

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



12/01/12

530 254

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire : biologie moléculaire de procaryotes

**Thème : contribution à l'étude de l'effet d'huile de pépin de raisin
sur le diabète**

Présenté par : ARBA Manel

SCUDANI Manel

Devant le jury composé de :

Présidente : BOUMAAZA.A. (M.A.B).

Examinatrice : TORCHE.A. (M.A.A).

Examinatrice : BOUCENANE.H. (M.A.A).

Encadreur : HAMDIKEN . M. (M.A.B).

Juin 2012

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

Produced with ScantOPDF

Table des Matières

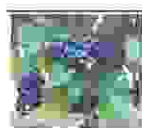


Table des Matières



Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	
Partie théorique	
Chapitre I : Le diabète Sucré	
1-Historique.....	1
2-Définition.....	2
3-Facteurs déclenchant le diabète.....	2
4-Différents types de diabète.....	3
4-1--Diabète insulino-dépendant (Type I).....	3
4-2- Diabète non insulino-dépendant (Type II).....	4
4-3 -Diabète gestationnel.....	6
5-Traitement du diabète sucré.....	6
6-Augmentation du stress oxydative dans les complications associées au diabète.....	7
7-Les complications liées au diabète.....	9
8-Le diabète expérimental.....	10
8-1- Diabète induit par les substances chimiques.....	10
8-2- Diabète induit par la pentamidine.....	12
8-3- Diabète induit par inoculation de virus.....	12
8-4- Diabète induit in vitro.....	12
8-5 -Diabète induit par le régime alimentaire.....	13
8-6- Diabète insulino-dépendant induit par chirurgie.....	13
8-7 -Diabète induits par modification génétique.....	14
9- Avenir du traitement de la maladie.....	14
Chapitre II : la phytothérapie	
I - la phytothérapie.....	15
1- Définition.....	15
2-Différents types de la Phytothérapie.....	16
3-Le développement de la phytothérapie.....	16
4- Les principes actifs des plantes médicinales.....	17

5- Utilisation des plantes médicinales.....	19
5-1- Les tisanes.....	19
5-2- Les produits d'extractions.....	20
6- Les plantes antidiabétique.....	21
7- Domaines d'application des plantes médicinales.....	24
II- Etude de la plante sélectionnée.....	26
1- Origine.....	26
2- Classification.....	26
3- Description botanique.....	27
4- Composition phénolique du raisin.....	28
5- Extraction d'huile de pépin de raisin.....	29
6- Propriétés d'huile de pépin de raisin.....	29
III- L'avenir de la phytothérapie.....	30
Matériel et Méthodes	
I- Etude phytochimique.....	31
1- Matériel végétal.....	31
2- Tests préliminaires de la composition chimique.....	31
II- Partie Biologique.....	33
1- Elevage.....	33
2- Indication du diabète : souris alloxaniques.....	34
3- Mode de traitement.....	34
4- Prélèvement sanguin.....	35
5- Prélèvement des organes.....	35
III- Dosage des paramètres biochimiques.....	37
1- Dosage du glucose.....	37
2- Dosage des triglycérides.....	38
3- Dosage du cholestérol.....	39
4- Dosage des protéines dans le sérum.....	41
5- Dosage d'albumine.....	42
6- Dosage de la créatinine.....	42
7- dosage de l'acide urique.....	43
8- Dosage de l'activité (TGO) et (TGP).....	45
9- Dosage de la glutathion hépatique (GSH).....	46
10- Dosage des protéines hépatiques.....	48

IV-Etude histologique	49
1-Déshydratation	49
2-Inclusion	49
3-Coloration	50
V-Etude statistique	50
Les résultats	51
Discussion	64
Conclusion et perspectives	
Références bibliographiques	

Produced with ScanTOPDF

Remerciements

Produced With ScantOPDF

Remerciements

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre
DIEU qui nous a donné le courage et la
Volonté d'achever ce travail.*

Le travail a été réalisé au Laboratoire de biochimie de la Faculté des Sciences, Département de biologie, Université de Guelma 08 mai 1945.

*Cette recherche a été réalisée sous la direction de M^{lle} **HAMDIKEN MALIKA**, M.A à l'université de Guelma. À qui nous lui adressons nos profondes gratitude pour les conseils éclairés et les encouragements qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de ce travail. Nous la remercions également pour sa disponibilité sans faille, ses précieux conseils scientifiques qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.*

*Nous exprimons nos profondes reconnaissances à Monsieur **DENOURET D.E**, Professeur à l'université de Guelma et le doyen de la faculté de S.N.V.*

Que les honorables membres du jury veuillent croire en nos remerciements anticipés pour leur acceptation d'examiner ce travail.

*Nos remerciements s'adressent aussi aux membres du laboratoire M^{lle}: **ABESSE.L**, et madame : **JORFI.H**, pour leur aide.*

Nos reconnaissances vont tout spécialement à monsieur **SAHLIA** et **ABEDNA.M**, étudiants en Master II, Département de Biologie, pour ses patiences, ses pragmatisme, ses précieux conseils et ses grandes disponibilités pour l'aboutissement de ce travail.

Nous exprimons mes vifs remerciements à. Monsieur **BELAADI A.N**, laborantin de santé public de Héliopolis, Willaya de Guelma, pour sa contribution et son aide concernant la réalisation des analyses biochimiques.

Nous tenons à remercier également **DR.DJAHMI** médecin à l'hôpital IBN ZOUHR pour leur contribution dans la réalisation des coupes histologique

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Produced with Scantopdf

Dédicace

Je dédie tout particulièrement le fruit de mon travail :

A la personne du messager d'Allah, MOHAMED que le salut soit sur lui porteur d'espoir, homme de dialogue et de tolérance, et illuminateur des mondes obscurs.

A mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse.

A mon cher frère : Redouane.

A ma petite très chère sœur : Bouhra « Bichou ».

À ma sœur chérie : Wissem et son époux Riad pour ses encouragements.

Sans oublier la petite de la famille « Miral » que je l'aime beaucoup.

A qu'elle a partagé se travail avec moi, ma chère sœur Manel.

A mes amies sans exception, spécialement à Safa, Selma, Imane, Mounira, Zina

A toute ma famille spécialement : Karima, Sarah.S, Moufida, Meriem, Wafa.B

A tous mes amis et camarades de biologie surtout de BMP.

À tous qui j'aime et qui m'aime.

MANEL.S

Dédicace

Je dédie ce fameux travail à ceux qui me sont les chers au monde

À l'âme de mon père que dieu le bénisse

À l'âme de mon oncle que dieu le bénisse

À ma mère : à qui dois tout le respect pour sa noblesse et son amour : quelle a jamais cessé de consentir pour ma réussite et mon bonheur, je l'offre ce modeste ouvrage pour témoigner tout mon respect et mon amour et j'espère qu'elle serait très fière.

À ma sœur chérie : Abla, son mari et ses enfants « Hadil, Alem et l'Isshek ».

À mon frère : Salim, son épouse Houria et ses enfants « Karim, Zahira, Kanza, Mouha et Amar ».

À mon frère : Riad et son épouse Islem et ses enfants « Halim, Assomi, Kahlouch et Kossai ».

À mon chère grande mère Jamâa.

À mon cher époux Hichem qui je l'offre toute mes remerciements pour son assistance.

À mes chéries Sana et Imen que je considère toujours comme mes sœurs pour ses présences à ma côté et ses soutiens.

À mon âme sœur Zina.

À qu'elle a partagé se travail avec moi, ma chère sœur Manel.

À mes amies sans exception, spécialement à Warda, Meriem, Selma, Imen, Mounira.

Sans oublier tous les gens qui me considèrent proche.

MANEL.A

Produced with ScantOPDF

Résumé



Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antidiabétique d'huile de pépin de raisin chez la souris adulte en suivant le gain du poids corporel, l'évolution des paramètres biochimiques, la teneur hépatique en glutathion ainsi que l'étude de l'histologie du pancréas endocrine. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 16 souris répartis en quatre lots de 04 souris chacun dont 02 lots sont rendus diabétiques par l'injection intrapéritonéale de 150 mg/kg d'alloxane. L'huile de pépin de raisin est administrée chaque jour par voie orale à une concentration de 0.1ml/kg du poids corporel. Des souris recevant l'eau distillée sont utilisées comme témoins et diabétiques non traités. Après trois semaines de traitement, les souris sont sacrifiées à jeun et les différents paramètres sont déterminés.

À partir de l'analyse des résultats, on a observé que les souris diabétiques non traités ont subi une chute du poids corporel significative. L'injection de l'alloxane a provoqué également une perturbation très claire du métabolisme glucidique, lipidique et protéique où nous avons constaté une hyperglycémie, ainsi qu'une augmentation significative de la teneur plasmatique en cholestérol et triglycérides, en acide urique, en créatinine. Par contre la concentration d'albumine, des protéines totales et hépatiques a diminué. Cependant, les activités des transaminases (TGO, TGP), ont été augmentées. De plus, le diabète perturbe le système de détoxification lié au glutathion et l'histologie du pancréas a montré une nécrose au niveau des îlots de Langerhans conduisant à leur disparition totale.

Par ailleurs, le traitement des souris diabétiques par l'huile de pépin de raisin a montré un effet antihyperglycémiant en améliorant tous les paramètres biochimiques et surtout une activité cytoprotectrice vis-à-vis le pancréas en préservant la capacité de la sécrétion d'insuline.

*P*arallèlement, l'étude phytochimique a dévoilé que *le raisin* est très riche en flavonoïdes, en tanins, stéroïls et terpènes. Elle contient, également, d'autres familles de composés.

*E*n conclusion; l'huile de pépin de raisin est douée d'une activité antidiabétique et antioxydante remarquables. De ce fait il peut constituer une ressource naturelle pour les futures études sur le diabète sucré et ses complications.

Mots-clés: Huile de pépin de raisin, Souris, Diabète, Alloxane, Pancréas, Paramètres biochimiques, GSH.

Produced with Scantopdf

حاولنا من خلال هذه الدراسة معرفة تأثير زيت بذور العنب على مضاعفات مرض السكري عند فئران التجارب. وذلك من خلال تتبع تغيرات الوزن، وتقدير بعض المعايير البيوكيميائية و الدراسة التشريحية للينكرياس.

اجريت هذه الدراسة على 16 فار مقسمة الى اربعة مجموعات كل واحدة تحتوي على اربعة فئران . مجموعتين تتكون من فئران كلها مصابة بالسكري بفعل حقن الألوكسان عن طريق التجويف البطني بجرعة 150 مغ لكل 1 كغ ثم تمت المعالجة لإحدى المجموعتين بزيت بذور العنب عن طريق الفم بجرعة 0.1 مل لكل كغ يوميا لمدة 21 يوم بينما المجموعتين الأخرتين (غير مصابة بالداء السكري) تلقت احدهما الماء المقطر و الأخرى زيت حبة العنب.

بعد ثلاثة اسابيع تم ذبح و تشريح الفئران لتقدير مختلف المعايير بعد تحليل النتائج لاحظنا بان الفئران المصابة بداء السكري اظهرت نقص معنوي في الوزن كما ان حقن الألوكسان ادى الى اضطرابات واضحة في الميتابوليزم السكري، الليبيدي و البروتيني مترجمة بارتفاع نسبة الجلوكوز، الكوليستيرول و الغليسيريدات الثلاثية بالإضافة الى ارتفاع الكرياتينين ، الألبومين و نشاط (نقلات الأمين) ، كما شاهدنا انخفاض في نسبة البروتينات الاجمالية بالإضافة الى ذلك فان مرض السكري ادى الى تخفيض القدرة على ازالة السموم الكبدية المتعلقة بالغلوتاثيون.

الدراسة التشريحية للينكرياس بينت حدوث تشوه على مستوى جزر أنجار هانس.

في حين معالجة الفئران المصابة بينت تأثير ايجابي على تخفيض نسبة السكر و ذلك بتحسين كل المعايير البيوكيميائية و حماية الخلايا المفرزة للإنسولين ضد الفعل التعريبي للألوكسان.

في الختام يمكن القول ان زيت بذور العنب مضاد للسكري و مضاد للأكسدة لذا قد يكون حلا لدراسات المستقبلية على مرض السكري و مضاعفاته.

الكلمات المفتاح : زيت بذور العنب، الألوكسان، السكري التجريبي، الفئران، المعايير البيوكيميائية، الغلوتاثيون



The objective of this study is the research antidiabetic effect of the oil of grape pip in the adult mouse while following the profit of the body weight, the evolution of the biochemical parameters, the hepatic content of glutathion as well as the study of the histology of the endocrine pancreas. It is about an experimental study led to the laboratory on 16 mouse divided into four batches of 04 mice each one whose 02 batches are made diabetic by the injection intrapéritoneale of 150 mg/kg of alloxane. The oil of grape pip is managed each day by oral way with a concentration of 0.1ml/kg corresponding respectively to body weight. Mice receiving distilled water are used as witnesses and diabetic untreated. After three weeks of treatment, the mice are sacrificed to jeun and the various parameters are given.

From the analysis of the results, one observes that the diabetic mice untreated have undergoes a fall of the body weight significant. The injection of the alloxane also caused a very clear disturbance of the glucidic, lipidic and proteinic metabolism where we noted an hyperglycemia, as well as a highly significant increase in the plasmatic content of cholesterol and triglycerides, uric acid, creatinin and albumin. On the other hand the concentration of total and hepatic proteins decreased. However, the activities of transaminases (TGO, TGP), were increased. Moreover, the diabetes disturbs the system of detoxification related to the glutathion and the histology of the pancreas showed one necroses on the level of the small islands of Langerhans leading to their total disappearance.

In addition, the treatment of the diabetic mice by the oil of grape pip showed an effect antihyperglycémiant amount-dependent by improving all the biochemical parameters and especially a cytoprotectrice activity opposite the pancreas by preserving the capacity of insulin secretion.

In parallel, the phytochimic study revealed that *the grape* is very rich in flavonoïdes, in tanins, sterols and terpenes. It contains, also, other families of compounds.

In conclusion, the oil of grape pip is endowed with a antidiabetic and antioxydant activity remarkable. This fact it can constitute a natural resource for the future studies on the sweetened diabetes and its complications.

Key words: Oil pip grape, Mouse , Diabete, Alloxane, Pancreas, biochemical Paramètres, GSH.

Produced with Scantopdf

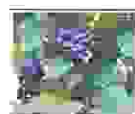
Liste des figures



Liste des figures

N°	Figure	Page
01	Symptômes de diabète	05
02	Structure chimique de l'Alloxane	11
03	Représente la plante de <i>Vitis vinifera</i>	26
04	Schéma récapitulatif du Protocole expérimental	36
05	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin	49
06	Tests préliminaires de la composition chimique.	51
07	Représente le gain du poids corporel chez les lots expérimentaux	53
08	L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, du cholestérol et des triglycérides chez les lots expérimentaux.	55
09	L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique de la créatinine et de l'acide urique chez les lots expérimentaux.	57
10	L'effet du traitement sur l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) chez les lots expérimentaux.	59
11	L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique des protéines totales, d'albumine et du glutathion hépatique chez les lots expérimentaux.	62
12	photo des coupes histologiques du pancréas endocriné des souris (SNT, DNT, DT, ST)	63

Liste des Tableaux



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



Liste des tableaux

N°	Tableau	Page
01	Quelques exemples des plantes antidiabétiques	23-24
02	composition du raisin	28
03	Composition de la nourriture.	34
04	Screening phytochimique de raisin.	51
05	Représente le gain du poids corporel (g)	52
06	Représente la concentration sérique du glucose (mg/dl), du cholestérol (mg/dl) et des triglycérides (mg/dl) chez les lots expérimentaux	54
07	Représente la concentration sérique de la créatinine (mg/dl) et de l'acide urique (mg/dl) chez les lots expérimentaux	56
08	Représente l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) (U/l) chez les lots expérimentaux	58
09	Représente l'activité enzymatique des protéines totales (g/l), d'albumine (g/l) et du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lots expérimentaux	60

Produced with

Introduction



Introduction

Le diabète est une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde. Elle touche environ 4% de la population mondiale et on s'attend à une augmentation de 5,4% en 2025. 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.

Malgré l'utilisation des hypoglycémiantes comme drogues antidiabétiques, le diabète et ses complications constituent une grande problématique dans la prise en charge thérapeutique des diabétiques et la réussite du traitement serait d'un intérêt grandiose.

Par conséquent, depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure des médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle *le métabolisme secondaire*. Celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal.

Plus de 800 plantes sont utilisées actuellement dans le traitement de diabète plusieurs études ont été effectuées pour identifier les composés bioactifs des plantes médicinales responsables de l'activité hypoglycémique, certains composés sont isolés tel que: Tanins, polysaccharides, alcaloïdes, stérols, terpenoïdes et parmi lesquels les flavonoïdes sont les principaux composants actifs responsables de diverses activités biologique.

L'objectif de la présente étude est la validation de l'effet antidiabétique d'huile de pépin de raisin, reconnue dans le traitement du diabète ainsi que leur potentiel antioxydant en utilisant des outils biochimiques.

La première partie de ce travail s'attachera à donner quelques rappels bibliographiques sur le diabète sucré, le diabète expérimental et la phytothérapie de cette pathologie. On mentionnera également quelques rappels sur le stress oxydatif : Les mécanismes de l'augmentation du stress oxydant dans le diabète.

La seconde partie du mémoire consiste à faire des tests phytochimique de raisin et à déterminer quelques paramètres biochimiques de son huile ainsi que la recherche d'éventuels effets antidiabétiques chez les souris alloxaniques en évaluant les aspects suivants:

- Etude phytochimique de raisin.
- Etude de la variation du poids corporel.
- Dosage des paramètres biochimiques d'huile de pépin de raisin.
- Dosage du glutathion hépatique.
- Etude histologique du pancréas endocrine.

En fin on discute les résultats obtenus dans cette étude.

Produced with Scantopdf

***PARTIE
THEORIQUE***

Produced by Scantopdf

Chapitre I : Le diabète Sucré

Introduction :

Diabète sucré est une maladie métabolique. Il touche environ 150 millions de la population mondiale dont 90% sont des diabétiques de type 2. Le traitement de cette maladie 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.

En générale, tous les agents antidiabétiques (antidiabétiques oraux, insuline) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace. Eventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable (Rees et Alcolado, 2005).

Actuellement, le recours au traitement du diabète sucré par les plantes attire tous les flashes. Justement, il existe dans le monde, plus de mille plantes utilisées traditionnellement pour lutter contre cette maladie, et certaines d'entre elles ont reçu une évaluation scientifique et médicinale de leur efficacité. De fait, plusieurs phytothérapeutes à travers le monde s'intéressent à la recherche de nouvelles substances d'origine végétale pouvant avoir ce secret (Cefalu, 2006).

1- Histoire du diabète :

Le diabète sucré était connu par des anciens médecins les Indes.

Dans l'antiquité gréco-romaine, Hippocrate, fait allusion à la polyurie mais pas au diabète.

Pour Gallien (129-201 après J.C), le diabète est une maladie des reins, avec élimination par les urines, des boissons non altérées.

Au XVIIème siècle : Thomas Willis (1621-1675), médecin anglais, met en évidence, la présence de sucre dans l'urine des malades.

Le XVIIIème siècle est marqué par la découverte chimique des sucres dans les urines alors qu'elle n'avait été jusqu'alors que signalée.

Au XIXème siècle, les recherches portent sur la présence de sucre dans le sang appelée plus tard par Claude Bernard « glycémie ».

