



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et
Département de Biologie Tlemcen

*Laboratoire : Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie,
Synthèse et Activité biologique*

MEMOIRE

Présenté par

BOUFATAH Meriem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie molécules bioactives

Thème

Contribution à la recherche de l'effet des extraits bruts et flavonoïdes de *Traganum nudatum* sur des coupes fines de tissu hépatique isolées des rats Wistar *in vitro*.

Soutenu le 09 /07/2017 devant le jury composé de :

Mr DJAZIRI R.	Professeur	Président	Université de Tlemcen
Mr AZZI R.	Maitre de conférences	Examineur	Université de Tlemcen
Mr LAHFA F.	Maitre de conférences	Promoteur	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2016-2017

Remerciements

En premier lieu je tiens à remercier Monsieur LAHFA. F, doyen et Maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou BekrBelkaïd-Tlemcen- pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses encouragements et ses conseils judicieux tout le long de la réalisation de ce mémoire. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier profondément Monsieur DJAZIRI .R, Professeur au département de Biologie, Université Abou BekrBelkaïd-Tlemcen-, pour avoir accepté de présider le jury.

Je tiens à remercier profondément Monsieur AZZI .R, Maître de conférences au département de Biologie, Université Abou BekrBelkaïd-Tlemcen-, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail Surtout Mme Abdellaoui F et MEZOUAR D les doctorantes dans le département de Biologie Tlemcen

Dédicace

Je dédie spécialement ce travail à mes parents, pour leurs encouragements, leur tendresse, leur amour et leur soutien durant mes études.

À mon mari

À ma sœur et mon frère

À mes nièces et mon enfant adoré rayane

À toute ma famille, ma belle famille et mes amis

المخلص

استُخدم الطب التقليدي دائماً كقاعدة، بحثاً عن عناصر دوائية نشطة جديدة عبر الفحص التجريبي الكيميائي النباتي و التنوع البيولوجي لمستخلصات الأعشاب الطبية .

و من بين هذه النباتات، نركز على " *Traganum nudatum* " من العائلة السرمقية المستعملة تقليدياً لعلاج مرض السكري .

يُخصّص الهدف من هذا العمل للدراسة الكيميائية النباتية للمستخلصات الخامّة و الفلافونيدات النباتية .

و هكذا، كان تقييم نشاطهم ضدّ السكري في المخبر على مقاطع رقيقة من نسيج الكبد لإناث الفئران "ويستار" .

في المخبر، تمّ احتضان شرائح رقيقة من نسيج الكبد في وسطين": $4\% \text{KRBA}$

نسبة السكر في الدم بالنسبة للوسط الأول سوية (1غرام/لتر)، أمّا الوسط الثاني فنسبة السكر في الدم فيه فارطة (3غرام/لتر) الذي يعكس حالة مرض السكري في حالة وجود الأنسولين و المستخلصات بتركيزات مختلفة لمدة 30 ، 60 و 90 دقيقة من أجل اختبار أثرهما على إمتصاص الجلوكوز من طرف مقاطع الكبد المعزولة .

النتائج المحصّل عليها في نهاية الحضان تبيّن أنّ مقاطع الكبد لديها إستهلاك قاعدي من الترتيب 0.11 غرام/لتر في الوسط الحضاني ذو 1غرام/لتر و ترتيب 0.28 غرام/لتر في الوسط الحضاني ذو 3غرام/لتر

كذلك ، لوحظ أنّ المستخلصات ذات 500ميكروغرام/ملتر و الأنسولين ذو 100ميكرووحدة/ملتر تُنشّط إختراق الجلوكوز في المقاطع الرقيقة لنسيج الكبد بطريقة أكثر فعالية بالنسبة للتراكيز الأخرى في الوسطين وفي مجالات زمنية مختلفة .

مقارنة بالأنسولين نقترح أنّ المستخلصات لديها تأثير سكر الدم الأنسولين مثل إمتصاص الجلوكوز من طرف نسيج الكبد

الكلمات المفتاحية: " *Traganum nudatum* " , نسيج الكبد , الأنسولين , الفلافونيدات النباتية.

Résumé

La médecine traditionnelle a toujours servi comme une base à la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening expérimental phytochimique et biologique des extraits de plantes médicinales. Parmi ces plantes, nous nous intéressons à *Traganum nudatum*, famille de chénopodiacées qui est utilisée traditionnellement pour traiter le diabète sucré, L'objectif de ce travail est consacré à l'étude phytochimique des extraits bruts et de de la plante ainsi que l'évaluation de leurs activités antidiabétiques *in vitro* sur des coupes fines de tissu hépatique des rats Wistar femelle.

In vitro, les coupes fines de tissu hépatique, ont été incubées dans deux milieux de KRBA 4% le premier étant normo glycémique (1g/l) et le deuxième étant hyper glycémique (3g/l) qui reflète l'état diabétique, en présence d'insuline ou des extraits bruts et flavonoïdes à différentes concentrations pendant 30, 60 et 90 min, afin de tester leurs effets sur la captation de glucose par les coupes fines hépatiques isolées.

Les résultats obtenus montrent que nos coupes ont une consommation basale de l'ordre de 0,11 g/l dans le milieu d'incubation à 1g/l, et de l'ordre de 0,28 g/l dans le milieu d'incubation à 3g/l à la fin de l'incubation .De même, il à été remarqué que nos extraits à 500µg/ml et l'insuline à 100µU/ml activent la pénétration de glucose dans les coupes fines de tissu hépatique de manière plus efficace par rapport aux autres concentrations dans les deux milieux d'incubation et à différents intervalles de temps.

Comparativement à l'insuline, on suggère que nos extraits ont un effet hypoglycémiant insuline like sur la captation de glucose par le tissu hépatique.

Mots clés : diabète sucré, *Traganum nudatum*, coupes fines de tissu hépatique, captation de glucose.

Abstract

Traditional medicine has always served as a basis for the search for new active therapeutics agents via phytochemical screening and biological extracts of medicine plants. Among them are *Traganum nudatum* which is a plant of the family of chenopodiaceae traditionally used to treat diabetes mellitus, which is a serious chronic disease whose prevalence is increasing throughout the world. The objective of this work is devoted to the phytochemical study of the crude extract and flavonoids extract of this plant as well as the evaluation of their antidiabetic activities during the thin sections of hepatic tissue isolated from the rats Wistar female.

In vitro, thin slices of hepatic tissue were incubated in two media of KRBA 4%, the first being normoglycemic and the second being hyperglycemia which reflects the diabetic state in the presence of insulin and extracts at different concentrations for 30, 60 and 90 minutes in order to test their effects on glucose uptake by slices of hepatic tissue isolated.

The results obtained show that our slices have a basal consumption of the order of 0.11 g/l in the incubation medium at 1 g/l and of the order of 0.28 g/l in the incubation medium at 3 g/l. At the end of incubation it was observed that our extracts at 500 µg/ml and insulin at 100 µU/ml activated glucose penetration in slices of hepatic tissue more efficiently compared to other concentrations in the two media and at different time intervals.

Compared to insulin, we suggest that our extracts have a hypoglycaemic effect probably of type insulin like on the capture of glucose by hepatic tissue

Key words: mellitus diabetes, *Traganum nudatum*, slices of hepatic tissue, uptake of glucose.

Table des matières

Introduction générale.....	1
I. Homéostasie glucidique :.....	3
1. Le foie :.....	3
1.1. Organisation structurale :.....	3
1.2. Fonction métabolique hépatique :.....	4
1.2.1. Le métabolisme glucidique :.....	4
1.2.2. Métabolisme lipidique :.....	5
1.2.3. Métabolisme protéique :.....	5
1.2.4. Métabolisme des xénobiotiques :.....	5
1.3. Transport de glucose dans le foie :.....	5
2. Le muscle squelettique :.....	6
3. Le tissu adipeux blanc :.....	6
4. Le Pancréas :.....	6
4.1. Insuline :.....	7
4.2. Le glucagon :.....	7
II. Diabète sucré :.....	8
1. Définition de diabète sucré :.....	8
2. Epidémiologie :.....	8
3. Classification :.....	8
3.1. Le diabète de type 1 (précédemment appelé insulino-dépendant DID) :.....	8
3.2. Le diabète de type 2 (précédemment appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité) :.....	9
3.3. Diabète gestationnel :.....	9
4. Symptômes :.....	9
5. Complications du diabète sucré :.....	10
4.les traitements du diabète sucré :.....	11
4.1. Le traitement du diabète de type 1 :.....	11
4.2. Le traitement du diabète de type 2 :.....	11
4.2.1. Traitement médicamenteux.....	11
a. Médicaments qui augmentent la sécrétion de l'insuline.....	12
b. Médicaments qui augmentent la sensibilité à l'insuline.....	13
c. Médicaments qui modifient l'absorption intestinale du glucose.....	13
4.2.2. Insulinothérapie :.....	14

III. La phytothérapie :.....	15
1. Introduction :.....	15
2. Les plantes médicinales :.....	15
3. Les principes actifs :.....	15
3.1. Les flavonoïdes :.....	16
3.1.1. Définition :.....	16
3.1.2. Structure :.....	16
4. Les plantes antidiabétiques :.....	16
IV. La plante étudiée : <i>Traganum nudatum</i>	18
1. Place de <i>Traganum</i> dans la systématique :.....	18
2. Description botanique de <i>Traganum nudatum</i> :.....	18
3. Répartition géographique :.....	19
4. Utilisations thérapeutiques de <i>Traganum nudatum</i> :.....	19
5. Etudes antérieures :	19
Matériels et méthodes.....	20
1. Analyse phytochimique :.....	20
1.1. Matériel végétal :	20
1.2. Extraction :.....	20
1.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique :.....	20
1.2.2. Préparation des extraits enrichis en flavonoïdes.....	20
1.3. Chromatographie des extraits sur couche mince (CCM) :.....	20
2. Test de la captation de glucose.....	23
2.1. Animaux :.....	23
2.2. Préparation du milieu d'incubation KRBA :.....	23
2.3. Dissection des rats :.....	24
2.4. Récupération du foie et lavage :.....	24
2.5. Viabilité et numérotation cellulaire.....	24
2.6. Incubation des coupes de tissu hépatique :.....	24
2.7. Prélèvement à partir des puits :	26
2.8. Dosage de glucose :.....	26
3. Analyse statistique :	29
3.1. Test de Student :	29
résultats et interprétation:.....	30

I. Etude phytochimique :	31
II. Test de captation de glucose	32
1. Numération cellulaire :	32
2. Captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique :	32
2.1. Consommation basale de glucose :	32
2.2. Effet de l'insuline sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique :	34
2.3. Effet des extraits bruts et de flavonoïdes sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique :	37
2.3.1. Effet de l'extrait brut dans les deux milieux d'incubation :	37
Discussion	46
Conclusion générale	49
Références bibliographiques	50

Liste des figures

Figure1 : régulation de la glycémie	03
Figure 2 : Structure globale du foie	04
Figure 3 : Action des différentes classes d'antidiabétiques sur les acteurs de la pathogénie du Diabète de type 2	12
Figure 4 : Structure générale des flavonoïdes	16
Figure 5 : la plante <i>Traganum nudatum</i>	19
Figure 06 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental	22
Figure 07 : Schéma récapitulatif du mode opératoire de l'incubation des coupes de tissu hépatique	28
Figure 08 : Concentration de glucose capté en présence de 1g/l de glucose en absence et en présence des coupes de foie à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	33
Figure 09 : Concentration de glucose capté en présence de 3g/l de glucose en absence et en présence des coupes de foie à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	33
Figure 10 : Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu hépatique à 1 g/l en présence de différentes concentration d'insuline à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	35
Figure 11 : Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu hépatique à 3 g/l en présence de différentes concentration d'insuline à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	36
Figure 12 : Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 1g/l de glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	38
Figure 13 : Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 3g/l de glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	39
Figure 14 : Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 1g/l en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïde à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	40

Figure 15 : Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 3g/l en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïde à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).....	41
Figure 16 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 100 µU/ml dans un milieu d'incubation à 1 g/l de glucose.....	42
Figure 17 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 100 µU/ml dans un milieu d'incubation à 3 g/l de glucose.....	42
Figure 18 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 50 µU/ml dans un milieu d'incubation à 1g/l de glucose.....	43
Figure 19 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 50 µU/ml dans un milieu d'incubation à 3g/l de glucose.....	43
Figure 20 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500µg/ml et l'effet de l'insuline à 100µU/ml dans un milieu d'incubation à 1g/l de glucose.....	44
Figure 21 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500µg/ml et l'effet de l'insuline à 100µU/ml dans un milieu d'incubation à 3g/l de glucose.....	44

Liste des tableaux

Tableau 01 : Complications du diabète.....	10
Tableau 02 : Modes d'actions de quelques plantes antidiabétiques	17
Tableau 03 : Préparation du KRB	23
Tableau 04 : Milieux des témoins utilisés.....	25
Tableau 05 : Milieux d'incubation contenant les extraits bruts	25
Tableau 06 : milieux d'incubation contenant les extraits de flavonoïdes.....	25
Tableau 07 : Méthode de dosage	27
Tableau 08 : résultats de l'analyse chromatographique sur couche mince	31
Tableau 09 : Captation de glucose par des coupes fines du tissu hépatique en présence de différentes concentrations d'insuline à 1g/l de glucose.....	34
Tableau 10 : Captation de glucose par des coupes fines du tissu hépatique en présence de différentes concentrations d'insuline à 3g/l de glucose.....	35
Tableau 11 : Captation de glucose par les coupes fines du tissu hépatique isolées en présence de différentes concentrations d'extrait brut à 1g/l et à différents intervalles de temps.....	37
Tableau 12 : Captation de glucose par les coupes fines du tissu hépatique isolées en présence de différentes concentrations d'extrait brut à 3g/l et à différents intervalles de temps.....	38
Tableau 13 : Captation de glucose par des hépatocytes en présence de différentes concentrations des extraits de flavonoïdes à 1g/l et à différents intervalles de temps.....	40
Tableau 14 : Captation de glucose par des hépatocytes en présence de différentes concentrations des extraits de flavonoïdes à 3g/l et à différents intervalles de temps	

Liste des abréviations

ADA: American Diabetes Association

BSA : Albumine Bovine serique

CCM: Chromatographie sur couche mince

DID : Diabète insulino dépendant

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DNID : Non insulino dépendant

DOD : Densité optique de dosage

DOE : Densité optique de l'étalon

DT2 : Diabète de type 2

EAc : Extrait de flavonoïdes

EB : Extrait brut

FID: Fédération Internationale de diabète

GLUT : Transporteur de glucose

GOD : Glucose-oxydase

HAS :Haute Autorité de Santé.

Ins : Insuline

KRB : Krebs-Ringer Bicarbonaté

KRBA : Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

POD : Peroxydase

Rf: Rapport frontal

UV : Ultraviolet

Introduction générale

La prévalence de nombreuses pathologies associées au dérèglement de l'homéostasie énergétique telle que le diabète est en constante augmentation. Les deux causes majeures de cette augmentation sont une diminution de l'activité physique et une alimentation très riche en lipides et en glucides. Mais des facteurs génétiques et environnementaux sont suspectés de jouer un rôle dans l'apparition et le développement de ces pathologies (**Sargis, 2010**).

Le diabète représente un groupe hétérogène de maladies métaboliques et constitue un véritable problème de santé publique dans le monde. Il touche environ 422 millions de personnes, soit environ 4% de la population mondiale et on s'attend à une augmentation de 5,4% d'ici 2025 (**Al-Achi, 2005**). Le diabète est responsable de 9% de la mortalité totale, tuant chaque année 4 millions de malades ce qui prend les proportions d'une véritable épidémie (**Ravi et al., 2005**). En Algérie, le diabète reste cependant une réalité préoccupante puisqu'il s'agit de la deuxième maladie chronique après l'hypertension (**Dali-Sahi et al., 2012**).

La pathologie est caractérisée par une hyperglycémie permanente résultant d'un déficit de sécrétion de l'insuline ou à l'incapacité de l'organisme à utiliser efficacement l'insuline qu'il sécrète, d'où la classification du diabète en deux types spécifiques : le diabète de type I (diabète insulino-dépendant ou juvénile) qui survient quand le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière (**Benkhniqie et al., 2014**). Le diabète de type II (diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité) est caractérisé par une altération de l'insulinosécrétion et des anomalies de l'action de l'insuline sur ses tissus cibles (insulinosensibilité). L'hyperglycémie est associée le plus souvent à des complications plus ou moins graves touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs (**Caquet, 2012**).

Les traitements de cette affection consistent, à contrôler le niveau glycémique des patients par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux ou par l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 2, et par l'insulinothérapie dans le cas des diabétiques de type 1 (**Charbonnel et cariou, 1997**).

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

nouvelles molécules thérapeutiques. L'administration régulière des médicaments modernes, y compris l'insuline et les hypoglycémiantes oraux (les biguanides, les sulfonylurées), engendre des effets indésirables (**Nissen et Wolski, 2007**). Récemment, les diabétologues sont arrivés à l'évidence qu'un complément thérapeutique constitué par les extraits de plantes est nécessaire pour optimiser le traitement du diabète (**Bagchi et al., 1997 ; Kim et al., 2002 ; Jin et al., 2008**).

L'objectif de la présente étude est la recherche *in vitro* des effets des extraits bruts et des extraits de flavonoïdes de *Traganum nudatum* du Sud Algérien, sur la captation de glucose au niveau des coupes de tissu hépatique de rats Wistar.

