839.
- **Mooradin A. Det Morley J.E. (1987).** Micro nutrient status in diabetes mellitus . *Am. Clin .Nutr .*45; p: 877-895.
- **Murray R.L et Kaplan A. (1984).** Creatinine. *ClinChem*; p: 1261-1266 and 418.
- **Nicolosi R.J., Lawton C.W et Wilson T.A. (1999).** Vitamin E reduced plasma LDL-C, LDL oxidation, and early aortic atherosclerosis compared with black tea in hypercholesterolemic Hamsters. *Nutrition research* vol 19 n 8; p: 1201-1214.
- **Nukatsuka M., Sakurai H., Yoshimura Y., Nishida M et Kawada J. (1988).** Enhancement by streptozotocin of O₂ radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic beta cells. *FEBS Lett*, **239**; p: 295 - 298.
- **O'Dell, B et Reervers P. (1982).** The effect of zinc deficiency on glucose metabolism in meal-fed rats. *Brit. Nutr.* 49; p: 441-452.
- **Orange W.A., Sels J.P.-J.E., Gabrielle J.W.M., Paul J.M.R et Bruce H.R. (2001).** Effects of atorvastation on LDL oxidation and antioxidant in normocholestérolémic type 2 diabetic patients. *Clinica- chemical Acta*; 311; p: 91-94.
- **OMS. (2011).** Global status report on non communicable diseases 2010. Description of the global burden of NCDs, their risk factors and determinants 2011 [http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report2010/en/index.html]
- **Osama M.A., Adel A.M, Ibrahim A.Y et Ayman M. M. (2010).** Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide streptozotocin-induced diabetic rats. *diabetologia croatica* 39-1; p:19-35.

- **Palsamy P et Subramanian S. (2008).** Resveratrol, a natural phytoalexin, Normalizes hyperglycemia in STZ-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine pharmacotherapy*.62; p: 598-605.
- **Pari L., Latha M. (2005).** Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis*: effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *Gen Physiol Biophys*, 24; p: 13 - 26.
- **Patricia I.O., Wtherine L.O., Cesar C.F et Carl L.K. (1995).** Zinc deficiency causes oxidative damage to protein, lipids and DNA in rats testes. *Nutr.* 125 ; p : 823-829.
- **Pyo, Y., Lee, T., Logendra, L et Rosen, R.T. (2004).** Antioxidant activity and phenolic Compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chem.* 85; p: 19–26.
- **Rajagopal K et Sasikala K. (2008).** Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Med J*, **49 (2)**; p: 137 - 142.
- **Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S. (2005).** Antihyperlipidemic effect of Eugenia Jambolana seed Keinel on STZ induced diabetic rats. *Food chemical Toxicologie*.43; p:1433-1439.
- **Raccah D.(2004).** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. 1(1) ; p: 29-42.
- **Rahimi R, Nikfar S, Larijani B et Abdollahi M. (2005).** A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine and pharmacotherapy*. 59; p: 365-373.
- **Rajkumar, L et Govindarajulu P. (1991).** Increased degradation of dermal collagen in diabetic rats. *Indian . Exp. Biol.* **29**; p: 1081–3.
- **Renard C et Obberghe E.V. (2006).** Role of diabetes in atherosclerotic pathogenesis: what have we learned from animal models. *Diabetesmetab.* 32; p:15-29.
- **Riordan J.F, Vallee B.L. (1976).** Structure and function of zinc metalloenzymes. *In: Trace elements in human health and disease-1- zinc and copper.* Prasad, A.S and Oberleas, D. (Ed). *Academic Press*. New York. 1; p: 227-256.
- **Rodier M. (2001).** Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire vol.25 - n°2* ; p: 91-93.
- **SANCHEZ-MORENO C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology* .8; p: 121-137.

