

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Physico chimique
Filière : Sciences biologiques
Option : Biochimie appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de l'effet toxicologique et antidiabétique
de l'extrait éthanolique d'une plante médicinale**

Présenté par :

Meziani Djaouida & Lebsir Meriem

Soutenu le : **10 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mr Bribi	MAA	President
Mr. Tacharfiout Mustapha	MAA	Examineur
Melle Tahiri Ouahiba	MAA	Encadreur

Année universitaire : 2014 / 2015

« Remerciements »

Ma reconnaissance et mes vifs remerciements s'adressent :

Au bon Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

A mon encadreur, M^{lle} TAHIRI O. pour son attention, sa générosité scientifique, ainsi que son soutien morale.

Qu'elle trouve ici l'expression de toutes nos gratitude, et nos sincères remerciements pour son soutien permanent.

A M^{lle} ARJIBI I. de nous avoir encadré durant notre pratique, pour ses conseils, son soutien, et sa sympathie

Qu'elle trouve ici l'expression de toutes nos gratitude et sincères remerciements

A M^r BRJIBI N. d'avoir accepté d'évaluer ce travail et nous honoré au tant que président de jury.

Qu'il trouve ici nos sincères gratitude et nos sincères remerciements.

A M^r TACHERFIOUT M. pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury, pour évaluer notre travail

Qu'il soit assuré de nous respectueuses et très sincères gratitude.

Nous tenons aussi à remercier, l'équipe de CRD (SAIDAL) et CRAPC de nous avoir accueilli au sein de leur organisme.

Qu'il trouve ici nos très sincères remerciements et gratitude.

« Mériem et Djaouida »

« Dédicaces »

Ce modeste travail est dédié :

À ma chère mère ;

À mon cher père ;

À mes frères et sœurs ;

*À toute la famille Meziani, et sans oublier la famille
Nait oumeziane ;*

À tous mes chers ami(e)s tous à leurs nom ;

À tous mes collègues de l'Université ;

À toutes les personnes qui m'aiment et que j'aime.

Djaouida.M

« Dédicaces »

Avec un énorme plaisir et une immense joie

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers et magnifiques parents, qui m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux,

Mon très cher père pour son soutien durant toutes mes années d'études, et pour ses encouragements.

Ma précieuse mère, pour son dévouement, son amour et qui n'a pas cessé d'illuminer ma vie

Mes très chères sœurs

« Ibtissam, » son mari « Idir » et son adorable fils « Aylan », à qui je souhaite tout le bonheur du monde.

« Ahelm » et « Amina » à qui je souhaite la réussite.

Mon très cher petit frère « Adem ».

Ma très chère tante « Louisa » et son mari tonton « El Hacene » qui m'ont soutenue et encouragée.

A tous les membres de ma famille.

A toutes mes copines et mes amis.

A mon binôme « Djaouida » et sa famille.

A toute la promotion de biochimie appliquée 2015.

Mériem.L

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

Chapitre I : Revue Bibliographique

I.1-Généralités sur le diabète3

I.1.1- Historique sur le diabète.....3

I.1.2- Définition du diabète3

I.1.3-Régulation de la glycémie par l'insuline.....4

I.1.4 -La Classification du diabète.....5

I.1.4.1 -Le diabète insulino-dépendant ou le diabète sucré de type 1 DID5

I.1.4.2-Le diabète non insulino-dépendant ou le diabète sucré de type 2 (DNID)6

I.1.4.3 -Le Diabète rénal7

I.1.4.4- Le diabète gestationnel8

I.1.4.5 - Les diabètes secondaires8

I.1.5 - Les complications du diabète9

I.1.5.1- Les Complications aigüe du diabète9

I.1.5.2 –Les Complication chroniques du diabète 10

I.2 – Généralités sur la toxicité 10

I.2.1 - La définition d'un toxique 10

I.2.2- L'étude de la toxicité des plantes 11

I.2.3 - L'étude de la toxicité aiguë 11

I.2.4 - L'étude de la toxicité subaiguë 12

I.2.5 - Le foie et l'hépatotoxicité 12

I.2.5.1 - Physiologie et anatomie du foie 12

I.2.5.1.1- Les principales fonctions du foie 13

I.2.5.1.2- Principales lésions hépatiques 13

I.2.5.1.3 - Procédure d'évaluation de l'hépatotoxicité 14

I.2.6 - Les reins et la néphrotoxicité 15

I.2.6.1- La morphologie des reins 15

I.2.6.2 - Les différentes fonctions des reins	16
I.2.6.3 - Principales lésions rénales	16
I.2.6.4- Procédure d'évaluation de la néphrotoxicité	16
I.2.7- La toxicité induite par la streptozotocine	17
I.3- Phytothérapie de diabète	18

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 Matériel végétal	21
II.1.1 Description Botanique de <i>Cistus albidus</i>	21
II.1.2 La classification botanique de <i>Cistus albidus</i>	22
II.2 Matériels animal	22
II.3 Etude de l'activité antidiabétique de <i>Cistus albidus</i>	23
II.3.1 Induction du diabète expérimentale	23
II.3.2 Préparation de l'extrait éthanolique	23
II.3.3 Traitement des animaux	24
II.3.4 L'évaluation de la glycémie	25
II.3.5 L'évaluation du poids corporel, de la quantité d'eau et de nourritures consommés	25
II.3.6 Sacrifice et prélèvement du sang et des pancréas	25
II.3.7 Bilan lipidique	25
II.3.7.1 Le dosage des triglycérides	26
II.3.7.2 Le dosage du cholestérol	26
II.3.7.3 Dosage du cholestérol HDL	27
II.3.8 L'étude histologique	27
II.4 L'évaluation de la toxicité aiguë (dose limite) de l'extrait éthanolique de <i>Cistus albidus</i>	29
II.5 L'évaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait éthanolique de <i>Cistus albidus</i>	29
II.5.1 Méthode d'observation et l'examen	30
II.5.2 Examen biochimique	30
II.5.2.1 Créatinine	30
II.5.2.2 Urée	30
II.5.2.3 Transaminases	31

II.5.2.3.1 Glutamate pyruvate transaminase (GPT) ou alanine aminotransferase (ALAT)	31
II.5.2.3.2 Glutamate oxaloacétate transférase (GOT) aspartate aminotransferase (ASAT).....	31
II.6 Analyse statistique	32
Chapitre III : Résultats et discussions	
III.1- Evaluation de l'activité antidiabétique	33
III.1.1- variation pondérale	33
III.1.2 - Consommation de la nourriture et d'eau	34
III.1.3 Evaluation des paramètres biochimiques sanguins	35
III. 1.3.1. Evaluation de la Glycémie	35
III.1.3.2 Profil lipidique	38
III.1.3.3 résultats et discussion de l'étude histologique	42
III -2 Etude de la toxicité aiguë	44
III-2-1 Evaluation du poids corporel	44
III -2-2 Poids des organes	45
III –3 Etude de la toxicité subaiguë	46
III-3-1 Evaluation du poids corporel	46
III -3-2 Paramètre biochimique	47
Conclusion et perspectives	53
Références bibliographiques	55

Liste des abréviations

ACAT: Cholestérol acyltransférase.