Frédéric Grant Banting et Charles Herbert Best : ont réussi à isoler et à mettre au point une méthode de préparation des extraits pancréatiques à la fois sûre et efficace pour la production d'insuline. Cette préparation fut découverte en 1921, cela leur a valu un prix Nobel.

Le 11 janvier 1922, de l'insuline fut injectée à Léonard Thompson, un garçon de 14 ans en état d'acidose et à l'article de la mort. A ce moment l'insuline lui sauva la vie et depuis ce jour des milliers d'êtres humains sont traités à l'insuline pour contrôler le diabète.

Dans les années 1940 à 1950, il y eut apparition de médicaments antidiabétiques provenant de différents ancêtres.

C'est en 1993 que la preuve médicale qu'il faudrait normaliser idéalement les glycémies chez tout patient diabétique pour éviter les complications à long terme, s'est faite par une étude américaine, qui a donné des résultats fort concluants (Hennen, 2001).

2- Définition :

Le diabète est une maladie fréquente, connue depuis fort longtemps, très répandue en ce début de XXIème siècle. C'est une pathologie chronique, caractérisée par une hyperglycémie. Lorsque la glycémie dans le sang, mesurée à jeun, devient supérieure à 1,26 g par litre, la personne est considérée comme diabétique. Cette maladie est incurable, mais peut néanmoins être traitée efficacement. Le diabète est un désordre du métabolisme lipidique, glucidique et protéique attribué à la production diminuée de l'insuline ou à une résistance anormale à cette hormone qui entraîne une hausse du taux de glucose (Buysschaert et al., 1999 ; Raccach, 2004).

3- Facteurs déclenchant le diabète :

- **L'hérédité** : Les différents types de diabète peuvent induit 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 Merzougui, 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 Merzougui, 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 (Gribe et Merzougui, 2009).
- **Infection virale:** Le virus Caxsackie B impliqué dans le déclenchement du DID et les virus des oreillons et de la rubéole dans l'infection congénitale qui attaque la cellule Beta du pancréas (Bakour et Sioune, 2008).

4- Différents types de diabète :

L'ancienne classification des diabètes, insulino-dépendants et non insulino-dépendants, était fondée sur leur traitement plutôt que sur leur mécanisme causal (Rodier, 2001). Depuis 1997, une nouvelle classification du diabète sucré a été proposée par Kaneko (American Diabètes Association) et adoptée chez l'Homme par l'O.M.S (Hennen, 1996 ; 2001). Cette classification a été établie d'après une approche pathogénique plutôt que thérapeutique (Spina et Lehmann, 2001). On distingue :

4-1 Diabète insulino-dépendant : (Type I)

Le diabète de type I ou DID, représente environ 10% des cas de diabète mondiaux (Peter-Riesch et al., 2002). Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte, c'est pourquoi il est aussi appelé « diabète juvénile ».

Le risque de survenue d'un diabète de type I augmente avec le taux des anticorps et avec leur association (Charbonnel, 1999). Des règles dites hygiéno-diététiques, la bonne gestion du traitement et le respect de la surveillance médicale périodique et de l'auto-surveillance permettent aux diabétiques de type I d'espérer rejoindre progressivement l'espérance de vie des non diabétiques.

Ce diabète doit être traité par des injections d'insuline à vie et par un régime alimentaire adapté (Mari Manus, 2000).

❖ Physiopathologie :

La physiopathologie du DID est en général dominée par les mécanismes de destruction auto-immune des cellules β Langerhansiennes. Il n'existe pas actuellement d'explication univoque ni parfaitement vérifiée. Les conséquences découlent de la carence insulinique liée à cette destruction. Leurs mécanismes font intervenir (Perlemuter, 1996) :

- **Les immunocytes :** que ce soit les lymphocytes tueurs qui détruisent directement les cellules cibles. Ou Des lymphocytes B qui se multiplient et commencent à sécréter des anticorps anti-cellules bêta (Beyan et Leslie, 2006).
- **Anticorps anti-îlots :** Leur rôle exact est mal connu, plus que simples témoins d'une réaction immunitaire, ils seraient capables de s'attaquer directement aux cellules bêta Langerhansiennes (Humbel, 2002).
- **Réaction immunitaire anti-cellules bêta :**
 - Des antigènes de classe II exprimés à la surface de la cellule bêta.
 - Une réaction destructrice impliquant la coopération de ces antigènes, des anticorps anti-cellules bêta, des immunocytes et d'autres composants plasmatiques comme le complément (Perlemuter, 1996).

❖ Diagnostic :

Le début clinique du diabète de type I est le plus souvent rapide. Ils peuvent apparaître subitement soudainement d'un syndrome cardinal associé à : une sécrétion excessive d'urine (polyurie), une sensation de soif (polydipsie) ainsi qu'une perte de poids, une faim permanente, une grande fatigue en particulier à l'effort, des douleurs musculaires et de troubles de la vue à type d'hypermétropie secondaire aux perturbations osmotiques du cristallin.

Le diagnostic est confirmé par un simple dosage de la glycémie ; s'il n'est pas porté à ce stade, l'évolution se fait vers l'acidocétose, avec déshydratation, nausées, vomissements, douleurs abdominales et surtout polypnée. Une mesure de la glycémie capillaire et une recherche de la cétonurie suffisent à confirmer le diagnostic (Grimaldi et al., 2000).

4-2 Diabète non insulino-dépendant : (Type II)

Le diabète de Type 2 ou DNID est de loin la forme de la maladie la plus fréquente puisqu'elle présente 90% des cas mondiaux. Le diabète de type 2 est aussi appelé « diabète mature » car il survient le plus souvent chez l'adulte, autour de la cinquantaine, sa prévalence augmente avec l'âge (Peter-Riesch et al., 2002). Les sujets atteints sont généralement en

surcharge pondérale. Apparaît généralement suite à un double problème. D'une part, on voit apparaître une résistance à l'insuline des tissus périphériques (insulinorésistance). D'autre part, les cellules sont encore capables de produire l'insuline, mais elles ne parviennent pas à compenser la résistance à l'insuline.

Ce diabète peut être traité par voie médicamenteuse et par un régime alimentaire adapté visant à une perte de poids. A un stade avancé, les injections d'insuline sont nécessaires (Girardin et Schwitzgebel, 2007).

❖ Physiopathologie :

La résistance à l'insuline entraîne non seulement une hyperglycémie, comme dans le diabète de type I, mais également une surproduction d'insuline par le pancréas pour créer une « pression » sur la cellule. Ce hyperinsulinisme (hyper-insulinémie) a deux conséquences :

- une prise de poids et une augmentation de la tension artérielle.

- un surmenage permanent des cellules bêta dont la production finit par s'épuiser (Mari et Manus, 2000).

❖ Le diagnostic :

Les critères de diagnostic du diabète fondés sur les propositions faites par l'OMS à partir d'une hyperglycémie provoquée par voie orale (H.G.P.O) à 75g de glucose, soit la glycémie à jeun (G0) était supérieure ou égale à 1,40g/l et/ou la glycémie deux heures après charge (G2) supérieure à 2g/l, et le diagnostic du diabète était porté ; soit la glycémie à deux heures se trouvait entre 1,4 et 2g/l et l'on supposait alors le diagnostic d'intolérance au glucose (Martin Buysschaert, 2006).

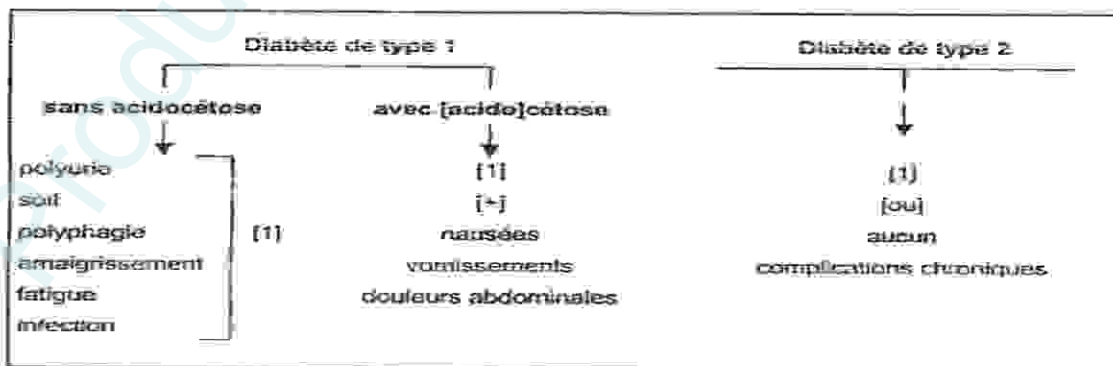


Figure 1 : Symptômes de diabète (Martin Buysschaert, 2006).

4-3 Diabète gestationnel :

Le diabète gestationnel (DG) est défini comme un trouble de la tolérance glucidique diagnostiqué pour la première fois au cours de la grossesse (généralement entre la 24^{ème} et la 26^{ème} semaine d'aménorrhée), quelle que soit son évolution dans le post-partum.

◊ Si pas de facteurs de risque : dépistage systématique entre 24 et 26 SA (SA: semaines d'aménorrhée).

◊ Si facteurs de risque présents : dépistage au premier trimestre, puis entre 24 et 26 SA.

* Critères diagnostiques du DG selon le Test d'O'Sullivan : Glycémie veineuse à jeun $\geq 1.30\text{g/l}$ une heure après l'absorption de 50g de glucose. Ou si deux des valeurs suivantes sont atteintes après H.G.P.O avec 100g de glucose : 0.95g/l à jeun ; 1.80g/l à H1 ; 1.55g/l à H2 ; 1.40g/l à H3 (Grimaldi et al., 1993).

5- 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 jouant un rôle dans les complications du diabète.

- **Médicaments antidiabétiques** : Certains antidiabétiques oraux utilisés dans le traitement du diabète possèdent, outre leurs effets normoglycémiant, des propriétés antioxydantes et /ou anti AGE.
- 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 insulémique, ce sont des potentialisateurs d'effets de l'insuline (Srivastava et al., 1993).
- **Les antioxydants** : Des 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 (Rahimi, 2005). Parmi ces antioxydants :
 - la vitamine E qui baisse la glycosylation des protéines et l'insulino-résistance 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 (Szaleczky et al., 1999).

- Le zinc et le sélénium qui font augmenter l'activité des enzymes antioxydantes et le taux de GSH dans le foie et le cerveau (Twaij et Al-Badr, 1988).
- **La phytothérapie** : les plantes antidiabétiques ont pris un grand intérêt comme source énorme d'antioxydant (Halliwell, 2009). Des études faites sur des plantes médicinales ont révélé leur effet antidiabétique accompagné de leur effet antioxydant élevé, ce qui donne plus d'espoir pour prévenir et/ou guérir le diabète et ses complications.

6- Augmentation du stress oxydative et la production accrue des radicaux libres au cours du diabète :

- **Le stress oxydant** : se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des ERO (Espèces réactives de l'oxygène), en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, tels que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (Favier, 1997).
- **Les radicaux libres** : sont des espèces chimiques indépendantes (Kehrer, 1993), atome, molécules ou leurs fragments (Durackova, 2008) possédant un ou plusieurs électrons célibataires (Kehrer, 1993 ; Delattre, 2005 ; Durackova, 2008). En toxicologie, les RL sont ceux qui existent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés de tissus (Kehrer, 1993).
- **Les antioxydants** : 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). Il existe deux types d'antioxydants :

- Les antioxydants synthétiques : les enzymes antioxydants (SOD, CAT, GPx, ...), ou bien les antioxydants non enzymatiques (transferrine albumine)
- les antioxydants naturels : qui incluent les flavonoïdes (catéchine et quercétine) ou autres phénols (l'acide ferrulique) ou les composés polyphénoliques (resveratrol). Ils sont requis par l'organisme à travers l'alimentation comme constituants naturels des fruits et des végétaux en exerçant une activité antioxydante significative (Ursini, 1999).
- Les antioxydants peuvent jouer leur rôle à différents niveaux du processus oxydatif en :
 - neutralisant les radicaux initiateurs ;
 - Liant les ions métalliques ;
 - Neutralisant les radicaux peroxydes ;
 - Éliminant les biomolécules endommagées par oxydation, ainsi que d'autres types de réactions (Baskin et al., 1994).
- L'hyperglycémie peut induire une production accrue des radicaux libres selon plusieurs mécanismes :
 - **Augmentation des polyols :**

Dans un état d'hyperglycémie, les deux voies du métabolisme de glucose – la voie de la glycolyse et la voie des pentose-phosphates – fonctionnent moins bien. Cette perturbation est due à la saturation de l'hexokinase qui permet la phosphorylation du glucose, ce qui conduit à l'accumulation du glucose dans les tissus insulino-indépendants (reins, tissu rénal, microvaisseaux rétinien... etc.) et l'activation de la voie des polyols faisant intervenir une enzyme inductible : l'aldose réductase (AR), et une autre enzyme qui est : le sorbitol déshydrogénase (SDH). L'activation de la voie des polyols conduit à :

- L'accumulation du sorbitol (agent du stress osmotique très actif) (Taleb-senoucia et al., 2009).
- L'accumulation du fructose (caractérisé par son grand pouvoir réducteur par rapport au glucose) qui stimule la glycosylation non enzymatique des protéines (Chandra et al., 2007).
- La diminution du rapport NADPH, H⁺/NADP⁺ et NAD⁺/NADH, H⁺ (altération du potentiel redox) ce qui affecte la régénération du GSH en aboutissant à un stress

oxydant (Bravi et al., 1997) et limite également certaines réactions enzymatiques, comme la formation du NO par la NO synthase (Brautner et al., 1996). Ces conséquences sont directement impliquées dans la production des ROS et l'inhibition de certains antioxydants.

➤ **Formation de protéines glyquées :**

L'hyperglycémie est une cause essentielle de la glycosylation non enzymatique ou la glycation des protéines qui résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines. Cette liaison donne naissance à des produits dits d'Amadori possédant un groupement Cétol qui forme, en présence de métaux de transition, de l'anion superoxyde O_2^- (Singh et al., 2005).

➤ **Activation de l'angiotensine :**

L'angiotensine II est un vasoconstricteur dont son activité augmente systématiquement lors d'une hyperglycémie. Il est considéré l'un des plus importants stimuli endogène pour la génération de l'anion superoxyde O_2^- - via la NAD(P) H oxydase endogène (Beaudeau et al., 2005).

➤ **Production des radicaux libres par la mitochondrie:**

La source principale des radicaux libres au cours des états d'hyperglycémie est bien la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Le taux élevé du glucose favorise un gradient électrochimique (de protons) au niveau de la membrane interne mitochondriale suite à une activation des donneurs d'électrons du cycle des acides tricarboxyliques, ce qui induit une forte production de l'anion superoxyde (Beaudeau et al., 2005 ; Derubertis et al., 2005). Elle produirait en effet 90 % des ROS Cellulaires.

7- Les complications liées au diabète :

Malgré le développement des molécules normalisant la glycémie et l'amélioration des schémas thérapeutiques, le diabète reste soumis à une surmorbidity et à une surmortalité liée essentiellement à des atteintes dégénératives tissulaire notamment au niveau des nerfs, des reins, de la rétine et du cœur. Le diabète sucré induit fréquemment l'apparition des complications aiguës ou chroniques. Les principales complications diabétiques aiguës est un coma causé soit par une hyperglycémie (acidocétose) soit par une hypoglycémie due par exemple à une prise trop importante d'un médicament hypoglycémiant.

Les complications chroniques du diabète consistent surtout en des maladies vasculaires dégénératives dont les caractéristiques principales sont l'obstruction progressive de la lumière

des vaisseaux et, au niveau de la microcirculation, le passage anormal de protéines de la circulation sanguine vers les tissus. Ces complications concernent à la fois les gros vaisseaux (macroangiopathie) et les microvaisseaux (microangiopathie).

La persistance de l'hyperglycémie est étroitement liée à l'augmentation de l'indice et de la gravité des complications vasculaires diabétiques (Jakus et Rietbrock, 2004).

8- Le diabète expérimental :

Afin d'étudier l'étiologie de ce diabète et en raison de la gravité de ses nombreuses répercussions métaboliques et dégénératives, l'utilisation de modèles expérimentaux représente autant de voies d'accès dans la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie (Duhault Koenig-Berard, 1997 ; Fröde et Medeiros, 2008).

Durant ces dernières années, les études entreprises visant à la mise au point de modèles adéquats de diabète chez l'animal, notamment dans le cas du diabète non insulino-dépendant (sans obésité associée) ont abouti à de différents types de modèles obtenus essentiellement chez le rat (Cefalu, 2006). Faveur de l'idée selon laquelle les anomalies de l'insulino-sécrétion et de la sensibilité à l'insuline seraient secondaires à une réduction plus ou moins marquée de la population de cellules β (Duhault et Koenig-Berard, 1997; Rees et Alcolado, 2005).

L'installation du diabète chez les modèles animaux se fait soit spontanément soit par induction chirurgicale, chimique, endocrine, immunologique ou par sélection ou génie génétique.

8-1 Diabète induit par les substances chimiques : Ces substances sont toxiques pour la cellule β . Les plus utilisées sont:

-Alloxane :

L'Alloxane est un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine. Ce composé a une haute affinité pour l'eau existant sous forme monohydratée. Les données caractérisant l'Alloxane dans les conditions standards sont les suivantes :

Nom chimique : 2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.

Structure chimique : $C_4H_2N_2O_4$

Masse moléculaire : 160,09 g/mol

Point fondant : 253°C.

C'est un agent oxydant fort excentre une activité cytotoxique sur les cellules β par le produit de sa réduction, l'acide diallurique (Grankvist et al., 1981). Il établit un cycle d'oxydoréduction avec formation de radicaux superoxydes, associé à l'internalisation de fortes doses de calcium dans le cytosol provoquant ainsi la destruction rapide des cellules β (Ammon et al., 1983 ; Lenzen et al., 1988). Cet effet délétère est inhérent à la vulnérabilité de ces cellules au stress oxydatif en raison d'une part, de leur pauvreté en $\text{Cu}^{++}/\text{Zn}^{++}$ super oxyde dismutase, en catalase et en glutathion peroxydase, d'autre part au faible contenu en glutathion réduit (Grankvist et al., 1981). Cette fragilité intervient dans les mécanismes qui conduisent à la destruction des cellules β sous l'effet d'agents diabétogènes comme l'Alloxane (Grankvist et al., 1981; Ammon et al., 1983 ; Lenzen et al., 1996).

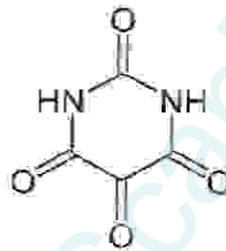


Figure 2 : Structure chimique de l'Alloxane.

- La streptozotocine :

La streptozotocine (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 des protéines et de l'ARN. Le mécanisme de l'action diabétogène est encore incomplètement connu (Hwang et al., 2005).

La streptozotocine induit un diabète chez la souris non prédisposée (Anderson et Stitt, 1993 ; Szkudelski, 2001). Les mécanismes impliqués dans l'agression anti-cellule bêta sont toujours à controverse, certains auteurs plaident en faveur d'une réaction auto-immune à médiation cellulaire, d'autre en faveur d'une toxicité directe provoquant l'insulite.

L'administration de STZ à faible dose et pendant cinq jours consécutifs provoque chez la souris non prédisposée, une destruction de la cellule bêta à l'origine d'une insulite et d'un

diabète avec une incidence inférieure à 100%. Des anticorps anti- cellule bêta peuvent être mis en évidence.