I. Homéostasie glucidique :

Les glucides sont les constituants principaux de nos régimes alimentaires quotidiens sous forme de sucres, de fibres et d'amidon. Ils fonctionnent comme des systèmes de stockage de l'énergie chimique : ils seront en effet catabolisés en eau et en dioxyde de carbone avec libérations de chaleur ou de toute autre forme d'énergie (**Vothardt et Schore, 2004**).

Chez l'homme, la glycémie doit être régulée très finement de telle sorte qu'elle soit maintenue aux alentours de $5,5 \text{ mmol. l}^{-1}$ (1 g.l^{-1}) afin de garantir un apport énergétique constant aux différents tissus. Les organes insulino-sensibles (le foie, le tissu adipeux et le muscle squelettique) et l'organe insulino-sécréteur (le pancréas) vont principalement intervenir dans l'homéostasie glucidique (**Taveau, 2014**).

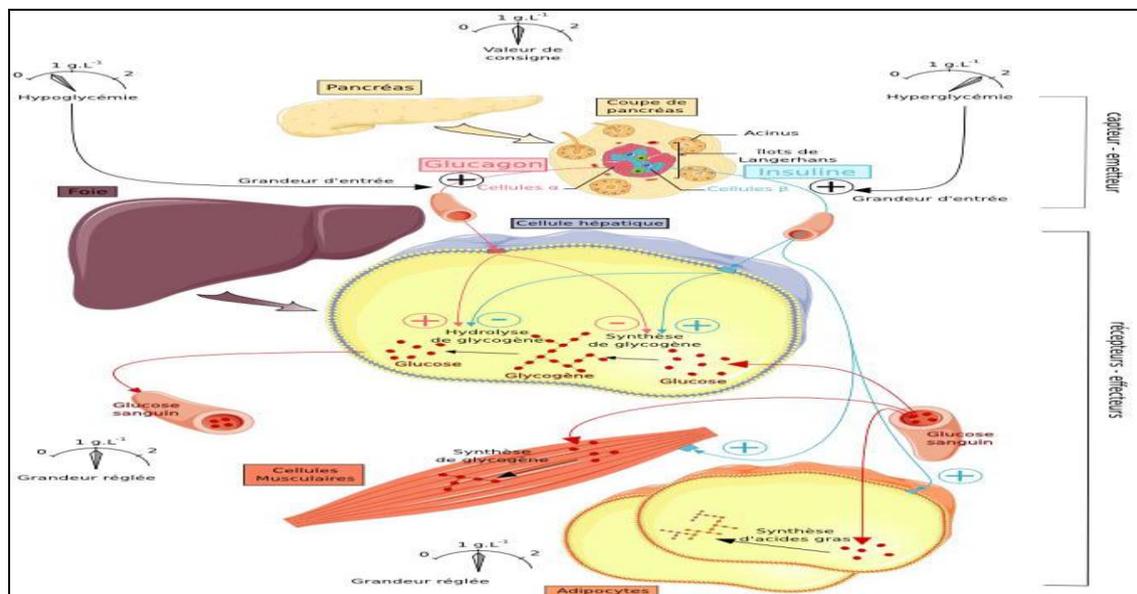


Figure1 : Régulation de la glycémie (**Taveau, 2014**).

1. Le foie :

1.1. Organisation structurale :

Chez l'homme, le foie se situe dans la cavité abdominale, sous le pôle diaphragmatique droit. C'est le viscère le plus volumineux. Très vascularisé, il reçoit environ 1500 ml/min de sang et contient en permanence 450 ml (**Bradley, Ingelfinger et al., 1945**). Il est composé de plusieurs lobes, subdivisés en segments hépatiques délimités par des cloisons fibreuses qui le divisent en unités fonctionnelles plus petites, appelées espaces porte ou lobules. Les lobules comprennent les cellules hépatiques épithéliales nommées hépatocytes,

les cellules endothéliales (cellules sinusoidales), les macrophages résidents (cellules de Kupffer) et les cellules stellaires (cellules de Ito) (Malarkey, Johnson *et al.*, 2005).

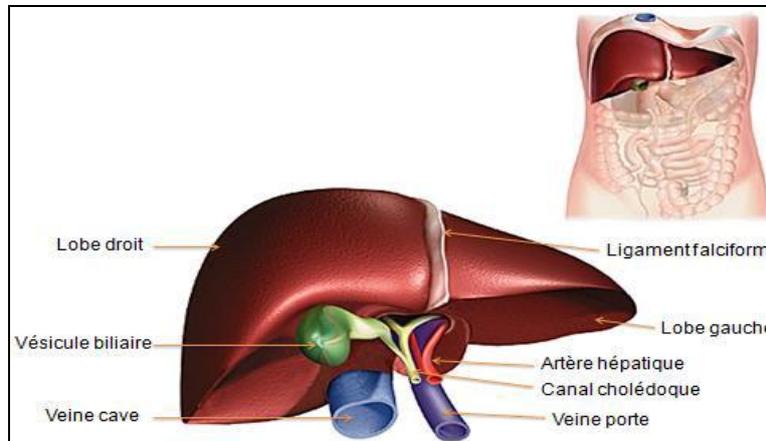


Figure 2 : Structure globale du foie (Aboura, 2012)

1.2. Fonction métabolique hépatique :

Le foie est un organe aux fonctions variées indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Placé entre le tube digestif et le reste de l'organisme, toutes les molécules absorbées subissent un effet de premier passage hépatique que ce soit les nutriments ou les xénobiotiques. Il représente, de ce fait, un carrefour entre deux fonctions importantes de l'organisme : le métabolisme énergétique et la détoxification (Zmrzljak et Rozman, 2012).

1.2.1. Le métabolisme glucidique :

Le foie est le régulateur clé des taux de glucose sanguin, c'est le seul organe à la fois producteur et stockeur de glucose selon l'état nutritionnel de l'organisme (Nordlie, Foster *et al.*, 1999).

Au cours d'un jeûne et de l'exercice physique, la production hépatique de glucose provient du catabolisme du glycogène (la glycogénolyse) et de la synthèse de glucose à partir de métabolites tels que les acides aminés (la néoglucogenèse).

Au cours d'un repas, le glucose est stocké sous forme de glycogène (glycogénogenèse) pour être libéré sous forme de glucose lors du jeûne ou de l'exercice physique. Le glucose peut

aussi être stocké sous forme de triglycérides (lipogenèse *de novo*) (Saltiel, 2001 ; Weickert, 2006).

1.2.2. Métabolisme lipidique :

Le foie a une importance capitale dans le métabolisme des lipides de manière intégrée avec les organes et les tissus du corps. Il synthétise un certain nombre de lipides, comme les lipoprotéines et le cholestérol (Molinier, 2007).

1.2.3. Métabolisme protéique :

Les hépatocytes interviennent à plusieurs niveaux du métabolisme des protéines tel que les protéines plasmatiques : fibrinogène et la prothrombine, et le métabolisme des acides aminés (Geown, 2003 ; Singh, 2011).

1.2.4. Métabolisme des xénobiotiques :

Le foie est l'organe principal du métabolisme des médicaments puisque la majorité des enzymes responsables de ces actions se trouvent principalement au siège hépatique. Pour cela, plusieurs processus biochimiques sont mis en jeu, ils aboutissent en général à la formation de produits plus polaires (hydrophiles) que la molécule d'origine, et par conséquent, plus facilement éliminés par le rein (Marchall et Bangert, 2004).

1.3. Transport de glucose dans le foie :

Le transport du glucose de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur nécessite la présence de transporteurs de glucose, les GLUT, situés à la surface de la cellule. On distingue deux types : les transporteurs de glucose dépendant du sodium (SGLT) et les transporteurs de glucose facilités (GLUT) (Joost et Thorens, 2001).

Dans le foie, les transporteurs de glucose sont appelés GLUT 2. Ces derniers sont non-insulinodépendants. Le foie capte le glucose selon son gradient de concentration. En période post-prandiale, lorsque la glycémie est élevée, les GLUT 2, avec un Km élevé, facilitent la captation de glucose par le foie et l'entrepose sous forme de glycogène ou de triglycérides. Lorsque la glycémie chute lors d'un jeun ou d'un exercice physique prolongé, les mêmes transporteurs facilitent le relâchement du glucose dans les veines hépatiques (Exton, 1972 ; Hue, 1987).

2. Le muscle squelettique :

Le muscle possède ses propres réserves de glycogène. Cet organe, est en effet, le principal utilisateur de glucose en période postprandiale (~ 30% du glucose circulant) juste après le foie. Le glucose capté par les muscles est alors :

- soit utilisé immédiatement
- soit utilisé comme substrat pour la glycogénogenèse afin d'entretenir ses réserves d'énergie.
- En plus les muscles squelettiques jouent un rôle additionnel dans la régulation de la glycémie en relargant dans la circulation sanguine des acides aminés qui seront utilisés par le foie pour la néoglucogenèse (**Spargo, Pratt *et al.* 1979 ; Yang, 2014**).

3. Le tissu adipeux blanc :

Il constitue la forme de stockage majoritaire de l'énergie en surplus lors d'un apport excessif de nutriments :

- Il absorbe essentiellement des lipides stockés sous forme de triglycérides au sein de la goutte lipidique des adipocytes.
- Il utilise en partie le glucose absorbé après un repas (~5% de glucose circulant postprandial) qui entre alors dans la composition des triglycérides sous forme de glycérol-phosphate.
- Dans les situations où la néoglucogenèse hépatique est nécessaire (épuisement des réserves de glycogène), le tissu adipeux libère dans la circulation sanguine des acides gras libres et du glycérol qui seront utilisés par le foie en tant que substrat pour produire le glucose (**Feng, Zhang *et al.*, 2013**).

4. Le Pancréas :

Le pancréas, une glande endocrine et exocrine, intervient dans la digestion et l'absorption des nutriments dans l'intestin ainsi que dans la régulation de l'homéostasie du glucose. La fonction endocrine de cet organe est assumée par un ensemble de cellules regroupées dans les îlots de Langerhans. Ces îlots sont composés de trois types cellulaires ; les cellules α qui sécrètent le glucagon, les cellules β qui sécrètent l'insuline, les cellules δ qui sécrètent la somatostatine et les cellules PP qui sécrètent le polypeptide pancréatique. Puisque

la gestion du métabolisme du glucose est principalement effectuée par les cellules α et β , une attention particulière sera portée à ces deux types cellulaires (**Dion, 2016**).

4.1. Insuline :

L'insuline est une hormone hypoglycémisante synthétisée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Elle agit sur la majorité des cellules de l'organisme à l'exception des cellules nerveuses. Elle exerce son effet en activant le récepteur de l'insuline entraînant ainsi une cascade de signaux intracellulaires aboutissant à une augmentation de la captation du glucose par le muscle squelettique et le tissu adipeux et à une inhibition de la production de glucose par le foie. Elle stimule le stockage du glucose nouvellement entré dans les tissus périphériques sous forme de glycogène et de triglycérides et favorise son oxydation via la glycolyse. Elle favorise également la captation des acides gras et la synthèse des triglycérides (tissus adipeux), la captation des acides aminés et la synthèse protéique (foie et muscle) (**Vanhorebeek *et al.*, 2005 ; Cromphaut *et al.*, 2008**).

Les perturbations de sa sécrétion entraînent une intolérance aux glucides et conduit au diabète.

4.2. Le glucagon :

C'est la principale hormone de contre-régulation, c'est-à-dire que le glucagon est biologiquement un antagoniste de l'insuline. En stimulant la glycogénolyse et la néoglucogenèse hépatique, le glucagon provoque une augmentation de la production hépatique de glucose. Le glucagon, travaillant en tandem avec l'insuline, est donc une hormone cruciale dans l'homéostasie du glucose. Le glucagon est également une hormone catabolique, stimulant la lipolyse et la formation de corps cétoniques lorsque le niveau d'insulinémie est bas (**Cryer et Gerich, 1985**).

II. Diabète sucré :

1. Définition de diabète sucré :

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit le terme « diabète » comme étant un trouble métabolique à l'étiologie multiple Il est caractérisé par une hyperglycémie chronique accompagnée de perturbations du métabolisme des hydrates de carbone, des lipides et des protéines dues à des désordres dans la sécrétion et/ou à l'action de l'insuline (insulino-résistance) (ORS Réunion, 2015 ; HAS, 2014).

2. Epidémiologie :

Ces dernières années, le diabète est devenu un problème de santé publique à l'échelle mondiale. Selon la dernière étude de l'organisation mondiale de la santé OMS, ces 20 dernières années, le nombre de personnes diagnostiquées diabétiques est passé de 108 millions en 1998 à 422 millions en 2014 (OMS, 2016)

En Algérie, le nombre de diabétiques adultes calculé en 2010 est de 1.63 millions avec une prévalence de 8.5%, ce nombre est estimé d'augmenter à 2.85 millions avec une prévalence de 9.4% en 2030 (Shaw *et al.*, 2010).

Une étude réalisée dans la région de Tlemcen, révèle une prévalence de 14.2% au sein de la population, et montre que les hommes (20.4%) sont plus touchés que les femmes (10.7%) (Zaoui *et al.*, 2007).

3. Classification :

Différents types de diabète ont été identifiés, les plus connus sont le diabète de type 1 (db1), le diabète de type 2 (db2) et le diabète gestationnel. Il existe également d'autres types particuliers de diabète, mais ils sont moins communs et généralement associés à des maladies génétiques (ACD, 2013).

3.1. Le diabète de type 1 (précédemment appelé insulino-dépendant DID) :

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules bêta pancréatiques sécrétrices de l'insuline. La destruction de ces cellules a pour conséquence une insulino-pénie (production insuffisante d'insuline), ce qui entraîne une hyperglycémie chronique. L'hyperglycémie apparaît après disparition de plus de 80% des cellules bêta fonctionnelles. Ce type de diabète est dit juvénile, car la maladie apparaît bien souvent avant 30 ans chez des sujets relativement jeunes (Bluestone *et al.*, 2010). Il existe

deux formes : une forme auto-immune, la plus fréquente, dans laquelle une immunité cellulaire anormale détruit les cellules β , et une forme idiopathique, plus rare (**Buyschaert et Hermans, 1998**).

3.2. Le diabète de type 2 (précédemment appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité) :

Il résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité (**OMS, 2016**).

Le diabète de type 2 est une maladie caractérisée par deux types d'anomalies : des altérations de l'insulino-sécrétion ou d'une insulino-sensibilité (insulinorésistance) (**Guillausseau et al., 1997**).

Cette dernière se traduit par une diminution des effets de l'insuline sur les tissus insulino sensibles (tissus musculaires, tissus adipeux, tissu hépatique). L'insulino-résistance est aggravée par l'hyperglycémie et l'excès des acides gras libres circulants ou de triglycérides stockés en excès dans le muscle. Alors que, l'insulino-sécrétion est caractérisée qualitativement, par une diminution du pic de réponse précoce aux aliments, en particulier, au glucose, et quantitativement, par une diminution des capacités insulino-sécrétoires qui se majorent progressivement dans le temps pour aboutir de façon plus ou moins tardive à une insulinopénie profonde (**Halimi, 2003**).

3.3. Diabète gestationnel :

Il se caractérise par une hyperglycémie, c'est-à-dire une élévation de la teneur en sucre du sang, avec des valeurs supérieures à la normale, mais inférieures à celles posant le diagnostic de diabète, apparaissant pendant la grossesse. Les femmes ayant un diabète gestationnel ont un risque accru à des complications pendant la grossesse et à l'accouchement. Leur risque ainsi que celui de leur enfant, d'avoir un diabète de type 2 à un stade ultérieur de leur vie augmente également (**OMS, 2016**).

4. Symptômes :

Pour le diabète type 1, les symptômes sont les suivants : excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement, contrairement aux symptômes de diabète de type 2, qui peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1

mais sont souvent moins marqués. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications sont présentes (OMS, 2016).

5. Complications du diabète sucré :

Les complications du diabète sont importantes et sont de deux types : les complications aiguës qui sont très répandues chez le diabète de type 1 et les complications chroniques qui se trouvent surtout chez les diabétiques de type 2 (**tableau 01**).

Tableau 01 : Complications du diabète (Capet *et al.*, 1999).

Complications aiguës	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hypoglycémie (suite au traitement) ▪ Hyperglycémie 	<ul style="list-style-type: none"> -Acidocétose -Coma hyperosmolaire -Acidose lactique
Complications chroniques	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microvasculaires (micro angiopathie) ▪ Macrovasculaires (macro angiopathie) 	<ul style="list-style-type: none"> -rétinopathie -néphropathie -neuropathie -maladies cardio vasculaires

- **Autres complications :**

Les complications infectieuses :

Elles sont liées à une diminution de l'immunité ainsi qu'à l'hyperglycémie qui reste un facteur majeur dans le développement infectieux. (Grimaldi *et al.*, 2004).

Le pied diabétique :

La notion de pied diabétique regroupe l'ensemble des affections atteignant le pied, directement liées aux conséquences de la maladie diabétique. En effet, il traduit une complication tardive du diabète qui survient surtout chez les patients âgés de 60 ans et plus. (**Grimaldi *et al.*, 2004 ; Grimaldi *et al.*, 2005**).

4.les traitements du diabète sucré :

Actuellement, il n'existe pas, de traitement capable de guérir le diabète. Les options thérapeutiques actuelles permettent seulement de retarder et diminuer l'intensité des complications engendrées par la maladie. La mesure la plus efficace quel que soit le type de diabète considéré est une bonne hygiène de vie, comprenant un régime alimentaire sain et l'exercice physique (**Lebreton, 2014**).

