

وزارة التعليم و البحث العلمي

جامعة باجي مختار - عنابة -

Badji-Mokhtar-Annaba
University



Université Badji-Mokhtar
Annaba

Faculté des sciences

Département de Biochimie

Mémoire

présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère

Option: Biochimie Appliquée

Thème:

**Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique potentiel
d'un extrait aqueux de Crataegus azarolus
Chez des rats Wistar avec un diabète induit à l'alloxane**

Présenté par: **ZIDI SOUROUR**

Devant le jury:

Présidente: **KIRANE D.**

Promotrice: **HENCHIRI C.**

Examinatrice: **DJEBBAR H.**

Examineur: **LADJAMA A.**

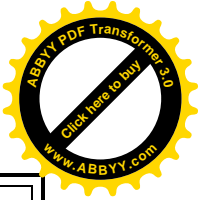
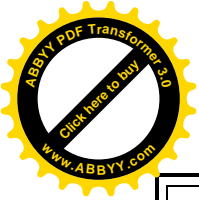
Pr. Université d'Annaba

M.C. Université d'Annaba

Pr. Université d'Annaba

Pr. Université d'Annaba

Année Universitaire: 2009/ 2010



DEDICACES

Je tiens tout d'abord à remercier et à dédier ce modeste travail à une personne exceptionnelle à mes yeux: Ma sœur de cœur, mon petit ange: *Lynda Rahal*, qui était toujours présente pour moi, dans les moments les plus difficiles, m'aidant avec générosité et gentillesse et me poussant toujours à donner le meilleur de moi-même. Tous les mots ne peuvent suffir pour t'exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude.

Je dédie mon travail également:

A la lumière de mon existence: mon **chère père** et au parfum de mon enfance, la femme qui m'a mise au monde: ma très **chère mère**. Vous êtes pour moi, tout ce que j'ai de plus cher au monde. Merci pour tout ce que vous faites pour moi. A mes yeux, vous êtes le symbole de la générosité, de la tendresse et du savoir. Que dieu vous garde.

Aux deux petits orfèvres de l'informatiques, mes deux anges de **frère**: Ali et Hocine. Je n'ai guère de mots pour vous exprimer toute ma gratitude et mon affection.

A mes **cousines**, mes soeurs: Ines, Rym, Hanane et Anissa que j'adore.

A mes très **chères tantes** maternelles: Madame Touil Boukoffa Chafia et Madame Lahlou Boukoffa Ouidéd Salima et leurs maris. Je vous remercie du fond du cœur pour votre soutien, vos valeureux conseils et votre amour.

A ma **tante** Sylvie, celle qui n'a jamais cessé de me gater et à qui je souhaite que du bonheur ainsi qu'à mon valeureux oncle Mohamed Lamine.

A la seule **grand-mère** qui me reste, youmma Aicha.

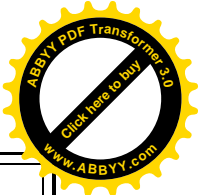
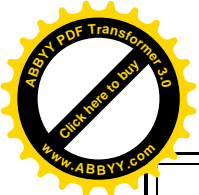
A ma très généreuse **tante** adorée, Tata Rébéha et son mari.

A toute ma **famille** paternelle et maternelle d'ici et d'ailleurs sans exception.

A mon **encadreur** et son **mari** que je remercie pour leur gentillesse et générosité.

A tous les **professeurs** qui m'ont enseigné tout au long de mon cursus universitaire.

A Lakouaghét Asma, Laouar Amél, Bouasla Asma et Djéddioui Abd allah, Mohaméd Bairi, Merzoug Samiha et Saoudi avec qui j'ai partagé des moments inoubliables. A mes amies: Lamia, Amina, Ryma, Ilhème, Mina, Wafa, Amira, Saméh, Saila, Imene, Dina, Dalal, Lilya, sihém, Mabrouka, Fahima que j'aime.



REMERCIEMENTS

*Puisses Dieu agréer mon sincère effort à bien faire ce modeste travail et
accepter mes louanges pour son aide.*

Tout d'abord, je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à Madame le professeur **Kirane Djamila** qui m'a fait le grand honneur de présider le jury.

Je tiens à présenter toute ma reconnaissance et toute ma gratitude à mon encadreur: **Mme Henchiri Cherifa**, pour sa disponibilité, son aide précieuse et ses valeureux conseils qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie très vivement Monsieur le professeur **Ladjama Ali** de m'avoir fait le grand honneur et l'amabilité d'être l'examineur de ce modeste travail.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à Madame le professeur **Djebar Houria** de m'honorer de sa présence et d'accepter de critiquer ce travail.

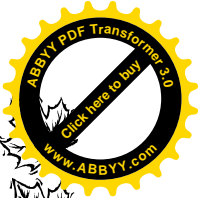
J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur **Tahar Ali**, pour son aide et ses valeureux conseils durant la réalisation des tests statistiques. Sans oublier aussi son étudiante, la demoiselle Nora qui m'avait consacré beaucoup de son temps.

Je tiens à remercier Monsieur le **professeur Lankar**, son assistant, Monsieur Laouar et le chef de service d'anatomopathologie de l'hôpital d'Ibn Rochd de Annaba : Madame **Othmane Rachedi Ghaniya**, pour leur aide dans la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.

Mes remerciements les plus sincères à **Madame kaci**, pharmacienne Laborantine qui m'a aidé dans la réalisation des dosages biochimiques.

Merci aux **techniciens** du département de biochimie qui se sont donnés tant de mal pour me faciliter le travail.

Merci à tous les autres qui ont contribué peu ou prou à la réalisation de ce mémoire.



RÉSUMÉ

Crataegus azarolus est une plante très répandue dans la région d'El Tarf (Est Algérien). Elle appartient à la famille des Rosacées et est traditionnellement utilisée dans les pays arabes pour le traitement du diabète.

Des rats femelles Wistar albinos, rendus diabétiques par injection intrapéritonéale d'une dose d'alloxane (**130mg/kg**) ont été traités *per os* avec l'extrait aqueux obtenu par infusion des feuilles de cette plante, aux doses de **150 mg /kg (d_1)** et **300 mg/kg (d_2)**, et par la métformine (**28 mg/kg** de poids corporel), deux fois par jour ; le traitement a commencé **72** heures après injection de l'alloxane et confirmation de l'hyperglycémie chez les animaux. Une dose moyenne d_3 (**225mg/kg**) a été également administrée à un lot sain pour évaluer l'effet hypoglycémiant éventuel de la plante.

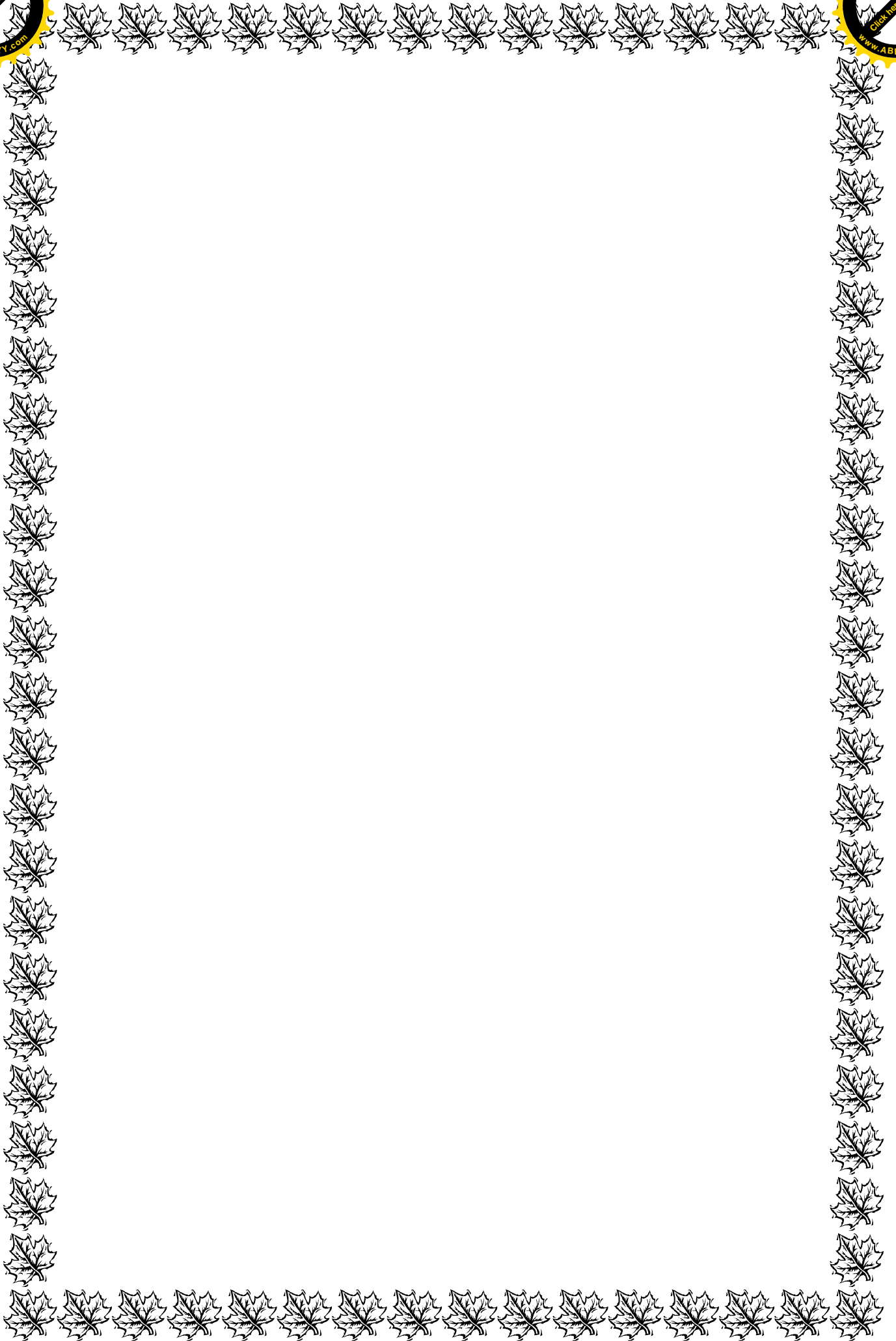
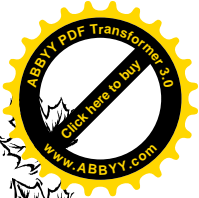
Les résultats obtenus par mesure de la glycémie à jeun, avant et après sacrifice ont révélé qu'après traitement de 12 jours, les rats normaux n'ont manifesté aucun effet hypoglycémiant. La dose d_1 a exercé un effet correcteur du diabète supérieur à celui de la dose d_2 et la métformine; en effet on observe des baisses significatives des glycémies ($p \leq 0,001$). L'étude histologique au niveau des pancréas des rats diabétiques a montré que la plante aux deux doses d_1 et d_2 a exercé une restauration des îlots de Langerhans lésés par l'effet de l'alloxane. La présence résiduelle d'insuline dans le sang confirme cet effet.

Une étude phytochimique de l'extrait de plante a révélé la présence de certains principes actifs tels que les flavonoïdes, tripterpènes, saponosides et tanins qui pourraient être à l'origine de l'effet antidiabétique. On constate également l'absence d'alcaloïdes, substances connues pour leur toxicité.

Parallèlement il a été remarqué d'une façon générale que la plante provoque une amélioration des poids corporels et du bilan lipidique chez les rats diabétiques.

L'extrait aqueux de cette , plante semble n'avoir aucun effet toxique sur les organes prélevés des rats femelles normales (pancréas, foie, rein, coeur et rate). Au contraire il pourrait jouer un rôle cytoprotecteur des trois organes lésés par l'effet toxique de l'alloxane: le pancréas, les reins et la rate.

Mots clés : Diabète, Plantes médicinales, Phytothérapie, Alloxane, Antidiabétiques, Pharmacognosie.



الخلاصة

الزعرور أو *Crataegus azarolus* نبتة من عائلة الورديات منتشرة بكثرة في ولاية الطارف (الشرق الجزائري) ومستعملة لدى العرب في معالجة الداء السكري.

بعد أن تحصلنا على ثلاثة مجموعات مختلفة من الفأرات المصابة بالداء السكري وذلك بعد حقنهن بالألوكسان بتركيز 130 مغ/كغ, قدمت لهن على الترتيب لمدة 12 يوما ومرتين في اليوم الجرعات التالية جرعة (01) 150مغ/كغ والجرعة (02) 300 مغ/كغ من مستخلص مائي من أوراق النبتة و 28 مغ/كغ من دواء الميتفورمين عن طريق الفم وذلك بعد 72سا من التأكد من الإصابة بالمرض .

و من أجل معرفة ما إذا كان للمستخلص الورقي القدرة على تخفيض نسبة السكر في الدم لدى الفأرات السليمة قدمت لهن كمية وسطى للمستخلص بتركيز 225 مغ/كغ.

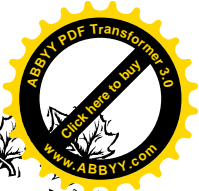
حسب النتائج المتحصل عليها فيما يخص تركيز نسبة السكر في الدم قبل وبعد ذبح كل المجموعات, يلاحظ أن المستخلص لم يحقق أي تخفيض للسكر في دم الفأرات السالمت بينما لدى الفأرات المصابة يظهر أن الجرعة (01) 150مغ/كغ من المستخلص كانت الأنجع في تخفيض نسبة السكر في الدم.

نتائج تركيز الأنسولين والمقاطع ا لهيستولوجية للبنكرياس أظهرت استرجاع إفراز الأنسولين الناتج عن ترميم و استرجاع صلاحية النسيج البنكرياسي.

التحليل الكيميائي ل *Crataegus azarolus* بين وجود الفلافونويد التريترابين السابونوزيد والتانين حيث انه من المحتمل أن تكون هذه المركبات هي المسؤولة عن تخفيض نسبة السكر في الدم لدى الفأرات المصابة.

و على العموم ومن خلال النتائج المتحصل عليها يتبين لنا أن المستخلص يساعد على تحسين الوزن و التحول الغذائي للدسم لدى الفأرات المصابة, كما يظهر لنا أيضا أن النبتة لم تحقق أي تسهم على الأعضاء المقتطعة من الفأرات السالمت بل بالعكس كان لها دور في حماية البنكرياس الكلى والطحال للفأرات المرضى.

كلمات البحث : داء السكري, الأعشاب الطبية, طب الأعشاب, الألوكسان, ضد داء السكري, المركبات الطبية.



ABSTRACT

Crataegus azarolus is a widespread plant in the region of EL Tarf (Algerian's Est). It belongs to the Rosaceae family and it's traditionally used in Arab countries for the treatment of diabetes.

Female albino Wistar rats were rendered diabetic by intraperitoneal injection of a dose of **130mg /kg** of alloxan. They were treated orally twice a day with an aqueous extract obtained by infusion of leaves at doses of **150 mg /kg (d_1)**, **300 mg / kg (d_2)** and finally with metformin (**28 mg/kg of body weight**). The treatment began 72 hours after injection of alloxan and confirmation of hyperglycemia. An average dose d_3 (**225mg/kg**) was also administered to normal and healthy rats to assess the potential hypoglycemic effect of the plant.

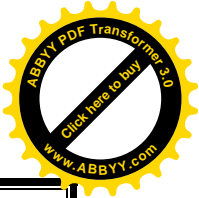
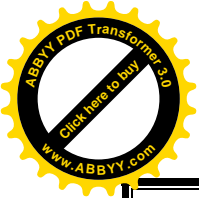
The results obtained by measuring the fasting blood glucose before and after sacrifice; showed that after 12 days of treatment, normal rats manifested no hypoglycemic effect. d_1 dose exerted a correcting effect of diabetes higher than the d_2 dose and metformin. In effect, we observed significant decreases of blood glucose ($p \leq 0.001$).

The histological study of pancreas in diabetic rats has shown that the plant with the two doses d_1 and d_2 had restored islet cells injured by the effect of alloxan. The residual presence of insulin in the blood confirms that.

A phytochemical study of the plant extract revealed the presence of some active compounds such as flavonoides, saponins, tripterpenes and tannins that may be responsible for the antidiabetic effect. It also notes the absence of alkaloids, substances known to be toxic.

Meanwhile, it has been observed generally that the extract of plant causes an improvement in body weight and lipid metabolism in diabetic rats. The plant seems to have no toxic effect on organs taken from normal female rats (pancreas, liver, kidney, heart and spleen). Instead, it could play a cytoprotective role of three organs injured by the toxic effect of alloxan on pancreas, Kidneys and spleen.

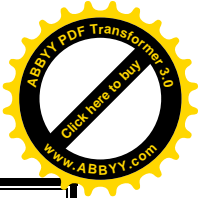
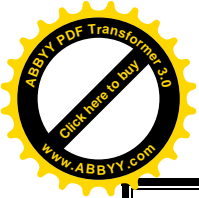
Keywords: Diabetes, medicinal plants, Phytotherapy, Alloxan, antidiabetic, Pharmacognosy.



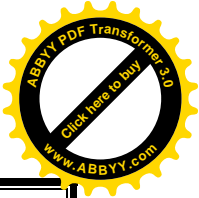
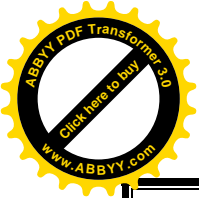
SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION	01
I. LE DIABETE SUCRE	03
I.1. Généralités sur le diabète sucré	03
I.1.1. Prévalence.....	03
I.1.2. Définition.....	03
I.1.3. Classification.....	03
I.1.4. Les facteurs de risque.....	04
I.2. Traitements	05
I.3. Régulation de la synthèse et sécrétion d'insuline	06
I.3.1. Chez l'individu normal.....	06
I.3.2. Chez le diabétique.....	07
II. LA PHYTOTHERAPIE	12
II.1. Généralités sur la phytothérapie	12
II.1.1. Définition de la phytothérapie.....	12
II.1.2. Historique.....	12
II.1.3. Phytothérapie et botanique.....	14
II.1.4. Méthodes d'utilisation des plantes.....	15
II.2. Les principes actifs des plantes	15
II.2.1. Les hétérosides.....	15
II.2.2. Les alcaloïdes.....	18
II.2.3. Les terpènes.....	21
II.2.4. Les huiles essentielles.....	21
II.2.5. Les mucilages.....	21
II.2.6. Les gommes et résines.....	22
II.3. Facteurs de variation de l'activité biologique d'une plante	22
II.3.1. Facteurs liés au végétal.....	22
II.3.2. Facteurs climatiques et du milieu.....	23
II.3.3. Facteurs liés aux techniques de récoltes.....	23
II.3.4. Facteurs liés aux méthodes de conservation et de stockage.....	23
II.3.5. Facteurs liés au mode de préparation de la drogue végétale.....	24
II.3.6. Facteurs liés à l'individu.....	24
III. L'AZEROLIER	25
III.1. Description	25
III.1.1. Caractéristiques morphologiques.....	25
III.1.2. Systématique.....	26
III.1.3. Répartition géographique.....	28



III.1.4. Culture.....	28
III.2. Principes actifs.....	29
III.3.Utilisation.....	29
III.3.1. Partie utilisée.....	29
III.3.2. Utilisation en phytothérapie.....	29
III.3.3. Utilisation culinaire.....	30
III.3.4. Autres utilisations.....	30
IV. LES MODELS ANIMAUX DANS LE DIABETE.....	31
IV.1. Les modèles spontanés.....	31
IV.1.1. Les rongeurs de laboratoires.....	31
IV.1.2. Les grands mammifères.....	31
IV.2. Les modèles Induits.....	32
IV.2.1. Les modèles induits chimiquement.....	32
IV.2.1. Les modèles induits chirurgicalement.....	36
IV.2.3. Les modèles induits par inoculation de virus.....	40
IV.2.4. Les modèles induits par le régime alimentaire.....	40
IV.2.5. Les modèles transgéniques et Knock-out.....	40
IV.2.6. Les modèles induits par Anticorps anti- insuline.....	40
PARTIE EXPERIMENTALE	
I. MATERIEL ET METHODES.....	41
I.1. Matériel végétal.....	41
I.1.1. Cueillette.....	41
I.1.2. Séchage.....	41
I.1.3. Conservation et stockage.....	41
I.1.4. Etude phytochimique.....	41
I.2. Matériel animal.....	43
I.2.1. Présentation.....	43
I.2.2. Conditions d'élevage.....	43
I.3. Méthodes.....	43
I.3.1. Protocole expérimental.....	43
I.3.2. Traitement des animaux.....	43
I.3.3. Détermination des poids corporels.....	45
I.3.4. Détermination de la glycémie.....	46
I.3.5. Détermination de la chimie des urines.....	46
I.3.6. Sacrifice et préparation des prélèvements.....	46
I.3.7. Dosage des paramètres plasmatiques.....	47
I.3.7.1. Glucose.....	47
I.3.7.2. Triglycérides.....	48
I.3.7.3. Lipoprotéines : HDL et LDL.....	48
I.3.7.4. Cholestérol total.....	49
I.3.7.5. Lipides totaux.....	49
I.3.7.6. Protéines totales.....	50
I.3.7.7. Urée.....	50



I.3.7.8. Créatinine.....50
I.3.8. Activité de l'ALAT (TGP).....50
I.3.9. Activité de l'ASAT (TGO).....51
I.3.10. Insuline.....51
I.3.11. Analyse statistique des résultats.....52

II. RESULTATS.....52

II.1. Etude Phytochimique.....52
II.2. Etude des paramètres avant sacrifice.....52
II.2.1. Détermination des poids corporel.....52
II.2.2. Détermination de la glycémie.....53
II.2.3. Chimie des urines.....54
II.3. Etude de certains Paramètres après sacrifice.....59
II.3.1. Poids relatif des organes.....59
II.3.2. Dosage de paramètres plasmatiques.....62
II.3.2.1. Glucose.....62
II.3.2.2. Lipides.....62
II.3.2.3. Protéines totales.....64
II.3.2.4. Urée.....64
II.3.2.5. Créatinine.....65
II.3.3. Activité de l'ALAT et de l'ASAT.....65
II.3.4. Insulinémie.....65
II.3.5. Etude histologique de certains organes.....65

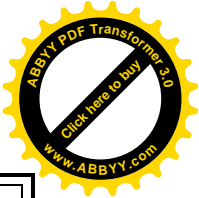
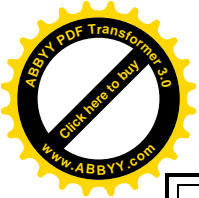
III.DISCUSSION.....72

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....79

RESUMES

LISTE DES ABREVIATIONS

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



LISTE DES ABREVIATIONS

A

- a** : Significatif par rapport à TN
aa : Hautement significatif par rapport à TN
4-AA : 4Aminoantipyrine
4-AAP : 4 Aminoantipyrine
aaa : Très hautement significatif par rapport à TN
ALAT : Alanine aminotransférase
ANOVA : Analyse de la variance à un critère de classification
ASAT : Aspartate Amino transférase

B

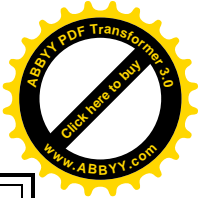
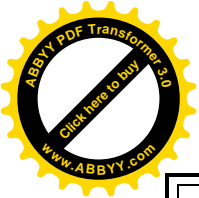
- b** : Significatif par rapport à TD
bb : Hautement significatif par rapport à TD
bbb : Très hautement significatif par rapport à TD
Bad : Bcl associated death protein

C

- c** : Significatif par rapport à TDtM
cc : Hautement significatif par rapport à TDtM
ccc : Très hautement significatif par rapport à TDtM
CHE : Cholestérol estérase
CHO : Cholestérol oxydase
Cholest : cholestérol
ChT : Cholestérol total
Chyl : Chylomicrons

D

- d** : Significatif par rapport à Dtd₁
dd : Hautement significatif par rapport à Dtd₁
ddd : Très hautement significatif par rapport à Dtd₁
D : Diabétiques
Dtd₁ : Diabétique traité par la dose 1 de la plante
Dtd₂ : Diabétique traité par la dose2 de la plante



F

FDAOS : N-éthyle-N-(2-Hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-diméthoxy-4fluoroaniline

FKHR : Facteur de transcription de la famille des Fork head

G

GK : Glycérol Kinase

GLDH : Glutamate Déshydrogénase

G6P : Glucose 6phosphate

G6P-DH : Glucose -6phosphate Déshydrogénase

GPO : Glycérol Phosphate Oxydase

Grb2 : Growth factor receptor-bound protein2

GSK3 : Glycogène Synthase 3 Kinase

H

HDAOS : N-(2 hydroxy-3-sulfopropyl)-3, 5-diméthoxyaniline sodium

HDL : High Density Lipoprotein

I

IRS : Insuline receptor substrate

L

LDH : Lactate Déshydrogénase

LDL : Low Density Lipoprotein

LT : Lipides totaux

M

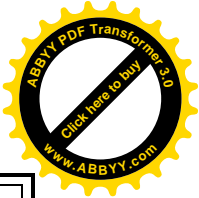
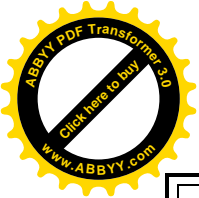
MapK : Mitogen activated protein Kinase

MDH : Malate Déshydrogénase

Mek : Map Kinase Kinase

Msos : son of the sevenless

mTar : mammalian target of rapamycin



N

- N : Normal
NaN₃ : Azide de sodium

O

- ONOO : peroxy-nitrate

P

- P85/P 110 : des sous unités de PI3K
PDE : Phosphodiesterase
PDK1/2 : 3-Phosphoinositide-dependent protein kinase 1/2
PI3K : Phosphatidylinositol 3-kinase
P70^{rsk} : protéine kinase p 70^{rsk}
P90^{rsk} : protéine Kinase P90^{rsk}
PKB/Akt : protéine kinase B
PKC ζ/λ : Protéine Kinase C ζ/λ
POD : Peroxydase

R

- Raf : Map Kinase Kinase Kinase

S

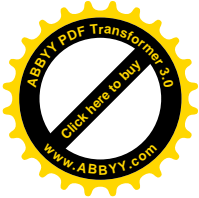
- SH2 : Domaine de protéines appelé Src homology 2
SHC : Src Homologous and collagen protein

T

- T : Témoin
T : traité
TD : Témoin diabétique
TDtM : Témoin diabétique traité par la métformine
TG : Triglycérides
TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique
TGP : Transaminase glutamique pyruvique
TNtd3 : Témoin normal traité par la dose 3 de la plante

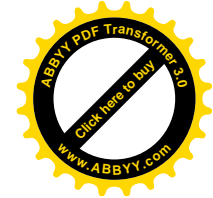
V

- VLDL : Very Low Density Lipoprotein



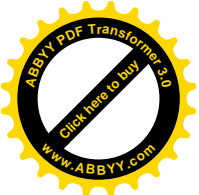
Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre	Page
01	Facteurs héréditaires	04
02	Facteurs modulant la sécrétion d'insuline	10
03	Régulation de la sécrétion du glucagon	10
04	Évolution des poids corporels des différents lots pendant de la période de manipulation	56
05	La glycémie à jeun, avant sacrifice (J1àJ10) des différents lots de rats femelles	57
06	La chimie des urines des différents lots de rats femelles	58
07	Poids relatifs de certains organes des différents lots de rats femelles	61
08	La concentration des différents paramètres biochimiques-plasmatiques des différents lots étudiés	66
09	Résultats des activités enzymatiques de l'ALAT et de l'ASAT	68
10	Relation insulinémie /glycémie d'un rat représentatif de chaque lot	69



Liste des figures

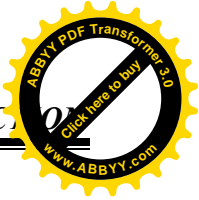
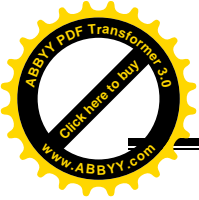
Numéro de la figure	Titre	Page
01	Synthèse et sécrétion d'insuline par la cellule β de Langerhans	08
02	Les principales voies de signalisation de l'insuline ; A: Voie des PI3 kinase B: Voie de la MAP kinase	09
03	Structure d'une génine d'hétérosides cardiotoniques (exp: de digitoxine)	19
04	Structure de génine de saponosides. A: Génine stéroïdique, B: Génine triptéropénique.	19
05	Structure d'une génine anthracénique. A: Génine d'antraquinone. B: Génine d'anthrone.	19
06	Structure d'une génine de flavonoides. A: Flavone. B: Flavonol. C: Flavanone.	19
07	Structure d'une génine d'anthocyane.	20
08	Structure de l'acide gallique (A), ellagique (B) et la génine (Flavane) de tanins (C).	20
09	Différentes parties de l'Azerolier, A: Branches, B: Feuilles, C: Fleurs, D: Fruits.	27
10	Répartition géographique de Crataegus azarolus.	28
11	Structure chimique de l'alloxane.	37
12	Mécanisme d'action de l'alloxane sur les cellules β de Langerhans	37
13	Structure chimique de la streptozotocine.	38
14	Mécanisme d'action de la streptozotocine	38
15	Structure chimique du cyclophosphamide	39
16	Structure chimique de la pentamidine.	39



17	Schémas représentatif du protocole expérimental	44
18	Structure de la métformine	45
19	Mise en évidence des saponosides	55
20	Mise en évidence des tanins	55
21	Mise en évidence des flavonoides	55
22	Mise en évidence des terpènes et stérols	55
23	Mise en évidence des Mucilages	55
24	Évolution des poids corporels des différents lots de rats femelles pendant la période de manipulation	56
25	Évolution de la glycémie à jeun, avant sacrifice des différents lots de rats femelles	57
26	Poids relatifs des différents organes des lots étudiés de rats femelles	61
27a	Résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots de rats femelles	67
27b	Résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots de rats femelles (Suite)	68
28	Détermination de l'activité de l'ALAT (TGP) et de l'ASAT (TGO) des différents lots de rats femelles	69
29	Coupes histologiques du foie d'un rat représentatif de chaque lot étudié	70
30	Coupes histologiques du pancréas d'un rat représentatif de chaque lot étudié	71



INTRODUCTION



INTRODUCTION

Les traitements actuels du diabète visent à normaliser autant que possible la glycémie sans pour autant guérir la maladie. L'épidémie du diabète engendre des dépenses financières majeures pour les individus et pour la société, du fait de la maladie et surtout de ses graves complications. La diminution du pouvoir d'achat des populations, le cout des médicaments et leurs effets secondaires non négligeables, qui dans de nombreux cas, sont plus graves que les troubles de la maladie elle-même et enfin la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse, ont fait que les populations du tiers monde (comme l' Algérie) et même ceux des pays développés utilisent encore des plantes médicinales comme alternative thérapeutique, en particulier pour le diabète de type II (**Ortiz, 1993; Marles et Fransworth, 1995; Perez et al, 1998; OMS, 2002; Grimaldi, 2005**).

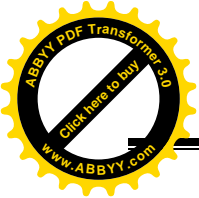
Plusieurs groupes de recherche ont montré un intérêt certain pour ses plantes, connues comme source de nouvelles bio molécules hypoglycémiantes.... l'insuline végétale n'étant pas encore connue (**Chicouri, 1983**).

La phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor considérable du fait de la découverte d'un nombre important d'extraits de plantes antidiabétiques. L'utilisation des plantes est une pratique courante dans le monde. Aujourd'hui plus de 800 plantes ont été identifiées et étudiées comme traitement potentiel du diabète de type II. Les principaux principes actifs isolés et identifiés comme antidiabétiques sont: Les flavonoïdes, les mucilages, les glycanes, les triterpénoïdes, les alcaloïdes, les saponosides et tanins (**Marles et Fransworth, 1995; Perez et al, 1998; Wang et Ng, 1999**).

L'utilisation médicinale d'extraits ou teintures préparés à base de feuilles, fleurs et fruits de plantes du genre *Crataegus*, date de très longtemps. Les flavonoïdes tels que les flavones, les dérivés de flavanol, les procyanidines et épicatechines sont considérés comme les constituants les plus actifs de la plante. Faisant partie de leur médecine traditionnelle, l'aubépine : *Crataegus azarolus* a été utilisée depuis très longtemps par les arabes pour traiter le diabète (**Barnes et al, 2002; Saïd et al, 2002**) (**Bahorun et al, 2003; Svedstrom et al, 2006**).

Par ses principaux constituants phénoliques, cette plante jouerait un rôle cyto-protecteur contre le stress oxydatif qui serait selon quelques auteurs impliqué dans l'évolution de la pathologie (**Ljubuncic et al, 2005**).

En Algérie, l'utilisation de cette plante se fait d'une façon empirique. Les malades la cueillent eux même et l'utilisent sans crainte en raison de la consommation habituelle de son fruit (**Koyuncu et al, 2007**). Ils l'achètent chez des herboristes peu qualifiés. Ils la consomment sans avis médical, ni



étude expérimentale, ni posologie. C'est pour ces trois raisons que nous avons choisi d'étudier l'espèce *Crataegus azarolus* locale.