L'administration unique d'une dose plus importante induit une destruction des cellules pancréatiques et un diabète de type 1 dans 100% des cas (Sénécat, 1996).

- cyclophosphamide :

Le cyclophosphamide est un agent alkylant, comme la streptozotocine. L'injection de fortes doses de cyclophosphamide déclenche l'apparition d'un diabète, uniquement chez la souris NOD pré diabétique. L'action du cyclophosphamide résulterait de l'accélération d'un phénomène auto-immun et sans doute moins d'une toxicité directe de la molécule sur la cellule bêta. En effet, les splénocytes de Souris dont le diabète a été induit par le cyclophosphamide sont capables de transférer la maladie à des animaux sains. Enfin, il a été démontré que le cyclophosphamide pouvait abroger des mécanismes régulateurs qui préviennent l'activation de cellules T diabétogènes (Charlton et Bacely, 1989).

8-2 Diabète induit par la pentamidine :

La pentamidine est un médicament anti- protozoaire employé chez l'Homme dans le traitement des pneumopathies à *Pneumocystis carinii* ; dans la maladie du sommeil et, chez l'animal et chez l'homme, dans le traitement de la leishmaniose. Son utilisation chez le Rat et chez la Souris a induit un diabète irréversible, dose dépendant et temps- dépendant. L'action diabétogène de ce médicament, provoquée par la toxicité sur les cellules bêta serait obtenue moins rapidement qu'avec la STZ ou l'alloxane (Sai et Boillot, 1983).

8-3 Diabète induit par inoculation de virus :

Certaines infections virales peuvent engendrer un diabète aussi bien chez l'homme que chez l'animal. L'exemple le plus connu est l'infection de la souris par le virus EMC (Encephalomyocarditis). Ce virus entraîne un diabète en pénétrant dans la cellule β . L'ADN viral s'intégrant au génome de la cellule β hôte provoque une altération des fonctions de ces cellules et notamment de la synthèse et de la sécrétion d'insuline (Rees et Alcolado, 2005).

8-4 Diabète induit in vitro :

Ils permettent d'aborder le dysfonctionnement de l'insulino-sécrétion dans le cas d'un diabète de type 2. Trois méthodes d'expérimentation in vitro existent:

- ☞ A partir d'îlots de Langerhans isolés. L'exploration de plusieurs voies de l'insulino-sécrétion se fait en réponse à plusieurs sécrétagogues tels que le D-glucose et la L-arginine en concentrations croissantes, un agoniste et un antagoniste de la voie β adrénergique stimulatrice (isoprotérénol associé ou non au propranolol) et un agoniste α_2 adrénergique inhibiteur (clonidine). Quelle que soit la voie stimulée il apparaît une diminution de l'insulino-sécrétion.
- ☞ A partir d'un pancréas isolé et perfusé. L'exploration de la libération d'insuline est dynamique.
- ☞ A partir d'îlots de Langerhans périfusés. Cette approche concerne l'étude de la mémoire de la cellule β (Anderson et Stitt, 1993).

8-5 Diabète induit par le régime alimentaire :

Ils ont permis de mettre en évidence le rôle de la consommation hypercalorique et de l'âge associé à un manque d'activité physique. On prend comme exemple :

- **La souris Spiny (*Acomys chirinus*) :**

Cet animal vit dans les régions désertiques et semi-désertiques autour du bassin méditerranéen. Un régime de laboratoire riche en sucrose provoque chez cette souris une réduction des enzymes de la glycolyse qui est une des voies de dégradation métabolique du glucose s'effectuant en présence ou en absence d'oxygène, une réduction de la lipogénèse qui entraîne une hyperlipidémie c'est-à-dire une augmentation des lipides dans le sang, une intolérance au glucose, une hyperinsulinémie, mais ne provoque pas d'hyperglycémie ni d'obésité. Un régime riche en lipides induit une obésité, une intolérance au glucose, une hyperinsulinémie, une augmentation du glucagon plasmatique avec une hyperglycémie mais sans changement dans le contenu pancréatique en insuline (Malaisse et Sener, 2008).

8-6 Diabète insulino-dépendant induit par chirurgie :

Certaines manipulations chirurgicales ou toxiques ont montré qu'après ligature du canal pancréatique, le lapin développe un régime adapté à un diabète qui reproduit relativement bien un diabète humain consécutif à une pancréatite (inflammation du pancréas) (Shafrir, 1992).

8-7 Diabète induits par modification génétique : Les "souris" transgéniques :

Les techniques de génie génétique ont permis d'obtenir des animaux permettant l'étude du diabète. Le modèle le plus utilisé est le rat Zucker. Il présente une obésité, une insulino-résistance, une hyperinsulinémie, une hyperlipidémie mais une glycémie normale. Son pancréas est hypertrophique, hyperplasique et hyper sécrétoire (Frøde et Medeiros, 2008).

On peut également inactiver certains gènes codant pour des molécules intervenant dans le métabolisme insulinaire, et observer les résultats obtenus concernant:

- la réduction de l'activité de la glucokinase dans les cellules
- la suppression du transporteur de glucose "knock out GLUT4 mice"
- l'expression de l'insuline humaine
- l'expression de l'amyline humaine
- l'expression de l'aldose réductase humaine
- la surexpression de l'IGF (Insulin-like Growth Factor)
- la production d'interleukine-10 (Duhault et Koenig-Berard, 1997 ; Frøde et Medeiros, 2008).

9- Avenir du traitement de la maladie :

Pour réduire le risque de développer des complications, il doit se préoccuper des éléments suivants :

- La tension artérielle;
- Le taux de cholestérol et de triglycérides dans le sang;
- La dépendance au tabac (cessation du tabac).

Pour diminuer la souffrance des diabétiques, de nouvelles solutions font l'objet de recherches, à savoir: la transplantation des îlots (Barrou et al., 2004), l'insuline administrée par voie nasale ou à travers l'œil, les analogues de l'insuline pouvant être pris par voie orale et les agents bloquant les dommages de l'auto-immunité.

En parallèle, la recherche de nouvelles substances à partir des plantes attire actuellement tous les regards et constitue une étape substantielle dans le développement de nouveaux médicaments (Dirckx, 1998).

CHAPITRE 2

La Phytothérapie



Chapitre II : la phytothérapie

I - la phytothérapie

Introduction :

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essayent de synthétiser de nouvelles molécules.

D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (Mamoudou et al., 2005). Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques. Les plantes aromatiques sont caractérisées par leur richesse en principes actifs (Benkiki, 2006).

1- Définition :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement «soigner avec les plantes ». Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales. On peut distinguer deux formes de phytothérapie

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement (Max Wichd et Bibert, 2003). Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.
- Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des phytomédicaments est soumise à l'autorisation de mise sur le marché (AMM). On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (Max et Bibert, 2003).

2- Différents types de la Phytothérapie :

- **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.
- **Herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.
- **Homéopathie** : a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale
- **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (Strang, 2006).

3- Le développement de la phytothérapie :

L'usage thérapeutique des plantes remonte aux temps les plus reculés de l'histoire de l'homme. En effet, l'histoire officielle de la phytothérapie prend ses "racines" il y a plusieurs millénaires. En voici les grandes étapes:

Au cours du 1er siècle de notre ère : Dioscoride, autre médecin grec et successeur spirituel d'Hippocrate, écrit son fameux *De Materia Medica* qui étudie, lui, environ 600 simples, et qui restera l'ouvrage de référence en matière de plantes pendant de très nombreux siècles.

Au cours du 2ème siècle : C'est au tour de Galien, encore un médecin grec, de codifier l'emploi de toutes ces plantes, et de mettre au point un nombre considérable de formulations magistrales à peine complétées et modifiées jusqu'à la fin du 18ème siècle.

Du 3^{ème} au 18^{ème} siècle : Peu de plantes vont venir s'ajouter aux 600 "simples" répertoriés par Dioscoride au cours de cette longue période, si ce ne sont quelques rares plantes originaires de contrées lointaines et encore inconnues en Occident, ou encore de certaines jalousement tenues secrètes par la médecine populaire, comme par exemple la digitale dont le secret d'utilisation est arraché difficilement au 18^{ème} siècle à une guérisseuse qui le tenait certainement elle-même d'une transmission familiale à travers plusieurs générations de guérisseurs.

Du 19^{ème} siècle à la moitié du 20^{ème} siècle : S'installe une période de désaffection pour la médecine par les plantes. A cela deux raisons : La première est le développement de deux grands groupes de médicaments (isolés d'ailleurs tous les deux à partir des plantes) entre 1806 et 1888. Tandis que La deuxième n'est que le prolongement direct de la première, est l'importance attachée par le corps médical à ces nouvelles molécules dont l'emploi est rapidement codifié.

De 1960 à nos jours : Net regain d'intérêt pour la phytothérapie sous une double influence :

- Celle de certains médecins et scientifiques qui publient des ouvrages de plus en plus objectifs, documentés et scientifiques sur l'usage médicinal des plantes.
- Celle des malades qui, après une période d'absorption intensive de chimiothérapie, se rendent compte que cet abus provoque de nombreux effets secondaires souvent plus graves - dans de nombreux cas de pathologie bénigne - que les troubles à traiter (Iserin et al., 2001).

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes.

4- Les principes actifs des plantes médicinales :

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante, ils lui confèrent ainsi son activité thérapeutique, ces composants y sont souvent en quantité extrêmement faible, il est donc nécessaire de réaliser une extraction qui va les isoler.

Aujourd'hui, les laboratoires pharmaceutiques usant de technologies modernes, produisent des extraits d'une grande et constante qualité. Cette rigueur permet d'obtenir des principes

actifs concentrés, qui pourront être administrés sous forme de capsule. Celle-ci contient un certain nombre de substances dont la plupart agissent sur l'organisme humain qui sont : (Creola, 1981).

- **Les alcaloïdes** : Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque une molécule d'azote (NH₂-) qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées, c'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (Vinca rosea) employé pour traiter certains types de cancer (Ailis et al., 1999).
- **Les saponines** : Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines dérivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les trépénoïdes (Iserin, 2001).
- **Stérols** : Nom d'ensemble des alcools polycyclique de poids moléculaire élevé, jouant un rôle important dans le métabolisme des êtres vivants présents dans les organismes animaux ou végétaux, caractérisés structurellement par l'association du phénanthrène et du cyclopentane.
- **Terpènes** : Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées du 2-méthyle butadiène, appelées unités isopréniques (Ailis et al., 1999).
- **Les tanins** : Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation. Pour les insectes ou le bétail. Les Camns sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (Iserin et al., 2001).
- **Les phénols** : Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phéniques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques (Benkiki, 2006).
- **Les flavonoïdes** : Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une

bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (Al- Achi, 2005).

- **Les huiles essentielles:** Les huiles essentiels sont des produits de composition généralement assez complexe, renferment les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des huiles officinales : celui par distillation à la vapeur d'eau de plantes a huiles essentielles ou de certains de leurs organes et celui par expression (Aïlis et al., 1999).

5-Utilisation des plantes médicinales :

En fonction de l'effet thérapeutique recherché, l'usage traditionnel puis la recherche, ont mis au point des procédés de traitement des plantes qui permettent de ne garder que les molécules intéressantes, pour une utilisation locale, buvable ou injectable. Dans les préparations, la composition d'un remède peut réunir différentes plantes. Nous évoquerons ici les principales formes galéniques disponibles, leurs origines de fabrications.

1- **Les tisanes :** Les tisanes sont des préparations magistrales peu chargés de principes actifs et préparés avec de l'eau sucrée ou non, On prépare les tisanes selon les différents modes de dissolution des principes actifs (Clintok et Favargercillcl, 1986).

- **L'infusion :** Elle consiste à verser sur la plante l'eau bouillante, couvrir et laisser refroidir 2 à 15 minutes. Elle convient aux plantes fragiles (fleurs et feuilles) (Danielle, 2005).
- **La décoction :** Elle consiste à maintenir la drogue avec l'eau à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Elle convient aux plantes "dures " (écorces, racines, fruits et certaines feuilles)
- **La macération :** Il s'agit de maintenir la plante en contact avec l'eau (température ambiante) pendant 30 minutes à 4 heures (Clintok et Favargercillcl, 1986).
- **Inhalation :** Excellent pour soigner les affections des voies respiratoires, les inhalations utilisent les effets de la vapeur d'eau chaude mélangée à l'arôme de substances volatiles comme l'eucalyptus ou le romarin. Plonger l'herbe sélectionnée dans de l'eau bouillante (1à2 cuillères à soupe par ½ litre d'eau). En recouvrant la

tête, les épaules et le récipient avec une même serviette pour mieux concentrer la vapeur, inspirer puis expirer profondément pendant 15 minutes (Danielle, 2005).

- **La digestion** : On maintient la plante en contact avec l'eau (température inférieure à celle de l'ébullition, mais supérieure à la température ambiante) pendant 1 heure.
- **Les poudres végétales** : sont obtenus par pulvérisation de la plante sèche. Elles peuvent être utilisées telles quelles ou sous forme de gélules, ne pas le confondre avec les nébulisât (Creola, 1981).

2- Les produits d'extractions :

- **Extraits** : Les extraits sont obtenus en traitant la plante dans une solution vaporisable (éthier, eau, alcool,...) par divers procédés d'extraction puis en évaporant ces solutions jusqu'à obtenir une consistance fluide, molle ou sèche. On les classe donc selon leurs consistances.
- **Teintures** : Elles sont obtenues à partir de poudres végétales sèches et leur titre alcoolique varie selon le type de drogue. Il peut être à 60° (principes actifs très solubles), à 70 ou 90° à 80° (ex produits résineux et huiles volatiles).
- **Alcoolatures** : Ce sont des teintures préparées avec des plantes fraîches n'ayant donc pas subi les effets de la dessiccation.
- **Alcoolats** : Ils sont obtenus par distillation des principes volatils de substances végétales au contact de l'alcool. Ils sont toujours incolores et inaltérables mais il faut les conserver dans des flacons bien bouchés.
- **Les sirops** : Sont préparés par l'addition de sucre et d'eau dont les proportions 2/3-1/3 auquel on incorpore le principe actif végétal.
- **Intraits** : Ils ne se justifient que dans le cas où les principes actifs d'une drogue (ex: marron d'Inde, valériane, sauge, colchique...) risquent d'être dégradés après la récolte, nécessitant une opération de «stabilisation» (élimination des produits inactifs et/ou dégradants comme les ferments) par des vapeurs d'eau.
- **Huiles essentielles (HE)** : Elles se présentent sous deux formes
 - les HE solides, aussi appelées «camphres d'essence»,
 - les HE liquides naturelles ou après dissolution (ex.: HE de rose).
- **Eaux distillées ou hydrolats** : On obtient les hydrolats par distillation (avec l'eau) de poudre de plantes ou des parties de ces plantes (fleurs, sommités fleuries). Les

eaux distillées, ou hydrolats, sont très odoriférants parce que les HE se trouvent en suspension dans l'eau.

- **SIPF** : Dans les suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF), l'intégralité de la drogue est préservée grâce à un procédé de conservation par le froid, puis de mise en micro suspension dans un milieu hydro alcoolique qui permet un blocage transitoire des réactions enzymatiques (rétablies au moment de l'emploi en diluant dans de l'eau).
- **Les EPS** : Ce sont des extraits fluides de plantes fraîches Standardisés, obtenus après congélation rapide de plantes fraîches sélectionnées, puis cryobryage, puis extraction avec des degrés alcooliques différents, puis évaporation et ajout de glycérine. Ces extraits permettent d'extraire un très grand nombre de molécules actives de la plante, en minimisant les dégradations. Au cabinet vétérinaire, nous utilisons principalement des Teintures Mères et des EPS (Hamaïdia Hakima et Chefrou Mohamed, 2005).

6-Les plantes antidiabétique :

Dans les pays « riches » où le traitement du diabète (insuline- médicaments) est d'un accès facile, il est apparu intéressant d'utiliser la phytothérapie, seule ou en complément, pour diminuer la dose de médicaments synthétiques, mais aussi parce que certains phytomédicaments semblent en même temps capables de lutter contre les complications du diabète (sclérose des vaisseaux sanguins, dépôt athéromateux, artérites et artériolites, hypertension, infections).

Ardemment, plus de 1123 plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré (Marles et Farnsworth, 1999). Cependant, juste une minorité de ces plantes connaissent une évolution scientifique, citons essentiellement, *Momordica charantia*, *Catharanthus roseus*, *Trigonella foenum-graecum*, *Allium cepa*, *Allium sativum*, et autres (Al- Achi, 2005) Ce qui est remarquable, c'est l'existence de plusieurs composés d'origine végétale, semblent donner cet effet bénéfique. Leur nature différente les fait agir à différents sites.

o Deux types de substances végétales semblent intéressants :

- Celles qui agissent à la manière de l'insuline ou des autres médicaments hypoglycémiantes :

- En empêchant l'absorption du glucose au niveau intestinal ;
 - En augmentant la synthèse et la libération de l'insuline pancréatique ;
 - En diminuant celle du glucagon ;
 - En accélérant la consommation du glucose sanguin (absorption dans les cellules, synthèse du glycogène, des graisses ou des protéines).
- D'autres, principalement des tanins,
- Agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en favorisant l'action de l'insuline (en diminuant la résistance à l'insuline) ;
 - Et sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti-enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus (Jean, 2003).
 - Certains extraits de plantes contiennent parfois ces deux types de substances.

❖ Quelques exemples :

D'autres espèces végétales réputées antidiabétiques semblent agir à des niveaux différents. Leurs principes actifs sont de nature organique: polysaccharides, acides aminés (Al-Achi, 2005), flavonoïdes, saponosides, acides gras, alcaloïdes (Marles et Farnsworth, 1999), ou de nature minérale, tel que chez *Atriplex halimus* où le chrome organique (Glucose Tolérance Factor: GTF) régule la glycémie en potentialisant l'effet de l'insuline (Aharonson et al., 1969)

A côté du chrome, le vanadium, un insulino-mimétique (Thompson et Godin, 1995) utilisé pour le contrôle de la glycémie (Dey et al., 2002). Des études ont montré que cet élément améliore la tolérance au glucose par son mécanisme au niveau post-récepteur (Thompson et Godin, 1995). D'autres minéraux tels que le magnésium (Dey et al., 2002), le cuivre, le sélénium et le fer ont également des effets bénéfiques (Ducros et Favier, 2004). Alors, la plante constitue une source naturelle. Elle contient en effet, des principes actifs servant comme prototype pour la chimie de synthèse.

Tableau 1 : Quelques exemples des plantes antidiabétiques

Composé	Nature chimique	Source	Mécanisme d'action possible
Polypeptide P	Polypeptide	<i>Momordica charantia</i>	Insulino-mimétique administré par voie sous cutanée chez des diabétiques de type 1.
			Mécanisme d'action exacte reste inconnu.
			Des études ont rapporté que :
			Le jus de <i>M. charantia</i> peut améliorer la tolérance au glucose chez les diabétiques de type 2.
Charantine	Hétéroside stéroïdique	<i>Momordica charantia</i>	L'extrait aqueux de <i>M. charantia</i> diminue la glycémie post prandial avec une réduction du taux de l'hémoglobine glycosylé
		<i>Momordica foetida</i>	Augmente l'utilisation hépatique du glucose et inhibe la néoglucogenèse, il réprime l'insulinorésistance en augmentant le taux des transporteurs membranaires de glucose
Catharantine			
Leurosine			
Lochnerine			
Tetrahydroalstonine	Alcaloïde	<i>Catharanthus roseus</i>	Il était difficile d'étudier ces composés vu leur toxicité élevée
Vindoline			
Vindolinine			
Trigonelline	Alcaloïde	<i>Trigonella</i>	Les études réalisées sur les extraits bruts ont montré les effets suivants:

		<i>foenum- greacum</i>	Diminution de la glycémie post prandial.
			Diminution du taux de glucagon, somatostatine, insuline, cholestérol total et des triglycérides avec une augmentation de taux d'HDL-Cholestérol.
			Resensibilisation des cellules à l'action de l'insuline
Allyl propyl Disulfide	Dérivés de la cystéine	<i>Allium cepa</i>	Ces deux composés semblent agir par compétition avec l'insuline sur son récepteur.
Diallyl disulfide oxyde	Dérivés de la cystéine	<i>Allium sativum</i>	
Ginsenosides	Hétéroside stéroïdique	<i>Panax ginseng</i>	La plante provoque une augmentation du nombre des transporteurs de glucose au niveau du foie avec stimulation de la synthèse de l'insuline.