4.1. Le traitement du diabète de type 1 :

On ne connaît présentement aucun moyen de guérir le diabète de type 1. La prise en charge de la maladie exige des injections périodiques de l'insuline exogène et un régime alimentaire bien contrôlé durant toute la vie et une activité physique (**Burr *et al.*, 2012**).

4.2. Le traitement du diabète de type 2 :

4.2.1. Traitement médicamenteux

Le traitement du diabète de type 2 fait appel à des médicaments hypoglycémiant oraux, appelés aussi antidiabétiques oraux (ADOs). Ces médicaments sont classés par leur mode d'action : réduction de l'insulinorésistance, stimulation de la sécrétion de l'insuline, ou par la réduction de la réabsorption intestinale du glucose (inhibiteurs des alpha-glucosidases) (**Fig.4**).

L'efficacité d'un traitement hypoglycémiant dépend schématiquement de la balance entre l'action du composé (aspects pharmacodynamiques), son métabolisme et son élimination et l'importance des effets secondaires (**Andreelli *et al.*, 2011**).

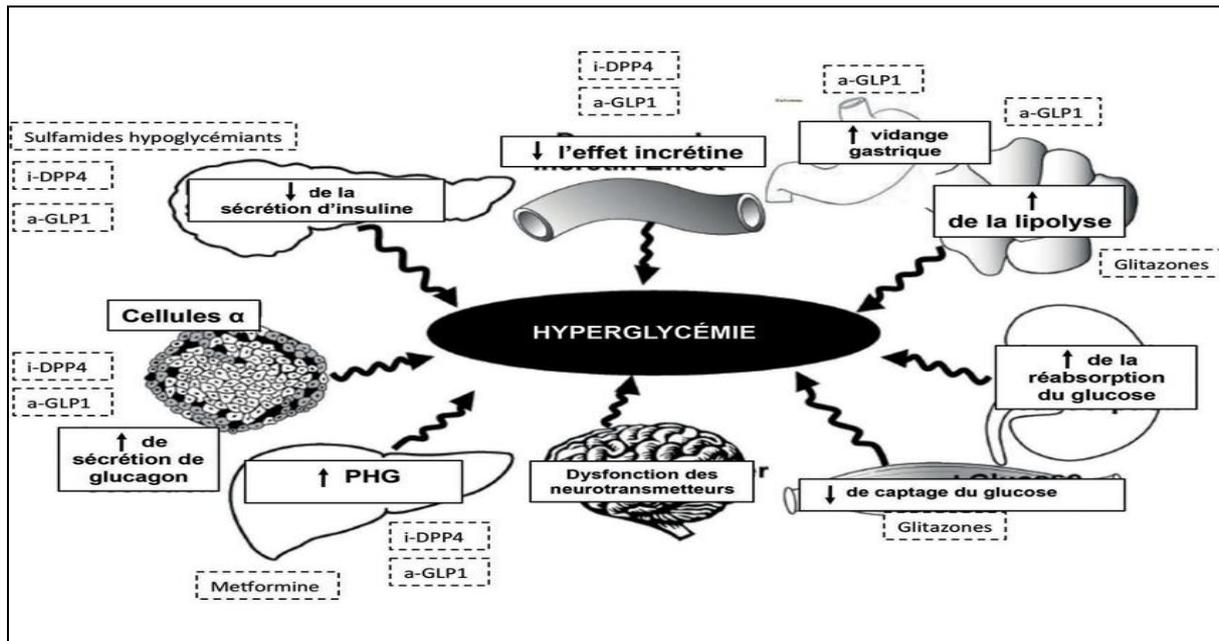


Figure 3 : Action des différentes classes des antidiabétiques sur les acteurs de la pathogénie du diabète de type 2 (Halimi, 2016)

a. Médicaments qui augmentent la sécrétion de l'insuline

- Les sulfonyleurées ou sulfamides hypoglycémiant (SH)

Premiers antidiabétiques oraux disponibles (Halimi *et al.*, 2008). Cette classe comprend : le gliclazide, le glibenclamide et le glimépiride (Andreelli *et al.*, 2011). Le récepteur aux sulfonyleurées est une composante du canal ATP dépendant du potassium dans les cellules β du pancréas. La liaison des sulfonyleurées conduit à l'inhibition de ces canaux qui modifient le potentiel de repos de la cellule, induisant un influx de calcium et une stimulation de la sécrétion de l'insuline. Il s'agit d'une libération de l'insuline pré-synthétisée et non d'une augmentation de synthèse de l'hormone (Faure, 2011).

Les sulfonyleurées sont donc uniquement utiles chez les patients qui ont encore une fonction résiduelle des cellules β (Ducobu, 2003). Les SH sont fortement liés aux protéines plasmatiques, ils sont métabolisés totalement ou partiellement dans le foie et excrétés principalement dans les urines (Carles *et al.*, 2008).

- Les glinides

Bien qu'ils soient plus récents, leur action est très proche de celle des sulfamides hypoglycémiant. Leur effet insulino-sécréteur est basé sur le même principe d'action que

celui des SH, mais le site de liaison de ces deux familles sur la cellule β -pancréatique diffère (**Andreelli et al., 2011**).

Les glinides agissent donc plus rapidement et plus brièvement sur la sécrétion de l'insuline et ciblent plus spécifiquement la phase d'hyperglycémie postprandiale (**Halimi et al., 2008**). Ils sont efficaces et entraînent moins d'hypoglycémies que les sulfamides (**Émile, 2008**). Contrairement aux SH, les glinides préservent entre autre la biosynthèse de l'insuline par les cellules pancréatiques (**Miranda et al., 2008**).

b. Médicaments qui augmentent la sensibilité à l'insuline

- **Les biguanides :**

La seule forme commercialisée est la metformine qui n'agit pas sur la sécrétion insulinaire mais une action exclusivement extra-pancréatique qui consiste essentiellement en :

- Une réduction de l'insulinorésistance en ralentissant la production de glucose par le foie ;
- Une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose par les cellules musculaires et hépatiques ;
- Une réduction de la néoglucogénèse hépatique (**Larger, 1997 ; Wens et al., 2007**).

- **Les thiazolidinediones :**

Ils améliorent la sensibilité à l'insuline dans les tissus adipeux et hépatiques. Ils agissent par l'intermédiaire du récepteur PPAR- γ au sein du noyau cellulaire. La stimulation de ce récepteur mène à l'expression ou à la suppression d'une série de gènes qui jouent un rôle dans le métabolisme du glucose, des protéines et des lipides (**Yki-Jarvinen, 2004 ; Fonseca et al, 2000**).

c. Médicaments qui modifient l'absorption intestinale du glucose

Ce sont les inhibiteurs des alpha-glucosidases. Deux médicaments appartiennent à cette classe:

l'acarbose et le miglitol. Ils ralentissent l'absorption intestinale des hydrates de carbone et diminuent la concentration de glucose plasmatique après le repas. Les alpha-glucosidases (sucrase, maltase, isomaltase, gluco-amylase) sont des enzymes présentes à la bordure en brosse des cellules intestinales. Elles sont responsables de la digestion des oligosaccharides et disaccharides en monosaccharides afin d'être absorbés dans l'intestin et libérés dans la

circulation sanguine. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases ralentissent la digestion des sucres en changeant le site d'absorption vers la partie distale de l'intestin grêle ou vers le colon. Suite à ce processus, l'entrée du glucose dans la circulation systémique est retardée et les cellules pancréatiques bénéficient suffisamment de temps pour augmenter la sécrétion de l'insuline en réponse à l'augmentation de la concentration de glucose dans le plasma (Ducobu, 2003).

4.2.2. **Insulinothérapie :**

En cas d'échec du traitement antidiabétique oral chez le diabétique de type 2, il paraît nécessaire d'instaurer précocement une insulinothérapie pour préserver le capital insulino-sécrétoire résiduel. (**Grimaldi, 2004**).

III. La phytothérapie :

1. Introduction :

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner les maladies (**SANAGO, 2006**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès de la population. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2003, environ 65 à 80% de la population mondiale ont recours à la médecine traditionnelle pour se traiter, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Maw et al., 1997**).

2. Les plantes médicinales :

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leurs actions proviennent de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

3. principes actifs :

Le principe actif est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (**Pelt, 1980**). Ces molécules présentent un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Elles sont issues des plantes fraîches ou desséchées, dont les parties utilisées sont : les racines, les écorces, les sommités fleuries, les feuilles, les fleurs, les fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Lutge et al, 2002**). Un grand nombre de ces métabolites extraits des végétaux ont un intérêt primordial en thérapeutique et peuvent être synthétisés. On distingue ainsi : les polyphénols, les alcaloïdes et les terpènes et stéroïdes (**Hallard, 1988**).

Parmi ces principes actifs, nous nous intéressons dans ce présent travail, à la famille des flavonoïdes.

3.1. Les flavonoïdes :

3.1.1. Définition :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent les pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre *Citrus* où ils représentent jusqu'à 1 % des fruits frais) et les légumes. Ils sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant les flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle mondiale (**Ghedira, 2005**).

3.1.2. Structure :

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C (**Bruneton, 1999**).

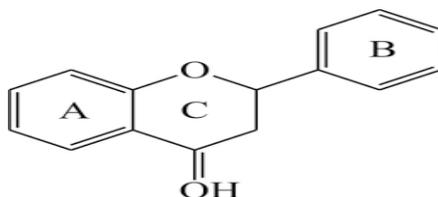


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (**Ghedira, 2005**)

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes (**Harborne et Williams, 2000 ; Kuresh et al., 2002**).

4. Les plantes antidiabétiques :

Pour pallier aux effets secondaires des traitements antidiabétiques, des recherches scientifiques ont été réalisées sur 1123 plantes utilisées traditionnellement contre le diabète (**Raccah, 2004**). L'activité antidiabétique de ces plantes peuvent dépendre de plusieurs mécanismes.

Le tableau ci-dessous présente quelques modes d'action des plantes antidiabétiques.

Tableau 02 : Modes d'action de quelques plantes antidiabétiques (**Azzi, 2013**).

Noms scientifiques	Familles	Partie Utilisée	Modes d'action et références
<i>Catharanthus roseus</i> (L.). G. Don	Apocynacées	Feuilles	Stimule la sécrétion de l'insuline à partir des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (Nammi et al., 2003).
<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Cucurbitacées	Graines	Stimule la sécrétion de l'insuline (Nmila et al., 2002).
<i>Coccinia grandis</i> L. Voigt.	Cucurbitacées	Fruits	Stimulation de la glycogénèse hépatique (Shibib et al., 1993).
<i>Mangifera indica</i> L	Anacardiacees	Fruits, Feuilles	Stimulation de la glycogénèse hépatique (Bhowmik et al., 2009).
<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynacées	Feuilles	Inhibition de l' α -glucosidase (Ishikawa et al., 2007).
<i>Punica granatum</i> L.	Lythracées	Fleurs	Inhibition de l' α -glucosidase (Li et al., 2005).
<i>Morus alba</i> L.	Moracées	Feuilles	Augmentation du nombre des cellules β dans les îlots de Langerhans (Mohammadi et Naik, 2008).
<i>Aegle marmelos</i>	Rutacées	Feuilles	Stimule la captation de glucose par les cellules (Sharma et al., 2007). Réduit la résistance à l'insuline (Sharma et al., 2011).
		Fruits	Effet protecteur sur les cellules β du pancréas (Kamalakkannan et Prince, 2005).
<i>Ervatamia microphylla</i>	Apocynacées	Feuilles	Stimule la différenciation des cellules progénitrices pancréatiques (Kojima et Umezawa, 2006).
<i>Amaranthus esculents</i>	Amarantacées	Plante Entière	Diminution des activités du cortisol (Gholap et Kar, 2004).

IV. La plante étudiée : *Traganum nudatum*

1. Place de *Traganum* dans la systématique :

- **Règne** : Végétal
- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous embranchement** : Agiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Apétales
- **Ordre** : Centrospermales
- **Famille** : Chénopodiacées
- **Genre** : *Traganum*
- **Espèce** : *nudatum*

2. Noms de la plante :

-nom français : Traganum Dénudé

-nom Arabe : Edh –dhamrane

-nom Latin : *Traganum nudatum*

3. Description botanique de *Traganum nudatum* :

Traganum nudatum est un feuillu vivace de la famille des chénopodiacées, sa hauteur est de 15 à 40 cm mais elle peut atteindre 1 m, des tiges dérivantes, les branches de couleur blanches, les feuilles ovales et alternées. La plante présente des chardons jaunes courbées vers le bas et se terminent par une chevelure en coton qui couvrent les fleurons et les nouvelles tiges après la disparition des feuilles (**Boumlik, 1998**). La floraison se produit au printemps en formant de modestes fleurs (**Haba, 2002**).

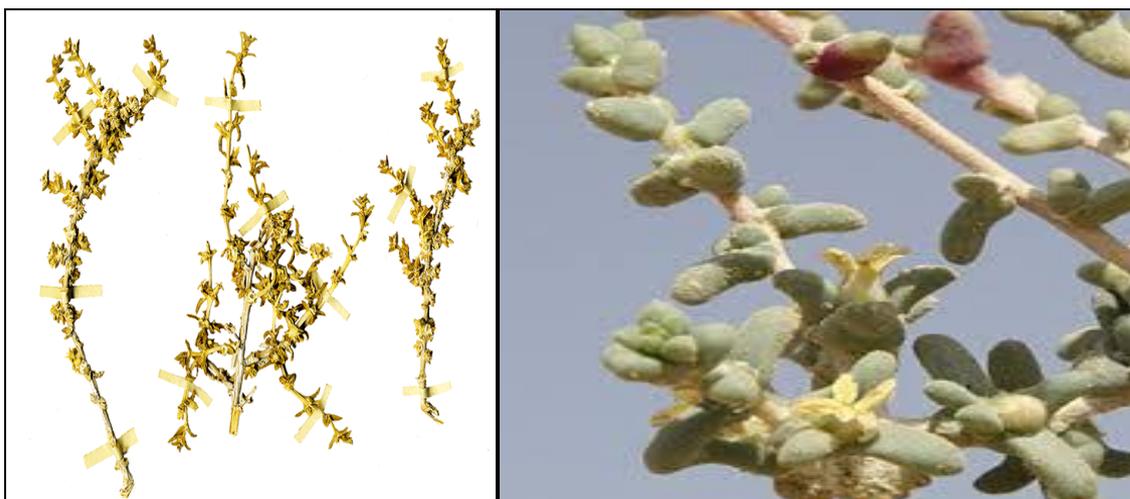


Figure 5 : La plante *Traganum nudatum* (Boumlik, 1998).

4.Répartition géographique :

Traganum nudatum est une plante endémique désertique qui pousse dans les régions sableuses. Elle recouvre une grande surface des wilayas d'Ouargla, El-Oued, Ghardaïa et Tébessa au nord sud du Sahara (Boumlik, 1998).

5.Utilisations thérapeutiques de *Traganum nudatum* :

Plusieurs maladies sont traitées par cette plante ; comme le diabète sucré (Bouallala *et al.*, 2014 ; Alia Telli *et al.*, 2015), les plaies et les maladies cutanées, les hémorroïdes, le traitement des différentes formes du rhumatisme, les maux du dos et aussi les diarrhées et les exténuations. En outre, le mélange de la plante avec le henné est une matière savonneuse utilisée pour le traitement des blessures et les tuméfactions cutanées (Boumlik., 1998).

6.Etudes antérieures :

Peu d'études scientifiques sur cette plante ont été réalisées malgré sa large utilisation dans la médecine traditionnelle particulièrement dans le Sahara Algérien.

Deux études ont été menées sur l'activité antioxydante et antimicrobienne de différents extraits aqueux et organiques, et ont révélé un bon effet antiradicalaire comparativement à celui du tocophérol et de l'acide ascorbique, et une sensibilité des bactéries à Gram positif meilleure que les bactéries à Gram négatif aux extraits de la plante (LabeledB *et al.*, 2011 ; Kalla, 2012).

Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-Chimie, Synthèse et Activité Biologique » du département de Biologie. Nous avons comparé l'effet des flavonoïdes à différentes concentrations par rapport à l'effet de l'insuline sur la captation de glucose au niveau des coupes fines de foie isolées à partir du rat Wistar.

1. Analyse phytochimique :

1.1. Matériel végétal :

Traganum nudatum a été récoltée à maturité dans son habitat naturel : Ain Sefra, Wilaya de Naama durant le mois de novembre 2016.

La partie aérienne de la plante (feuilles, fleurs et fruits) a été récupérée et mise à séché à l'ombre et à température ambiante pendant plusieurs jours. Ensuite, elle a été broyée très finement, et les poudres végétales ainsi récupérées ont été stockées soigneusement dans des conditions favorables.

1.2. Extraction :

Dans un premier temps, l'extrait brut hydro-méthanolique a été préparé, ce dernier, subit une extraction liquide /liquide par l'acétate d'éthyle.

1.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique :

10g de poudre végétale sont macérés à température ambiante pendant 24h dans 100ml de solution hydro-méthanolique à 80/20 v/v sous agitation. Le mélange est filtré puis évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à une température de 60° afin d'obtenir des extraits secs.

1.2.2. Préparation des extraits enrichis en flavonoïdes

Les résidus secs obtenus par évaporation des filtrats hydro-méthanoliques, sont partagés entre 10ml d'acétate d'éthyle et 10ml d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée puis séché par un évaporateur rotatif.