ADN : Acide dysoxyribonucléique.

ADP : Adénosine-5-phosphate.

ALAT : Alanine aminotransférase

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique.

ASAT : Aspartate aminotransférase.

ATP : Adénosine Triphosphate.

CMC: Carboxyméthylcellulose.

CRAPC : Centre de recherche en analyse physique-chimique.

CRD : Centre de recherche et de développement à SAIDAL.

DL 50 : La dose létale 50

DME : La dose maximale sans effet toxique

DTG : Diabète gestationnel.

DTI : Diabète de type I.

DTII : Diabète de type II.

EC: Esters de cholestérol.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique.

GLUT : Transporteur de glucose.

HDL : High Density Lipoproteins.

HLA : Complexe majeur d'histocompatibilité humain.

NADH: Nicotinamide adénine dinucleotide.

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

RAGE : Le récepteur des produits terminaux de glycation.

SGLT: Transporteur sodium-glucose.

STZ : Streptozotocine.

TGP/ GPT: Glutamate pyruvate transaminase.

VLDL: Very Low Density Lipoproteins.

Liste des tableaux

Tableau I : Quelques exemples de plantes antidiabétique et leurs modes d'action	19
Tableau II : Quelques exemples de produits naturels purs, testés expérimentalement pour l'activité antidiabétique	20
Tableau III : La position taxonomique de <i>Cistus albidus</i>	22

Liste des figures

Figure 1 : Schéma représentatif de l'action de l'insuline dans les conditions normal et dans le diabète sucré de type1	6
Figure 2 : Schéma représentatif de l'action de l'insuline dans les conditions normale et dans le diabète sucré de type 2.....	7
Figure 3 : Coupe coronale, vue postérieure du rein	15
Figure 4 : La structure chimique de la streptozotocine	17
Figure 5 : Photographie de <i>Cistus albidus</i>	21
Figure 6 : Groupe de six rats (sur la gauche) groupe de cinq souris (sur la droite) photos prises à l'animalerie de CRD, SAIDAL	23
Figure 7 : Le gavage intragastrique (sur la gauche) et injection intra péritonéale (sur la droite) photos prise au CRD, SAIDAL.....	24
Figure 8 : Cassettes pour dépôts des pancréas.....	27
Figure 9 : Automate LEICA	28
Figure 10 : Microtome LEICA	28
Figure 11 : Variation du poids corporel des rats durant les 21jours de l'expérimentation ..	33
Figure 12 : Variation de nourriture ingérée par les rats pendant les 21 jours de traitement..	34
Figure 13 : Quantité d'eau consommée par les rats pendant les 21 jours de traitement	35
Figure 14 : Variation de la glycémie.....	36
Figure 15 : Concentration sérique du cholestérol total après traitement de 21 jours	38
Figure 16 : Concentrations sériques du cholestérol HDL après traitement de 21 jours.....	39
Figure 17 : Concentrations sériques des triglycérides	40
Figure 18 : Photographie microscopiques des pancréas de rats	41

Figure 19 : Evolution du poids corporel des lots de souris au cours de l'évaluation de la toxicité aiguë (lot témoin, Essai 2000mg/kg)	43
Figure 20 : Poids des organes (foie, reins) des différents lots au cour de l'étude de la toxicité aiguë	44
Figure 21 : Variation du poids corporel des différents lots de souris au cours de l'évaluation de la toxicité subaiguë.....	46
Figure 22 : Taux de créatinine sérique chez les 3 lots.....	47
Figure 23 : Taux de l'urée sérique des 3 lots.....	48
Figure 24 : Taux de GPT (ALAT) sérique chez les 2 lots	50
Figure 25 : Taux de GOT (ASAT) sérique chez les 2 lots.....	51

« *Introduction* »

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutique est une pratique très ancienne rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque et romaine (**Satopathy et al., 2009**).

Aujourd'hui malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutique dans le traitement d'une multitude d'affection et de maladies dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés et cela est dû à l'échec des traitements pharmaceutique conventionnels, surtout dans le cas des maladies chroniques, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés. Comme dans le cas du diabète les gens retournent particulièrement de nouveau vers la phytothérapie qui propose des remèdes mieux tolérés par l'organisme et plus accessible vue la biodiversité végétale du globe terrestre et sa richesse en plantes médicinales (**Eddouks et al., 2007**).

Le diabète est une maladie endocrinienne ubiquitaire qui touche environ 2 % de la population mondiale. Des données récentes révèlent qu'il y a environ 150 millions de diabétiques dans le monde et que ce nombre pourrait bien doubler d'ici 2025 (**Boyle et al., 2001**).

Selon l'OMS, le diabète est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion de l'insuline, de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées, engendrant des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**WHO, 2006**).

De par sa situation géographique et la diversité de son climat, l'Algérie est un pays riche en végétaux, cependant un nombre important d'espèces végétales utilisées comme remède contre le diabète ne sont pas évaluées scientifiquement (**Allali et al., 2008**).

Cistus albidus est un arbuste très répandu dans le pourtour méditerranéen, utilisée par la population algérienne et marocaine contre plusieurs maladies, et suspecté d'avoir un effet antidiabétique. Etant une espèce peut étudier, il est préliminaire d'évalué son éventuelle toxicité.

Introduction

Le présent travail s'intéresse d'une part à l'évaluation de l'activité antidiabétique de ce végétal par la réalisation d'une série d'essais effectués sur le rat *Wistar* rendu diabétique par la streptozotocine comme modèle de diabète expérimental, et d'autre part d'évalué l'effet de l'extrait des feuilles de *Cistus albidus* sur certains paramètres biochimiques de la fonction rénal et hépatique dans les conditions de la toxicité aigüe et subaigüe chez les souris albinos .