7-Domains d'application des plantes médicinales :

❖ Utilisation en médecine :

En tant que médicament pour l'homme :

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordre nerveux. (Svoboda et Hampson, 1999).
- Système cardiovasculaire comme Flavoce (Narayana, 2000).
- Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (*Malaleuca alternifolia*, *Echinacea angustifolia*) (Svoboda et Hampson, 1999 ; Pedneault, 2001 ; Amjad Hossain, 2005).

- Contre le diabète (*Azadirachta indica*, *Amnona squamosa*, *Musanga cecropioides*...etc) (Annie dhiwarcar, 2004 ; Amjad Hossain, 2005 ; Adeneye, 2007).
- Les maladies de stress, des activités antioxydantes, tel le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composés phénoliques, parmi lesquels théaflavine, le resveratrol, le gallate et épigallocatechine procyanidine très étudié en raison de leur rôle en tant qu'agent chemopreventifs basés sur leurs capacités antioxydantes (Lee et al., 2003).
- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire: Les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques comme la quinine.

❖ **En agriculture:**

Exemple: l'arbre *Azadirachta indica*, qui se développe dans tout subcontinent indien, est une des plantes médicinales les plus importantes en Bangladesh, de 12 à 18 mètres de hauteurs avec un périmètre atteignant jusqu'à 1,8 à 2,4 mètres. Les huiles de cet arbre ont des utilisations dans l'agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites) (Amjad Hossain, 2005).

❖ **En alimentation :**

Assaisonnements, des boissons, des colorants (Svoboda et Hampson, 1999 ; Porter, 2001) et des composés aromatiques (Smallfield, 2001). Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsables des plaisirs de la table (Delaveau, 1957), considérées comme condiments et aromates.

La popularité des épices et des herbes aromatiques a été et reste liée à leurs propriétés organoleptiques. La notion de flaveur des épices et aromates recouvre l'ensemble des perceptions olfacto- gustatives. Ces perceptions résultent de stimuli générés par une multitude de composés organiques dont certains sont volatils et constituent ce qu'on appelle en général l'huile essentielle. Les autres non volatils, sont plus particulièrement responsables de la saveur et de la couleur (Richard et Multon, 1992 ; Takoeka, 1998 ; Belitz et Grosh, 1999).

❖ **En cosmétique :**

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (Porter, 2001)

II Etude de la plante sélectionnée :

A partir des recherches antérieures qui sont déjà faites, et les usages traditionnels appliqués par les autochtones algériens; on a sélectionné :

❖ *Vitis vinifera* :

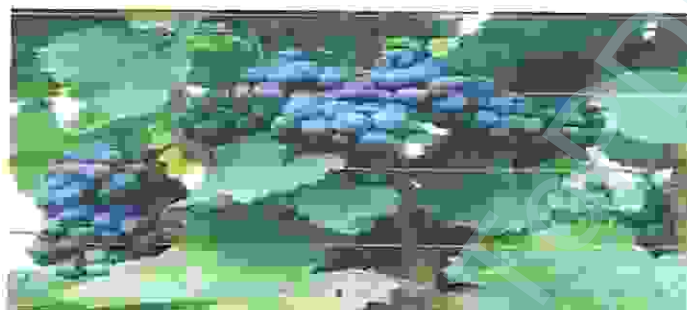


Figure 03 : Représente la plante de *Vitis vinifera* (Anonyme 01)

1- Origine : La viticulture est l'une des activités agricoles les plus anciennes. La vigne appartient à la famille des Vitacées, une famille de plantes grimpantes et vigoureuses. Il a retrouvé durant des fouilles archéologiques des accumulations de pépins de raisin qui laissent penser que le vin est élaboré par l'homme depuis l'époque néolithique. Ces témoignages du passé ont été découverts en Turquie, au Liban et en Syrie. Très tôt les viticulteurs ont essayé de tirer parti de tous les produits de la vigne, c'est ainsi que les qualités des pépins de raisin ont été étudiées et mise à profit (Anonyme 02).

2 - Classification :

➤ Classification classique :

Règne : Plantae

S / règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

S / Classe : Rosidae

Ordre : Rhamnales

Famille : Vitaceae

Genre : *Vitis*

Espèce : *Vitis vinifera*

➤ **Classification phylogénétique :**

Ordre : Vitales

Famille : Vitaceae

3- Description botanique :

Vitis vinifera est une liane ligneuse, grimpant dans les arbres et pouvant parfois atteindre 30-40 m de longueur. Quand elle est jeune, elle rampe sur le sol à la recherche d'un arbuste sur lequel se fixer pour pouvoir grandir avec lui.

Les feuilles sont alternes et opposées aux vrilles ou aux raisins. Elles sont palmatilobées, orbiculaires, découpées en 3 lobes bien marqués surtout sur les pieds mâles et dotées d'un grand sinus pétiolaire très ouvert.

La fleur petite, verdâtre, comprend un calice à 5 dents, 5 pétales soudés entre eux au sommet, 5 étamines opposé pétales, un ovaire à 1 ou 2 loges renfermant chacune 1 ou 2 graines arrondies.

Le fruit porté par les individus femelle, est une baie de 6 mm environ, noire, pourpre, rose ou blanchâtre (Anonyme 03).

4 - Composition phénolique du raisin :

Tableau 2 : composition du raisin

ACIDES PHENOLS		
ACIDES HYDROXYBENZOIQUES acide gallique, acide protocatéchique, ac. Syringique		ACIDES HYDROXYCINNAMIQUES acide caféoyltartrique, ac. caféïque (amer), ac. p-coumaroyltartrique
FLAVONOIDES		
FLAVANOLS (épi) catéchol, (épi) gallocatéchol	ANTHOCYANIDOLS (instables) Malvidol, cyanidol, delphinidol, pétunidol, paenidol	FLAVONOLS Myricétol, quercétol
PROANTHOCYANIDOLS oligomères (pépins, pellicule → astringence) Procyanidol B1, B2, B3, B8 Procyanidol A2	ANTHOCYANOSIDES (pellicule → pigment rouge du raisin et du vin) Malvidol 3-glucoside, delphinidol 3-glucoside pétunidol 3-glucoside	HETEROSIDES DE FLAVONOLS (pellicule → protection contre UV) Myricétol 3-glucoside, quercétol 3-glucoside, rutine
STILBENES		
trans-resvératrol, cis-resvératrol, trans-picéide, cis-picéide (pellicule → réponse au stress pathogène)		

➤ Les flavonoïdes présents dans le raisin peuvent eux-mêmes être regroupés en trois groupes :

- les flavanols et leurs oligomères (proanthocyanidols ou tanins condensés)
- les anthocyanidols libres mais instables, que l'on retrouve sous forme hétérosides nommés anthocyanosides (ou anthocyanés)
- les flavonols et leurs formes hétérosides

- Les **tanins condensés** (ou proanthocyanidols) des pépins sont extraits lors de la macération. Ils fournissent au vin son caractère tannique, astringent, « charpenté ». Ils sont de couleur jaune orangé.
- Les **anthocyanosides** (ou anthocyanes) sont des pigments colorés situés dans la pellicule de la baie du raisin noir. Ils sont responsables des couleurs rouge-rubis-pourpre du raisin et du vin. Les flavonols qui jouent un rôle de protection contre les rayons UV se trouvent dans la pellicule des baies. Ils se rencontrent principalement sous forme glucosides.
- Les **composés phénoliques** sont concentrés pour l'essentiel dans les pépins et la pellicule pépins (64%) > pellicule (30%) > jus et pulpe (Maier et al., 2009).

5- Extraction d'huile de pépin de raisin :

Les pépins de raisin renferment une grande proportion de lipides, d'où la possibilité d'en extraire une huile. Selon les conditions climatiques, les variétés et la maturation des fruits, les pépins de raisin peuvent contenir de 5 à 20 % d'huile : plus généralement la teneur en huile se situe entre 12 et 13 %. Il faut donc environ 50 kg de pépins pour produire 1 litre d'huile, ce qui représente 500 kg de raisin pour 1 litre d'huile.

Les pépins sont séchés en provenance des distilleries et subissent une première pression pour former des petits pellets ; ceux-ci sont ensuite dirigés vers une unité d'extraction par solvant (hexane). L'huile brute ainsi obtenue, très colorée, doit être raffinée : la présence de cire très fine nécessite une étape de wintérisation qui peut se faire en deux temps :

- l'huile dénucléinée et neutralisée subit un premier refroidissement à 5°C ; après un délai de maturation, l'huile est ramenée à 12°C pour subir une centrifugation.
- un second tempérage à l'ambiante précède le lavage et la décoloration, suivie de la post-wintérisation : l'huile est alors filtrée (Beveridge et al., 2005).

6- Propriétés d'huile de pépin de raisin:

- riche en acides gras essentiels alliés à une grande fluidité, ce qui en fait une excellente huile de massage.
- Grâce à sa teneur en acide linoléique, elle régénère les membranes cellulaires, restructure les tissus et protège la peau.

- Elle a également des propriétés **antioxydants** et contribue à lutter contre les effets du vieillissement.
- Elle s'avère très utile pour le soin des mains.
- Elle est également une bonne huile alimentaire ; utilisée en alimentation pour la friture et l'assaisonnement.
- anti-cholestérol et sa contribution dans la prévention des maladies cardiovasculaires de par son action antithrombotique ont été mises en évidence.
- Riche en vitamines A, B et C, E
- elle contient de nombreux oligo-éléments dans un équilibre parfaitement assimilable par l'organisme (Anonyme 02).

III L'avenir de la phytothérapie :

La phytothérapie continuera-t-elle à être appréciée à sa juste valeur, c'est-à-dire comme un large éventail de traitements équilibrés, sains, économiques et écologiques, où ne sera-t-elle qu'une nouvelle activité économique devant impérativement générer des bénéfices immédiats ? Convaincre les milieux médicaux, généralement sceptiques, que la phytothérapie n'est pas seulement un substitut marginal à la médecine conventionnelle mais bien une forme de médecine efficace est une autre affaire. Au début des années 1990, une étude a montré l'effet de certaines plantes chinoises sur des patients souffrant d'eczéma. Ainsi, l'ajout d'une seule plante chinoise aux dix autres contenues dans une préparation a provoqué une amélioration de l'état de santé d'un patient jusqu'alors insensible au traitement. Des progrès de cette nature ont été obtenus en adaptant les soins aux besoins des patients et en traitant les causes des maladies. Cette approche est très éloignée de la conception défendue par la médecine moderne, selon laquelle, pour une maladie donnée, il n'existe qu'un seul traitement. En associant savoir traditionnel et acquis de la science, l'exemple chinois aidant, on peut envisager le moment où un patient choisira le traitement qui lui est approprié.

***PARTIE
PRATIQUE***

Produced with ScanTOPDF

Matériel & Méthodes



Unité de travail



I-Etude phytochimique

1- Matériel végétal :

Nous s'intéressons dans notre travail à déterminer la composition chimiques de raisin et de tester l'effet hypoglycémique d'huile de pépin de raisin.

Le matériel végétal (les fruits de raisin) utilisé pour l'étude phytochimique est acheté de la wilaya de Guelma le mois d'Avril en 2012. Il est nettoyé puis mis à sécher à température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière. Le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à déterminer la composition chimique de raisin.

2- Tests préliminaires de la composition chimique :

⚡ Flavonoïdes :

❖ Extraction :

On a macéré 10g de la poudre sèche dans 150 ml d'HCl dilué à 1% pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant.

❖ Caractérisation générale :

Prendre 10 ml du filtrat, le rendu basique par l'ajout du NH_4OH .

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

⚡ Tanins :

❖ Extraction :

Dans un Erlenmeyer, on a dispersé 5 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, nous avons filtré et complété le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

❖ Caractérisation générale :

Dans un tube à essais, nous avons introduit 5 ml d'infusé à 5 % puis nous avons ajouté 1 ml de solution aqueuse de FeCl_3 à 1 %.

En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (Edeoga1 et al., 2005).

❖ **Différenciation des tanins :**

▪ **Tanins Catéchiques :** Oxydation des tannins condensés:

A 5 ml de solution à 5%, nous avons ajouté 5 ml d'HCl concentré. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 minutes puis filtré sur papier filtre.

En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge (Edeoga1 et al., 2005).

▪ **Tanins Galliques :** Précipitation par le réactif de Stiasny :

A 30 ml de solution à 5 %, nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % et 5 ml d' HCl concentré), puis nous avons chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5g d'acétate de sodium. Nous avons alors ajouté 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl3 à 1 %.

L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (Edeoga1 et al., 2005).

✦ **Saponosides :**

❖ **Extraction :**

Nous avons porté à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml puis ajouté 1g de poudre ensuite nous avons maintenu une ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, nous avons ajusté le filtrat à 100 ml.

❖ **Caractérisation générale :**

Dans un tube à essais nous avons rempli 1ml du décocté à 1 % préparé et ajusté le volume à 10 ml avec l'eau distillée. Ensuite, nous avons agité le tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Pour confirmer la présence de saponosides.

Il faut qu'une mousse apparaisse après avoir laissé au repos pendant 15 mn le tube à essais (Karumi et al., 2004).

⚡ Cardénolides cardiotoniques :

❖ Extraction :

On a Macéré 1g de la poudre dans 20 ml d'eau distillé et filtrer, prélever 10 ml du filtrat, l'extraire avec un mélange de 10 ml de CHCl_3 et de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Evaporer la phase organique et dissoudre le précipité dans 3 ml de CH_3COOH , ajouter quelques gouttes de FeCl_3 suivi de 1 ml de H_2SO_4 concentré sur les parois du tube à essai.

Un test positif est révéle par l'apparition d'une couleur verte-bleu dans la phase acide (Dohou et al., 2003).

⚡ Stérols et terpènes :

❖ Extraction :

On a prend 5g de la poudre, la dissoudre dans 210 ml d'éther de pétrole, filtrer puis évaporer.

❖ Caractérisation générale :

Le résidu obtenu est dissout dans 0,5 ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5 ml de CHCl_3 . les deux solutions sont transférées dans un tube essai, puis on ajoute 1 ml d' H_2SO_4 concentré.

La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols terpéniques (Dohou et al., 2003).

II- Partie Biologique :

1-Phase d'adaptation :

Notre étude a été réalisée sur 16 souris (males), adultes âgés de 6 semaines pesant (28- 39 g) provenant de l'institut Pasteur d' Alger. Les souris sont élevées dans des cages en plastique grillagées. Ces cages sont tapissées d'une litière composée de copeaux de bois. Le nettoyage des cages et le changement de la litière sont réalisés quotidiennement. Les souris acclimatés aux conditions de notre animalerie (l'animalerie du département de biologie (université 08 Mai 1945 Guelma), pendant un mois (Mars –Avril 2012) à une température ambiante, et une photopériode de (12h / 12h). L'eau de boisson est servie dans des biberons ad libitum.

Tableau 03 : Composition de la nourriture.

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

2- Induction du diabète :

L'alloxane ou mésoxalylurée est un composé organique possédant un squelette pyrimidine hétérocyclique. Le composé a une forte affinité pour l'eau, il existe principalement à l'état de monohydrate.

❖ Préparation de l'alloxane et introduction du diabète

Le diabète est introduit chez les souris par injection intrapéritonéale d'Alloxane à dose de 150 mg/kg de poids corporel de souris (Meni et Vakou., 2010).

L'alloxane est dissoute dans une solution saline fraîche (eau physiologique) juste avant l'utilisation. À jeun Avec une glycémie supérieure ou égale à 200 mg/dl les souris sont considérés diabétiques.

3- Mode de traitement :

Les 16 souris (8 normaux et 8 diabétiques) ont été répartis en 4 lots de 4 souris

GROUPE 1 : témoin sain reçoit l'eau distillée.

GROUPE 2 : témoin diabétique reçoit l'eau distillée.

GROUPE 3 : diabétique traité par l'huile de pépin de raisin à dose de 0.1ml/kg (Al-Attar, 2004).

GROUPE 4 : sain traité par l'huile de pépin de raisin à dose de 0.1ml/kg.

Le traitement est fait aux souris par gavage (*per os*) à l'aide d'une seringue une fois par jour pendant 21 jours (Quanhong et al., 2005).

4- Prélèvement sanguin :

Les prélèvements sanguins sont effectués par décapitation à la fin du traitement c'est à dire au 22^{ème} jour, les souris sont sacrifiées le matin. Les échantillons de sang sont récupérés dans des tubes Héparines, puis centrifugés 3000 tours / min pendant 15 min, le sérum est séparé dans des tubes Eppendorf, puis mis à (-20°C) jusqu'au moment du dosage.

5- Prélèvement des organes :

Le foie, le pancréas sont prélevés après la dissection des souris, puis débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9 %, puis pesés. Le pancréas est conservé dans une solution du Bouin alcoolique, jusqu'au moment de faire les coupes histologiques. Le foie est maintenu à (-20°C) pour le dosage du glutathion (GSH).

