

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
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 DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



~~11/378~~

~~570,462~~

## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Biologie moléculaire des procaryotes

### Thème

**Contribution à l'étude de l'effet du marrubium vulgare sur le  
diabète expérimental**

#### Présenté par :

Bensouilah Amina  
Bouchahdane Selma  
Boukara Rahima  
Chéttibi Sarra

#### Devant le jury composé de :

Présidente : Ibn chrif H  
Examinatrice : Boussadia M. I  
Encadreur : Hamdiken M

M.A.B Université de Guelma.  
M.A.A. Université de Guelma.  
M.A.B. Université de Guelma.

**Juin 2011**



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Produced with ScanTOPDF

***REMERCIEMENT***

Produced with ScanTOPDF

## REMERCIEMENTS

*Le présent travail a été réalisé dans le Laboratoire de biochimie de l'université 08 1945.*

*Ces recherches ont été réalisées sous la direction de Mlle HAMDIKEN MALIKA, nous tenons à vous exprimer toute notre gratitude pour avoir encadré ce travail, nous la remercions chaleureusement pour sa patience et sa confiance qu'elle nous a toujours accordée durant cette période. Merci pour avoir toujours été disponible pour être à notre écoute, ses spéciaux conseils scientifiques et ses encouragements qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.*

*Nos sincères remerciements et nos respects à Monsieur BENOUARETH D.E, professeur à l'université de Guelma, au département de biologie, responsable de notre parcours (BMP).*

*Nos remerciements vont à Mlle BOUSSADIA MERIEM I, maître assistant à l'université de 8 Mai 1945 de Guelma pour nous avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire, tout l'honneur lui revient*

*Nos remerciements vont à Mme IBNCHRIFF, maître assistant à l'université de 08 Mai 1945 de Guelma pour nous avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire, tout l'honneur lui revient.*

*Nous tenons à remercier également monsieur BOUHLIEGHEM H, chef du département de biologie université de Guelma, pour son aide formelle et pour ses efforts de nous fournir tous les moyens pour réaliser ce travail, nous voulons également exprimer notre gratitude pour leur disponibilité, leur gentillesse ainsi que leur encouragement et leur conseil tous le long de notre travail. Tout l'honneur lui en revient.*

*Nos sincères remerciements vont au docteur BELGHARSSA M. A, médecin spécialiste à l'hôpital IBN ZAIR, tous l'honneur lui revient.*

*Nous tenons à remercier également monsieur AMER, H, chef du laboratoire d'urgences à l'hôpital ELHAKIM OKBI, et monsieur CHIAKHA A, Z, chef de services du laboratoire d'analyse à l'hôpital IBN ZAIR,*

*Enfin, un grand merci à tous ce qui nous ont soutenus de près ou de loin pour l'élaboration de ce mémoire.*

Produced with ScanTopDF

# ***DÉDICACE***

Produced with ScanTOPDF

## *Dédicace*

*Je voulais tout d'abord, remercier Dieu de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail, que je dédie :*

*À ma chère mère et mon cher père et à ma chère tante « habiba » pour l'affection, la patience, l'encouragement, qu'il m'ont donné toute ma vie, et toutes les épreuves difficiles traversées.*

*À mon cher mari « Karim »*

*À mes adorables frères : nasreddine, mouloud*

*À mes agréables sœurs : houda, amira et son mari lamine et leur fils monder*

*À mes chers amis : bochra, meriem b, meriem h, hadjer, houssem, mehdi, naser, rabie, , nadjib*

*À mon beau père et ma belle mère*

*À mes belles soeurs et mon beau frère*

*À ma voisine et « fatima » et sa fille « aida »*

*À mes tantes et mes oncles (paternel et maternel)*

*À mes partenaires de travail : sarra, salma, rahima*

*À tout ceux qui m'aime.*

*À tous ce que j'aime.*

ALSHAYKH

Produced by Scantopdf

## *Dédicace*

*Je voulais tout d'abord, remercier Dieu de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail, que je dédie :*

*À mon cher père Abd Elyamine et ma chère mère Samia pour l'affection, la patience, l'encouragement, qu'il m'ont donné toute ma vie, et toutes les épreuves difficiles traversées.*

*À mes chers frères : Houssein eddine, chamss eddine.*

*À ma sœur : Afef.*

*À mes tantes et mes oncles (paternel et maternel)*

*À mes partenaires de travail : Amina, Sarra, Rahima*

*À mes chères amies : Ahmed, Boudafa Abd Elmalek, Najib, Samira, Meryem, Wahiba*

*À mes amis de BMP*

*À tous ceux de la faculté des sciences et de l'ingénierie*

*À tout ceux qui m'aime.*

*À tous ce que j'aime.*

*REMERCIEMENTS*



## Dédicace

Je voulais tout d'abord, remercier Dieu de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail, que je dédie :

- À plus cher de mon cœur, à l'homme qui était mon appui et pilié dans cette vie ; l'homme que dieu tout puissant n'a pas voulu qu'il me partage ces instants de réussite ; à mon père « *Rachid* » et puisse dieu très miséricordieux ; l'accueillir dans son vaste paradis.
- À ma très chère mère, symbole de générosité et de tendresse « *Dalla* » ; que dieu la garde pour nous en bonne santé et la protège de tous les maux de la vie.
- À mon frère et mon deuxième père « *Souad* ».
- À mon agréable frère « *Hajar* ».
- À mon cousin et mon frère « *Yassine* » et sa famille et ses enfants surtout « *Razan* ».
- À l'homme avec qui le destin ma réunie au partenaire de mon chemin et de ma vie à l'homme qui ma aidée dans toutes mes dures circonstances à la deuxième famille et à la famille respectueuse de mon mari.
- À l'oiseau du paradis, mon frère qui mon a quittés si tôt « *Abderrazak* ».
- À l'âme de ma grande mère et ma deuxième mère.
- À tous mes oncles « *Hacène, Noureddine, Zoubir* » et mes tantes.
- À ma chère amie « *Hanene* ».
- À tous mes cousins « *Yasmina, Nadjiba, Walid, Warda, Djouhaina, Akram, Minou, Aida, Ghada, Safa, Sihem, Meriem, Amar, Djamel, Ramzi, Borhen* »
- À mes partenaires de travail : *Amina, Salma, Sarra*.
- À tous ceux de la deuxième année Master BME.
- À tout ceux qui m'aime.
- À tous ce que j'aime

www.scantopdf.eu

## Dédicace

Je voulais tout d'abord, remercier Dieu de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail, que je dédie :

À mon père, en vous je vois un père dévoué à sa famille et tu m'as donné un magnifique modèle de labeur.

À ma mère, en vous je vois la maman parfaite toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants, merci pour tout.

À ma chère sœur rima, ton amour, tes grâces à mon endroit m'ont fortifié dans la persévérance et l'ardeur au travail.

À mes chers frères fares et hichem, vous avez de près ou de loin contribué à ma formation.

À mes chers neveux marwane, abd arahman et aymen meilleurs vœux de succès dans vos études.

À mes belles sœurs kanza et wafa

À mes tantes et mes oncles

À mes adorables amis: meryem, meriem, bochra, hadjer, houssam, mehdi, nacer, rabie, hamza et nadjib

À mes partenaires de travail: Amina, Salma, Rahima

À tous ceux de la faculté des sciences et de l'ingénierie

À tout ceux qui m'aime.

À tous ce que j'aime

سأحبهم

***LISTE DES FIGURES***

Produced with ScanTopDF

## *Liste des figures*

| N°        | Figure   | Page  |
|-----------|--|-------|
| <b>01</b> | Le mécanisme d'action de l'alloxane induisant la génération des radicaux superoxyde dans la cellule bêta du pancréas.  | 09    |
| <b>02</b> | Déséquilibre du statut antioxydant en faveur d'un stress   | 11    |
| <b>03</b> | Représente la plante du <i>Marrubium vulgare</i> .   | 22    |
| <b>04</b> | Schéma récapitulatif du protocole expérimental.  | 29    |
| <b>05</b> | La courbe d'étalonnage de l'Aspartate Aminotransférase (ASAT/TGO)  | 40    |
| <b>06</b> | La courbe d'étalonnage de l'Alanine Aminotransférase (ALAT/GPT)  | 41    |
| <b>07</b> | Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin  | 44    |
| <b>08</b> | Représente le gain du poids corporel chez les lots expérimentaux   | 48    |
| <b>09</b> | l'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, du cholestérol et des triglycérides chez les lots expérimentaux.                    | 49-50 |
| <b>10</b> | l'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique de la créatinine et de l'acide urique chez les lots expérimentaux.                              | 52    |
| <b>11</b> | l'effet du traitement sur l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO), de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP) chez les lots expérimentaux. | 54    |
| <b>12</b> | l'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique des protéines totales et du glutathion hépatique chez les lots expérimentaux.                   | 55-56 |

# ***LISTE DES TABLEAUX***

Produced with ScanTOPDF

## Liste des tableaux

| N° | Tableau  | Page |
|----|--|------|
| 01 | Screening phytochimique du marrubium vulgare   | 47   |
| 02 | Effet de l'administration orale de la plante du <i>marrubium vulgare</i> sur le gain du poids corporel ( $M \pm s$ ; $n=5$ ).  | 47   |
| 03 | L'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, du cholestérol, des triglycérides entre les lots expérimentaux ( $M \pm s$ ; $n=5$ ). | 49   |
| 04 | L'effet du traitement sur la variation de la concentration plasmatique en créatinine, en acide urique entre les lots expérimentaux ( $M \pm s$ ; $n=5$ ).            | 51   |
| 05 | L'effet du traitement sur l'activité enzymatique des transaminases (TGO/TGP), chez les lots expérimentaux ( $M \pm s$ ; $n=5$ ).                                     | 53   |
| 06 | L'effet du traitement sur l'évolution de la teneur hépatique en protéines et en glutathion chez les lots expérimentaux ( $M \pm s$ ; $n=5$ ).                        | 55   |

Produced with Scantopdf

# **RÉSUMÉ**

Produced with ScanTOPDF

## Abstract

The objective of this study is the research of the antidiabetic effect of a local species of *Marrubium vulgare* among the rabbit male adult *cuniculus lepus* while following the body weight gain, the evolution of the biochemical parameters, the hepatic content in glutathione as well as the investigation of the pancreas histology. It is about an experimental study led to the laboratory on 20 distributed rabbits in four groups of five rabbits each of which 2 groups are made diabetic by intravenously injection of 150 mg/kg of alloxan and the 2 others groups stay safes. The rabbits receiving the distilled water are used like controls and untreated diabetics. The others rabbits are reciving a daily dose of *marrubium vulgare* (500 mg /Kg) by oral way are used as treated controls and treated diabetics. After three weeks of treatment, the rabbits are sacrificed and the different parameters are determined . From the analysis of the results, one observed that the untreated diabetic rabbits have undergone a chute of the important corporal weight. The alloxan injection also invoked a disturbance of the glucidic, lipidic and proteic metabolism translating by a hyperglyceamia, a hypercholesterolemia, and a highly meaningful increase of the content plasmatic in triglycerides, in creatinine, it is come with by a decreased of the concentration of the total proteins. However, the enzymatic activity of the transaminases (GOT, GPT), has been increased. Besides, the diabetes disrupts the linked detoxification system to the glutathione and the histology of the pancreas showed a necrosis to the level of the islets of Langerhans driving to their total disappearance.

Furthermore, treatment of diabetic rabbits with *Marrubium vulgare* showed antihyperglycemic effect improving all the biochemical parameters and especially cytoprotectrice activity on the pancreas while improving the capacity of the insulin secretion.

In parallel, the phytochimic study unveiled that this species is very rich in flavonoides, tanins, stérol et térpén. It contains, also, of other families of compounds.



In conclusion; the *Marrubium vulgare* is endowed with a remarkable antidiabetic and antioxidant activity. From this fact, it can constitute a natural resource for the future studies on the diabetes mellitus and its complications.

**Keywords:** *Marrubium vulgare*, rabbit, experimental Diabetes, Pancreas, biochemical Parameters, GSH,

Produced with ScanTOPDF

## Résumé

L'objectif de cette étude est la recherche de l'effet antidiabétique d'une espèce locale de *Marrubium vulgare* chez le lapin mâle *Cuniculus lepus* 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 20 lapins répartis en quatre lots de cinq lapins chacun dont 2 lots sont rendus diabétiques par l'injection intraveineuse de 150 mg/kg d'alloxane et les 2 autres groupes restent sains. Des lapins recevant de l'eau distillée sont utilisés comme témoins sains et témoins diabétiques non traités. D'autres lapins recevant une dose quotidienne de 500 mg/kg sont utilisés comme sains traités et diabétiques traités. Après trois semaines de traitement, les lapins sont sacrifiés à jeun et les différents paramètres sont déterminés.

A partir de l'analyse des résultats, on observe que les lapins 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 traduisant par une hyperglycémie, une hypercholestérolémie, ainsi qu'une augmentation hautement significative de la teneur plasmatique en triglycérides et en créatinine, ceci est accompagné par une diminution de la concentration des protéines totales. Cependant, l'activité des transaminases (TGO, TGP) a été augmentée. 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 lapins diabétiques par le *marrubium vulgare* 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.

Parallèlement, l'étude phytochimique a dévoilé que la plante est très riche en flavonoïdes, tanins, stéroles et terpènes .Elle contient, également, d'autres familles de composés.

En conclusion; le marrubium vulgare est doué 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:** *Marrubium vulgare*, lapins, Diabète expérimental, Alloxane, Pancréas, Paramètres biochimiques, GSH.

Produced with Scantopdf

## الملخص

من خلال الدراسة الحالية حاولنا معرفة تأثير عشبة طبية *marrubium vulgare* على مضاعفات مرض السكري التجريبي عند أرانب من سلالة *cuniculus lepus*. وذلك من خلال تتبع تغيرات الوزن، وتقدير بعض المعايير البيوكيميائية و الدراسة التشريحية للبنكرياس. أجريت الدراسة على عشرين أرنب مقسمة إلى أربعة مجموعات كل واحدة تحتوي على خمسة أرانب، مجموعتين تتكونان من أرانب كلها مصابة بالسكري بفعل حقن الألو كسان عن طريق الوريد بجرعة 150 مغ لكل 1 كلغ ثم تمت المعالجة لإحدى المجموعتين بعشبة طبية *marrubium vulgare* عن طريق الفم بجرعة 500 مغ لكل 1 كلغ يوميا لمدة 21 يوما بينما الأخرى تلقت الماء المقطر و تركت. غير معالجة. المجموعتين الأخرتين تتكونان من أرانب كلها سليمة و غير مصابة بالسكري، إحدى المجموعتين تتكون من أرانب معالجة بـ *marrubium vulgare* عن طريق الفم بجرعة 500 مغ لكل 1 كلغ يوميا لمدة 21 يوما بينما المجموعة الأخرى تلقت الماء المقطر و تركت كشاهدة.

بعد ثلاثة أسابيع تم ذبح و تشريح الأرانب لتقدير مختلف المعايير، بعد تحليل النتائج لاحظنا بان الأرانب المصابة بمرض السكري أظهرت نقص معنوي في الوزن كما أن حقن الألو كسان أدى إلى اضطرابات واضحة في الميتابوليزم السكري، الليبيدي و البروتيني مترجمة بارتفاع نسبة الجلوكوز، الكوليستيرول، ثنائي الغليسريد و الكرياتينين و نشاط TGO, TGP (ناقلات الأمين)، وانخفاض في نسبة البروتينات الإجمالية بالإضافة إلى ذلك فإن مرض السكري أدى الى تخفيض القدرة على إزالة السموم الكبدية المتعلقة بالغلوتاثيون.

الدراسة التشريحية للبنكرياس بينت حدوث تشوه على مستوى جزر لانجرهانس.

في حين معالجة الأرانب المصابة بينت تأثير ايجابي على تخفيض نسبة السكر و ذلك بتحسين كل المعايير البيوكيميائية و حماية الخلايا المفترزة للأنسولين ضد الفعل التخريبي للألو كسان.

في الختام يمكن القول بان *marrubium vulgare* مضادة للسكري و مضادة للأكسدة، لذا قد يكون حلا للدراسات المستقبلية على مرض السكري و مضاعفاته.

الكلمات المفتاح: *marrubium vulgare* الألو كسان - السكري التجريبي- الأرانب.