Chapitre I :

« Revue bibliographique »

I.1-GENERALITES SUR LE DIABETE

I.1.1- HISTORIQUE SUR LE DIABETE

Le diabète est une des maladies les plus anciennement connues. Des documents faisant mention de prescriptions médicales pour corriger la polyurie ont été retrouvés dans les tombeaux de Thèbes en Égypte.

Ce qui suit présente les principales découvertes qui ont permis la compréhension de la physiopathologie du diabète au cours du 19^{ème} et 20^{ème} siècle :

- Au 17^{ème} siècle, William Cullen différencia le diabète sucré du diabète insipide (affection rénale où l'hyperglycémie résulte de la concentration sanguine causée par la perte de fluides induite par la polyurie).
- En 1797, John Rollo signala l'hyperglycémie du diabétique.
- En 1815, Chevreul a montré que le sucre contenu dans les urines était du glucose.
- En 1848, Claude Bernard a découvert la fonction glycogénique du foie.
- En 1874, Minkovski et Vonmering ont confirmé le rôle du pancréas dans la pathogénèse du diabète.
- En 1921, Best et Banting ont isolé l'insuline.
- En 1955, grâce aux travaux de Loubatiers les premiers sulfamides ont vu le jour.
- 1970-1975 : période au cours de laquelle l'éducation du diabétique prend la première place dans le traitement du diabète (**Peumery, 1987**).

I.1.2- DEFINITION DU DIABETE

Le diabète est la quatrième cause de décès dans la plupart des pays développés. L'épidémie est croissante, due à une augmentation de l'obésité, de la sédentarité et à une alimentation déséquilibrée particulièrement riche en graisses et en sucres raffinés (**Peter-Riesch et al., 2002**).

Pendant des années, les diabètes ont été définis de différentes manières, et jusqu'à aujourd'hui il est impossible de donner une définition simple étiologique, pathogénique ou clinique. D'après les connaissances actuelles, c'est une maladie chronique causée par l'hérédité ou acquise par production insuffisante de l'insuline dans le pancréas (**Bach, 2000**).

Selon L'OMS le diabète est une affection métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience de sécrétion d'insuline provoquée par un dysfonctionnement des cellules β des îlots de Langerhans, d'anomalies de l'action de l'insuline sur les tissus cibles, ou de l'association des deux (**WHO, 1991**).

Le diabète est diagnostiqué lorsque une glycémie est supérieure à 1,26 g/L (7mmol/L) après un jeûne de 8 heures vérifiée par deux prises de sang consécutives, ou supérieur à 2g/L quel que soit l'heure du prélèvement en présence de symptômes clinique (polyurie, polydipsie et amaigrissement) (**Scheenet *al.*, 2010**).

I.1.3-REGULATION DE LA GLYCEMIE PAR L'INSULINE

L'insuline qui est une hormone sécrétée par les cellules bêta de Langerhans, maintient l'homéostasie glucidique en agissant sur trois tissus cible : le foie, le muscle et le tissu adipeux. (**Freychet, 1988**).

Le mécanisme de sécrétion de cette hormone lorsque la glycémie s'élève fait intervenir une augmentation de l'utilisation de glucose par la cellule β -pancréatique, une production accrue d'ATP et une diminution du rapport ADP/ATP conduisant à la fermeture de canaux K^+ ATP dépendant. Cela entraîne une dépolarisation cellulaire qui permet l'ouverture de canaux Ca^{2+} dépendant du voltage. L'augmentation du calcium intracellulaire, de concert avec d'autres seconds messagers (AMPc), stimule la libération d'insuline. L'effet du glucose sur la fermeture des canaux K^+ , peut être mimé par les sulfonylurées (**Ferré, 2005**).

L'entrée du glucose dans la cellule représente la première étape du contrôle de son utilisation. Il existe sept transporteurs de glucose différents nommés GLUT1 à GLUT7, qui transportent le glucose à travers la membrane cellulaire par diffusion facilitée. Le GLUT 4 est le seul des transporteurs du glucose qui n'entre en action qu'en réponse à l'insuline (**Ganong, 2005**).

Cette hormone a aussi des effets importants sur les lipides en baissant les acides gras dans le sang et favoriser le stockage de triglycérides, des effets sur les protéines en baissant la concentration des acides aminés dans le sang et stimuler la synthèse des protéines (**Sherwood, 2006**).

I.1.4 -LA CLASSIFICATION DU DIABETE

Selon l'étiologie et la physiologie, quatre grands groupes de diabète sont distingués selon la dernière révision de la classification du diabète. Diabète type I (DTI), Diabète type II (DTII), Diabète gestationnel (DTG) et Autres types spécifique de diabète (**Guillausseau, 1997**).

I.1.4.1 -LE DIABETE INSULINO-DEPENDANT OU LE DIABETE SUCRE DE TYPE 1 DID

Le diabète de type 1 ou DID, touche des personnes de tout âge mais plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte, c'est pourquoi il est aussi appelé « diabète juvéniles ». Les symptômes classiques les plus manifestes sont une sécrétion excessive d'urine (polyurie), une sensation de soif (polydipsie), cicatrisation lente des plaies, ainsi qu'une perte de poids soudaine (**André Grimaldi et al., 2001**).

Le diabète sucré de type 1 résultant d'une destruction sélective et auto-immune des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, responsable d'une carence absolue de la sécrétion d'insuline (Figure 1). Cette destruction résulte de la production d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes des cellules β , apparaît chez des sujets génétiquement prédisposés, notamment chez les individus possédant des gènes de susceptibilité liés au système HLA (**Ndomou et al., 2014**).

Le processus auto-immune serait déclenché par un facteur environnemental encore mal connu, entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique permanente. Le début de la maladie est souvent brutal et les injections d'insuline deviennent généralement indispensables à la survie des personnes qui en sont atteintes (**Boitard, 2002**).

Le diabète sucré de type 1 est subdivisé en deux sous-types :

- le type 1A ou diabète auto immun, la plus fréquente, dans laquelle une immunité cellulaire anormale détruit les cellules β .
- le type 1B sans marqueur d'auto-immunité (**Grimaldi et al., 2001**).