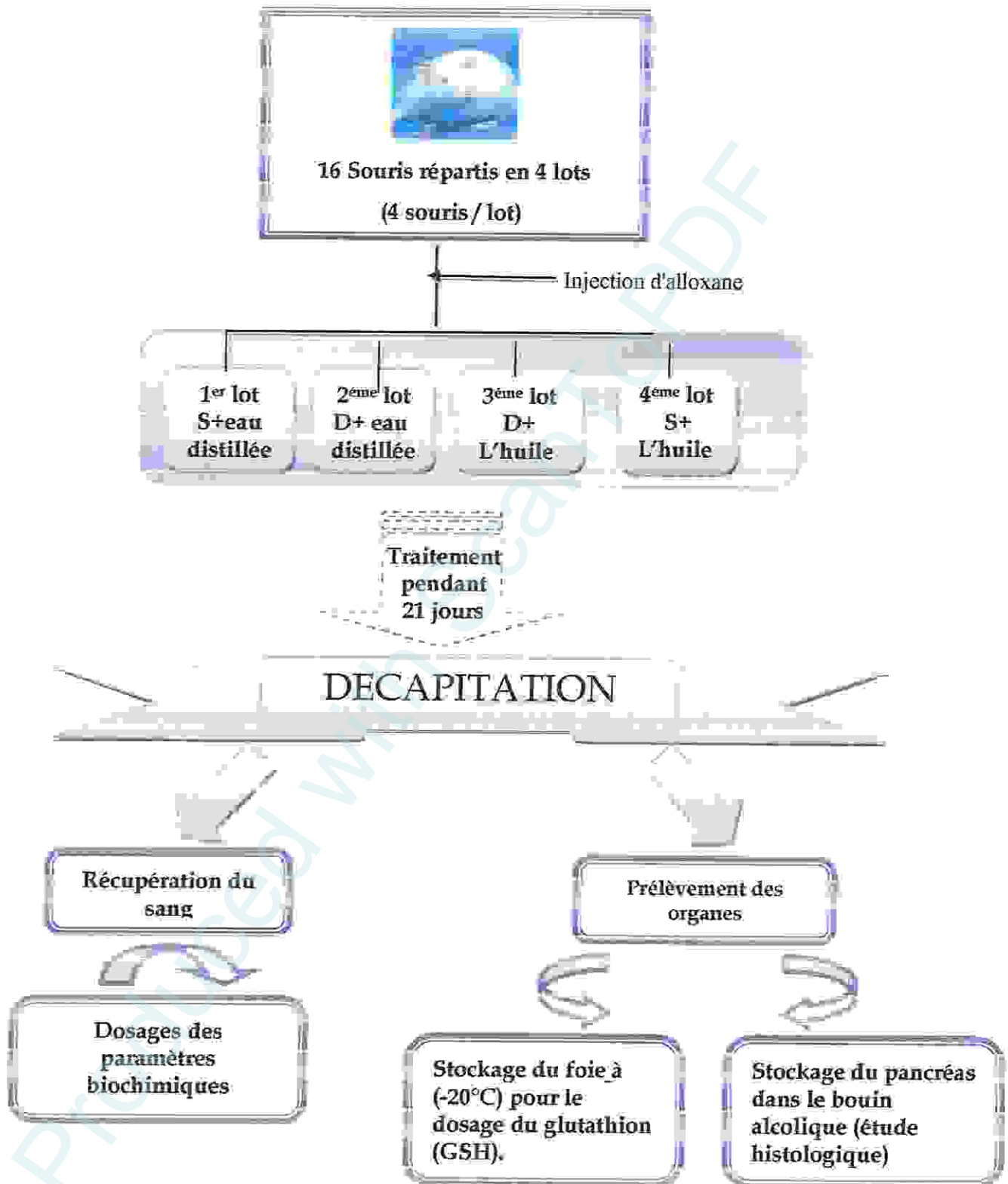


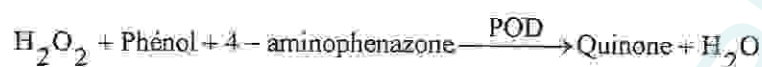
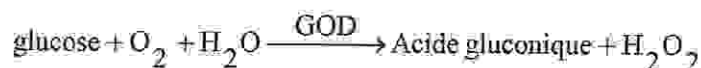
Figure 04: Schéma récapitulatif du Protocole expérimental.

III- Dosage des paramètres biochimiques :

1- Dosage du glucose : (Kaplan, 1984) selon la fiche technique Spinréact

❖ Principe :

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase et la peroxydase, selon les réactions suivantes :



❖ Echantillon : sérum.

❖ Les réactifs utilisés:

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁)	-Tris pH = 7.4	92 mmol/l
(Tampon)	-Phénol	0.3 mmol/l
Reactif (R ₂)	- Glucose oxydase (GOD)	15000 U/l
(Enzymes)	- Peroxidase (POD)	1000 U/l
	- 4- aminophenazone (4-AP)	2.6 mmol/l
Etalon	-Solution de Glucose	100 mg/dl

❖ Préparation de réactif de travail (RT):

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable un mois à 2-8 °C, ou 7 jours à 15-25 °C.

❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT	1 ml	1 ml	1 ml
Etalon	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Agiter bien et incuber pendant 10 min à 37 °C ou 15-20 min à 25 °C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et de standard à 505 nm contre le blanc, la couleur est stable pendant 30 min.

❖ Calcul:

La concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

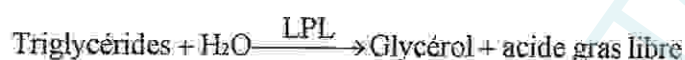
$$Glu\cos e\ (mg/dl) = \frac{(A)\ \text{échantillon}}{(A)\ \text{étalon}} \times 100$$

La concentration d'étalon = 100 mg/dl.

2- Dosage des triglycérides :(Buccolo et al., 1973) selon la fiche technique Spinréact

❖ Principe :

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres par la lipoprotéine-lipase (LPL). Le glycérol sous l'effet du glycérol kinase forme le glycérol -3- phosphate (GTP) qui est oxydé en H_2O_2 . Ce dernier forme avec le 4-aminophénazone et le p-chlorophénol en présence de peroxydase un complexe rouge, selon les quatre réactions suivantes:



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans les échantillons.

❖ Échantillon : Sérum.

❖ Les réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁)	- GOOD pH=7.5	50 mmol/l
Tampon	-P-Chlorophénol	2 mmol/l
	- Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/l
	-Glycérol kinase (GK)	500 U/l
Réactif (R ₂)	-Glycérol-3-oxidase (GPO)	2500 U/l
(enzymes)	-Peroxydase (POD)	440 U/l
	-4-Aminophénazone (4-AP)	0.1 mmol/l
	-ATP	0.1 mmol/l
Étalon	-Triglycéride aqueux primaire standardisé	200 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devient homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant 6 semaines à 2-8 °C ou une semaine à 15-25 °C

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (RT)	1ml	1ml	1ml
Étalon	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37°C ou 10 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc.

❖ **Calcul:**

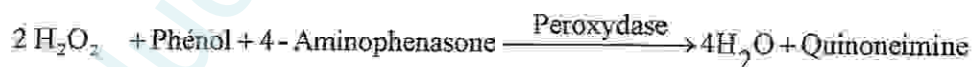
$$\text{Triglycérides (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

La concentration d'étalon = 200mg/dl.

3- Dosage du cholestérol : (Naito, 1984) selon la fiche technique Spinréact.

❖ **Principe:**

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante .



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

❖ **Echantillon :** Sérum.

❖ **Les réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R1)	-Pipes pH=6.9	90 mmol/l
Tampon	-Phénol	26 mmol/l
Réactif (R ₂) (enzymes)	- Cholestérol estérase. -Cholestérol oxydase. -Peroxydase.	300 U/l 300 U/l 1250 U/l
	-4-Aminophenase (4-AP)	0.4 mmol/l
Etalon	-Cholestérol aqueux primaire standardisé.	200 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
 - ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devienne homogène.
- Ce réactif (RT) est stable pendant 4 mois à 2-8 °C ou 40 jours à 15-25 °C.

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (RT)	1ml	1ml	1ml
Etalon	-----	10 µl	-----
Echantillon		-----	10 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc. La couleur est stable pendant 2 heures.

❖ **Calcul:**

$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

La concentration d'étalon = 200mg/dl.

4- Dosage des protéines dans le sérum : (Burtis et al., 1999) selon la fiche technique Spinréact:

❖ Principe :

Les protéines du sérum forment dans un milieu alcalin avec les ions de cuivre, un complexe coloré en bleu violet.

L'intensité de la couleur violette est proportionnelle à la quantité des protéines présentées dans l'échantillon.



❖ Echantillon : Sérum.

❖ Les réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R)	-Sodium Potassium Tartrate.	15 mmol/l
	-Sodium iodique.	100 mmol/l
	-Potassium iodique.	5 mmol/l
	- Sulfate de cuivre	19 mmol/l
Étalon	- Sérum Bovin Albumine	7 g/dl

❖ Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif (R)	1ml	1ml	1ml
Étalon	-----	25 µl	-----
Echantillon	-----	-----	25 µl

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C.

✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 540 nm contre le blanc. La couleur est stable pendant 30 min.

❖ Calcul:

$$\text{Protéines (g/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 7$$

La concentration d'étalon = 7 g/dl.

5- Dosage d'Albumine : (Koller, 1984) selon la fiche technique Spinréact❖ **Principe :**

L'albumine réagit avec le vert de bromocrésol (BCG), pour former un complexe coloré. Le pH du milieu est maintenu à 4.2 par un tampon. Après une agitation d'environ 30 secondes, l'absorption du mélange est mesurée au spectrophotomètre

❖ **Echantillon :** Plasma❖ **Réactifs**

Réactif	Composition	Concentration
R1	Vert de bromocrésol	0.14 g/l
	Tampon succinate pH 4,2	75 mmol/l
	Brige 35	7 ml/l
Calibrant Albumine	- Sérum Bovin Albumine	50 g/dl

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (R)	5ml	5ml	5ml
Etalon	-----	20 µl	-----
Echantillon	-----	-----	20 µl

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 5 minutes à 37⁰ ou 10 minutes à 25⁰ puis on lit la densité optique DO à 628 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

❖ **Calcul :**

$$\text{Albumine (g/l)} = \frac{Do \text{ échantillon}}{Do \text{ étalon}} \times 50 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

6- Dosage de la créatinine : (Murray, 1984), selon la fiche technique Spinréact❖ **Principe:**

La créatinine forme dans un milieu alcalin avec l'acide picrique, un complexe rouge. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.

- ❖ Echantillon : Sérum.
- ❖ Les réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁)	- Acide picrique.	17.5 mmol/l
Réactif (R ₂)	- Hydroxyde de sodium.	0.29 mmol/l
Étalon	- Créatinine (solution).	2 mg/dl

- ❖ Préparation de réactif de travail (RT):

- ✓ Mélanger bien un volume de (R₁) avec le même volume de (R₂).

Ce réactif (RT) est stable pendant 10 jours à 15-25 °C

- ❖ Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif (RT)	1ml	1ml	1ml
Étalon	-----	100 µl	-----
Echantillon	-----	-----	100 µl

- ✓ Mélanger et lire l'absorbance (A) de l'échantillon, de l'étalon et de blanc à 492 nm contre l'eau distillé après 30 s (A₁) et après 90 s (A₂).

- ✓ Calculer: $\Delta A = A_2 - A_1$

- ❖ Calcul :

$$\text{Créatinine (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Echantillon} - \Delta A \text{ Blanc}}{\Delta A \text{ Etalon} - \Delta A \text{ Blanc}} \times 2$$

La concentration d'étalon = 2 mg/dl.

7- Dosage de l'acide urique : (Schultz, 1984) selon la fiche technique Spinréact

- ❖ Principe:

L'acide urique est oxydé par uricase à allantoïne et eau oxygénée (2H₂O₂) qui sous l'influence de peroxydase (POD), 4-Aminophenase (4-AP) et le 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS) forme un complexe rouge (quinoneimine).





L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon.

❖ **Echantillon** : Sérum

❖ **Les réactifs utilisés** :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R₁)	- Phosphate pH = 7.4	50 mmol/l
(Tampon)	-2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS)	4 mmol/l
Réactif (R₂)	- Uricase.	60 U/l
(Enzymes)	- Peroxydase (POD).	660 U/l
	- Ascorbate oxydase.	200 U/l
	-4-Aminophenaseone (4-AP)	1 mmol/l
Étalon	- Acide urique aqueux primaire standardisé.	6 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devient homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant un mois à 2-8 °C ou 10 jours à 15-25 °C

❖ **Mode opératoire** :

	Bianc	Étalon	Echantillon
Réactif (RT)	1ml	1ml	1ml
Étalon	-----	25 µl	-----
Echantillon	-----	-----	25 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 520 nm contre le blanc. La couleur est stable pendant 30 min.

❖ **Calcul:**

$$\text{Acide urique (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 6$$

Concentration de l'étalon = 6 mg/dl.

8- Dosage de l'activité d'Aspartate aminotransférase ASAT (TGO) et d'Alanine aminotransférase ALT (GPT): (Murray, 1984), selon la fiche technique Spinréact.

❖ Principe:

Les transaminases TGO et TGP présentes dans le sérum catalysent le transfert du groupement amine du glutamate vers l'oxaloacétate et le pyruvate dans des réactions réversibles. L'activité de ces enzymes est proportionnelle à la quantité du pyruvate ou l'oxaloacétate formée après une réaction avec 2,4 - Dinitrophénylhydrazine (DNPH) dans un milieu alcalin.

❖ Echantillon : Sérum.

❖ Les réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R _{1a}) (Substrat TGO)	-DL-Aspartate. -α-cétoglutarate.	100 mmol/l 2 mmol/l
Réactif (R _{1b}) (Substrat TGP)	-DL-Alanine. -α-cétoglutarate.	200 mmol/l 2 mmol/l
Réactif (R ₂)	-2,4-Dinitrophenylhydrazine (DNPH).	1 mmol/l
Etalon	-Etalon de pyruvique.	1.2 mmol/l
NaOH	- Hydroxyde de sodium.	0.4 N

❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon
Réactif (R _{1a}) GOT	0.5 ml	-----
Réactif (R _{1b}) GPT	-----	0.5 ml

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37°C, ensuite ajouter:

Echantillon	100 µl	100 µl
-------------	--------	--------

✓ Mélanger et retourner les tubes au bain marié.

Réactif (R ₂)	0.5 ml	0.5 ml
---------------------------	--------	--------

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 20 min à 15-25°C.

NaOH 0.4N	5 ml	5 ml
-----------	------	------

- ✓ Mélanger et incubé pendant 5 min à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm contre l'eau distillée. La couleur est stable pendant une heure.

❖ **Calcul:**

Les absorbances (A) obtenues sont rapportées sur la courbe d'étalonnage.

❖ **Courbe d'étalonnage :**

Tube	1	2	3	4	5	6
Eau distillée	0.2 ml	0.2 ml	0.2ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2ml
R _{1a} ou R _{1b}	1 ml	0.9 ml	0.8ml	0.7 ml	0.6 ml	0.5ml
Etalon	0.0 ml	0.1 ml	0.2ml	0.3 ml	0.4 ml	0.5ml
DNPH	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

- ✓ Mélanger et incubé les tubes pendant 20 min à 15-25°C.

NaOH 0.4N	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
-----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

- ✓ Mélanger et incubé pendant 20 min.
- ✓ Lire l'absorbance (A) à 505 nm contre l'eau distillée.

TGO UI	00	11	27	46	72	104
TGP UI	00	12	24	40	62	-----

9- Dosage de la glutathion hépatique (GSH) : (Weakberker et al., 1988).

❖ **Principe:**

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements (-SH) du glutathion.

Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25 %) afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion.

❖ **Echantillon :** le foie.

❖ **Les réactifs utilisés et leurs préparations:**

- Tampon (Tris-EDTA):pH=9.6

Dissoudre 12.114 g de Tris (0.4M) et 1.8612 g d'EDTA (0.02M) dans 250ml d'eau distillée.

• **Solution de l'Acide sulfosalicylique 0.25 % :**

Dissoudre 0.25 g de la poudre dans 100 ml d'eau distillée.

• **Solution de DTNB (0.01 M):**

Dissoudre 79 mg de la poudre dans 20 ml de méthanol absolu 99%.

• **Solution d'EDTA (0.02M):**

Dissoudre 1.8612 g de la poudre dans 250 ml d'eau distillée.

❖ **Protocole expérimental :**

Les échantillons (250 mg de foie de chaque animal) sont mis individuellement en présence de 10 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0.02M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'ultrason (Soniffer B-30) pendant 35 secondes.

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat
- ✓ Ajouter 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0.25%.
- ✓ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à 1000 tours /min pendant 5 minutes.
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH = 9.6.
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB).
- ✓ Laisser pendant 5 minutes dans la température ambiante pour la stabilisation de la couleur.
- ✓ Lire l'absorbance optique à 412 nm contre un blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat.

❖ **Calcul:**

$$GSH \text{ (nM/mg prot)} = \frac{Do \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mg Prt}}$$

DO: densité optique.

1: le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml SSA).

1.525 : le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris EDTA + 0.025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement -SH à 412 nm).

0.8 : le volume du surnageant trouvé dans 1 ml.

0.5 : le volume du surnageant trouvé dans 1.525 ml.

10- Dosage des protéines hépatiques : (Bradford, 1976)

❖ Principe:

Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide orthophosphorique de l'éthanol aussi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (-NH₂) des protéines. L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines se fait selon la méthode de Bradford (1976).

❖ **Echantillon** : le foie.

❖ Les réactifs utilisés:

- Le bleu de coomassie G 250 (BBC).
- L'acide orthophosphorique.
- Sérum albumine de bovin (SAB).

❖ Préparation de réactif de Bradford :

- ✓ Dissoudre 100 mg de poudre de bleu de coomassie dans 50 ml d'éthanol (95%)
- ✓ Agiter le mélange pendant 2 heures avec un agitateur.
- ✓ Ajouter 100 ml de l'acide orthophosphorique (H₃PO₄) 85%.
- ✓ Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée.
- ✓ Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre.

Ce réactif est stable pendant 2 semaines à 4°C.

❖ Mode opératoire :

- ✓ Prélever 0.05 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 2.5 ml de réactif de Bradford.
- ✓ Agiter et laisser 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- ✓ Mesurer l'absorbance optique à 595 nm contre un blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé (0 -1 mg/ml de sérum albumine de bovin).

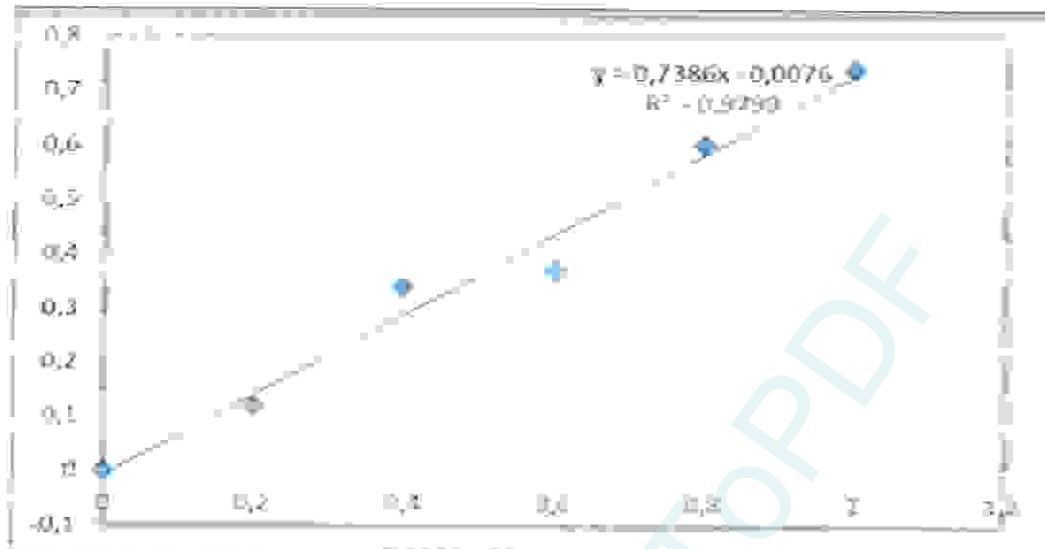


Figure 05 : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin.

IV- Etude histologique :

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

Pour chaque souris, on prélève un fragment du pancréas de 0.5 cm³, ces fragments sont mis directement dans du Bouin alcoolique, fixateur couramment utilisé (26 ml Formol, 7 ml acide acétique et 45 ml acide picrique de 95%). 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.

1- 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%).

2- 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.

3 - Coloration :

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

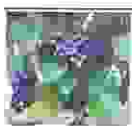
- a- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillé.
- b- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- c- Différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70% + 50 ml HCl) puis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

V- Etude statistique :

- Les résultats sont représentés sous la forme (moyenne \pm écart type) et les différences ont été considérées significatives à $P \leq 0,05$, hautement significatives à $P \leq 0,01$ et très hautement significatif $p \leq 0,001$
- Description des données : Grâce aux statistiques élémentaires, nous avons déterminé pour chaque lot expérimental les paramètres statistiques de base pondérale, biochimiques et hépatiques.
- A l'aide du test ANOVA, nous avons comparé les moyennes des paramètres étudiés deux à deux.
- Ces calculs ont été effectués à l'aide du logiciel ORIGINE 6.0 d'analyse et de traitement statistique des données.