1.3. Chromatographie des extraits sur couche mince (CCM) :

❖ Principe

Afin d'avoir une idée sur la composition chimique de nos extraits, nous avons effectué un criblage phytochimique par CCM. Cette dernière est une technique analytique utilisée pour la séparation des composés d'un mélange. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption et s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexe de métabolites) et aux échantillons biologiques.

La séparation s'effectue par migration des molécules à travers la phase stationnaire dans un solvant ou un mélange de solvants appropriés (phase mobile) (Wichtl et Anton, 2003).

❖ Préparation des plaques CCM

Dans notre travail, nous avons utilisé des plaques de CCM en gel de silice. Ces plaques sont activées à 120 ° C afin d'éliminer les molécules d'eau.

❖ Préparation de la phase mobile

Les phases mobiles utilisées dans notre étude, sont constituées d'un mélange de solvants :

- Système 1 : Chloroforme /Méthanol / Acétate d'éthyle /eau 15/20/15/0.05 v/v/v/v
- Système 2 : Acétate d'éthyle /Méthanol /eau 20/2.7/0.8 v/v/v
- Système3 : Acétate d'éthyle /Méthanol /eau 45/45/10 v/v/v

❖ Révélation

Une fois le développement du chromatogramme est effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV à la longueur d'onde de 366 nm.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son rapport frontal R_f , calculé par la formule suivante :

d : la distance parcourue par la molécule ;

D : la distance parcourue par la phase mobile (front du solvant).

$$R_f = d/D$$

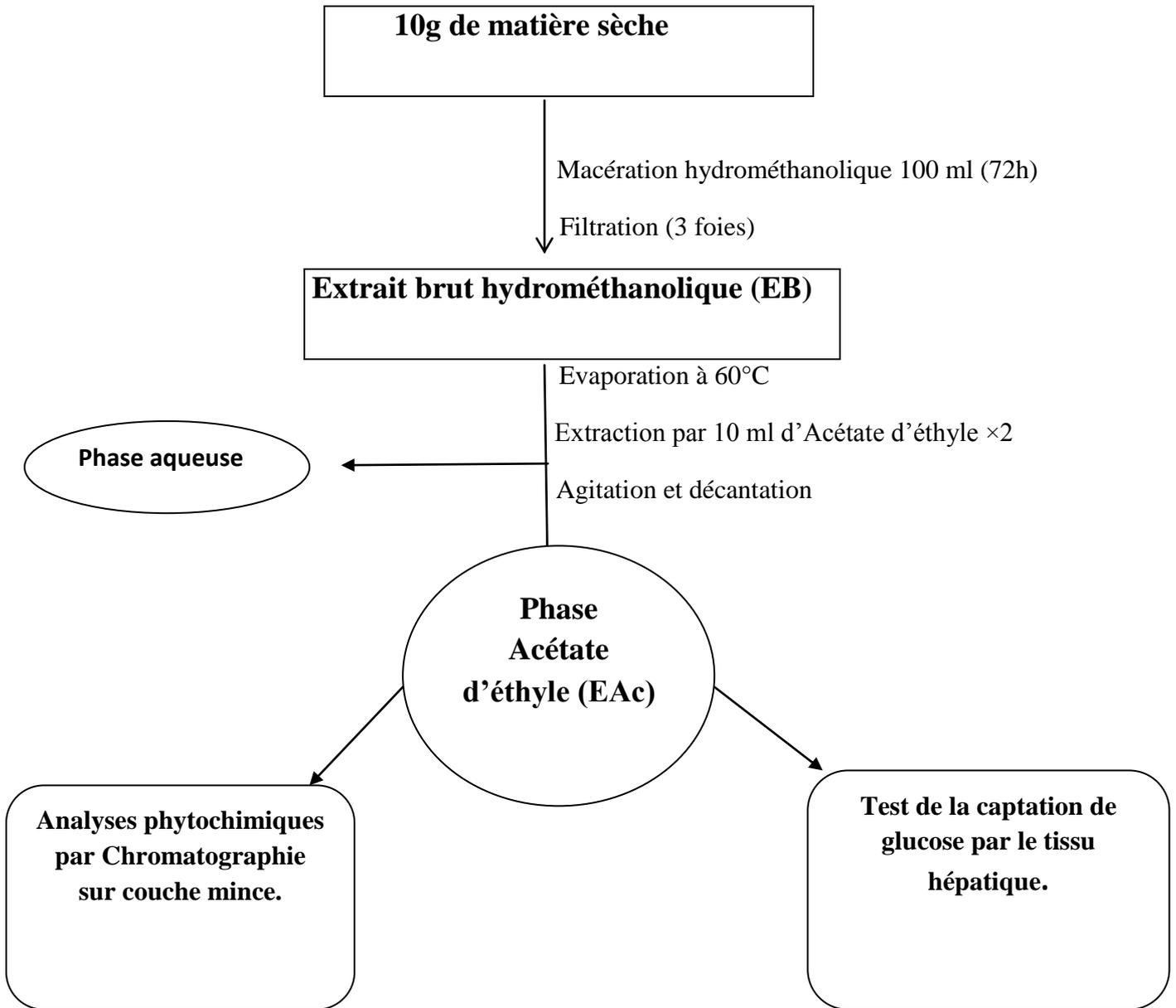


Figure 06 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

2. Test de la captation de glucose :

2.1. Animaux :

Dans ce travail, nous avons utilisé des rats blancs *Rattus norvegicus* de variété Wistar. Les rats sont de sexe femelle, âgés de 2 à 5 mois et ayant un poids de 150 à 250g.

Les rats sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage au niveau de l'animalerie du département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.

Ces animaux sont nourris *ad libitum* avec un aliment complet sous forme de granulés. Il est composé de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie, plus un complexe minéralo-vitaminique.

2.2. Préparation du milieu d'incubation KRBA :

KRBA (Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé) est constitué de solutions mères isotoniques au sérum, qui tentent à reproduire la composition du milieu extracellulaire, afin de s'assurer de l'intégrité métabolique des coupes de foie isolées lors de l'incubation.

Ce milieu est préparé à partir du KRB (Krebs-Ringer Bicarbonaté) à pH 7.4 et de l'albumine Bovine BSA. Le KRB est conservé à 4°C.

Tableau 03 : Préparation du KRB :

N°	Solutions mères isotoniques au sérum	La concentration (mm)	Concentration (g/l)	Volume nécessaire (ml)
01	Na Cl	120	7,02	1000
02	Ca Cl ₂	0.13	0,19	
03	KCl	0.48	0,357	
04	KH ₂ PO ₄	1.2	0.162	
05	MgSO ₄	1.2	0,295	
06	NaHCO ₃	2.4	2,01	

Remarque :

- ❖ KRBA 1% est utilisé pour le lavage du foie.

- ❖ KRBA 4% est utilisé comme milieu d'incubation de nos coupes de foie.
- ❖ Le pH du KRBA est ajusté à 7.4 par 10mM d'HEPES juste avant son utilisation. Ensuite, nous avons préparé deux milieux à partir de KRBA 4% : le KRBA 4% glucosé à 3g/l et 1g/l.

2.3. Dissection des rats :

Les rats sont maintenus à jeun pendant 18h. Ils sont sacrifiés par dislocation cervicale et disséqués.

2.4. Récupération du foie et lavage :

L'animal est disséqué en ouvrant l'abdomen s en forme de U. Le foie est rapidement prélevé, déposé dans une boîte de pétri en polyéthylène contenant du sérum physiologique (NaCl 9g/l), nettoyé des vaisseaux sanguins et des caillots de sang, et puis pesé et découpé en petits morceaux par des lames sous forme de coupes très fines d'environ 1 mm d'épaisseur.

Le tissu est lavé 2 à 3 fois par le KRBA 1,% puis centrifugé et le culot est récupéré.

2.5. Viabilité et numérotation cellulaire

Le but de cette opération est de vérifier l'état des cellules ainsi que le nombre des cellules vivantes par ml de suspension et par g de tissu hépatique.

Cette opération est réalisée par comptage au microscope, à l'aide d'une cellule de Thoma, avec une suspension diluée et colorée par le bleu de trypan 0.2 %. Ce dernier colore les cellules non viables qui se laissent envahir par ce colorant.

$$\text{Concentration cellulaire} = \frac{\text{Cellules totales comptées}}{\text{Nombre de carrés}} \times \text{Facteur de dilution} \times 25 \times 10^4$$

2.6. Incubation des coupes de tissu hépatique :

Les coupes fines de foie sont incubées à 37°C sous agitation dans des microplaques à 24 puits de culture cellulaire.

Dans chaque puits, nous avons déposé 0.2g de suspension ou coupes de tissu avec 1.5ml de KRBA 4% à 1g/l et 3g/l de glucose.

Les coupes de tissu hépatique ont été incubées avec différentes concentrations des extraits bruts et de flavonoïdes (500µg/ml, 200µg/ml, 100µg/ml) et de l'insuline (100 µU/ml, 50 µU/ml, 10 µU/ml).

Les témoins utilisés sont constitués de quatre milieux d'incubations de KRBA 1% et 4% glucosé à 1g/l et 3g/l en absence et en présence des coupes de foie.

Les coupes fines de foie sont incubées dans un incubateur agitateur à 37 °C et sous agitation continue de 47 rpm pendant différents intervalles de temps (30 minutes, 1 heure, 1 heure 30 minutes).

Tableau 04 : Milieux des témoins utilisés

	T1	T2	T3	T4
Témoins	1.5ml de KRBA 4% (Glu 1g/l)	1.5ml de KRBA 4% (Glu 3g/l)	1.5ml de KRBA 4% (Glu 1g/l) +0.2g de foie	1.5ml de KRBA 4% (Glu 3g/l) +0.2g de foie

Tableau 05 : Milieux d'incubation contenant les extraits bruts

	Extrait brut								
1,5 ml KRBA 4% (1g/l glucose) 0.2g de foie)	30 minutes			60 minutes			90 minutes		
	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml
1,5 ml KRBA 4% (3g/l glucose) 0.2g de foie)	30 minutes			60 minutes			90 minutes		
	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml

Tableau 06 : milieux d'incubation contenant les extraits de flavonoïdes.

	Extrait de flavonoïdes		
1,5 ml	30 minutes	60 minutes	90 minutes

KRBA 4% (1g/l glucose) 0.2g de foie)	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml
	30 minutes			60 minutes			90 minutes		
1,5 ml KRBA 4% (3g/l glucose) 0.2g de foie)	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml
	30 minutes			60 minutes			90 minutes		

Tableau n°7 : Milieux d'incubation contenant l'insuline

	Insuline								
1,5 ml KRBA 4% (1g/l glucose) 0.2g de foie)	30 minutes			60 minutes			90 minutes		
	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml
1,5 ml KRBA 4% (3g/l glucose) 0.2g de foie)	30 minutes			60 minutes			90 minutes		
	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml

2.7. Prélèvement à partir des puits :

Après chaque intervalle de temps (30 min, 60 min et 90minutes) d'incubation, la réaction est stoppée en déposant les microplaques sur la glace pilée pendant 1 minute.

Ensuite, nous avons pris 500 µl de chaque puits de milieu d'incubation et centrifugé pendant 5 min à 500 tours/min pour faire le dosage enzymatique de glucose restant dans ce milieu.

2.8. Dosage de glucose :

Le dosage de glucose restant dans les milieux d'incubation précédemment prélevés se fait à l'aide d'un kit de dosage enzymatique suivant la méthode de **Trinder, 1969**.

Le taux de glucose est déterminé par la méthode colorimétrique enzymatique, dont le glucose en présence de glucose-oxydase (**GOD**), est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène.

Ce dernier, en présence de peroxydase (**POD**) et phénol, oxyde un chromogène incolore (4-aminoantipyrine) en couleur rouge à structure quinone-imine. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de glucose.



Tableau 08 : Méthode de dosage

	Blanc	Étalon	Dosage
Solution de travail	1 ml	1 ml	1 ml
Réactif		10 µl	
Sérum			10 µl

Les surnageant récupérés sont mélangés avec la solution de travail puis incubés pendant 20 minutes à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc.

Calcul :

$$\text{Taux de glucose} = (\text{DOD}/\text{DOE}) \times 1 \text{ g/l.}$$

Où, DOD : Densité optique de dosage, DOE : Densité optique de l'étalon.

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/L et les variations de la glycémie sont exprimées en pourcentage.

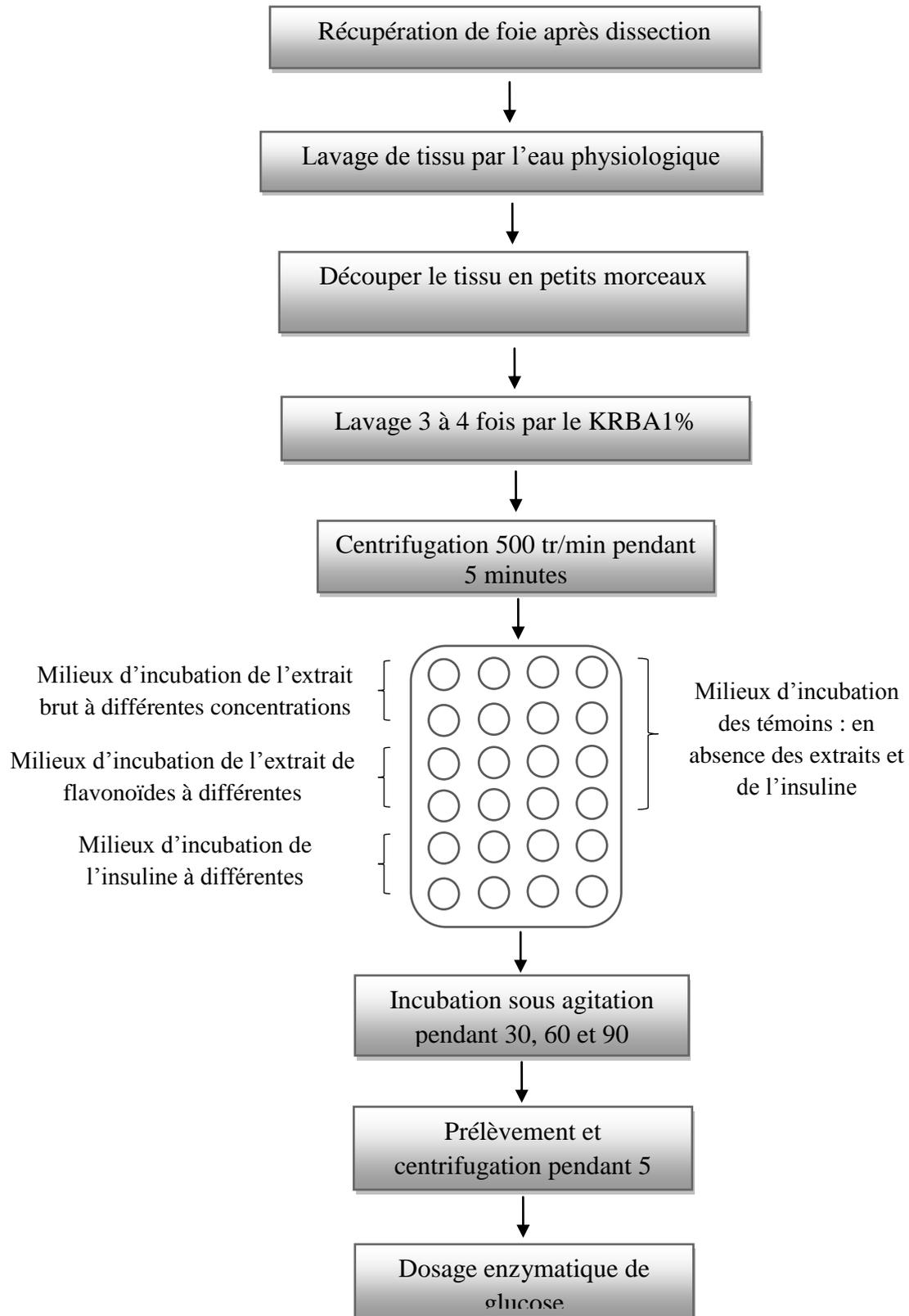


Figure 07 : Schéma récapitulatif du mode opératoire de l'incubation des coupes de tissu hépatique

3. Analyse statistique :

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence. Comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse.

- **La moyenne :**

$$V_x = \frac{1}{n} \sum_i (x_i - \bar{x})^2$$

- **L'erreur standard de la moyenne (Sem) :**

$$S_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

- **Test de Student :**

Il est nécessaire de savoir si deux échantillons d'individus ou encore deux ou plusieurs séries de résultats d'expériences ou d'observations doivent être considérés comme réellement différents. Nous avons appliqué ce test pour comparer deux moyennes.

La signification statistique des différences observées entre les valeurs moyennes obtenues pour chaque expérience est évaluée par le test de Student « te ». Pour comparer deux échantillons indépendants, nous avons appliqué le test de Student à un degré de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon.

$$\text{ddl} = (n_1 + n_2) - 2$$

$$t_e = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\sigma^2 \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Si le t calculé ou expérimentale est plus élevé que t_v de la table de Student, la différence entre les moyennes des deux échantillons est significative [Schwartz, 1992 ; Amotte, 1971].

La valeur de « t » nous donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student. La différence entre deux moyennes est :

Peu significative : $P < 0.05 (*)$;

Significative : $P < 0.01 (**)$;

Très significative : $P < 0.001 (***)$;

Hautement Significative : $P < 0.0001 (****)$.

Résultats et interprétation

1. Etude phytochimique :

Dans notre étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour les extraits bruts et de flavonoïdes de *Traganum nudatum* sur une plaque de gel de silice en utilisant plusieurs systèmes.