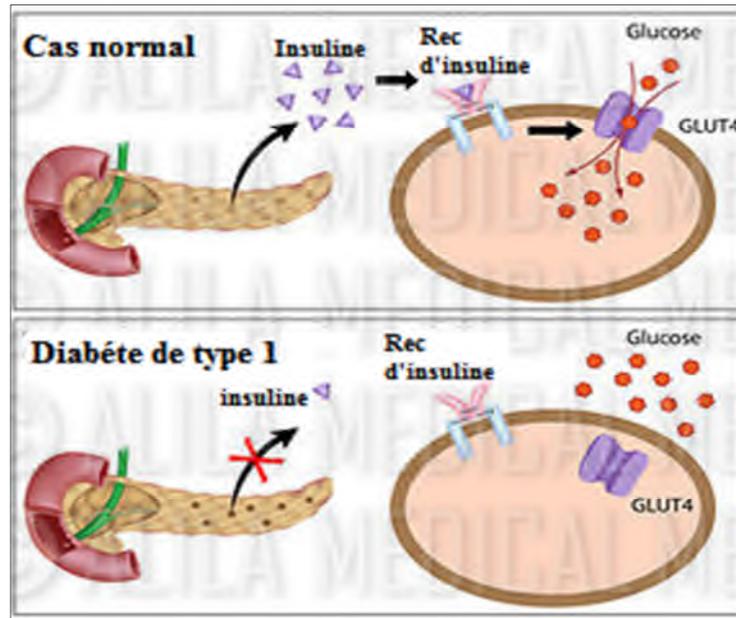


Figure 1: Schéma représentatif de l'action de l'insuline dans les conditions normal et dans le diabète sucré de type1 (Gerche, 2011).

I.1.4.2-LE DIABETE NON INSULINO-DEPENDANT OU LE DIABETE SUCRE DE TYPE 2 (DNID)

Le diabète de Type 2 ou DNID est difficile à définir du fait de son caractère hétérogène, multifactoriel et multigénique (Figure 2) (Perlemuter, 2002).

La grande majorité des patients diabétiques de type 2 présentent une résistance plus ou moins sévère à l'action de l'insuline. Cette résistance s'exerce au niveau des 3 principaux tissus cibles de l'hormone : le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux. En pratique, elle se manifeste par une augmentation de la production hépatique de glucose (principalement à partir de la néoglucogénèse), une diminution des capacités de captation musculaire du glucose et une lipolyse exagérée avec élévation du taux d'acides gras libres plasmatiques. Cette résistance à l'insuline découle d'une altération de la signalisation de l'insuline qui toucherait notamment le nombre de récepteurs à insuline et/ou leur affinité pour l'hormone et le nombre de transporteurs membranaires dépendants de l'insuline qui permettent l'entrée du glucose dans les cellules (Paquot et Fery, 2005).

Le deuxième phénomène consiste en une anomalie de l'insulino-sécrétion. La production de l'insuline est tout d'abord augmentée pour palier son inefficacité et l'hyperinsulinémie permet dans un premier temps de maintenir une glycémie normale, plus la maladie progresse et plus la sensibilité à l'insuline baisse (Guillausseau, 2003).

Peu à peu, les cellules β deviennent moins sensibles au stimulus du glucose. De plus, leur nombre et leur masse diminuent à cause de la toxicité du glucose. La sécrétion d'insuline finit alors par diminuer et les diabétiques de type 2 deviennent à terme (**Guillausseau, 2003**).

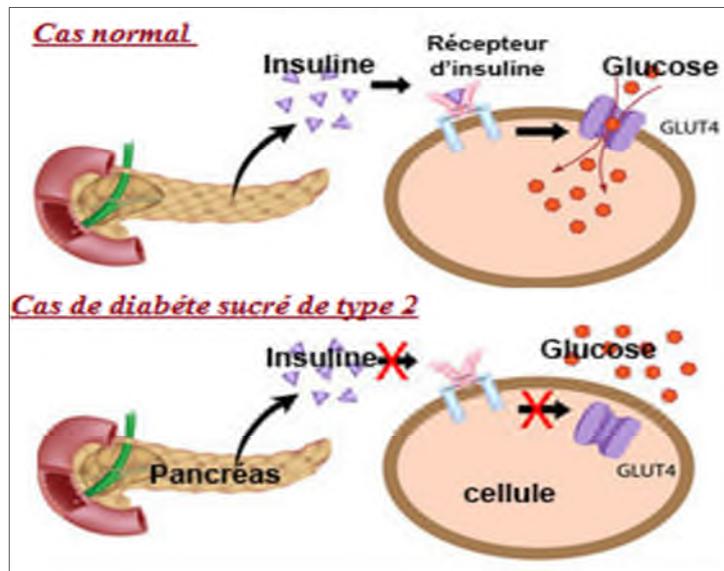


Figure 2 : Schéma représentatif de l'action de l'insuline dans les conditions normale et dans le diabète sucré de type 2 (**Gerche, 2011**).

I.1.4.3 -LE DIABETE RENAL

Le diabète rénal ou glycosurie rénale est une affection caractérisée par la présence de sucre dans l'urine de façon permanente associé à une glycémie normale. Un défaut tubulaire proximal de réabsorption du glucose en est la cause.

Cette anomalie peut être isolée ou associée à d'autres manifestations de dysfonction tubulaire proximale (**Rohfleisch et al., 2013**).

Glucosurie rénale isolée, résulte de plusieurs mutations au niveau de protéines de transport de glucose au niveau du tubule rénal proximal (SGLT1, SGLT2, GLUT2)

(**Mather et al., 2011**).

Glucosurie rénale associée, syndrome de Fanconi (SF) qui est un dysfonctionnement partiel ou complet du tubule proximal qui se traduit de manière caractéristique par une glucosurie associée à plusieurs anomalies telles qu'une polyurie, une protéinurie et aminoacidurie (**Izzedine et al., 2003**).

I.1.4.4- LE DIABETE GESTATIONNEL

Le diabète gestationnel est un trouble métabolique de gravité modérée, se caractérise par l'apparition de l'intolérance au glucose observée au cours de la grossesse, disparaît dans le postpartum (**Vialettes et Lesluyes 1996**).

La grossesse normale est caractérisée par une hyperplasie des cellules pancréatique beta ce qui augmente la sécrétion d'insuline, suivie par une insulino-résistance physiologique, progressive et réversible (**Coustan et Jovanovic, 2011**).

Les mécanismes de l'insulino-résistance au cours de la grossesse sont encore à l'heure actuelle mal définis, et il a été évoqué la possibilité d'une anomalie de liaison de l'insuline à son récepteur ou des modifications post-récepteur (**Vambergue et al., 2002**).