- **Sandler S, Swenne I. (1983).** Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets in vitro. *Diabetologia*, 25; p: 444 – 447.
- **Sarkhail P., Rahmanipour S., Fadyevatan S., Mohammadirad A., Dehghan G., Amin G., Shafiee A et Abdollahi M. (2007).** Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research*, 56; p: 261 - 266.
- **Sathishsekar D et Subramanian S. (2005).** Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr* , 14 (2) ; p:153 - 158.
- **Schauder, P., Schroder, K., Matthaei, D. (1983).** Influence of insulin on blood levels of branched chain keto and amino acids in man. *Metabolism*. 32; p: 323- 327.
- **SCHORDERET M et collaborateurs. (1988).** Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques, Genève, Slatkine ; p: 481-493.
- **Schultz, A. (1984).** Uric acid. *Clin. Chem*; p: 1261-1266 and 418.
- **Shah A.H., Qureshib S et Ageelb A.M. (1991).** Toxicity studies in mice of ethanol extracts of *Foeniculum vulgare* fruit and *Ruta chalepensis* aerial parts“*Central khoratory for Drug and Food Analysis, P.O. BO.Y 59082. Riyadh 11525 and Research Centre, College of Pharmacy, King Suud University, P. O. Box 2457, Riyadh 11451 (Saudi Arabia). Acute Journal of Ethnopharmacology. 34; p: 167- 172.*
- **Shafrir E. (1992).** Animal models of non-insulin-dependant diabetes. *Diabetes MetabRev* ; 8; p:179-208.
- **Sharma A.K., Galadari E.O., Behara I., Manchandra M., Abdulrazzaq S.K., Mehra M.K. (1993).** Diabetes Mellitus and its Complications: An Update, 1st ed. *Macmillan*, New Delhi; p: 54-114.
- **Sharma S.B., Balomajumder C et Roy P. (2008).** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46; p: 2376 – 2383.
- **Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, Bodla R. (2004).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 91; p: 171 - 175.
- **Singh J et Kakkar P. (2009).** Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *J.Ethnopharmacol.* 22; p: 22-26.

- **Singh N, Kamath V et Rajini P.S. (2005).** AH enuuation of hyperglycemia and associated biochemical parameter in STZ induced diabetic rats by detary supplementation of potato peel powder. *Clinca chemical Acta.* 353; p: 165-175.
- **Song H.D., Hu, R.M., PengY et Huang Q.H. (2000).** Study on the gene expression profiling in the normal human pituitary. *Chin. Endocrinol Metab.* 16; p: 292-296.
- **Song M.K., Rosenthal M.J., Naliboff B.D., Phnumas L et Kang K.W. (1998).** Effect of bovine prostate powder on zinc, glucose and insulin metabolism in old patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism.* 47(1); p: 39-43.
- **Southon, S., Geo, J et Jhoson, T.T. (1984).** System diet for mice and rats. *Brit Nutr.*58; p: 371-380.
- **Stadtman ER. (1991).** Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic. Biol. Med.*, 10(3-4); p: 249.
- **Stadtman E.R. (1993).**Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal- catalyzed reactions.*Annu. Rev. Biochem.*, 62; p: 797-821.
- **Szkudelski T. (2001).**The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res* 50: 536-546.
- **Takasu N., Komiya I., Asawa T., Nagasawa Y et Yamada T. (1991).** Streptozotocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes*, 40; p: 1141-1145.
- **TAKHTAJAN A. (2009).** Flowering Plants; Ed 2: *SPRINGER*; p: 33 - 41, 375.
- **Taleb-Senoucia D., Ghomaria H., Kroufa D., Bouderbala S., Prostb J., Lacaille-Duboisc M.A et Bouchenaka M. (2009).** Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*,25; p: 221-235.
- **Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M et Tastekin A. (2006).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50 ; p : 235-238.
- **Thomas S.R et Stocker R. (1999).** Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: Implication for atherosclerosis. *Free radical biology & medicine.* Vol 28; p:1795-1805.
- **TORRES R. (2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*; *Phytochemistry* 67; Ed: ELSEVIER; p: 984-987.
- **Tratner I. (2003).** Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux. *Médecine/Sciences* n°12. Vol 19 ; p: 1291-1292.