Les systèmes **CHCl₃ /MeOH /EtOAc/H₂O** (15/20/15/0.05), **EtOAc/MeOH/H₂O** (45/45/10) (20/2.7/0.8), ont permis une bonne séparation :

Le premier système **CHCl₃ /MeOH /EtOAc/H₂O** aux proportions (15/20/15/0.05) a révélé 6 taches pour l'extrait brut (TN mac) et 3 taches pour l'extrait acétate d'éthyle.

Le deuxième système **EtOAc/MeOH/H₂O** aux proportions (45/45/10) a permis la séparation de 2 taches dans l'extrait brut (TN mac) et 2 taches pour l'extrait acétate d'éthyle, et autre proportion aux (20/2.7/0.8) a permis la séparation de 3 taches dans l'extrait brut (TN mac) et 5 taches pour l'extrait acétate d'éthyle

Tableau 08 : résultats de l'analyse chromatographique sur couche mince :

Eluant	Proportion	Rf		Rf standards	
		TN mac	TN mac ETOAc	QU	CAT
CHCl₃ / MeOH / EtOAc / H₂O	15/20/15/0.05	0	0.48	0.75	0
		0.27	0.57		
		0.38	0.95		
		0.58			
		0.67			
		0.82			
EtOAc/MeOH/H₂O	45/45/10	0.65	0.51	0.71	0.93
		0.78	0.61		
	20/2.7/0.8	0	0.06	0.83	0.68

Résultats et interprétation

		08	0.11		
		0.15	0.16		
			0.45		
			0.76		

Rf : Rapport frontal

EtOAc : Acétate d'éthyle

MeOH : Méthanol

CHCl₃ : Chloroforme

Cat : Catéchine

Qu : Quercétine.

II. Test de captation de glucose

1. Numération cellulaire :

L'observation et la numération des cellules hépatiques par la cellule de Thoma sous microscope optique a permis de noter que 70 millions des cellules hépatiques isolées sont viables dans 1 g/ml de tissu hépatique.

2. Captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique :

Le test est réalisé *in vitro*, sur des coupes fines de tissu hépatique isolées des rats Wistar de sexe femelle.

L'effet de la captation et la consommation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique isolées a été évalué en absence et en présence de l'insuline (témoin positif) et des extraits bruts et de flavonoïde à différentes concentrations.

2.1. Consommation basale de glucose :

Les figures **08** et **09** représentent la concentration de glucose dans le milieu d'incubation (KRBA 4% avec 1g/l de glucose : état physiologique normal ou 3g/l de glucose : état d'hyperglycémie), en absence et en présence des coupes de tissu hépatique incubées pendant 30, 60 et 90 minutes.

Ces essais nous ont permis de vérifier l'état métabolique de nos coupes de tissu isolées et leur bon fonctionnement.

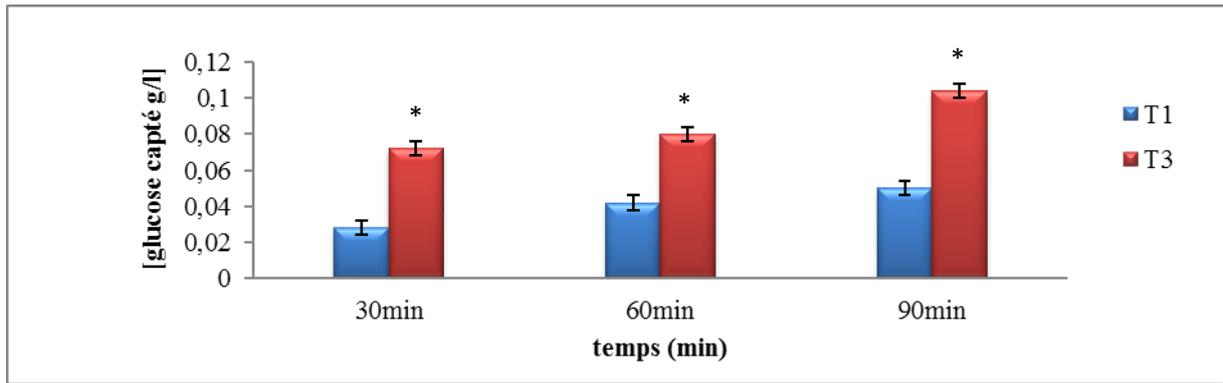


Figure 08 : Concentration de glucose capté en présence de 1g/l de glucose en absence et en présence des coupes de foie à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 1g/l est incubé en absence des coupes de tissu hépatique et de l'insuline (T1).
- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 3g/l est incubé en présence des coupes de tissu hépatique (T3).

Peu significative $P < 0.05$ (*)

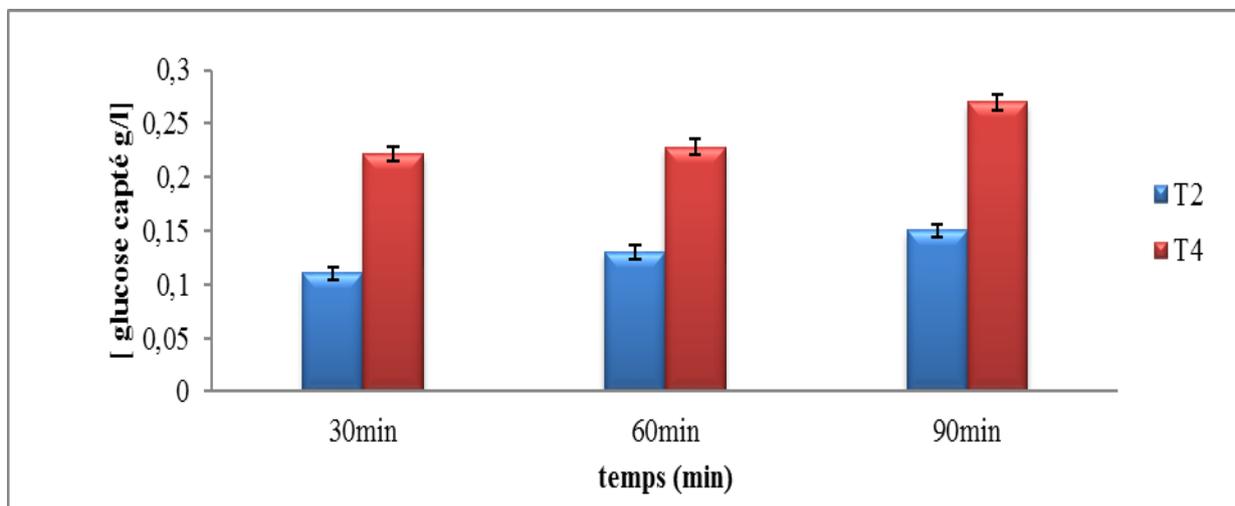


Figure 09 : Concentration de glucose capté en présence de 3 g/l de glucose en absence et en présence des coupes de foie à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 3g/l est incubé en absence des coupes de tissu adipeux et de l'insuline (T2).

- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 3g/l est incubé en présence des coupes de tissu adipeux (T4).

Les résultats obtenus montrent une augmentation peu significative de glucose capté à 1g/l par les coupes fines de tissu hépatique par rapport au témoin (milieu d'incubation à 1g/l en absence de coupes fines de tissu hépatique). Cependant, nous observons aucun effet significatif sur la captation de glucose à la concentration de 3 g/l de glucose.

1.2. Effet de l'insuline sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique :

Les figures 09 et 10 représentent l'effet de l'insuline à différentes concentrations sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique en présence de 1g/l ou 3 g/l de glucose en fonction du temps (30, 60 et 90 minutes) par rapport aux témoins (T3, T4).

Tableau 09 : Captation de glucose par des coupes fines du tissu hépatique en présence de différentes concentrations d'insuline à 1g/l de glucose.

Insuline (μ U/ml)	Glucose capté par Coupes de tissu hépatique (g/l)		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
10	0,296	0,364	0,372
50	0,34	0,404	0,43
100	0,392	0,444	0,438

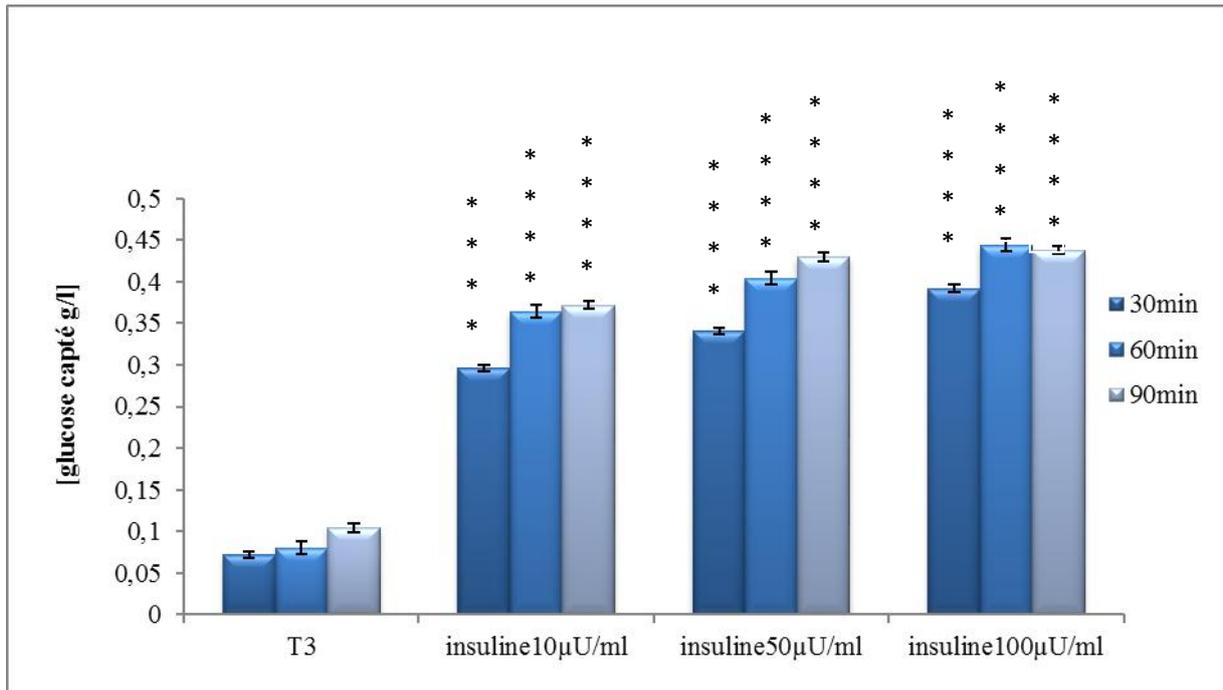


Figure 10 : Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu hépatique à 1 g/l en présence de différentes concentration d'insuline à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes)

Hautement significative **P < 0.0001** (****).

Tableau 10 : Captation de glucose par des coupes fines du tissu hépatique en présence de différentes concentrations d'insuline à 3g/l de glucose.

Insuline (µU/ml)	Glucose capté par Coupes de tissu hépatique (g/l)		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
10	1,03	1,158	1,23
50	1,128	1,23	1,32
100	1,182	1,172	1,41

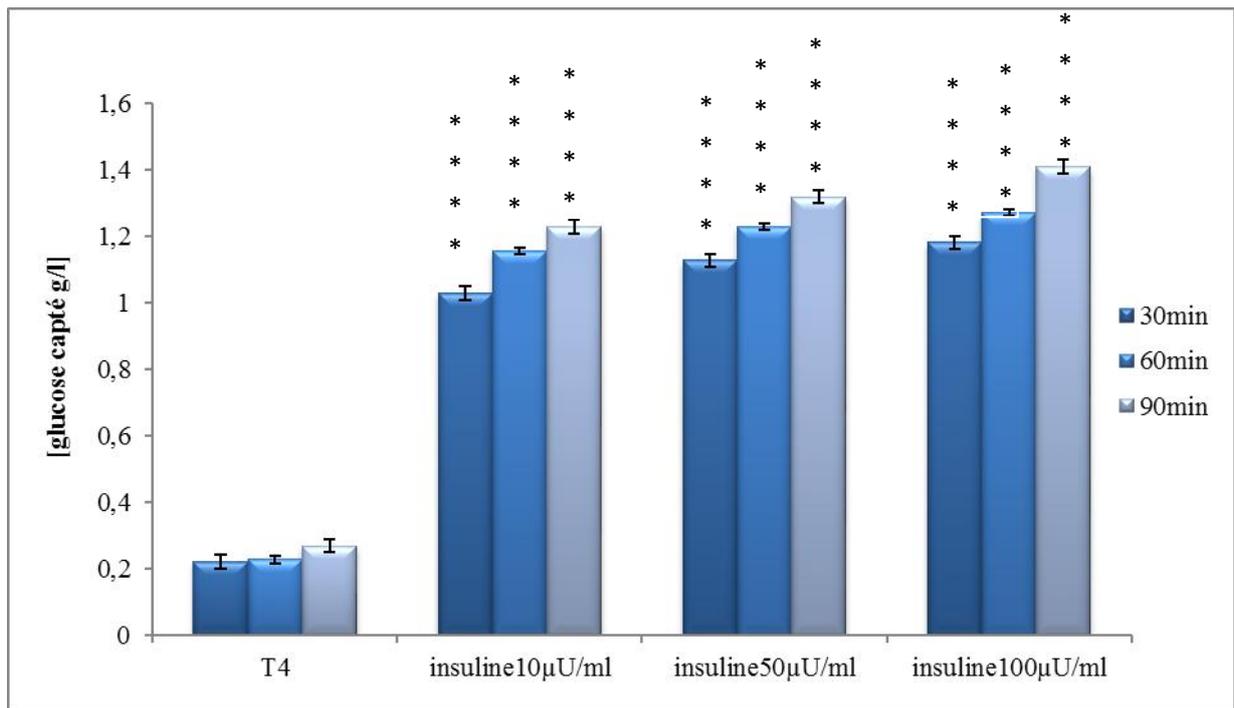


Figure 11: Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu hépatique à 3 g/l en présence de différentes concentrations d'insuline à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

Hautement significative **P < 0.0001** (****).

En présence de l'insuline, nous avons remarqué que la consommation de glucose augmente proportionnellement avec la concentration de l'insuline de 10 à 100 μU/ml dans le milieu d'incubation. Ce qui confirme que l'insuline active la pénétration de glucose dans les coupes fines de tissu hépatique et que nos cellules sont vivantes et en bon état métabolique.

Les résultats montrent une captation hautement significative de glucose par les coupes fines de tissu hépatique isolées en présence de trois concentrations de l'insuline dans les deux milieux d'incubation et à différents temps d'incubation.

Nous remarquons une augmentation plus importante à la concentration de 100 μU/ml, soit un taux de captation d'environ 39% et 44% après 30 et 60 minutes d'incubation respectivement dans le milieu à 1 g/l de glucose. Or, dans le milieu à 3 g/l, la même dose a induit une augmentation de la captation qui est d'environ 38 % après 30min et 43% après 60 minutes d'incubation, par rapport aux milieux contenant les coupes fines de tissu hépatique incubées avec 1g/l ou 3 g/l de glucose et en absence de l'insuline.

2.3. Effet des extraits bruts et de flavonoïdes sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique :

2.3.1. Effet de l'extrait brut dans les deux milieux d'incubation :

Les figures 11 et 12 représentent l'effet de l'extrait brut de *Traganum nudatum* sur la consommation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique isolées en présence de 1g/l ou 3g/l de glucose et en fonction du temps (30, 60 et 90 minutes) et par rapport aux témoins.

Tableau 11 : Captation de glucose par les coupes fines du tissu hépatique isolées en présence de différentes concentrations d'extrait brut à 1g/l et à différents intervalles de temps

Extrait brut ($\mu\text{g/ml}$)	Glucose capté par Coupes de tissu hépatique (g/l)		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
100	0,124	0,19	0,262
200	0,196	0,248	0,3
500	0,27	0,32	0,368

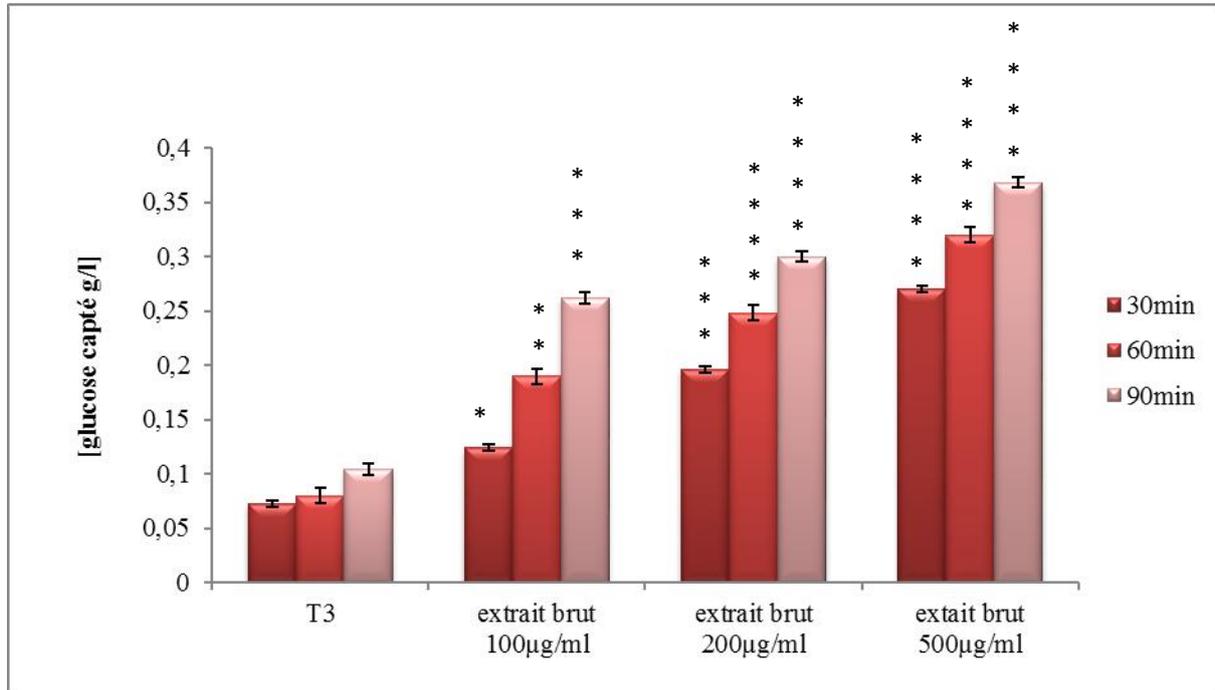


Figure 12 : Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 1g/l de glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

Peu significative : $P < 0.05$ (*);

Significative : $P < 0.01$ (**);

Très significative : $P < 0.001$ (***) ;

Hautement Significative : $P < 0.0001$ (****).