Le mécanisme moléculaire de l'insulino-résistance se traduit par un signal déclenché par l'insuline accompagné de la phosphorylation de deux tyrosines du substrat IRS-1, qui va augmenter la distribution membranaire du nombre de transporteurs Glut-4 nécessaires à l'entrée du glucose dans la cellule musculaire. L'insulino-résistance dans le cas de diabète gestationnel, une hypothèse suggère que la phosphorylation se produit dans un autre compartiment de la cellule et phosphoryle le résidu serine du substrat IRS-I. Paradoxalement, ceci accélère sa destruction avant qu'il ne puisse agir et empêche la distribution membranaire des Glut-4, ce qui bloque l'entrée du glucose dans la cellule par Glut-4 et explique l'hyperglycémie. (**Trivin et al., 2003**).

I.1.4.5 - LES DIABETES SECONDAIRES

Les diabètes secondaires résultent d'une pathologie ou d'un traitement associés directement responsables de l'hyperglycémie, ils sont majoritairement liés à l'existence d'une pancréatopathie, endocrinopathie responsables d'une hypersécrétion d'hormone hyperglycémiantes ou l'iatrogène.

Les maladies pancréatiques résultent d'une atteinte du pancréas exocrine lorsque plus de 80 % des îlots pancréatiques ont été détruites par un cancer du pancréas, pancréatectomie partielle ou totale, hémochromatose ou mucoviscidose (**Alvin et al., 2002**).

De nombreuses endocrinopathies peuvent entraîner un diabète, lié à l'hypersécrétion d'hormones qui s'opposent à l'action de l'insuline. Parmi elles on peut citer : acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, syndrome de Conn (**Perlemuter et Mori, 2002**).

Diabètes iatrogènes dus soient aux médicaments, on cite : corticoïdes, progestatifs, diurétiques thiazidiques, β bloquants, β agonistes et antirétroviraux, soient aux toxiques (Perlemuter et Mori, 2002).

I.1.5 - LES COMPLICATIONS DU DIABETE

Le diabète reste soumis à une surmorbidity et à une surmortalité liée essentiellement à des atteintes dégénératives tissulaire notamment au niveau des nerfs, des reins, de la rétine et du cœur, il induit fréquemment l'apparition des complications aiguës ou chroniques (Jakuš et Rietbrock, 2004).

I.1.5.1- LES COMPLICATIONS AIGÛE DU DIABETE

- **Le coma acido-cétosique**

Il se traduit par une carence importante d'insuline, d'où les cellules du corps vont être privées de glucose qui reste piégé dans le compartiment sanguin. En réaction, le tissu adipeux stimule la lipolyse, ce qui aboutit à une libération d'acides gras libres dans le sang. Ces acides gras sont absorbés puis transformés en Acétyl-CoA qui est dégradé par la suite en corps cétoniques libérés en quantité excessive dans le sang ce qui augmente l'acidose dans l'organisme (Buyschaert, 2006).

- **Le coma hyperosmolaire**

L'hyperglycémie induit une polyurie osmotique intense à l'origine d'une déshydratation globale (extra et surtout intracellulaire) non compensé par la boisson (soif non-ressentie ou non-satisfaite). L'hypovolémie qui s'ensuit entraîne une insuffisance rénale fonctionnelle qui limite la glycosurie et majore ainsi l'hyperglycémie (Moussard, 2005).

- **L'acidose lactique**

L'acidose lactique survient préférentiellement chez le diabétique de type 2 traité par les biguanides (Cas d'insuffisance rénal, insuffisance hépatique ou d'intoxication éthylique) qui bloquent néoglucogénèse et pouvant entraîner une hyperproduction de lactates.

L'acidose lactique apparaît en général en cas d'insuffisance d'élimination des biguanides.

- **Le Coma hypoglycémique**

Le coma hypoglycémique survient que chez le diabétique traité (surdosage d'insuline, ou sulfamides hypoglycémiantes chez le diabétique de type 2 (Moussard, 2005).

L'hypoglycémie est la conséquence du déséquilibre dans le trio « insuline-glucose-activité physique », due à une inhibition de la production de glucose par le foie ou à un excès de consommation de ce même glucose par les tissus périphériques.

Différents signes de l'hypoglycémie : signes adrénérgiques (sudation, irritabilité, palpitation) signes de la neuroglycopénie (confusion, troubles visuels, coma et convulsions), signes non spécifiques (céphalées, nausées, paresthésie notamment péri-buccales) (**Lecaque, 2011**).

I.1.5.2 – LES COMPLICATIONS CHRONIQUES DU DIABETE

Les complications à long terme sont essentiellement liées à l'hyperglycémie chronique par l'intermédiaire de : l'augmentation de l'activation de la voie des polyols et du stress oxydatif, la formation accrue de produits terminaux de la glycation, et l'accumulation de diacylglycérol et l'activation de la protéine kinase C.

L'augmentation de la transformation du glucose en sorbitol puis fructose par la voie des polyols au cours de l'hyperglycémie, avec une forte consommation de NADPH essentiel pour la régénération du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH). Ce phénomène induit un stress oxydatif responsable des dommages tissulaires et la mort cellulaire (**Nassaret *al.*, 2007**).

Le glucose qui réagit de façon non enzymatique avec les protéines lors de la glycation, peut affecter directement la fonction normale des protéines ou bien indirectement par la réaction avec des récepteurs membranaires spécifiques RAGE qui déclenche une production d'espèces oxygénées réactives et modifiant de façon pathologique la transcription génique (**Nassaret *al.*, 2007**).

Le diacylglycérol responsable d'activation de la protéine kinase C (molécules de signalisation intracellulaires) subissent une augmentation de concentration, induisant l'altération de l'expression de gènes et/ou des fonctions des protéines contribuant à des dysfonctionnements et des dommages tissulaires (**King, 2008**).

I.2 – GENERALITES SUR LA TOXICITE

I.2.1 - LA DEFINITION D'UN TOXIQUE

Un toxique, est une substance capable de perturber, immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable, le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant aller jusqu'à sa suppression complète et amener la mort (**Viala et Botta, 2007**).

La toxicité d'une substance au niveau de l'organisme dépend de la nature de la substance (Chimique, naturelle,...) de la dose et de la durée d'exposition, des différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal), des facteurs environnementaux et de l'exposition simultanée ou antérieure à d'autres produits chimiques.