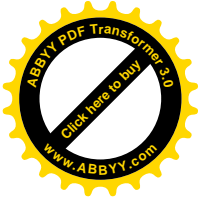
Le but de notre étude est la recherche de l'effet antidiabétique potentiel d'un extrait aqueux obtenu par infusion des feuilles de l'espèce choisie. Nous avons utilisé pour notre expérience des rats Wistar femelles normoglycémiques pour évaluer l'effet hypoglycémiant et des rats femelles avec un diabète induit à l'alloxane, pour déterminer l'effet antidiabétique de deux doses de l'extrait comparé à l'effet d'un médicament antidiabétique du commerce : La métformine.

Ces animaux rendus diabétiques, ont été traités par l'extrait et le médicament par voie orale (per os).

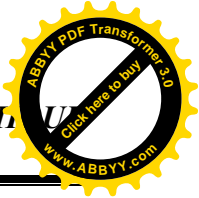
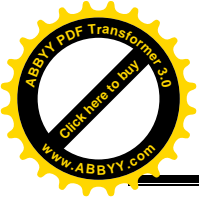
Cette étude est subdivisée en deux parties :

- **Une partie bibliographique**, dans laquelle nous avons essayé de faire une synthèse bibliographique de l'état actuel des connaissances sur :
 - Le diabète sucré et ses traitements
 - La phytothérapie
 - La plante utilisée dans cette étude.
 - Les modèles animaux utilisés dans les expériences sur le diabète

- **Une partie expérimentale**, où nous avons :
 - Effectué un screening phytochimique pour rechercher différents principes actifs contenus dans l'extrait tels que: Flavonoïdes, tanins, saponosides.....
 - Recherché s'il existe un effet hypoglycémiant et anti hyperglycémiant de l'extrait aqueux sur un model d'animaux, rats femelles Wistar, avec un diabète induit à l'alloxane. De même nous avons déterminé l'impact de l'extrait sur certains paramètres sanguins.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



IV. LES MODELS ANIMAUX DANS LE DIABETE

IV.1. Les modèles Spontanés

Dans de nombreux modèles, les animaux diabétiques présentent des altérations métaboliques héréditaires qui ont quelques similitudes avec le diabète humain. Les souches animales fournissent un modèle génétiquement bien défini, pouvant apporter des informations sur les relations existant entre l'hérédité et les facteurs contrôlables de l'environnement (**Pterides, 1980**). Parmi ces modèles on cite :

IV.1.1. Les rongeurs de laboratoires

IV.1.1.1. Rat Goto Kaki Zaki

Mis au point en **1973** par une équipe Japonaise (**Goto et ses collaborateurs**), le rat Goto Kaki Zaki est un modèle polygénique, non obèse, spontané de diabète de type II, crée en croisant successivement des individus, intolérants au glucose d'une souche de rats Wistar. Six régions chromosomiques semblent être impliquées dans la genèse du diabète chez ce modèle de rat (locus Nidd/gk1à6). Ses principales caractéristiques sont : Une hyperglycémie en rapport avec une baisse de la tolérance au glucose, une hypoinsulinémie avec une résistance à l'insuline et une lipidémie normale.

Chez les rats femelles diabétiques gestantes, le taux élevé de glucose dans le sang serait toxique pour les cellules β du pancréas du fœtus. Ceci constitue un modèle expliquant les anomalies de développement du pancréas endocrine chez le diabétique (**Ktorza et al, 1997; Hubert, 2003; Srinivasan et Ramarao, 2007**).

IV.1.1.2. Souris non obèse diabétique (NOD)

Les souris non obèses diabétiques (**NOD**) ont été découvertes au Japon dans les années **1970** dans une lignée de souris appelée **ICR**. Elles développent spontanément un diabète insulino-dépendant très semblable à celui de l'homme. Ce diabète animal résulterait de l'infiltration des îlots de Langerhans du pancréas par des cellules immunitaires entraînant la destruction totale des cellules β produisant l'insuline. Les cellules immunitaires principalement incriminées sont : les TCD4 et TCD8 et accessoirement, les lymphocytes B et les macrophages.

Comme chez l'homme, un certain nombre de composants génétiques et environnementaux favorise le développement du diabète de ces souris. Plus de 15 loci appelés idd, dispersés sur 11 chromosomes ont été associés à la maladie (**Bo et Diane, 1997; Korganow et al, 1999**).

IV.1.1.3. Rat BioBreeding

Ce rat fut découvert en **1974** par les **laboratoires BioBreeding (BB)** d'Ottawa Canada. Il dérive d'une colonie non consanguine de rats Wistar. Il est utilisé comme modèle du diabète spontané auto-immun (type I).

Dans la plupart des lignées BB, le rat développe le diabète (60% à 90% des cas). Il existe des souches de rat BB résistantes à la maladie dont seul 1% deviennent diabétiques.

Chez ce modèle, le diabète survient entre 60-120 jours d'âge avec une incidence similaire entre males et femelles. Ces animaux se caractérisent par une insulite fréquemment associée à une thyroïdite et une lymphopénie sévère.

Des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II ainsi qu'un gène intervenant dans l'expression de la lymphopénie ont été incriminés dans le développement de cette maladie. La possibilité de transférer la maladie à des animaux sains par injection de lymphocytes montre le rôle prédominant d'une immunité à médiation cellulaire (**Nakhooda et al, 1977; Nakhooda et al, 1978; Smith et Hammond, 1991; Hubert, 2003**).

IV.1.1.4. Cobaye

Dans les années **1970**, un diabète semblable à celui observé chez le jeune diabétique humain a été mis en évidence dans une colonie de cobayes, avec des hyperglycémies, des anomalies des cellules β et des microangiopathies (lésions vasculaires et rénales). La maladie s'est révélée contagieuse bien qu'aucun agent étiologique n'ait pu être identifié (**Lang et al, 1977**).

IV.1.2. Les grands mammifères

Les diabètes spontanés présents chez les mammifères pourraient servir de modèle d'étude du diabète sucré chez l'homme. Les grands mammifères se rapprochent en effet davantage de l'homme que les rongeurs, par leur taille et la reproductibilité de leur évaluation métabolique. Cependant l'incidence de diabètes spontanés est rare voire exceptionnelle, ce qui constitue un frein à l'utilisation de ces modèles.

Parmi les grands mammifères, le chien et le chat représentent les deux seules espèces bien étudiées et diagnostiquées pouvant développer un diabète spontané de type I (**Sun et al, 1996**).

IV.2. Les modèles induits

IV.2.1. Les modèles induits chimiquement

IV.2.1.1. Modèle induit par l'alloxane

- **Structure**

Employé pour la première fois par **Wöhler** et **Liebig**, le mot **Alloxane** est issu de la combinaison des deux mots Allantoïne (produit d'oxydation de l'acide urique) et acide oxalorique (dérivé de l'acide oxalique et de l'urée).

L'alloxane ou (**2, 4, 5,6 Tétraoxyypyrimidine ; 5,6 dioxyuracil**): est un composé issu de l'oxydation de l'acide urique et dont la structure chimique détaillée est représentée par la (**Fig. 11**) (**Lenzen et Panten, 1988; Szkudelski, 2001**).

- **Mode d'action**

L'alloxane est un composé très utilisé pour l'induction du diabète chez les animaux rongeurs et non rongeurs. Son effet diabéto-gène est obtenu après son administration par les voies intraveineuse, intra péritonéale ou enfin sous cutanée. La dose nécessaire pour induire un diabète dépend de l'espèce utilisée, de la voie d'administration ainsi que du statut nutritionnel de l'animal (les animaux mis à jeun sont plus susceptibles à l'effet de ce produit).

Comme le diabète humain, celui créé expérimentalement présente les mêmes symptômes que chez l'homme tels que : polydipsie, polyurie, glycosurie, hyperglycémie...etc.

Le mécanisme d'action de l'alloxane a été très étudié et d'une manière prédominante *in vitro* (sur des cellules β de Langerhans isolées ainsi que sur pancréas de rat perfusé). L'action de l'alloxane sur le pancréas est précédée par son absorption rapide par les cellules β de Langerhans. Selon certaines études, on attribue à ce produit une action cytotoxique (nécrose des cellules β de Langerhans) médiée par une génération de radicaux libres.

Avant la formation de ces derniers, L'alloxane va d'abord oxyder les groupements SH trouvés au niveau des agents réducteur de la cellule β de Langerhans. Ces agents réducteurs sont le glutathion réduit(GSH), la cystéine, les enzymes sulfhydriles, l'acide ascorbique et surtout la glucokinase.

La glucokinase est une enzyme spécifique au glucose appartenant aux cellules β de Langerhans et au foie. L'enzyme active est nécessaire au bon fonctionnement des cellules de Langerhans et donc à la sécrétion d'insuline. Deux groupements SH du site actif de la glucokinase sont oxydés par l'alloxane formant ainsi une liaison disulfure, rendant cette enzyme inactive. Après cette étape l'alloxane est réduit en acide dialurique capable de se ré-oxyder en alloxane. Ce dernier et son produit de réduction forment un cycle redox produisant des radicaux intermédiaires d'alloxane (HA) et des ions superoxydes

(O₂⁻). Les radicaux superoxydes formés vont libérer les ions ferriques Fe³⁺ de la ferritine et les réduire par la suite en ions ferreux Fe²⁺. Les ions superoxydes vont subir une dismutation soit spontanée soit par l'enzyme dismutase produisant ainsi du peroxyde d'hydrogène H₂O₂. Ce dernier va former alors en présence de Fe²⁺ de l'OH⁻ (**réaction de Fenton**) : $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^-$

En plus de produire ces radicaux libres, l'alloxane agit en perturbant l'homéostasie du Ca²⁺ cytosolique libre des cellules β de Langerhans. L'alloxane dépoliarise la membrane de ces cellules provoquant l'ouverture des canaux Ca²⁺ voltage dépendants entraînant l'augmentation du flux en ions Ca²⁺ à l'intérieur de la cellule et l'élévation de sa concentration (**Lenzen et Panten, 1988; Szkudelski, 2001; Srinivasan et Ramarao, 2007**). Le mécanisme d'action de l'alloxane est résumé dans la (**Fig. 12**).

IV.2.1.2. Modèle induit par la streptozotocine

- **Structure**

La streptozotocine est un antibiotique dérivé de *Streptomyces achromogenes*. Structuralement c'est un glucosamine dérivé de la nitroso-urée (2déoxy-2-(3-méthyle-3-nitrosouéido-D-glucopyranose). Ce produit est commercialisé comme médicament sous le nom de Zanosar. Il est utilisé chez l'homme comme antinéoplasique (**Szkudelski, 2001; Rakieten et al, 1963; Vidal 2009**). Sa structure chimique détaillée est représentée par la (**Fig. 13**).

- **Mode d'action**

La streptozotocine est utilisée pour induire chez l'animal un diabète de type I ou de Type II. Son effet diabétogène a été démontré pour la première fois en 1963 chez le chien et les rats (**Junod et al, 1967; Ozturk et al, 1996; Szkudelski, 2001**).

Les doses utilisées pour induire un diabète chez l'animal ne sont pas aussi bien quantitativement définies que pour l'alloxane. Les voies d'induction de la maladie sont les voies: intraveineuse et intraperitonéale. Comme l'alloxane, ce produit cause principalement une hypoglycémie et une baisse de la sécrétion d'insuline dues à son effet cytotoxique directe sur les cellules β de Langerhans. Par sa partie deoxyglucose, la streptozotocine s'introduit d'abord à l'intérieur de ces cellules par l'intermédiaire des transporteurs GLUT2. Sa partie nitroso-urée étant elle responsable de l'effet toxique de ce produit.

Plusieurs expériences ont montré que le principal effet causant la mort des cellules β est en premier lieu du à l'alkylation de sa partie nitroso-urée avec l'ADN.

Comme l'alloxane, la streptozotocine joue un rôle dans la génération de radicaux libres ainsi que dans l'altération des mécanismes réparateurs des cellules: Les scavengers endogènes. En premier lieu, la molécule joue le rôle de donneur de radicaux NO, qui selon quelques expériences effectuées joueraient un rôle cytotoxique en détruisant l'ADN cellulaire (**Szkudelski, 2001; Srinivasan et Ramarao, 2007**).

L'effet cytotoxique de la streptozotocine ne se limite pas uniquement à NO. Plusieurs études ont montré que ce produit générerait des radicaux oxygènes libres.

Parmi ces derniers, la formation de superoxyde, par action directe de la streptozotocine sur la mitochondrie (MIT) et sur la xanthine oxydase(XOD) de la cellule β . Il a été rapporté également que cette substance inhibe le cycle de krebs et réduit la consommation d' O_2 par la mitochondrie ce qui limite la production d'ATP et cause l'épuisement de nucléotides des cellules β . On a su par la suite qu'en plus, la diminution de l'ATP mitochondrial est partiellement due au NO qui en se liant à la composante ferrique de l'aconitase, l'inhibe (enzyme nécessaire à la production d'ATP par le cycle de Krebs). L'ATP restant est déphosphorylé augmentant la concentration en substrat de la XOD. Ces substrats sont les bases puriques, qui dégradées produisent de l'acide urique, produit final de la dégradation de l'ATP. La XOD catalyse les réactions de formation d'ions superoxydes, engendrant celle d'autres radicaux: H_2O_2 et $OH\cdot$.

Le NO ainsi que les radicaux oxygène libres agissent chacun directement sur l'ADN ou ensemble en formant le peroxy-nitrate (ONOO) et le dégrade. L'ADN endommagé active l'enzyme poly-ADP- ribose synthétase, cette enzyme favorise l'épuisement du NAD dans la cellule β et finalement conduit à l'épuisement de l'ATP cellulaire. On aboutit alors à la mort cellulaire et à l'arrêt de la sécrétion d'insuline (**Nukatsuka et al, 1990; Sofue et al, 1991; Turk et al, 1993; Szkudelski, 2001**). Le mécanisme d'action de la streptozotocine est résumé dans la (**Fig. 14**).

IV.2.1.3. Modèle induit par le Cyclophosphamide

- **Structure**

Comme la streptozotocine, le cyclophosphamide est un agent alkylant de l'ADN. Le cyclophosphamide appartient à la famille des oxaphosphorines. Il est commercialisé chez l'homme sous le nom d' Endoxan. Il a un effet antinéoplasique cytostatique (**Vidal, 2009; FNCLCC, 2009**). Sa formule chimique détaillée est représentée par la (**Fig.15**).

- **Mode d'action**

L'injection de fortes doses de cyclophosphamides déclenche l'apparition d'un diabète uniquement chez les souris NOD prédiabétiques (souche NOD/ WEHI). Son action résulterait de l'accélération d'un phénomène autoimmun et sans doute moins d'une toxicité directe de la molécule sur les cellules β du pancréas. En effet , les splénocytes de souris dont le diabète a été induit par le cyclophosphamide sont capables de transférer la maladie à des animaux sains (**Yasunami et Bach, 1988; Charlton et al, 1989**) .

IV.2.1.4. Modèle induit par la pentamidine

- **Structure**

La pentamidine, est un médicament antiprotozoaire employé chez l'homme dans les traitements des pneumopathies à pneumocystis carinii, dans la maladie du sommeil et dans le traitement de la Leishmaniose. Il est commercialisé sous le nom de spécialité: Pentacarinat chez l'homme et Lomidine chez l'animal (**Sai et al, 1983; Vidal, 2009**). Sa formule chimique est détaillée par la (**Fig. 16**).

- **Mode d'action**

L'utilisation de la pentamidine chez le rat et chez la souris induit un diabète irréversible, dose dépendant et temps dépendant. L'action diabétogène de ce médicament provoquée par la toxicité sur les cellules β , serait obtenue moins rapidement qu'avec l'alloxane et la streptozotocine. Il a été démontré également que ce médicament a une action diabétogène chez l'homme (**Sai et al, 1983; Osei et al, 1984**).

IV.2.2. Les modèles induits chirurgicalement

Cette méthode consiste en une pancréatéctomie complète ou partielle pour provoquer un diabète respectivement de type I ou de type II chez les animaux de laboratoires. Les modèles induits chirurgicalement les plus utilisées dans la recherche sur le diabète humain sont les grands mammifères comme le chien ,le singe et le porc, car leur métabolisme glucidique est assez proche de celui de l'homme. Leur morphologie autorise certaines interventions irréalisables chez les rongeurs La longue durée de vie relative des mammifères, permet de suivre à long terme la durée d'un traitement à l'essai (**Like et Rossini, 1976; Hubert, 2003**).

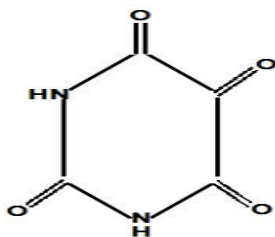


Fig. 11: Structure chimique de l'alloxane (Lenzen et Panten, 1988).

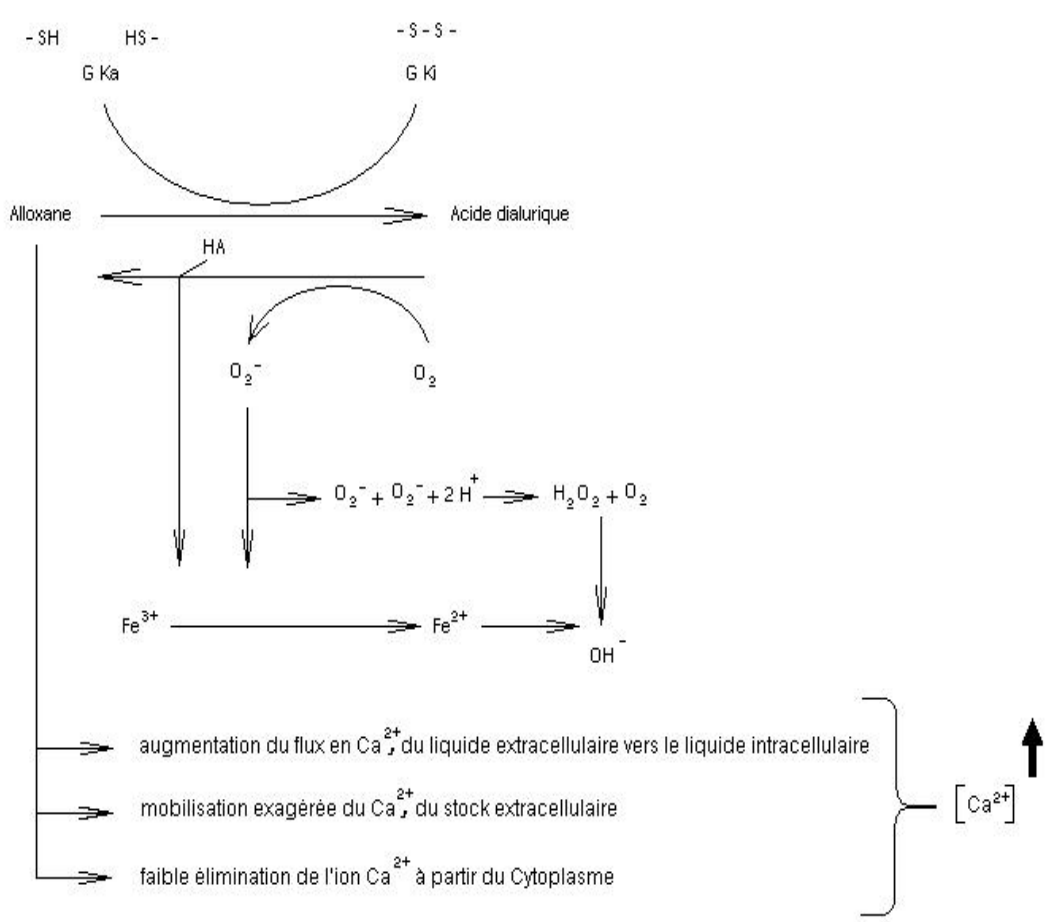


Fig. 12 : Mécanisme d'action de l'alloxane sur les cellules β de Langerhans (Szkudelski, 2001).

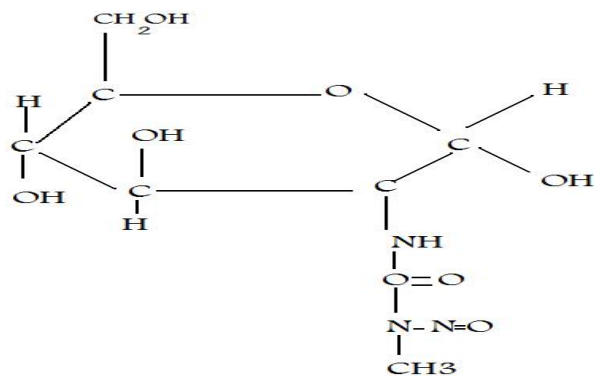


Fig. 13: Structure chimique de la streptozotocine (White, 1963).

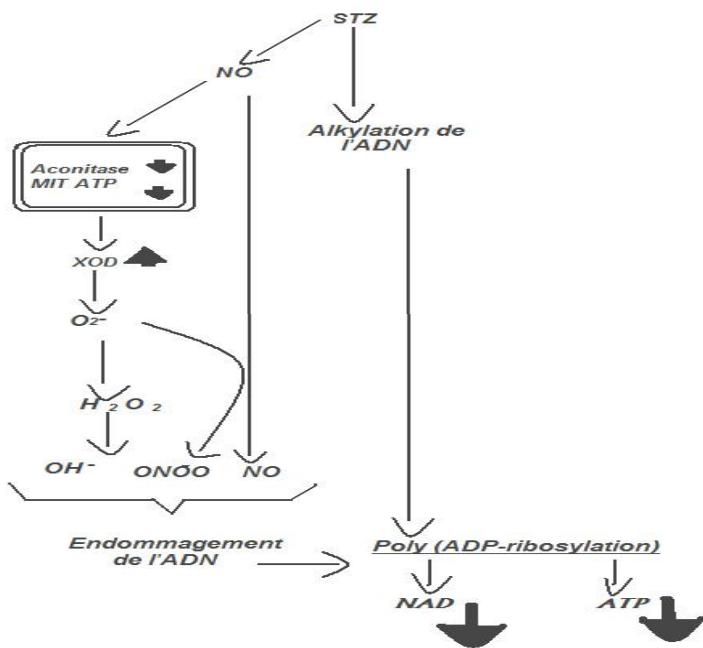


Fig. 14: Mécanisme d'action de la streptozotocine (Szkudelski, 2001).

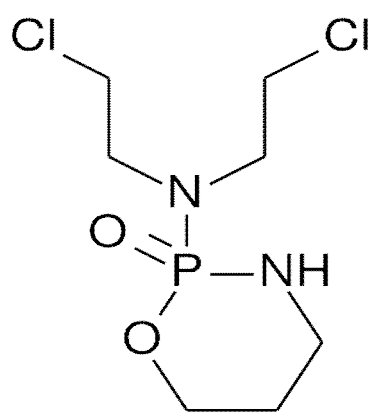


Fig. 15: Structure chimique du cyclophosphamide (Schorderet et col, 1992)

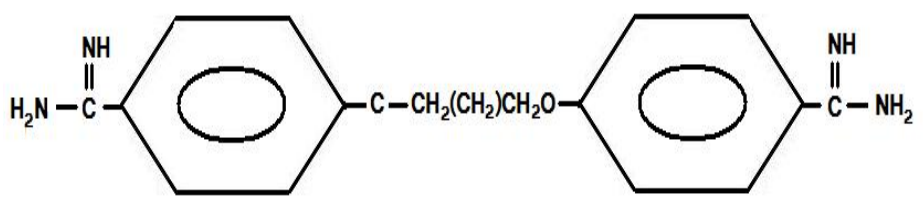


Fig. 16: Structure chimique de la pentamidine (Schorderet et col, 1992)

IV.2.3. Les modèles induits par inoculation de virus

Certaines infections virales peuvent engendrer un diabète aussi bien chez l'homme que chez l'animal. L'exemple le plus connu est l'infection de la souris par le virus EMC (Encéphalomyocardite). Ce virus entraîne un diabète en pénétrant à l'intérieur des cellules β . L'ADN viral s'intégrant au génome des cellules hôtes provoque alors une altération des fonctions de ces cellules et notamment de la sécrétion de l'insuline (**Petrides et al, 1980**).

IV.2.4. Les modèles induits par le régime alimentaire

Citons l'exemple du :

*Rat **Psamomys obesus**:*

Dans son milieu naturel, cet animal se nourrit de plantes salées pauvres en calories. Soumis à un régime standard de laboratoire, il devient obèse et développe un diabète non insulino-dépendant caractérisé par une hyperphagie, une hyperinsulinémie, une intolérance au glucose et des cellules β du pancréas d'abord intactes et qui progressivement se détériorent et se nécrosent. La déficience en insuline pouvant conduire à la mort de l'animal (**Shafir et Zif, 1998; Shafir et al, 1999; Shafir, 2001**).

IV.2.5. Les modèles transgéniques et Knock-out

Les techniques de génie génétique ont permis d'obtenir des animaux permettant l'étude de diabète. Les modèles transgéniques dans le cas du diabète sont obtenus par transfert de gènes vers des animaux. Ces gènes appelés transgènes codent pour des molécules intervenant dans le métabolisme insulinaire. On obtient ainsi une souche génétiquement modifiée.

Les modèles knock-out quant à eux sont obtenus par la suppression ou l'inactivation de ces gènes et l'étude des conséquences de cette intervention. Ces deux modèles permettent l'étude du rôle des gènes sur la production et l'action périphérique de l'insuline. Il existe par exemple des gènes codant pour les récepteurs ISR-1 et ISR-2 de l'insuline et des gènes codants pour le transporteur **GLUT2** responsables de la sécrétion d'insuline (**Srinivasan et Ramarao, 2007**).

IV.2.6. Les modèles induits par Anticorps anti - insuline

L'injection de serum anti-insuline est une méthode de choix pour obtenir une carence aiguë en insuline. Cette forme de diabète est réversible et sa sévérité dépend de la quantité de sérum administrée. L'avantage de ce modèle expérimental tient à ce que l'insuline circulante est neutralisée de façon spécifique sans aucune lésion d'organe. A noter cependant que les animaux ainsi traités, présentent une pancréatite allergique interstitielle. Des modifications similaires ont également été décrites dans le pancréas d'enfants de mères diabétiques et parfois chez des diabétiques de type juvénile (**Petrides et al, 1980**).

I. LE DIABETE SUCRE

I.1. Généralités sur le diabète sucré

I.1.1. Prévalence

Selon l'OMS, la prévalence du diabète chez l'adulte de plus de 20 ans qui était de **4 %** en **1995** atteindrait **5,4 %** en **2025**, ce qui équivaudrait à une population de diabétique passant de **135** à **300** millions de malades. En Algérie, la fréquence de diabète est également en constante augmentation et est estimée de **5 à 8 %** (Grimaldi, 2005; Barket, 2009).

I.1.2. Définition

Le diabète (**dia baino en grec** = passer à travers) est une affection métabolique résultant d'une déficience de sécrétion d'insuline, d'anomalies de son action sur les tissus cibles, ou de l'association des deux. Ce défaut d'insuline entraîne un trouble du transport du glucose conduisant à une hyperglycémie chronique, une baisse des réserves et de la synthèse des lipides et une baisse de la synthèse des protéines. Ces modifications biochimiques auront à la longue des manifestations cliniques aiguës et chroniques (Vaughan et Mckay, 1980; Chicouri, 1983).

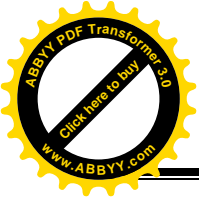
L'OMS dans la dernière révision des critères diagnostiques en **1999**, indique que le diagnostic de diabète peut être retenu dans les quatre situations suivantes :

- Présence de symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) et glycémie sur plasma veineux ≥ 2 g/l (11 mmol/l).
- Glycémie sur plasma veineux à jeun $\geq 1,26$ g/l (7 mmol/l).
- Glycémie sur plasma veineux mesurée n'importe quand ≥ 2 g/l (11 mmol/l).
- Glycémie (sur plasma veineux) deux heures après ingestion de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée orale (HPGO)) ≥ 2 g/l (11 mmol/l) (Grimaldi, 2005).

I.1.3. Classification

Le diabète se divise en :

Diabète de type I : ou diabète insulino-dépendant, juvénile, maigre, cétosique. Il survient à tout âge et est plus fréquent chez les jeunes entre **9-14 ans**. Il est lié ou non à une destruction auto-immune progressive des cellules β des îlots de Langerhans, par infiltration des lymphocytes et de macrophages (**insulite**) qui conduit en quelques années à un état d'insulinopénie absolue. Dans ce type de diabète



plusieurs anticorps ont été mis en évidence (Luton et al, 1999; Lubetzki et al, 2000; Gaw et al, 2004; Grimaldi, 2005).

- **Le diabète de type II** : est le diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité, gras, non cétosique. C'est entre **40 à 80 ans** qu'il est le plus fréquent. On le décrit plus rarement chez les adolescents et les enfants. Il résulte de la combinaison de deux anomalies métaboliques : un déficit de l'insulinosécrétion et une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles (foie, muscle, tissus adipeux) (Luton et al, 1999; Lubetzki et al, 2000; Guillausseau et Michelin, 2003; Gaw et al, 2004).
- **Autres types de diabète:**
 1. Diabète non insulino-prive du sujet jeune ou MODY (Maturity Onset Diabetes in the Young).
 2. Diabète gestationnel.
 3. Diabète tropical et enfin le diabète du sujet noir (Luton et al, 1999).

I.1.4. Les facteurs de risques

Les principaux facteurs de risque du diabète sont :

• Les facteurs héréditaires

Les facteurs héréditaires sont certains même s'ils sont plus importants pour le diabète de type II que dans le diabète de type I (Tableau 01) (Luton et al, 1999).

Tableau 01 : Facteurs Héréditaires (Luton et al, 1999; Idelman et Verdeti, 2000).

Diabète	Concordance entre jumeaux	parenté	Gènes en causes
Type I	≥ 50 %	5 %	Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité codant pour les Ag HLA DR, PQ, DP
Type II	100 %	25 % - 30 % (un parent touché par la maladie) 50 % (les deux parents).	polygénique

● Les infections

L'augmentation modérée (15 % de l'ensemble des cas de diabète sucré) du diabète de type I pourrait s'expliquer par l'infection par rétrovirus responsables d'un super antigène (SADs) impliqué dans le mécanisme d'auto-immunité, d'autres virus ont également été incriminés ainsi que la consommation de protéines de lait de vache (Luton et al, 1999; Idelman et Verdeti, 2000; Gaw et al, 2004).

● L'alimentation

Le bouleversement des habitudes de la vie moderne (L'alimentation dés-équilibrée riche en graisses saturées, sucres et pauvre en fibres) est un facteur de risque essentiel d'apparition d'un diabète sucré (Idelman et Verdeti, 2000; Barket, 2009).

● La sédentarité et l'obésité

La sédentarité est un facteur d'obésité avec répartition androïde des graisses. L'excès de poids favorise l'insulinorésistance multipliant le risque de diabète de type II par 3 à 6 (85% des cas). Ainsi l'augmentation de ce type de diabète que ce soit dans les pays nantis ou en voie de développement est une véritable « épidémie » et un important problème de santé publique (Chicouri, 1983; Idelman et Verdeti, 2000; Guillausseau et Michelin, 2003; Grimaldi, 2005; Barket, 2009).

I.2. Traitement

Le traitement du diabète de type I reste essentiellement basé sur l'insulinothérapie et certains adjuvants. La greffe des ilots semble être prometteuse (Sutherland, 1994; Idelman et Verdeti, 2000; Owens et al, 2001).

Le traitement de diabète de type II comporte deux aspects :

- **L'aspect préventif** : qui consiste en la lutte contre la sédentarité, l'obésité et les mauvaises habitudes alimentaires par des programmes de santé et d'éducation sanitaire (OMS, 1985; Grimaldi, 2005).
- **Le traitement symptomatique** : il repose sur la prise de médicaments de plusieurs classes (OMS, 1985) tels que :

- **Les sulfamides ou sulfonylurées** (exp : **glibenclamides**): stimulent l'insulinosécrétion et n'agissent probablement pas sur l'insulinorésistance (Schorderet et Col, 1989; Idelman et Verdeti, 2000).

- **Les biguanides** (exp: **métformine** seule commercialisée en Algérie): agissent sur l'insulinorésistance et non sur l'insulinosécrétion. Ils diminuent l'absorption intestinal du glucose et des acides aminés, inhibent la néoglucogenèse hépatique et améliorent l'utilisation périphérique du glucose au niveau musculaire (l'activation de l'hexokinase et la phosphofruktokinase) (**Schorderet et Col, 1989; Idelman et Verdeti, 2000; Hubert, 2003; Liu et al, 2007**).

- **Les inhibiteurs des α glucosidases** (exp: **acarbose = glucobay** en Algérie): empêchent l'hydrolyse des hydrates de carbone au niveau du grêle et diminuent l'assimilation des oses (**Luton et al, 1999; Idelman et Verdeti, 2000**).

- **Glinides** (exp: **Répaglinides**): sont des insulinosécréteurs non sulfamidés (**Halimi et al, 2008**).

I.3. Régulation de la synthèse et sécrétion d'insuline

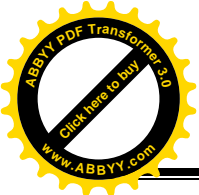
I.3.1. Chez l'individu normal

L'homéostasie glucidique est indispensable au bon déroulement des activités biologiques des cellules de l'organisme. Un contrôle strict de la glycémie entre 80-120 mg/dl, après chaque repas est donc nécessaire pour la santé des individus. Cette homéostasie glucidique résulte du fait que la production hépatique de glucose est exactement équilibrée par une utilisation tissulaire équivalente de glucose. Dans ce processus deux hormones pancréatiques sont essentiellement impliquées : L'insuline et le glucagon (**Idelman et Verdeti, 2000; Grimaldi, 2005; Lacroix, 2006**).