Tableau 12 : Captation de glucose par les coupes fines du tissu hépatique isolées en présence de différentes concentrations d'extrait brut à 3g/l et à différents intervalles de temps

Extrait brut (µg/ml)	Glucose capté par Coupes de tissu hépatique (g/l)		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
100	0,846	0,966	1,068
200	0,93	1,038	1,158
500	1,05	1,206	1,266

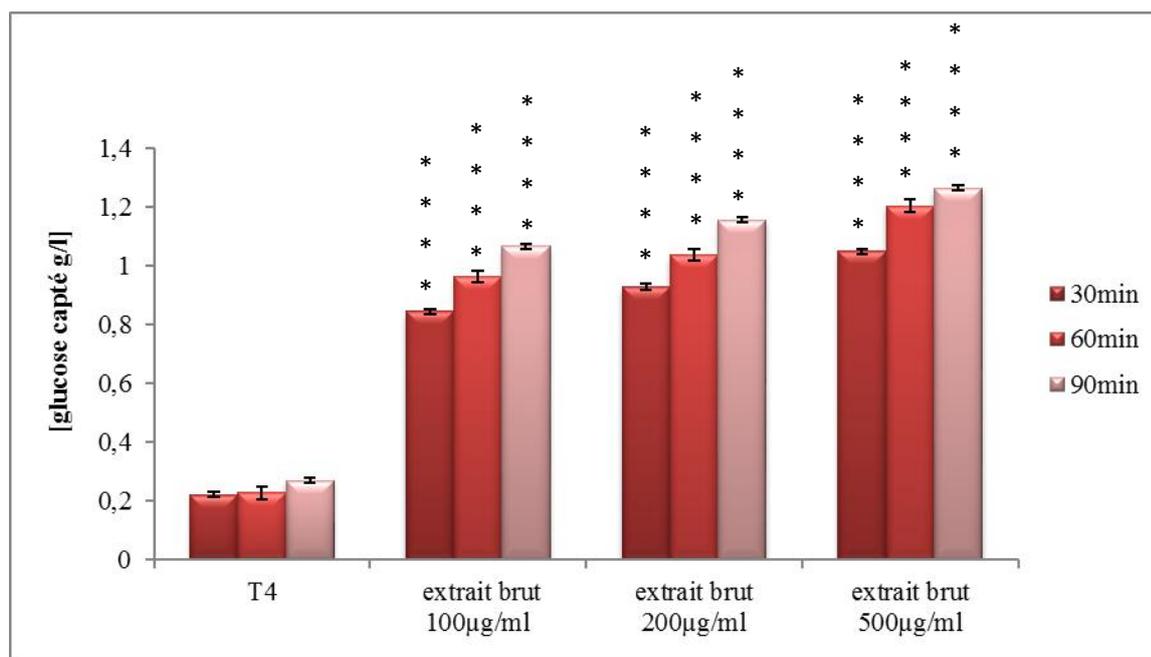


Figure 13: Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 3g/l de glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

Hautement significative **P < 0.0001** (****).

Les résultats obtenus montrent que la captation de glucose par les coupes de tissu hépatique est maximale à la concentration de 500µg/ml de l'extrait brut.

La captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique est hautement significative à 500µg/ml pendant des intervalles de temps croissants dans les deux milieux d'incubation (1g/l et 3g/l), soit un taux de captation d'environ 37% à 1g/l et 42% à 3g/l de glucose après 90 minutes d'incubation.

2.3.2. Effet de l'extrait de flavonoïde dans les deux milieux d'incubation :

Les figures qui suivent représentent l'effet de l'extrait de flavonoïde de *Traganum nudatum* sur la consommation de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 1g/l ou 3g/l en fonction du temps (30min, 60min et 90min) par rapport aux témoins.

Résultats et interprétation

Tableau 13 : Captation de glucose par des hépatocytes en présence de différentes concentrations des extraits de flavonoïdes à 1g/l et à différents intervalles de temps

Extrait de flavonoïdes (µg/ml)	Glucose capté par Coupes de tissu hépatique (g/l)		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
100	0,17	0,237	0,26
200	0,222	0,29	0,332
500	0,286	0,332	0,382

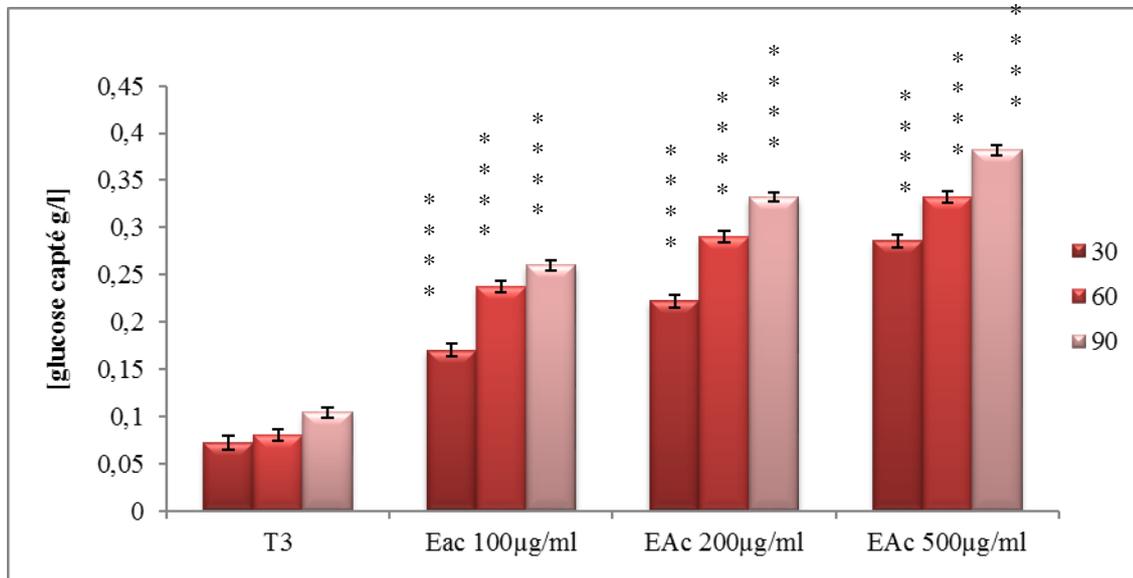


Figure 14 : Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 1g/l en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïde à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

Tableau 14 : Captation de glucose par des hépatocytes en présence de différentes concentrations des extraits de flavonoïdes à 3g/l et à différents intervalles de temps

Extrait de flavonoïdes (µg/ml)	Glucose capté par Coupes de tissu hépatique (g/l)		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
100	0,924	1,062	1,116
200	1,008	1,14	1,212
500	1,104	1,23	1,314

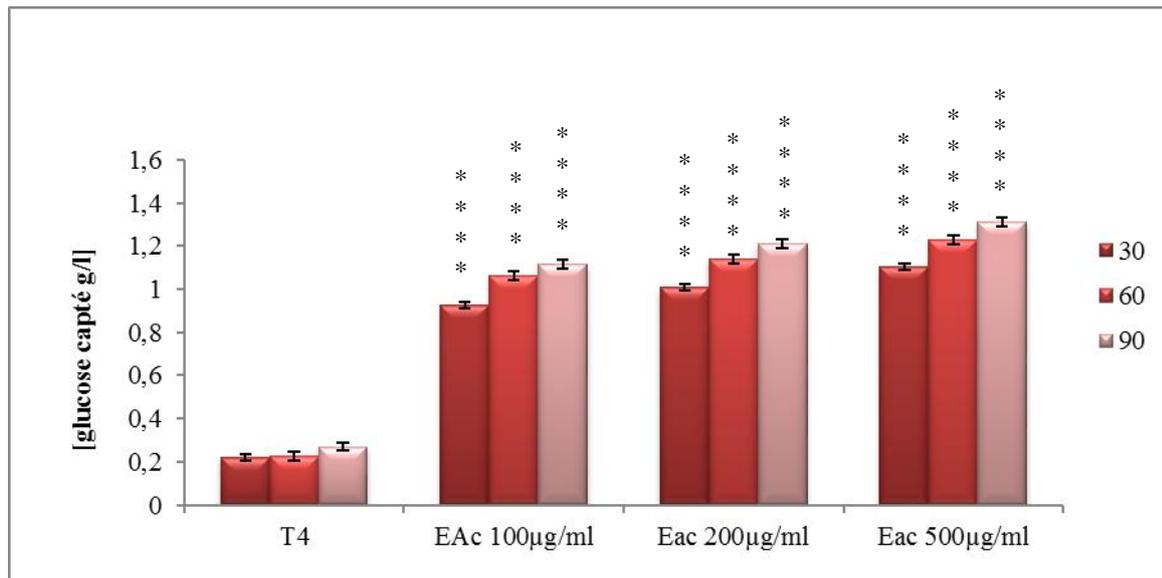


Figure 15: Concentration de glucose capté par les coupes de tissu hépatique isolées à 3g/l en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïde à différents intervalles de temps (30, 60 et 90 minutes).

Hautement significative $P < 0.0001$ (****).

Les résultats obtenus montrent que la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique est maximale à la concentration de 500 µg/ml de l'extrait de flavonoïde.

La captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique est hautement significative à 500 µg/ml à temps croissant dans les deux milieux d'incubation (1g/l et 3g/l). Soit un taux de captation d'environ 38% à 1g/l et 44 % à 3g/l après 90 minutes d'incubation.

2.4. Comparaison de l'effet des extraits bruts et de flavonoïde avec l'effet de l'insuline :

Les figures qui suivent représentent la comparaison de l'effet des extraits bruts et de flavonoïde à 500 µg/ml avec l'effet de l'insuline à différentes concentrations pendant des intervalles de temps différents.

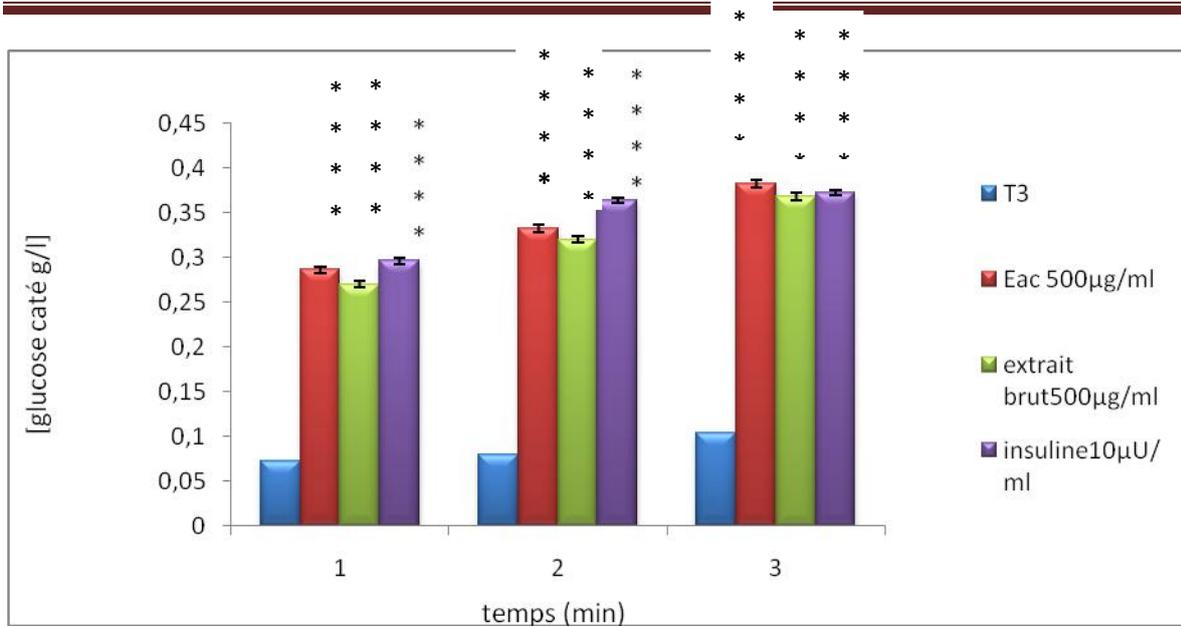


Figure 16: Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 10 µU/ml dans un milieu d'incubation à 1 g/l de glucose.

Hautement significative **P < 0.0001** (****).

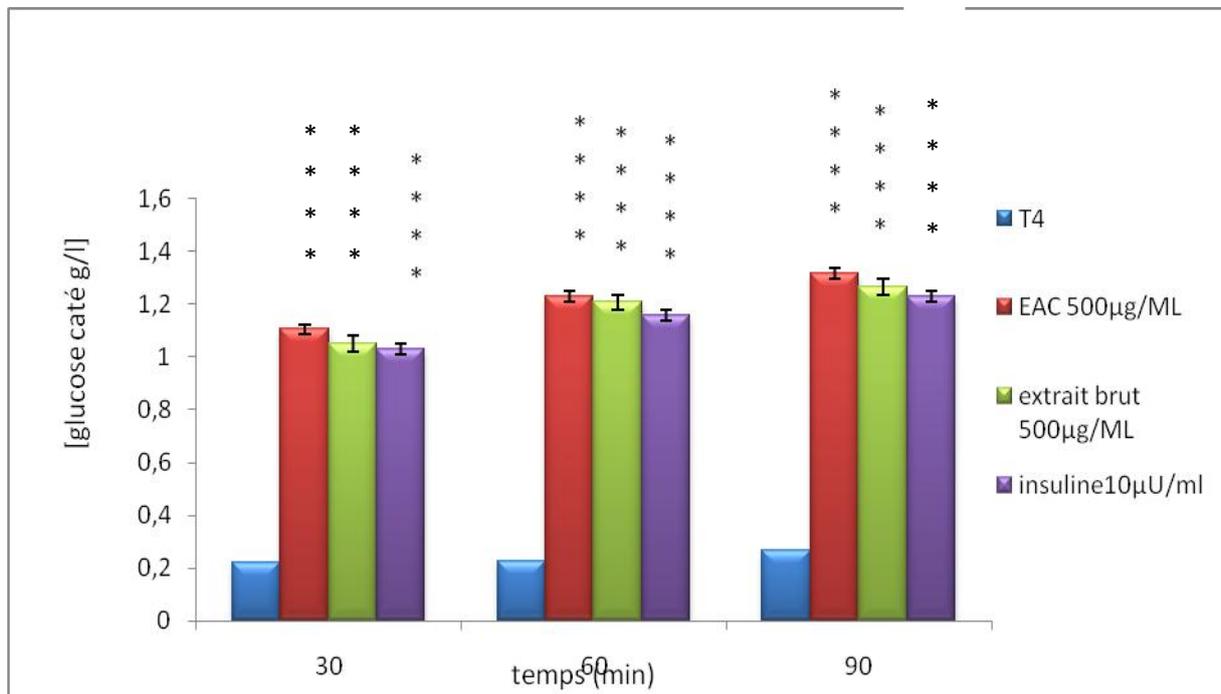


Figure 17 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 10 µU/ml dans un milieu d'incubation à 3 g/l de glucose.

Hautement significative **P < 0.0001** (****).