Les facteurs propres à chaque individu peuvent modifier l'absorption, la distribution, l'excrétion, les transformations métaboliques et la sensibilité du récepteur dans l'organe cible (Tron *et al.*, 2002).

I.2.2- L'ETUDE DE LA TOXICITE DES PLANTES

La toxicité des plantes médicinales peut être liée à des mélanges de composés actifs qu'elles contiennent tels que les terpènes, les alcaloïdes, les saponines, et d'autre substance chimique, qui augmente le risque de réactions indésirable par leurs effets additifs ou synergique (Travoux *et al.*, 2000 ; Saad *et al.*, 2006).

Selon la durée, la fréquence et la quantité de produit toxique auxquelles un individu est exposé, on observe plusieurs types de toxicité (Alain, 2002).

Classiquement, en présence d'une substance inconnue la première étape dans la recherche d'une activité pharmacologique débute par l'étude de la toxicité et en particulier par l'évaluation de la dose létale 50 (DL 50) (Rollan, 1988).

De nombreuse plantes antidiabétique peuvent entraîner une chute trop brutale de la glycémie avec malaise hypoglycémique, voire coma, au même titre que l'insuline ou les autres médicaments hypoglycémiant, surtout si ces plantes sont associées à un traitement déjà existant et qui équilibrerait le diabète.

L'hypoglycémie provoquée est accompagnée d'un effet β -bloquant adrénergique et d'une hépatotoxicité (Marles et Farnsworth, 1995).

I.2.3 - L'ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE

L'étude de la toxicité aiguë est aussi qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après l'administration de la substance active. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux. Elle permet :

- L'indication de la dose maximale sans effet toxique (DME), c'est-à-dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin ;
- La notation de la dose minimale pour laquelle la mort survient chez tous les animaux de l'expérimentation
- La détermination de la DL50 (Ruckebusch, 1981).

La DL50 est la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux mis en expérience. C'est-à-dire ayant reçus une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien : mort ou survie des animaux.

Le protocole consiste à expérimenter sur 5 à 6 lots de 10 à 20 animaux auxquels sont administrées des doses croissantes de la substance à essayer de manière que le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100%. Ceci parce qu'il est impossible d'obtenir immédiatement 50 % de morts à partir d'un seul groupe. La construction d'une courbe donnant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose conduit à déterminer la dose qui serait la DL 50 (Wallance H, 2008).

I.2.4 - L'ETUDE DE LA TOXICITE SUBAIGUË

Elle consiste à étudier les conséquences néfastes de l'administration répétée du produit étudié. Le produit est administré quotidiennement, une ou deux fois par jour, pendant une durée de 90 jours en générales (Laroch, 2001).

Les expérimentations se font sur deux espèces de mammifères d'ont un rongeur et un non rongeur .Les observations doivent porter sur l'aspect général, le comportement, la croissance et la mortalité. Dans certaines cas, il peut être indiqué de faire une estimation de la quantité d'aliments consommés, d'étudier la chimie du sang et de l'urine, et de pratiquer des explorations fonctionnelles sur certains organes (Shubik et Sicé, 1956 ; Truhaut, 1956).

I.2.5 - LE FOIE ET L'HEPATOTOXICITE

I.2.5.1 - PHYSIOLOGIE ET ANATOMIE DU FOIE

Le foie est l'organe le plus volumineux et le plus complexe après le cerveau, il est impliqué dans le métabolisme des nutriments et de la plupart des xénobiotique, ces derniers sont généralement détoxifiés, mais certains sont bioactifs et deviennent plus toxiques (Frank, 1996).

Le foie est divisé en quatre lobes principaux :

- Lobe médian ou cystique : situé au-dessus, il y a une fissure centrale évidente.
- Lobe latéral gauche : grand et partiellement couvert par l'estomac.
- Lobe latéral droit : partiellement divisé en lobule antérieur et postérieur, caché de la vue par le lobe médian.
- Lobe caudale : petit et plis autour de l'œsophage et de l'estomac.

I.2.5.1.1- LES PRINCIPALES FONCTIONS DU FOIE

Ses principales fonctions peuvent se résumer ainsi :

- Métabolisme des graisses :
 - Oxydation des triglycérides pour produire de l'énergie
 - Synthèse de lipoprotéines plasmatiques
 - Synthèse du cholestérol et de phospholipides
- Métabolisme des hydrates de carbone :
 - Conversion des hydrates de carbone et des protéines en acides gras en triglycérides.
 - Régulation de la glycémie par les processus de glycogénèse, glycogénolyse et néoglucogénèse.
- Métabolisme protéique :
 - Synthèse de protéines plasmatique, incluant l'albumine et les facteurs de coagulation.
 - Synthèse d'acides aminés non essentiels.
 - Détoxification des déchets métaboliques.
- Stockage de glycogène et des vitamines
- Métabolisme intermédiaire :
 - Détoxification de médicaments et toxiques variés, comme l'alcool
 - Synthèse et sécrétion de la bile (**Horn et al., 2005 ; Young et al., 2008**).

I.2.5.1.2- PRINCIPALES LESIONS HEPATIQUES

Toute affection hépatique (stéatose, cirrhose, nécrose), en modifie le métabolisme et par voie de conséquence, la toxicité (**Viala, 2007**).

- **La Stéatose**

Il s'agit d'une accumulation excessive de graisse dans le foie, qui contient plus de 5% de lipides en poids. La présence d'un excès de lipides qui peut être visualisée sur le plan histochimique. L'accumulation des lipides dans le foie est la phase finale commune à tous les toxiques, le plus fréquent étant probablement le blocage de la libération des triglycérides hépatiques dans le plasma.

Les triglycérides hépatiques étant sécrétés seulement après combinaison avec des lipoprotéines (formation de lipoprotéines à basse densité, VLDL).

L'accumulation des lipides hépatiques peut être la conséquence de plusieurs mécanismes :

- Inhibition de la synthèse de la partie protéique des lipoprotéines
- Perte de Potassium par les hépatocytes, interférence avec le transport des VLDL à travers la membrane cellulaire.
- Diminution de l'oxydation des lipides par les mitochondries.
- Inhibition de la synthèse des phospholipides, constituants essentielle des VLDL **(Frank; 1992)**.

- **La nécrose hépatique**

La nécrose hépatique implique la mort des hépatocytes qui se produit par la rupture de la membrane plasmique. Les modifications morphologiques précoces sont caractérisées par gonflement du réticulum endoplasmiques et la désagrégation des polysomes, et l'accumulation de triglycérides sous forme des gouttelettes lipidiques dans les cellules.