Après ingestion d'aliments lorsque la concentration de glucose sérique est élevée, l'insuline unique hormone hypoglycémiant, réagit en la diminuant. Cet effet est contrebalancé par le glucagon (effet hyperglycémiant) (**Pocock et Richards, 2004; Lacroix, 2006; Larousse, 2008**).

Au niveau de la cellule β du pancréas, un grand nombre de facteurs peuvent moduler la sécrétion d'insuline (**Tableau 02**). Le glucose représente cependant le facteur le plus important de la sécrétion (**Costanso, 2001; Guénard et al, 2001**).

Le glucose est transporté à travers la membrane de la cellule β de Langerhans du pancréas. Après une chaîne de réactions, il y'aura enfin exocytose des vésicules d'insuline (**Fig. 01**). L'insuline ainsi sécrétée, se lie à son récepteur à tyrosine kinase au niveau des cellules cibles (muscles, tissus adipeux, foie). Le mécanisme moléculaire de son action débute par une autophosphorylation du récepteur et se termine, après une cascade de réactions de phosphorylation, par ses différents effets métaboliques



(Fig. 02) (Idelman et Verdeti, 2000; Guénard et al, 2001; Capeau, 2003; Grimaldi, 2005). Ainsi l'insuline stimule les processus anaboliques et la mise en réserve de l'énergie.

Sur le muscle strié : elle active la glycogénèse et surtout la glycolyse, inhibe la lipolyse et la protéolyse et favorise le transport des acides aminés.

Sur le tissu adipeux : elle stimule la lipogénèse et est la seule hormone antilipolytique de l'organisme.

Sur le foie : elle inhibe la néoglucogénèse et stimule la glycogénèse. Elle inhibe l'effet cétoène du glucagon et possède sur les protéines une action à la fois anabolique et anti catabolique (Borel, 1997; Hennen, 1996; Trivolet et Halimi, 1994; Idelman et Verdeti, 2000).

Le glucagon est sécrété par les cellules α de Langerhans pancréatiques, par l'intermédiaire de plusieurs facteurs dont la baisse du glucose étant le plus important (**Tableau 03**). Il agit seulement au niveau du foie, où il stimule la glycogénolyse, la néoglucogénèse, inhibe la glycolyse et la lipogénèse. Il stimule la cétoénèse et il a sur les protéines un effet catabolique favorisant donc la production de l'urée (Idelman et Verdeti, 2000; Costanso, 2001).

I.3.2. Chez le diabétique

Les causes des anomalies de l'insulinosécrétion sont d'ordre anatomique et fonctionnel. Pour le diabète de type I, l'absence de l'insulinosécrétion résulte d'une destruction importante des cellules β de Langerhans. Quant au diabète de type II, il s'accompagne d'une réduction d'environ 50% des cellules β , mais le dysfonctionnement des cellules résiduelles semble nécessaire pour l'apparition d'un diabète patent. La découverte de dépôts amyloïdes dans les îlots accrédite cette thèse. Ces dépôts sont dus à la précipitation de l'amyline cosécétrée avec l'insuline. Elle aurait un effet délétère sur les cellules β , sur la diffusion de glucose et en fin sur la sécrétion d'insuline (Idelman et Verdeti, 2000; Grimaldi, 2005). L'insuffisance ou l'absence de sécrétion de l'insuline résulterait de perturbations de la cinétique de l'insulinosécrétion avec une diminution de la sécrétion de l'insuline vraie et augmentation de la concentration en proinsuline (Lubetzki et al, 2000; Guénard et al, 2001; Guillausseau et Michelin, 2003).

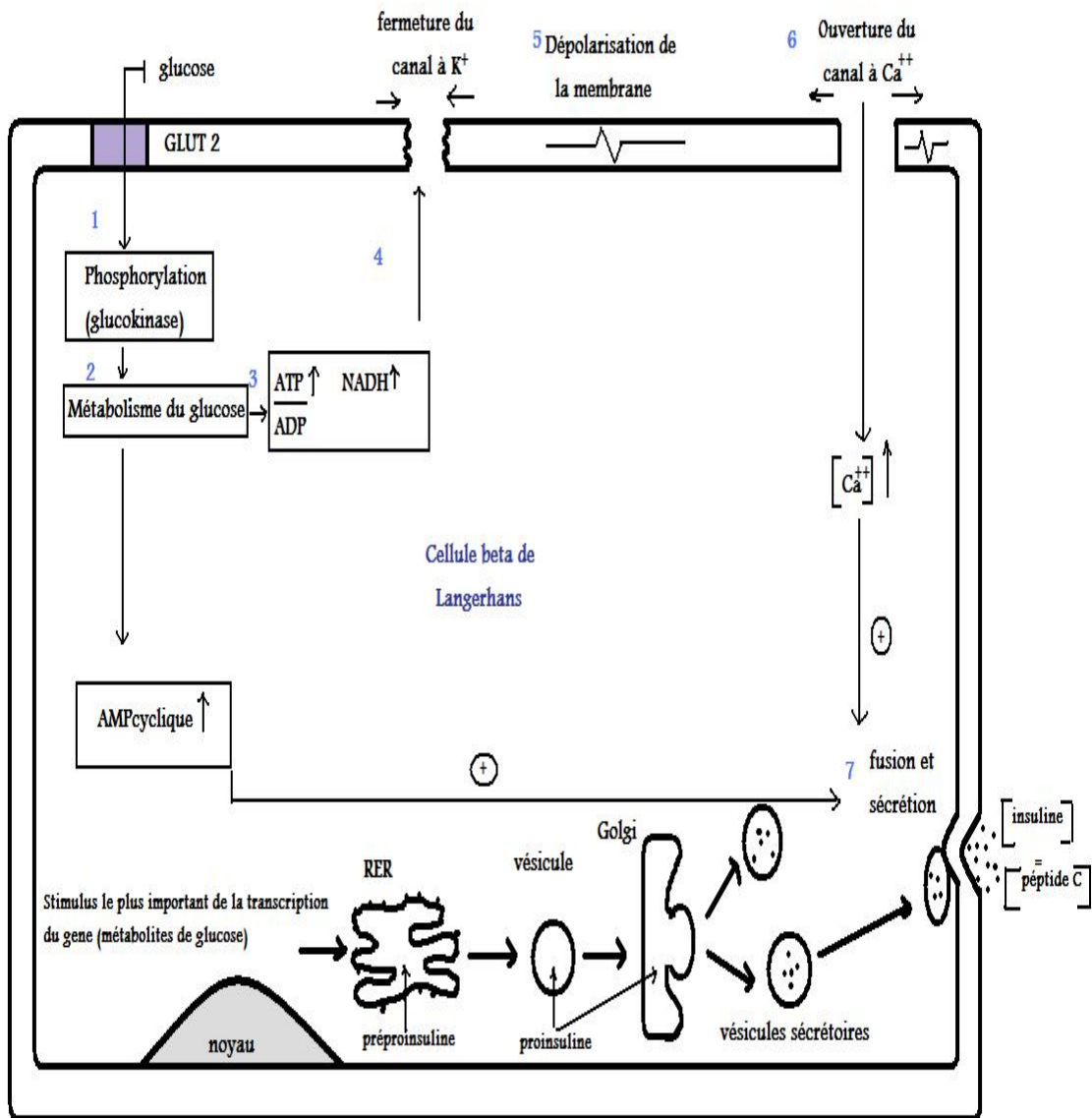


Fig. 01 : Synthèse et sécrétion d'insuline par la cellule β de Langerhans (Idelman et Verdeti, 2000; Guénard et al, 2001; Grimaldi, 2005).

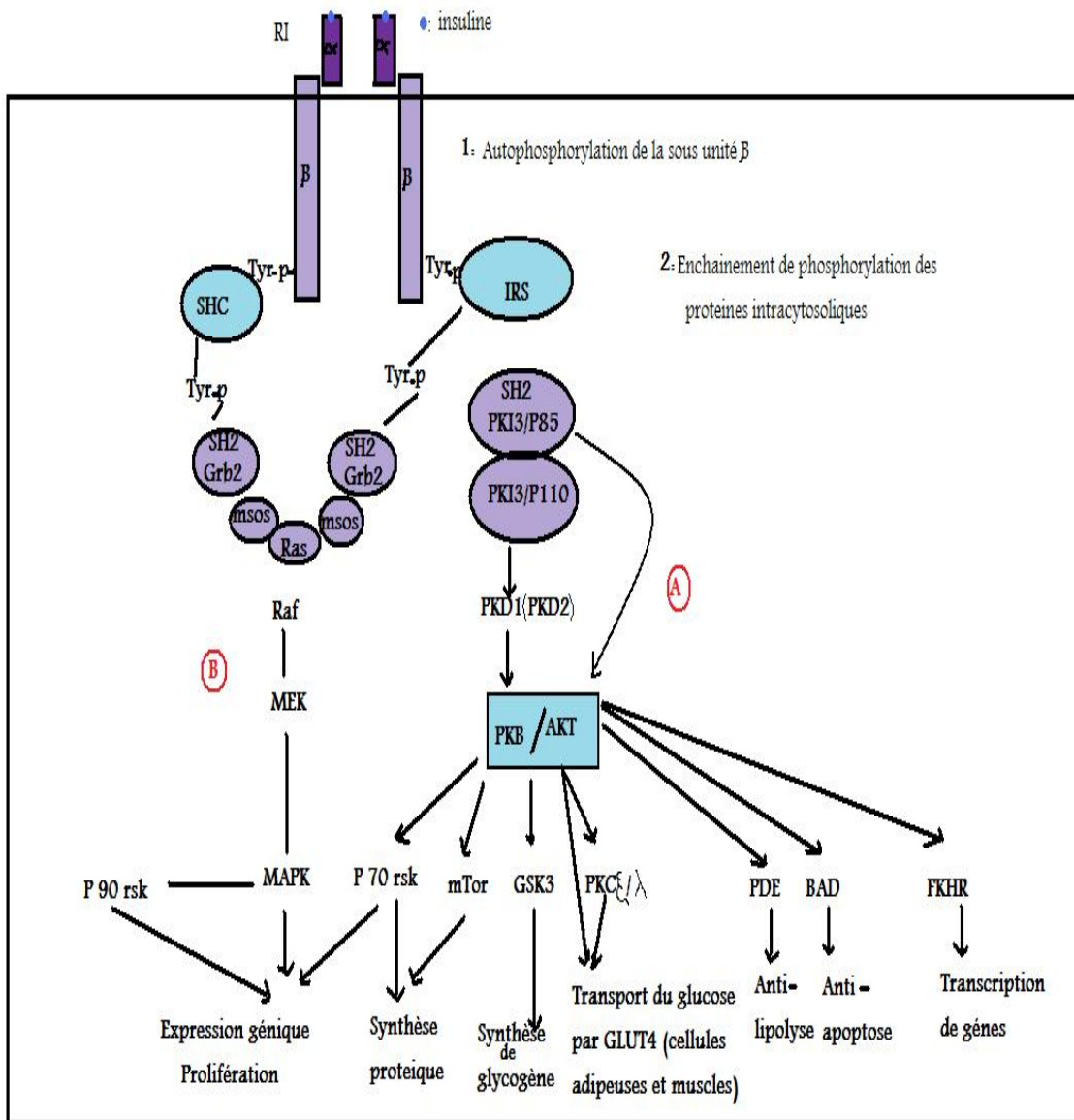


Fig. 02 : Les principales voies de signalisation de l'insuline ; **A** : Voie des PI3kinase. **B** : voie de la MAP kinase (Idelman et Verdetti, 2000; Capeau, 2003- Grimaldi, 2005).

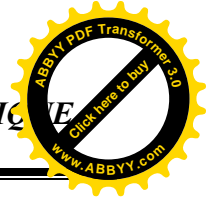
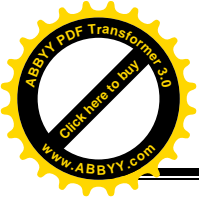
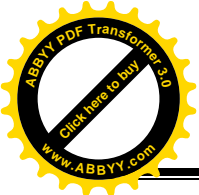


Tableau 02 : Facteurs modulant la sécrétion d'insuline (Guénard et al, 2001; Costanso, 2001).

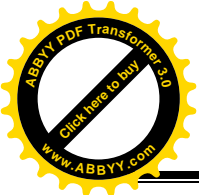
Facteurs	Augmentation de la sécrétion	Causes qui diminuent la sécrétion
Agents physiologiques	<p>↑ Glucose sanguin</p> <p>↑ Acides aminés (arginine, lysine, leucine)</p> <p>↑ Acides gras</p> <p>Glucagon</p> <p>Hormones intestinales de type incrélines (GIP, GLP1)</p> <p>GH, cortisol</p> <p>Parasympathique (Ach)</p> <p>β adrénergiques</p>	<p>↓ Glucose sanguin</p> <p>Somatostatine</p> <p>Adrénaline, Noradrénaline (récepteur alpha)</p> <p>Leptine</p> <p>Galanine</p> <p>Pancréastatine</p> <p>Jeûne, exercice</p>
Agents pharmacologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Théophylline • AMPcyclique • Sulfonylurées • Salicylates 	<ul style="list-style-type: none"> • Alpha deoxyglucose • Mannohéptulose • Diazoxide • Prostaglandines • Diphénylhydantoïne • Alloxane • Streptozotocine

Tableau 03 : Régulation de la sécrétion du glucagon (Costanso, 2001).

Causes qui augmentent la sécrétion	Causes qui diminuent la sécrétion
<p>↓ Glucose sanguin</p> <p>↑ Acides aminés (particulièrement l'arginine)</p> <p>Cholécystokinine (signal d'un repas protéiques aux cellules alpha)</p> <p>Adrénaline, Noradrénaline, Acétylcholine</p>	<p>↑ Glucose sanguin</p> <p>Insuline</p> <p>Somatostatine</p> <p>Acides gras</p> <p>Cétone</p>



Dans le diabète de type II, l'insulinosécrétion et l'insulinorésistance sont intimement liés et peuvent retentir l'un sur l'autre créant un cercle vicieux. L'insulinorésistance (insulinosensibilité) résulterait d'une diminution du nombre de récepteurs des cellules cibles et le plus souvent d'anomalies des mécanismes post récepteurs (exp : anomalie de la phosphorylation des protéines IRS) (**Lubetzki et al, 2000**). Essayant de compenser cette insulinosensibilité, les cellules β restantes secrètent une grande quantité d'insuline et finissent par s'épuiser, ce qui réduit l'insulinosécrétion. L'incapacité de ces cellules à répondre aux besoins conduit alors à une hyperglycémie qui elle-même altère l'insulinosécrétion et la sensibilité à l'insuline, c'est: la *glucotoxicité* (**Idelman et Verdeti, 2000; Guillausseau et Michelin, 2003**). En effet selon de nombreuses études l'hyperglycémie conduit à la production de radicaux libres. Ces derniers provoqueraient un effet délétère sur les cellules β de Langerhans (**Tang et al, 2006**). La diminution de l'insulinosécrétion et de l'insulinorésistance sont également dues à la *lipotoxicité* (**effet de Randle**). Chez les individus obèses prédisposés au diabète, l'augmentation de la concentration des acides gras libres conduit à une élévation du citrate qui inhiberait les enzymes clefs de la glycolyse favorisant ainsi l'accumulation du glucose normalement assimilé par les cellules musculaires. Cette hyperglycémie inhiberait et altérerait la sécrétion d'insuline (**Grimaldi, 2005; Magnan, 2006**).



II. LA PHYTOTHERAPIE

II.1. Généralités sur la phytothérapie

II.1.1. Définition

La phytothérapie, du grec **phytos** : plante et **therapia** : la cure (**Belaïche, 1979**) est le traitement par l'action des plantes médicinales.

On peut distinguer deux types de phytothérapie :

-Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'**OMS**, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle, est 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 clinique.

-Une pratique basée sur les avancées scientifiques et la recherche des principes actifs des plantes (exp: La morphine extraite du pavot employée comme analgésique). Cette phytothérapie est assimilée aux médicaments et selon les pays, suit les mêmes réglementations (AMM, vente en pharmacie...). On parle alors de pharmacognosie (**Iserin, 2001; Lamnaouer, 2008**).

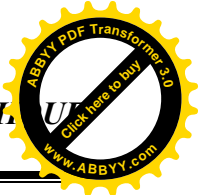
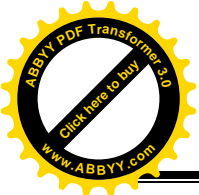
Les limites de cette définition sont dues au fait que la phytothérapie « **scientifique** » basée sur l'isolement des principes actifs ne suffit pas toujours à expliquer l'effet thérapeutique voulu d'une plante médicinale. L'action de cette dernière serait due à l'effet combiné de ses différents composants. C'est pour cela qu'il est généralement recommandé d'utiliser la plante entière ou « **Totum** » (**Iserin, 2001**). Dans ce cas l'utilisation empirique garde encore sa place en attendant de mettre à jour et de découvrir les combinaisons infinies et subtiles des différents principes actifs des plantes et leurs effets thérapeutiques produits.

II.1.2. Historique

Tout au long de l'histoire des traitements médicaux figurent l'utilisation des plantes médicinales. Les traces de cette utilisation existent dans des textes chinois datant de plus de **5000 ans avant Jésus-Christ**.

Les tablettes d'argile de l'époque sumérienne (**2000 ans avant Jésus-Christ**) décrivent une pharmacopée riche en plantes.

Les égyptiens possédaient déjà des notions de pharmacopée. Le papyrus d'Ebers (**environ 1500 ans avant Jésus-Christ**) est le premier recueil consacré aux plantes médicinales proposant 12 plantes



accompagnées de leurs utilisations. A la même époque, en Inde, les « védas », livres sacrés témoignent eux aussi de la connaissance des plantes.

La Grèce antique c'est distinguée avec les premiers thérapeutes du monde occidental; Hippocrate symbole de la médecine (**460-377 Jésus-Christ.**) fut le premier à mentionner des observations cliniques avec plus de 230 plantes médicinales. A cette époque un début de classement selon la toxicité des plantes fut élaboré par des savants célèbres tels que Théophraste (**372-287 avant Jésus-Christ.**).

Aristote (**384-322 avant Jésus-Christ.**) célèbre disciple de Platon et naturaliste écrivait : « le tout est plus que la somme des parties constitutives ». Chaque organe et partie d'une plante n'est pas seulement un organe ou une partie mais est un élément indispensable de l'organisme d'un tout. N'est ce pas la un des principes fondamentaux de la médecine par les plantes.

Galien (**201-130 avant Jésus-Christ.**) médecin considéré aujourd'hui comme le père de la pharmacie élaborait sa théorie des quatre humeurs s'inspirant des travaux d'Hippocrate. Galien classa les plantes en plantes sèches, chaudes, fraîches et humides. Galien écrivit uniquement 3 livres et se limita aux plantes qu'il appréciait.

Plus tard (**100 avant Jésus-Christ.**), Discoride, herboriste Grec écrivit un recueil de 5 livres consacré à plus de 500 espèces de plantes médicinales. Cet ouvrage est connu sous le nom de « **Materia medica** » qui fut publié en **1478** et constitua la référence principale en Europe.

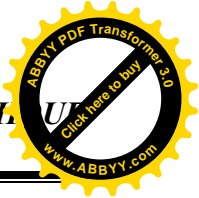
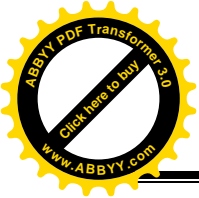
Au **premier siècle**, toutes les civilisations ont eu leurs traditions phytothérapeutiques. Les chinois proposaient 252 remèdes à base de plantes. Les civilisations précolombiennes (Maya, Aztèque, Inca) utilisaient le tabac, le poivre et produisaient même la pénicilline sur les pots des bananes.

Au **2ème siècle**, commença le commerce des épices entre Europe, Moyen Orient, Inde et l'Asie.

Au **moyen âge**, la célèbre école de médecine de Salerne (Italie) fut fondée et utilisait déjà la sauge comme plante médicinale. On utilisa également le pavot ainsi que le cannabis comme analgésique.

Au **12ème siècle**, le commerce des plantes entre Europe, Afrique et Asie fut entrepris (**Iserin, 2001**).

La culture Arabe (**7-15 siècle**) c'est épanouie en fournissant d'excellents médecins et pharmaciens à l'origine de découvertes importantes (préparation des essences par distillation) et qui ont compté de célèbres praticiens tels que (Avicenne **980-1037**).



Le développement des explorations est incarné par le grand navigateur espagnol Christophe Colomb (1492) qui apporta des Antilles de nombreuses plantes dont le bois de gaïac.

Paracelse (1493-1541), alchimiste et professeur de médecine à Bale, considéré comme le père de la chimie rédigea une œuvre en dix volumes, au sein de laquelle les plantes avaient une place toute particulière. Il inventa la théorie de la signature des plantes selon laquelle, la vertu d'une plante est reflétée par ses marques et signes externes.

N.Culpeper (1616-1654), médecin et botaniste anglais a permis aux propriétés thérapeutiques des plantes d'être mieux connues en développant des herbiers.

J. Ray (1628-1705) naturaliste anglais a entrepris une histoire de la flore universelle « **Historia Plantarum** » traitant plus de 18.000 espèces.

C. Linné (1707-1778) naturaliste suédois, père de la systématique des plantes publia de nombreux ouvrages dont « **Systema Naturae** ».

En 1692, paraissait la première pharmacopée galénique et chimique.

En 1778, le premier diplôme d'herboriste était décerné par la faculté de médecine de Paris.

Encore importante au lendemain de la seconde guerre mondiale, la phytothérapie subira une période de désaffection. En 1941, le diplôme d'herboristerie a été supprimé des facultés françaises. Ce déclin est survenu pour deux raisons : L'arrivée massive des médicaments de synthèse, forts de leur efficacité et de leur présentation prête à l'emploi, l'engagement pour l'extraction à partir des plantes de son agent actif principal (extraction d'alcaloïdes, exemple la morphine en 1817) ; celui-ci devenait plus intéressant et plus crédible aux yeux des cliniciens que la plante entière (Belaïche, 1979; Wichtl et Anton, 1999; Iserin, 2001; Encarta, 2009).

II.1.3. Phytothérapie et botanique

Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas, ce sont des espèces sauvages d'où la nécessité de l'identification précise des plantes employées. Cette nécessité garantit une utilisation sécuritaire des produits végétaux.

La culture des plantes médicinales a des avantages par rapport à leur cueillette à l'état sauvage surtout les plantes rares, menacées de disparition ou surexploitées (OMS, UICN et WWF, 1993) (OMS, 2003).

Elle supprime aussi les risques de confusion entre plantes. Elle permet également l'obtention en quantité voulue de drogues de qualité constante. De plus, la qualité des plantes cultivées peut être améliorée génétiquement et/ou par action sur les facteurs écologiques afin d'augmenter les teneurs en

principes actifs, d'augmenter leur résistance à divers agents (conditions climatiques défavorables, maladies, parasites etc...). Mais l'inconvénient est qu'elles ne peuvent pas remplacer les plantes à usage alimentaire (manque de surfaces cultivables) (**Ghestem et al, 2001; Lamnaouer, 2008**).

Les espèces sauvages ont l'avantage d'être très nombreuses et très riches en principes actifs qui peuvent être à l'origine de molécules candidates (**Wichtl et Anton, 1999**). Cependant, l'exploitation intensive de ces espèces pour des besoins médicaux peut devenir néfaste si elle dépasse le seuil de régénération soutenable par les ressources utilisées.

De même les nouvelles pratiques de commercialisation des ressources végétales naturelles pourraient porter un grand préjudice à la biodiversité, d'où l'intérêt d'une politique de conservation des milieux naturels et de développement durable et une gestion rationnelle de ces ressources (**CDB, 1993**).

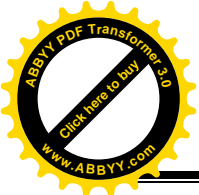
II.1.4. Méthodes d'utilisation des plantes

La phytothérapie utilise des plantes ayant des propriétés médicinales (ou plus précisément la partie active ou une préparation de celle-ci). En effet, les plantes peuvent être utilisées fraîches ou séchées, sous diverses formes: teintures alcooliques, macérats, tisanes, compresses, crèmes, poudre, pommades, baumes... dans le but de conserver leurs différents principes actifs et d'éviter toute décomposition (biodisponibilité maximale donc meilleurs effets). Les tisanes obtenues par infusion ou décoction sont les plus utilisées par la population en médecine traditionnelle. Cependant la tisane ne peut extraire que les principes actifs solubles dans l'eau.

Pour éviter la détérioration des principes actifs des plantes séchées, ensuite broyées, un procédé récent a été mis en place c'est le cryobroyage ; broyage fin de la plante fraîche sous une température basse de -196°C (la chaleur dégrade certains principes actifs) en utilisant l'azote liquide (**Schoutteten et Girardon, 1986; Sophie et Ehrhart, 2003; Dellile, 2007; Lamnaouer, 2008**).

II.2. Les principes actifs des plantes

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites issus du métabolisme secondaire qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures (**Larkins et Wynn, 2004; Lamnaouer, 2008**). Parmi les plus importants sur le plan pharmacotoxicologique, on peut citer :



II.2.1. Les hétérosides

Les hétérosides ou glycosides sont des composés résultant de la condensation de deux parties, une partie glucidique (un ou plusieurs oses) et une partie non glucidique : La génine ou aglycone (les génines sont des groupements phénoliques de six classes : Flavones, flavonols, flavanones, chalcones, isoflavones, bisflavones) avec élimination d'une molécule d'eau .

Basés sur le mode de liaison ose-génine, les hétérosides sont classés en :

- Les **O hétérosides** : $R - C - OH \ H - OR'$
- Les **S hétérosides** : $R - C - OH \ H - S - R'$
- Les **N hétérosides** : $R - C - OH \ H - NH - R'$
- Les **C hétérosides** : avec une liaison C-C (**Hammiche, 1995**).

II.2.1.1. Les O hétérosides

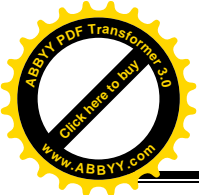
Les O hétérosides sont les plus largement répandus dans le règne végétal (**Ghestem et al, 2001**). On en distingue par exemple :

- **Les hétérosides cardiotoniques**

Toutes les génines ont en commun un squelette tétra-cyclique, des stéroïdes avec un cycle lactonique insaturé en C17, et une chaîne osidique en C3 (**Fig. 03**). Ils sont solubles dans l'eau et légèrement dans l'éthanol et le chloroforme. L'action physiologique des cardiotoniques (exp : la digitoxine) est d'améliorer le débit cardiaque en cas d'affaiblissement. Ils ont également une action diurétique (**Bruneton, 1993; Hammiche, 1995; Ghestem et al, 2001; Iserin, 2001**).

- **Les Saponosides**

Les saponosides ou saponines sont des chaînes d'oses linéaires ou ramifiées de glucose, galactose, rhamnose, arabinose liées soit à une génine stéroïdique ou génine triterpénique en C3 (**Fig.04**). Les saponosides sont amphiphiles. Ils sont caractérisés principalement par leurs propriétés tensioactives ; ils forment ainsi une mousse par agitation dans l'eau. Ils sont utilisés en thérapeutique pour leurs propriétés : Anti-inflammatoire, cicatrisante, expectorante, antispasmodique, diurétique, laxative et en tant que protecteurs veineux. Certains facilitent l'absorption d'aliments. Les saponosides stéroïdiques ont un effet sur l'activité hormonale. Certains sont utilisés pour l'hémisynthèse d'hormones stéroïdiques humaines (œstrogènes, cortisone) (**Iserin, 2001; Ghestem et al, 2001**).



- **Les hétérosides anthracéniques (anthracénosides)**

Ils résultent de la combinaison d'un ou plusieurs oses (glucose et rhamnose) avec les génine en (C6 ou C8). Ces derniers se trouvent sous divers états d'oxydation dont le stade ultime et le plus fréquent est l'antraquinone. La forme réduite de la génine est appelée anthrone. Les hétérosides anthracéniques sont peu insolubles dans l'eau et sont solubles dans les solvants intermédiaires (**Fig.05**). Ils agissent sur la constipation et ont un effet laxatif. Leur action se manifeste au niveau du colon. Il existe également des dérivés anthracéniques non hétérosidiques issus de la condensation de groupements phénoliques (**Iserin, 2001; Ghestem et al, 2001**).

- **Les flavonoïdes**

Ce sont des pigments phénoliques quasi universels des végétaux, presque toujours hydrosolubles. Ils sont souvent responsables de la coloration en jaune ou blanc des fleurs, des fruits ou des feuilles. Ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides (flavonosides). La chaîne osidique est le plus souvent composée de glucose et rhamnose. Elle se lie en C3 aux flavonols et en C7 aux flavones et flavanones (**Fig. 06**). Les flavonoïdes peuvent également être sous forme de C hétérosides. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Ils sont antioxydants, diurétiques, antispasmodiques, ont des effets protecteurs sur le foie. Ils renforcent les parois capillaires et sont actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Ils traitent l'insuffisance veineuse et sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause et les crises hémorroïdaires. Ils ont un effet anti-inflammatoire et antiviral (**Bruneton, 1993; Iserin, 2001; Ghestem et al, 2001**).

- **Les anthocyanes**

Ce sont des pigments de végétaux, de couleur rouge, violette ou bleue. On les trouve dans les fleurs, fruits murs et parfois feuilles aux quels ils confèrent leur couleur. Les anthocyanes sont des composés le plus souvent de chaînes d'oses (glucose, rhamnose) fixées sur le C3 et/ ou5 de la génine (**Fig. 07**). Ces structures hétérosidiques (anthocyanosides) sont généralement associées à des anions et cations bivalents. Ils sont solubles dans l'eau. Ils sont antioxydants. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment au niveau de la région du cœur, des mains, des pieds et des yeux (**Iserin, 2001; Ghestem et al, 2001**).

- **Les tanins**

Très répandus dans le règne végétal, les tanins sont très abondants chez des familles telles que les Rosacées. Ce sont des composés polyphénoliques hydrosolubles. Ils ont une propriété de tanner la peau et la rendre imputrescible. Cela serait lié à leur propriété à se combiner aux protéines et aux polysaccharides. Les tanins sont des esters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est généralement le glucose. L'acide phénol est soit l'acide gallique (tanins galliques) ou acides ellagiques (tanins ellagiques) (**Fig. 08**). Ce dernier étant un dimère du premier.

Il existe toutefois un autre type de tanin non hétérosidique appelé tanin catéchique issu de la condensation des flavanes : génine ayant à peu près le même squelette des génines flavonoidiques et anthocyanidiques. Les tanins sont astringents, antidiarrhéiques, antibactériens, antifongiques et piègeurs de radicaux libres. Avec les alcaloïdes, ils donnent des précipités inactifs d'où leur emploi comme contre poison (**Hammiche, 1995; Bruneton, 1999; Ghestem et al, 2001**).

II.2.1.2. Les S hétérosides

Ils sont appelés thioglucosides (glucosinolates) car la liaison se fait entre la fonction réductrice de l'ose et un thiol de la génine (exp : Sinigrosides de moutardes). Ce sont des composés irritants pour la peau, peuvent favoriser le flux sanguin dans les zones irritées et ainsi évacuer les toxines (cataplasmes sur les articulations douloureuses). Ils sont employés également pour déboucher les voies respiratoires (**Hammiche, 1995; Lamnaouer, 2008**).

II.2.1.3. Les N hétérosides

Ce sont des molécules pouvant libérer par hydrolyse enzymatique (salive), du cyanure d'hydrogène (hétérosides cyanogènes). Ce qui leur confère l'odeur et le goût d'amande amère. Ils sont retrouvés essentiellement dans la famille des Rosacées. Ils sont dotés d'un pouvoir antispasmodique et calmant (**Lamnaouer, 2008**).

II.2.1.4. Les C hétérosides

Exp : Hétérosides de l'aloïne (amer de l'aloès). Ces composés présentent des propriétés laxatives et cicatrisantes d'où leur emploi en cosmétologie (**Bruneton, 1993; Hammiche, 1995**).

II.2.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe très large, ce sont des composés organiques azotés mono ou polycycliques. Leur solubilité est en fonction de leur pH, on en distingue deux types :

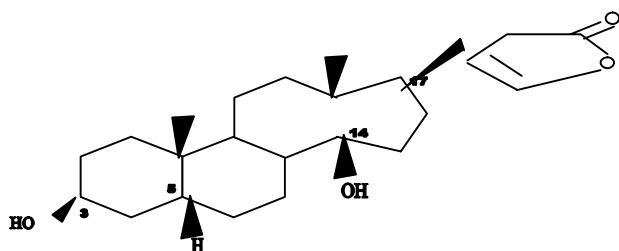


Fig. 03 : Structure d'une génine d'hétérosides cardiotoniques (exp : De digitoxine) (Ghestem et al, 2001).