Produced with ScanTopDF

Résultats & Interprétations



Document / 10 pages



Résultats et interprétation

I - Etude phytochimique :

I- Tests préliminaires de la composition chimique :

Les résultats du screening sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 04: Screening phytochimique de raisin.

Composé	Flavonoïdes	Tanins	Saponosides	Stérols et Terpènes	Cardénolides cardiotoniques
Observation	+	+	-	+	-

Les tests de la composition chimique réalisés sur le raisin révèlent la présence des flavonoïdes, des stérols et terpènes avec une prédominance des tanins. Par contre les cardénolides cardiotoniques et les saponosides ont été absents dans l'échantillon analysé.

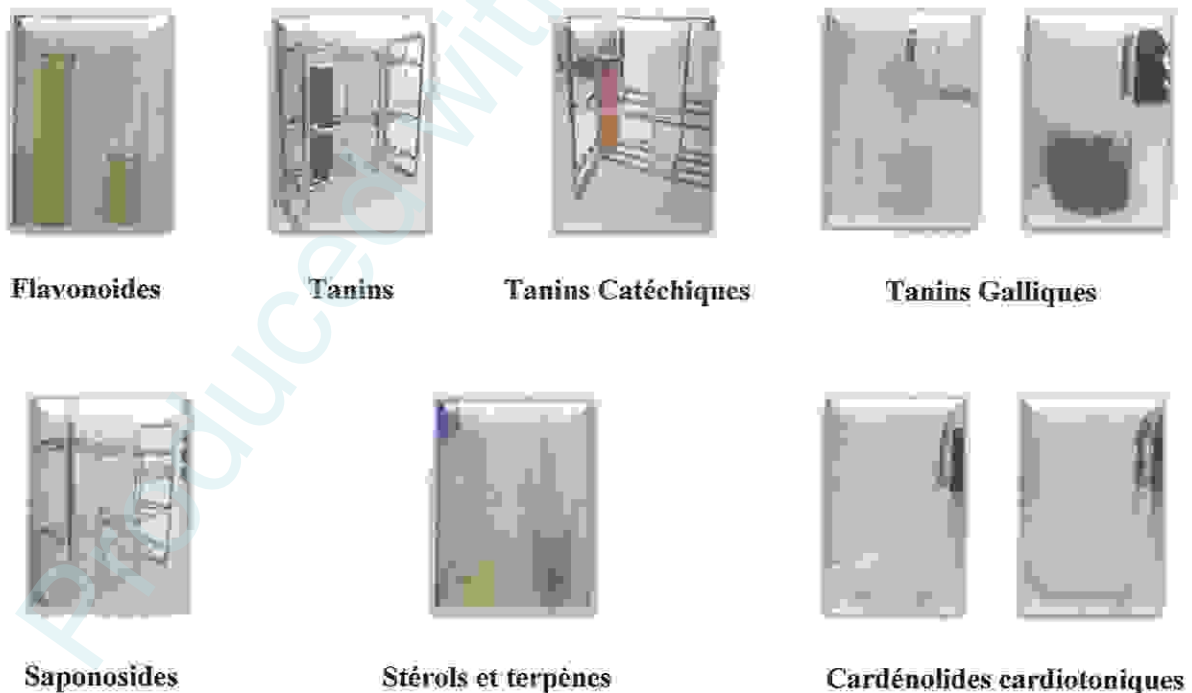


Figure 06 : Tests préliminaires de la composition chimique.

2-Étude biologique :

Tableau 05: Représente le gain du poids corporel (g)

Les souris				
	Sains	diabétiques	diabétiques	Sains
	Non traités	Non traités	traités	traités
	(n=4)	(n=4)	(n=4)	(n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
Gain du poids	20 ^a ± 15	-26 ^c ± 15	16 ^a ± 15	22 ^b ± 12.5

a,b,c,d sont des lettres alphabétiques. S'il y a une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il y a une différence significative ($p < 0.05$).

n: nombre des échantillons.

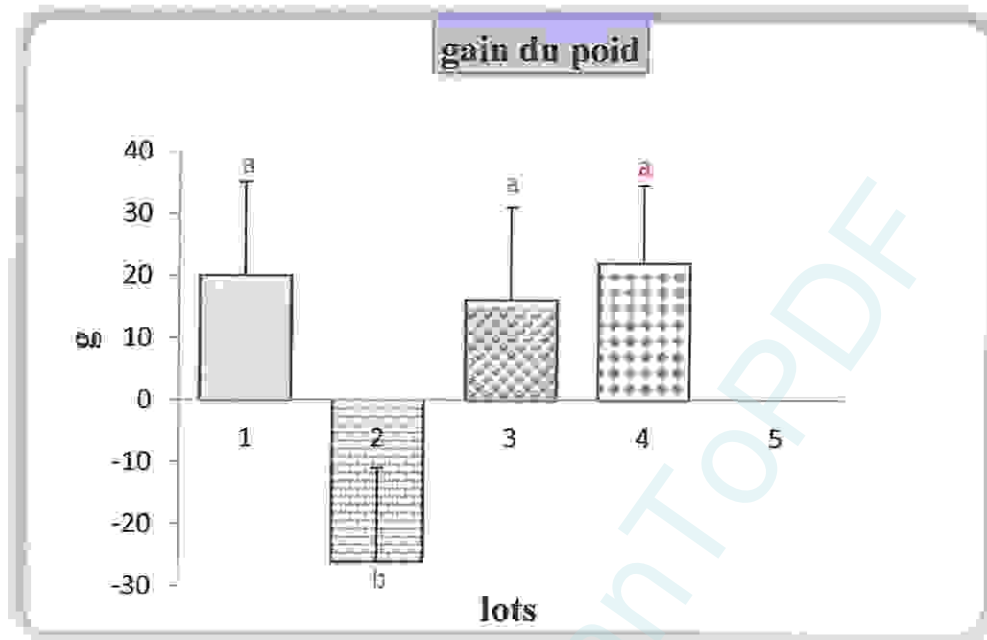


Figure 07 : Représente le gain du poids corporel chez les lots expérimentaux.

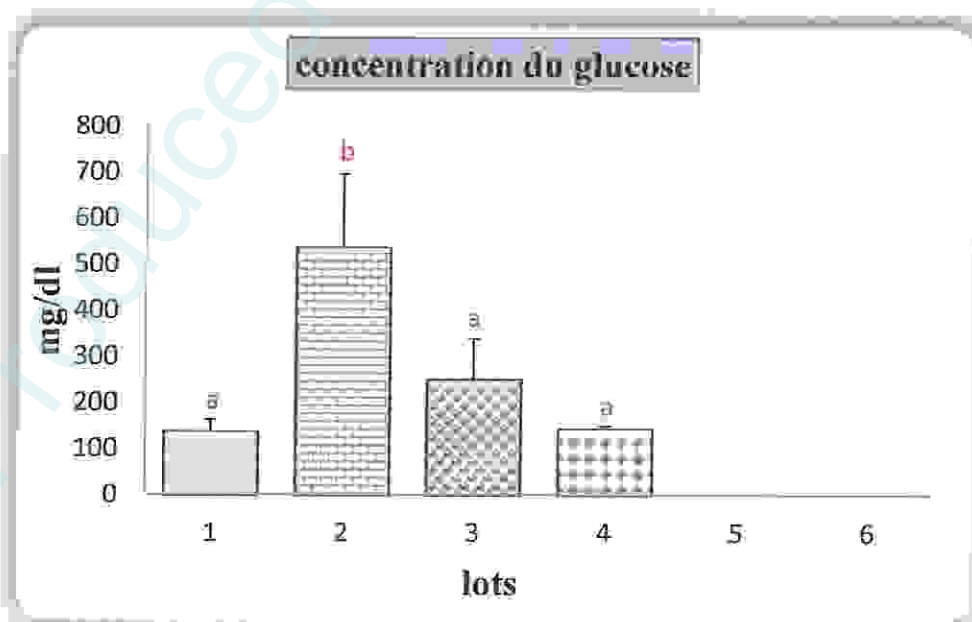
D'après le tableau 5 et la figure 7, on constate que le traitement par l'huile de pépin de raisin à la concentration 0.1ml/Kg a amélioré le gain du poids corporel en comparaison avec le lot diabétique non traité (DNT), cette amélioration est statistiquement très hautement significative ($P \leq 0,001$).

Tableau 06 : Représente la concentration sérique du glucose (mg/dl), des triglycérides (mg/dl) et du cholestérol (mg/dl) chez les lots expérimentaux.

Les souris				
	Sains	diabétiques	diabétiques	Sains
	Non traités	Non traités	traités	traités
	(n=4)	(n=4)	(n=4)	(n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
Glucose	136.25 ^a ± 26.75	537.5 ^b ± 158.5	249.5 ^c ± 89.5	142.25 ^d ± 6.75
Triglycérides	146 ^a ± 8.5	178 ^b ± 1.5	107 ^c ± 37	143.75 ^d ± 8.87
Cholestérol	1.225 ^a ± 0.112	1.98 ^b ± 0.18	0.84 ^c ± 0.36	0.975 ^d ± 0.525

a,b,c,d sont des lettres alphabétiques. S'il y a une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il y a une différence significative ($p \leq 0.05$).

n: nombre des échantillons.



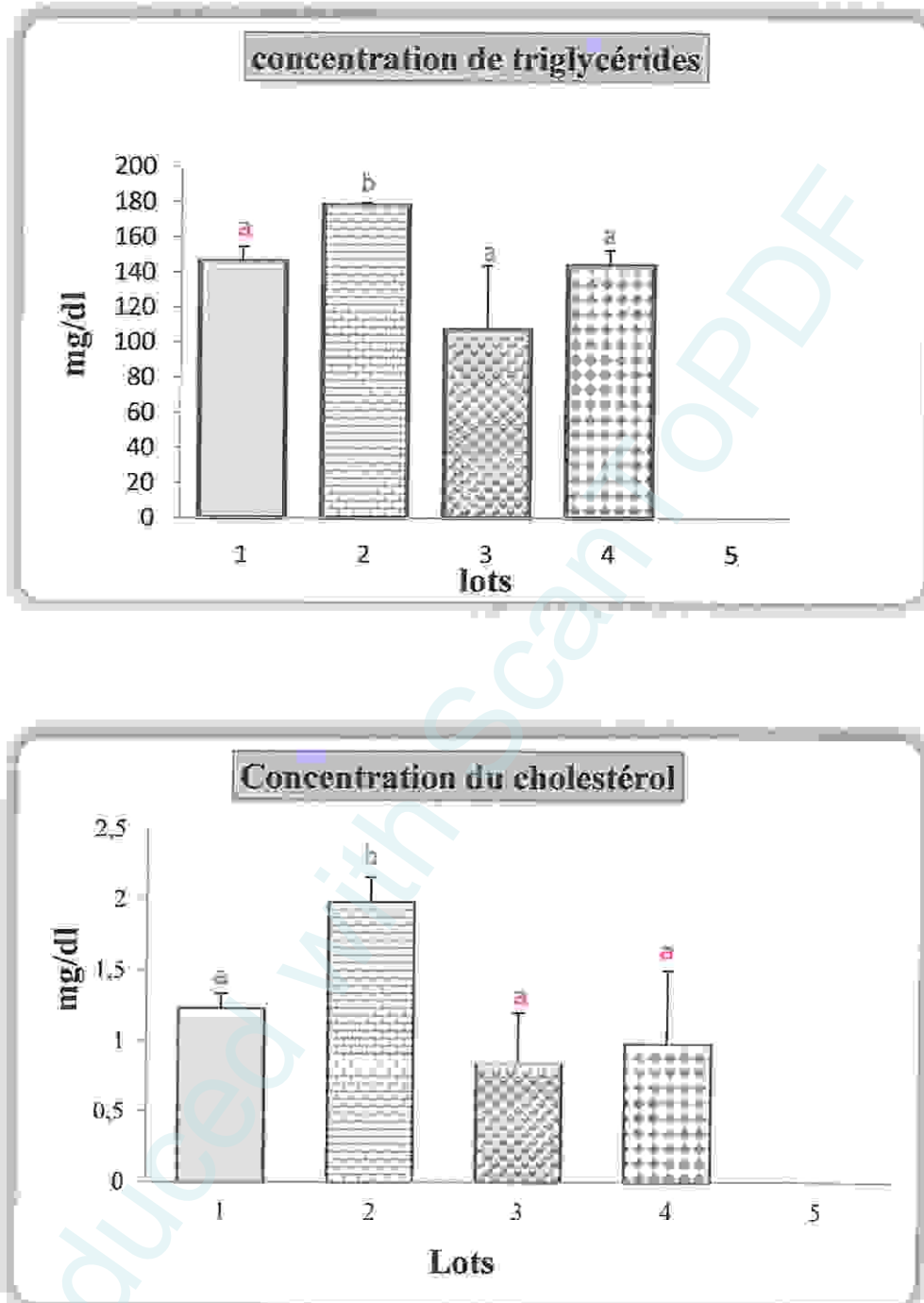


Figure 08 : L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, des triglycérides et du cholestérol chez les lots expérimentaux.

Nos résultats illustrent qu'il existe une diminution significative de la concentration sérique du glucose, des triglycérides et du cholestérol ($p \leq 0.05$) chez les souris diabétiques traitées par l'huile de pépin de raisin par rapport aux autres non traités.

Tableau 07 : Représente la concentration sérique de la créatinine (mg/l) et de l'acide urique (mg/l) chez les lots expérimentaux.

Les souris				
	Sains	diabétiques	diabétiques	Sains
	Non traités	Non traités	traités	traités
	(n=4)	(n=4)	(n=4)	(n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
Créatinine	1.75 ^a ± 1.24	6.39 ^b ± 1.44	2.95 ^b ± 0.77	2 ^a ± 0.95
Acide urique	0.65 ^a ± 0.092	0.845 ^b ± 0.007	0.61 ^a ± 0.096	0.677 ^a ± 0.082

a,b,c,d sont des lettres alphabétiques. S'il y a une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il y a une différence significative ($p \leq 0.05$).

n: nombre des échantillons.

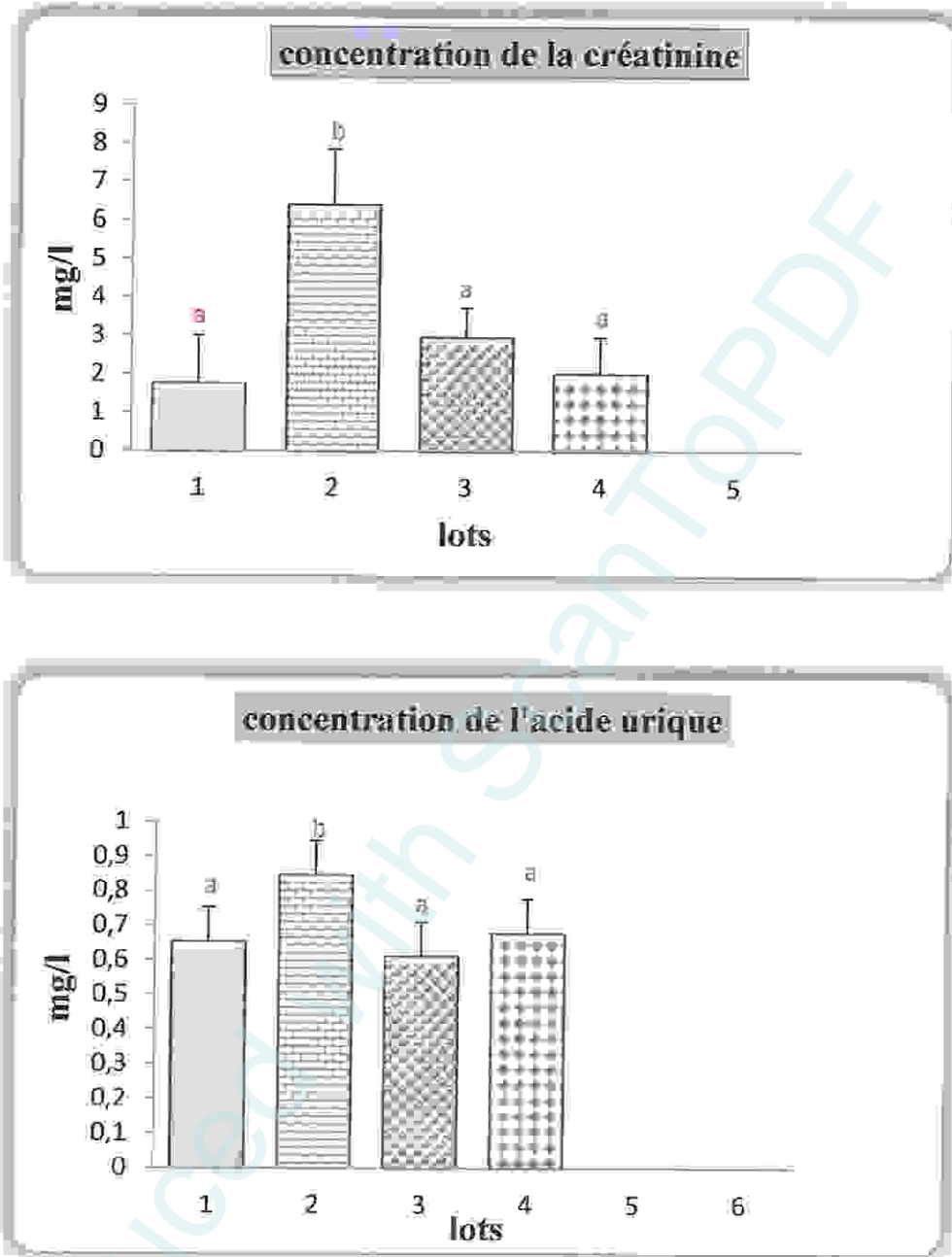


Figure 09 : L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique de la créatinine et de l'acide urique chez les lots expérimentaux.

Nos résultats montrent que l'administration d'huile pendant 21 jours aux souris diabétiques induit une diminution significative ($p \leq 0.05$) de la concentration sérique de la créatinine et de l'acide urique par rapport aux autres non traités.

Tableau 08 : Représente l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) (U/l) chez les lots expérimentaux.

Les souris				
	Sains	diabétiques	diabétiques	Sains
	Non traités	Non traités	traités	traités
	(n=4)	(n=4)	(n=4)	(n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
TGO	173.25 ^a ± 71.25	335.75 ^b ± 216.12	351 ^b ± 252	188.5 ^b ± 56.5
TGP	47.57 ^d ± 18.21	243 ^b ± 37.5	104.5 ^a ± 57.75	56.75 ^a ± 8.75

a,b,c,d sont des lettres alphabétiques. S'il y a une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il y a une différence significative ($p \leq 0.05$).

n: nombre des échantillons.