# *Table des matières*

Produced with ScanTOPDF

Partie théorique:

Introduction

Chapitre I: diabète sucré

|  |    |
|--|----|
| Historique.....  | 1  |
| 1. définition.....   | 2  |
| 2. les signes et les symptômes.....                            | 2  |
| 3. classification3 3-1- diabète de types1.....                 | 3  |
| 3-1-1- Diabète de type1 auto-immun.....                        | 3  |
| 3-1-2-Diabète de type1 idiopathique.....                       | 3  |
| 3-2 - diabète de type.....                                     | 24 |
| 3- 3 Diabète gestationnel.....                                 | 4  |
| 4. physiopathologie.....                                       | 5  |
| 4-1- Diabète de type1.....                                     | 5  |
| 4-2- Diabète de type 2.....                                    | 5  |
| 5. Les facteurs déclenchants le diabète.....                   | 6  |
| 5-1- L'hérédité.....   | 6  |
| 5-2- L'obésité.....  | 6  |
| 5-3-Le stress.....   | 6  |
| 5-4- L'âge.....  | 6  |
| 5-5- Répétition de grossesses.....                             | 6  |
| 5-6- infection virale.....                                     | 7  |
| 5-7- facteurs alimentaires.....                                | 7  |
| 6. Diabète expérimental.....                                   | 7  |
| 6-1- Diabète induit par les substances chimiques.....          | 8  |
| 1- la streptozotocine.....                                     | 8  |
| 2- l'alloxane.....   | 8  |
| 3- cyclophosphamide.....                                       | 9  |
| 6-2- Diabète induit par pancréatectomie (chirurgicalement..... | 10 |
| 6-3- Diabète induit par inoculation de virus.....              | 10 |
| 6-4- Diabète induit par la pentamidine.....                    | 10 |
| 6-5- Modèles induits par modification génétique.....           | 11 |
| 7. L'augmentation du stress oxydant.....                       | 11 |

Chapitre II : Les plantes médicinales

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| Introduction.....                  | 14 |
| I-1- Historique.....               | 14 |
| I-2- Phytothérapie et diabète..... | 15 |
| * la phytothérapie.....            | 15 |
| * Les Plantes antidiabétiques..... | 16 |

|  |           |
|--|-----------|
| I-3-Domains d'application des plantes médicinales .....  | 17        |
| I-4-Les Avantages et Les inconvénients .....             | 20        |
| II-Marrubium vulgar .....                                | 20        |
| II-1-Historique .....                                    | 20        |
| II-2-Description botanique .....                         | 21        |
| II-3- Propriétés médicinales .....                       | 22        |
| II-4-Usages traditionnels .....                          | 22        |
| <b>Partie pratique:</b>                                  |           |
| <b>Matériels et méthodes</b>                             |           |
| I- Etude phytochimique .....                             | 23        |
| I-1- Matériel végétal.....                               | 23        |
| ❖ Identification .....                                   | 23        |
| ❖ Origine géographique .....                             | 23        |
| I-2- Tests préliminaires de la composition chimique..... | 23        |
| II - Matériel biologique et conditions d'élevages.....   | 27        |
| II-1-traitement des animaux .....                        | 28        |
| II-2-Prélèvement sanguin.....                            | 28        |
| II-3- Prélèvement des organes.....                       | 28        |
| III- Dosage des paramètres biochimiques.....             | 30        |
| III-1- Dosage du glucose.....                            | 30        |
| III-2 -Dosage des triglycérides.....                     | 31        |
| III-3 - dosage du cholestérol .....                      | 33        |
| III-4-Dosage des protéines dans le sérum.....            | 34        |
| III-5 -Dosage de la créatinine .....                     | 36        |
| III-6-Dosage de l'acide urique .....                     | 37        |
| III-7-Dosage de l'activité (TGO) et (GPT) .....          | 38        |
| III-8-dosage de la glutathion hépatique.....             | 41        |
| III-9-Dosage des protéines hépatiques.....               | 43        |
| IV - Etude histologique . .....                          | 44        |
| IV -1- Déshydratation .....                              | 44        |
| IV -2- inclusions.....                                   | 45        |
| IV -3 -coloration.....                                   | 45        |
| V- Exploration statistique des résultats .....           | 46        |
| <b>Les résultats.....</b>                                | <b>47</b> |
| <b>Discussion et conclusion générale.....</b>            | <b>57</b> |
| <b>Références bibliographique.....</b>                   |           |

***PARTIE  
THEORIQUE***

Produced by Scantopdf



# ***INTRODUCTION***

Produced with ScantOPDF

## Introduction

Le diabète connu depuis plus de 3 000 ans, restait une maladie redoutable jusqu'au début du siècle. Il touche une partie active de la population et engendre de multiples problèmes médicaux, économiques et sociaux.

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 physiologiques et métaboliques résultantes de l'hyperglycémie chronique.

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

Actuellement, la recherche des nouvelles substances à partir des plantes attire tous les flashes et constitue une étape substantielle dans le développement des nouveaux médicaments, 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 des nouvelles substances d'origine végétale pouvant avoir ce secret.

Le *marrubium vulgare* est une plante utilisée dans la phytothérapie depuis l'antiquité. Ses molécules biologiquement actives lui confèrent plusieurs vertus thérapeutiques.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles; initié par une synthèse bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre des généralités sur le diabète sucré et le diabète expérimental, le deuxième chapitre présente un abrégé de l'histoire et les

utilisations des plantes médicinales et surtout celles dites antidiabétiques, le troisième chapitre expose la plante médicinale choisie « Marrubium Vulgare » et élucide sa composition en principes actifs et leurs activités biologiques.

La partie pratique consiste à déterminer quelques paramètres physicochimiques ainsi que la recherche d'éventuels effet antidiabétique de *marrubium vulgare* chez le lapin male *cuniculus lepus* en évaluant les aspects suivants:

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

En fin on discute les résultats obtenus dans cette étude.

Produced with Scantopdf

# *Chapitre 1*

## ***LE DIABÉTE SUCRÉ***

Produced by Scantopdf

## Chapitre 1 : diabète sucré

### Historique

Le diabète existe probablement depuis que l'homme existe, nous semblons trouver ses racines de l'existence du diabète jusqu'au temps de l'ancienne Egypte, soit plus de 2000 ans avant Jésus-Christ.

Le mot diabète remonte à la civilisation grecque, particulièrement à Aretaeus qui donne le mot diabète ce mot signifie « passer à travers » .

Les médecins hindous avaient noté deux types de maladies avec les urines sucrées l'une chez le jeune enfant qui était rapidement mortelle et l'autre chez l'adulte obèse qui était plus lentement mortelle (Bouroumana T et al 2009) .

Le nom de diabète mellitus remonte au 16<sup>ème</sup> ou 17<sup>ème</sup> siècle lorsque le docteur Tomas willis medecin personnel du roi Charls II d'Angleterre, décrivit que l'urine diabétique était merveilleusement sucrée comme c'est elle était imprégnée de miel ou de sucre et à ce moment il ajouta le nom de « diabète mellitus » à l'opposé du diabète salé compatible avec la maladie du diabète insipide qui apporte une grande quantité d'urine plutôt salée (Ben lamari et al., 2001) .

Durant le 18<sup>ème</sup> siècle les médecins s'aperçurent que les patients présentant du diabète mellitus abaissaient leurs symptômes lorsqu'ils diminuaient leur consommation de sucre différentes diètes utilisées cette époque permettaient de plus un amaigrissement.

A la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, les chercheurs se sont aperçus que c'était la glande appelée pancréas qui était responsable du contrôle du sucre. A partir de ce moment, les chercheurs se mirent à chercher cette molécule appelée « insuline » qui était responsable de la régularisation du sucre au niveau sanguin.

Les chercheurs canadiens, Frédéric Grant Banting et Charles Herbert best qui, ont réussi à isoler et à mettre au point une méthode de préparation des extraits pancréatiques à la fois sûrs et efficaces pour la production d'insuline . Le 11 janvier 1922, de l'insuline fut injectée à Léonard thomson, un garçon de 14 ans état d'acédocétose et à l'article de la mort. A ce moment , l'insuline lui sauva la vie et depuis ce jour, des milliards d'être humains sont traités à l'insuline pour contrôler le diabète (Bouroumana T et al 2009) .

### 1-Définition :

Une affection métabolique caractérisée par un excès chronique de sucre dans le sang. Par carence en insuline ou par anomalie de son action (Marc popelier., 2006) résultant d'un défaut de sécrétion ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Chevenne et Parquet,2003 ; Chenget Fantus , 2005). Cette hyperglycémie peut causer des dommages à long terme et provoquer la dysfonction et la défaillance de divers organes comme les reins, les yeux, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins. En termes plus médicaux et officiels, le diabète est défini par une glycémie supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises le diabète se contrôle mais ne se guérit pas. (Djemil et Nahal., 2009).

### 2-Les signes et les symptômes :

Ils sont parfaitement stéréotypés et ne laissant pas place au doute :

Les signes cardinaux sont la polyurie, la polydipsie, l'amaigrissement contrastant avec la polyphagie :

-la polyurie est le symptôme qui gêne le plus les diabétiques. Elle atteint 3 à 4 litres par jours, diurne et nocturne. Elle signifie que la glycosurie est massive.

-la polydipsie est en rapport avec une soif vive qui témoigne de la fuite hydrique. L'absorption de boissons compense un certain temps la polyurie.

-l'amaigrissement est lié à la fonte adipeuse et à la diminution de la masse musculaire. Il est constant, atteint plusieurs kilo par mois, s'accompagne d'une asthénie d'effort plus ou moins marquée.

-La polyphagie n'est pas constante. Cependant elle est d'intérêt majeur lorsqu'elle existe, car elle contraste avec l'amaigrissement et oriente vers le diagnostic de la maladie métabolique.

- Des troubles visuels transitoires au début du diabète ou de son traitement peuvent se voir, par changement brutal de l'osmolarité des milieux oculaires. (Perlemuter et al, 2003).

### 3-Classification :

Depuis 1997, une nouvelle classification du diabète sucré a été proposée par Kaneko (American Diabète Association). (Fajans., 1998) et adoptée chez l'homme par l'OMS.(Hennen., 2001). Cette classification établie d'après une approche pathogénique plutôt que thérapeutique (Spinass et Lehman., 2001)

On y distingue plusieurs types de diabète communs à l'homme et à l'animal : le type1 (ou diabète d'origine auto-immune ou idiopathique) communément appelé diabète insulino-dépendant, le type2 ou diabète non insulino-dépendant et les autres types de diabètes spécifiques. (Martin., 2001).

#### 3-1 Diabète de type1 :

C'est le diabète insulino-dépendant ou DID touche environ 10% des patients en particulier les jeunes, appelé aussi diabète (maigre) ou (juvénile) (Grid et Merzougui., 2009) ce type de diabète est subdivisé en diabète auto-immun et diabète idiopathique :

##### 3-1-1-Diabète de type1 auto-immun :

Dans le cas de diabète de type 1 auto-immun, le système immunitaire s'attaque aux cellules bêta insulino-gènes du pancréas et les détruit. Le pancréas produit alors peu ou pas du tout d'insuline. Le diabète de type1 n'est pas causé d'obésité ni par consommation excessive de sucre, on croit plutôt qu'il est causé par une combinaison de facteurs génétiques et facteurs agressifs du milieu.

Les scientifiques ne savent pas exactement ce qui pousse le système immunitaire du corps à s'attaquer aux cellules bêta, mais ils croient que des facteurs génétiques et des virus ont un rôle à jouer à cet égard. (Benghida et al., 2007).

##### 3-1-2-Diabète de type1 idiopathique :

Il s'agit la aussi de diabète insulino-pénique mais sans cause évidente, immunitaire ou autre (par exemple : diabète mitochondrial). C'est dans ce cadre que s'inscrivent les diabètes particuliers pouvant être rencontrés dans les ethnies noires d'origine africaine subsaharienne. Ce diabète partage avec le diabète de type 1 le début brutal cétonique, la présence de groupe particulier HLA, mais ne

s'accompagne pas de réaction auto-immune et évolue souvent, après un début brutal, vers diabète de type non insulino-dépendant, quoique plus faiblement insulinosécréteur que le diabète de type 2 classique. On y retrouve une forte hérédité familiale et une tendance au surpoids, comme dans le diabète de type 2. (Benghida et al., 2007).

### 3-2: Diabète de type 2 :

Il représente plus de 90% des cas de diabète diagnostiqués, ce type fait habituellement son apparition après l'âge de 40 ans (Benghida et al., 2007).

Bien qu'il soit également appelé « diabète de maturité », ce type est de plus en plus fréquent chez les enfants et les jeunes adultes à cause du mode de vie actuel, le diabète de type 2 est ainsi souvent considéré comme une maladie liée au style de vie (Djemil et Nahal., 2009).

Il est caractérisé par 2 défauts principaux : un défaut de sécrétion de l'insuline et un défaut d'action de l'insuline « insulino-résistance » dans divers tissus « muscle, foie, tissu adipeux » (Portha., 2003).

### 3-3 Diabète gestationnel :

❖ Le diabète gestationnel représente tout état d'intolérance au glucose, quelle que soit sa sévérité, apparue au cours de la grossesse chez une femme sans diabète sucré connu antérieurement.

Le diabète se définit par une glycémie veineuse à jeun supérieure à 1.26g/l dans le sang, à deux reprises. Mais, ici c'est une simple intolérance au glucose qui doit être prise en charge.

C'est une complication fréquente du diabète (environ 5% des grossesses), et qui expose à des complications maternelles et fœtales potentiellement sévères.

Il apparaît classiquement entre la 24<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée, correspondant à la sécrétion de l'hormone lactogène placentaire (HPL) par le placenta, responsable d'insulino-résistance chez la mère (Bouroumana et Chergui., 2009)



#### 4-Physiopathologie :

##### 4-1 Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est la conséquence de la destruction auto immune progressive des cellules bêta des îlots de langerhans (Grimaldi et al ., 2003). La destruction des cellules  $\beta$  est essentiellement due à une infiltration des îlots par les lymphocytes T (CD4+ et surtout CD8+).

Cette inflammation est souvent fugace et est appelée insulite, les marqueurs de l'insulite pancréatique sont en effet essentiellement des anticorps bien qu'ils n'aient pas de rôle pathogène propre, ils sont au nombre de quatre :

- les anticorps anti-îlots (islet cell antibody, ICA) présents chez 50 à 80% des patients au début du diabète.
- les anticorps anti-GAD (Glutamic Acid Décarboxylase), présents chez 80% des patients ayant un diabète de type 1.
- les auto anticorps anti-insuline, retrouvés surtout chez l'enfant.
- les anticorps anti-IA2 dirigés contre une tyrosine phosphatase membranaire, présentes chez 50 à 75% des patients ayant un diabète de type 1.

L'insuline pré diabétique survient sur un terrain génétique prédisposé (Rodier ., 2001).

##### 4-2 Diabète de type 2 :

Il correspond à l'ancienne terminologie de diabète (DNID) et associe :

- une insulino-résistance dominante avec insulino-pénie relative.
- une diminution prédominante de l'insulinosécrétion associé ou non à insulino-résistance.

Ces deux anomalies sont d'apparition précoce dans ce type de diabète. La première phase de la maladie consiste en une mauvaise efficacité de l'insuline sur la pénétration intracellulaire du glucose, le glucose s'accumule dans le secteur extracellulaire, entraînant une production très augmentée d'insuline en réponse à l'hyperglycémie. L'hyperinsulinisme induit, ne permet cependant pas d'abaisser le seuil glycémique et conduit à une diminution du nombre de récepteurs à l'insuline.

Les besoins chroniques accrus en insuline finissent par épuiser les cellules bêta et conduisent à leur destruction progressive, entraînant finalement une insulinopénie. (Weger et Borgardus., 1999).

#### 5- Les facteurs déclenchants le diabète :

##### 5-1- L'hérédité :

Les différents types de diabète peuvent être induits par des facteurs héréditaires donc la génétique à une action sur la présentation du diabète (Bakour et Siouane .,2008).

##### 5-2- L'obésité :

Elle est définie par un excès de la masse adipeuse qui représente le facteur de résistance de l'action d'insuline le plus fréquent (Bakour et Siouane., 2008) .