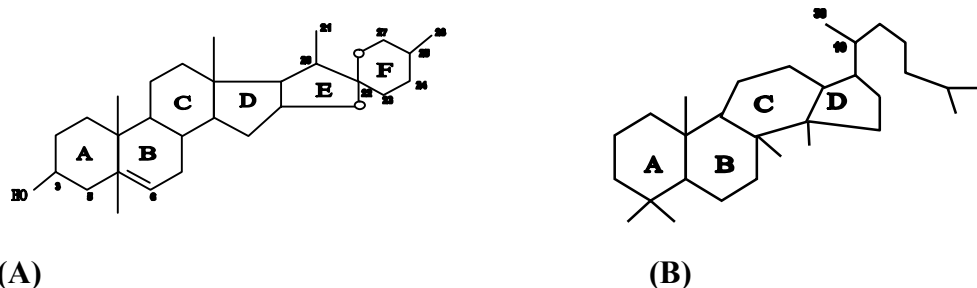


Fig. 04 : Structure de génines de saponosides. A : Génine stéroïdique, B : Génine tritérpénique (Ghestem et al, 2001).



Fig. 05 : Structure d'une génine anthracénique. A : Génine d'anthraquinone, B : Génine d'anthrone (Ghestem et al, 2001).

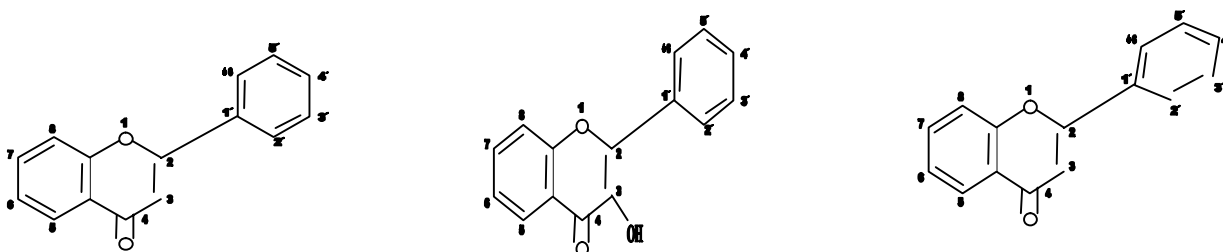


Fig. 06 : Structure d'une génine de flavonoïde. A : Flavone, B : Flavonol, C : Flavanone (Ghestem et al, 2001).

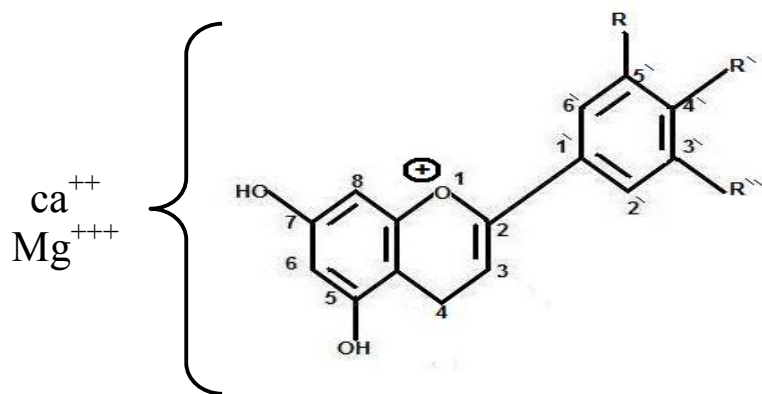
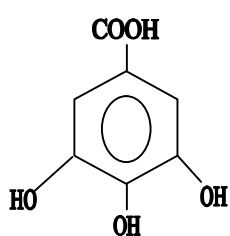
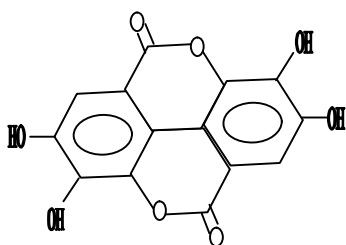


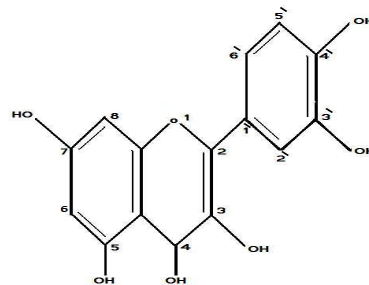
Fig. 07 : Structure d'une génine d'anthocyane (Ghestem, 2001).



(A)

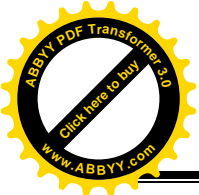


(B)



(C)

Fig. 08 : Structure de l'acide gallique (A), ellagique (B) et de la génine (flavane) de tanins (C) (Ghestem, 2001).



- Les alcaloïdes sels : Solubles ans l'eau et les alcools
- Les alcaloïdes bases : Solubles dans l'alcool et les solvants apolaires

Les alcaloïdes ont plusieurs propriétés pharmacologiques et de nombreuses utilisations thérapeutiques notamment au niveau du système nerveux central, autonome et du système cardiovasculaire. Ils sont anti-tumoraux, antiparasitaires, parasympatholytiques, expectorants, antispasmodiques et sédatifs (exp : Atropine) et anesthésiques locaux (exp : Cocaïne). Ils sont également hallucinogènes, vasodilatateurs, on les utilise contre les migraines, les troubles psychomoteurs et la goutte (colchicine) (**Iserin, 2001; Ghestem, 2001**).

II.2.3. Les terpènes

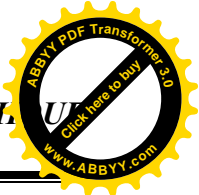
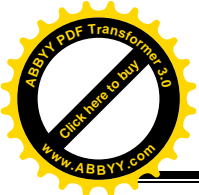
Ce sont des composés organiques lipidiques dérivant de la condensation de plusieurs molécules d'isoprène. On distingue les mono-terpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀), les triterpènes (C₃₀) et les tetraterpènes (C₄₀). Le caoutchouc est un polyterpène (C₅H₈)_n ou n est grand. Les terpènes constituent le principe odoriférant des végétaux (Limonène de citron). Beaucoup de molécules terpéniques possèdent des propriétés antiseptiques (**Larousse, 2008**).

II.2.4. Les huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes de composés odorants et volatils qui sont de deux types : terpéniques et aromatiques. A température ambiante, les huiles essentielles sont des liquides à odeur aromatique forte. Ils sont très peu solubles dans l'eau et sont solubles dans les solvants organiques apolaires usuels et dans les alcools. Ils sont obtenus par entraînement à la vapeur d'eau ou par expression à froid. Ils ont donné naissance à une nouvelle branche de la phytothérapie qui est l'**Aromathérapie**. Un grand nombre présente des propriétés antiseptiques, sédatives, irritantes, antispasmodiques, digestives en stimulant la sécrétion gastrique (**Ghestem, 2001; Lamnaouer, 2008**).

II.2.5. Les mucilages

Ce sont des polysaccharides hétérogènes acides. Ils sont composés de fucose, d'acide glucuronique et d'acide manuronique. Ce sont des constituants normaux des cellules végétales qui se dissolvent plus ou moins au contact de l'eau pour former des solutions colloïdales ou des gels par leur propriété à retenir l'eau. Ce sont des réservoirs pour la plante, et de cette même propriété découlent leurs effets pharmacologiques. Ils ont une action contre les peaux sèches et irritées et également contre les inflammations des muqueuses surtout respiratoires et digestives (**Bruneton, 1993; Lamnaouer, 2008**).



II.2.6. Les gommés et résines

Comme les mucilages, les gommés sont des polysaccharides hétérogènes acides, constitués d'acides uroniques. Ce sont des produits qui exsudent, et sont souvent produits lors d'une blessure du végétal. Ils ne sont pas solubles dans les solvants organiques, ce qui les différencie des résines qui sont de nature terpénique et qui sont uniquement produits par les végétaux résineux. Comme les mucilages, les gommés et résines forment des systèmes colloïdaux en présence d'eau. Les gommés sont très utilisées comme calmant et agent adoucissant et sont pour cela très utilisés en cosmétologie. A usage interne, elles entrent dans la préparation de médicaments destinés à calmer la toux, la diarrhée, la dysenterie et les hémorragies. On les utilise également comme anti-inflammatoire (**Bruneton, 1993; Lamnaouer, 2008**).

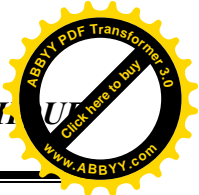
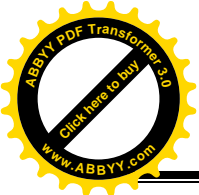
Remarque: Ces deux derniers principes actifs sont classés dans certains ouvrages comme étant des molécules issues du métabolisme primaire du végétal (**Bruneton, 1993**).

En raison du nombre très important de principes actifs, cette énumération n'est pas exhaustive.

II.3. Facteurs de variation de l'activité biologique d'une plante

II.3.1. Facteurs liés au végétal

- La nature du principe actif d'une plante est un facteur évident qui influence son activité pharmacologique et toxicologique. Les principes actifs d'origine végétale ont une constitution chimique extrêmement variée d'où des effets pharmaco-toxicologiques dissemblables.
- Les substances responsables de l'activité d'une plante peuvent être différemment réparties dans le végétal. Plusieurs cas de figure sont possibles :
 - *Principes actifs répartis dans tous les organes de la plante* : soit à des concentrations à peu près égales ou différentes d'un organe à l'autre.
 - *Principes actifs répartis dans certains organes uniquement.*
- La concentration en principes actifs peut varier au cours du temps, des saisons, des mois, des jours (chronobiologie) en fonction du stade de développement de la plante. Elle peut être maximale au début de la végétation (diminution et disparition en fin de croissance) et au moment de la floraison.



Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi sont récoltées de préférences, les parties aériennes, le plus souvent au moment de floraison, les feuilles à des périodes variables mais quelques auteurs mentionnent la période avant floraison, les fleurs avant leur complet épanouissement voire en bouton, les fruits charnus et secs à maturité, les graines lorsqu'elles ont perdu la majeure partie de leur humidité naturelle, les parties souterraines (racines, rhizomes, bulbes, tubercules...), en dehors de la période de pleine végétation (automne, hiver) (Wichtl et Anton, 1999; Ghestem, 2001; Lamnaouer, 2008).

- L'aptitude de synthétiser une quantité variable de principes actifs est le plus souvent contrôlée génétiquement c'est pour cette raison qu'il existe de larges variations dans la teneur en principes actifs des différentes variétés d'une même espèce botanique. Ces différences peuvent être quantitatives et / ou qualitatives. Cette variation d'ordre génétique est mise à profit dans le cas des espèces cultivées pour diminuer, par sélection la quantité de principes toxiques formés par la plante (Wichtl et Anton, 1999; Ghestem, 2001; Lamnaouer, 2008).

II.3.2. Facteurs climatiques et du milieu

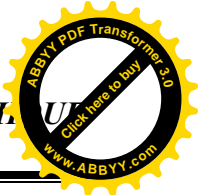
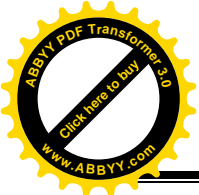
La lumière, la température, l'ensoleillement et la pluviométrie ont une influence très variable sur la concentration en principes actifs. De même la nature du sol et la fertilisation peuvent influencer sur la nature des principes actifs (exp : Une terre riche en fumure azotée favorise la synthèse des alcaloïdes (Lamnaouer, 2008).

II.3.3. Facteurs liés aux techniques de récolte

La qualité des drogues végétales (sauvages ou cultivées) dépend en grande partie des soins apportés à leur récolte. Ces drogues sont dans la mesure du possible, exemptes d'impuretés telles que terre, poussière, souillure...etc. Elles ne présentent aucun signe d'humidité (rosée), de pourriture et d'endommagement (Wichtl et Anton, 1999; Ghestem, 2001).

II.3.4. Facteurs liés aux méthodes de conservation et de stockage

Les conditions de séchage et de stockage ont une action déterminante sur la qualité des drogues végétales, ce qui influence la teneur en principes actifs (Lamnaouer, 2008).



- **Les méthodes de séchage (dessiccation)**

Pour inhiber les enzymes, la prolifération bactérienne et moisissures qui favorisent la dégradation des principes actifs, on utilise le séchage en plein air, au soleil ou à l'ombre, le séchage sous abris, sous les hangars des greniers, et le séchage par l'air chaud, qui est le plus utilisé.

Il se fait dans des installations industrielles (séchoirs) sous les conditions bien déterminées de températures, ventilation ...etc (**Wichtl et Anton, 1999; Ghestem, 2001; Lamnaouer, 2008**).

- **Les méthodes de stockages (conservation)**

Pour protéger les drogues contre l'air, l'humidité, la lumière, les moisissures, les insectes, elles doivent être stockées dans des récipients convenables (sacs, caisses, récipients métalliques ... etc.) hermétiques, parfois sous gaz inerte. La durée de conservation du végétal est limitée, il est souhaitable de renouveler le stock chaque année (**Wichtl et Anton, 1999; Ghestem, 2001; Lamnaouer, 2008**).

II.3.5. Facteurs liés au mode de préparation de la drogue végétale

Le mode de préparation de la drogue végétale est un facteur important influençant l'activité des remèdes à base de plante (**Lamnaouer, 2008**).

II.3.6. Facteurs liés à l'individu

L'activité d'un remède dépend également de l'individu, de sa sensibilité de son âge et de son état physiologique (**Lamnaouer, 2008**).

III. L'AZEROLIER

III.1. Description

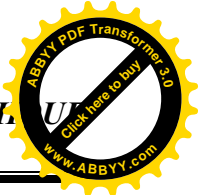
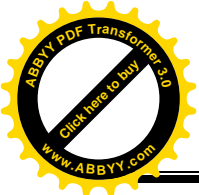
III.1.1. Caractéristiques morphologiques

L'**Azerolier** fait partie du genre **Aubépine** (*Crataegus*) est un genre d'arbres ou arbustes généralement épineux appartenant à la famille des *Rosaceae* et rassemblant toutes les espèces de ce genre. Le mot *Crataegus* dérive du grec *Cratos* qui signifie **force** faisant allusion à la dureté du bois. Certains botanistes estiment le nombre des espèces à 1000, d'autres n'en comptent que quelques centaines, quant au nombre de races et de formes cultivées, il semble illimité. Les espèces de *Crataegus* les plus fréquemment utilisées et étudiées sont : *Crataegus monogyna*, *Crataegus laevigata* (*oxyacantha*), qui font partie de la pharmacopée française et moins fréquemment *Crataegus azarolus*. (Dewit, 1963; Beloued, 1998; Ljubuncic et al, 2005; More et White, 2005; Svedstrom et al, 2006).

L'Azerolier (*Crataegus azarolus* L, épine d'Espagne), de l'espagnol acerola, lui-même emprunté à l'arabe Azzarour est un arbre ou arbrisseau plus ou moins épineux. Il ne dépasse généralement pas les 6 mètres mais peut atteindre les 12 mètres de long à l'âge adulte (Bonnier, 1990; Brosse, 2000).

Il se distingue par (Fig. 09):

- **Le tronc** : qui peut atteindre les 2m de circonférence (Bonnier, 1990).
- **Les branches** : sont étalées et portent des rameaux bruns, pubescents - tomenteux pendant les deux premières années de la vie de l'arbre, devenant glabres par la suite. Sur les rameaux, des épines robustes atteignant et dépassant 1cm de long peuvent y être implantées. On y trouve également des bourgeons ovoïdes, obtus à écailles brunes plus ou moins luisantes, brièvement pubérulentes sur les marges (Maire, 1980).
- **Les feuilles** : sont caduques, alternes, portées sur un pétiole plus ou moins pubescent. Leur limbe d'un vert grisâtre est divisé en 3 à 5 lobes qui sont entiers ou dentés au sommet. La nervation des feuilles est pennée et les stipules sont ovales lancéolées, dentées et largement persistantes (Maire, 1980; Brosse, 2000; Boek, 2008).



- **Les fleurs** : sont blanches, en corymbes et portées sur un pédoncule vilieux. L'inflorescence compte 5-15 fleurs, chacune est constituée de 5 pétales libres insérées sur l'ovaire et de 5 sépales. La fleur est hermaphrodite. Elle comporte 15-20 étamines et 2-3 styles avec des carpelles soudés. Ces fleurs sont pourvues de bractées très caduques. La floraison se fait en avril -mai (**Maire, 1980; Brosse, 2000; Spichinger et al, 2000; Boek, 2008**).
- **Les fruits** : couronnés de calice sont des drupes ou cenelles ovoïdes appelées Azéroles. Ils peuvent atteindre 1cm à 2cm de diamètre. A maturité ses fruits se colorent en jaune, orangé ou en rouge. Ils possèdent 2 à 3 noyaux. Ils sont cueillis en automne (**Maire, 1980; Brosse, 2000; Spichinger et al, 2000; Djerroumi et Nacef, 2004; Boek, 2008**).

III.1.2. Systématique

Règne	: Plantae
Sous règne	: Tracheobionta
Embranchement	: Spermaphytae / Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	: Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous classe	: Rosidae
Ordre	: Rosales
Famille	: Rosaceae
Sous famille	: Maloideae
Genre	: <i>Crataegus</i>
Espèce	: <i>Crataegus azarolus</i> (Koyuncu et al, 2007; Boek, 2008; INPN, 2008).

L'Azerolier compte plusieurs sous espèces. On peut citer:

Crataegus azarolus subsp. *aronia*

Crataegus azarolus subsp. *azarolus*

Crataegus azarolus subsp. *chlorocarpa* Moris

Crataegus azarolus subsp. *pontica* C.Koch (**Christensen, 1992**).

Une des spécialités de *Crataegus* par rapport aux autres Rosaceae est de nécessiter l'avis d'un spécialiste pour pouvoir déterminer avec certitude l'identité de leurs espèces et sous espèces (**Rostand et al, 1980**).

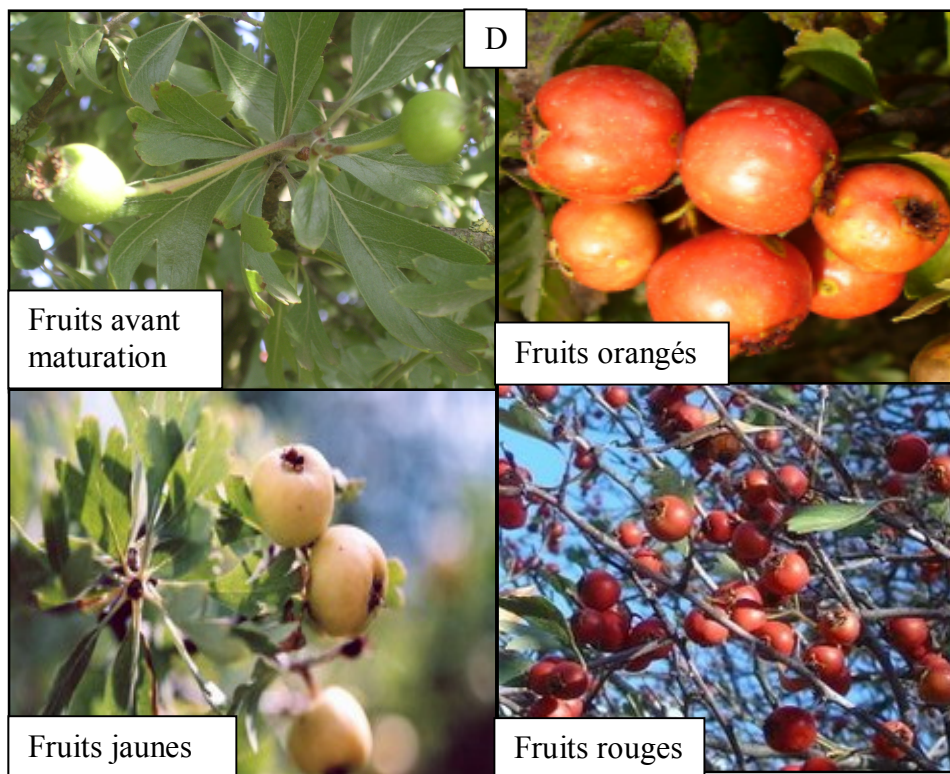
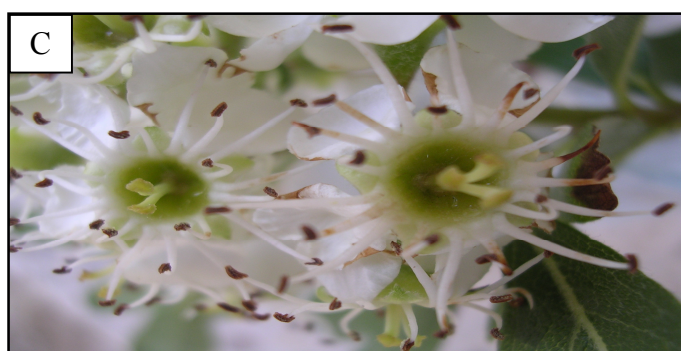
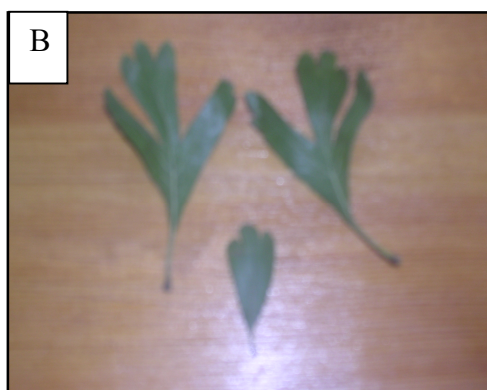


Fig. 09: Différentes parties de l'Azerolier, **A:** Branches, **B:** Feuilles, **C:** Fleurs, **D:** Fruits.

III.1.3. Répartition géographique

L'Azerolier est très répandu au sud de l'Europe (France – Espagne.....etc.), Asie mineur (Jordanie – Liban – Palestine- Turquie– Syrie - Iraqetc.), en Chine, le nord de l'Amérique, l'Afrique du nord (Tunisie- Maroc - tell Algero-Constantinois ...etc) et aussi le Proche Orient comme (L'Egypte) (Quezel et Santa, 1962; Rostand et al, 1980; Brosse, 2000; Djerroumi et Nacef, 2004; Koyuncu et al, 2007; Boek, 2008; Luo, 2008).

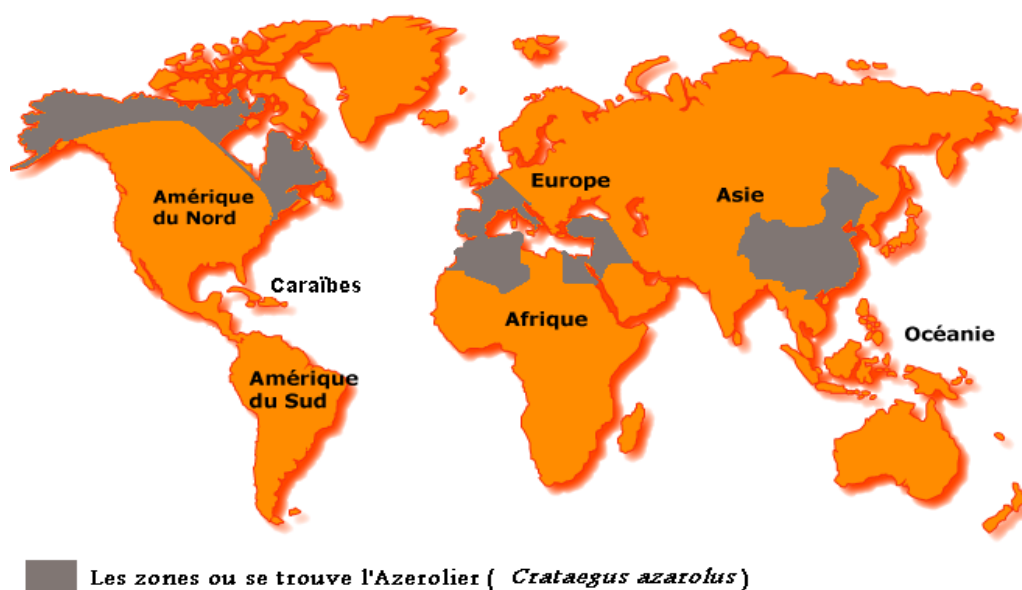
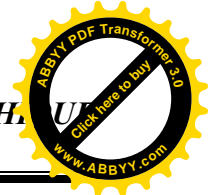
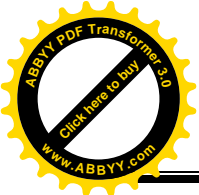


Fig. 10: Répartition géographique de *Crataegus azarolus* (Quezel et Santa, 1962; Rostand et al, 1980).

III.1.4. Culture

L'Azerolier est multiplié soit par semis stratifiés des graines ou par greffage sur une aubépine. Il ne se lève pas sur les montagnes, on le trouve dans les forêts, les broussailles et plaines et dans les régions bien arrosées et semi arides. Il s'accommode à tout type de sol, même très pauvre, sec et rocailleux à condition qu'il ne soit ni excessivement calcaire ni trop argileux. Il apprécie le soleil et ne redoute aucunement le froid (plante rustique) (René-Maire, 1980; Bonnier, 1990; Brosse, 2000).



III.2. Principes actifs

Plusieurs études ont établi que le genre *Crataegus* est riche en flavonoïdes (épicatechines, rutine, vitexine, quercétine...etc) et oligomères de proanthocyanes (Petkov, 1979; Bahorun, et al, 1996; Barnes et al, 2002).

Il contient également :

- Triterpènes
- Tanins
- Saponines
- Coumarines
- vitamine C (fruits)
- Amines (triméthyl amine –uniquement dans les fleurs)
- Huiles essentielles
- Acides phénoliques : acides chlorogénique et acide caféique (Iserin, 2001; Svedstrom et al, 2006; Shenebelen et al, 2006).

III. 3. Utilisation

III.3.1. Partie utilisée

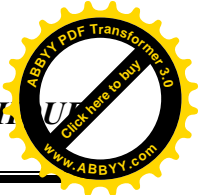
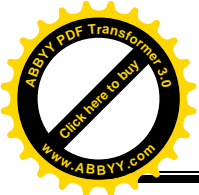
Les fruits, les fleurs, et les feuilles sont considérés comme les parties les plus actives de la plante et donc, sont les plus utilisés. L'écorce peut également être utilisée (Rigelsky et al, 2002; Dellile, 2007).

III.3.2. Utilisation en phytothérapie

La plante est utilisée en infusion, en décoction, en teinture, en sirop ou en poudre (Rajendran et al, 1996; Djerroumi et Nacef, 2004; Dellile, 2007).

Pour les phytothérapeutes, c'est la plante du cœur. Elle est utilisée pour différents problèmes cardiaques, comme les troubles de l'excitabilité cardiaque (tachycardies paroxystiques et extrasystoliques...) et aussi comme cardiotonique en cas d'insuffisance cardiaque légère, comme les formes bénignes d'insuffisance coronarienne ou la fatigue du cœur sénile (Iserin, 2001; Ververis et al, 2004; Shenebelen et al, 2006).

Elle est aussi utilisée :



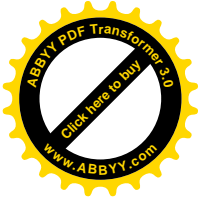
Comme antiangineuse (angine de poitrine), sédative, relaxante, vasodilatatrice, hypotensive, antispasmodique, Diurétique, anti-diarrhéique, anti-lithiasique, hypoglycémiant, astringente, antidiabétique, antipyrétique, anticancéreuse, contre les vertiges et les bourdonnements d'oreilles (acouphènes), contre l'artériosclérose et l'athérosclérose, contre les hémorragies, dans la pleurésie, contre la goutte, comme antioxydant, contre la faiblesse sexuelle en médecine arabe traditionnelle et enfin contre les troubles de la ménopause (**Rajendran et al, 1996; Rigelsky et al, 2002; Said et al, 2002; Iserin, 2001; Ljubuncic et al, 2005**).

III.3.3. Utilisation culinaire

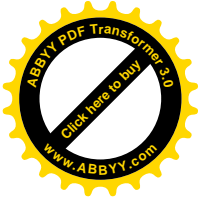
Le fruit de l'azérolier peut être consommé frais ou sous forme de confitures, gelées, marmelades ou sirops (**Brosse, 2000; Koyuncu et al, 2007**).

III.3.4. Autres utilisations

Le bois des aubépines est dur et dense. Il sert donc dans la fabrication de haies, de manches d'outils et de maillets ... etc (**Rosatand et al, 1980; Koyuncu et al, 2007**).



PARTIE EXPERIMENTALE



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel Végétal

Nous avons utilisé une plante consommée par les arabes pour ses vertus antidiabétiques et dont le genre a été étudié comme potentiellement antihypérglycémique au Maroc. Elle est très répandue en Algérie et très consommée par la population locale en raison de ses qualités culinaires et médicinales. Cette plante fait partie de la famille des Rosaceae, est l'Azérolier connu sous le nom scientifique de *Crataegus azarolus* ou Zaarour (Ali- Shtayeh et al, 2000; Saïd et al, 2002; Jouad et al, 2003; Ljubuncic et al, 2005).

I.1.1. Cueillette

Nous avons procédé à la Cueillette des feuilles de la plante au mois de **Juin 2008**. Cette collecte a été faite sur une colline de la banlieue du Chef lieu de la Wilaya d'EL TARF.

I.1.2. Séchage

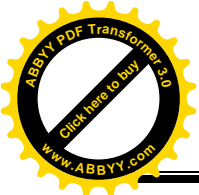
Après les avoir récolté, les feuilles ont été rincées avec de l'eau afin de leur enlever toute trace d'impureté telles que : terre, poussière, souillure, infections fongiques, contaminations animales, résidus d'insecticides. Le séchage s'est fait en plein air et à l'ombre. Cette étape de dessiccation est très importante car elle consiste à abaisser la teneur en eau contenue à l'intérieur de la drogue végétale. Cette teneur doit être suffisamment basse pour que les réactions d'altérations ne puissent plus se produire ou ne puissent se produire que très lentement. La dessiccation inhibe la prolifération des bactéries, des moisissures, ainsi que l'activité de l'ensemble des enzymes, hydrolases, oxydases et polymérase... De ce fait, le caractère organoleptique et l'activité thérapeutique de la drogue ont été préservés au maximum (Wichtl et Anton, 1999; Ghestem, 2001).

I.1.3. Conservation et stockage

Après la dessiccation vient le broyage. Devenues sous forme de poudre, les feuilles ont été conservées dans des récipients hermétiques à l'abri des agents pouvant entraîner leur altération tels que : l'air, l'humidité, la lumière, les champignons et les insectes...etc (Ghestem, 2001).

I.1.4. Etude phytochimique

Nous avons utilisés un ensemble de tests chimiques sur la plante dans le but de déceler la présence ou l'absence de principes actifs végétaux. Ces tests sont décrits comme suit :



- **Les Saponosides**

A 2g de la poudre de plante, on ajoute 80 ml d'eau distillée et on met le mélange à ébullition. Après filtration, on laisse refroidir la solution. Par la suite on agite le filtrat verticalement. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponines (**karumi et al, 2004**).

- **Les Alcaloïdes**

On prend 10 g de la drogue végétale pulvérisée, ensuite on ajoute à cette poudre quelques millilitres de HCL à 1% et on laisse le mélange en macération pendant 30min. Le mélange est filtré. On ajoute le réactif de Mayer au filtrat .L'apparition d'une solution trouble indique la présence d'alcaloïdes (**Dohou et al, 2003**).

- **Les Tanins**

On prend 10g de poudre sèche de plante, on extrait les tanins avec 200ml d'une solution aqueuse de C_2H_5OH à 1%. On filtre et on teste le filtrat avec quelques gouttes d'une solution aqueuse de $FeCl_3$. L'apparition d'une couleur verte indique la présence de tanins (**karumi et al, 2004**).

- **Les Flavonoïdes**

On met 10g de poudre sèche dans 150ml d'une solution d'HCL diluée à 1%. On les laisse macérer pendant 24h. Après filtration, on procède au test suivant : On prend 10ml du filtrat, on le rend basique par l'ajout d'une goutte de NH_4OH . L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube à essai indique la présence de flavonoïdes (**Okumu, 2005**).

- **Stérols et Terpènes**

On Dissout dans 210 ml d'éther de pétrole, 5g de poudre sèche. On filtre, puis on évapore. Le résidu obtenu est dissout dans 0,5ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5ml de $CHCl_3$. Les deux solutions sont transférées dans un tube à essai. On ajoute par la suite, 1ml de H_2SO_4 concentré. Un cercle violet ou marron est formé dans la zone de contact entre les deux liquides. Il devient gris par la suite. Ceci indique la présence de stérols et terpènes (**Dohou et al, 2003**).

- **Mucilages**

A 1 ml de la solution à analyser, on ajoute 5ml d'alcool absolu. L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage (**Adiaratou, 2001**).

I.2. Matériel animal

I.2.1. Présentation

Durant notre expérimentation (mois de mars 2009), nous avons utilisé des rats femelles de type WISTAR ALBINOS (*Rattus norvegicus alvinus*) qui proviennent de l'institut pasteur d'Alger (centre d'élevage de Kouba-Alger). Ces rats pèsent à peu près entre (170-200g).

I.2.2. Conditions d'élevage

Dès leur arrivée, les animaux ont été séparés dans des cages spécialisées ayant un libre accès à l'eau et à la nourriture : alimentation pour ovins et bovins (maïs, sauge, résidus de moulure, des acides aminés, oligoéléments, vitamines, antioxydants, sel, antibiotiques) par manque du régime adéquat des rats (Southon et al, 1984).

La litière tapissant les cages a été changée tous les deux jours et les rats femelles ont été abrités dans les conditions climatiques suivantes : Température et humidité ambiantes (printemps) et une photopériode naturelle (un cycle de 12h jour/nuit).