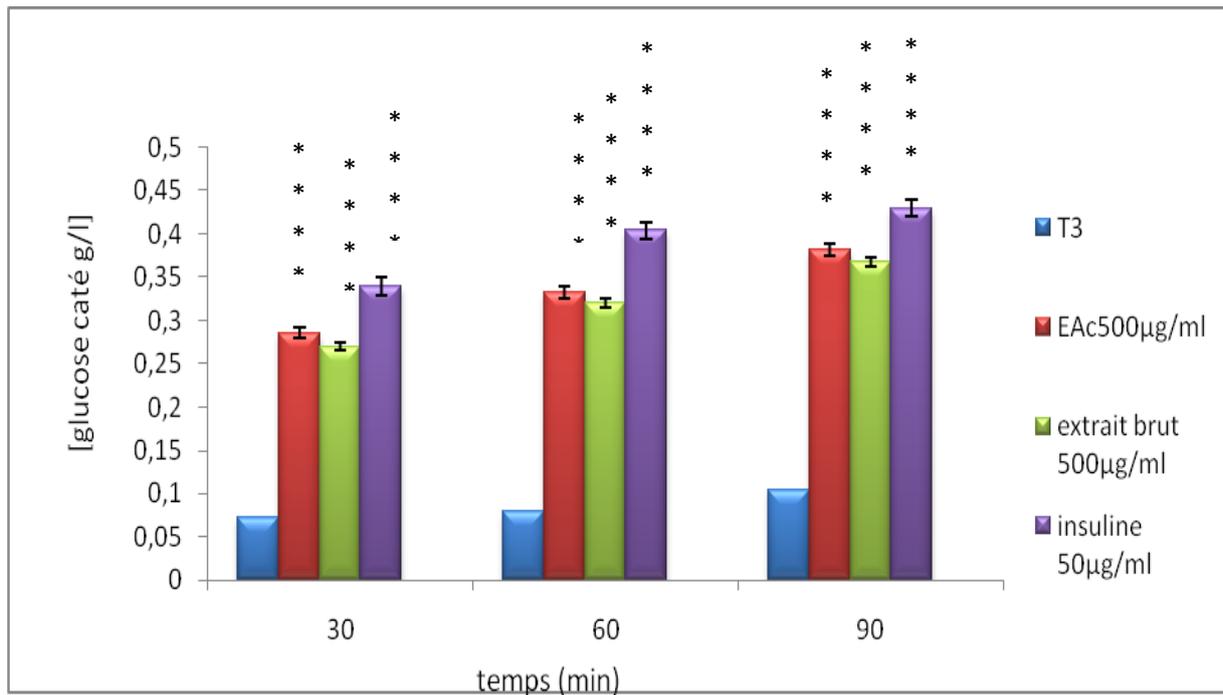


Figure 18 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 50 µU/ml dans un milieu d'incubation à 1g/l de glucose.

Hautement significative $P < 0.0001$ (****).

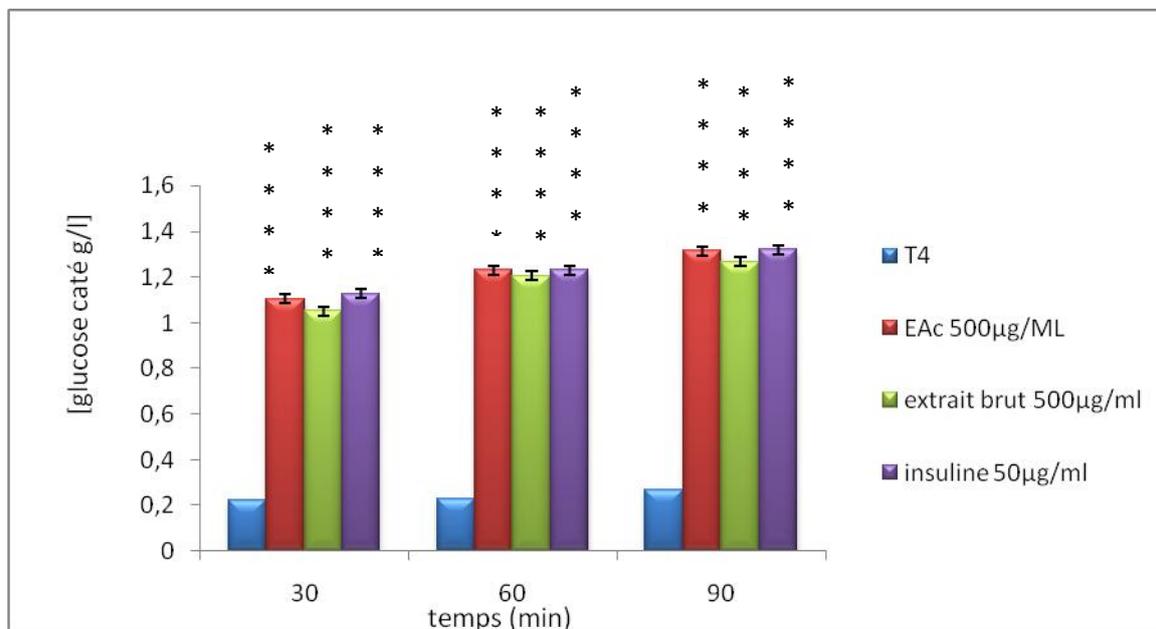


Figure 19 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 50 µU/ml dans un milieu d'incubation à 3g/l de glucose.

Hautement significative $P < 0.0001$ (****).

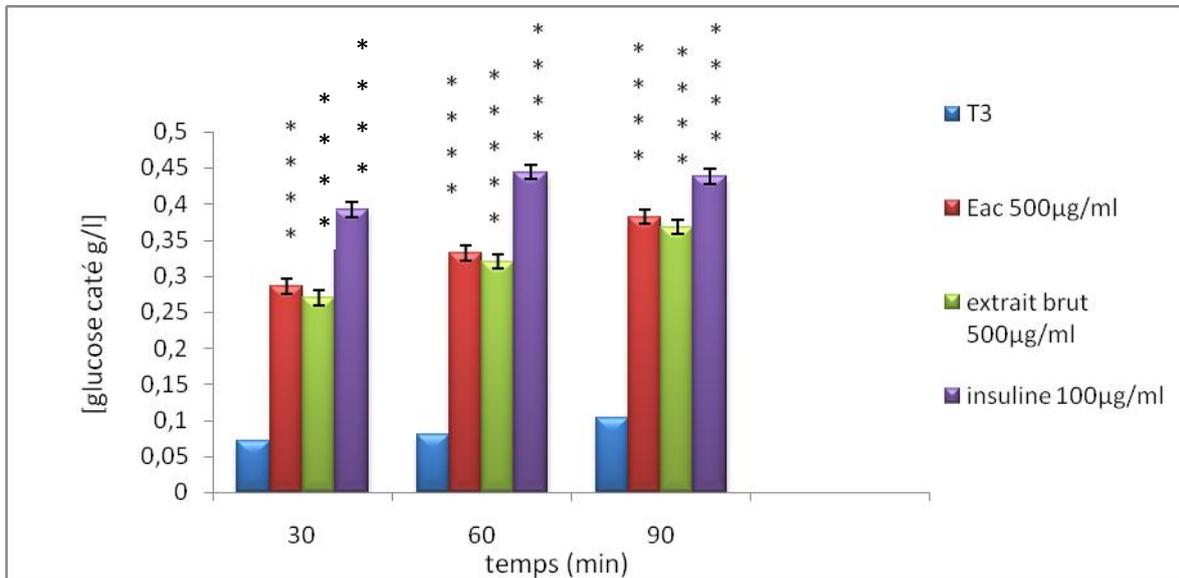


Figure 20 : Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500µg/ml et l'effet de l'insuline à 100µU/ml dans un milieu d'incubation à 1g/l de glucose.

Hautement significative $P < 0.0001$ (****).

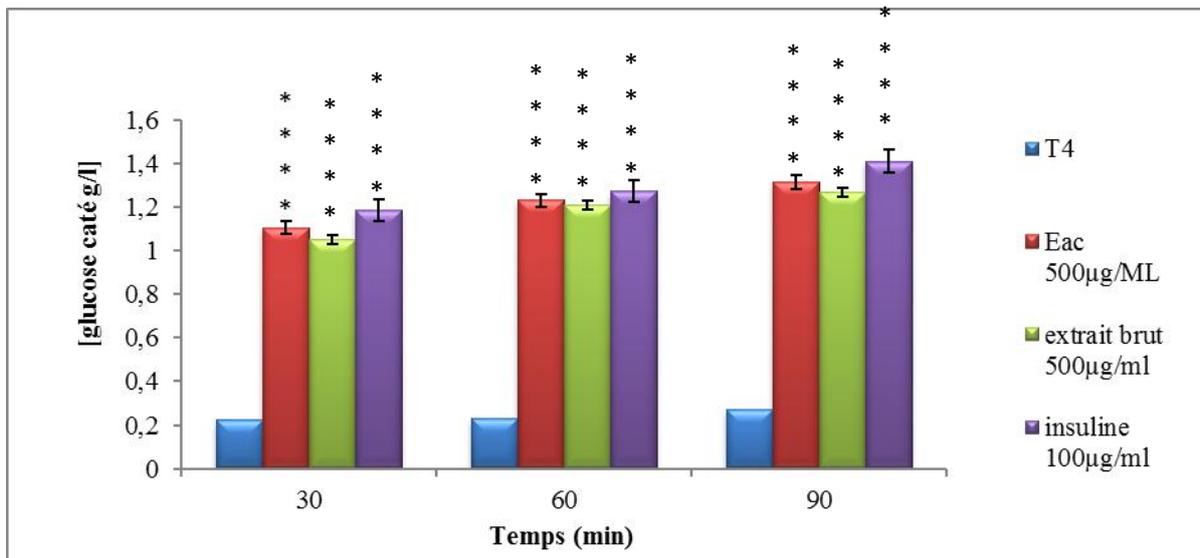


Figure 21: Comparaison entre l'effet des deux extraits à 500 µg/ml et l'effet de l'insuline à 100 µU/ml dans un milieu d'incubation à 3 g/l de glucose.

Hautement significative $P < 0.0001$ (****).

Les résultats obtenus nous montrent que la captation de glucose par nos extraits et par l'insuline est hautement significative par rapport aux témoins.

La comparaison des résultats de nos extraits à celles de l'insuline nous a permis de constater que nos extraits bruts et de flavonoïde activent la captation de glucose par les coupes de tissu hépatique dans les deux milieux d'incubation utilisés (1g/l et 3 g/l de glucose). Nous avons remarqué également que l'extrait de flavonoïde a un effet maximal sur la captation de glucose par rapport à l'extrait brut.

Discussion

Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activités biologiques et thérapeutiques constituent un des plus grands défis de la recherche scientifique. (Farnsworth et Soejarto, 1985). De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des activités biologiques des plantes médicinales dont la présente étude qui est consacrée à la recherche de l'effet sur la captation de glucose de l'extraits brut et de l'extrait des flavonoïdes des parties aériennes de *Traganum nudatum* sur des coupes fines de foie isolées à partir des rats Wistar.

L'analyse chromatographique sur couche mince des extraits bruts et de flavonoïdes de la partie aérienne de *Traganum nudatum* nous permettent de noter, que l'extrait de flavonoïdes est composé de 7 taches dont la catéchine et la quercétine en présence d'une phase mobile contenant l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau (20/2.7/0.8) (v/v/v). L'extrait brut est composé de 7 taches en utilisant le système chloroforme, méthanol, acétate d'éthyle et l'eau (15/20/15/0.05) (v/v/v/v). Une étude phytochimique réalisée sur la même fraction de cette plante a montré que sa teneur en flavonoïdes est relativement importante (Allaoui *et al.*, 2016)

Les résultats de l'activité antidiabétique *in vitro* montrent que l'insuline et les extraits bruts et les extraits de flavonoïdes de la partie aérienne de *Traganum nudatum*, favorisent une stimulation de la captation de glucose par les coupes fines de tissu hépatique isolées à partir des rats Wistar, dans deux milieux d'incubation, le premier représentant un milieu normo glycémique (1g/l) et le deuxième est un milieu hyper glycémique qui reflète l'état du diabète (3g/l).

En absence de l'insuline, nous remarquons que les coupes de tissu hépatique ont une consommation basale de glucose qui est entre 0.11 et 0.28 g/l dans les deux milieux à la fin de l'incubation, cela est dû aux transporteurs insulino indépendants GLUT2 présents dans les hépatocytes (GUERRE-MILLO.,1995).

L'addition de différentes doses des extraits bruts et de flavonoïdes et de l'insuline dans les deux milieux d'incubation stimulent une augmentation de la captation de glucose par les coupes de tissu hépatique. Cette captation est proportionnelle avec le temps.

Traganum nudatum est largement utilisée dans la médecine traditionnelle puisqu'elle présente diverses propriétés thérapeutiques telles que l'activité antidiabétique (Bouallala *et*

al., 2014). Ces propriétés thérapeutiques sont dues à sa composition chimique riche en métabolites secondaire telles que les flavonoïdes (**Gori et Tebbale, 2014**). Ces derniers sont connus par leurs propriétés antidiabétiques :

L'injection de l'extrait de flavonoïdes de *Citrullus colocynthis* à 20 mg/kg à des rats diabétiques provoque une diminution significative de la glycémie et des triglycérides (**Bentabet, 2010**)

En 2009, Kebiech a montré que l'extrait de flavonoïdes de *Ranunculus repens* possède un pouvoir chémoprotecteur de ces composés contre l'effet délétère et diabétogène de l'alloxane qui se manifeste par le maintien de l'équilibre redox des cellules pancréatiques malgré l'effet toxique de l'alloxane (**Kebeich, 2009**)

Punit et al., 2012, ont montré que l'administration de l'extrait de flavonoïdes de *Pilea microphylla* à 900 mg/kg à des rats diabétiques provoque une réduction significative du taux de la glycémie plasmatique avec un pourcentage de 48% par rapport aux groupes des rats non traités par cet extrait

Les plantes appartenant à la famille des chénopodiacées présentent une activité antidiabétique importante, plusieurs études ont permis l'évaluer :

L'injection de l'extrait aqueux des feuilles de *Atriplex halimus* à des rats rendus diabétiques par la streptozotocine a montré une diminution importante du taux de la glycémie par la stimulation de la glycogénogénèse hépatique (**Chikhi et al., 2014**)

L'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles de *Anabasis articulata* à 400 mg/ml à des rats rendus diabétiques par l'alloxane, a diminué le taux de la glycémie de 29.89% après 6 heures, ce qui révèle un pouvoir antihyperglycémiant (**Kambouche et al., 2009**)

Le traitement des rats rendus diabétiques par l'extrait brut de *Chenopodium ambrosioides* pendant 14 jours, a montré une réduction significative de la glycémie par rapport aux groupes des rats traités par la metformine qui soulage l'insulinorésistance, cela montre que cet extrait a probablement un effet hypoglycémiant par la diminution de l'insulinorésistance tissulaire (**Jang song et al., 2011**).

Les cellules hépatiques ont un rôle fondamental dans la régulation de la glycémie, plusieurs études ont confirmé leur participation à la régulation glucidique, on peut citer :

Ratna et al en 2005, ont montré que l'extrait brut de *Syzygium aromaticum* L. agit comme l'insuline sur les hépatocytes en réduisant l'expression du gène de la phosphoénolpyruvate carboxykinase et de la glucose 6 phosphatase

L'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava* L., a provoqué une augmentation de l'absorption de glucose par les hépatocytes d'un rat, en provoquant une stabilisation du taux de glucose dans le sang (**Cheng et al., 2009**)

Ugochukwu et Babady en 2003, ont montré que le traitement des rats diabétiques par l'extrait aqueux à 100 mg/kg des feuilles de *Gongronema latifolium*, a provoqué une augmentation significative des taux de glycogène hépatique, cela révèle un pouvoir antihyperglycémiant

L'administration orale de l'extrait aqueux de *Ficus religiosa* à 50 et à 100 mg/kg a provoqué une augmentation significative de la gluconéogenèse hépatique chez des rats diabétiques. L'effet de cet extrait est comparable au glibenclamide qui est un médicament hypoglycémiant (**Rucha et al., 2010**).

Conclusion générale

Le présent travail avait pour but d'évaluer l'activité antidiabétique des extraits bruts et de flavonoïdes de *Traganum nudatum* par la mesure du taux de glucose capté par les coupes fines de tissu hépatique isolées à partir des rats Wistar *in vitro*.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que la dose de 500 µg/ml de nos extraits stimulent la captation de glucose de manière importante par les coupes fines de tissu hépatique dans les deux milieux d'incubation normo et hyper glycémiques en fonction du temps. Cela révèle un pouvoir hypoglycémiant de type insuline-like sur la captation de glucose.

Cependant, ces résultats restent préliminaires, d'autres expériences complémentaires doivent être menées, tels que :

- Confirmer les résultats obtenus sur un nombre plus important d'échantillon
- Tester d'autres doses des extraits bruts et de flavonoïdes afin de déterminer la dose la plus efficace.
- Rechercher les éventuels effets toxiques de nos extraits.
- Identifier, caractériser et séparer les différentes fractions des extraits bruts et des flavonoïdes par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN...
- Tester les composés purifiés afin de déterminer la ou les fractions efficaces sur la maladie diabétique.
- Etudier *in vitro* l'action de nos extraits sur les cellules β pancréatiques isolées et sur des tissus périphériques insulinosensibles (tissu musculaire et tissu adipeux)
- Evaluer l'effet antidiabétique de nos extraits *in vivo* et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.

Références bibliographiques

- 1. Al-Achi, A. (2005).** Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*, 8(7), 325-330.
- 2. Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M. A., Tabti, B., Ghalem, S., & Benabadji, N. (2008).** Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 2701.
- 3. Allaoui, M., Cheriti, A., Chebouat, E., Dadamoussa, B., & Gherraf, N. (2016).** Comparative study of the antioxidant activity and phenols and flavonoids contents of the ethyl acetate extracts from two Saharan Chenopodaceae: *Haloxylon scoparium* and *Traganum nudatum*. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 6(1), 71-79.
- 4. Andreelli, F., Jacquier, D., Dierick-Gallet, A., & Amouyal, C. (2011).** Pharmacogénétique des antidiabétiques : Pharmacogenetics of antidiabetic drugs. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 5(5), 512-519.
- 5. Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R. L., Bagchi, M., Tran, M. X., & Stohs, S. J. (1997).** Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology*, 95(2), 179-189.
- 6. Bassit, N., Essaadouni, L. (2011).** Séroprévalence de l'infection par le virus de l'hépatite C chez les diabétiques de type 2.OMS.
- 7. Benghanou, M. (2012).** La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.
- 8. Benkhniq, O., Ben Akka, F., Salhi, S., Fadli, M., Douira, A., & Zidane, L. (2014).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *JAPS*, 1, 3539-3568.
- 9. Bentabet N., 2010.** Mémoire de Master. Contribution à la recherche de l'effet d'extrait acétate d'éthyle des graines de *Citrullus colocynthis* sur l'hyperglycémie des rats males Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. Université de Tlemcen.