##### 5-3- Le stress :

Le stress peut déclencher un diabète chez certaines personnes prédisposées génétiquement, il entraîne : la stimulation du système nerveux sympathique qui entraîne une 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. Le stress peut avoir un effet hyperglycémiant, hypoglycémiant ou dans certains cas ne pas affecter la glycémie (Gríbe et Merzougui., 2009).

##### 5-4- L'âge :

Plus l'âge est avancé plus le risque d'apparition du diabète est important, cela suggère que la fonction de production de l'insuline par le pancréas s'use.

##### 5-5 Répétition de grossesses :

La grossesse est une situation physiologique transitoire qui s'accompagne d'une résistance à l'insuline pour plusieurs raisons :

Sécrétion de l'hormone placentaire lactogène qui entraîne une insulino-résistance ; également les sécrétions progressivement croissante au cours de la grossesse d'œstrogène et progressivement sont des facteurs de résistances à l'insuline.

Une destruction importante de l'insuline endogène par le placenta (Bakour et Siouane ., 2008).

**5-6- infection virale :**

La survenue d'une infection virale chez un sujet génétiquement prédisposé, suivie rapidement d'une réponse immunitaire cellulaire hormonale.

Les prédispositions génétiques se traduisent chez un sujet atteint :

- Soit par une sensibilité particulière des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans à l'agent viral ;
- Soit par une dys-régulation immunitaire responsable de la production d'anticorps dirigés contre les cellules  $\beta$ , ces phénomènes immunitaires aboutissent à l'apparition du diabète. (Bakour et Siouane, 2008).

**5-7-facteurs alimentaires :**

Le diabète peut résulter d'une suralimentation et surtout d'un déséquilibre alimentaire. Les modifications des habitudes alimentaires, l'augmentation des apports caloriques, l'accroissement de la consommation de graisse saturée et de sucres simples ainsi qu'une carence alimentaire favorisent l'apparition du diabète (Gribe et Merzougui, 2009).

**6-Diabète expérimental :**

Afin d'étudier l'étiologie du diabète et en raison de la gravité de ses nombreuses répercussions métaboliques et dégénératives, l'utilisation des modèles expérimentaux, qui sont utilisés depuis plusieurs décennies (Cheta, 1998), représente autant de voies d'accès dans la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie. Les modèles animaux du diabète peuvent être soit spontanés, soit provoqués. Ils sont constitués des rongeurs de laboratoire (souris, rat, cobaye...) et des grands mammifères (porc, chien,...).

Les modèles spontanés sont rares chez l'animal et le type de diabète n'est pas forcément semblable à celui trouvé chez l'homme, certaines souches d'animaux diabétiques principalement des rongeurs ont cependant été créées à des fins médicales.

Les modèles induits sont obtenus par administration d'un agent toxique sur le pancréas endocrine ou par pancréatectomie, leur utilisation est réduisant car il

est théoriquement possible d'induire un diabète chez n'importe quel modèle quelle que soit sa taille. (Ferner., 1992).

### 6-1 Diabète induit par les substances chimiques :

L'induction du diabète expérimental chez les animaux par les substances chimiques qui détruisent sélectivement les cellules B pancréatiques est très commode et leur utilisation est simple.

#### 1-La streptozotocine :

La streptozotocine (STZ, 2 - deoxy - 2 - ( 3 - ( methyl - 3 - nitrosoureido ) - D-glucopyranose) est un antibiotique, extrait de streptomycètes acromogenes, sélectivement toxique pour les cellules  $\beta$  du pancréas (Hwang et al ., 2005). Cette propriété a été décrite des 1963 par RAKIETEN (Trombetta et al ., 2006) et largement utilisée pour induire le diabète insulino-dépendant et non insulino-dépendant chez les modèles animaux. Comme tous agents alkylants, la streptozotocine inhibe l'initiation de la synthèse de l'ADN et faiblement active sur les synthèses de protéines et de l'ARN. Le mécanisme de l'action diabétogène est encore méconnu. La streptozotocine. A forte dose, elle détruit les cellules  $\beta$ ; à faible dose et répétée, elle induit une insulite suivie de la destruction des cellules  $\beta$  par un mécanisme immunitaire dépendant des cellules T (Panico et al ., 2007).

#### 2-l'alloxane :

L'alloxane (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine, 5,6-dioxyuracil) est un agent exerçant une activité cytotoxique sur les cellules bêta (Lenzen et Panen, 1988). Comme le produit de sa réduction nommé acide dialurique. L'alloxane établit un cycle d'oxydoréduction avec formation de radicaux superoxydes. Associé à de fortes doses de calcium cytosolique, il provoque la destruction des cellules bêta (Szkudelski, 2001).

Cette molécule est utilisée dans plusieurs espèces afin d'induire un diabète (rat, lapin, chien...) et son utilisation peut être couplée à la STZ, dont l'action est également cytotoxique (Anderson et Stitt, 1999 ; skudelsk, 2001).

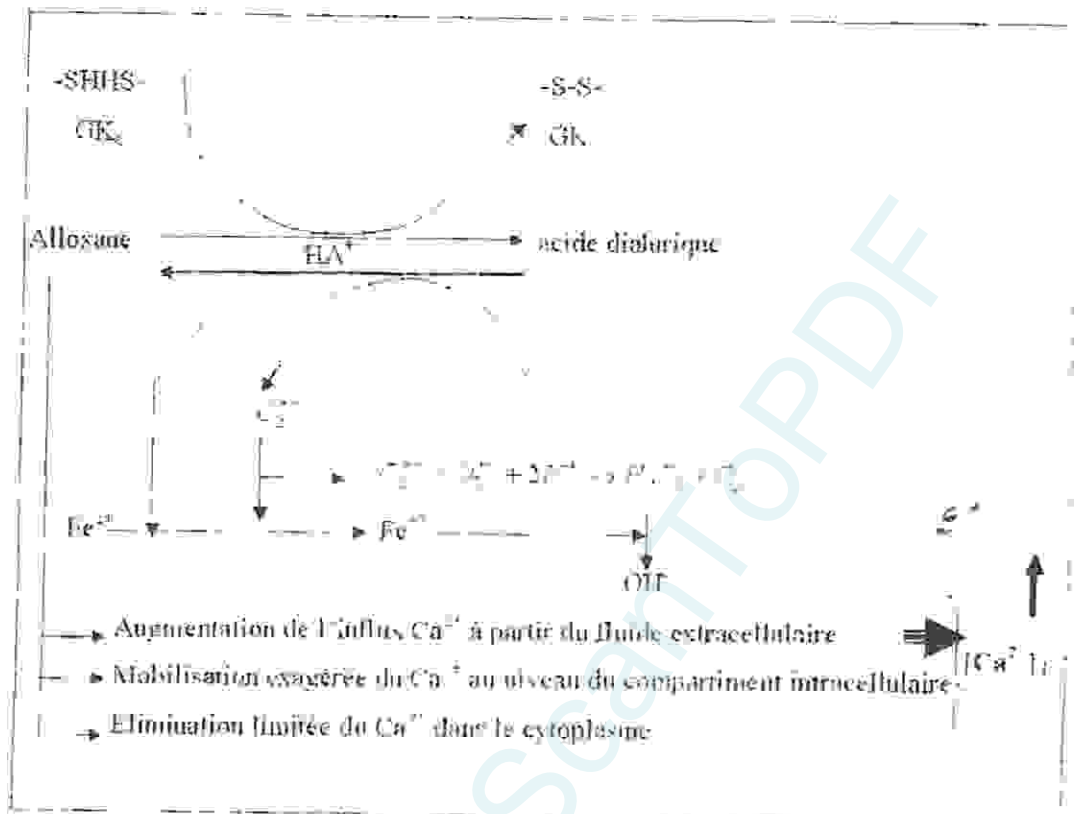


Figure 01 : Le mécanisme d'action de l'alloxane induisant la génération des radicaux superoxyde dans la cellule bêta du pancréas (Szkudelski, 2001).

GKa: glucokinase active.

GKi: glucokinase inactive

HA+: radicaux d'alloxane

[Ca<sup>2+</sup>]: concentration du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire

### 3-cyclophosphamide :

La cyclophosphamide est un agent alkylant comme la STZ, il agit en réalisant des liaisons covalentes avec l'ADN provoquant une inhibition de la transcription et de la réplication de la macromolécule et aboutissant à la destruction cellulaire .

L'injection de forte dose de cyclophosphamide déclenche l'apparition d'un diabète chez la souris pré diabétique.

Enfin il été montré que la cyclophosphamides peut abroger des mécanismes régulateurs qui préviennent l'activation des cellules T diabétogènes (Yasumami et Bach, 1988 ; Charlton et Bacelj, 1989).

#### 6-2- Diabète induit par pancréatectomie (chirurgicalement) :

Les modèles animaux induits chirurgicalement et qui sont les plus utilisés dans la recherche sur le diabète humain sont les grands mammifères. Le métabolisme glucidique est en effet assez proche de celui de l'homme. Leur forme autorisant certaines interventions irréalisables chez les rongeurs de laboratoire et leur durée de vie supérieurs à celle d'un rongeur, permet de suivre à plus long terme les effets d'un traitement (Oser et Falko, 1984).

#### 6-3- Diabète induit par inoculation de virus :

Certaines infections virales peuvent engendrer un diabète assez bien chez l'homme que chez l'animal. L'exemple le plus connu est l'infection de la souris par le virus EMC (Encéphalo-Myo-Carditis). Ce virus entraîne un diabète en pénétrant dans la cellule  $\beta$  hôte provoque une altération des fonctions de ces cellules et notamment de la synthèse et de la sécrétion d'insuline (Thérapeutique Perspective, 1998).

#### 6-4- 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 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  $\beta$  serait obtenue moins rapidement qu'avec la STZ ou l'alloxane (Sai and boillot., 1983)

### 6-5 Modèles induits par modification génétique :

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 hyper insulinémie, une hyper lipidémie mais une glycémie normale. Son pancréas est hyper trophique, hyper plasique et hyper sécrétoire (Vercher., 1996).

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

- La réduction de l'activité de la glucokinase dans la cellule  $\beta$ .
- La suppression du transporteur de glucose (Knock ou 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 (Insuline-LikeGrowth Factor).

### 7-L'augmentation du stress oxydant :

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces oxydante, tels que les radicaux libres et les peroxydes, et leur élimination par des systèmes de défenses antioxydants.

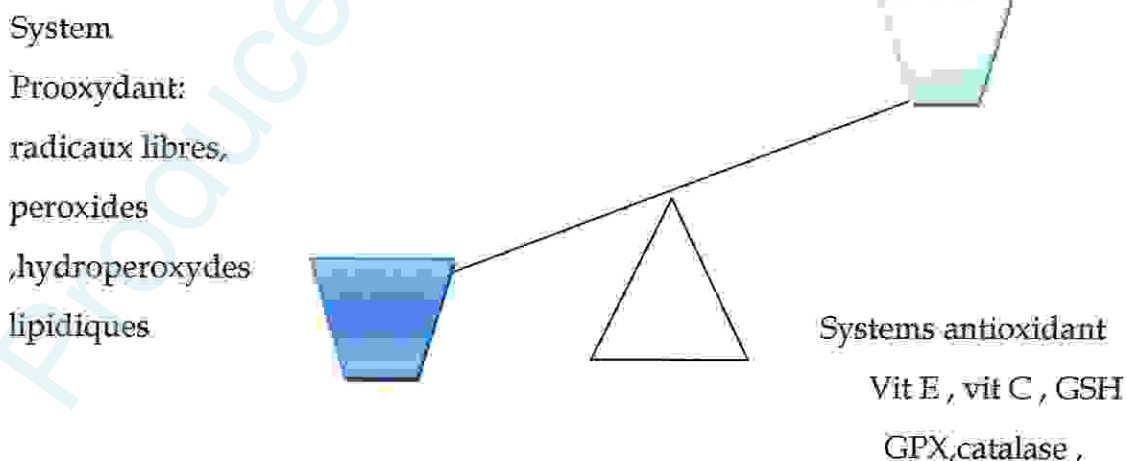


Figure 02 : Déséquilibre du statut antioxydant en faveur d un stress.

Les radicaux libres non détoxifiés peuvent attaquer différentes cibles comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques, et engendrer de nombreux dommages cellulaires.

Dans le diabète, il a été observé à la fois une diminution des défenses antioxydantes et une augmentation de la production de radicaux libres, conduisant à une augmentation des marqueurs du stress oxydant, comme les marqueurs de peroxydation lipidique par exemple.

L'hyperglycémie peut induire une production accrue de radicaux libres selon plusieurs mécanismes.

L'auto-oxydation du glucose a été décrite par Wolff et Dean(1987) : il s'agit d'une réaction catalysée par les métaux de transition et au cours de laquelle sont produits des anions super oxydes ( $O_2^-$ ).

Le glucose dans sa forme ouverte est en effet capable de s'enoliser et de réduire des métaux de transition. Le radical énediol formé peut être ensuite oxydé en dicarbonyl et induire la formation d'anions superoxydes, précurseurs du peroxyde d'hydrogène( $H_2O_2$ ) et du radical hydroxyle ( $HO\cdot$ ) très réactif.

L'hyperglycémie induit également une augmentation du rapport  $NADH/NAD^+$ , notamment par l'activation de la voie des polyols. Or le  $NADH$  est cofacteur de différentes enzymes catalysant des réactions génératrices de radicaux libres, c'est le cas par exemples de la prostaglandine hydroperoxydase ou encore de la  $NADH$  oxydase (Kukreja et al al.,1986 ;Ellis et al., 1998).

Des ROS sont également libérés suite aux réactions de glycation de protéines, lipides ou acides nucléiques.

L'effet de la production accrue de ROS est potentialisé par la réduction des défenses antioxydantes. Une diminution des défenses antioxydantes enzymatiques (GPx, catalase, SOD) ou non enzymatiques comme le GSH ou la vitamine E peut conduire à l'apparition d'un stress oxydant dans les tissus.une telle altération a été rapportée au cours du diabète et dans plusieurs études, *in vitro*, en présence de glucose (Ceriello et al ., 1993).

L'augmentation du stress oxydant au cours du diabète a donc été principalement démontrée par une augmentation des dommages causés par les radicaux libres sur



les protéines et les lipides (Gallou et al., 1994 ; Griesmacher et al., 1995 ; Nourozzadeh et al., 1995 ; Jain et al., 1998 ; Hartnet et al., 2000).

DMOSZYNSKA et al en 1995 ont montré une augmentation des taux des produits de peroxydation lipidique dans des plaquettes de diabétique en comparaison à ceux des plaquettes de témoins.

Produced with ScanTOPDF

# *Chapitre 2*

## ***LES PLANTES MÉDICINALES***

Produced with Scantopdf

## Chapitre II : Les plantes médicinales :

### I- Les plantes médicinales :

#### Introduction :

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine de nos grands parents, cependant, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies qui étaient souvent mortelles, les plantes médicinales et les remèdes qu'on pouvait en tirer ne furent jamais totalement abandonnés et les gens ne cessèrent jamais de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir vivante une tradition thérapeutique connue depuis nos ancêtres. (Unité de conservation et de développement-batna-)

#### I-1-Historique :

Chiej(1982), a dit que l'homme préhistorique a déjà remarqué les animaux qui consomment quelques plantes pour objectif thérapeutique. Il est certain qu'il a vu le daim qui soigne ses blessures avec certaines plantes, et Bardeau (1978) voit que l'histoire de la médecine revient à 4500 années av.J.C. Car les anciens égyptiens ont utilisé les remédiant et les plantes aromatiques dans la thérapie ou en sorcellerie. (Dahia., 1987). Lorsqu'il s'agit de l'histoire des plantes, il est fait souvent référence à la médecine grecque, habituellement à Hippocrate (300 ans av.J.C.), à Dioscorides (1<sup>er</sup>siècle de notre ère) ou à Galien (2<sup>ème</sup> siècle de notre ère).

Des tablettes d'argile gravées de signes cunéiformes, datant de l'époque sumérienne (vers le 4<sup>ème</sup> millénaire) représentent des "recueils de formules de plantes médicinales", près de 250 herbes y sont indiquées, sous forme d'onguents, De tisanes, de décoctions etc (Baba Aissa., 1999).