I.3. Méthodes

I.3.1. Protocole expérimental

Les rats femelles ont été divisés en 6 lots de cinq (*TN*, *TNtd₃*, *TD*, *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂*). Le protocole a été résumé dans la Fig. 17. Pour faire un suivi de chaque rat femelle durant la manipulation, les animaux de tous les lots ont été marqués à l'aide de feutres permanents.

I.3.2. Traitement des animaux

I.3.2.1. Administration de l'alloxane

Dans notre expérience, le diabète a été induit chez les rats femelles par injection intrapéritonéale unique ou répétée (pour induire le diabète chez les rats résistants) d'une dose d'alloxane de 130 mg/kg. La matière à injecter a été préalablement dissoute dans de l'eau physiologique à 0,9%, sachant que les animaux ont été mis une nuit à jeun avant de subir l'injection (Sabu et al, 2002; Carvalho et al, 2003).

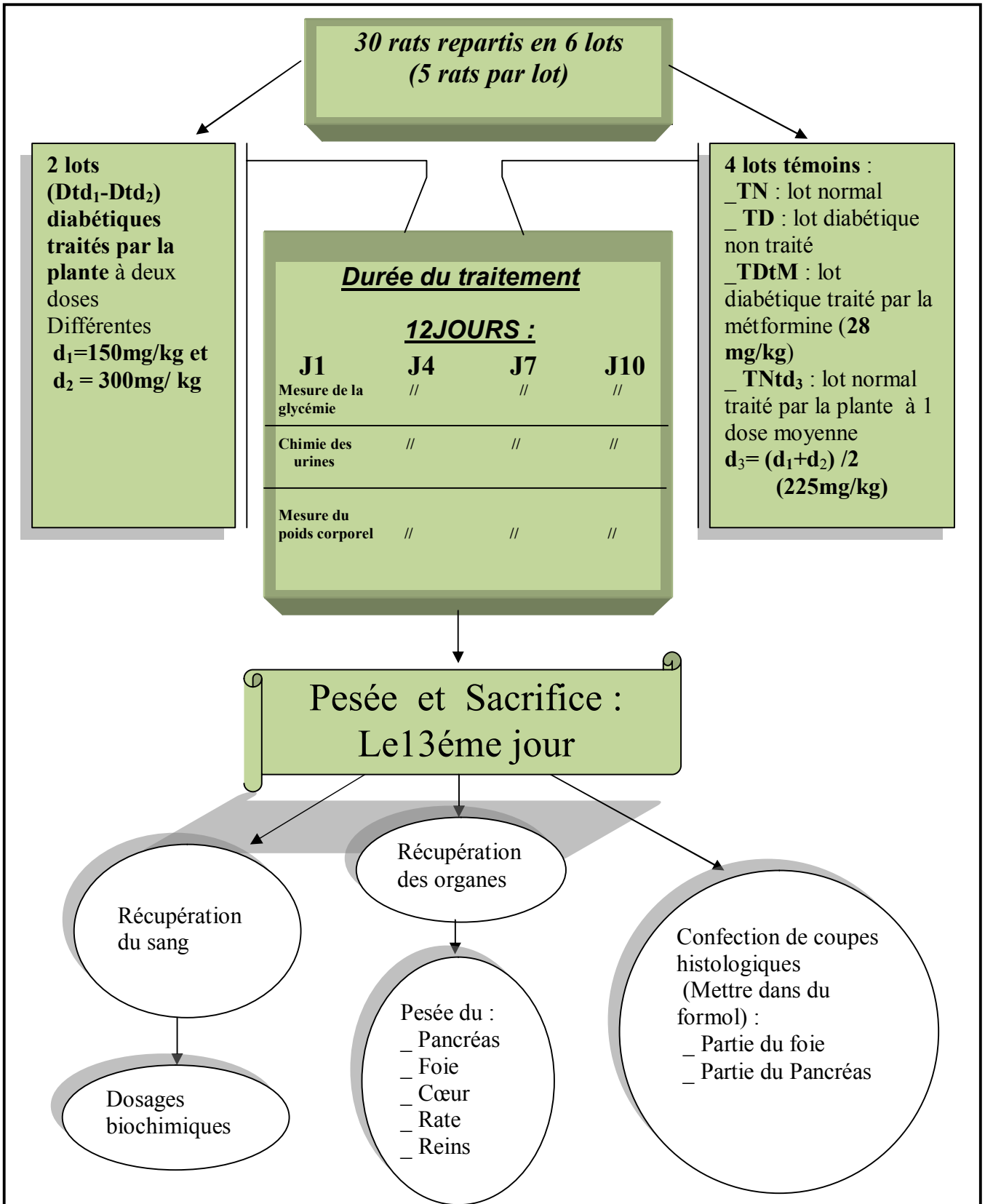


Fig. 17 : Schémas représentatif du protocole expérimental.

1.3.1.2. Administration de la métformine

- **Structure**

Appartenant à la famille des biguanides hypoglycémisants (dérivés de la guanidine) et issue de *Galéa officinalis*, la métformine est l'unique molécule actuellement commercialisée en Algérie. (Schorderet et Col, 1989; Sirois, 2006).

Elle se présente sous la structure chimique développée suivante :

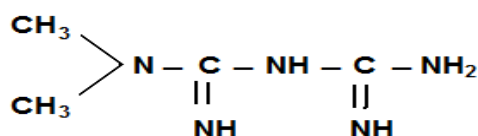


Fig. 18 : Structure de la métformine (Schorderet et Col, 1989).

Chaque jour, durant la période de manipulation, le lot *TDtM* est traité par une dose de **28mg/kg** de métformine. Le médicament est administré deux fois par jour, par voie orale (*per os*) (Andrad-Cetto et al, 2005).

1.3.2.3. Préparation et administration de la plante

La plante a été préparée par infusion selon le protocole suivant :

On prend 5 g de la poudre de plante. On la dissout dans 100ml d'eau distillée bouillie. On laisse le mélange reposer pendant 10 min. On Centrifuge le mélange au lieu de le filtrer (absence de filtres spécialisés). Du surnageant, on récolte les volumes correspondant aux concentrations choisies : d_1 (**150 mg/kg**) et d_2 (**300mg/kg**) (Jouad, 2003; Dellile, 2007).

Durant la période de manipulation, les deux lots Dtd_1 et Dtd_2 sont traités deux fois par jour, respectivement par les deux doses : d_1 et d_2 de la plante. Comme pour le médicament, c'est la voie orale qui est utilisée.

1.3.3. Détermination des poids corporels

Les poids des rats femelles ont été mesurés à des moments fixes tous les trois jours, du jour J1 (début de la manipulation) jusqu'au 13^{ème} jour (décapitation des rats). Au total cinq mesures de poids ont été effectuées.

I.3.4. Détermination de la glycémie

Pendant la période de manipulation (de **J1** à **J12**), **4** glycémies ont été mesurées. La première a été effectuée dans le but de vérifier l'installation du diabète chez les lots traités par l'alloxane en prenant comme référence de glycémie normale : la glycémie du lot *TN* et *TN_{d3}* (avant le début du traitement). Elle a été mesurée à jeun, 72 h après l'administration du produit diabétogène (**Sabu et al, 2002**). Si pendant cette période, le test est positif (installation de la maladie), on commencera alors la manipulation le même jour (temps $t=0$ de la manipulation) ; sinon on réinjecte l'alloxane jusqu'à installation du diabète. Après cette mesure de la glycémie, trois autres ont été mesurées tous les 3 jours et à des horaires fixes à l'aide de glucomètre à bandelettes **ACCU-CHEK Active**.

Le sang est prélevé à partir de la veine caudale des rats femelles et cela en effectuant une petite incision dans la partie distale de la queue (**BVA, FRAME, BSPCA, UFAW, 1993**). Après chaque opération établie, la queue de l'animal doit être désinfectée à l'aide de coton imbibé de Bétadine.

La cinquième mesure de la glycémie a été effectuée le 13^{ème} jour par dosage colorimétrique et cela après sacrifice des animaux.

I.3.5. Détermination de la chimie des urines

La chimie des urines a été effectuée chaque jour à jeun au moment de la mesure de la glycémie. Au total quatre analyses de l'urine ont été effectuées à l'aide de bandelettes **COMBI-SCREEN** avec les paramètres suivants : Le sang, l'acétone, le glucose et les protéines.

I.3.6. Sacrifice et préparation des prélèvements

I.3.6.1. Sacrifice et prélèvement sanguin

Le matin et à la même heure choisie pour mesurer la glycémie par bandelettes **ACCU-CHEK**, tous les rats femelles de tous les lots ont été décapités à l'aide de lames bistouri stériles. Après chaque décapitation, le sang est prélevé dans des tubes héparinés et tout de suite centrifugé à 5000 tours/min pendant 25 min. Le plasma récolté a été ensuite séparé dans des tubes Eppendorf et conservé à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour doser les paramètres biochimiques.

I.3.6.2. Dissection et prélèvement des organes

Après décapitation, on procède à une dissection des rats femelles dans le but de prélever certains organes : Le foie, le pancréas, les reins, la rate et le cœur. Ces organes sont d'abord débarrassés de tout ce qui est graisse, rincés au NaCl à 0,9% et pesés. Le pancréas et une partie du foie ont été mis dans du formol à 30% (fixation) dans le but d'effectuer des coupes histologiques.

1.3.6.3. Confection des coupes histologiques

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital d'Ibn Rochd d'Annaba, service d'anatomopathologie par la méthode d'hématoxyline selon les étapes suivantes :

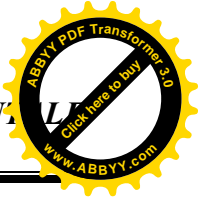
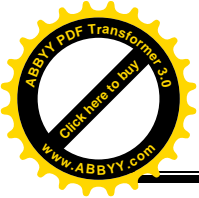
- Les organes sont retirés du formol et sont coupés en couches minces (1 à 2 Cm² de surface et de 1,5 mm d'épaisseur) à l'aide d'un couteau tranchant.
- Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales avec des parois permettant le passage des liquides.
- **Déshydratation** : Afin d'enlever l'eau des tissus, les prélèvements sont mis 12 h dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (70%, 80%, 90%, 100%).
- **Réalisation des blocs (inclusion)**: Les tissus sont plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur) c'est l'inclusion. Ces tissus imbibés de paraffine sont alors mis dans un moule de paraffine fondue (Barre de Leuckard) qui se solidifie en blocs en se refroidissant (enrobage).
- **Réalisation des coupes** : De ces blocs, sont réalisés des coupes fines de quelques micromètres de diamètre (5µm en moyenne) et cela grâce à un appareil spécial qui est le microtome. Les coupes sont alors mises sur des lames porte-objet. Ces dernières sont posées sur une plaque chauffante qui permettra l'étalement de ces rubans de coupes et leur fixation sur la lame.
- **La coloration** : On baigne les coupes dans deux colorants: l'hématoxyline et l'éosine. Le premier colorant étant basique, colore les structures acides de la cellule en bleu violacé (exp : ribosomes, noyau). Le deuxième colorant est acide et donc colore les structures basiques de la cellule (exp : la plupart des protéines cytoplasmiques et donc le cytoplasme) en rouge ou en rose. Après cette coloration, on déshydrate les tissus dans des bains d'alcool et on les monte par la suite sur des lames à l'aide du baume de Canada ou à l'aide de l'eukitt.
- **Observation au microscope** : On utilise le microscope photonique équipé d'un appareil photographique (Houlot, 1984; Wheater et al, 2001).

1.3.7. Dosage des paramètres plasmatiques

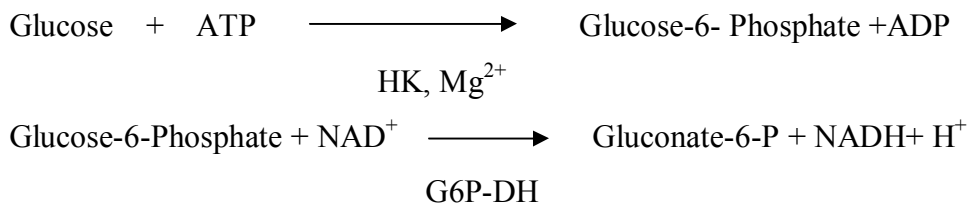
Tous les paramètres plasmatiques ont été dosés grâce à l'automate OLYMPUS AU 400 à l'exception de l'insuline. Celle-ci a été dosée à l'aide d'un autre automate type AXsym (Abbott).

1.3.7.1. Glucose

Le glucose est phosphorylé par l'action de l'hexokinase (HK) en présence d'adénosine triphosphate (ATP) et d'ions Mg²⁺ pour produire du glucose6-phosphate et de l'adénosine diphosphate

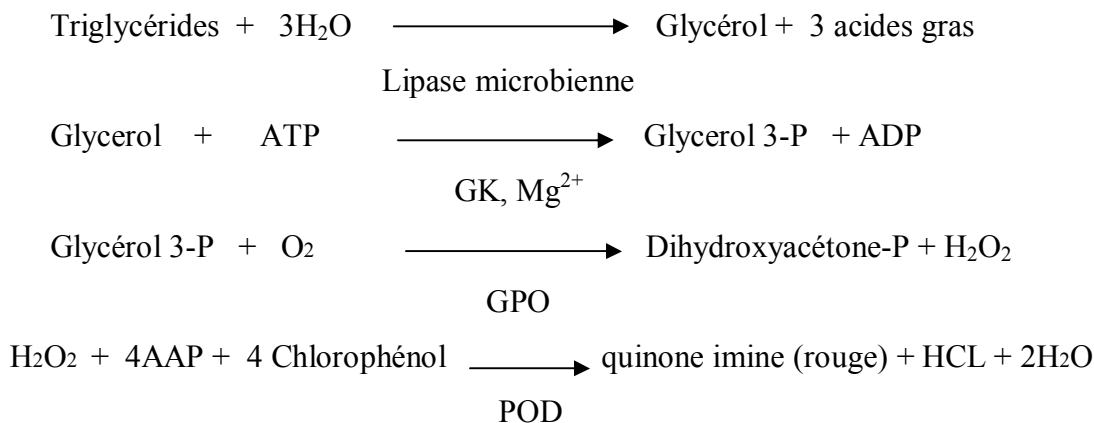


(ADP). Le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) oxyde le glucose-6-phosphate de façon spécifique pour produire du gluconate-6-phosphate. Le NAD^+ est simultanément réduit en NADH. L'augmentation de l'absorbance à 340nm est proportionnelle à la concentration en glucose de l'échantillon (**Teuscher et Richterich, 1971; Barham et Trinder, 1972**).



1.3.7.2. Triglycérides

La méthode du dosage est basée sur une série de réactions enzymatiques couplées :

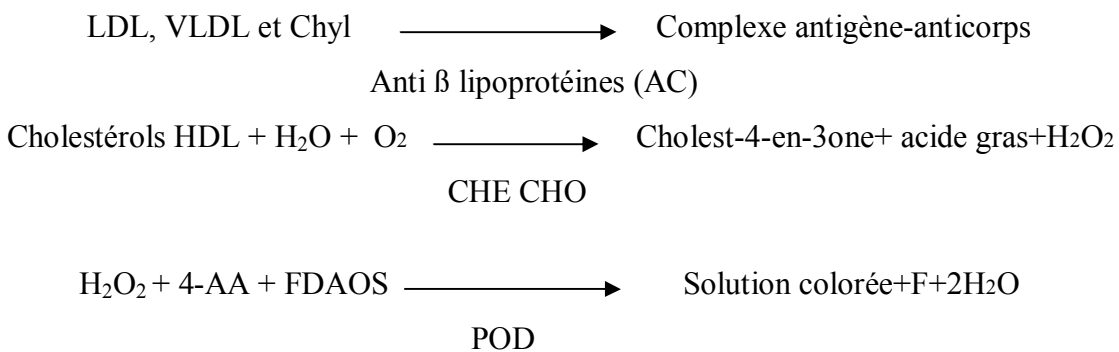
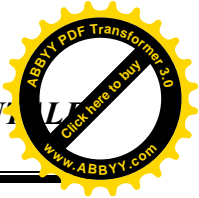
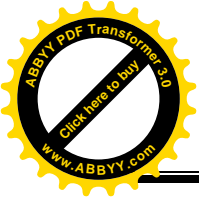


L'absorbance du complexe coloré (quinoneimine) est maximale à 500nm. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle au contenu en triglycérides de l'échantillon (**Jacobs et Van-Denmark, 1960; Kodistchek et Umbreit, 1969; Trinder, 1969**).

1.3.7.3. Lipoprotéines : HDL et LDL

- **Principe du dosage du HDL**

Un anticorps anti β lipoprotéines se lie aux lipoprotéines autres que l'HDL (LDL, VLDL, Chyl.). Les complexes antigènes-anticorps formés ne peuvent donc plus réagir avec les enzymes suivantes : CHE, CHO, POD, tandis que le cholestérol HDL subit les réactions enzymatiques suivantes :



Le HDL Cholestérol est quantifié par un système chromogène enzymatique (**Riesen, 1998**).

- **Principe du dosage du LDL**

Le LDL est protégé par un agent protecteur contre les réactions enzymatiques (CHE et CHO). Les enzymes CHO et CHE réduisent alors toutes les lipoprotéines non LDL de l'échantillon (HDL, VLDL, Chyl) produisant du peroxyde d'hydrogène qui va être décomposé par une catalase. UN agent déprotecteur va être par la suite rajouté. Le LDL va donc se libérer. La catalase quant à elle va être désactivée par l'ajout du NaN_3 (L'azide de sodium). Après cette étape, la CHO et la CHE vont réagir avec le LDL. Le H_2O_2 produit lors de ces réactions enzymatiques avec le LDL, formera alors un complexe coloré bleu par condensation oxydative avec le HDAOS et 4-AA en présence de la POD.

La concentration du LDL Cholestérol est mesurée, en mesurant l'absorbance du complexe coloré comparée avec l'absorbance du calibrateur du paramètre (**Rifai et al, 1999**).

1.3.7.4. Cholestérol Total

- **Principe**

La méthode utilisée pour mesurer le taux de cholestérol dans un échantillon est une méthode enzymatique. Au cours de la procédure, les esters de cholestérol de l'échantillon sont hydrolysés par la CHE. Le cholestérol libre produit, est oxydé par la CHO pour former du Cholestène-3-One, avec production simultanée de H_2O_2 qui s'allie par oxydation avec la 4-AA et le phénol en présence de la POD et produit un groupement chromophore (la quinonéimine) dont l'augmentation de l'absorbance à 540/600 nm peut être mesurée par spectrophotométrie (**Allain et al, 1974**).

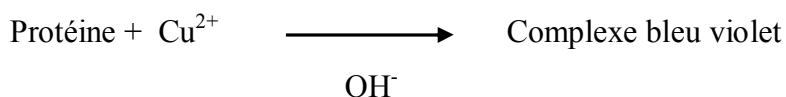
1.3.7.5. Lipides totaux

Les lipides totaux ont été calculés par la formule suivante :

Lipides totaux= Cholestérol total (2.5) + Triglycérides (**Metais, 1999**).

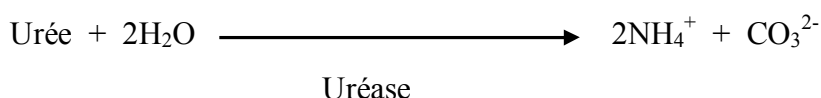
I.3.7.6. Protéines totales

Les ions cuivriques en solution réagissent avec les protéines et les polypeptides comprenant un minimum de deux liaisons peptidiques, pour former un complexe de couleur violette. L'absorbance du complexe à 540 /660nm est directement proportionnelle à la concentration en protéines de l'échantillon (Weichselbaum, 1946).



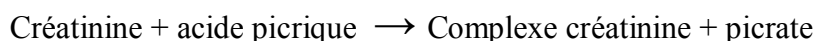
I.3.7.7. Urée

L'urée est hydrolysée en présence d'H₂O et d'uréase. Cette réaction produit de l'ammoniaque et du dioxyde de carbone. L'ammoniaque produit, se lie au 2-oxoglutarate et au NADH en présence de la GLDH pour former du glutamate et du NAD⁺. La baisse de l'absorbance du NADH par unité de temps est proportionnelle à la concentration en Urée (Thomas, 1998).



I.3.7.8. Créatinine

Dans un milieu alcalin, la créatinine forme avec l'acide picrique un composé de couleur jaune orangé. L'importance de l'absorbance à 520 /800 nm est proportionnelle à la concentration en créatinine de l'échantillon (Newman et Price, 1999).

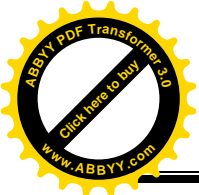


I.3.8. Activité de l'ALAT (TGP)

Cette méthode est basée sur les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC).

L'ALAT transfère le groupement aminé de l'alanine sur le 2-oxoglutarate pour former du pyruvate et du glutamate. L'ajout de la phosphatase de pyridoxal au mélange de réaction, confère à l'ALAT un niveau max d'activité catalytique. La réaction entre le pyruvate et le NADH est catalysée par la LDH pour former du lactate et du NAD⁺.

La baisse d'absorbance due à la consommation en NADH est mesurée à 340nm et est directement proportionnelle à l'activité de l'enzyme dans l'échantillon (Thomas, 1998).

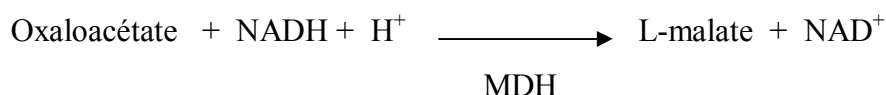


I.3.9. Activité de l'ASAT(TGO)

C'est une méthode basée sur les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC).

Dans cette méthode, l'ASAT catalyse la transamination de l'aspartate et du 2-oxoglutarate pour former du L-glutamate et de l'oxaloacétate. L'ajout de phosphate de pyridoxal au mélange de réaction, confère à l'ASAT un niveau maximum d'activité catalytique. L'oxaloacétate est réduit en L-malate par la MDH.

Le NADH est simultanément converti en NAD⁺. La baisse d'absorbance due à la consommation du NADH est mesurée à 340nm et est directement proportionnelle à l'activité de l'ASAT dans l'échantillon (Thomas, 1998).



I.3.10. Insuline

Pour des raisons matérielles, l'insuline n'a été dosée que pour un échantillon représentatif de chaque lot.

Le dosage de l'insuline a été fait par la méthode AxSYM qui est basée sur la technologie immuno-enzymologique microparticulaire (MEIA). L'insuline trouvée dans l'échantillon est mise en contact avec des microparticules recouvertes d'anticorps anti-insuline. Ces microparticules se lient irréversiblement à la matrice de l'appareil. Un lavage est réalisé afin d'enlever l'anticorps non lié. Sur la matrice est distribué le conjugué d'anticorps anti-insuline ; une Phosphatase alcaline qui va se lier au complexe anticorps-antigène (anticorps-insuline). Un autre lavage est fait pour éliminer l'enzyme non liée. Le substrat de la phosphatase : méthyl-4-ombélliféryl est ajouté sur la matrice et le taux de

formation du produit fluorescent est mesuré par un système optique de l'appareil (système MEIA) (Travis, 1980).

I.3.11. Analyse statistiques des résultats

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Ils sont analysés par ANOVA suivi du test de TUKEY et DUNETT, pour la comparaison des moyennes. On considère que la différence est statistiquement significative avec $p \leq 0,05$.

II. Résultats

II.1. Etude phytochimique

Les tests chimiques effectués sur la poudre de plante ont démontré la **présence** de saponosides, de tanins, de flavonoïdes, de stérols et terpènes, de mucilage et une **absence** d'alcaloïdes. Les tests positifs sont représentés par les figures (Fig. 19, Fig. 20, Fig. 21, Fig. 22 et Fig. 23).

II.2. Étude de paramètres avant sacrifice

II.2.1. Détermination des poids corporels

Les résultats des gains de poids corporels sont représentés par le **Tableau 04** et la **Fig. 24**. Ils montrent que:

Durant la période de J1 à J13, les lots sains *TNtd₃* et *TN* présentent un gain des poids corporels, cependant le gain de poids des rats du lot *TNtd₃* est inférieur à celui du lot *TN*. Il reste toutefois que cette différence est non significative.

Le lot *TD* présente une nette diminution des poids corporels par rapport au lot *TN*. Cette baisse est **très hautement significative** à partir du J7 et persiste jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Le lot *TDtM* montre une baisse des poids corporels des rats femelles par rapport au lot sain *TN*. Cette baisse est **significative** au 7^{ème} jour et **hautement significative** à J10. Par contre à J13, nous avons observé avec intérêt que ce lot présente un gain de poids corporel **très hautement significatif** comparé au lot *TD*.

Comparé au lot *TN*, le lot *Dtd₁* présente une baisse régulière **hautement significative** des poids corporels à J4 et J7. Par rapport au lot *TD*, ce lot gagne du poids à J10 et J13. Ce gain est **hautement significatif** à J10 et **très hautement significatif** à J13. Ce lot présente également un gain corporel supérieur au lot *TDtM* (statistiquement non significatif).

Pendant la période de J1 à J4, le lot *Dtd₂* présente une perte statistiquement non significative du poids corporel en comparaison au lot *TN*. De J7 à J13, ce lot regagne du poids en comparaison au lot diabétique non traité avec une différence statistiquement **significative** à J7 et **très hautement significatif** pour les jours qui suivent. A J10 et J13, le lot *Dtd₂* présente une augmentation des poids corporels plus importante que celle du lot *TDtM*. Cette dernière est **hautement significative** à J10 et **très hautement significatif** à J13.

Au regard de l'évolution globale des poids mesurés, et à titre comparatif, il en ressort une augmentation du poids du lot *Dtd₂* supérieure au lot normal *TN*. De même, les gains des poids des lots traités par la plante sont supérieurs à ceux traités par le médicament antidiabétique.

II.2.2. Détermination de la glycémie

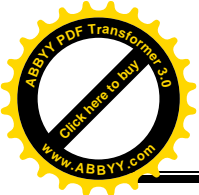
Le **Tableau 05** et la **Fig.25** montrent les résultats des mesures de la glycémie.

Les glycémies des lots sains *TNtd3* et *TN* sont quasi similaires et constantes (légère différence, statistiquement non significative).

On note, une augmentation **très hautement significative** de la glycémie du lot *TD* par rapport à la glycémie du lot *TN*. Cette augmentation est importante et constante jusqu'au dernier jour de l'expérimentation.

Au début de l'expérimentation (J1) les trois lots diabétiques traités, présentent une glycémie élevée comparés au lot normal. Cette différence est **très hautement significative** pour les lots *TDtM* et *Dtd₂* et **hautement significatif** pour le lot *Dtd₁*. De J4 à J10, on observe que ces lots ont une glycémie qui décroît progressivement comparés au lot *TD* ; cependant elle reste supérieure à celle du lot *TN* (différence statistiquement non significative).

Si on compare les lots traités par le médicament et l'extrait on constate que le lot *Dtd₁* présente une chute importante de la glycémie, après un temps court, dès le quatrième jour qui devient légère à J7



et J10 ; alors que chez les lots $TDtM$ et Dtd_2 cette baisse est progressive du début jusqu'à la fin de l'expérience et reste inférieur à celle du lot Dtd_1 (différence statistiquement non significative).

II.2.3. Chimie des urines

Le **Tableau 06** montre les résultats de l'étude de la chimie des urines.

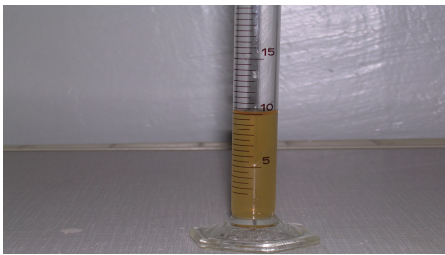
On constate la présence non négligeable de sang dans les urines et ce, uniquement dans le lot TD . Cette hématurie microscopique est apparue durant la période allant de J7 et J10.

Pour les corps cétoniques on note l'absence de ces composés dans les urines de tous les lots, pendant toute la durée de notre étude.

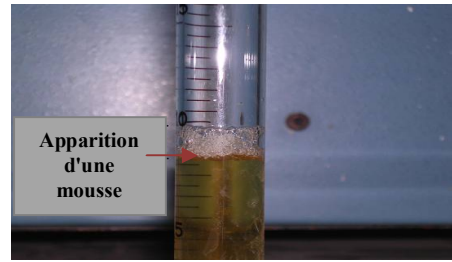
En ce qui concerne la Glycosurie, on remarque la présence de glucose urinaire dans le lot TD contrairement au lot TN . Cette présence s'observe tout au long de l'expérimentation, à J1, J4, J7 et J10.

En comparant l'effet de la médication chimique à celui des deux doses de l'extrait de *Crataegus* administrées, il apparaît que la dose d_1 de la plante soit plus efficace dans le temps. En effet elle entraîne une régression du taux de glucose urinaire dès J4. Les autres traitements en l'occurrence la métformine et la seconde dose de la plante d_2 n'ont produit une réduction du taux de glucose urinaire qu'à partir de J7.

Alors que les protéines sont absentes dans les urines des lots $TNtd_3$ et TN . Elles apparaissent à l'état de traces chez lot TD et ce de J1 à J7, et se transformant en protéinurie franche à partir de J10. On remarque également la présence de traces de protéines urinaires aux premiers jours de la manipulation dans les trois lots traités $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 . Ces traces vont ensuite disparaître d'abord du lot Dtd_1 puis plus tardivement chez les autres lots.

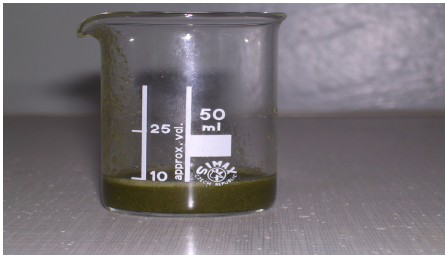


Avant

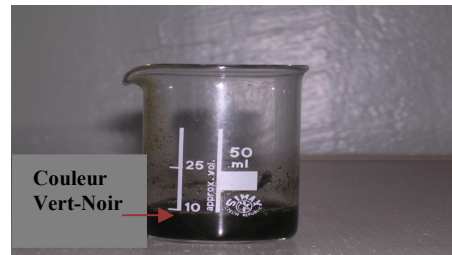


Après

Fig. 19 : Mise en évidence des saponosides.

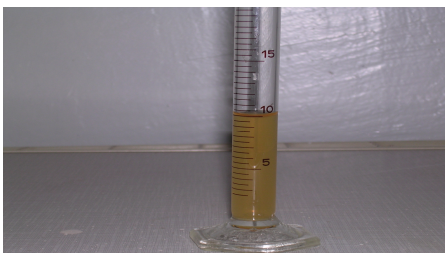


Avant

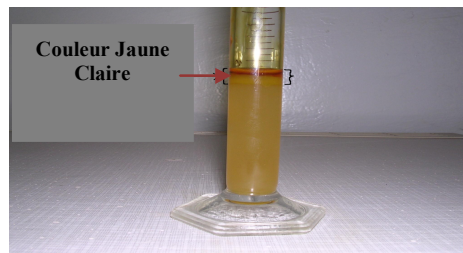


Après

Fig. 20 : Mise en évidence des tanins.



Avant

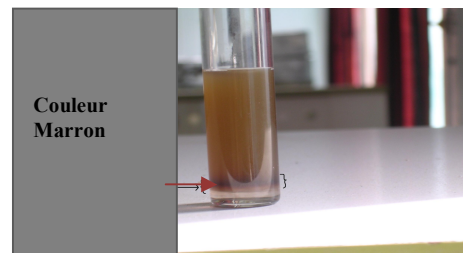


Après

Fig. 21 : Mise en évidence des flavonoïdes.

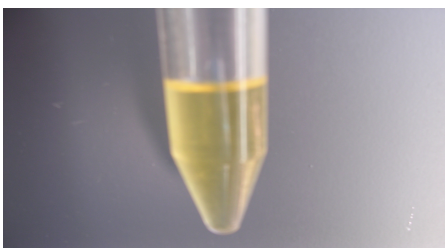


Avant

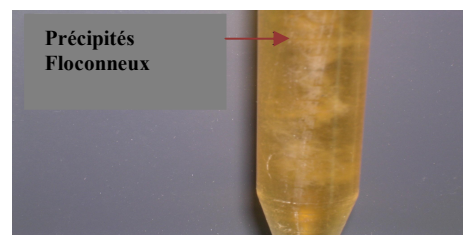


Après

Fig. 22 : Mise en évidence des terpènes et stérols



Avant



Après

Fig. 23 : Mise en évidence des mucilages

Tableau 04 : Évolution des poids corporels des différents lots pendant la période de manipulation.