Les changements biochimiques sont complexes, le toxique se lie de façon covalente avec des Protéines et des lipides insaturés et induit une peroxydation lipidique, les membranes cellulaires, riches en lipides insaturés sont très sensibles à ces altérations qui peuvent être la cause de leur rupture **(Frank, 1992)**.

- **Cirrhose**

La cirrhose caractérisée par une destruction répétée des hépatocytes, et donc par la présence d'infiltration de collagène dans la masse hépatique, séparées par les couches fibreuses, les amas d'hépatocytes apparaissent sous forme de nodules. Dans la cirrhose, les hépatocytes séparées d'un courant sanguin sinusoïdal normal, ont une fonction réduite, par exemple synthétisent moins d'albumine et secrètent moins de bile. Le sang provenant de la veine porte n'est plus drainé hors du foie et une hypertension portale se développe **(Frank, 1992; Young, 2008)**.

I.2.5.1.3 - PROCEDURE D'EVALUATION DE L'HEPATOTOXICITE

Le produit à tester devrait être administré à l'animal par la même voie que l'exposition humaine prévisible.

- **Examens microscopiques**

La microscopie optique peut détecter de nombreuses anomalies histologiques, comme des changements de teneur lipidique, des nécroses, des cirrhoses, des nodules hyperplasiques et des néoplasmes. La microscopie électronique peut détecter les modifications de diverses structures subcellulaires, souvent utiles pour déterminer le mode d'action des toxiques **(Frank, 1992)**.

- **Tests biochimiques**

La présence dans le sérum de nombreuses enzymes libérées à partir du cytosol et des organites subcellulaire (mitochondries, lysosomes, noyaux) après atteinte hépatique, a été utilisée comme indicateur d'hépatotoxicité, comme l'aspartate-amino-transférase (TGP) et le glutamate oxalo-acetate transaminase (TGO) qui sont utilisées comme indicateurs et qui augmentent en cas d'atteintes hépatique (**Frank, 1992**).

I.2.6 - LES REINS ET LA NEPHROTOXICITE

I.2.6.1- LA MORPHOLOGIE DES REINS

Les reins sont normalement au nombre de deux. Ils ont chacun la forme d'un haricot, dont l'axe longitudinal correspond à peu près à celui du corps convergeant vers l'avant et vers le haut. Le poids du rein varie de 150 à 250 grammes. Sa hauteur varie de 10 cm à 12 cm. Sa largeur est de 6 cm et son épaisseur de 4 cm (**Nguyen SY et al., 2008**).

Chaque rein est recouvert d'une capsule rénale de nature fibreuse qui adhère à l'organe par du tissu conjonctif. Le hile rénal représente la jonction du rein, de l'uretère et du bassinet et contient aussi l'artère et les veines rénales. Au niveau du hile, la capsule rénale est solidement fixée au tissu conjonctif des vaisseaux (figure 3) (**Querin S et Valiquette L, 2012**).

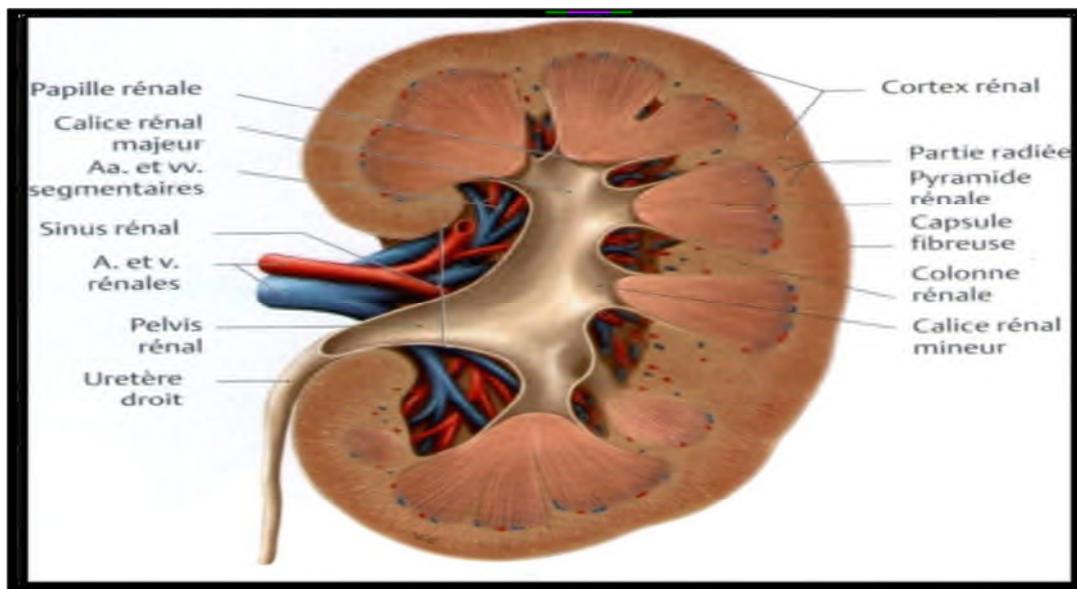


Figure 3 : Coupe coronale, vue postérieure du rein (**Gilroy A.M et al., 2010**)

Les reins sont plaqués contre la paroi abdominale postérieure, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Ils sont situés en arrière de la cavité péritonéale : ce sont des organes rétropéritonéaux. Ils occupent chacun une loge rénale, formée d'une capsule de tissu fibreux d'une part, et d'une capsule adipeuse d'autre part, placée à l'intérieur de la capsule fibreuse. Le rein droit est situé plus bas que le rein gauche dans environ 65% des cas.

I.2.6.2 - LES DIFFERENTES FONCTIONS DES REINS

Si l'on se réfère à l'appareil urinaire, le rôle le plus connu des deux reins consiste en la production de l'urine, les bassinets et les uretères la drainent vers la vessie, où elle s'accumule jusqu'à son évacuation par l'urètre. Ce ne sont donc que des éléments évacuateurs. Le rein n'exerce pas uniquement une fonction d'épuration et d'excrétion. Il s'agit également d'un organe régulateur qui assure un équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique (pH) du sang. Enfin, il possède une fonction endocrine qui joue un rôle dans la régulation des métabolismes de l'organisme.