Ensuite les arabes ont découvert les techniques de distillation, et parmi les savants arabes il y'avait Abou baker Errazi, qui a fait plusieurs livres scientifiques en relation avec la médecine et les plantes, il y'avait aussi Avicene, qui a presque 100 œuvres scientifiques et philosophiques, et parmi les livres de médecine et de pharmacie on a "la guérison". Mais en 1942, la défaite des arabes en Andalous" les

européens ont pris tout patrimoine, ils l'ont développé et ajouté un plus. Ils ont pris leur découvertes et innovation, et ça duré comme ça, les savants ont continué à innover à découvrir dans ce domaine, comme Fleming qui a séparé le Pénicilline du *Penicillium notatum*. Bourret (1978) a dit que parmi 100 millions microbes, un pourrait vivre et devenir résistant et se reproduire, ce qui a poussé les savants à aller vers la thérapeutique par les plantes comme solution qui les protège des complications secondaires des médicaments chimiques (Dahia., 1987). En Afrique, l'usage des plantes est connu depuis long temps, les herbes font partie de sa culture et, bien que leur pouvoir thérapeutique soit coloré de magie et de mysticisme (dans certaines cultures on croyait que la plante avait une âme), plusieurs propriétés sont effectives. Aussi, ont-elles une valeur économique : des centaines de plantes sauvages et cultivées se vendent sur tous les marchés d'Afrique.

Un fait bien connu est l'existence dans le monde entier de plantes médicinales utilisées par la médecine populaire, comme remèdes pour le traitement de différents états d'hyperglycémie et plus précisément chez des patients atteints de diabète sucré et non insulino-dépendants. En certaines occasions, les personnes soumises à un traitement à base de plantes n'ont besoin d'aucune autre médication pour maintenir les valeurs de glucose sanguin dans les limites normales .

Au cours de ces dernières années, l'étude scientifique de toutes les plantes utilisées comme antidiabétique a suscité un grand intérêt. (Anonyme 1)

## I-2- Phytothérapie et diabète

### \* la phytothérapie :

D'un point de vue étymologique, le terme "phyto" de phytothérapie provient du grec ancien avec le terme plus précis de "phyton" et signifie "végétal". La phytothérapie est donc la "thérapie par le végétal ou par le monde végétal", aujourd'hui nous considérons davantage la phytothérapie comme la "thérapie par les plantes ". Les plantes médicinales sont des végétaux connus pour leurs pouvoirs bienfaiteurs, ils sont disposées de nombreuses vertus curatives. On peut

citer par exemple, les flavonoïdes qui permettent de renforcer les parois sanguines. Les principes actifs amers qui facilitent la digestion. (Anonyme 2)

On peut distinguer deux types de phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (Max Wichd et Bbert.,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 parallèle du fait de l'absence d'étude chimique.
- Une pratique basée sur les avancées scientifiques et la recherche des principes actifs des plantes. Cette phytothérapie est assimilée aux médicaments et selon les pays suit les mêmes réglementations (AMM, vente en pharmacie...). On parle alors de pharmacognosie (Max et Bbert., 2003).

#### \* Les Plantes antidiabétiques :

De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques certains sont à l'origine de la mise au point de médicaments ex: le biguanide metformine grâce au *Gallega officinalis* (Jean., 2003).

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques dans les pays dont le "niveau de vie" s'améliore (ex : Inde, Chine, Sud- Est asiatique, pourtour méditerranéen), de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique de ces plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine quotidienne dans ces pays où les médicaments synthétiques sont malgré tout assez chers et où la tradition de médecines par les plantes est bien ancrée dans les mœurs.

(Jean., 2003, Max et Bbert., 2003)

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 (Jean., 2003). Deux types de substances végétales semblent intéressants :

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

### I-3-Domains d'application des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont les intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolismes secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des nouvelles molécules actives, ou des matières premières pour la semi-synthèse (Bahrun., 1996)

Il y a en donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche des nouvelles drogues est un choix normal (Scientific correspondence., 2003).

- 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, exemple : Flavocoe est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercetine est utile dans le traitement de l'athérosclérose (Narayana., 2000).
- ✓ Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (Malaleuca alternifolia, Echinacea angustifolia, Chrysantenun parthenium, Achillea millefolium...etc) . (Svoboda et Hampson., 1999., Pedneault., 2001 ., Amjad Hossain., 2005).
- ✓ Contre le diabète (Azadirachta indica, Annona squamosa, Musanga cecropioides...etc) (Amjad Hossain .,2005., Annie shirwarcar .,2004., Adeneye., 2007).
- ✓ Les maladies de stress, des activités antioxydantes, tels le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composés phénoliques, parmi les quels 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 (55). D'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles de romarin, sauge, thym, origan, sarriette, clou de girofle, gingembre et curcuma (Cuvelier., 1996).
- ✓ 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 ex: la quinine obtenue à partir du quinquina "Cinchona"
- ✓ A été avec succès employée pour traiter le malaria (Dastidar., (2004), l'arbre de thé (Malaleuca alternifolia) est renommé pour ses propriétés: anti-bactériennes, anti-infectieux, antifongiques et antivirales (Svoboda et Hampson.,

1999), aussi comme antivirale (*Azadirachta indica*, *Aloe vera*, *Withania somnifera*, *Curcuma longa*...etc) (Amjad Hossain., 2005., Lyons et Nambiar., 2005) mais aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments anti rétroviraux pour arrêter la réplication du VIH (Lyons et Nambiar., 2005), antifongiques (*Capsicum annum*, *Allium ramosum*, *Allium sativum*, *Tulbaghia violacea*...) (Wilson., 1997)

- **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 responsable 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).



#### I-4-Les Avantages et Les inconvénients :

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable : c'est là l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement. Enfin, contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme.

Par contre, les médicaments de synthèse ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte, de leur qualité et de leurs conditions de conservation (Anonyme 3).

### II-Marrubium vulgare :

#### Introduction :

Une enquête ethnobotanique a permis de retenir quelques plantes en Algérie utilisées traditionnellement dans le traitement de diabète : *thymelaea hirsuta*, *chénopodium ambrósioide*, *mentha pulégium*, *teucrium polium*, *carum carvi*, *marrubium vulgare*. Des études préliminaires ont démontré une activité hypoglycémisante de l'extrait aqueux de ces plantes sur des rats normo glycémiques (Anonyme 4).

#### II-1-Historique :

Dans l'Égypte de la haute Antiquité, le marrube était déjà reconnu pour ses propriétés apaisantes contre la toux. On s'en servait également comme insectifuge et comme antidote contre plusieurs poisons. Les Grecs de l'Antiquité l'utilisaient contre les morsures de chiens enragés. En médecine ayurvédique (Inde), chez les autochtones d'Australie et les Amérindiens d'Amérique du Nord, le marrube servait à traiter les infections des voies respiratoires.

John Gérard, herboriste élisabéthain du XVI<sup>e</sup> siècle, le recommandait contre les sifflements respiratoires. Nicholas Culpepper, médecin herboriste anglais du XVII<sup>e</sup> siècle, le disait souverain pour traiter la coqueluche.

Jusqu'en 1900, la pharmacopée des États-Unis reconnaissait l'usage du marrube pour traiter les infections des voies respiratoires. Comme elles sont désormais traitées à l'aide d'antibiotiques, cet usage du marrube est tombé en désuétude, du moins en Amérique du Nord. La Food and Drug Administration (FDA) américaine a interdit l'usage de la plante comme ingrédient dans les remèdes contre la toux en raison de l'absence d'essais cliniques sur les humains. Cependant, en Europe, la plante est toujours inscrite dans les pharmacopées nationales : on y fabrique nombre de sirops et de pastilles qui en renferment. Ces produits se retrouvent d'ailleurs sur les étagères des pharmacies et des magasins de produits naturels aux États-Unis et au Canada.

Par ailleurs, la plante sert encore de nos jours à aromatiser certaines confiseries. Les Anglais brassent aussi une bière au marrube (Anonyme 4).

#### II-2-Description botanique :

*Marrubium vulgare* (Marrube blanc ou Marrube Commun) est une plante herbacée du genre *Marrubium* de la famille des Lamiacées originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie, que l'on trouve surtout sur les bords de chemins, son odeur de thym la distinguant des autres plantes. C'est une plante pérenne de couleur grisonnante ressemblant légèrement à la menthe, et qui peut atteindre 25 à 45 cm de hauteur. Ses feuilles duveteuses ont une longueur de 2 à 5 cm et un aspect froissé. Les fleurs sont blanches et comme beaucoup d'autres Lamiacées, le marrube a une tige carrée. Cette plante aime être isolée et elle n'a pas vraiment de demande particulière en ce qui a trait au sol. Elle peut aussi bien être dans un terrain vague que dans un dépotoir (Anonyme 5).

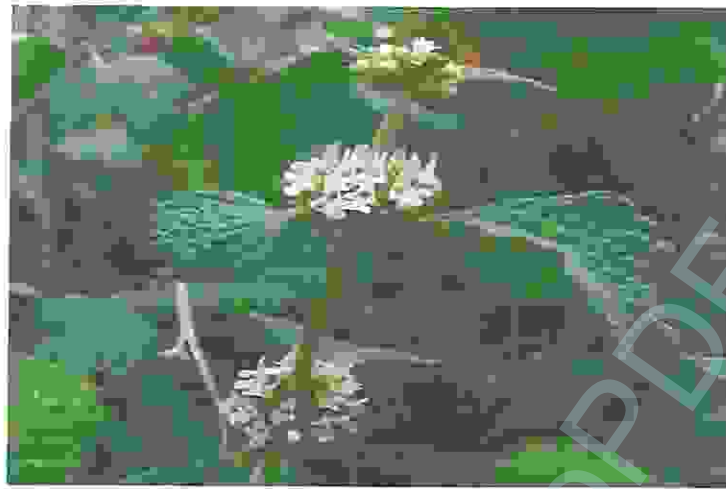


Figure 03 : Représente la plante de Marrubium vulgare.

### II-3 Propriétés médicinales :

Marrubium vulgare a été utilisé pour ses propriétés médicinales :

- Antitussif (béchique) qui calme ou diminue la toux.
- Apéritif qui stimule l'appétit par des principes amers.
- Cholagogue (qui facilite l'évacuation de la bile)
- Cholérétique (qui augmente la production de bile)
- Expectorant (qui facilite l'expulsion des sécrétions des voies respiratoires)
- Tonique (qui stimule et défatigue l'organisme) (Anonyme 6). Elle est utilisée aussi dans notre milieu populaire pour le traitement du diabète et la désinfection des plaies (Anonyme 7).

### II-4 Usages traditionnels :

La majorité des pharmacopées nationales européennes, la pharmacopée de l'Inde et de l'Australie reconnaissent l'usage de la plante pour le traitement des infections respiratoires, notamment celles qui touchent les bronches. Des essais sur des souris indiquent que le marrube a des propriétés antispasmodiques, analgésiques et anti-inflammatoires (1-5). Ces propriétés, en plus de contribuer au soulagement des troubles digestifs, explique son usage traditionnel contre les problèmes respiratoires. On a également observé une bonne activité antimicrobienne de l'espèce Marrubium globosum (Anonyme 3).

***MATERIEL &  
METHODES***

Produced with ScantPDF

**Matériels et méthodes :**

**I-Etude phytochimique**

**I-1- Matériel végétal :**

❖ **Identification:**

L'identification botanique de la plante est faite par Dr Bediar (Faculté des Sciences, Département de Biologie- Annaba).

❖ **Origine géographique :**

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante (les feuilles et les tiges), cette dernière est récoltée de la wilaya de Guelma le mois de mars en 2011. La plante fraîchement récoltée est conservée à l'ombre dans un endroit sec et aéré.

**I-2- Tests préliminaires de la composition chimique:**

**I-2-1-Alcaloïdes:**

❖ **Définition:**

Les alcaloïdes constituent un groupe chimique très hétérogène, difficile à définir précisément. Le terme alcaloïde est généralement appliqué aux substances organiques basiques azotées et douées de propriétés physiologiques.

❖ **Extraction et purification des alcaloïdes :**

Introduire dans une fiole, 3g de la poudre à laquelle ajouter 20ml d' $H_2SO_4$  à 10%.

Agiter et laisse reposer 30 minutes, puis filtrer sur papier.

❖ **Caractérisation générale :**

Mettre dans un tube à hémolyse, 1ml de l'extrait. Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Mayer (5g de KI + 1.358g de  $HgCl_2$  solubilisés dans 100ml d'eau distillée).

L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

➤ Donc le résultat est négatif. (Kerharo et Adam, 1974).

**I-2-2-Flavonoïdes:**

Ce sont des pigments naturels de couleur jaune, généralement polyphénoliques. Ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides dont les

génines sont des dérivés de la phénylchromone, la chromone étant la benzo-y-pyrone. Les flavonosides sont doués d'activités diurétiques et vitaminiques P (Kerharo et Adam., 1974) .

❖ **Extraction des flavonoïdes :**

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

❖ **Caractirisation générale :**

Prendre 10 ml du filtrat, le rendu baique par l'ajout du  $\text{NH}_4\text{CH}$ .

Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai.

➤ Donc le résultat est positive (Okmu., 2005).

**I-2-3-Tanins:**

❖ **Définition :**

Les tanins sont des composées polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est àdire de la rendre dure et imputrescible en se fixant sur les protéines. On distingue deux grands types :

1. Les tanins hydrolysables ou tanins pyrogalliques qui sont des esters d'oses et d'acides phénols (acides galliques en particulier).
2. Les tanins condensés, non hydrolysables ou tanins catéchiques qui dérivent des catéchols et des proanthocyanidols par condensation. (Kerharo et Adam .,1974).

❖ **Extraction des tanins :**

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

❖ **Caractirisation générale :**

Dans un tube à essais, introduire 5 ml d'infusé à 5% puis ajouter 1 ml de la solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 1%.

En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir.

➤ Donc le résultat est positif.

❖ Différenciation des tanins :

-Tanins Galliques : Précipitation par le réactif de stiasny :

A 30 ml de solution à 5% , ajouter 15 ml de réactif de stiasny (10 ml de formol à 40% et 5 ml d'HCl concentré ), puis chauffer au bain marie à 90C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5g d'acétate de sodium. ajouter 1 ml d'une solution de  $FeCl_3$  goutte à goutte.

L'obtention d'une teinte bleu noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de stiasny.

➤ Donc le résultat est positif.

-Tanins catéchiques: Oxydation des tanins condensés :

A 5 ml de solution à 15ml , ajouter 5 ml d'HCl concentré.

L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn puis filtrer sur papier filtre.

En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge.

➤ Donc le résultat est négatif. (Karumi et al., 2004).

I-2-4 Saponosides:

❖ Définition :

Les saponosides ou saponines sont des hétérosides très répandus dans le règne végétal.

Il ont en commun leur structure et surtout un ensemble de propriétés physico-chimiques et physiologiques :

-Abaisse la tension superficielle de solution, d'où leur pouvoir aphrogène dans l'eau.

-Saveur acre,

-Pouvoir sternutatoire.

-Pouvoir hémolytique et toxicité sur les animaux à sang froid. ( Ngoko.,1989).

❖ Extraction des saponosides :

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

❖ Caractérisation générale :

Dans un tube à essais remplir 1ml du décocté à 1% préparer et ajuster le volume à 10 ml de l'eau distillée Ensuite, agiter le tube dans le sens de la longueur pendant 15 seconds en raison de 2 agitation par seconde.

Pour confirmer la présence de saponosides, il faut qu'une mousse apparait après avoir laisser au repos pendant 15 mn le tube à essais.

✓ Donc le résultat est négatif. (Karumi et al., 2004).

**I-2-5-Cardinolides cardiotoniques :**

❖ Extraction des cardiotoniques :

Macérer 1g de la poudre dans 20ml d'eau distillée et filtrer, prélever 10ml du filtrat, l'extraire avec un mélange de 10ml de  $\text{CHCl}_3$  et de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  évaporer la phase organique et dissoudre le précipité dans 3ml de  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , ajouter quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  suivi de 1ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré sur les parois du tube à essai.

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

➤ Donc le résultat est négatif.

**I-2-6-Stérols et Terpènes :**

• 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. Le plus important de l'organisme est le cholestérol. C'est une substance utilisée pour traiter une maladie, une affection, elle a pour but la conservation et le rétablissement de la santé.