Lots	Gain de poids entre [J1-J4] (g)	Gain de poids entre [J1-J7] (g)	Gain de poids entre [J1-J10] (g)	Gain de poids entre [J1-J13] (g)
	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type
TN	2,21 ± 0,21	6,61 ± 3,77	8,76 ± 0,2	11,89 ± 2,23
TNtd3	0,37 ± 0,28	1,84 ± 0,73	2,33 ± 0,89	4,15 ± 0,94
TD	- 5,64 ± 1,4	^{aaa} - 20,57 ± 7,53	^{aaa} - 39,52 ± 10,20	^{aaa} - 54,38 ± 10,27
TDtM	- 7,32 ± 2,73	^a - 8,99 ± 2,72	^{aa} - 22,1 ± 10,4	^{aa,bbb} - 14,92 ± 5,41
Dtd1	^{aa} - 13,32 ± 3,8	^{aa} - 13,09 ± 4,58	^{bb} - 6,08 ± 0,93	^{bbb} - 0,55 ± 0,17
Dtd2	- 1,6 ± 0,1	^b - 4,32 ± 0,37	^{bbb, cc} 7,93 ± 1,60	^{bbb,ccc} 13,99 ± 2,66

^a $p \leq 0,05$ vs TN, ^{aa} $p \leq 0,01$, ^{aaa} $p \leq 0,001$; ^b $p \leq 0,05$ vs TD, ^{bb} $p \leq 0,01$, ^{bbb} $p \leq 0,001$

^c $p \leq 0,05$ vs TDtM, ^{cc} $p \leq 0,01$, ^{ccc} $p \leq 0,001$; ^d $p \leq 0,05$ vs Dtd1, ^{dd} $p \leq 0,01$, ^{ddd} $p \leq 0,001$

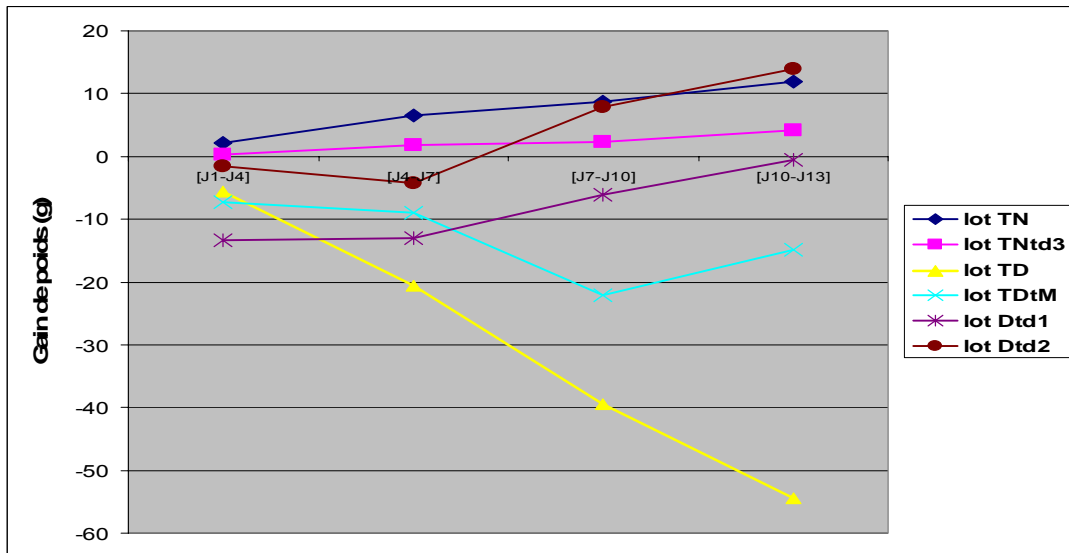


Fig. 24 : Evolution des poids corporels des différents lots de rats femelles pendant la période de manipulation.

Tableau 05 : La glycémie à jeun, avant sacrifice (J1 à J10), des différents lots de rats femelles

Lots	Glycémie (g/l) du J1	Glycémie (g/l) du J4	Glycémie (g/l) du J7	Glycémie (g/l) du J10
	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type
TN	0,86 ± 0,12	0,83 ± 0,07	0,93 ± 0,05	1,04 ± 0,09
TNtd3	0,83 ± 0,10	0,97 ± 0,07	0,93 ± 0,07	1,07 ± 0,08
TD	^{aaa} 4,78 ± 1,09	^{aaa} 4,74 ± 1,04	^{aaa} 4,87 ± 1,09	^{aaa} 5,77 ± 0,36
TDtM	^{aaa} 4,11 ± 1,37	^a 3,18 ± 1,09	^{bb} 2,374 ± 0,55	^{bbb} 2,08 ± 0,39
Dtd1	^{aa} 3,47 ± 1,60	^{bb} 1,81 ± 0,60	^{bbb} 1,56 ± 0,23	^{bbb} 1,61 ± 0,76
Dtd2	^{aaa} 4,40 ± 1,31	^{aa} 3,63 ± 1,32	^a 2,99 ± 0,96	^{bbb} 2,33 ± 0,79

^a $p \leq 0,05$ vs TN, ^{aa} $p \leq 0,01$, ^{aaa} $p \leq 0,001$; ^b $p \leq 0,05$ vs TD, ^{bb} $p \leq 0,01$, ^{bbb} $p \leq 0,001$

^c $p \leq 0,05$ vs TDtM, ^{cc} $p \leq 0,01$, ^{ccc} $p \leq 0,001$; ^d $p \leq 0,05$ vs Dtd1, ^{dd} $p \leq 0,01$, ^{ddd} $p \leq 0,001$

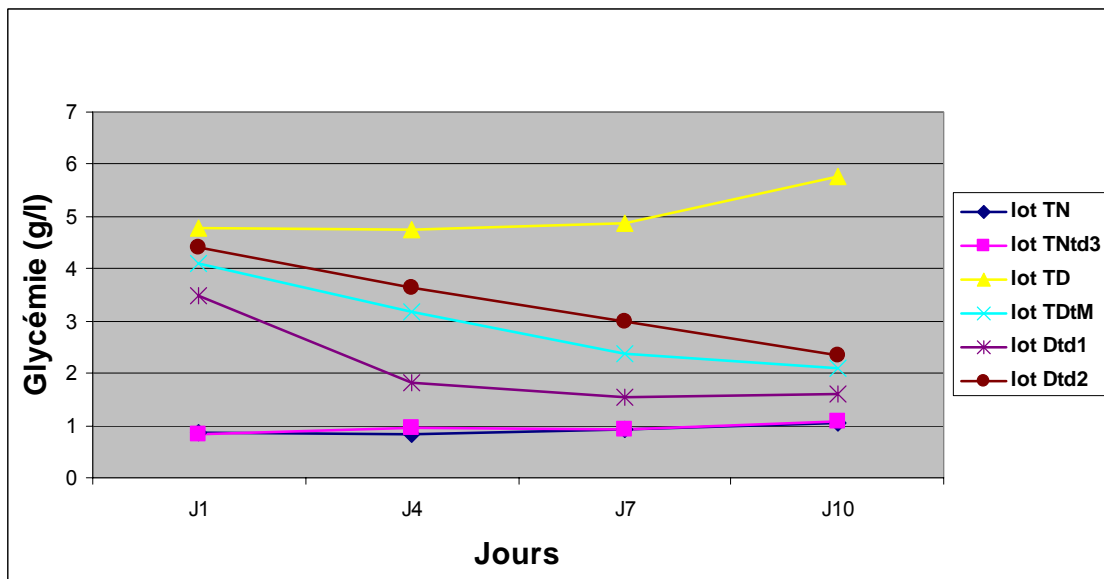


Fig. 25: Evolution de la glycémie à jeun, avant sacrifice des différents lots de rats femelles.

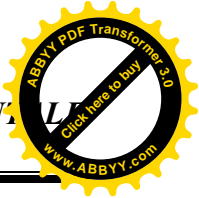
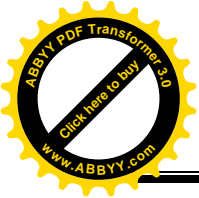


Tableau 06 : La chimie des urines des différents lots de rats femelles.

Lots	Rat N°	Chimie des urines															
		Sang				Cétone				Glucose				Protéine			
		J1	J4	J7	J10	J1	J4	J7	J10	J1	J4	J7	J10	J1	J4	J7	J10
Lot TN	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-	-
	3	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	+/-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Lot TNtd ₃	6	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-	-	-
	7	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-
	9	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-
Lot TD	11	+	+	+	+	-	-	-	-	++++	+++	++++	++++	+	+	+	++
	12	+ /++	++	++	++	+/-	+/-	-	-	+++	++++	+++	++++	+	+	+	++
	13	-	-	+	+	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	+	+	+	++
	14	-	-	+	+	-	-	+/-	-	++++	++++	++++	++++	+	+	+	++
	15	+	+	+	++	-	-	-	-	++++	++++	+++	++++	+	+	++	++
Lot TDtM	16	+/-	-	-	-	-	-	-	-	++++	++++	++++	-	+	+	-	-
	17	+	+	-	-	-	-	-	-	++++	+++	++/+++	-	+	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	++/+++	+	+	-	-
	19	+	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	++++	+++	++/+++	-	+	+	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++/+	+	+	+	-	-	-
Lot Dtd ₁	21	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	++	-	+	+	+	-	-	-
	22	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	+	+	-	-	-
	23	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	+	-	-	-
	24	+	-	-	-	-	-	-	-	++++	+ /++	-	+	+	-	-	-
	25	+	-	-	-	-	-	-	-	++++	++++	+++	++/+++	+	-	-	-
Lot Dtd ₂	26	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	++/+	++/+	-	+/-	-	-	-
	27	-	-	-	-	-	-	-	-	++++	++++	+++ /++	-	+	-	-	-
	28	-	-	-	-	+/-	-	-	-	+++	-	-	-	+	-	-	-
	29	+	+	-	-	-	-	-	-	++++	++++	-	++++	+	+	+	-
	30	+	-	-	-	+/-	-	-	-	++++	++++	++++	+++	+	+	-	-

/ : Ou, - : Absence, + : Trace, ++ : Présence, +++ : Présence importante, ++++ : Présence très importante

II.3. Etude de certains paramètres après sacrifice

II.3.1. Poids relatifs des organes

Cinq organes ont été prélevés et pesés : Pancréas, foie, cœur, rate et reins. Les résultats sont représentés sur le **Tableau 07** et la **Fig. 26**

- **Pancréas**

Dans les deux lots non diabétiques TN et $TNtd_3$, les pancréas présentent sensiblement les mêmes poids relatifs, seule une légère différence statistiquement non significative est observée.

Les lots diabétiques TD et $TDtM$ ont un même poids relatif de pancréas (différence non significative). Ces deux lots montrent tout de même une augmentation non significative de ces poids relatifs en comparaison au lot normal TN .

Pour ceux des deux lots Dtd_1 et Dtd_2 ; ils sont sensiblement similaires (différence statistique non significative), alors qu'ils sont bas par rapport aux poids relatifs des pancréas des lots : TD et $TDtM$. Cette baisse restant statistiquement non significative.

Les poids relatifs des pancréas des lots : Dtd_1 et Dtd_2 présentent une différence non significative avec le lot TN .

- **Foie**

On n'observe aucun changement chez les cinq lots: $TNtd_3$, TD , $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 . Ils ont sensiblement les mêmes poids relatifs du foie que le lot TN (différence statistique non significative).

- **Cœur**

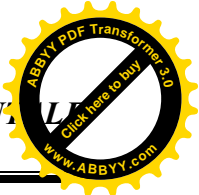
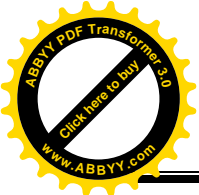
Les Résultats indiquent que tous les lots: $TNtd_3$, TD , $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 présentent un poids relatif du cœur sensiblement similaire à celui du lot TN (différence statistiquement non significative).

- **Rate**

Les résultats montrent :

Que les poids relatif de la rate des deux lots TN et $TNtd_3$ ne présente aucune différence statistiquement significative.

Une baisse **hautement significative** du poids relatif de la rate du lot TD par rapport à celui du lot TN .



Une augmentation du poids relatif de la rate des trois lots : $TDtM$, Dtd_1 , Dtd_2 par rapport au lot TD . Cette augmentation est **hautement significative** pour les deux premiers lots et **seulement significative** pour le dernier lot.

Les deux lots $TDtM$ et Dtd_1 présentent un poids relatif de la rate sensiblement égal au poids relatif de la rate du lot TN (différence statistiquement non significative).

- **Reins**

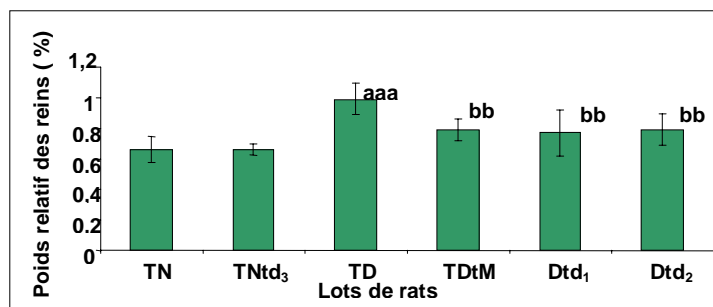
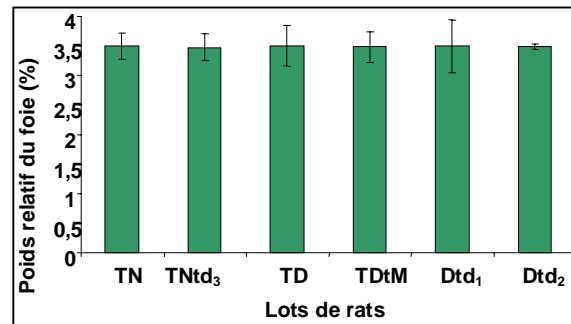
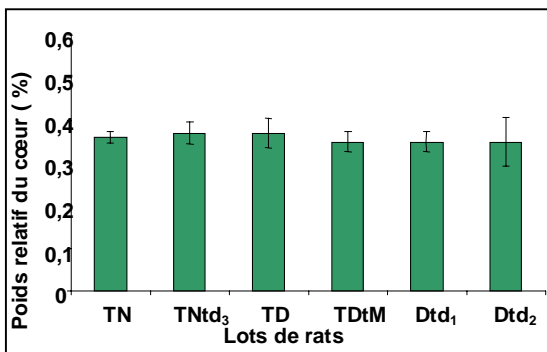
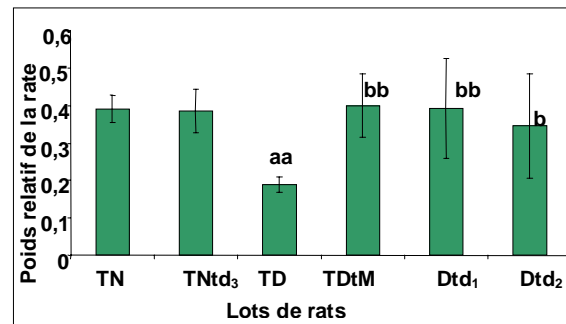
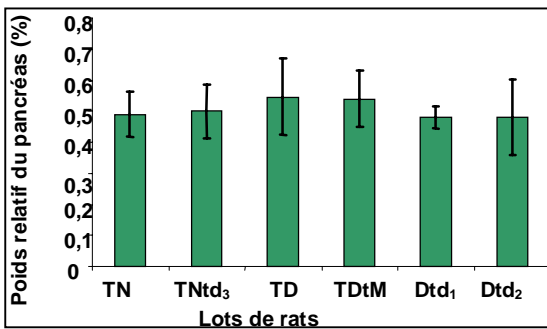
Des résultats obtenus, on note une similarité entre le poids relatif des reins des deux lots $TNtd_3$ et TN (différence statistiquement non significative)

On note également une augmentation **très hautement significative** du poids relatif des reins du lot TD par rapport à celui du lot TN .

Les trois lots traités : $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 présentent une baisse **hautement significative** du poids par rapport à TD . Cette baisse est proche de la normale.

Tableau 07: Poids relatifs de certains organes des différents lots de rats femelles.

Organes Lots	Les Poids relatifs (poids organe/poids corporels) en % Moyennes ± écart type				
	pancréas	foie	Cœur	Rate	Rein
TN	0,49± 0,07	3,50± 0,23	0,36± 0,01	0,39± 0,04	0,66± 0,08
TNtd ₃	0,50± 0,09	3,48± 0,22	0,37± 0,03	0,3±0,06	0,6 ±0,04
TD	0,55 ±0,12	3,50± 0,34	0,37± 0,03	^{aa} 0,19± 0,02	^{aaa} 0,99± 0,10
TDtM	0,54± 0,09	3,4± 0,26	0,35±0,02	^{bb} 0,40± 0,08	^{bb} 0,79±0,07
Dtd ₁	0,48± 0,03	3,50± 0,44	0,35± 0,02	^{bb} 0,39± 0,13	^{bb} 0,76±0,15
Dtd ₂	0,48± 0,12	3,48± 0,05	0,35± 0,06	^b 0,35± 0,14	^b 0,79±0,10



^a $p \leq 0,05$ vs TN, ^{aa} $p \leq 0,01$, ^{aaa} $p \leq 0,001$; ^b $p \leq 0,05$ vs TD, ^{bb} $p \leq 0,01$, ^{bbb} $p \leq 0,001$

^c $p \leq 0,05$ vs TDtM, ^{cc} $p \leq 0,01$, ^{ccc} $p \leq 0,001$; ^d $p \leq 0,05$ vs Dtd₁, ^{dd} $p \leq 0,01$, ^{ddd} $p \leq 0,001$

Fig. 26 : Poids relatifs des différents organes des lots étudiés de rats femelles.

II.3.2. Dosage de paramètres plasmatiques

II.3.2.1. Glucose

Le **Tableau 08** et la **Fig. 27a** montrent les différents résultats obtenus concernant les glycémies des lots étudiés.

Les glycémies des lots *TNtd3* et *TN* sont presque identiques (différence statistique non significative).

Le lot *TD* présente une augmentation **très hautement significative** de la glycémie par rapport au lot *TN*.

On note avec intérêt que les trois lots traités *TDtM*, *Dtd₁*, *Dtd₂* présentent une baisse **très hautement significative** de la glycémie par rapport au lot *TD*. Cette glycémie reste légèrement supérieure à celle du lot *TN* mais avec une différence statistique non significative.

Si on avait à classer les glycémies mesurées de ces trois lots, de la valeur la moins élevée à la plus élevée, notre classement aurait été ainsi : Glycémie *TDtM*, puis *Dtd₁* et enfin *Dtd₂*. La différence restant toutefois statistiquement non significative.

II.3.2.2. Lipides

Pour tous les lots étudiés, les résultats concernant les concentrations des différents types de lipides (Triglycérides, Lipides totaux, cholestérol total, HDL et LDL) sont représentés par le **Tableau 08** et la **Fig. 27a**.

- **Triglycérides**

On remarque une légère augmentation de la concentration en triglycérides du lot *TNtd₃* par comparaison à celle du lot *TN*. Cette augmentation est statistiquement non significative.

Les deux lots *TD* et *TDtM* ont sensiblement la même concentration en triglycérides. Cette dernière est largement élevée par comparaison à celle du lot *TN* avec une différence statistique **très hautement significative**.

On remarque également que les deux lots *Dtd₁* et *Dtd₂* présentent une concentration en triglycérides plus faible que celle des deux lots : *TD* et *TDtM*. Cette différence est statistiquement **significative** pour le premier lot et **très hautement significative** pour le second.

La concentration en triglycéride du lot Dtd_1 est légèrement supérieure à celle du lot Dtd_2 , avec une différence statistiquement non significative. Comparées à la concentration du lot TN , les concentrations de ces deux lots ne présentent aucune différence statistiquement significative.

- **Concentration en HDL et LDL**

- Pour les HDL, nous observons une légère diminution de la concentration du lot TD comparé au lot TN avec une différence statistiquement non significative.

La concentration en HDL des lots : $TNtd_3$ et TN est similaire (leur différence statistique est non significative).

Comparé aux deux lots TN et TD , le lot Dtd_1 présente une augmentation statistiquement non significative de la concentration en HDL.

Par contre les deux lots Dtd_2 et $TDtM$ présentent une concentration en HDL presque identique à celle du lot TD (différence statistiquement non significative).

- Pour les LDL, les résultats montrent que les concentrations des lots $TNtd_3$ et TN ne présentent aucune différence statistiquement significative.

Nous remarquons une **augmentation très hautement significative** du taux des LDL du lot TD , par comparaison à celui du lot TN .

Nous notons avec intérêt que le taux de LDL des trois lots traités $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 est bas par rapport à celui du lot TD . La différence est **hautement significative** pour les deux premiers lots et seulement **significative** pour le dernier lot. Comparée au lot TN , la concentration en LDL de ces trois lots reste légèrement élevée (différence non significative).

Si on compare les concentrations en LDL des trois lots $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 , on constate que celle du lot Dtd_2 est la plus élevée suivie de celle du lot Dtd_1 et enfin le lot $TDtM$. Cependant la différence entre ces concentrations reste statistiquement non significative.

- **Cholestérol Total**

Selon les résultats, on remarque que la concentration en cholestérol total du lot $TNtd_3$ et du lot TN ne présente aucune différence statistiquement significative.

Par comparaison au lot TN , Les deux lots TD et $TDtM$ présentent une augmentation de la concentration en cholestérol total. Cette dernière est **très hautement significative** pour le premier lot et **hautement significative** pour le second.

Par rapport au lot *TD*, les concentrations en cholestérol total des deux lots traités : *Dtd₁* et *Dtd₂* sont plus faibles. La différence est **hautement significative** pour le premier lot et **très hautement significative** pour le deuxième. Comparées au lot *TN*, ces deux concentrations ne présentent aucune différence statistiquement significative.

- **Lipides totaux**

La concentration en lipides totaux du lot *TNtd₃* et du lot *TN* présente une différence statistiquement non significative.

Les deux lots *TD* et *TDtM* présentent une augmentation de la concentration en lipides totaux par comparaison au lot *TN*. Pour les deux lots, cette augmentation est **très hautement significative**.

On note avec intérêt une baisse **hautement significative** de la concentration en lipides totaux des deux lots *Dtd₁* et *Dtd₂* par rapport à celle du lot *TD*. On remarque également, que la concentration de ces deux lots ne présente aucune différence statistiquement significative par comparaison à celle du lot *TN*. Comparés au lot *TDtM*, les deux lots *Dtd₁* et *Dtd₂* présentent une baisse de la concentration en lipides totaux. Cette baisse est non significative pour le premier lot et **significative** pour le second.

II.3.2.3. Protéines totales

L'analyse des résultats présentés sur le **Tableau 08 et la Fig. 27 b** permet de constater une similarité entre la concentration en protéines totales sériques des quatre lots : *TNtd₃*, *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂* avec celle du lot *TN*. On note également que la concentration en protéines totales du lot *TD* est légèrement basse par rapport au lot *TN* avec une différence statistique non significative.

II.3.2.4. Urée

Les résultats montrent que:

Le lot *TNtd₃* a une concentration en urée sérique similaire à celle du lot *TN* avec une différence statistiquement non significative (**Tableau 08, Fig. 27b**).

Une élévation **hautement significative** de la concentration en urée sérique du lot *TD* par comparaison à celle du *TN* (**Tableau 08, Fig. 27b**).

Les trois lots *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂* présentent une baisse de la concentration de l'urée sérique en comparaison celle du lot *TD*. Cette baisse est statistiquement non significative pour le premier et le dernier lot. Elle est **hautement significative** pour le deuxième lot *Dtd₁* (**Tableau 08, Fig. 27 b**). Par rapport au lot *TN*, la concentration en urée sérique des trois lots traités ne présente aucune différence statistiquement significative.

II.3.2.5. Créatinine

D'après le **Tableau 08 et la Fig. 27b**, les résultats de la concentration en créatinine sérique des deux lots *TN* et *TNtd₃* sont presque égales (différence statistique non significative).

Par contre le lot *TD* présente une augmentation **très hautement significative** de la concentration en créatinine sérique en comparaison avec celle du lot *TN*.

Les trois lots traités *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂* montrent une baisse de la créatininémie par rapport au lot *TD*. Elle est non significative pour le premier lot et **hautement significative** pour les deux autres lots. La créatininémie de ces trois lots approche celle du lot *TN* avec une différence statistiquement non significative.

La créatininémie du lot *Dtd₁* est presque identique à celle du lot *Dtd₂* (différence statistiquement non significative). Elle est plus faible que celle du lot *TDtM* mais sans différence significative.

II.3.3. Activités de l'ALAT et de l'ASAT

Les résultats observés (**Tableau 09, Fig. 28**), montrent que les cinq lots *TNtd₃*, *TD*, *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂* présentent une activité de l'ALAT similaire à celle du lot *TN* avec une différence statistique non significative.

Quant à l'ASAT, on ne constate aucune différence statistiquement significative de l'activité de cette enzyme du lot *TN* et celle des cinq lots *TNtd₃*, *TD*, *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂*.

II.3.4. Insulinémie

Le dosage de l'insuline effectué sur un échantillon (**Tableau 10**) montre une concentration en insuline des trois lots *TNtd₃*, *Dtd₁* et *Dtd₂* égale à celle du lot *TN* soit **0,3 µUI/ml**.

L'insulinémie du lot *TD* est identique à celle du lot *TDtM*. Elle est inférieure à celle du lot *TN* avec une concentration de **0,1 µUI/ml**.

II. 3.5. Etude histologique de certains organes

L'histologie du foie de tous les lots étudiés ne témoigne aucune anomalie par comparaison au lot *TN* (**Fig.29**).

Par comparaison au lot *TN*, l'histologie du pancréas du lot *TDtd₃* montre un îlot de Langerhans normal au contour bien délimité (**Fig. 30 A et B**).

Par contre si on compare l'histologie du tissu pancréatique des deux lots *TD* et *TDtM*, on remarque la présence de nécroses au niveau de l'îlot de Langerhans. Ce dernier apparaît diffus et moins délimité que celui du lot *TN* (**Fig.30 A, B et C**).

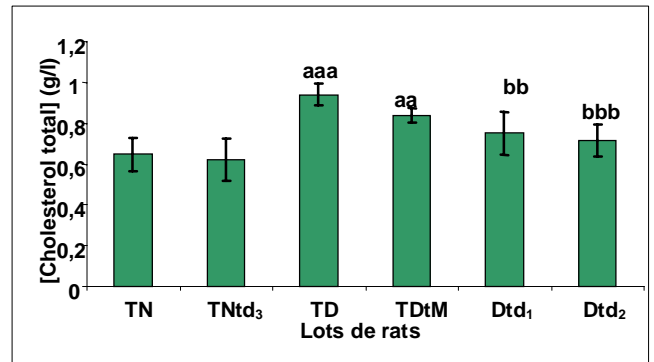
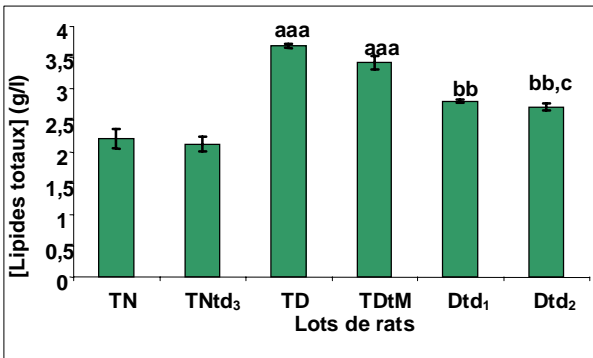
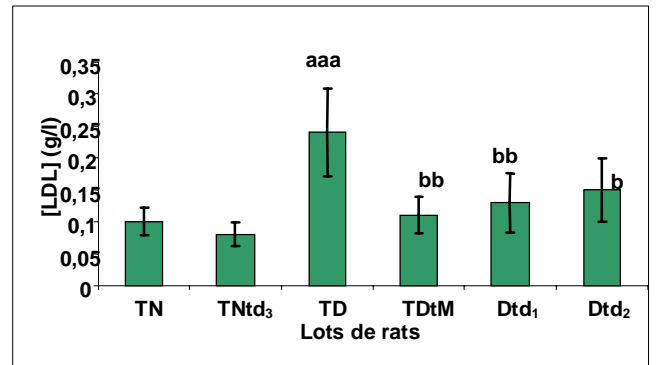
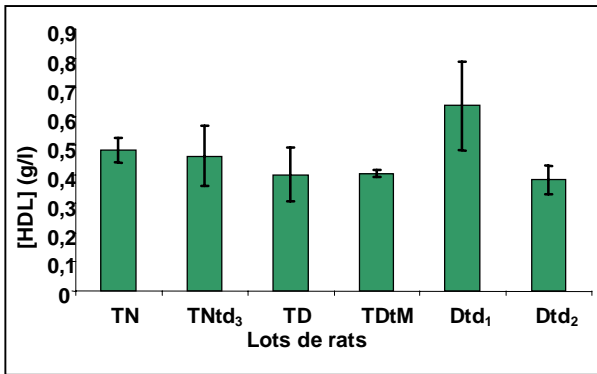
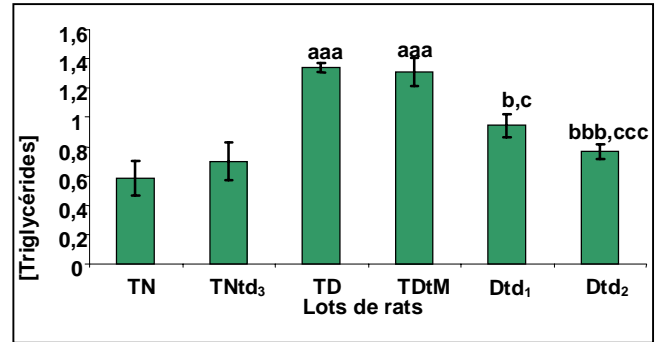
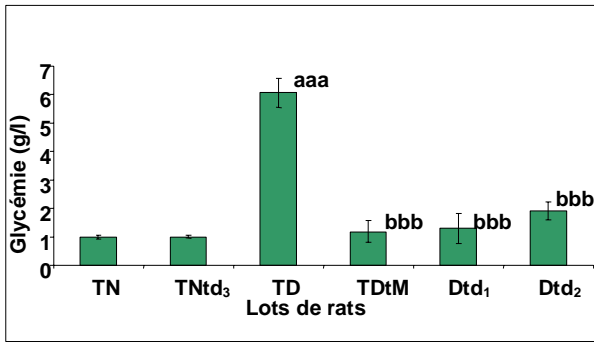
L'histologie du pancréas des deux lots traités par la plante montre une amélioration de l'état de l'îlot de Langerhans par comparaison au lot *TD*. On remarque alors la disparition quasi-totale de nécroses des cellules de Langerhans avec un îlot mieux délimité, ressemblant à celui du lot *TN* (**Fig. 30 A, E et F**).

Tableau 08 : La concentration des différents paramètres biochimiques-plasmatiques des différents lots étudiés.

Paramètres biochimiques plasmatiques (moyenne ± écart Types)									
Paramètres Lots	Glucose (g /l)	Lipides					Protéines totales (g /l)	Urée (g/l)	Créatinine (g/l)
		TG (g/l)	HDL (g /l)	LDL (g /l)	Chl T (g/l)	LT (g/l)			
TN	1,00±0,05	0,59 ±0,12	0,48±0,04	0,10±0,02	0,65±0,08	2,21±0,16	81,69±0,37	0,42±0,08	0,0046±0,0007
TNtd ₃	1,00±0,06	0,70 ± 0,13	0,46±0,10	0,08±0,018	0,62±0,12	2,12±0,14	80,74±0,76	0,41±0,06	0,0047±0,0004
TD	^{aaa} 6,06±0,51	^{aaa} 1,34± 0,03	0,40±0,09	^{aaa} 0,24±0,07	^{aaa} 0,94±0,05	^{aaa} 3,69±0,04	76,96± 1,00	^{aa} 1,34±0,45	^{aaa} 0,0076±0,0020
TDtM	^{bbb} 1,18±0,39	^{aaa} 1,31±0,10	0,40±0,01	^{bb} 0,11±0,03	^{aa} 0,84±0,034	^{aaa} 3,43±0,11	80,43±0,43	0,85± 0,34	0,0060 ± 0,0007
Dtd ₁	^{bbb} 1,29±0,53	^{b,c} 0,94 ±0,08	0,63±0,15	^{bb} 0,13±0,05	^{bb} 0,75±0,11	^{bb} 2,80± 0,02	80,51± 0,78	^{bb} 0,47±0,28	^{bb} 0,0052± 0,0006
Dtd ₂	^{bbb} 1,91±0,31	^{bb,ccc} 0,77±0,05	0,38±0,05	^b 0,15±0,05	^{bbb} 0,71±0,08	^{bb,c} 2,71±0,05	81,66± 0,26	0,73± 0,38	^{bb} 0,0051±0,0014

^a $p \leq 0,05$ vs TN, ^{aa} $p \leq 0,01$, ^{aaa} $p \leq 0,001$; ^b $p \leq 0,05$ vs TD, ^{bb} $p \leq 0,01$, ^{bbb} $p \leq 0,001$

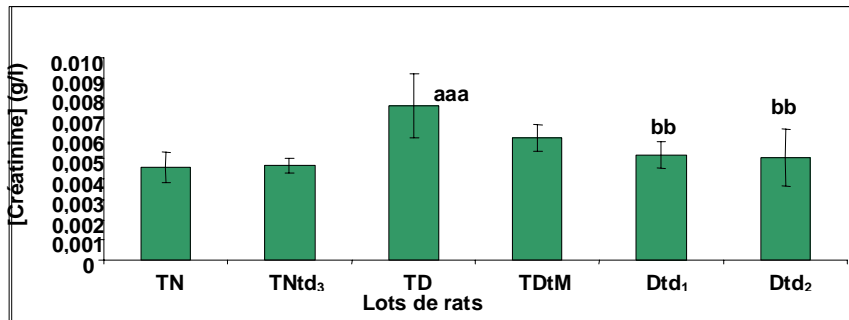
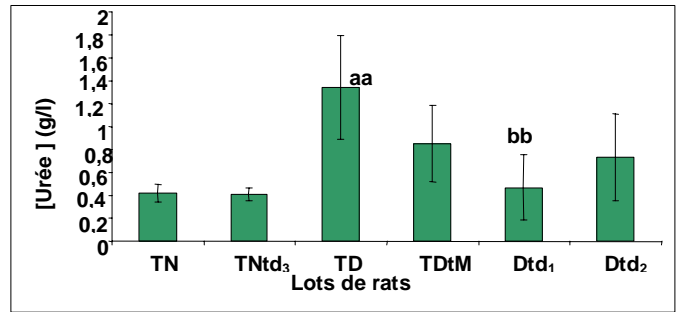
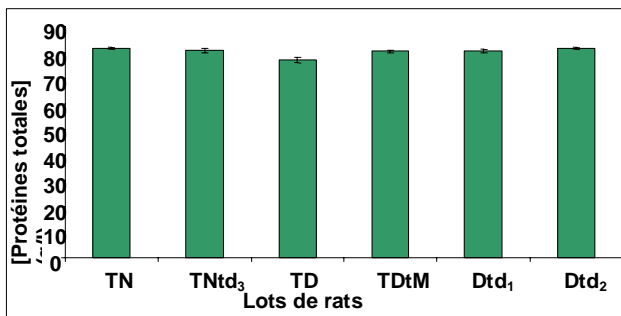
^c $p \leq 0,05$ vs TDtM, ^{cc} $p \leq 0,01$, ^{ccc} $p \leq 0,001$; ^d $p \leq 0,05$ vs Dtd₁, ^{dd} $p \leq 0,01$, ^{ddd} $p \leq 0,001$



^a $p \leq 0,05$ vs TN, ^{aa} $p \leq 0,01$, ^{aaa} $p \leq 0,001$; ^b $p \leq 0,05$ vs TD, ^{bb} $p \leq 0,01$, ^{bbb} $p \leq 0,001$

^c $p \leq 0,05$ vs TDtM, ^{cc} $p \leq 0,01$, ^{ccc} $p \leq 0,001$; ^d $p \leq 0,05$ vs Dtd₁, ^{dd} $p \leq 0,01$, ^{ddd} $p \leq 0,001$

Fig. 27a: Résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots de rats femelles.