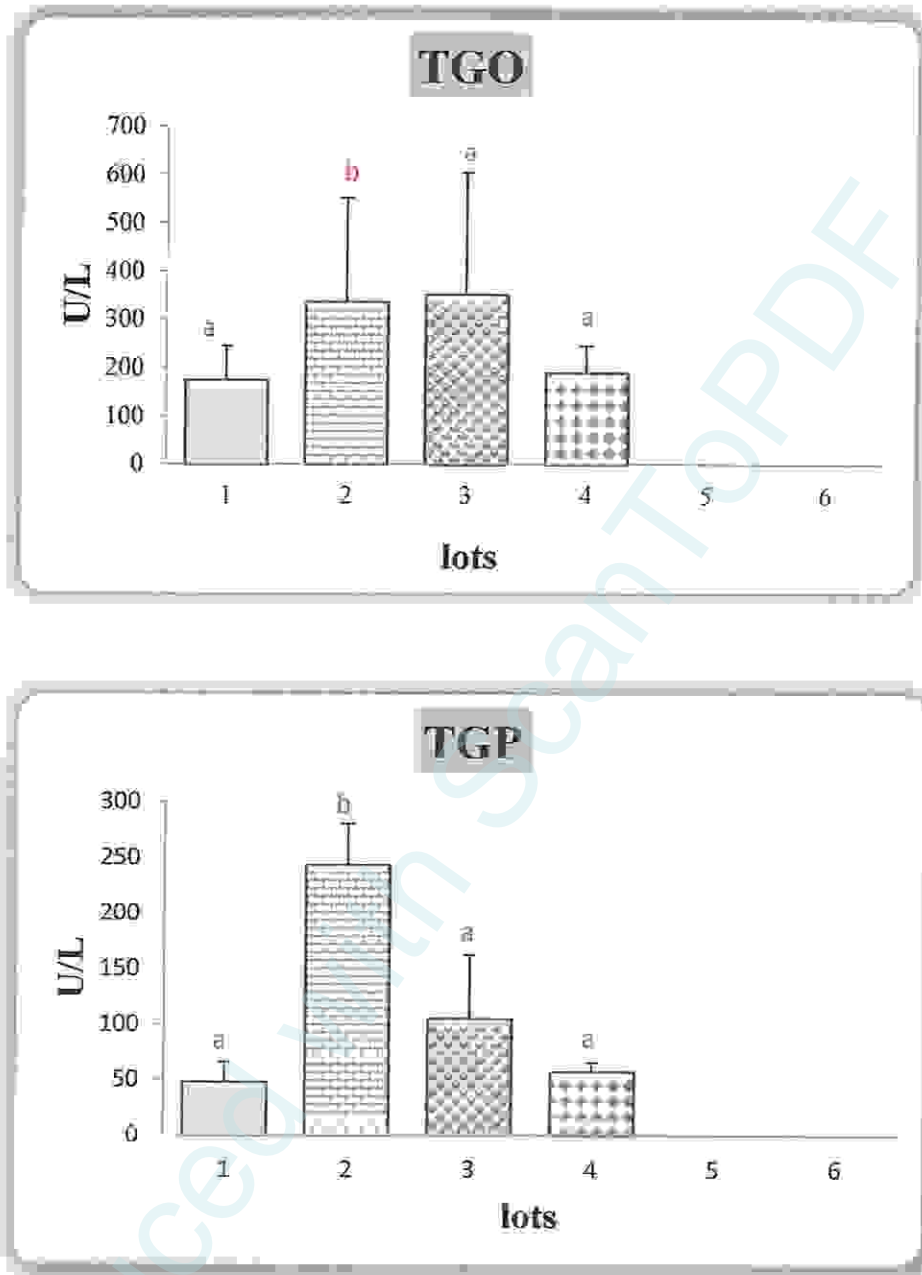


Figure 10 : L'effet du traitement sur l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) chez les lots expérimentaux.

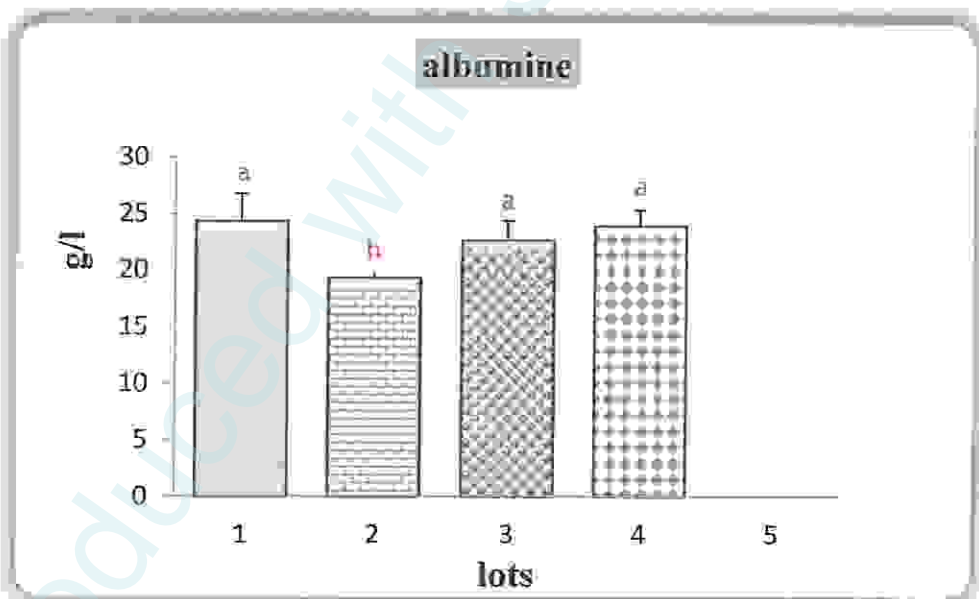
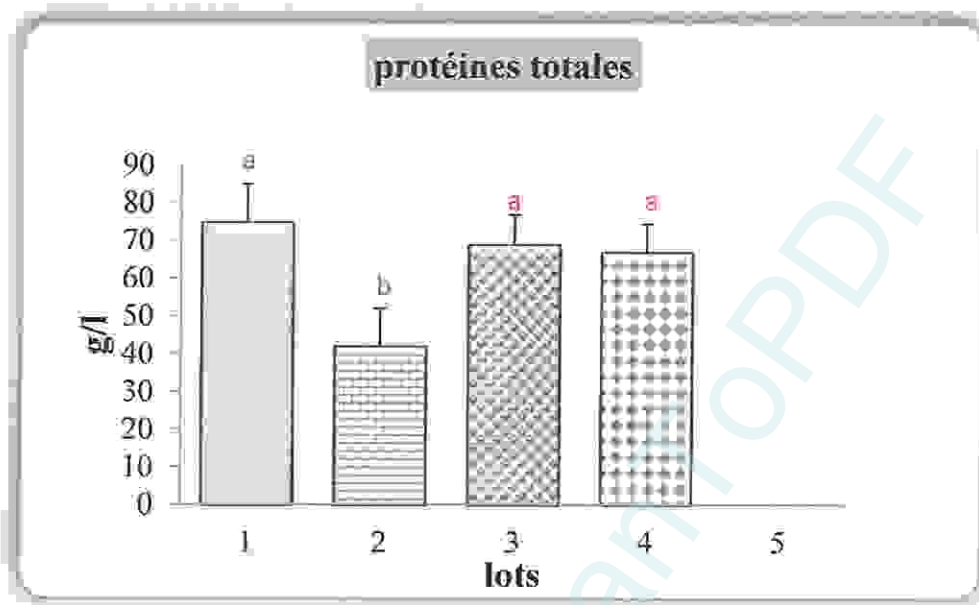
Les résultats illustrés, montrent que l'activité enzymatique des transaminases sérique (TGO/TGP) diminue d'une façon statistiquement significative chez le lot diabétique traité par rapport à celui non traité.

Tableau 09 : Représente l'activité enzymatique des protéines totales (g/l), d'albumine (g/l) Et du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lots expérimentaux.

	Les souris			
	Sains	diabétiques	diabétiques	Sains
	Non traités	Non traités	traités	traités
	(n=4)	(n=4)	(n=4)	(n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
Protéines totales	74.78 ^a ± 9.98	41.85 ^b ± 10.15	68.79 ^c ± 8.07	66.82 ^d ± 7.67
Albumine	24.297 ^a ± 2.45	19.28 ^b ± 0.607	22.57 ^c ± 1.788	23.88 ^d ± 1.42
Glutathion hépatique	11.705 ^a ± 1	2.485 ^b ± 0.285	2.832 ^{ab} ± 0.171	5.107 ^d ± 0.357

a,b,c,d sont des lettres alphabétiques. S'il y a une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il y a une différence significative ($p \leq 0.05$).

n: nombre des échantillons.



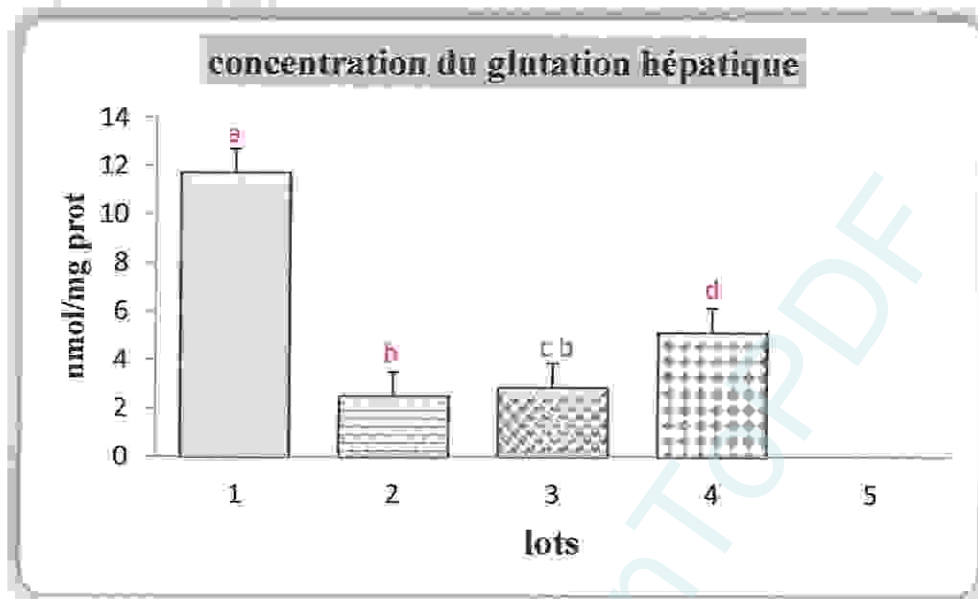


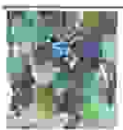
Figure 11 : L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique des protéines totales, d'albumine et du glutathion hépatique chez les lots expérimentaux.

Nos résultats illustrent qu'il existe une diminution significative de la concentration sérique d'albumine ($p \leq 0.05$) et des protéines totales chez les souris diabétiques non traitées par rapport aux autres traités.

En revanche, le traitement par l'huile n'a aucun effet significatif pour la teneur hépatique en comparaison avec les souris diabétique.

Produced with ScanTopDF

Discussion



Discussion

Le diabète est l'un des principaux problèmes de santé dans la population mondiale. Beaucoup d'études ont été focalisées sur le développement d'un nouvel agent antidiabétique à partir des plantes diététiques et médicinales.

L'utilisation des plantes médicinales 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 des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes médicinales dont la présente étude qui est consacrée à la recherche d'éventuels effets antidiabétiques à partir d'huile de pépin de raisin.

Notre étude nous a permis en premier lieu d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans le raisin à travers les réactions de caractérisation qui révèlent que le raisin constitue un ensemble riche en substances actives. Les résultats obtenus peuvent être ardemment attribués à un des composés ou une conjugaison de substances, aux flavonoïdes, surtout que le raisin est très riche aux stérols, aux terpènes et aux tanins galliques et catéchiques.

La voie d'administration choisie est la voie orale par ce que c'est une voie d'administration physiologique, elle offre certain nombre de critères, d'efficacité et de commodité. De plus elle ne nécessite aucun matériel particulier. De point de vue pharmacologique, la voie orale est la plus couramment utilisée (70 à 80% des médicaments sont administrés per os). Cette voie est généralement bien acceptée par les patients (Bourin et Joliet, 1999).

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. Le diabète sucré peut être induit chez une variété large d'espèces animales par différentes techniques dont l'injection de l'alloxane qui est

abondamment utilisée (Anderson et Stitt, 1993 ; Szkudelski, 2001). Cet agent diabétogène entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans par le biais de la génération des radicaux superoxydes (Lenzen et Panen, 1988; Hincu et al., 2006 ; Liu et al., 2007). Bien étudié, son impact sur le métabolisme des hydrocarbures. L'alloxane provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline (Liu et al., 2007). De plus, l'injection de l'alloxane est à l'origine d'une chute de poids comme a été confirmé dans plusieurs études (Chaudhry et al., 2007 ; Gokce et Haznedaroglu, 2008).

Dans la présente étude, nous avons injecté une dose de 150 mg/kg d'alloxane par voie intrapéritonéale et une glycémie supérieure à 300 mg/dl était notée. Le diabète induit par cette substance a également entraîné chez les souris une polyphagie, polydipsie et une polyurie. Ces signes observés chez l'animal confirment l'installation du diabète sucré.

Dans nos conditions expérimentales, nous remarquons un déficit pondéral chez les souris diabétiques non traitées (DNT). Cet effet peut être dû au manque d'insuline qui conduit à la dégradation des protéines structurales qui sont connus par ses contributions au poids corporel (Rajkumar et Govindarajulu, 1991; Vats et al., 2004). Tandis que, l'administration orale d'huile induit une augmentation remarquable de gain du poids chez le lot traité par la dose 0.1 ml/kg. Ce résultat de gain du poids a été rapporté avec d'autres plantes connues par leur activité antidiabétique telles que *Ficus bengalensis* et *Trigonella foenum graecum* (Sheeja et August, 1995; Solomon et al., 1999).

Après le traitement des souris diabétiques par l'huile pendant trois semaines et après leur sacrifice; l'analyse des résultats a montré une diminution significative de la concentration sérique du glucose, l'effet antihyperglycémique d'huile est lié à sa fonction cytoprotectrice sur les cellules β des îlots de Langerhans. Ce qui est justifié amplement par la constatation au niveau des coupes histologiques du pancréas endocrine conduisant à la libération de l'insuline.

Les résultats obtenus révèlent aussi une augmentation bien claire de la concentration sérique du profil lipidique chez les souris diabétiques non traitées. Cette augmentation peut s'expliquer par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux pour assurer l'énergie nécessaire aux fonctions vitales de l'organisme. 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 ; Marc et al., 2006). L'administration orale d'huile a diminué considérablement la cholestérolémie, la lipidémie et le taux sérique des triglycérides chez les souris diabétiques. L'activité hypocholestérolémiant d'huile est probablement due aux certains constituants qui peuvent agir comme inhibiteurs de certains enzymes telles que l'hydroxy méthyl glutaryl-CoA réductase qui participe à la synthèse du cholestérol. Cette idée est confirmée in vitro sur une culture primaire des hépatocytes (Gebhardt et Beck, 1996).

Nous avons constaté également chez le lot diabétique non traité une augmentation particulière de la teneur plasmatique en acide urique et en créatinine, qui sont considérés comme marqueurs significatifs du dysfonctionnement rénal (Almadal et Vilstrup, 1988). En revanche le taux sérique des protéines totales est diminué. 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 causée par le diabète a été déclinée après l'administration d'huile. Inversement la protéinémie est élevée. Cet effet est lié à l'amélioration du métabolisme glucidique ainsi que la sécrétion de l'insuline.

Comparant au témoin, les résultats concernant le taux sérique de l'albumine montrent une diminution caractéristique chez le lot DNT qui peut être expliquée par l'augmentation de la synthèse de bilirubine qui joue le rôle d'un inhibiteur de l'activité d'albumine, donc la carence de cette protéine (le principal porteur de la bilirubine) induira une augmentation de la quantité de la bilirubine libre dans le sang.

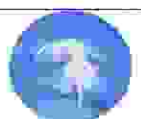
En ce qui concerne les paramètres enzymatiques, nous avons remarqué une augmentation significative de l'activité des transaminases (TGO et TGP) dans le sérum des souris diabétiques non traités par rapport à celle du témoin. Ce qui explique l'accumulation des acides aminés comme l'alanine le glutamate dans le sérum provenant de la dégradation des composés protéiques du corps. De ce fait, ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques tel que α céto glutamate et

l'acide pyruvique. Ce qui implique alors une forte activité enzymatique de TGO et TGP. Ceci peut être expliqué aussi par l'effet hépatotoxique de l'alloxane. En revanche, le traitement des souris diabétiques par l'huile a rétabli les valeurs à la normale. Ces résultats sont en accord avec d'autres études (Ohaeri, 2001 ; El-Demerdash et al., 2004 ; Eidi et al., 2005).

Il n'est pas douteux que l'organisme humain s'efforce de maintenir l'homéostasie en inhibant l'effet nuisible d'origine endogène (métabolites actifs des hormones) et/ou exogène (métabolites toxiques des xénobiotiques), le système de défense endogène lié au glutathion est considéré comme un moyen très efficace pour combattre les dommages et les dysfonctionnements causés. (Soon et Tan, 2002). Nos résultats révèlent une diminution hautement significative de la teneur hépatique en glutathion après l'injection de l'alloxane chez les souris (Venkateswaran et Pari, 2002 ; Orhan et al., 2006 ; Vadde et Rama, 2008). Ceci confirme que dans les conditions d'hyperglycémie, le glucose est utilisé par la voie des polyols en consommant le NADPH indispensable dans la régénération des molécules de glutathion par le GSH réductase (West, 2000 ; Baynes, 1991). Il a été suggéré également que la baisse du taux du GSH hépatique pourrait être le résultat de la diminution de sa synthèse et/ou sa dégradation massive par le stress oxydatif chez le diabétique (Loven et al., 1986). L'huile maintient voire améliore le niveau du GSH hépatique qui est bénéfique pour réduire les radicaux libres générés au cours du diabète (Kataria et Singh., 1997). Cet résultat peut être expliqué par la richesse d'huile en principes actifs (flavonoïdes) qui sont doués d'une activité antioxydante élucidée in vitro et in vivo.

En ce qui concerne l'histologie ; le pancréas des souris rendus diabétiques présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules β . Ceci est dû, mentionné précédemment, à l'effet cytotoxique de l'alloxane qui se comporte comme un agent relatif d'inhibition enzymatique 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 souris traitées par l'huile à la concentration 0.1ml/kg du poids corporel révèlent que l'huile possède des effets préventifs sur la dépréciation du pancréas. Cette conclusion trouve son utilité également dans une étude où ils ont visualisé l'efficacité de cette huile sur la protection du tissu cardiaque dans le stress oxydatif (Banerjee et al., 2002).

Conclusion



Produced with ScanTOPDF

Conclusion

Aujourd'hui, la médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du diabète. Le nombre d'études en matière de recherche de nouvelles molécules capables de prévenir ou même de retarder l'apparition des complications liées au diabète, reste très limité. Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que :

L'injection intrapéritonéale de l'alloxane à dose de 150 mg/kg de poids corporel chez les souris adultes a induit des perturbations métaboliques : glucidique, lipidique et protéinique accompagnés par un déficit pondérale remarquable et plus particulièrement l'atteinte pancréatique.

En revanche le traitement des souris diabétiques par l'huile de pépin de raisin à raison de 0.1ml/kg pendant 21 jours, corrige ces perturbations et améliore la résistance contre le diabète sucré, ce qui nous amène à résumer l'ensemble de ces effets dans les points suivants :

D'une part, en ce qui concerne les paramètres : Glycémie, cholestérolémie et Triglycéridémie, albumine le traitement par l'huile a rétabli les valeurs aux normes et réduit en parallèle les troubles du bilan rénal (Créatinine, acide urique). Par contre elle augmente l'activité des protéines totale.