- **Terpènes :**

Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyle butadiène, appelées unités isopréniques. (Moyses, 1965)

- ❖ **Extraction des stérols et terpènes :**

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

- ❖ **Caractérisation générale :**

le résidu obtenu est dissout dans 0.5ml d'acide acétique et ensuite dans 0.5ml de  $\text{CHCl}_3$ . transférer les deux solutions dans un tube à essai, puis ajouter 1 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré.

La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols terpéniques.

➤ Donc le résultat est positif. (Dohou et al., 2003).

## II - Matériel biologique et conditions d'élevages

Notre étude a été réalisée sur un échantillon de 20 lapins males de population locale , de souche *Cuniculus lepus* provenant de la région de Guelma durant le mois d'Avril, âgés de 6-7 mois, d'un poids vif moyen de 1500 g. les animaux sont élevés dans des cages en plastique de 90x60x25 cm de dimension, tapissées de carton changé quotidiennement, ces cages sont nettoyées par l'utilisation de détergents comme l'eau de javel pour éviter les infections. Signalons que l'élevage des lapins a été effectué au niveau de l'animalerie du département de biologie (Université de Guelma). Ces lapins sont acclimatés aux conditions de notre animalerie pendant 3 semaines à une température ambiante et une photopériode naturelle. La nourriture a été bien équilibrée et variée, elle contient tous les éléments nécessaires pour la croissance naturelle des animaux. Le régime alimentaire contient 200 g d'aliment sec composé de maïs et d'orge qui sont riches en protéines, fibres, et en glucides. Ce régime a été fourni à partir de 18 h jusqu'à midi du lendemain, tandis que la période de l'après midi

présente un régime alimentaire riche en vitamine et en eau basée sur les légumes variés comme la salade, la carotte et de l'eau potable. Après la période d'adaptation, une seule dose d'alloxane est injectée aux lapins par voie intraveineuse (150mg/Kg de poids) (Menai S et Vakou S, 2010). 72 h après l'injection, on dose le glucose et quand on est sûr que le diabète est induit, on répartit les lapins en 04 groupes (5 lapin chacun) avec accès à un régime alimentaire expérimental.

#### II-1 traitement des animaux :

- Lot 1: Témoin sain reçoit l'eau distillée.
- Lot 2 : Sain reçoit l'extrait du marrubium vulgare à la dose de 500 mg/kg. (elberry AA et al., 2010)
- Lot 03 :Diabétique non traité reçoit l'eau distillée
- Lot 04: Diabétique traité; reçoit l'extrait du marrubium vulgare a la dose de 500 mg/ kg.

Le traitement par la plante a été effectué par gavage (voie orale), chaque jour avec une dose de 500mg/kg de poids pendant 21 jours.

Le poids corporel des lapins a été pris avant et après le traitement.

#### II-2 Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins se font par sacrifice à la fin du traitement. Les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes secs, puis centrifugés à 3000tr/minute pendant 15 minutes. Le sérum est séparé trois fractions dans des tubes Eppendorf, puis mis à (-20°C) jusqu'au moment du dosage.

#### II -3 Prélèvement des organes:

Après la dissection, le foie et le pancréas sont prélevés, débarrassés de leur tissus adipeux, rincés dans une solution chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9 %. Des fragments du foie recouvert de papier aluminium déposés dans une boîte et conservés au congélateur à -18°C pour le dosage du glutathion et des protéines hépatiques. Le pancréas est mis dans du bouin alcoolique pour l'étude histologique.

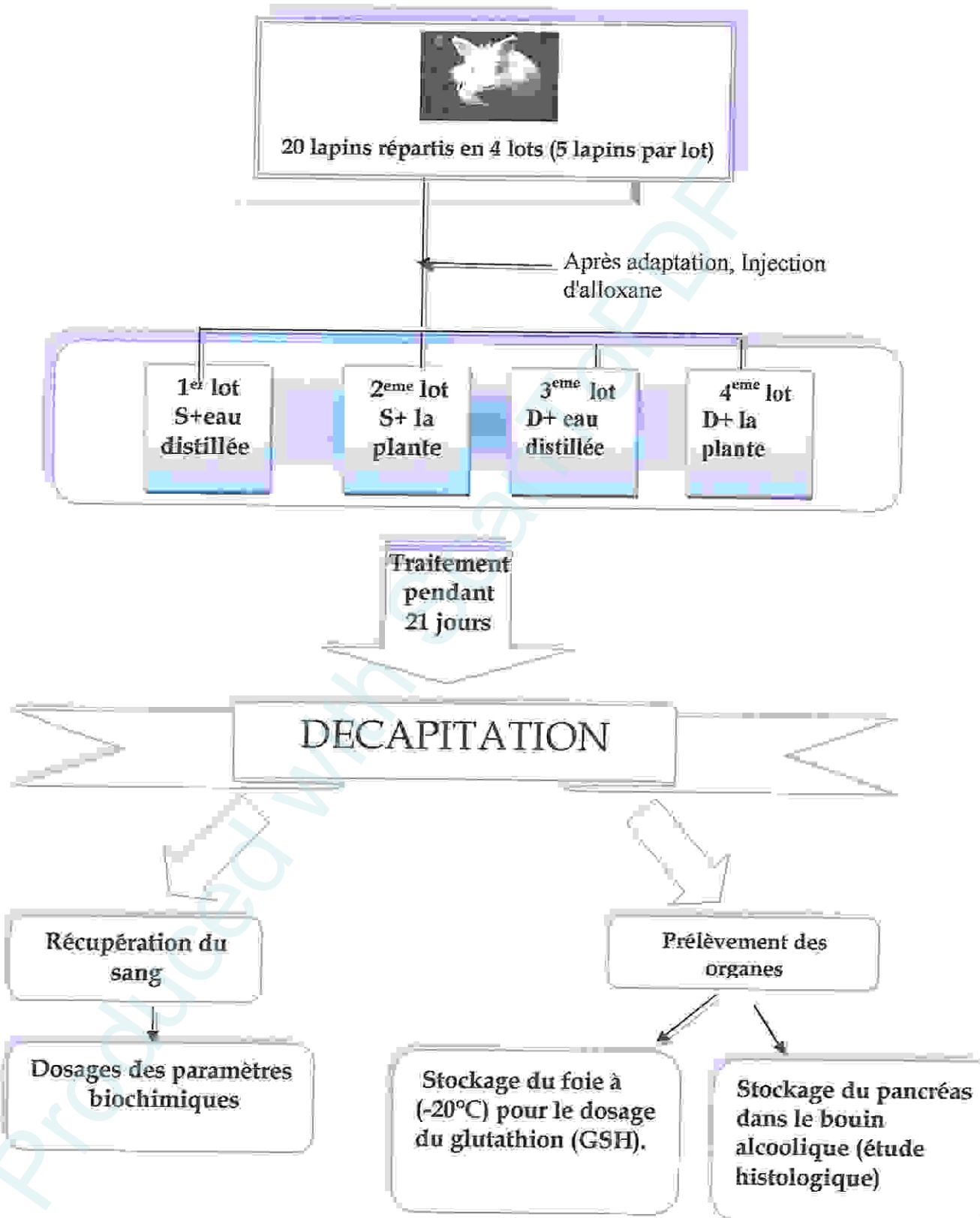


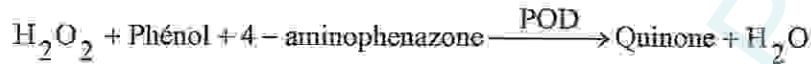
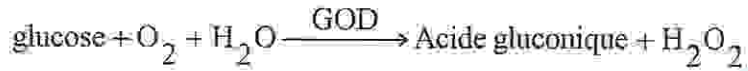
Figure 04: Schéma récapitulatif du Protocole expérimental

### III- Dosage des paramètres biochimiques

#### III-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 <sub>1</sub> )<br>(Tampon)  | -Tris pH = 7.4<br>-Phénol   | 92 mmol /l<br>0.3 mmol/l            |
| Reactif (R <sub>2</sub> )<br>(Enzymes) | - Glucose oxydase (GOD)<br>- Peroxidase (POD)<br>- 4- aminophenazone (4-AP) | 15000 U/l<br>1000 U/l<br>2.6 mmol/l |
| Etalon                                 | -Solution de Glucose  | 100 mg/dl                           |

❖ Préparation de réactif de travail (RT):

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R<sub>2</sub>) dans la fiole de réactif (R<sub>1</sub>).
- ✓ 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 :

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

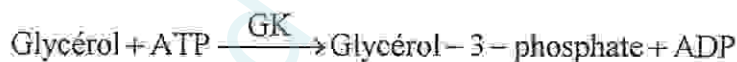
La concentration d'étalon = 100 mg/dl.

### III -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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ce dernier forme avec le 4-aminophénone 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.

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

| Les réactifs                           | Composition                               | Concentration |
|--|---|---------------|
| Réactif (R <sub>1</sub> )              | - GOOD pH=7.5                             | 50 mmol /l    |
| Tampon                                 | -P-Chlorophenol                           | 2 mmol /l     |
| Réactif (R <sub>2</sub> )<br>(enzymes) | - Lipoproteine lipase (LPL)               | 150000 U/l    |
|  | -Glycérol kinase (GK)                     | 500 U/l       |
|  | -Glycérol-3-oxidase (GPO)                 | 2500 U/l      |
|  | -Peroxidase (POD)                         | 440 U/l       |
|  | -4-Aminophenazone (4-AP)                  | 0.1 mmol/l    |
|  | -ATP                                      | 0.1 mmol /l   |
| Etalon                                 | -Triglycéride aqueux primaire standardisé | 200 mg/dl     |

❖ Préparation de réactif de travail (RT):

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R<sub>2</sub>) dans la fiole de réactif (R<sub>1</sub>).
- ✓ 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 | 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.

## ❖ Calcul:

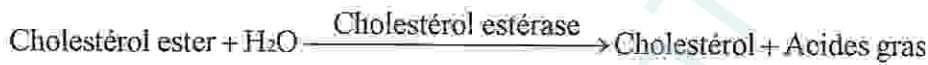
$$\text{Triglycérides (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

La concentration d'étalon = 200mg/dl.

## III-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 (R2)<br>(enzymes) | - Cholestérol estérase.<br>-Cholestérol oxydase.<br>-Peroxydase.<br>-4-Aminophénasone (4-AP) | 300 U/l<br>300 U/l<br>1250 U/l<br>0.4 mmol/l |
| Etalon                    | -Cholestérol aqueux primaire standardisé.  | 200 mg/dl                                    |

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

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R<sub>2</sub>) dans la fiole de réactif (R<sub>1</sub>).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devient 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.

### III-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.

### III-5-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 <sub>1</sub> ) | - Acide picrique.        | 17.5 mmol /l  |
| Réactif (R <sub>2</sub> ) | - Hydroxyde de sodium.   | 0.29 mmol/l   |
| Etalon                    | - Créatinine (solution). | 2 mg/dl       |

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

✓ Mélanger bien un volume de (R<sub>1</sub>) avec le même volume de (R<sub>2</sub>).

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

#### ❖ Mode opératoire :

|              | Blanc | Etalon | Echantillon |
|--------------|-------|--------|-------------|
| Réactif (RT) | 1ml   | 1ml    | 1ml         |
| Etalon       | ----- | 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 (A<sub>1</sub>) et après 90 s (A<sub>2</sub>).

✓ 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.

### III-6- 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 ( $2\text{H}_2\text{O}_2$ ) 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 (R <sub>1</sub> )<br>(Tampon)  | - Phosphate pH = 7.4<br>- 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS)                        | 50 mmol /l<br>4 mmol/l                   |
| Réactif (R <sub>2</sub> )<br>(Enzymes) | - Uricase.<br>- Peroxydase (POD).<br>- Ascorbate oxydase.<br>- 4-Aminophenase (4-AP) | 60 U/l<br>660 U/l<br>200 U/l<br>1 mmol/l |
| Etalon                                 | - Acide urique aqueux primaire standardisé.  | 6 mg/dl                                  |

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

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R<sub>2</sub>) dans la fiole de réactif (R<sub>1</sub>).

✓ 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 :

|              | Blanc | Étalon | Échantillon |
|--------------|-------|--------|-------------|
| Réactif (RT) | 1ml   | 1ml    | 1ml         |
| Étalon       | ----- | 25 µl  | -----       |
| Échantillon  | ----- | -----  | 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:

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

Concentration de l'étalon = 6 mg/dL.

III-7-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 <sub>1a</sub> )<br>(Substrat TGO) | -DL-Aspartate.<br>- $\alpha$ -cétoglutarate. | 100 mmol/l<br>2 mmol/l |
| Réactif (R <sub>1b</sub> )<br>(Substrat TGP) | -DL-Alanine.<br>- $\alpha$ -cétoglutarate.   | 200 mmol/l<br>2 mmol/l |
| Réactif (R <sub>2</sub> )                    | -2,4-Dinitrophenylhydrazine<br>(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 <sub>1a</sub> ) GOT | 0.5 ml | -----  |
| Réactif (R <sub>1b</sub> ) GPT | -----  | 0.5 ml |

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

|             |             |             |
|-------------|-------------|-------------|
| Echantillon | 100 $\mu$ l | 100 $\mu$ l |
|-------------|-------------|-------------|

✓ Mélanger et retourner les tubes au bain marié.

|                           |        |        |
|---------------------------|--------|--------|
| Réactif (R <sub>2</sub> ) | 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 incuber 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 <sub>1a</sub> ou R <sub>1b</sub> | 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 |
| DNFH                               | 1 ml   | 1 ml   | 1 ml  | 1 ml   | 1 ml   | 1 ml  |

✓ Mélanger et incuber 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 incuber pendant 20 min.

✓ Lire l'absorbance (A) à 505 nm contre l'eau distillée.

|         |    |    |    |    |    |       |
|---------|----|----|----|----|----|-------|
| TGO U/l | 00 | 11 | 27 | 46 | 72 | 104   |
| TGP U/l | 00 | 12 | 24 | 40 | 62 | ----- |

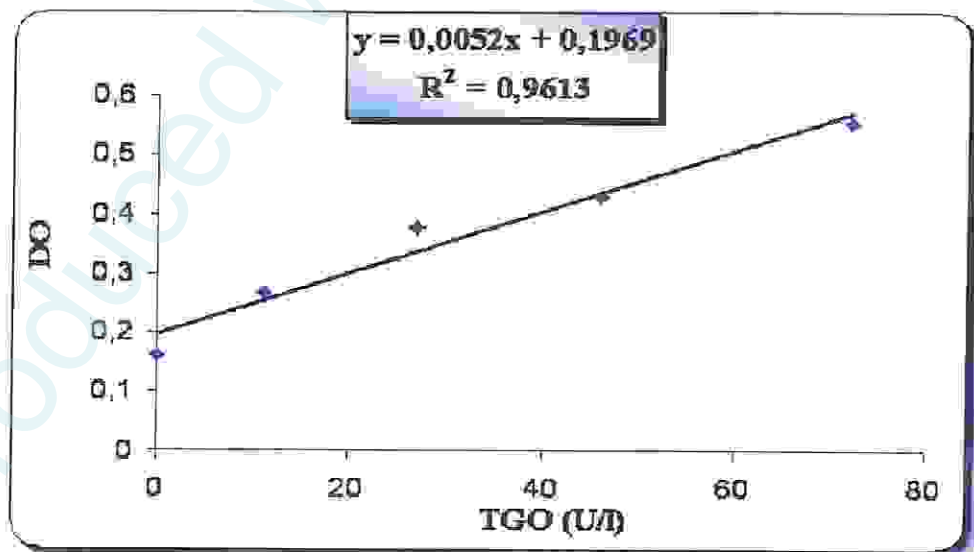


Figure 05: La courbe d'étalonnage de l'Aspartate Aminotransferase (ASAT/TGO)

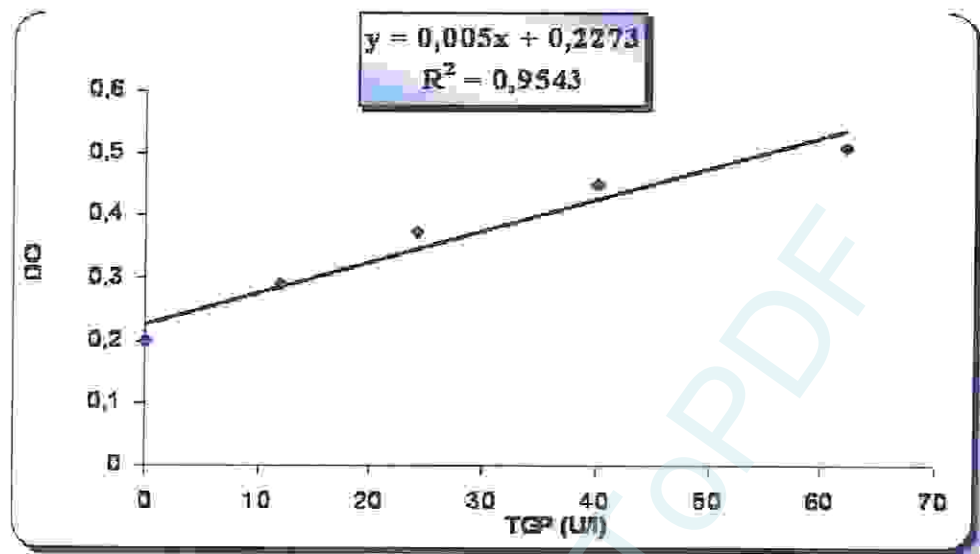


Figure 06 : La courbe d'étalonnage de l'Alanine Aminotransferase (ALAT/GPT)

### III-8-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-5mercapturique. 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 g 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:**

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

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.