- 10. Bhowmik, A., Khan, L. A., Akhter, M., & Rokeya, B. (2009).** Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4(2), 110-114.
- 11. Bluestone, J. A., Herold, K., & Eisenbarth, G. (2010).** Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*, 464(7293), 1293-1300.
- 12. Bouallala, M., Bradal, L., Abid, M. (2014).** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. 7(2), 65-81.
- 13. Boumlik, L. (1998).** Le fonctionnement du système prépositionnel du français du Maroc. In *Le français parlé en Afrique. Colloque* (pp. 75-80).
- 14. Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc, Paris.
- 15. Burcelin, R., Dejager, S. (2010).** GLP-1: what is known, new and controversial in 2010?. *Diabetes & metabolism*, 36(6), 503-509.
- 16. Burr, J. F., Rowan, C. P., Jamnik, V. K., & Riddell, M. C. (2010).** The role of physical activity in type 2 diabetes prevention: physiological and practical perspectives. *The Physician and sportsmedicine*, 38(1), 72-82.
- 17. Buyschaert, M., & Hermans, M. P. (1998).** Critères révisés et nouvelle classification du diabète sucré. *Louvain médical*, 117(1), 1-6.
- 18. Capet, F., Debaille, R., Tafforeau, J., & Van Oyen, H. (1999).** Diabète: état des connaissances en Belgique et apport d'éléments pour l'élaboration d'une politique de santé. *Bruxelles: Institut Scientifique de la Santé Publique*.
- 19. Caquet R. (2012).** Diabète sucré. Analyses de laboratoire en odontostomatologie, 157-170.
- 20. Carles M, Hubert S, Massa H, Raucoules-Aimé M. (2008).** Utilisation des antidiabétiques
- 21. Charbonnel, B. E., Cariou, B. (1997).** Diabète non insulino-dépendant : indications thérapeutiques. *MT. Médecine thérapeutique*, 3, 103-111.
- 22. Cheng, A. Y. (2013).** Canadian Diabetes Association 2013 clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada. Introduction. *Canadian journal of diabetes*, 37, S1-3.

- 23.Cheng, F., Shen, S., Wu, J. (2009).** Effect of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extract on glucose uptake in rat hépatocytes. *J food Science* ; 74(5) :1750-3841.
- 24. Chikhi, I., Allali, H., Dib, M., Medjdoub, H., Tabti B. (2014).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of atriplex halimus L. (*Chenopodiaceae*). *Asian pacific journal of tropical disease* ; 4 (3) :181-184.
- 25.Cryer, P. E., Gerich, J. E. (1985).** Glucose counterregulation, hypoglycemia, and intensive insulin therapy in diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 313(4), 232-241.
- 26.Dali-Sahi, M., Benmansour, D., Aouar, A., & Karam, N. (2012).** Type 2 dans des populations endogames de l'ouest algérien. *Leban Sci J*, 13(2), 17.
- 27.de Santé, H. A. (2014).** Guide parcours de soins–Diabète de type 2 de l'adulte. *Mars*, 2014-04.
- 28.Dion, F. (2016).** La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique et le risque de développer un diabète de type 2: un cercle vicieux.
- 29.Dion, F. (2016).** La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique et le risque de développer un diabète de type 2: un cercle vicieux, *Université de Montréal*.
- 30.Ducobu, J. (2003).** Les antidiabétiques oraux en 2003. *Rev Med Brux*, 361-368.
- 31.Émile, C. (2008).** Traitement médicamenteux du diabète de type 2, actualités et nouveautés.
- 32.Exton, J. H. (1972).** Gluconeogenesis. *Metabolism*, 21(10), 945-990.
- 33. Farnsworth,N.R. et Soejarto ,D. (1985).** Potential consequence of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. *EconomicBotany* 39. PP: 231-240).
- 34.Faure, S. (2011).** Biguanides. *Actualités pharmaceutiques*, 51-54.
- 35.Feng, B., Zhang, T., Xu, H. (2013).** Human adipose dynamics and metabolic health. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), 160-177.
- 36.Fonseca, V., Rosenstock, J., Patwardhan, R., & Salzman, A. (2000).** Effect of metformin and rosiglitazone combination therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Jama*, 283(13), 1695-1702.

- 37. Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- 38. Gholap, S., Kar, A. (2004).** Hypoglycaemic effects of some plant extracts are possibly mediated through inhibition in corticosteroid concentration. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 59(11), 876-878.
- 39. Grimaldi, A. (2004) .** Diabétologie. Question d'internat. CHU-PS/15-23.99-129.(b)
- 40. Grimaldi, A. (2005).** *Diabète de type 2*. Elsevier Masson.
- 41. Grimaldi, A., Hartemann-Heurtier, A. (2009).** *Guide pratique du diabète*. (DEPRECIATED).
- 42. Grimaldi, A., Heurtier, A. (1999).** Critères diagnostiques du diabète de type 2: Diabète de type 2. *La Revue du praticien*, 49(1), 16-21.
- 43. Grimaldi, A., Sachon, C. (2003).** Autosurveillance glycémique au cours du diabète de type 2: pour qui et pour quoi faire? quelles preuves?. *Diabetes & metabolism*, 29(2), 2S42-2S46.
- 44. GUERRE-MILLO M., 1995.** Les transporteurs d'hexoses. *Med Sci* ;11:1111-9.
- 45. Guillausseau, P. J., Tielmans, D., Virally-Monod, M., & Assayag, M. (1997).** Diabetes: from phenotypes to genotypes. *Diabetes & metabolism*, 23, 14-21.
- 46. Halimi, S. (2003).** le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID). *Faculté de médecine de Grenoble*.
- 47. Halimi, S. (2016).** Diabète de type 2 : pourquoi ne pas proposer une polythérapie antidiabétique d'emblée ? *Médecine des maladies Métaboliques*, 10(2), 107-113.
- 48. Halimi, S., Debaty, I., Villaret, L., & Muller, M. (2008).** Les nouveaux traitements du diabète de type 2 : quelle place pour les incrétones et le rimonabant par rapport aux précédents ? *La Revue de médecine interne*, 29(11), 881-890.
- 49. Hallard, F. (1988).** *Phytothérapie*. Masson.
- 50. Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- 51. Hua, Q. (2010).** Insulin: a small protein with a long journey. *Protein & cell*, 1(6), 537-551.
- 52. Hue, L. (1987).** Gluconeogenesis and its regulation. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 3(1), 111-126.
- 53. International Diabetes Federation (en ligne)**

- 54. Ishikawa, A., Yamashita, H., Hiemori, M., Inagaki, E., Kimoto, M., Okamoto, M., & Natori, Y. (2007).** Characterization of inhibitors of postprandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 53(2), 166-173.
- 55. Jang song, M., Sun- Mee, L., Dong Ku K., (2011).** Antidiabetic effect of *Chenopodium ambrosioides*. *Phytopharmacology* ; 1(2) : 12-15.
- 56. Jean, C., Samuel, L., Christine, F., Gilles, A. (2012).** *Pharmacie clinique et thérapeutique (3e édition entièrement revue)*, 417-442.
- 57. Jin, L., Xue, H. Y., Jin, L. J., Li, S. Y., & Xu, Y. P. (2008).** Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *European journal of pharmacology*, 582(1), 162-167.
- 58. Joost, H. G., Thorens, B. (2001).** The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members. *Molecular membrane biology*, 18(4), 247-256.
- 59. Kamalakkannan, N., Prince, P. S. M. (2005).** The effect of Aegle marmelos fruit extract in streptozotocin diabetes: a histopathological study. *Journal of herbal pharmacotherapy*, 5(3), 87-96.
- 60. Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahoual S. et Soulimani R., (2009).** Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Anabasis articulata* (CHENOPODIACEAE), an Algerain medecinal plant. *African journal of biotechnology*
- 61. Kebeich, M. (2009).** Thèse de Doctorat. Activité biochimique des extraits flavonoïques de la plante *Ranunculus repenses L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite. Université de Constantine.
- 62. Kim, Y. Y., Kang, H. J., Ko, S. K., Chung, S. H. (2002).** Sopungsung-won (SP) prevents the onset of hyperglycemia and hyperlipidemia in Zucker diabetic fatty rats. *Archives of pharmacal research*, 25(6), 923-931.
- 63. Kojima, I., Umezawa, K. (2006).** Conophylline: a novel differentiation inducer for pancreatic β cells. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 38(5), 923-930.
- 64. Larger, E. (1997).** Mécanismes d'action des antidiabétiques oraux. *MT. Médecine thérapeutique*, 3, 97-102.

- 65. Lebreton, F. (2014).** *Signaux électriques des îlots pancréatiques enregistrés sur matrices de microélectrodes: caractérisation et application au phénotypage d'animaux transgéniques* (Doctoral dissertation, Bordeaux).
- 66. Li, Y., Wen, S., Kota, B. P., Peng, G., Li, G. Q., Yamahara, J., & Roufogalis, B. D. (2005).** Punica granatum flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2), 239-244.
- 67. Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002).** Botanique 3ème Ed: Technique et documentation. *Lavoisier. Paris. 211.*
- 68. MacGeown, J. G., Pradel, J. L. (2003).** *Physiologie: l'essentiel*. Maloine.
- 69. Madi, A. (2009).** caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. *Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine.*
- 70. Maitre, M., Blicklé, J. F. (2008).** Métabolismes hépatiques. *EMC, Hépatologie*, 7-005.
- 71. Marshall, W. J., Bangert, S. K., Raynaud, E. (2004).** *Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostic*. Elsevier, 59-87.
- 72. Maw, G., Tan R. X., Fuzzati N., Li Q. S., Wolfender J. L., Hostettmann K., (1997).** Natural occurring and synthetic polyene glycosides. *Phytochemistry*, 45(2): 411-415.
- 73. Miranda V.S, Chopineau J, Somda F, Tauveron I (2008).** Traitement du diabète sucré.
- 74. Mohammadi, J., Naik, P. R. (2008).** Evaluation of hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. *Indian journal of pharmacology*, 40(1), 15.
- 75. Molinier, A., Massol, J. (2007).** *Pathologie médicale et pratique infirmière : Cardiologie, pneumologie, orthopédie-rhumatologie, gérontologie-gérontopsychiatrie, psychiatrie* (1). Wolters Kluwer France.
- 76. Monnier, L. (2011).** *Diabétologie*. Elsevier Health Sciences, 1782.
- 77. Nammi, S., Boini, M. K., Lodagala, S. D., Behara, R. B. S. (2003).** The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits. *BMC complementary and Alternative Medicine*, 3(1), 4.

- 78. Neel, B. A., Sargis, R. M. (2011).** The paradox of progress: environmental disruption of metabolism and the diabetes epidemic. *Diabetes*, 60(7), 1838-1848.
- 79. Nissen, S. E., Wolski, K. (2007).** Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *New England Journal of Medicine*, 356(24), 2457-2471.
- 80. Nmila, R., Gross, R., Rchid, H., Roye, M., Manteghetti, M., Petit, P., & Sauvaire, Y. (2000).** Insulinotropic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta medica*, 66(05), 418-423.
- 81. Nordlie, R. C., Foster, J. D., Lange, A. J. (1999).** Regulation of glucose production by the liver. *Annual review of nutrition*, 19(1), 379-406.
- 82. Observatoire Régional de la santé Réunion. (2015).** Le diabète. Ile de La Réunion, France : ORS. Réunion.
- 83. Organisation mondiale de la santé Aide-mémoire. (2016).** N°312 Avril
- 84. Organisation mondiale de la santé (2002).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO/EDM /TRM /2002.1.
- 85. Organisation Mondiale de la Santé, 2002.** Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138
- 86. Pelt, J. M. (1980).** *Les drogues: leur histoire, leurs effets.* Doin.,
- 87. Punit, B., Piya, P., Jayesh, M., Pawan, G., Nayak, S., Priyadarsini, M., (2012).** Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of flavonoids of *Pilea microphylla* in high fat diet/streptozotocin-induced diabetes in mice
- 88. Raccah, D. (2004).** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*, 1(1), 29-42.
- 89. Ratna, C., Birger, H., Braden, B., Lauren S., Mary, W. (2005).** An extract of *Suzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic glucogenogenic enzymes. *Journal of ethnopharmacology* ; 96 (1) :295-301.
- 90. Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S. (2005).** Antihyperlipidemic effect of *Eugenia*
- 91. Ravi, K., Rajasekaran, S., Subramanian, S. (2005).** Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 43(9), 1433-1439.

- 92. Rucha, P., Ashish, P., Aarti, J. (2010).** Antidiabetic effects of *Ficus religiosa* extract in streptozotocin –induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* ; 128(2) : 462-466.
- 93. Saltiel, A. R., Kahn, C. R. (2001).** Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799-806.
- 94. Sanogo, R. (2006).** Le rôle des plantes en médecine traditionnelle. *Développement, Environnement et Santé. 10e école d'été de l'IEPF et du SIFEE du, 6.*
- 95. Sargis, R. M., Johnson, D. N., Choudhury, R. A., Brady, M. J. (2010).** Environmental endocrine disruptors promote adipogenesis in the 3t3-l1 cell line through glucocorticoid receptor activation. *Obesity*, 18(7), 1283-1288.
- 96. Sharma, A. K., Bharti, S., Goyal, S., Arora, S., Nepal, S., Kishore, K., & Arya, D. S. (2011).** Upregulation of PPAR γ by *Aegle marmelos* Ameliorates Insulin Resistance and β -cell Dysfunction in High Fat Diet Fed-Streptozotocin Induced Type 2 Diabetic Rats. *Phytotherapy Research*, 25(10), 1457-1465.
- 97. Sharma, P. C., Bhatia, V., Bansal, N., Sharma, A. (2007).** A review on Bael tree.
- 98. Shaw, J. E., Sicree, R. A. Zimmet, P. Z. (2010).** Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research And Clinical Practice*, 87(1), 4-14.
- 99. Shibib, B. A., Khan, L. A., Rahman, R. (1993).** Hypoglycaemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphatase and fructose-1, 6-bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochemical Journal*, 292(1), 267-270.
- 100. Singh, I. (2011).** Anatomy and Physiology for Physiotherapists, *JaypeeBrothers Publishers: 98-90.*
- 101. Spargo, E., Pratt, O. E., Daniel, P. M. (1979).** Metabolic functions of skeletal muscles of man, mammals, birds and fishes: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 72(12), 921.
- 102. Taveau, C. (2014).** *Rôle de la vasopressine dans les troubles du métabolisme glucidique : possible impact dans le développement du diabète* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

- 103. Ugochukwu, N., Babady, N. (2003).** Antihyperglycemic effect of aqueous extract of *Gongronema latifolium* leaves on glucose and glycogen metabolism in livers of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Life science*. 73(15) :1925-1938.
- 104. Van Cromphaut, S. J., Vanhorebeek, I., d, Berghe., G. V. (2008).** Glucose metabolism and insulin resistance in sepsis. *Current pharmaceutical design*, 14(19), 1887-1899.
- 105. Vanhorebeek, I., Langouche, L., Van den Berghe, G. (2005).** Glycemic and nonglycemic effects of insulin: how do they contribute to a better outcome of critical illness? *Current opinion in critical care*, 11(4), 304-311.
- 106. Virally, M., Blicklé, J. F., Girard, J., Halimi, S., Simon, D., Guillausseau, P. J. (2007).** Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes & metabolism*, 33(4), 231-244.
- 107. Vollhardt, K. P. C., Schore, N. E. (2004).** *Traité de chimie organique*. De Boeck Supérieur.
- 108. Weickert, M. O., Pfeiffer, A. F. H. (2006).** Reply to comment on: Weickert MO, Pfeiffer AFH (2006) Signalling mechanisms linking hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetologia* 49: 1732–1741. *Diabetologia*, 50(2), 495-496.
- 109. Wens J., Sunaert P., Nobels F., Feyen L., Crombruggen P.V., Bastiaens H., Royen P. V. (2007).** Diabète sucré de type 2. Recommandation de bonne pratique. *Société ScienciJ7 que de Médecine Générale (SSMG)*, 02: 3-72.
- 110. Wichtl, M., Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2 e édition. *EM Inter/Tec, Doc éditions, Paris*, 587-589.
- 111. Yang, J. (2014).** *Enhanced skeletal muscle for effective glucose homeostasis. Prog Mol Biol Transl Sci* 121: 133–163.
- 112. Ybert, E., DE meus, A. L. (2001).** Larousse Encyclopédie des Plantes Médicinales. Identification, préparations, soins.
- 113. Yki-Jarvinen, H. (2004).** Thiazolidinediones. *N. Engi. J. Med*, 351: 1106-18.
- 114. Youdim, K. A., Spencer, J. P., Schroeter, H., Rice-Evans, C. (2002).** Dietary flavonoids as potential neuroprotectants. *Biological chemistry*, 383(3-4), 503-519.
- 115. Zaoui, S., Biémont, C. Meguenni, K. (2007).** Approche épidémiologique du diabète en milieux urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest Algérien). *Cahiers D'études Et De Recherches Francophones/Santé*, 17(1), 15-21.