Pour l'activité enzymatique des transaminases le traitement avec l'huile a réduit cette activité avec une efficacité remarquable.

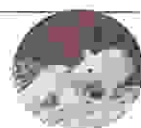
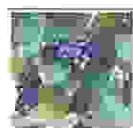
D'une autre part, nous avons confirmé l'activité antioxydante d'huile utilisée par l'effet cytoprotecteur sur le pancréas contre les radicaux libre générés par l'alloxane. Ainsi que l'accroissement du taux du glutathion réduit (GSH) chez le lot traité.

En fin nous pouvons dire que l'huile de pépin de raisin joue un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidique, lipidique et protéinique. En plus elle peut être utilisée comme antioxydant en pharmacie.

En effet, il ressort du présent travail que l'huile de pépin de raisin est une huile forte intéressante et riche en possibilités thérapeutiques. Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le future des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de l'huile de pépin de raisin et d'avancer vers une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

Produced with Scantopdf

Références Bibliographiques



Pharmacology

- **Abuja P.M et Albertini R. (2001).** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*; 306 :1-17.
- **Adeneye A.A. (2007).** Hypoglycemic and antidiabetic activities on the stem bark aqueous and ethol extracts of *Musanga cecropioides* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Fitoterapia*; 78:502-505
- **Aharonson Z . Shani J., Mishkinsky et Sulman .FG. (1969).** Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Attriplex halimus*) - a Feeding source of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Diabetologia*; 5: 379-383.
- **Ailis., Ceraffa.N et Perrotic. (2005).** « se soigner par les plantes » Edition:Betri: 1999. 118p.
- **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 antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology*; 61: 101-110
- **Al-Affar A.M. (2004).** The Influence of Dietary Grapeseed Oil on DMBA-Induced Liver Enzymes Disturbance in the Frog, *Rana ridibunda*. *Pakistan J. Nutrition*; 3: 304-309.
- **Alex J.F. (2001).** Ontario weeds – Description, illustration and keys to their identification. Ontario ministry of agriculture, Food and rural affaires. Guelph-Ontario. Canada.
- **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*; 31:114-118.
- **Amjad Hossain M. (2005).** Neem Seed oil: Bangladesh. Examples of the Development of pharmaceutical Products from Medicinal Plants. Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR); 10:59-63.

- **Ammon HP., Hagele R et Youssif N.(1983).**A possible role of intracellular and membranethiols of rat pancreatic islets in calcium uptake and insulin release. *Endocrinology*;112: 720-6.
- **Anderson H.R et Stitt A.W. (1993).**Induction of alloxan / streptozotocin diabetes in dogs: a revised experimental technique. *Lab Anim*; 27:281-285.
- **Annie shirwarcar. (2004).**Antidiabetic activity of aqueous leaf extracts of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 91:171-175.
- **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*; 135:347-539.
- **Bakour F et Siouane Z. (2007).** L'apport du dosage de Hb gluquée dans le diagnostic de diabète insulino-dépendant .memoire licence biochimie, université Badji Mokhtar, Annaba .p :39.
- **Banerjee S.K., Dinda A.K., Manchanda S.C., etMaulik S.K. (2002).**Chronic garlic administration protects heart against oxidative stress induced by ischemic reperfusion injury. *BMC Pharmacol*; 2: 2-16
- **Barrou B., Bitker MO., Grimaldi A., Debré Pet Richard F. (2004).** Transplantation pancréatique: indications, résultats et perspectives. *EMC-Endocrinologie*; 1:43-53.
- **Baskin S.I et Salem H. (1994).**Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. Academic press Inc ; 363: 25-62.
- **Baynes J.W. (1991).**Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*; 40: 405-412.
- **Beaudeau J.L et Dominique B.R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales. P : 550.
- **Belitz H.Det Grosh W. (1999).**Food chemistry. Second édition. Springer Verlag. Berlin Heidelberg.992 and other related pharmacological activities.Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr.Scotland, UK., KA65HW.
- **Benkiki N.(2006).** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*,
- **Beveridge B., Girard T., Koppet J. C. G. Drover .(2005).** "Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 53(5): 1799-1804.

- **Beyan H et Leslie R. D. G. (2006)** .Type 1 Diabetes Mellitus. Dans: Contemporary Endocrinology: Autoimmune Diseases in Endocrinology. Edition Weetman - Humana Press, Totowa, NJ. Pp: 275-300.
- **Bourin M et Jolliet P. (1999)**, Pharmacologie générale et pratique. Ed ellipse, Paris. P : 142.
- **Bradford M.M. (1976)**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing a principle of protein dye binding. Anal. Biochim ; 72: 248-254.
- **Brantner A., Males Z., Pepeljak S et Antolic A. (1996)**.Antibacterial activity of paliurus spina-christi Mill (Christ's thorn). Journal of Ethnopharmacology; 52:119-122.
- **Bravi MC., Pietrangeli P., Laurenti O., Basili S., Cassone Faldetta M., Ferri C et De Mattia G. (1997)**. Polyol pathway activation and glutathione redox status in non-insulindependent diabetic patients. Metabolism; 46:1194 - 1198.
- **Buccolo G et al. (1973)**, Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin. Chem ; 19(5): 476-482.
- **Burtis, A et al. (1999)**. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC.
- **Buysschaert M., Vandeleene B., Parus I et Hermans MP. (1999)**.Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. Louvain Med; 118 : 189-195.
- **Cefalu W. T. (2006)**.Animal Models of Type 2 Diabetes: Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition. ILAR Journal; 47(3):186-198.
- **Chandra A., Mahdi A.A., Ahmed S et Singh R.K. (2007)**.Indian herbs result in hypoglycemic responses in STZ induced diabetic rats. Nutrition research; 27:161-168.
- **Charbonnel B. (1999)**,« Revue de praticien », tome 49, Edition J.B Bailliere Paris : 114.
- **Charlton B et Bacely A. (1989)**. Cyclophosphamide induced diabetes in NOD/WEHI mice. Evidence for suppression in spontaneous autoimmune diabetes mellitus. Diabetes ; 38: 441-447.
- **Chaudhry J., Ghosh N.N., Roy K et Chandra R. (2007)**. Antihyperglycemic effect of a new thiazolidinedione analogue and its role in ameliorating oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. Life Sciences; 80:1135-1142.
- **Clintok.DMC. et Favargercl Fiche.R.S.R. 1986**. « Guide des plantes à fleurs de l'Europe occidentale » ; Edition Neuchatel-Paris.
- **Creola.G. (1981)**. « Les médecines parallèles » ; Edition : Alaj Lefevre.p : 252.

- **Danielle ROUX. 2005.** « Les nouvelles plantes qui soignent» Alpen Edition s.a.m.,p :95.
- **Delattre J.(2005).** Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris – new york.p :620.
- **Delaveau P. (1957).**Les épices : Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Albin Michel Editeur. P : 372.
- **Derubertis F.R and Craven Patricia A. (2005)** ; Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse: p10-12.
- **Dey lucey MD., Anoja S., Attele DDS et Chun-Su Yuan MD. (2002).**Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review*, 7(1): 45-58.
- **Dirckx JH. (1998).**the Honeyed Siphon: Diabetes Mellitus Past, Present and Future. *Perspectives Fall*, 35-41.
- **Dohou N., Yamni K et Tahrouch S.(2003).**Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lylthroides*. *Bull Soc Phrm. Bordeaux*; 142:61-78.
- **Ducros V et Favier A. (2004).** Métabolisme du sélénium. *EMC-Endocrinologie.*; 1(1) : 19-281993;7:285-289.
- **Duhault J etKoenig-Berard E. (1997).**Diabetes mellitus and its animal models. *Thérapie*; 52: 375-84.
- **Durackova Z., Djrolo F., Houngbe 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.
- **EdeogaI H.O., Okwu D. E. et Mbaebie B.O. (2005).**Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* ; 4 (7) : 685-68
- **Eidi A., Eidi M., et Esmali E. (2005).**Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum*) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats.
- **El-Demerdash F.M., Yousef M.I etAbou El-Naga N.I. (2004).**Biochemical study on the hypoglycaemic effects of onion and garlic in alloxan- induced diabetic rats.
- **Favier A (1997).** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* ; 55 (1) : 9 - 16.
- **Fröde T.S. et Medeiros Y.S. (2008).** Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology* : 115 : 73–183

- **Girardin C et Schwitzgebel V. (2007).** Diabète de type 2 en pédiatrie : diagnostic et prise en charge. *Rev Med Suisse* ; 3 : 1001 - 1006.
- **Gokce G et Haznedaroglu M Z. (2008).** Evaluation of antidiabetic, antioxidant and vasoprotective effects of *Posidonia oceanica* extract. *Journal of Ethnopharmacology*; 115: 122–130.
- **Grankvist K., Marklund SL et Taljedal IB. (1981).** CuZn-superoxyde dismutase, Mn-superoxyde dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochem. J.*; 199: 393-398.
- **Gribe, A et Merzougui I. (2009).** Mémoire de master biochimie: étude de l'effet antidiabétique de l'extrait aqueux de la graine de *Lipinus albus*. Université Badji Mokhtar, Annaba .p: 2-5.
- **Grimaldi A et AL. (2000).** « Revue du praticien », Edition J.B.Baillière, Paris.p :98.
- **Grimaldi A.,Cornet P., Masseboeuf M et Popelier M. (1993).** « Diabétologie, Questions d'internat 1999-2000 », Faculté de médecine Frère Marie Curie CHU Pitié Salpêtrière, Université Paris VI.
- **Halliwell B. (2009).** The wanderings of a free radical. *Free radical biology & Medicine* ; 46: 531-542.
- **HAMAIDIA H et CHEFROUR M. (2005).** « étude ethnobotanique des plantes médicinales dans l'Est algérien (région de SOUK-AHRAS)».
- **Hennen G. (1996).** Biochimie humaines. Introduction biochimique à la médecine interne. Edition Bock university ; 02: 457-475.
- **Hennen G. (2001).** Endocrinologie. Edition Bock university ; 03: 127-132.
- **Hincu M., Pantea S., Anca M., Coman E.M et Mehedinti T. (2006).** L'effet de l'aloxane sur l'histologie du tissu pancréatique. Fascicula XVII, Anul V.
- **Houlot R. (1984).** Techniques d'histopathologie et de cytopathologie, Ed Maloine, P19-21, 225-227.
- **Humbel R.L. (2002).** Maladies autoimmunes des glandes endocrines. *Geai L'info* ; 5 : 1-23.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F, Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle –Féat T etBiaujeaud. (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.

- **Jakuš V et Rietbrock N (2004).** Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiol. Res* ; 53 : 131 - 142.
- **Jean Michel Hertel. (2003).**Plantes médicinales et diabète. *Nouveau Magazine de phytomania*.
- **Kaplan L.A. (1984).** Glucose. *Clin. Chem* ; 1032-1036.
- **Karumi Y., Onyeyili P.A et Ogbuaja V.O. (2004).**Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci* ; 4(3):179-182.
- **Kataria M et Singh LN. (1997).** Hepatoprotective activity of Liv 52 and Kumaryasava on carbontetrachloride induced hepatic damage in rats. *Indian J Exp Biol*; 35:655-7.
- **Kehrer J.P. (1993).** Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical review in toxicology*; 23 (1): 21-48.
- **Koller A. (1984)** .albumin, Kaplan, A. *Clin Chem.*, The C.V.MOSBY Co. St Louis., Toronto.Princeton; 315-324.
- **Lee K.W., Kim Y.J., et Lee C.Y. (2003).**Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxydant Capacity than Teas and Red Wine. *J Agric Food Chem*; 51:7292-7295.
- **Lenzen S et Panen V. (1988).**Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*; 31: 337-342.
- **Liu Z., Li J., Zeng Z., Liu M et Wang M. (2007).**The antidiabetic effects of Cysteinyl Metformin, a newly synthesized agent, in alloxan- and streptozocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*
- **Loven D., Schedl H., Wilson H., Daabeas T.T., Stegink L.D., Diekus M et Oberley L. (1986).** Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin induced diabetes. *Diabetes*; 35: 503–507.
- **Maier A, Schieber D, R. Kammereret R. Carle. (2009).** “Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) Seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants.” *Food Chemistry*; 112(3): 551–559.
- **Malaisse W.J et Sener A. (2008).**Animal Models of Diabetes. Dans: *Sourcebook of Models for Biomedical Research*. Edition Humana Press Inc., Totowa, NJ.p:651-656.
- **Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T. (2005).** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes

médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.

- **Mari Manus.J. (2000).** « Revue de l'infirmière », n°: 59, Edition Elsevier Paris.p:65.
- **Mark A., Fernandez L., Boyd L et O'Dell. (1983).** Effect of zinc deficiency on plasma glutathione in the rat. *Biology and Medicine*; 173: 564-567.
- **Marles R.J., Farnsworth NR. (1999).** Plants as sources of antidiabetic agents. *Econ Med Plant Res*; 6:149-187.
- **Martin Buyschaert. (2006).** « Diabetologie clinique », préface de Gérard Salama, 3ème Edition de Boeck et Larcier s.a.P :1-15.
- **Max Wichd et Bbert. (2003).**Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- **Menaï, S et Vakou, S. (2010)** .Contribution à l'étude de l'effet de la vitamine C sur le diabète.Mémoire de master de biologie moléculaire des procaryotes.Université 08 Mai 45 Guelma .p :26.
- **Murray, R.L. (1984)** : Creatinine. Kaplan, A et al. *Clin Chem*. The C.V.mOSBY Co. St Louis., Toronto.Princeton .1261-1266 et 418.
- **Naito H.K. (1984).** Cholesterol. *Clin. Chem*; 1194-11206 and 437.
- **Narayana K.R. (2000).**Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and therapeutic Potentiel *Indian Journal of pharmacology*; 33:2-13
- **Nicolosi R.J., Lawton C.W etWilson 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 8:1201-1214.
- **Ohaeri O.C. (2001).**Effect of garlic oil on the levels of various enzymes in the serum and tissue of streptozotocin diabetic rats. *Bioscience and Reproduction*; 21: 19-24.
- **Orhan N., Aslan M., Orhan D.D., Ergun FetYesilada E. (2006).** In-vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of grapevine leaves (*Vitis vinifera*) in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 108: 280-286.
- **Patricia I.O., Wtherine L.O., Cesar C.F etCarl L.K. (1995).** Zinc deficiency causes oxidative damage to protein, lipids and DNA in rats testes. *Nutr.* ; 125: 823-829.
- **Pedneault K. (2001).**Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux Texte de conférence-5ième Colloque sur les produits naturels d'origine végétale. Université Laval QC. Canada.p :2.

- **Perlemuter L. (1996).** « Impact internal ».
- **Peter-Riesch B., Philippe JetStalder H. (2002).**Découverte d'un diabète sucré. *PrimaryCare* ; 2 : 284 - 290.
- **Porter N.(2001).**Essential oils and their production. *Grop & Food Research*. Number 39.
- **Quanhong L., Caili F., Yukui R., Guanghui H et Tongyi C. (2005).**Effects of Protein Bound Polysaccharide Isolated from Pumpkin on Insulin in Diabetic Rats. *Plant Foods for Human Nutrition* ; 60: 13-16.
- **Racchah D. (2004).** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*; 1(1) : 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* ; 59:365-373.
- **Rajkumar L et Govindarajulu P. (1991).**Increased degradation of dermal collagen in
- **Rees D.A et Alcolado J.C. (2005).** Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*; 22:359-370.
- **Richard H et Multon J.L. (1992).**Les arômes alimentaires. *Tec & Doc, Lavoisier, Paris*.p :438.
- **Rodier M. (2001).**Le diabète de type1.*Medecine Nucléaire-Imagerie fonctionnelle et métabolique* ; 25(2).
- **Sai P., Doillot D. (1983).**Pentamidine, a new diabetogenic drug in laboratory rodents. *Diabetologia*, 25:418-423.
- **Schultz A. (1984).** Uric acid. *Clin. Chem* ; 418 : 1261-1266 .
- **Sénécat O. (1996).** Le diabete autoimmun.(de type1): Essais de modulation du diabète chez la souris Non Obese Diabetic (NOD) pendant la période néonatale. *The Med Vet. Nautes* .p:22.
- **Shafir E. (1992).** Animal models of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab Rev*; 8:179-208
- **Sheeja C., August K.T. (1995).***Indian J Exp Biol*; 33:608 -611.

- **Singh N., Kamath V et Rajini P.S. (2005).** A H enuation of hyperglycemia and associated biochemical parameter in STZ induced diabetic rats by dietary supplementation of potato peel powder. *Clinica chemical Acta*; 353:165-175.
- **Smallfield B. (2001).**Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45.p:4.
- **Solomon G., Raosaheb K.K et Najma Z.B. (1999).***Indian J Exp Biol*, 37:200–202.
- **Spina, G.A et Lehmann, R. (2001).** Diabète sucrée diagnostic, classification et pathogénèse. *Forum Med Suisse* ; 20: 519-525.
- **Srivastava Y., Venkatakrishna-Bhatt H et Verma Y. (1993).** Antidiabetic and adaptogenic properties of
- **Strang C. 2006.** Larousse medical. Ed Larousse.
- **Svoboda K.P et Hampson J.B. (1999).**Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory Cluwer Academic / Plenum Publishers .New York; 287-304.
- **Szaleczky E., Prechl J., Fehér J et Somogyi A. (1999).** Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus - a rational approach. *Postgrad Med J*; 75: 13 - 17.
- **Szkudelski T. (2001).**The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*; 50:537-546.
- **Takoeka G., (1998).**Flavor chemistry of vegetables.In *Flover chemistry*. Thirty years of progress .Teranishi R et al (Ed).
- **Taleb-senoucia D., Ghamaria H., kraïfa D., Bouderbela S., Prost J., Locaille-Dubois M.A et BoulmakçM. (2009).** Antioxidant effet of ajugo Iva aqueous astract in STZ induced diabetic rats *phitomedicine*; 25:221-235.
- **Thomas S.R et Stocker R. (1999).** Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implication for atherosclerosis. *Free radical biology & medicine*; 28:1795-1805.
- **Thompson KH et Godin DV. (1995).** Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes. *Nutrition Research*; 15(9): 1377-1410.
- **Twaij HA et Al-Badr A. (1988).**Hypoglycaemic activity of *Artemisia herba-alba*. *J Ethnopharmacol*; 24 (2-3): 123 - 126.
- **Ursini F., Tubaro F., Rong J et Sevanian A. (1999).**Optimization of nutrition: Polyphenols and vascular protection. *Nutrition reviews*; 57(8): 241-249.

- **Vadde R. et Rama J. (2008).** Oxidative stress in non insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patient. *Acta Diabetol*; 45: 41-46.
- **Vats V., Yadav S. Pet Grover J.K. (2004).** Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves partially attenuates streptozotocin induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *J. Ethnopharmacol.* p :90-155.
- **Venkateswaran S et Pari L. (2002).** Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*; 11:206–209.
- **Weakberker Get Cory J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Concerletteres* ; 40: 275-264.
- **West I.C. (2000).** Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*; 17: 171–180.

➤ **Références site :**

(Anonyme1) : <http://www.google.com/imgres?q=vigne&start=75&hl=fr&sa=X&biw=1327&bih=585&addh=36&tbm> (Consultation 12/03/2012).

(Anonyme 2) : <http://huile.com/huile-de-pepin-de-raisins-raffinee/> (consultation 13/03/2012).

(Anonyme 3) : http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Vigne_sauvage&oldid=76121952 » (consultation 12/03/2012)