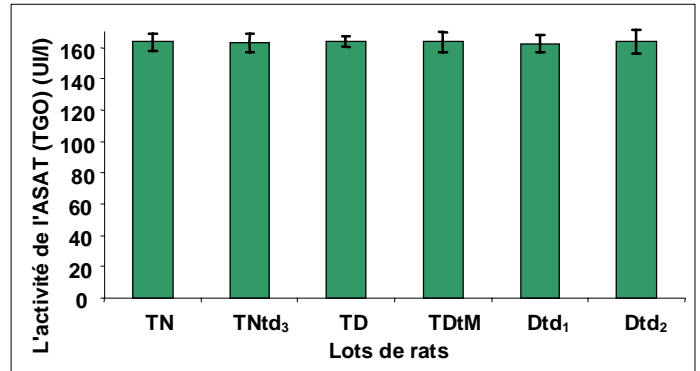
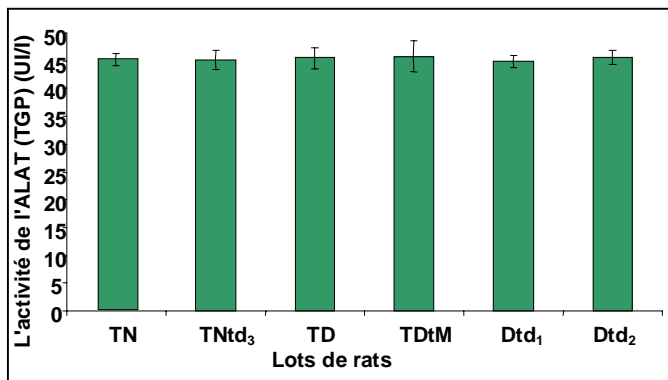
^a $p \leq 0,05$ vs TN, ^{aa} $p \leq 0,01$, ^{aaa} $p \leq 0,001$; ^b $p \leq 0,05$ vs TD, ^{bb} $p \leq 0,01$, ^{bbb} $p \leq 0,001$
^c $p \leq 0,05$ vs TDtM, ^{cc} $p \leq 0,01$, ^{ccc} $p \leq 0,001$; ^d $p \leq 0,05$ vs Dtd₁, ^{dd} $p \leq 0,01$, ^{ddd} $p \leq 0,001$

Fig. 27b: Résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots de rats femelles (suite).

Tableau 09 : Résultats des activités enzymatiques de l'ALAT et l'ASAT.

Activités enzymatiques (moyenne ± écart Types)		
Paramètres	Activité de l'ALAT (UI/l)	Activité de l'ASAT (UI/l)
TN	45,23 ± 1,035	163,9 ± 5,6
TNtd ₃	45,14 ± 1,75	163,11 ± 6,05
TD	45,51 ± 1,84	164,06 ± 3,43
TDtM	45,8 ± 2,77	163,7 ± 6,1
Dtd ₁	44,92 ± 1,05	162,79 ± 5,50
Dtd ₂	45,56 ± 1,28	163,80 ± 7,5

$p > 0,05$: pas de signification.

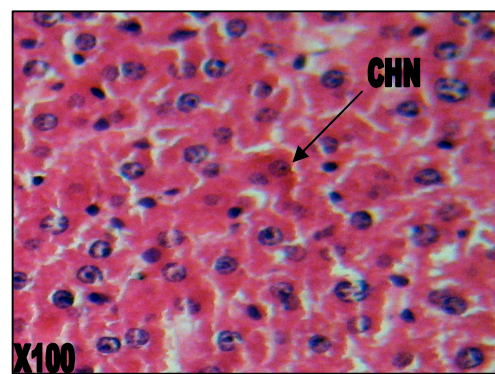
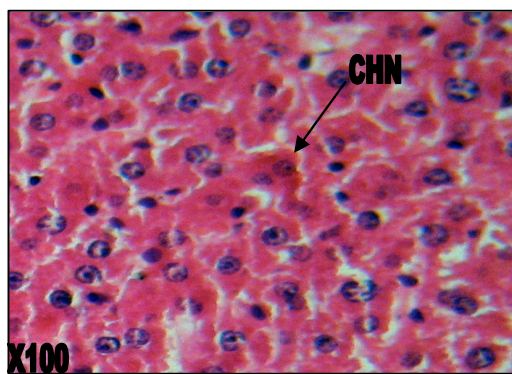
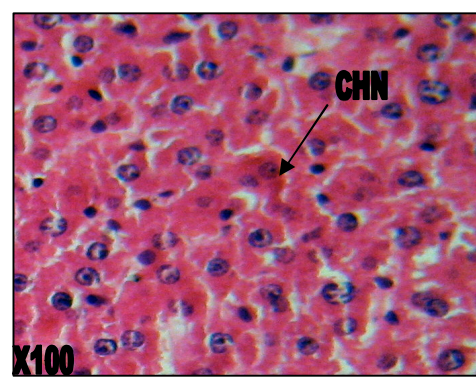
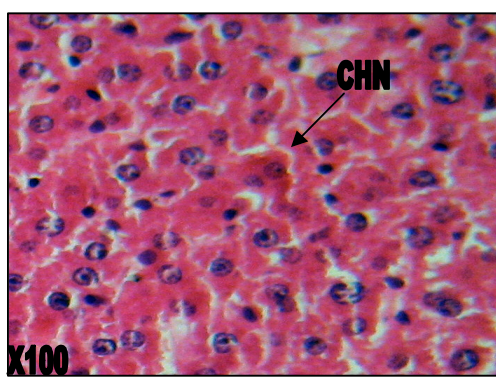
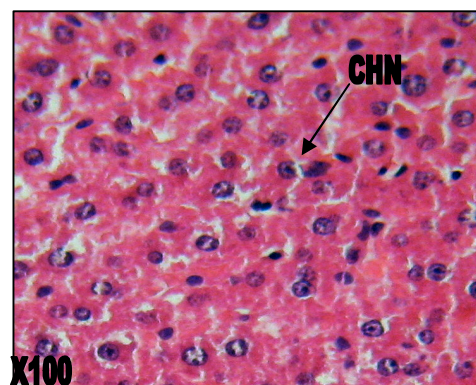
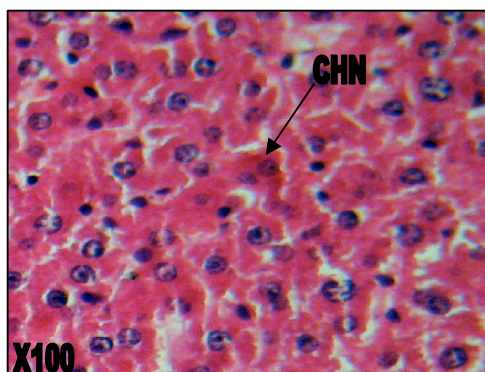


p > 0,05: pas de signification.

Fig.28: Détermination de l'activité de l'ALAT (TGP) et de l'ASAT (TGO) des différents lots de rats femelles.

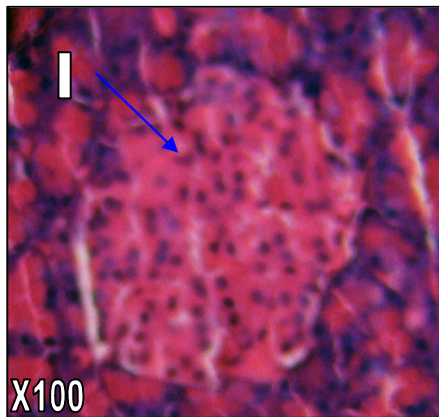
Tableau 10 : Relation insulinémie / glycémie d'un rat représentatif de chaque lot.

Lots	Insulinémie (μUI/ml)	Glycémie (g /l)
Un rat du lot TN	0.3	1
Un rat du lot TNtd ₃	0.3	0.99
Un rat du lot TD	0.1	5.54
Un rat du lot TDtM	0.1	0.93
Un rat du lot Dtd ₁	0.3	1.07
Un rat du lot Dtd ₂	0.3	1.21

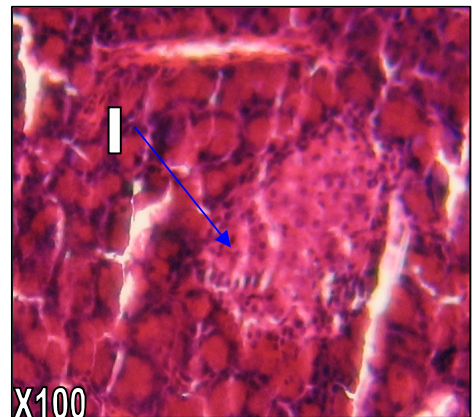


CHN : Cellules hépatiques normales.

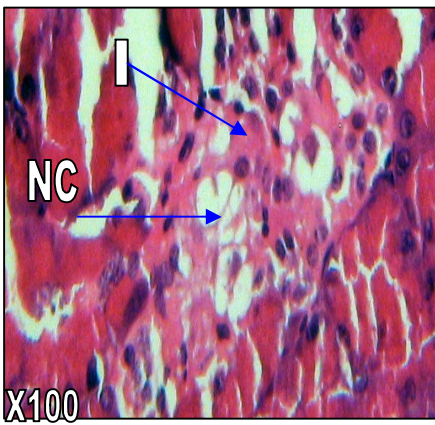
Fig. 29: Coupes histologiques du foie d'un rat représentatif de chaque lot étudié.



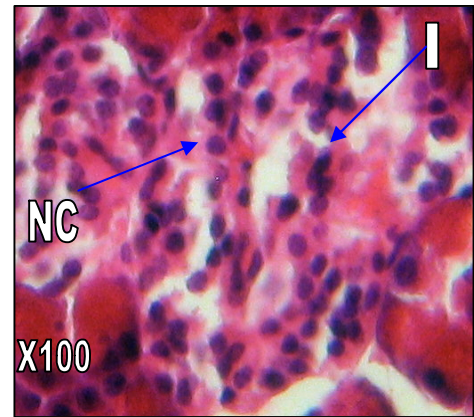
A: TN



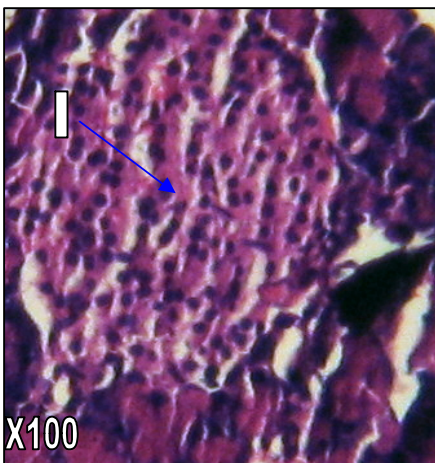
B: TNtd₃



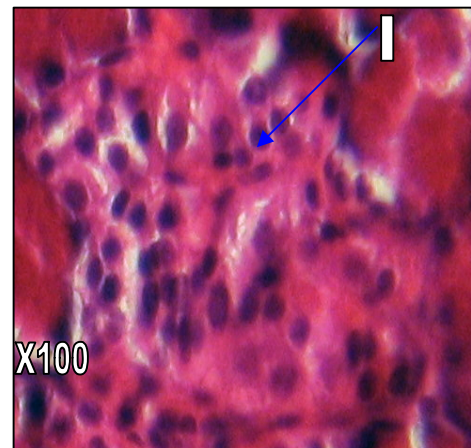
C: TD



D: TDtM



E: Dtd₁



F: Dtd₂

I : Ilot de Langerhans
NC : Nécrose cellulaire

Fig. 30: Coupes histologiques du pancréas d'un rat représentatif de chaque lot étudié.

III. Discussion

L'objectif de cette étude vise à rechercher les principes actifs contenus dans l'extrait aqueux obtenu par infusion des feuilles de *Crataegus azarolus* grâce à des tests phytochimiques, ainsi que son effet antidiabétique éventuel sur un modèle diabétique expérimental induit par l'alloxane.

Le screening chimique de l'extrait aqueux de *Crataegus azarolus* a révélé l'existence de plusieurs principes actifs : Saponosides, tanins, flavonoïdes, terpènes et enfin de mucilages. Certaines molécules appartenant aux principes actifs identifiés, ont été mentionnées comme antidiabétiques (Marles et Farnsworth, 1995; Perez et al, 1998; Wang et Ng, 1999). Par exemple, l'épicatéchine, molécule flavonoïdique est connue pour être un constituant très actif de la famille des aubépines (Svedstrom et al, 2006). Par contre on remarque l'absence de familles chimiques connues comme étant très toxiques telles que les alcaloïdes (Marles et Farnsworth, 1995).

L'étude des paramètres suivant: Poids corporels, glycémie, glycosurie, cétonurie et "les marqueurs" de la toxicité rénale (urée, créatinine, protéinurie et sang dans les urines) a montré que :

Les rats femelles des lots normaux ont présenté un gain de poids corporel lié à une croissance normale des animaux. Les rats normaux traités par une dose d_3 de 225mg/kg ont un gain de poids inférieur à celui des rats sains (mais avec $p > 0,05$); ce qui pourrait signifier que la plante à la dose d_3 réduirait légèrement la croissance des rats. Cette observation serait en accord avec ce qui a été rapporté par (Fehri et al, 1991) concernant l'action de l'extrait alcoolique de *Crataegus oxyacantha* sur le poids corporel des rats normaux. Les lots de rats diabétiques présentent une diminution continue des poids corporels qui s'accroît au cours de l'expérimentation. Cette perte de poids des diabétiques est due au catabolisme, plus particulièrement des lipides par lipolyse des tissus adipeux suite à l'insulinodéficiência (Vats et al, 2004; Oliveira et al, 2008). Cependant chez tous les lots diabétiques traités respectivement par les deux doses de la plante et le médicament, on observe à la fin un gain de poids. L'amélioration des poids corporels des deux lots traités par les deux doses de la plante pourrait être expliquée par le pouvoir de la plante à restaurer le stock en triglycérides, grâce à l'amélioration de l'insulinosécrétion et de la glycémie observée par (Farnier, 2002; Babu et al, 2007).

Pour la glycémie, les mesures prises avant et après sacrifice du lot diabétique ont montré une hyperglycémie **très hautement significative** et plus ou moins constante, détectée durant toute l'expérimentation. Cette hyperglycémie ne peut s'expliquer que par une baisse de la sécrétion de

l'insuline (Venkateswaram et pari, 2002). Alors que les deux doses ($d_1=150$ et $d_2=300$ mg/kg de poids corporel) de la plante ainsi que la métformine (**28mg/ kg**) entraînent une réduction **très hautement significative** de la glycémie. Néanmoins cette baisse se fait de manière différente selon la thérapie administrée. En effet La **dose d_1** de la plante semble être la plus efficace, en raison de sa **rapidité** d'action, par **l'ampleur** de la baisse du taux de glucose et par la **durabilité** de son effet (Maintient de la glycémie à une valeur plus ou moins constante autour de *1g/l environ* et proche statistiquement de la normale). Cependant après sacrifice (12 jours de traitement), la glycémie du lot traité par la métformine est légèrement meilleure que celle du lot Dtd_1 (diminution légèrement plus importante de la glycémie sous métformine: **$p>0,05$**). Alors que la glycémie du lot normal traité par d_3 de l'extrait ne présente aucune différence statistiquement significative avec celle du lot normal non traité ; on n'observe ainsi aucun effet hypoglycémiant. Ces résultats concordent avec ceux de (Jouad et al, 2003) réalisant des études sur les mêmes doses d'une autre plante du même genre : *Crataegus oxyacantha* (Jouad et al, 2003), Notons que les aubépines ont plus ou moins la même composition en principes actifs (Rigelsky et Sweet, 2002; Ljubuncic et al, 2005).

Les résultats obtenus par l'analyse des urines, montrent une présence importante de glucose dans les urines des rats du lot diabétique durant les jours (**J1, J4, J7, J10**) de la manipulation. Cette glucosurie reflète l'hyperglycémie et indique que la charge de glucose filtrée dépasse la capacité des tubules rénaux à réabsorber la totalité du sucre (Gaw et al, 2004; Goetz, 2007; Oliveira et al, 2008). La présence de glucose dans les urines est due à l'action de l'alloxane ; cet effet a été démontré lors d'expériences sur des rats traités par cette substance (Srinivasan et Ramarao, 2007). Durant la même période (**J1 à J10**), la réduction de la glucosurie est plus rapide et plus franche pour le Dtd_1 que pour les autres thérapies. Elle est dans le même temps proportionnel et concorde avec la diminution de la glycémie dans ce lot.

L'absence d'acétonurie dans tous les lots diabétiques démontre que les animaux malades ne souffrent que d'une insulino-pénie partielle causée par l'alloxane.

Une insulino-pénie sévère aurait entraîné une lipolyse accrue, une surproduction d'acides gras, convertis par le foie en corps cétoniques (**cétogenèse**), passant dans le sang (**cétonémie**) puis dans les urines (**cétonurie**) (Stryer et al, 2003; Gaw et al, 2004; Kurkly-Paulin et al, 2007).

L'urée et la créatinine sont des marqueurs significatifs de la fonction rénale (Eidi et al, 2007). Il apparaît que la concentration en urée et en créatinine du lot *TNtd₃* est sensiblement similaire à celle du lot *TN*. Ce qui confirme que notre plante à la *d₃* n'a eu aucun effet toxique sur les reins durant le traitement. Dans le lot *TD*, la concentration en urée et en créatinine est élevée par rapport au lot *TN*. Cette augmentation a été **hautement significative** pour le premier paramètre et **très hautement significative** pour le second. L'élévation de la concentration de ces deux paramètres est à relier au dysfonctionnement rénal chez les diabétiques (Almadal et Vilstrup, 1988), résultant de la toxicité de l'alloxane sur les reins (néphropathie). Des études ont montré la néphrotoxicité de l'alloxane sur les reins d'animaux (Orskov, et al, 1965). Il apparaît que toutes les thérapies employées, (les deux doses de la plante ainsi que le médicament) provoquent une diminution de l'urémie et de la créatininémie. Ces traitements protégeraient ainsi les reins de la toxicité de l'alloxane. Cependant, la *d₁* semble être la plus efficace. Car elle provoque une diminution **hautement significative** des deux paramètres dont la valeur approche la normale.

La présence de sang et plus particulièrement de protéines dans les urines, traduit également un dysfonctionnement rénal (Gaw et al, 2004). L'hématurie et la protéinurie ont été observées surtout chez les rats diabétiques non traités en raison de l'action néphrotoxique probable de l'alloxane. Il est bien établi que la détection d'une micro albuminurie chez des patients diabétiques indique l'implication de dommages glomérulaires rénaux précoces (Hong et Chia, 1998). Dans les trois lots *Dtd₁*, *Dtd₂* et *TDtM*, on a remarqué durant la période avant sacrifice, que les traces de protéines urinaires retrouvées ont disparu avec le temps d'abord dans le lot *Dtd₁* révélant ainsi l'action protectrice de tous les traitements et plus particulièrement de la dose *d₁* de la plante.

En ce qui concerne le dosage des paramètres lipidiques effectués, on retrouve une augmentation **très hautement significative** des triglycérides, LDL, cholestérol total et lipides totaux de *TD* par rapport au lot *TN*. Une légère diminution de la concentration en HDL a été également observée. Si on additionne toutes les anomalies observées, on retrouve alors un tableau dyslipidémique caractéristique du diabétique (anomalies dues à l'insulinodéficience) (George et Ludvik, 2000; Sirois, 2006). L'amélioration et la baisse de la triglycéridémie et du taux de LDL chez les deux lots diabétiques traités par les deux doses de la plante pourrait être due à l'amélioration de l'insulinosécrétion. En effet secrétée normalement, cette hormone inhibe l'activité de la lipase hormonosensible (enzyme lipolytique active au niveau des adipocytes), le catabolisme des LDL et augmente l'activité des récepteurs LDL à la surface des cellules (surtout hépatiques), ce qui conduit à leur internalisation (Farnier, 2002; Rigelsky et Sweet

, 2002; Stryer et al, 2003; Gaw et al, 2004 Babu, 2007). La diminution de l'hypercholestérolémie (Taux en cholestérol total) dans les lots *Dtd₁*, *Dtd₂* peut être expliquée par la baisse déjà observée des LDL (principaux transporteurs de cholestérol) (Marshall et Bangert, 2005; Luo et al, 2008). Plusieurs études sur le genre *Crataegus* ont mentionné que l'effet antihypercholestérolémiant pourrait être du aux flavonoïdes, triterpènes et saponines (Rigelsky et Sweet, 2002). Une nette diminution des lipides totaux a été observée au niveau des deux lots traités par la plante, ce qui pourrait être du à la diminution du taux de triglycérides et de cholestérol total. Cette amélioration du profil lipidique a été rapportée par (Rigelsky et Sweet, 2002) sur l'espèce du même genre *Crataegus oxyacantha*.

Seul le lot *Dtd₁* présente une augmentation non significative ($p > 0,05$) de la concentration en HDL par comparaison aux deux lots TD et TN. La *d₁* semble augmenter le "bon" cholestérol. Ce dernier est associé à une baisse du risque de développement d'athérosclérose et de maladie coronarienne (Tang et al, 2006). Il transporte le cholestérol des tissus périphériques au foie où il sera dégradé en acides biliaires. Cet effet serait très intéressant.

L'augmentation du HDL pourrait être due au pouvoir de la *d₁* de la plante à restaurer la sécrétion d'insuline. Cette dernière augmenterait l'activité de la **lécithine cholestérol Acyl transférase** ou « LACT » (enzyme se trouvant à l'intérieur des pré-HDL plasmatiques appelés également particules HDL naissantes). Cette enzyme forme les esters de cholestérol du pré-HDL à partir d'acides gras et de cholestérol libre formant au final des molécules de HDL (Marshall et Bangert, 2005; Babu et al, 2007).

En ce qui concerne la protéinémie, seul le lot TD a un taux de protéines totales sériques légèrement plus faible que le lot TN ($p > 0,05$). Par ailleurs on sait que le métabolisme protéique ne manifeste pas de grands changements s'il n'y a pas d'atteinte très sévère de l'insulino sécrétion (Biolo et al, 1992). D'une part la période de notre manipulation est courte. D'autre part il se pourrait que la baisse légère et non significative des protéines sériques, de ce lot soit due à la toxicité rénale signalée par nos précédents résultats (une partie des protéines sériques fuyant dans les urines entraînant leur baisse toute relative) (Hong et Chia, 1998). On note avec intérêt que les deux doses de la plante ainsi que le médicament ont restauré la légère baisse protéique signalée chez les rats diabétiques.

L'ASAT et l'ALAT sont deux enzymes hépatiques (Kesari et al, 2007) Leur augmentation est due principalement à leur fuite à travers le cytosol hépatique et leur déversement dans le flot sanguin (Babu et al, 2007; Eidi et al, 2007).

Leur activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (**Kesari et al, 2007**). Ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité (**Babu et al, 2007; Eidi et al, 2007**). Le dosage de leur activité a révélé que les cinq lots : *TNtd₃*, *TD*, *TDtM*, *Dtd₁* et *Dtd₂* présentent une activité en ASAT et ALAT sensiblement similaire à celle du lot *TN*. Il n'y a pas eu donc à priori de toxicité hépatique de la plante ou de l'alloxane. Certaines études ont mentionné que l'étendue des lésions hépatiques dépend de la quantité et de la voie d'injection de l'alloxane. Il semblerait en outre que la voie intracardiaque soit plus incriminée dans l'hépatotoxicité que la voie intra péritonéale (**Du-Bois, 1954**).

Chez les rats du lot *TD*, un dosage de l'insuline a été effectué montrant une présence d'une faible quantité de l'hormone par rapport au taux normal (*TN*= **0,3 µUI/ml** et *TD*= **0,1 µUI/ml**). Cela pourrait s'expliquer par la destruction partielle des îlots de Langerhans (**Halimi et al, 2008**). Chez les rats diabétiques traités par les deux doses de la plante, on note avec intérêt que **le taux de l'insulinémie est sensiblement égal à celui du lot TN (0,3 µUI/ml)**. A priori ce résultat serait en faveur d'une action **re-stimulante** de notre plante sur la sécrétion d'insuline. Cependant l'étude de (**Jouad et al, 2003**) a montré qu'un extrait aqueux d'une autre aubépine *Crataegus oxyacantha* n'avait aucun effet sur la concentration basale en insuline chez les rats diabétiques. Ce résultat pourrait être expliqué par une différence de principes actifs, contenus dans les extraits des deux espèces, conduisant à une différence d'action.

L'étude histologique réalisée révèle que l'examen des coupes de pancréas montre une similitude entre les îlots de Langerhans du lot traité par la métformine (*TDtM*) et celui du lot diabétique non traité (*TD*). Ces îlots sont d'aspect diffus et présentent quelques nécroses cellulaires. La destruction de certaines cellules de Langerhans expliquerait le taux réduit de l'insuline observé chez ces deux lots (**Halimi et al, 2008**). Il est établi que la métformine agit uniquement au niveau périphérique (inhibition de la formation du glucose par le foie, utilisation du glucose par les muscles) et donc n'a aucune action sur le pancréas (**Liu et al, 2007; Halimi et al, 2008**). Les coupes histologiques du pancréas des lots *Dtd₁* et *Dtd₂* présentent des îlots de Langerhans mieux délimités avec très peu de nécroses cellulaires. Ces lésions tissulaires limitées expliqueraient l'insulinémie proche de la normale de ces deux lots déjà mentionnée. Cela pourrait signifier que les deux doses de la plante ont « restauré » la sécrétion de l'insuline en « régénérant » les cellules β de Langerhans détruites par l'alloxane (**West, 2000**). Cet effet régénérateur des îlots observé pourrait être dû à la présence des composés antidiabétiques révélés par l'étude phytochimique. En effet il a été rapporté que l'**épicatechine**, de la famille des flavonoïdes très fréquente dans les aubépines et extraite d'écorce d'une plante *Plerocarpus marsupium* (Fabacées), avait

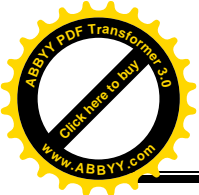
la faculté de régénérer les cellules β de Langerhans et donc de restaurer la sécrétion d'insuline chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane (Chakravarathy et al, 1981; Kolb et al, 1982; Hii et Howell, 1984 ; Perez et al, 1998). De même les flavonoides (exp : Hésperidine) et plusieurs autres composés phénoliques (exp : Tanins) ont été testés comme cytoprotecteurs et chélateurs de radicaux libres (Hertog et al, 1993 ; Zhang et al, 2001; Rice-Evans et al, 2004; Ouali et al, 2007). D'autres études mentionnent également que les tritérpènes et saponosides extraits de feuilles de *Gymnema sylvestre* ont l'effet de réduire les dommages tissulaires (y compris pancréatiques) chez les animaux diabétiques (Shanmugasundaram et al, 1983; Perez et al, 1998). Notre plante comporte ces familles de molécules (flavonoides, saponosides, tritérpènes et tanins), et il n'est pas impossible que l'une ou l'autre ou la synergie de tous ces composés soit responsable de la « régénération » cellulaire des îlots de Langerhans. Il est à noter également que la régénération pourrait être due à d'autres principes actifs n'étant pas encore identifiés.

En plus de l'étude de l'effet antidiabétique et hypoglycémiant éventuel de la plante, nous n'avons pas omis d'étudier ses effets toxiques possibles sur certains organes (pancréas, foie, cœur, rate et reins) en mesurant leur poids relatifs; car il est admis que l'augmentation de ce dernier est un indicateur de la toxicité des substances administrées (Simon et al, 1995).

Tous les poids relatifs de tous les organes des lots normaux traités et non traités par la plante (TNd_3 et TN) n'ont présenté aucune différence significative, suggérant ainsi l'absence d'effet toxique de la dose d_3 sur les organes. Les mêmes résultats ont été rapportés par (Fehri et al, 1991), sur l'action de *Crataegus oxyacantha* sur les poids du foie, cœur, rate et reins et par (Ljubuncic et al, 2005), sur l'effet de *Crataegus azarolus* acclimatée en Palestine, sur les poids du pancréas.

Les lots traités Dtd_1 , Dtd_2 et $TDtM$ présentent tous trois sensiblement le même poids relatif des reins. On note avec intérêt que ce dernier est bas (**différence hautement significative**) par rapport au lot TD et s'approche du poids relatif normal. Ce dernier lot montre une **augmentation très hautement significative** du poids relatif rénal par élévation du poids de l'organe. Ce résultat pourrait être lié à la toxicité de l'alloxane (œdème, inflammation), et a été retrouvé par certains auteurs (Liu et al, 2007).

En ce qui concerne la rate, le lot TD présente une atrophie **significative** de la rate ce qui pourrait vouloir signifier que l'alloxane pourrait être la cause d'une toxicité suivie d'une immunodépression (Beytout et al, 2003). On a remarqué avec grand intérêt, que les deux lots Dtd_1 et Dtd_2 ainsi que le lot $TDtM$ ont un poids relatif de la rate supérieur à celui du lot TD et approchant le poids normal. Cela



voudrait dire que la plante a pu jouer un rôle cytoprotecteur par rapport l'effet spleno-toxique de l'alloxane. Il semblerait que la d_1 de la plante et le médicament aient été les plus efficaces.

Les résultats ont montré que tous les rats diabétiques traités et non traités avaient sensiblement un poids relatif normal du cœur. L'alloxane semble n'avoir eu aucun effet sur le cœur des rats diabétiques. Il n'entraînerait des complications cardiaques qu'à à long terme (**Srinivasan et Ramarao, 2007**).

Les quatre lots : TD , $TDtM$, Dtd_1 et Dtd_2 ont un poids relatif du foie sensiblement égal à celui du lot TN . Ce résultat est en faveur d'absence d'hépatotoxicité de l'alloxane. Il est conforme aux résultats retrouvés par le dosage de l'activité des deux enzymes: ASAT et ALAT ainsi qu'à l'histologie du foie. En effet tous les lots étudiés ont des coupes histologiques normales, du foie.

Les lots TD et $TDtM$ ont sensiblement le même poids relatif du pancréas en étant légèrement supérieur au poids relatif du lot TN ($p > 0,05$). Les deux lots traités par la plante ont un poids relatif du pancréas inférieur à celui du lot TD (la différence est statistiquement non significative), approchant le poids relatif du pancréas du lot TN . Ce qui pourrait vouloir signifier que les deux doses de la plante ont régénéré les ilots détruits par l'alloxane (**Liu et al, 2007**). Ce résultat concorde avec le peu de lésions retrouvées sur les coupes histologiques du pancréas.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A la lumière de ces résultats, deux doses (**150mg/kg et 300mg/ kg**) d'un extrait aqueux de feuilles (infusion) de *Crataegus azarolus* (**rosacées**) ont un effet anti- hyperglycémiant chez des rats femelles de type wistar diabétiques, par le biais d'un effet régénératif sur les cellules de Langerhans conduisant à une amélioration de la sécrétion d'insuline. A la dose de **150mg/kg**, l'extrait de plante est plus efficace par sa rapidité d'action, son ampleur et la durabilité de son effet, sur la glycémie.

La dose moyenne de l'extrait de *Crataegus azarolus* (**225mg /kg**) n'entraîne aucune modification de la glycémie des rats normaux suggérant l'absence d'effet hypoglycémiant à dose thérapeutique.