- **Trinder P. (1969)**, *Ann ClinBiochem.* 6 ; p: 24-33.
- **Uchigata Y., Yamamoto H., Kawamura A et Okamoto H. (1982)**. Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly (ADPribose) synthetase inhibitors against alloxan- and streptozotocine induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of pro insulin synthesis. *J Biol Chem*, 257; p: 6084 - 6088.
- **Ulubelen A et Terem B. (1988)**. Alkaloids and Coumarins from roots of *Ruta chalepensis*; Pargamon Journals, *Phytochemistry* 27 (2); p: 650-651.
- **Vats V., Yadav S.P et Grover J.K. (2004)**. Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves partially attenuates streptozotocin induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *Ethnopharmacol.* **90**; p: 155–160.
- **WIART C. (2006)**. Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future? Ed: *WORLD SCIENTIFIC*; p: 401 - 416.
- **Williams G., Cai X.J., Elliott J.C et Harold J.A. (2004)**. Anabolic neuropeptides. *Physiol. Behav.* **81**; p: 211-222.
- **Wilson R.L. (1989)**. Zinc and iron in free radical pathology and cellular control. *In: zinc in human biology* (Mills, C.E., Ed). *Spinger-Verlag, London, U.K*; p: 147-172.
- **Wolff S.P., Bascal Z.A et Hunt J.V. (1989)**. "Autoxidative glycosylation": free radicals and glycation theory. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 304; p: 259-75.
- **Yamamoto H., Uchigata Y et Okamoto H. (1981)**. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* 294; p: 284 -286.
- **Yang N., Zhao M., Zhu B., Yang B., Chen C., Cui C et Jiang Y (2008)**. Antidiabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9; p: 570–574.
- **Zhang J., Huang Y., Hou T et Wang Y. (2006)** . Hypoglycaemic effect of *Artemisia sphaerocephala* Krasch seed polysaccharide in alloxan-induced diabetic rats. *Swiss Med Wkly* 136; p: 529-532.
- **Zhang X.F et Tan B.K. (2000)**. Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 27 ; p: 358 - 363.

- **Zhao Y., SonY. O., Kim S.S., Jang Y.S et Lee J.C. (2007).** Antioxidant and Anti-hyperglycemic Activity of Polysaccharide Isolated from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 40, No. 5; p: 670-677.
- **Zhou I., Zhou S., Tang J., Zhang K., Guang L., Huang Y., Xu Y., Ying Y., Zhang L et Li D. (2009).** Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/ high-fat diet-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology* 606; p: 262–268.

Annexe

Matériels de la partie phytochimique :

Les produits Chimique et les réactifs :

- Méthanol, acétone, éther de pétrole, Chloroforme (Sigma)
- H_2SO_4 , $FeCl_3$, HCl , NH_4OH , Réactif de Fehling, Ethanol.
- Réactif de Folin, Carbonate de sodium, acide gallique, $AlCl_3$, DPPH, Quercétine, acide ascorbique,
- Acétate d'éthyle, eau distillée, ninhydrine.

Les équipements:

- Le rotavapor R-215 (Büchi).
- Lyophilisateur (Alpha 1-2).
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305)
- Cuve de chromatographie.
- Balance (BB310) et (Sartorius), balance de précision (Explorer[®] Pro)
- Verrerie.
- Plaque de silice Kieselgel (Merck)
- Tubes capillaires

Partie Biologique

Produit utilisés

- Streptozotocine (sigma), Glibenclamide.
- Glucose, eau physiologique (NaCl 0.9%)
- Maïs, saccharose, protéine, cellulose, vitamine, l'huile de maïs.
- $ZnCO_3$, $FeSO_4$, ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), KIO_3 , ($MnSO_4 \cdot H_2O$), $CaHPO_4$, Na_2HPO_4 , $CaCO_3$, KCl , $MgSO_4$.

Les équipements

- Centrifugeuse (Sigma 2-16).
- pH mètre.
- Glycomètre (On call plus).
- Balance précision (Explorer[®] Pro), balance (Sartorius) et (BB 310).

Préparation de la solution de la streptozotocine :

- **Préparation du tampon citrate :**
- - **solution A** : 2,1 g d'acide citrique dans 100 ml d'eau distillée
- - **solution B** : 2,94 g de citrate de sodium dans 100 ml d'eau distillée
- - **solution C** : 27 ml de la solution A ajouté à 23 ml de la solution B
- - ajuster le pH de 4,5
- - filtrer sur membrane de 0,22 μ m (conservation 3 mois, 1 4°C)
- - **solution D** : solution C diluée au 1/10ème dans de l'eau distillée (conservation 3 mois, + 4°C)
- - préparer une solution de streptozotocine de 30 mg/ml.