### III-9-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 (-NH<sub>2</sub>) 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 (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 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).

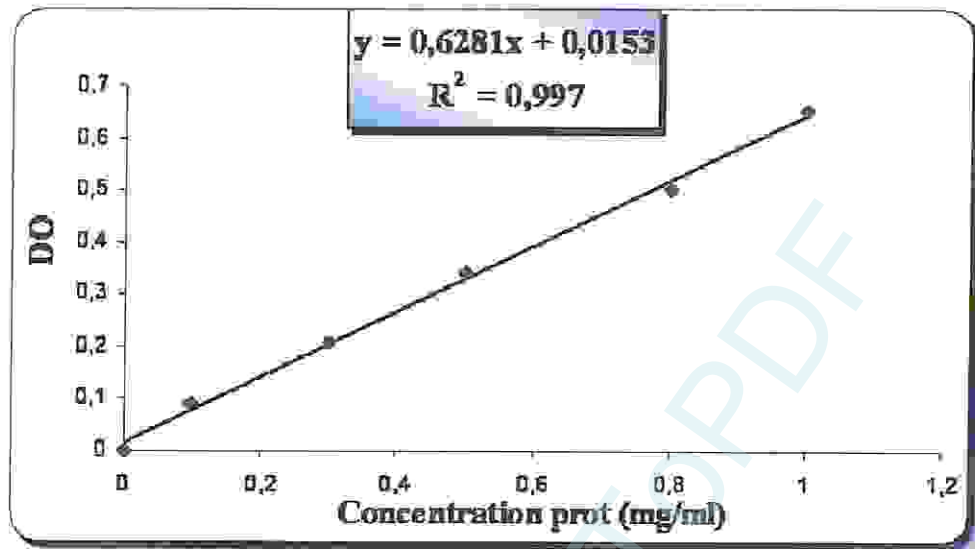


Figure 07: Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin

#### IV - Etude histologique :

Les coupes histologiques du pancréas ont été réalisées suivant la technique classique du Houlot, 1984.

Pour chaque lapin, on prélève un fragment du pancréas de 0,5 cm<sup>3</sup>, 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 cm<sup>2</sup> 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.

##### IV -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%).

##### IV -2 inclusions :

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  $\mu\text{m}$  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.

#### IV -3 coloration :

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

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

#### V- Exploration statistique des résultats :

- les calculs statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel Origine 6.0 d'analyse et de traitement statistique des données (Origine 6.0).
- Les résultats sont représentés sous la forme (moyenne  $\pm$  écart type moyen) et les différences ont été considérées significatives à  $P < 0.05$ .

- Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaires; les paramètres statistiques de base pondérale, biochimiques et hépatiques, pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un critère de classification.
- A l'aide du test t du Student, nous avons comparé les moyennes deux à deux pour chaque variable (paramètre étudié).

Produced with ScanTOPDF

***RESULTS &  
INTERPRETATIONS***

Produced by Scantopdf

Les résultats :

1- Etude phytochimique

1-1- Tests préliminaires de la composition chimique :

Les résultats du screening sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 1 :Screening phytochimique du marrubium vulgare

| Composé     | Alcaloïdes | Flavonoïdes | Tanins | Stérols et terpènes | Cardénolides cardiotoniques | Saponosides |
|-------------|------------|-------------|--------|---------------------|-----------------------------|-------------|
| Observation | -          | +           | +      | +                   | -                           | -           |

Les tests de la composition chimique réalisés sur le marrubium vulgare la présence des flavonoides,des tanins et stérols et terpènes Par contre les alcaloïdes,les cardénolides cardiotoniques et les saponosides ont été absents dans l'échantillon analysé.

2-Etude biologique

Tableau 2 : Représente le gain du poids corporel (g)

|                        | Les lots expérimentaux    |                         |                                 |                             |
|------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
|                        | sains non traités (n = 5) | Sains traités (n = 5)   | diabétiques non traités (n = 5) | diabétiques traités (n = 5) |
|                        | M ± SEM                   | M ± SEM                 | M ± SEM                         | M ± SEM                     |
| Gain du poids corporel | 76.8 <sup>a</sup> ± 26.08 | 113 <sup>b</sup> ± 34.4 | -37.4 <sup>c</sup> ± 11.75      | 128.6 <sup>d</sup> ± 24.96  |

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.

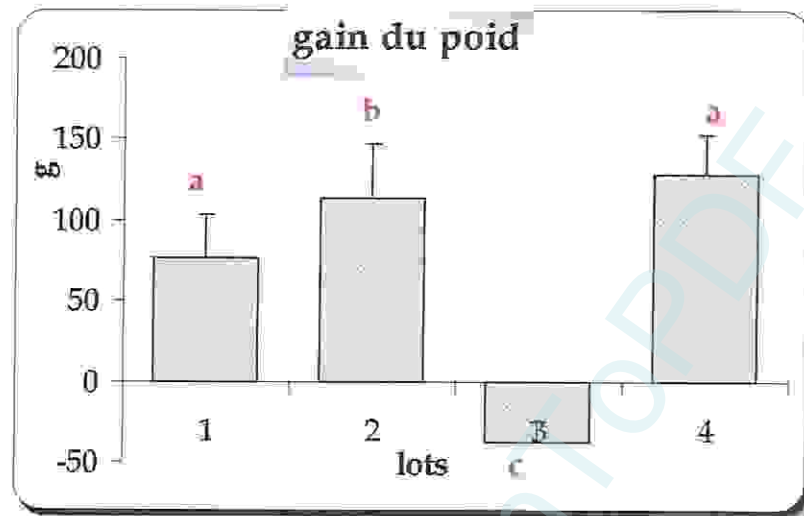


Figure 8 : Représente le gain du poids corporel chez les lots expérimentaux

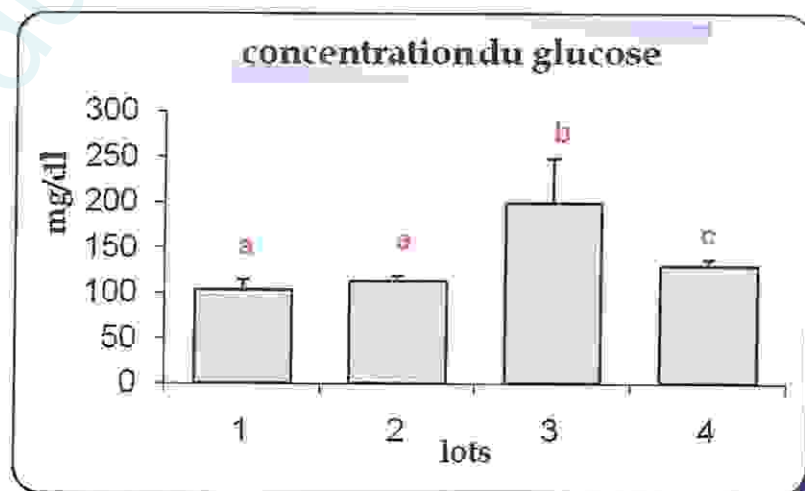
D'après le tableau 2 et la figure 2 on constate que le traitement par le *marrubium vulgare* à la concentration 500 mg/Kg a amélioré le gain du poids corporel en comparaison avec le lot diabétique non traité (DNT), cette amélioration est statistiquement très hautement significative ( $p < 0.001$ ).

Tableau 3 : représente la concentration sérique du glucose (mg/ dl), du cholestérol (mg/ dl) et des triglycérides (mg/ dl) chez les lots expérimentaux.

|               | Les lapins                      |                             |                                       |                                   |
|---------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
|               | sains<br>non traités<br>(n = 5) | Sains<br>traités<br>(n = 5) | diabétiques<br>non traités<br>(n = 5) | diabétiques<br>traités<br>(n = 5) |
|               | M ± SEM                         | M ± SEM                     | M ± SEM                               | M ± SEM                           |
|               |                                 |                             |                                       |                                   |
| Glucose       | 103.6 <sup>a</sup> ± 11.68      | 114.2 <sup>a</sup> ± 5.04   | 200 <sup>b</sup> ± 48                 | 131.4 <sup>c</sup> ± 6.08         |
| Cholestérol   | 56 <sup>a</sup> ± 8             | 43.8 <sup>b</sup> ± 18.16   | 91.2 <sup>b</sup> ± 13.44             | 51.2 <sup>c</sup> ± 6.24          |
| Triglycérides | 144 <sup>a</sup> ± 14           | 148 <sup>a</sup> ± 48.8     | 292.2 <sup>b</sup> ± 72.16            | 137.6 <sup>a</sup> ± 13.12        |

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.





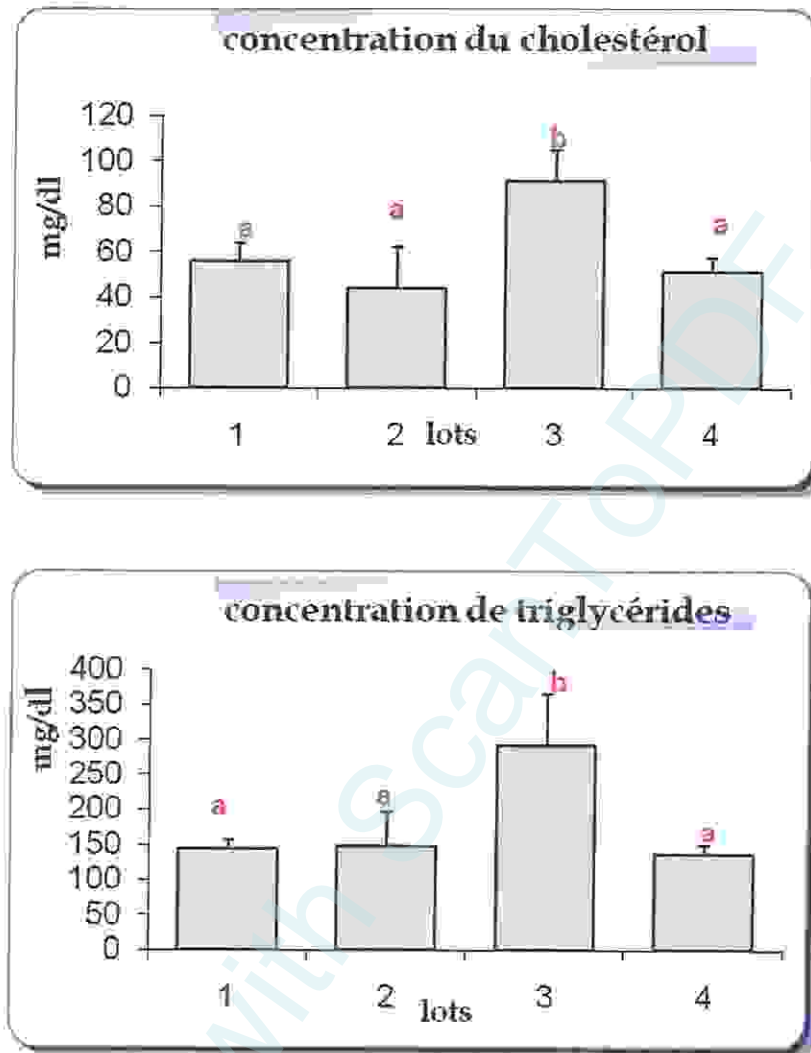


Figure 9: l'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, du cholestérol et des triglycérides chez les lots expérimentaux.

Nos résultats illustrent qu'il existe une diminution, significative de la concentration sérique du glucose ( $p < 0.05$ ), hautement significative des triglycérides ( $p < 0.01$ ) et très hautement significative du cholestérol ( $p < 0.001$ ) chez les lapins diabétiques traités par le marrubium vulgare par rapport aux autres non traités.

Tableau 4 : Représente la concentration sérique de la créatinine (mg/dl), de l'acide urique (mg/dl) chez les lots expérimentaux.

|              | les lapins                 |                           |                             |                            |
|--------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|              | sains                      | Sains                     | diabétiques                 | diabétiques                |
|              | non traités                | traités                   | non traités                 | traités                    |
|              | (n = 5)                    | (n = 5)                   | (n = 5)                     | (n = 5)                    |
|              | M ± SEM                    | M ± SEM                   | M ± SEM                     | M ± SEM                    |
| Créatinine   | 0.958 <sup>a</sup> ±0.1104 | 0.956 <sup>a</sup> ±0.052 | 1.098 <sup>a</sup> ± 0.1824 | 0.912 <sup>a</sup> ±0.0144 |
| Acide urique | 11.5 <sup>a</sup> ± 1.44   | 10.5 <sup>a</sup> ± 1     | 19.84 <sup>b</sup> ±2.64    | 12.04 <sup>a</sup> ± 3.75  |

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 ( $p < 0.05$ ).

n: nombre des échantillons.

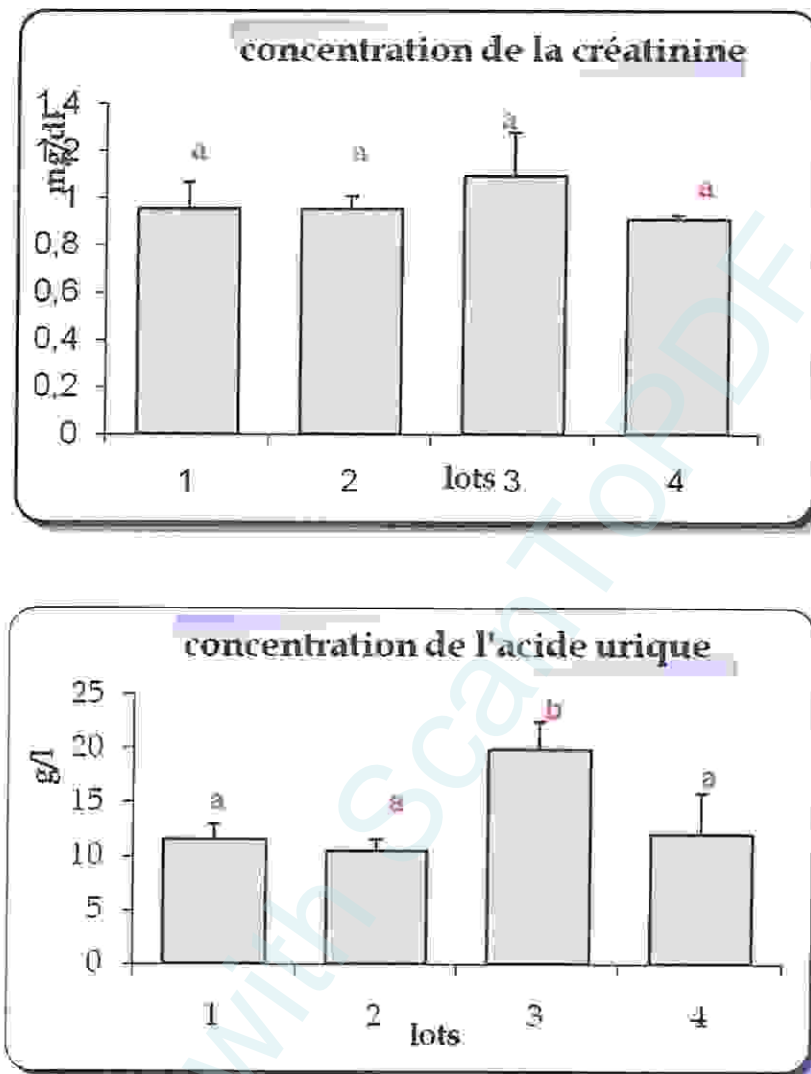


Figure 10 : l'effet du traitement sur la variation de la concentration sérique de la créatinine et de l'acide urique chez les lots expérimentaux.