En plus l'extrait de la plante améliore le poids et l'équilibre lipidique des rats diabétiques. Il n'entraîne aucune toxicité sur les organes prélevés et semble avoir un effet cytoprotecteur sur les reins, la rate et le pancréas touchés par l'effet toxique de l'alloxane.

Le screening chimique a révélé la présence de saponosides, triterpènes, tanins et flavonoïdes qui pourraient être à l'origine de l'effet régénératif de la plante et donc de son effet antidiabétique. On a constaté également l'absence de familles connues comme toxiques telles que les alcaloïdes.

Les flavonoïdes, semblent les principes actifs les plus intéressants. Ce sont des antioxydants. Ils pourraient contenir l'épicatéchine, molécule, très abondante dans les aubépines et isolées de l'écorce de *Pterocarpus marsupium* (**Fabacées**). L'épicatéchine a un effet régénératif sur les cellules de Langerhans.

Il serait intéressant de la rechercher dans notre extrait de plante, de l'isoler et tester son effet.

On pourrait également isoler : tanins, tripterpènes, saponosides et tester leur action régénérative.

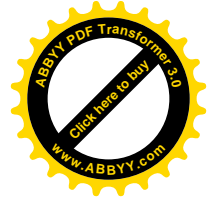
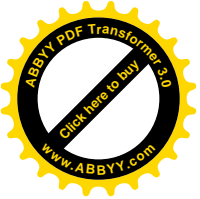
Pour confirmer l'innocuité de l'extrait de plante sur l'organisme des animaux de laboratoire, il est nécessaire de prolonger la durée de l'expérimentation.

Il serait intéressant de tester l'effet de la plante sur un modèle d'animaux avec un diabète de type II spontané, en raison de sa plus forte ressemblance avec le modèle humain non insulino-dépendant.

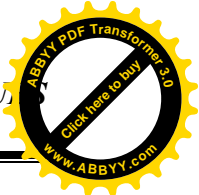
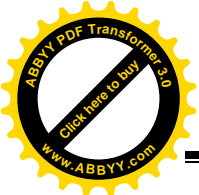
On pourrait expérimenter *in vitro* l'action de la plante sur un tissu pancréatique animal ou humain aux fins de confirmer ou d'infirmer ses effets cyto-protecteurs et son innocuité retrouvés dans notre travail.

On pourrait tester plusieurs doses de l'extrait des feuilles de la plante étudiée et plusieurs types d'extraits (alcoolique....etc), dans le but de rechercher un meilleur effet thérapeutique avec moins d'effets toxiques.

Pour confirmer nos résultats il serait souhaitable de répéter cette étude sur des échantillons quantitativement plus importants.



DISCUSSION



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adiaratou, T., (2001). *Etude de la phytochimie et de l'activité antipaludique de Alchornea cordifolia Schmach (Euphobiaceae).* Doctorat en pharmacie, Bamako (Mali), p : 42.

Alishayeh, M.S., Yani, V.Z., Mahajna, J., (2000). *Ethnobotanical survey in the Palestinian area. A classification of the healing potential of medicinal plants.* Journal of Ethnopharmacology **73**: 221-232.

Allain, C.C., Doon, L.S., Chan, C.S.G., Richmond, W., Fu, P.C., (1974). *Enzymatic determination of total serum cholesterol.* Clinchem **20**:470-475.

Almadal, T.P., Vilstrup, H., (1988). *Strict insulin treatment normalizes the organic nitrogen contents and the capacity of urea-N synthesis in experimental diabetes in rats.* Diabetologia **31**: 8-114.

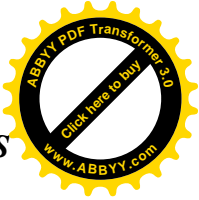
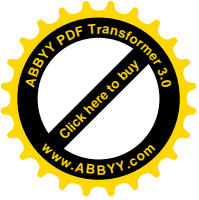
Andrade-Cetto, A., Martinez-Zuriata, E., Wiedenfeld, H., (2005). *Hypoglycaemic effect of Malmea depressa root on streptozotocin diabetic rats.* Journal of Ethnopharmacology **100**:319-322.

Babu, P.S., Prabuseenivansan, S., Ignacimuthus, S., (2007). *Cinnamaldehyde – A potential antidiabetic agent.* Phytomedicine **14**: 15-22.

Bahorun, T., Gressir, B., Troitin, F., Brunet, C., Dine, T., Luycksc, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkds, M., (1996). *Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical préparations.* Arzneimittelforschung Drug Research **46**: 1086-1089.

Bahorun, T., Aumjand, E., Ramphul, H., Rycha, M., Luximon-Rama, A., Troitin, F., Aruoma, O.I., (2003). *Phenolic constituents and antioxidant capacities of Crataegus monogyna (Hawthorn) callus extract.* Nahrung **47**:191-198.

Barkat, S., (2009). *Diabète et HTA.* Revue Médecine+ (n : 1112-2186), p : 17.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D., (2002). *Herbal medicines 2002*. Pharmaceutical Press, Royal Pharmaceutical Society, London, United Kingdom.

Belaïche, P., (1979). *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome II. Ed. Maloïne, Paris, pp:11,18.

Beloued, A., (1998). *Plantes médicinales d'Algérie*. Ed. Office des Publications Universitaires, Alger, p: 34.

Beytout, J., Tournilbac, O., Laurichesse, H., (2003). *Asplénie et hyposplénisme*. La presse médicale **32**: 34.

Biolo, G., Tessari, P., Inchiostro, S., (1992). *Fasting and post meal phénylalanine metabolism in mild type 2 Diabetes*. Am J Physiol **263**: 877-883.

Bo, W., Diane, M., (1997). *Etude sur le rôle des lymphocytes T dans le développement du diabète insulino-dépendant chez la souris NOD*. Travaux Universitaires, Thèse Doctorat, p: 204.

Bock, B., (2008). *Base de données, nomenclature de la flore de France*. www.telabotanica.org.

Bonnier, G., (1990). *La grande flore en couleur*. Tome II. 3^{ème} Ed. Belin, France, p:34.

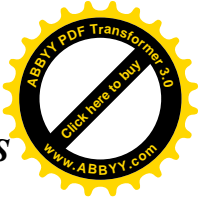
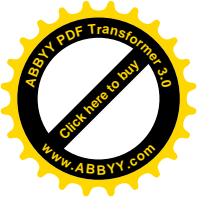
Borel, J.P., (1997). *Biochimie dynamique*. Ed. De Boek et Lacier, Paris, pp: 402-408.

Braham,D.,Trinder,P.,(1972). *Analyst* **97** :142.

Brosse, J., (2000). *Larousse des arbres et arbustes*. Ed. Larousse – Bordass, France, pp:132, 133.

Bruneton, J., (1993). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 2^{ème} Ed. Lavoisier, paris, pp: 1, 82, 83, 364,577.

Bruneton, J., (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3^{ème} Ed. Lavoisier, paris, p: 371.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BVA, FRAME, BSPCA, UFAW, Joing working group of refinement, (1993). *Removal of blood from laboratory mammals and birds.* *Laboratory Animals* **27**: 1-22.

Carvalto, E.N., Carvalto, N.A.S., Ferreira, L.M., (2003). *Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats.* *Acta Cir Bras* **8**: 60-64.

CDB, Convention of biological diversity, (1993). *Convention de Rio de Janeiro sur la diversité biologique.* www.europa.eu.

Chakravarthy, B.K., Gupta, S., Gambhir, S.S., Gode, K.D., (1981). *Pancreatic beta cell regeneration in rats by (-) epicatechin.* *Ed. Lancet, Angleterre*, pp: 273-759.

Charlton, B., Bacelj, A., Slattery, R.M., Mandel, T.M., (1989). *Cyclophosphamide induced diabetes in NOD/WEHI mice. Evidence for suppression in spontaneous autoimmune diabetes mellitus.* *Diabetes* **38**: 447-4441.

Chicouri, M.J., (1983). *Diabète.* Ed. M. A., Paris, pp: 9, 11, 59.

Christensen, k., I., (1992). *Revision of crataegus sect. Crataegus and nothosect, crataguineae (Rosaceae –Maloidea).* *The Old World. Systematic Botany Monographs.* V. **35.** Ann Arbor, Mich, American Society of plant taxonomists.

Copeau, J., (2003). *Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulinorésistance.* *Médecine Science* **19**: 834-839.

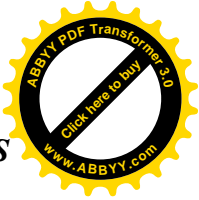
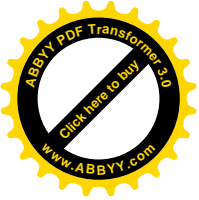
Costanso, L.S., (2001). *Physiologie.* Ed. Pradel, France, pp: 255-257.

Dellile, L., (2007). *Les plantes médicinales d'Algérie.* Ed. Berti, Alger, pp: 10, 12-14, 42-44.

Dewit, H., (1963). *Les plantes du monde.* Ed. Hachette, Paris, p: 297.

Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., (2003). *Screening phytochimique d'une plante endémique Ibéro-Marocaine, Thymeloelythroïdes.* *Bull Soc Phrm. Bordeaux* **142**: 61-78.

Djerroumi, A., Nacef, M., (2004). *100 plantes Médicinales d'Algérie.* Ed. Palais du Livre, Algérie, p: 39.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Du-Bois, A., M., (1954). *Actions de l'intoxication alloxanique sur le foie de Cobaye.* Cell and Tissu Research **40**: 585-604.

Eidi, A., Eidi, M., Sokhteh M., (2007). *Effect of fenugreek (Trigonella foenugraecum L) seeds on serum parameters in normal an streptozotocin induced diabetic rats.* Nutrition Reasearch **27**: 728-733.

Encarta, (2009). www. encarta. msn.com.

Farnier, M., (2002). *Dyslipidemies du diabétique.* Ed. Jhon Libbey, Paris, p: 21, 22.

Fehri, B., Aiache, J.M., Boukef, K., Memmi, A., Hizaoui, B., (1995). *Valeriana officinalis et Crataegus oxyacantha: Toxicité par administrations répétées et investigations pharmacologiques.* J Pharm Belg **46**: 165-176.

FNLCC, fédération nationale des centres de lutttes contre le cancer, (2009). *Dictionnaire descancers.* www.Fnclcc.fr.

Gaw, A., Murphy, M.J., Cowan, R.A., O'reilly, D.St. J., Stewart, M.J., Shepherd, J., (2004). *Biochimie Clinique.* Ed. Elsevier-SAS, France, pp: 30,58, 60.

George, P., Ludvik, B., (2000). *Lipids and Diabètes.* JClin Basic Cardiol **3**: 159.

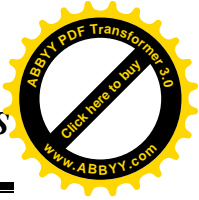
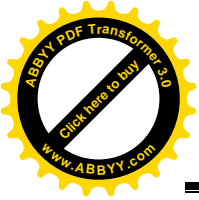
Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A.M., (2001). *Le préparateur en pharmacie.* Ed. Techniques et Documentations, Paris, pp: 100-156.

Goetz, P., (2007). *Phytothérapie du Diabète.* Phytothérapie **5**: 212-217.

Grimaldi, A., (2005). *Traité de diabétologie.* Ed. Flammarion, Paris, pp: 1-116.

Guénard, H., Bioulac, B., Boisseau, M.R., (2001). *Physiologie humaine.* 3^{ème} Ed. Pradel, France, pp: 255, 257, 468.

Guillausseau, P.J., Michelin, M.L., (2003). *Physiopathologie du diabète de type 2.* La Revue de Médecine Interne **24**: 730-737.



Halimi, S., Debaty, I., Villaret, L., Muller, M., (2008). *Les nouveaux traitements du diabète de type 2: quelle place pour les incretines et le rimonabant par rapport aux précédents.* La Revue Médecine Interne **29**: 881-890.

Hammiche, V., (1995). *Morphologie et systématique botanique.* Ed. Office des Publications Universitaires, Alger, pp: 180-183.

Hennen, G., (1996). *Biochimie humaine: Introduction biochimique à la médecine interne.* Ed. De Boek et Lacier, Belgique, pp: 154, 245,68.

Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B., Kromhout, P., (1993). *Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. The Zutphen elderly study.* Lancet **342**: 1007-1011.

Hii, C.S.T., Howell, S.L., (1984). *Effect of epicatechin on rat islets on Langerhans.* Diabetes **33**: 291-296.

Hong, C.Y., Chia, K.S., (1998). *Diabetic nephropathy.* J Diabetes complications **1**: 43-60.

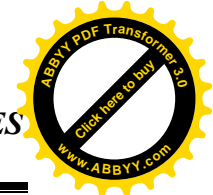
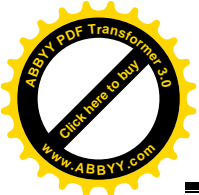
Houlot, R., (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie.* Ed. Maloine, Paris, pp: 19-21, 225-227.

Hubert, T., (2003). *Thérapies cellulaires du diabète: Evaluation in vivo de la sécrétion d'insuline après autogreffe d'Ilots chez le porc pancreatectomisé.* Thèse de Doctorat Vétérinaire, Bordeaux, France, pp: 1-31.

Idelman, S., Verdeti, J., (2000). *Endocrinologie et Communications cellulaires.* Ed. Sciences, France, pp: 281-425.

INPN, (2008). *Inventaire National du Patrimoine Naturel: Crataegus azarolus L.* www.inpn.fr.

Iserin, P., (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales.* Ed. Larousse, France, pp: 11-30, 302.



Jacobs, V.J., Vandenmark, P.J., (1960). *The purification and properties of the alpha-glycerophosphate- oxidizing enzyme of Streptococcus faecalis 10C1.* Arch Biochem Biophys **88**: 250-255.

Jouad, H., Lemhadri, A., Maghrani, M., Burcelin, R., Eddouks, M., (2003). *Hawthorn evokes a potent antihyperglycemic capacity in streptozotocin induced diabetic rat .* Journal of Herbal Pharmacotherapy **3**:19-23.

Junod, A., Lambert, A.E., Stauffacher, W., Renold, A.E., (1967). *Diabetogenic action of streptozotocin.* Proc Soc Exp Biod Med **126**: 5-201.

Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Ogugbuaja, V.O., (2004). *Identification of active principles of M. balsamina (balsam Apple) leaf extract.* J Med Sci **4**: 179-182.

Kesari, A.N., Kesari, S., Singh, S.K., Gupta, R.K., Watal, G., (2007). *Studies on the glycemic and lipidemic effect of Murraya koenigii on experimental animals.* Journal of Ethnopharmacology **112**: 305-311.

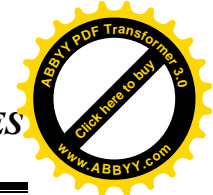
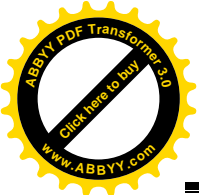
Koditschek, L.K., Umbreit, W.W., (1969). *Alpha-glycerophosphate oxidase in Streptococcus faecium F24.* J Bacteriol **98**: 1063-1068.

Kolb, H., Kiesel, H., Greulich, B., Vander Bosh, J., (1982). *Lack of antidiabetic effect of (-) epicatechin.* Lancet **1**: 1303-1304.

Korganow, A.S., Weber, J.C., Martin, T., (1999). *Models animaux et maladies autoimmues.* Rev Med Interne **20**: 6- 283.

Korza, A., Bernard, C., Parent, V., Penicaud, L., Froguel, P., Gauguier, D., (1997). *Are animal models of diabetes relevant to the study of the genetics of non insulin dependent diabetes in humans?.* Diabete and metabolism **23**: 38-46.

Koyuncu, T., Pinar, Y., Lule, F., (2007). *Convective drying characteristics of azaole red (Crataegus monogyna Jacq) and yellow (Crataegus aronia Bosc) fruits.* Journal of Food Engineering **78**: 1471-1474.



Kurky-Paulin, S., Cachot, V., penforins, H., (2007). *Cetoacidose diabétique*. Elsevier – Masson-SAS, Paris, p:1.

Lacroix, B., (2006). *Le syndrome plurimétabolique d'insulinorésistance*. Nutranews, Information et Actualité, Nutrition, Prevention du Vieillessement, p:5.

Lamnaouer, D., (2008). *Plantes médicinales du Maroc: usages et Toxicité*. pp: 1-7. www.uae.ma (fichier pdf).

Lang, C.M., Munger, R.L., Rapp, L., (1977). *The guinea pig as an animal model of diabetes mellitus*. Lab Anim Sci **27**: 789-805.

Larkins, N., Wynn, S., (2004). *Pharmacognosy: Phytomedicines and their mechanisms*. Vet Clin Small Anim **34**: 291-327.

Larousse, (2008). www. Larousse.fr.

Lenzen, S., Pauten, U., (1988). *History and mechanism of action*. Diabetologia **31**:337-342.

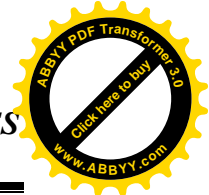
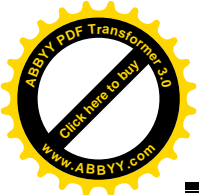
Like, A.A., Rossini, A.A., (1976). *Streptozotocin induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes melitus*. Ed. Science **193**: 415-417.

Liu, Z., Li, J., Zeng, Z., Liu, M., Wang, M., (2007). *The antidiabetic effect of Cysteiny-Metformin, Anewly sunthesized agent, in alloxan and streptozotocin induced diabetic rats*. Chemico-Biological Interactions **5522**: 1-20.

Ljubuncic, P., Portanaya, I., Cogan, U., Azaizeh, H., Bomzon, A., (2005). *Antioxidant activity of Crataegus aronia extract used in traditional arab medicine in Israel*. Journal of Ethnopharmacology **101**: 153-161.

Lubetzki, J., Chanson, P., Guillausseau, P.J., (2000). *Endocrinologie et maladies métaboliques*. Flammarion, Paris, p: 334.

Luo, Y., Chen, G., Ji, B., Guo, Y., Tian, F., (2008). *Evaluation of antioxidative and hypolipidemic properties of a novel functional diet formulation of Auricularia auricularia and Hawthorn*. Innovative Food Science and Emerging Technologies **30**: 1-7.



Luton, J.P., Thomopoulos, P., Basdevant, A., (1999). *Endocrinologie, Nutrition et Maladies Métaboliques*. Ed. Flammarion, Paris, pp:178-192.

Magan, C., (2006). *Lipotoxicité et insulino-résistance*. Nutrition, Clinique et Métabolisme **20**: 108-113.

Maire, R., (1980). *Flore de l'Afrique du Nord*. Ed. Le Chevalier, Paris, **15**, pp:140,141.

Marles, R.J., Farnsworth, N.R., (1995). *Antidiabetic plants and their active constituents*. Phytomedicine **2**: 137-189.

Marshall, W.J., Bangert, S.K., (2005). *Biochimie médicale, physiopathologie et diagnostic*. Elsevier-SAS, Paris, p: 247.

Metais, P., (1990). *Biochimie clinique, biochimie analytique*. Tome I. Ed. Simep, France, p: 69.

More, D., White, J., (2005). *Encyclopédie des arbres, plus de 1800 espèces et variétés du monde*. Ed. Flammarion, Paris, pp: 457.

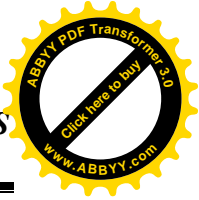
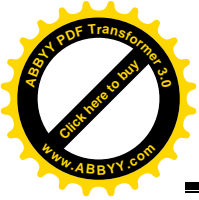
Nakhooda, A.F., Like, A.A., Chapel, C.I., Murray, F.T., Marliss, E.B., (1977). *The spontaneously diabetic Wistar rat. Metabolic and morphologic studies*. Diabetes **26**: 12-100.

Nakhooda, A.F., Like, A.A., Chapel, C.I., Wei, C.N., Marliss, E.B., (1978). *The spontaneously diabetic Wistar rat (the BB rat): the significance of transient glucosuria*. Journal Diabete Metab **4**: 9-255.

Newman, D.J., Price, C.P., (1999). *Renal function and nitrogen metabolites. Clinical chemistry*. 3^{ème} Ed. Burtis CA et Wood ER, philadelphia, p: 1204.

Nukaduska, M., Yoshima, Y., Nishida, M., Kawada, J., (1990). *Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin- induced cytotoxicity*. J Endocrino **127**: 161-165.

Okmu, D.E., (2005). *Vitamins and mineral contents of two nigerian medicinal plants*. Int J Mol Adv Sci **1**: 375-381.



Oliveira, H.C., Dos-Santos, M.P., Grigulo, R., Lima, L.L., Martins, D.T.O., Lima, J.C.S., Stoppiglia, L.F., Lopes, C.F., Kawashita, N.H., (2008). *Antidiabetic activity of valairea macrocarpa extract in rats*. Journal of Ethnopharmacology **111**: 515-519.

OMS, (1985). *Le diabète sucré*. Ed. OMS, Genève, pp: 46, 55.

OMS, UICN, WWF, (1993). *Directeurs pour la conservation des plantes médicinales*. Ed. Gland, Suisse, p: 57.

OMS, (2002). *Médecine traditionnelle : Besoins croissants et potentiel*. Ed. OMS, Genève, pp: 1-6.

OMS, (2003). *Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales*. Ed. OMS, Genève, pp: 1-84.

Orskov, H., Olsen, T.S., wielsen, K., Rafael, O.J., Lundbeak K.K. (1965). *Kidney lesions in rats with severe long terme alloxan*. Diabetologia **1**: 172-179.

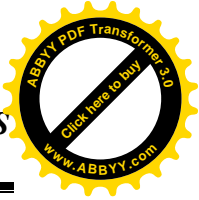
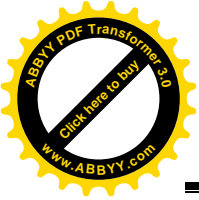
Ortiz, L.E., (1993). *Encyclopédie des herbes et des épices: Toutes les saveurs du monde*. Ed. Reader's Digest, Paris, p: 288.

Osei, K., Falko, J.M., Nelson, K.P., Stephens, R.C., (1984). Diabetogenic effect of pentamidine in vitro and in vivo studies in patient with malignant insulinoma. Am JMed **77**: 41-46.

Ouali, K., Trea, F., Toumi, L., Bairi, A., Maurel, D., Guellati, M.A., (2007). *L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental*. Phytothérapie **5**: 204-209.

Ozturk, Y., Atlan, V.M., Yildizoguari, N., (1996). *Experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions*. Pharmacol Rev **48**: 69-112.

Perez, G.R.M., Zavala, S.M.A., Perez, G.S., Perez, G.C., (1998). *Antidiabetic effect of compounds islated from plants*. Phytomedicine **5**: 55-75.



Petkov, V., (1979). *Plants and hypotensive, antiatheromatous and coronaro-dilating action.* Ed. American Journal of Chinese Medicine.

Petrides, P., Weiss, L., Loffler, G., Wieland, O.H., (1980). Diabète sucré, bases théoriques cliniques et thérapeutiques. Ed. Médecines et Sciences Internationales, Paris, pp: 43,44, 53-56.

Pocock, G., Richards, C.D., (2004). *Physiologie humaine : Les fondements de la médecine.* Ed. Masson, Paris, pp: 565-575.

Quezel, P., Santa, S., (1962). *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales.* Ed. Le centre National de la Recherche Scientifique, France, p: 460.

Rajendran, S., Deepalakshmi, P.P., Parasakthy, K., Devaraj, H., Niranjali, S., (1996). *Effect of tincture of Crataegus on the LDL-receptor activity of hepatic plasma membrane of rats fed an atherogenic diet.* *Atherosclerosis* **123**: 235-241.

Rakieten, N., Rakieten, M.L., Nadkarni, M.V., (1963). *Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (Nsc-37917).* *Cancer Chemother Rep* **29**: 8-91.

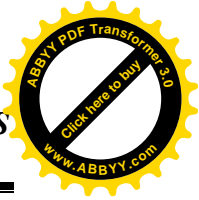
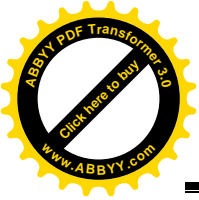
Rice, E., (2004). *Flavonoides and isoflavones: Absorption, metabolism and bioactivity.* *Free Radical Biology and medicine* **36**: 827, 828.

Riensen, W.F., (1998). *Lipid metabolism in Thomas L Ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assesment of clinical laboratory results.* Ed. Main TH-Books, verlagsgesellschaft, Frankfurt, pp: 171-173.

Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J., (1999). *Lipids, Lipoproteins and apolipoproteins.* 3^{ème} .Ed. Burtis CA, Achwool, Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Filadelfia, pp: 61-809.

Rigelsky, J.M., Sweet, B.V., (2002). Hawthorn: Pharmacologie and therapeutic uses. *Am J Health Syst Pharm* **59** :417-422.

Rostand, J., Courrier, R., Fage, L., (1980). *Le grand livre des plantes tout en couleurs.* Ed. Les Coqs d'Or, Paris, p: 74.



Sabu, M.C., Smitha, K., Kutta, R., (2002). *Antidiabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes.* Journal of Ethno Pharmacology **83**: 109-116.

Sai, P., Baillot, D., Boitard, C., Debray-Sachs, M., Reach, G., Assan, R., (1983). *Pentamidine a new diabetogenic drug in laboratory rodents.* Diabetologia **25**: 418-423.

Said, O., khalil, K., Fulder, S., Azaizeh, H., (2002). *Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in israel, the Golan heights and the west bank region.* Journal of Ethnopharmacology **83**: 251-256.

Schorderet, M., Collaborateurs, (1989). *Pharmacologie, des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques.* Ed. Stakline, Genève, **1**, p: 489.

Schnebelen, B.A., Goetez, P., Grassant, E., (2006). *Tout savoir sur les plantes médicinales.* Ed. Reader's Digest, Paris, p: 44.

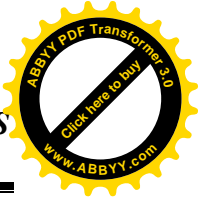
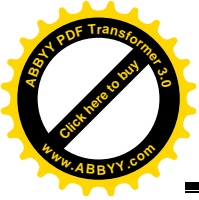
Schoutten, C., Girardon, P., (1986). *Le cryobroyage, une technique qui atteint sa majorité.* Revue Générale du Froid **76**: 557-560.

Shafir, E., Ziv, E., (1998). *Cellular mechanism of nutritionally induced insulin resistance: The desert rodent *Psammomys obesus* and other animals in which insulin resistance leads to determinantal outcome.* J Basic Clin Physiol Pharmacol **9**:85-347.

Shafir, E., Ziv, E., Mosthaf, L., (1999). *Nutritionally induced insulin resistance and receptor defect leading to β cell failure in animal models.* AM NY Accad Sci **892**: 46-293.

Shafir, E., (2001). *Albert Renold memorial lecture: Molecular back ground of nutritionally induced insullin resistance leading to type 2 diabetes from animal models to humans.* Int J Diabetes Res **2**: 299-319.

Shanmugasundaram, K.R., Panneerselv, C., Samudram, P., Shunmugasundaram, E.R.B., (1983). *Enzyme changes and glucose utilisation in diabetic rabbits: The effect of *Gymnema sylvestre*.* R Br J Ethnopharmacol **7**: 34-205.



Sirois, C., (2006). *Au dela de l'action antihyperglycemiant: Les effets cardiovasculaires potentiels des antidiabétiques oraux.* Pharmactuel **39**: 76-82.

Simons, J.E., Young, R.S.H., Berman, E., (1995). Evaluation of the nephrotoxicity of complex mixtures containing organic metals: Advantages and disadvantages of the use of real world complex mixtures. Environ Health Perspect **103**: 67-71.

Smith, C.L., Hammond, G.L., (1991). *An amino acid: Substitution in biobreding rat corticosteroid binding globulin results in reduced steroid binding affinity.* J Bio Chem **226**: 18555-18559.

Sophie, A., Ehrhart, N., (2003). *La phytothérapie, se soigner par les plantes.* Ed. Groupe Eyrolles, Paris, pp: 25-30.

Southon, S., Geo, J., Jhonson, T.T., (1984). *System diet for mice and rats.* Brit Nutr **58**: 371-380.

Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figcart, M., (2000). *Botanique systématique des plantes à fleurs.* Ed. Presses Polytechnique et Universitaires Romandes, Lausanne, p:188.

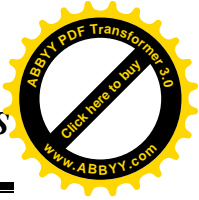
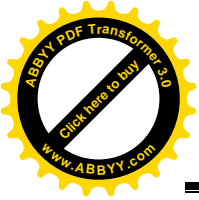
Srinivasan, K., Ramarao, P., (2007). *Animal models in type2 diabetes research: An overview.* Indian J Med **125**:451-472.

Stryer, B., Berg, J., Tymoczko, J.L., (2003). *Biochimie.* 2^{ème} Ed. Flammarion, Paris, p: 616.

Sun, Y., Ma, X., Zhou, D., Vacek, I., Sun, A., M., (1996). *Normalization of diabetes in spontanessouly diabetic cynomologus monkeys by xenografts of microencapsulated porcine islets without immunosupression.* J Clin Invest **98**: 1417-1422.

Sutherland, D.E., (1994). *Pancreas tranplants.* Br J Surg **81**: 2-4.

Svedstrom, U., Vuorela, H., Kostiainen, R., Laokso, I., Hiltunen, R., (2006). *Fraction of polyphenols in Hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoides prior to high-performance liquid chromatographic analysis.* Journal of Chromatography **1112**: 103- 111.



Szukukudelski, T., (2001). *The mechanism of alloxan and streptozotocin. Action in β cells of the rat pancreas.* *Physiol Res* **50**: 536-546.

Tang, L.Q., Wei, W., Chen, L.M., Lieu, S., (2006). *Effects of berberine on diabète induced by alloxan and high-fat/high-cholesterol diet in rats.* *Journal of Ethnopharmacology* **108**: 109-115.

Teuscher, A., Richterich, P., (1971). *Schweiz-Med. Wschr* **101**: 345, 390.

Thomas, L., (1998). *Alanine aminotransferase (ALT), Aspartat aminotransferase (AST). Clinical laboratory diagnostics.* Ed. TH Book verlagsgesellschaft, Frankfurt, pp: 55-65.

Thomas, L., (1998). *Clinical laboratory diagnostics.* 1^{ère} Ed. TH Books verlagsgesellschaft, Frankfurt, pp:7-374.

Travis, J.C., (1980). *Clinical radio-immunoassay –state of the ART.* Ed. An heim : Scientific Newsletters, INC. Radioassay-ligand assay, pp:89-92.

Trinder, P., (1969). *Ann Clin Biochem* **6**: 24-27.

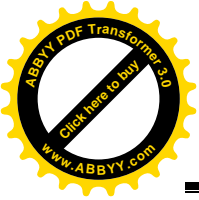
Triviolet, C., Halimis, S., (1994). *Rappel physiologique-Extrapolation fontionnelle.* Ed. Simep. France, pp: 307, 358.

Turk, J., Corbett, J.A., Ramandham, S., Boher, A., Mcdaniel, M.L., (1993). *Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets.* *Biophys Res Commun* **197**: 1458-1464.

Vats, V., Yadav, S.P., Grover, J.K., (2004). *Ethanollic extract of Ocimum sanctum leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohyd rate metabolism in rats.* *J Ethnopharmacol* **90**: 155-160.

Venkateswaram, S., Pari, L., (2002). *Effect of Coccina indica on blood glucose, insulin and key hepatic enzymes in experimental Diabetes.* *Pharmaceutical Biology* **40**: 165-170.

Vervis, M., Koche, E., Chatterjee, S.S., (2004). *Crataegus, special extract WS(R) 1442 improves cardiac function and reduces infarct size in rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion.* *Life Sciences* **74**: 1945-1955.



Vidal, (2009). www.vidal.fr.

Vugan, V.C., McKay, R.J. (1980). *Traité de pédiaterie*. Ed. Doin, Paris, p: 1441.

Wang, H.X., Ng, T.B., (1999). *Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and anti thrombotic activities*. *Life Sciences* **65**: 2663-2677.

Weichselbaum, T.E., (1946). *An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma*. *Amer J Clin Path* **16**: 40-48.

West, I.C., (2000). *Radicals and oxidative stress in diabetes*. *Diabetic Medicine* **17**: 171-180.

Wheater, P.R., Young, B., Health, J.W., (2001). *Histologie fonctionnelle*. Ed. De Boek, Belgique, p: 406.

White, F.R., (1963). *Streptozotocin*. *Cancer Chemo Ther* **30**: 49-53.

Whichtl, M., Anton, R., (1999). *Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Ed. Tec and Doc-EMinter, France, pp:23-36.

Yasumami, R., Bach, J.F., (1988). *Antisuppression effect of cyclophosphamide on the development of spontaneous diabetes in NOD mice*. *Eur J Immunol* **18**: 481-484.

Zhang, Z., Chang, Q., Zhru, M., Huang, Y., How, K.K., Chen, Z.Y., (2001). *Caractérisation of antioxidants present in hawthorn fruits*. *Journal of characterization of antioxidants present in Hawthorn fruits*. *Journal of Nutritional Biochemistry* **12**: 144-152.