On n'a enregistré aucune variation significative entre tous les lots pour la concentration sérique de la créatinine. Alors que nos résultats montrent que l'administration de la tisane du marrubium vulgare pendant 21 jours aux lapins diabétiques induit une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la concentration plasmatique en acide urique. Par contre, la concentration des protéines totales augmente d'une façon très hautement significative ( $p < 0,001$ ) par rapport aux rats diabétiques non traités

**Tableau 5 :** Représente l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO) (U/l) , de l'alanine aminotransférase ( ALT/TGP ) (U/l) chez les lots expérimentaux.

| les lapins |                                 |                             |                                       |                                   |
|------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
|            | sains<br>non traités<br>(n = 5) | Sains<br>traités<br>(n = 5) | diabétiques<br>non traités<br>(n = 5) | diabétiques<br>traités<br>(n = 5) |
|            | M ± SEM                         | M ± SEM                     | M ± SEM                               | M ± SEM                           |
| TGO        | 32.8 <sup>a</sup> ± 13.76       | 30.6 <sup>a</sup> ± 1.92    | 89.6 <sup>b</sup> ± 2.88              | 45.6 <sup>ac</sup> ± 6.72         |
| TGP        | 65 <sup>a</sup> ± 20.8          | 44.6 <sup>a</sup> ± 28.32   | 96.8 <sup>b</sup> ± 6.24              | 66.8 <sup>a</sup> ± 17.92         |

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.

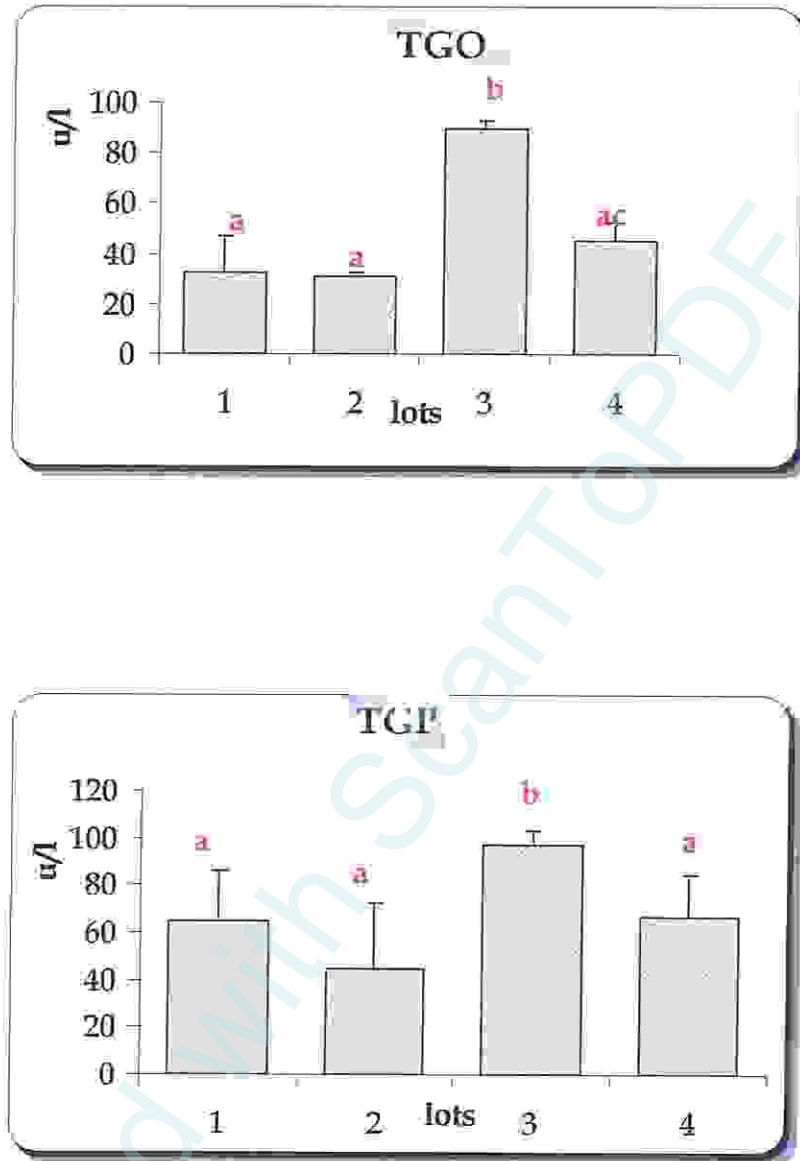
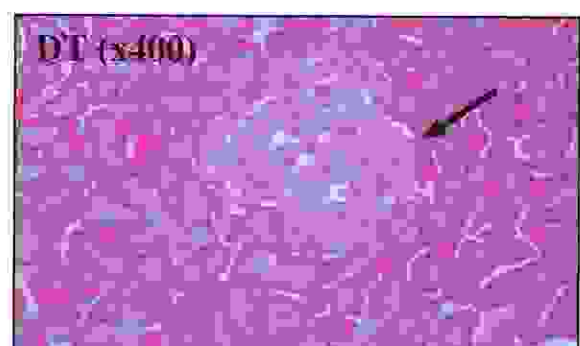
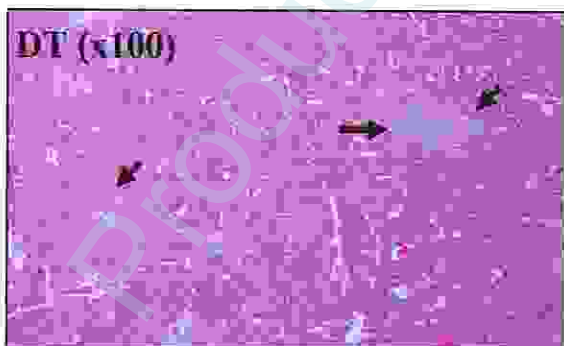
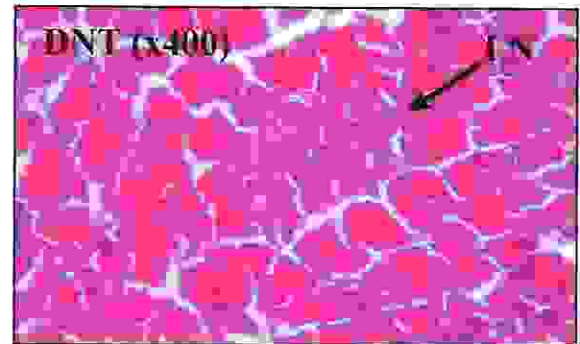
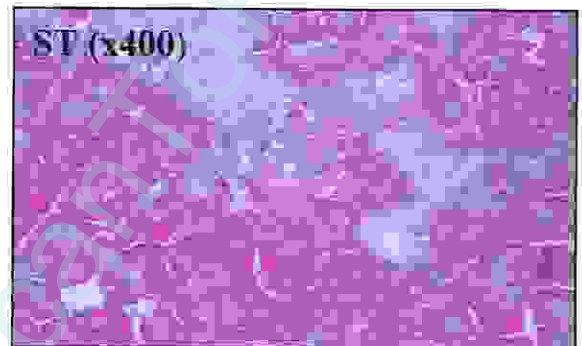
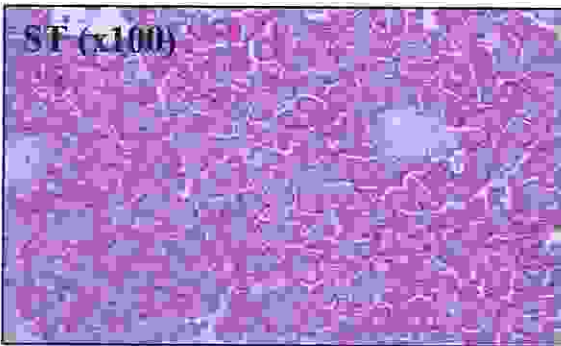
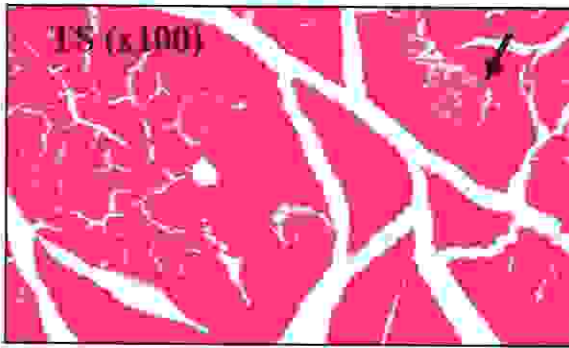


Figure 11 : l'effet du traitement sur l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO), de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP) chez les lots expérimentaux.

Les résultats illustrés, montrent que l'activité enzymatique des transaminases sériques (TGO/ TGP) diminue d'une façon statistiquement très hautement significative chez le lot diabétique traité par la dose de 500 mg/kg du poids corporel de la plante par rapport à celui non traité.



**Figure :** Photos des coupes histologiques du pancréas endocrine des lapins TS,ST , DNT, DT (Coloration : hémalun-éosine).

↗ : Îlots de Langerhans.

IN : Îlot de Langerhans nécrotique (en voie de dégénérescence)

***DISCUSSION  
ET  
CONCLUSION***

Produced with ScanTOPDF

---

## Discussion

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'une tisane du marrubium vulgare.

Notre étude nous a permis en premier lieu d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans le marrubium vulgare à travers les réactions de caractérisation qui révèlent que la plante 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 la plante est en très riche, aux stérols, aux terpènes et aux tanins galliques.

Les résultats obtenus révèlent aussi l'absence de certains composants dans le marrubium vulgare tels que les alcaloïdes, les saponosides, les tanins catéchiques et les cardénolides cardiotoniques.

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 Jolliet, 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 (Szkudelski, 2001 ; Anderson et Stitt, 1993). Cet agent diabétogène entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans par le biais de la génération des radicaux superoxydes (Lenzen et Panen, 1988 ; Hinciu 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 vu dans nos résultats (Chaudhry et al., 2007 ; Gokce et al., 2008).

Dans la présente étude, nous avons injecté une dose de 150 mg/kg d'alloxane par voie intraveineuse et une glycémie supérieure à 200 mg/dl était notée. Le diabète induit par cette substance a, également, entraîné chez les lapins une polyphagie, polydipsie et une polyurie. Ces signes observés chez l'animal confirment l'installation du diabète sucré.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons remarqué un déficit pondéral chez les lapins diabétiques non traités (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 al., 1991 ; Vats et al., 2004). Tandis que, l'administration orale de la tisane du marrubium vulgare a induit une augmentation remarquable du gain du poids chez le lot diabétique traité par la dose de 500 mg/kg. Ce résultat du gain du poids a été rapporté avec d'autres plantes connues par leur activité antidiabétique telles que *Ficus bengalensis* et *Trigonella foenum greacum* (Solomon et al., 1999 ; Sheeja et al., 1995).

Après le traitement des lapins diabétiques par la tisane du marrubium vulgare pendant trois semaines et après leur sacrifice; l'analyse des résultats a montré une diminution significative de la concentration sérique du glucose par

rapport aux lapins diabétiques non traités. L'effet antihyperglycémique du marrubium vulgare est lié à sa fonction cytoprotectrice sur les cellules  $\beta$  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, ce résultat est en accord avec d'autres études (Elberry et al., 2011).

Par ailleurs, le screening phytochimique montre que le marrubium vulgare constitue un ensemble riche en substances actives où chacun de ces principes actifs aurait pu induire l'effet observé. Cependant, il est rapporté que les flavonoïdes constituent les principes actifs de la plus part des plantes médicinales ayant une activité antidiabétique (Elberry et al., 2011 ; Wollenweber., 1988 ; Adeneye et al., 2007).

De nombreuses recherches ont démontré que les diabétiques présentent en général une hyperglycémie chronique accompagnée d'une élévation du profil lipidique, (Chevenne et Porquet ; 2003 ; Cheng et Fantus, 2005) due à 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, ou 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 du marrubium vulgare a diminué considérablement le taux sérique du cholestérol et des triglycérides chez les lapins diabétiques. L'activité hypocholestérolémiant du marrubium 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 (Elberry et al., 2011), d'autre part l'amélioration du métabolisme glucidique ainsi que la sécrétion de l'insuline après le traitement par la plante conduit à une diminution du profil lipidique.

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 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 et de l'acide urique causée par le diabète a été déclinée après l'administration de la tisane du marrubium vulgare à raison de 500 mg/kg. Inversement la protéinémie est élevée notamment chez le lot traité par la dose 500 mg/kg du poids corporel. Ceci est en accord avec les résultats précédents qui ont montré que le marrubium vulgare a un rôle dans la protection des cellules  $\beta$  des îlots de langerhans traduisant par la sécrétion de l'insuline. (Al Amrani et al., 2010).

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 lapins 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  $\alpha$  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 induisant une fuite de ces enzymes du cytosol du foie dans la circulation sanguine (Navarro et al., 1993), cependant l'administration de la tisane de marrubium vulgare pendant 21 jours consécutifs pourrait restaurer les activités de ces enzymes à leurs niveaux normaux. Une explication possible de cette action que le traitement peut inhiber le

dommage du foie induit par l'alloxane. Ces résultats en accord avec d'autres études (Elberry et al., 2011 ; Al Amrani et al., 2010).

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 lapins (Vadde et Rama., 2008 ; Orhan et al., 2006 ; Venkateswaran et Pari., 2002). 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). La tisane de marrubium vulgare maintient voire améliore le niveau du GSH hépatique qui est bénéfique pour réduire les radicaux libres générés au cours du diabète (Lapolla et Fedele., 1993), ce résultat peut être expliqué par la richesse du marrubium vulgare en composés actifs (les flavonoïdes) qui sont doués d'une activité antioxydante élucidée in vitro et in vivo (Elberry et al., 2011 ; Al Amrani et al., 2010).

### -Etude histologique :

#### 1-Lapins sains témoins :

Le pancréas des lapins sains normaux et qui n'ont pas reçu de la plante présente à l'étude microscopique un état normal dont l'architecture globale est constituée d'une part d'un pancréas exocrine représenté par les tissus épithéliaux et les canaux excréteurs et d'autre part d'un pancréas endocrine représenté par les îlots de langerhans.

## 2- Lapins sains traités :

L'architecture générale reste conservée avec une glande endocrine bien développée. En effet on note la présence de nombre des îlots de langerhans de destruction hétérogène mais avec un petit nombre de cellules  $\beta$  par rapport au îlots des lapins sains non traités.

## 3- lapins diabétiques non traités :

Les lésions pancréatiques découvertes chez cette population atteinte du diabète sont polymorphes. Les anomalies quantitatives et qualitatives portant sur les îlots de langerhans sont partielles grâce à l'alloxane qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules  $\beta$  des îlots de langerhans par le biais de génération des radicaux superoxydes la , tantôt les îlots sont morcelés par une fibreuse collagène, tantôt il subissent une atrophie des cellules  $\alpha$  et  $\beta$ .

Ces îlots deviennent pauvres en éléments insulino-sécréteurs.

## 4- lapins diabétiques traités :

Sur le plan histologique on assiste à une reconstitution partielle des îlots de langerhans, cette destruction peut être expliquée par la réparation partielle des cellules  $\beta$  par le marrubium vulgare grâce à son activité ontioxydante pour l'élimination des radicaux superoxydes provoqués par l'agent diabétogène (alloxane).

**CONCLUSION**

Produced with ScanTOPDF

## Conclusion

Notre étude s'est basée sur l'effet de la plante du *marrubium vulgare* sur les complications du diabète et suite à cela, nous avons constaté que:

L'injection intraveineuse de l'alloxane chez les lapins de souche *cuniculus lepus* a induit des perturbations du métabolisme glucidique, lipidique et protéinique, procès accompagné par un déficit pondéral remarquable.

Le diabète alloxanique a provoqué également des altérations histologiques du pancréas révélées par la dégénérescence des îlots de langerhans et la mort cellulaire par nécrose dus à la surproduction de radicaux libres générés. Ceci est combiné à une déplétion du système de détoxification du glutathion.

L'administration orale régulière de la plante à raison de 500mg/kg aux lapins diabétiques pendant 21 jours a maintenu voire amélioré la croissance pondérale. Elle a ainsi montré un effet anti-hyperglycémiant.

En ce qui concerne les paramètres : cholestérolémie et triglycéridémie, le traitement par la plante a rétabli les valeurs aux normes et réduit en parallèle les troubles du bilan rénal (créatinine, acide urique).

Pour l'activité enzymatique, la plante utilisée a restauré l'activité des transaminases (TGO et TGP), par contre elle augmente l'activité des protéines.

La plante a montré un remarquable effet cytoprotecteur du pancréas contre les radicaux superoxydes générés par l'alloxane en préservant la capacité de synthèse de l'insuline. De plus elle a renforcé, La capacité de détoxification hépatique liée au glutathion.

Enfin nous pouvons confirmer que la plante est douée d'une activité antidiabétique et anti oxydante remarquable. De ce fait il peut constituer une solution pour les futures études sur le diabète sucré et ses complications.

#### Perspectives:

En raison de l'importance de ces résultats, il serait avantageux de poursuivre la recherche, en prenant en considération les recommandations suivantes:

Travailler avec d'autres extraits du *marrubium vulgare* (extraits alcoolique, extraits acétoniques...etc) pour mettre en évidence les principes actifs de cette plante.

Développer la recherche afin de bien connaître le mécanisme réel de l'activité antioxydante du *marrubium vulgare*.

Élargir le domaine de recherche sur des principes actifs du *marrubium vulgare* afin de l'utiliser dans l'avenir comme un remède efficace et non comme un simple moyen de prévention.

Produced with ScanTopDF



***RÉFÉRENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

Produced With Scantopdf

## Références bibliographiques

- Adeneye A.A., (2007). Hypolycemic and antidiabetic activities on the stem bark aqueous and ethanolic extracts of *Musanga cecropioides* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Fitoterapia*; 78:502-505.
- Agaoglu, Z.T., Atasoy, N., Dede, S., Gunduz, S and Mert, N. (2002). Serum trace elements status of rabbits supplemented with *Nigella Sativa*, vitamin C and vitamin E and selenium agents damage by N-Methyl-N'-nitrosoguanidine. *Humana press Jric* 89: 65-71.
- Almadal T.P and 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.
- Anderson, H.R and 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 extract of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 91:171-175.
- Anonyme 1: <http://www.scribd.com/doc/46581720/La-region-de-M-Sila>
- Anonyme 2 : [http://www.creapharma.ch/plante\\_medicinale\\_def.htm](http://www.creapharma.ch/plante_medicinale_def.htm).
- Anonyme 3:  
[http://www.passeportsante.net/fr/Therapies/Guide/Fiche.aspx?doc=phytotherapie\\_th#P41\\_6568](http://www.passeportsante.net/fr/Therapies/Guide/Fiche.aspx?doc=phytotherapie_th#P41_6568).
- Anonyme 4 :  
<http://resources.metapress.com/pdfpreview.axd?code=ep8q21w2p38211f7&size=largest>.

- Anonyme 5: [http://encyclo.voila.fr/wiki/Marrubium\\_vulgare](http://encyclo.voila.fr/wiki/Marrubium_vulgare).
- Anonyme 6:<http://hortical.com/spip.php?article2258>.
- Anonyme 7 :<http://demeuredelarose.forum-actif.net/t238-le-marrube-marrubium-vulgare>.
- Anwar M.M. and 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.
- Baba Aissa F., 1999 :Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident. EDAS. Alger. P: 368.
- Bahrun T., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel forschung /Drug.Research*. 46 II (11):1086-1099.
- Bakour, F and Siouane, Z. (2008). L'apport du dosage de Hb gluquée dans le diagnostic de diabète insulino-dépendant .memoire licence biochimie, université Badji Mokhtar, Annaba .p39.
- Belitz H.D., et Grosh W., (1999). *Food chemistry*. Second édition. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. 992 p.
- Benghida, S., Benssalia, Z and Boukhedenaan, M. (2007). Les maladies mitochondriales et diabète sucré. Mémoire d'ingénieur de génie biologie université 08 Mai 45 Guelma.p:50.
- Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*; 40: 405-412. diabètes.
- Benlamari .S, Bensalem.W& Boukhemara.H. (2001). Etude de la distribution du zinc entre l'albumine et 2 globuline chez les diabétiques insulino-dépendants Mémoire licence de biochimie, université Baji Mokhtar, Annaba, p: 47.
- Bouroumana T and Chergui K and Guessoum Z .,(2009) .Le diabète sucré étude épidémiologique dans la willaya de Guelma (2004-2008) p :26.30.

- Bourin M., 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.
- 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, 3<sup>rd</sup> ed AACB.
- Chaudhry J., Ghosh N.N., Roy K., 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
- Cheng, A and Fantus, L.G. (2005). Oral anti hyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian medical association journal.* 172 (2): 213-2
- Cheta, D. (1998). Animal models of type I (insulin-dependant) diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab*;11:11-19.
- Chevenne, D and Porquet, D. (2003). Diabetes sucrée dans biochimie pathologies .aspect moléculaire et cellulaire .édition Flammarion. *Medicine-science France*.p:117-192.
- Ceriello, A., Taboga, C., Giacomella, R and Bartoli, E. (1997) .Fibrinogen plasma levels as a marker of thrombin activation in diabetes .*diabetes.* 43(3): 430-432.
- Cuvelier M.E., (1996).Antioxidative activity and phenolic composition of pilot plant and commercial extracts of sage and rosmarin. *Jam oil Chem Soc*; 73:645-652.
- Dahia M., 1987 :Introduction à l'étude de quelques plantes médicinales dans la région de Bou Saada. Thèse D.E.S. Inst. Sciences biologiques. (bio. vég.) Univ. Sétif.
- Dastidar S.G., (2004).Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*; 23:99-102.
- Delaveau P., (1957).Les épices : Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Albin Michel Editeur. P: 372.
- Djemil, I.K. et Nahal, G. (2009). Contribution à l'étude du diabète de type 1 chez les femmes en grossesse. Mémoire d'ingénierie de génie biologique .Université 08 Mai 45 Guelma .p: 3-6.

- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull Soc Phrm. Bordeaux*; 142 :61-78
- Elamrani. F., Rhallab. A., Alaoui. T; Elbadooui and S. Chakir., (2010) . Etude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknes- Tafilalet (Maroc) . P : 161\_165.
- Elberry A. A et Al ;(2011) . Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocine/induced diabetic rats *international journal of diabetes mellitus* Published by Elsevier Inc.
- Ellips, F.A., Grani, M.B., Murray, F.T., Wachowski, M.B., Guberski, D.L., Kubilis, P.S and Luty, G.A. (1998). Increased NADH oxidase activity in the retina of the BBZ/ WOR diabetic rat. *Free radic. Biol. Med.* 24 (2): 111-120.
- Fajans, S.S. (1998). Revised etiologic classification of diabetes. *Diabetes Care*; 21:466-467.
- Ferner, R.E. (1992). Drug induced diabetes. *Bailliers Clin . endocrinolo. Metab*; 6:849-866.
- Gallou, G., Ruelland, A., Campion, D., Maugendre, D.; Le moulec, N and Cloarc, L. (1994). Increased in thiobarbituric acid-reactive substances and vascular complication in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab* .20(3): 258-264.
- Gokce G., Haznedaroglu M Z., (2008). Evaluation of antidiabetic, antioxidant and vasoprotective effects of *Posidonia oceanica* extract. *Journal of Ethnopharmacology*; 115: 122-130.
- Grîbe, A and Merzougui, I. (2009). Memoir de master biochimie; etude de l'effet antidiabetique de l'extrait aqueux de la graine de *Lipinus albus*. Université Badji Mokhtar; Annaba .p: 2-5.
- Grimaldi, A ., Heurties, A ., Bosquet, F., Cornet, P., Masseboeuf, N., popelier, M., et Sachon, C. (2003) .Guide pratique du diabète. *MMI Editions*. 372p.
- Griesmacher, A., Knoebl, P., Andri, R.E and Schernihaner, G. (1995). Enhanced serum levels of thiobarbituric acid-reactive substances diabetes mellitus. *Am.J.Med.* 98(5): 469-475.

- Hartnett, M.E., Startton, N.D and Armestron, R.D. (2000).serum markers of oxidative stress and severity of adivit retinopathy. *Diabetes care*. **23** (2): 234-240.
- Hennen, G. (2001). Endocrinologie. *Edition Bock university*.03: 127-132.
- Hincu M., Pantea S., Anca M., Coman E.M., Mehedinti T., (2006). L'effet de l'alloxane sur l'histologie du tissu pancréatique. Fascicula XVII, Anul V.
- Hwang H.J., Kim S.W., Lim J.M., Joo J.H., Kim H.O., Kim H.M et yun J.W.(2005) .Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides product by a edical mushroom *phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life sciences* 76 : 3069-3080.
- Jain, S.K., Stephan, K and Smith, T. (1998). Relation of blood thromboxane B2 with lipid hydrogenoxide and diabetic patients. *Diabetes care*. **21**(9): 1511-1515.
- Jean Michel Hertel., (2003).Plantes médicinales et diabète. Nouveau Magazine de phytomania.
- Kaplan, L.A. (1984). Glucose. *Clin. Chem*. 1032-1036.
- Kaplan, L.A et al. (1984).Lipids. *Clin. Chem*. 918-919.
- Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O., (2004).Identification of active principles of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*; 4(3):179-182.
- Kerharo J. et Adam J.G. 1974 La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques Vigot et frères, , 1011p, pp231-232
- Kukeja, R.C., Kontos, H.A., Hess, M.L and Ellis, E.F. (1986). PGH synthetase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NANH or NADPH. *Circ.Res*.**59** (6): 612-619.
- Lapolla, A., Fedele, D. (1993).Oxidative stress and diabetes: role in the development of chronic complications. *Minerva Endocrinol*; 18: 99-103.
- Lenzen, S and Panen, V. (1988). Alloxan, history and mechanism of action. *Diabetologia*. **31**: 337-342. induced diabetes. *Diabetes*; 35: 503-507
- Loven, D., Schedl, H., Wilson, H., Daabees, T.T., Stegink, L.D., Diekus, M., Oberley, L. (1986). Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin.

- Liu Z., Li J., Zeng Z., Liu M., Wang M., (2007). The antidiabetic effects of Cysteinyl Metformin, a newly synthesized agent, in alloxan- and streptozocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*
- Lyons L., et Nambiar D., (2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivantes avec le VIH. CATIE. 60 p.
- Marc, P., Mc Rae, M., Dc., Cns., Dacbn. (2006). the efficacy of vitamin C supplementation on reducing total serum cholesterol in humain subject: A review and analysis of 51 experimental trials. *Journal of chiropractic medecin.* 5: 2-12.
- Martin buoysochaert . (2001). Diabétologie , preface de general slana 2<sup>ème</sup> edition , Hôtel Dieu paris 189.
- Max Wichd., Bbert., (2003). Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Menai, S et Vakou , S., (2010) . contribution à létude 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. *Clin. Chem.* 418: 1261-1266.
- Murray, R. (1984). Aspartate aminotransferase. *Clin. Chem.* 120: 1112-1116.
- Naito, H.K. (1984). Cholesterol. *Clin. chem.* 437:1194-11206 .
- Narayana K.R., (2000). Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and therapeutic Potentiel. *Indian Journal of pharmacology;* 33:2-13.
- Navarro C.M., Montilla P.M., Martin A., Jimenez J. and Utrilla P.M. (1993). Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of Rosmarinus, *Plant Medicine;* 59: 312-314.
- Ngoko M. L. 1989 Contribution à l'étude du Ndole : Vernonia colorata (Wild) Drake composées Thèse Pharm., Dakar, , n°50
- Nourooz -Zadeh, J., Tajaddini-Sarmadi, J., Mc carthy, S., Betteridge, D.j and Wolff, S.p. (1990). Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in DDM. *Diabet.,* 44: p 1054-1058.
- Okmu D.E., (2005). Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol Adv Sci;* 1(14):375-381.

- Orhan N., Aslan M., Orhan D.D., Ergun F., Yesilada E. (2006). In-vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of grapevine leaves (*Vitis vinifera*) in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 108: 280-286.
- Oser, k and Falko, J.M. (1984). Diabetogenic effet of pentamidine in vitro and in vivo studies in patient with malignant insulinoma. *Am.J.Med.* 77: p 41-46
- Pedneault K., (2001).Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes vegetaux . Texte de conférence-5<sup>eme</sup> colloque sur les produits naturels d'origine végétale. Université Laval QC. Canada: 2p.
- Perlemuter, L., Sélam, J.L., Collin de l'hortel ,G., (2003). Diabetes et maladies métaboliques.p : 407.
- Portha, B. (2003). Anomalies programmes de la secretion d'insuline dans le diabete de type 2: le paradigm du rat GK. *Medecine sciences.* 19: 847-853.
- Porter N., (2001).Essential oils and their production. *Crop & Food Research.* Number 39.
- Rajkumar L, Govindarajulu P., (1991). Increased degradation of dermal collagen I diabetic rats. *Indian J Exp Biol*; 29:1081-3.
- Richard H., et Multon J.L., (1992).Les aromes alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 438p.
- Rodier, M. (2001). Le diabete de type 1. *Medecine Nucléaire-Imagerie fonctionnelles et metabolique.* 25 (2): 12-14.
- Rodier, M. (2001).Definition et classification du diabet *Medecine Nucléaire-Imagerie fonctionnelles et metabolique.* 25: 91-93.
- Rosalki, S et al. (1993). *Clin. Chem.* 39(4): 648-652.
- Schultz, A. (1984). Uric acid. *Clin. Chem.* 148:1261-1266.
- Scientific correspondence, (2003).Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings. 85(1), 30-34.
- Sheeja C., August K.T., (1995).*Indian J Exp Biol*; 33:608 -611.
- Smallfield B., (2001).Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research.* Number 45, 4p.
- Solomon G., Raosaheb K.K., Najma Z.B.,(1999).*Indian J Exp Biol*; 37:200 -202.



- Soon, Y.Y., Tan, B.K.H. (2002). Evaluation of the hypoglycaemic and antioxidant activities of *Morinda officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal*; 43: 77-85.
- Spina, G.A and Lehmann, R. (2001). Diabetes sucrée diagnostic, classification et pathogénèse. *Forum Med Suisse*. 20: 519-525.
- Svoboda K.P., et Hampson J.B., (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants :antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA65HW.
- Szkudelski, I. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *PhysioRes* 50:537-546.
- Takoeka G., (1998). Flavor chemistry of vegetables. In Flower chemistry. Thirty years of progress. Teranishi R et al (Ed). Cluwer Academic / Plenum Publishers. New York, 287-304.
- Trombetta, D., Pugllia, C., Perri, Licata, A and Bonima, F.P. (2006). Effect of polysaccharides from opuntia ficus in dca (L) cladodes on the healing of dermal wounds in the rats. *Phytomedicine*. 13: 352-358.
- Therapeutic perspectives. (1998). *Acta. Diabetol.* 35: 117-129.
- Vadde, R. Rama, J. (2008). Oxidative stress in non insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patient. *Acta Diabetol*; 45: 41-46.
- Venkateswaran, S., Pari, L. (2002). Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*; 11:206-209.
- Vats V., Yadav S.P., 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.* 90, 155-160.
- Verchere, C.D. (1996). Consequences of human rapp expretion in transgenic mice. *Lesson from animal diabetes* .VI: 1237-1294.
- Weakberker, G and Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Concerletteres*. 40: 275-264. 17: 171-180

- West, I.C. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*; 17: 171-180.
- Weyer, C and Boyarduc, C. (1999). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J. clin. Invest.* 104: 787-794.
- Wilson C.L., (1997). Rapid evaluation of plant extract and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plants Dis*; 81:2004-210.
- Wollenweber E., (1988). Plant flavonoids in biology and medicine II: biochemical, cellular and medicinal properties. *Progress in clinical and biological research*. New York: Alan R. Liss; p. 45.
- Yasumami, R and Bach, J.F. (1988). Anti suppressor effect of cyclophosphamid in the development of spontaneous diabetes in mice. *Eur. Immunol.* 18: 481-484.

Produced with ScanTopDF