I.2.6.3 - PRINCIPALES LESIONS RENALES

Toutes les zones du néphron sont potentiellement sujettes aux effets néfastes des toxiques allant de légères altérations biochimiques responsables de dysfonctionnements mineurs de la fonction rénale jusqu'à la mort cellulaire conduisant à l'insuffisance rénale (Frank, 1992)

- **Nécrose des cellules épithéliales :**

Dans la nécrose des cellules épithéliales peuvent être atteintes tout au long du système tubulaire, ou avec une prédominance au niveau de la partie distale du tube contourné.

- **Vacuolisation épithéliale :**

Les cellules épithéliales tubulaires peuvent apparaître gonflées, comblant plus ou moins complètement la lumière du tube. Leur cytoplasme clarifié contient de nombreuses petites vacuoles, notamment au niveau des tubes proximaux (Richet, 1988).

I.2.6.4- PROCEDURE D'EVALUATION DE LA NEPHROTOXICITE

Par des tests biochimiques :

- **Créatinine**

La créatinine est une molécule azotée produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire. La créatinine est une molécule néfaste physiologiquement (Andrew *et al.*, 1988). Cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme.

La créatinine est strictement éliminée par les reins grâce au phénomène de sécrétion au niveau des tubules proximaux. Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire (**Charriere et al., 2008**). Cette estimation s'obtient, en pratique, par le calcul de la clearance de la créatinine.

Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal; des données sur sa concentration sanguine et urinaire peuvent être utilisées pour estimer le taux de filtration glomérulaire (**Frank, 1992**).

- **L'urée**

L'urée est une molécule de 60 daltons, Elle représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, c'est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire.

L'urée passe dans les néphrons quelle que soit sa concentration dans le sang : c'est une substance sans seuil (**Chanton et Paniel, 1966**). Cette molécule est filtrée librement dans le glomérule mais réabsorbée au niveau des tubes proximaux et distaux. Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou une hépatotoxicité, fréquente avec de nombreux toxiques (**Frank, 1992**).

I.2.7- LA TOXICITE INDUITE PAR LA STREPTOZOTOCINE

Le diabète sucré peut être induit chez l'animal par différentes techniques dont l'injection de la streptozotocine (STZ) (**Szkudelski, 2001**).

La STZ est un glucosamine nitrosé (figure 4), qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans. (**Anderson et al., 1974 ; Robbins et al., 1980 ; Crouch et al., 1978**).

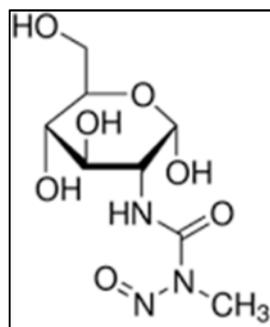


Figure 4 : la structure chimique de la streptozotocine (**Anderson et al., 1974**).

Les études antérieures sur cet agent diabétogène, ont montré son action sur les îlots de Langerhans en réduisant la masse des cellules β et par conséquent une insulinopénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire (**Aughsteen, 2000; Szkudelski, 2001; Chen et Ianuzzo, 1981**).

Le glucose qui constitue la molécule de la STZ (Figure 4), permet sa pénétration dans les cellules β pancréatiques à travers les transporteurs de glucose GLUT2. A l'intérieur de la cellule, la STZ se décompose en espèces réactives oxygénées qui provoquent une alkylation de l'ADN qui se défragmente ce qui active la poly (ADP-ribose) polymérase, enzyme clé de la réparation de l'ADN. Cette réaction consomme le NAD et l'ATP comme cofacteurs enzymatiques conduisant à leur déplétion et à la nécrose de la cellule β (**Szkudelski, 2001**).

En plus de son impact sur le métabolisme des hydrocarbures qui est bien étudié, la STZ provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline (**Szkudelski, 2001; Szkudelski et Szkudelska, 2002; Junod et al., 1969**).

Des études antérieures ont dévoilé l'effet indirect de cette toxine sur la signalisation de l'insuline. L'hyperglycémie chronique est à l'origine d'une insulinorésistance résultante d'une diminution d'autophosphorylation du récepteur de cette hormone.

(**Kadowakiet al., 1984**).

La dose choisie de la STZ est variable selon la voie d'administration, l'animal et surtout la pathologie voulue (**Junod et al., 1969; Chen et Ianuzzo, 1981**). Par exemple, dans les essais préliminaires, il est important de garder la vitalité de l'animal par injection de faibles doses de STZ (dose inférieure ou égale à 60mg/kg par IV) (**Jarrin et al., 2002**).

I.3- PHYTOTHERAPIE DE DIABETE

Plus de 800 plantes à travers le monde, ont été utilisées comme remède contre le diabète et ses principaux symptômes (**Alarcon-Aguilara et al., 1998**). Bien que la majorité de ces plantes n'ont pas fait l'objet d'études détaillées, plusieurs de celles qui ont subi une analyse expérimentale ont montré une activité hypoglycémiant (**Al-achi, 2005**).

En Algérie, dans la région de Tlemcen par exemple 32 plantes sont classées antidiabétique (**Benmahdi, 2000**).

Le tableau ci-dessous cite quelques exemples de plantes d'ont l'effet hypoglycémiant a été prouvé (Tableau I).

Tableau I : Quelques exemples de plantes antidiabétique et leurs modes d'action

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Mode d'action et référence
<i>Catharanthus roseus</i> L.	Apocynacées	Feuilles	Stimule la sécrétion d'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 d'insuline (Nmila et al., 2002).
<i>Coccinia grandis</i> L.	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 α -glucosidase (Ishikawa et al., 2007).
<i>Punica granatum</i> L.	Lythracées	Fleurs	Inhibition α -glucosidase (Li et al., 2005).
<i>Morus alba</i> L.	Moracées	Feuilles	Augmentation le nombre de cellules β dans les îlots de Langerhans (Mohammadi et Naik, 2008).
<i>Aegle marmelos</i>	Rutacées	Feuilles Fruits	Réduire la résistance à l'insuline (Sharma et al., 2011). 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)

Les plantes médicinales doivent leurs actions à plusieurs principes actifs (Verdrager, 1978).

Ces principes actifs peuvent être de nature organique: polysaccharides, acides aminés (Al achi; 2005), flavonoïdes, saponosides, acides gras, alcaloïdes ou de nature minérale. (Marles et Farnsworth, 1994 ; Dey et al., 2002). Parmi ces métabolites secondaire, plus de 200 molécules à l'état pur, appartenant à différentes familles, ont montré la capacité de diminuer la glycémie.

Les plus citées sont les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les glycosides cyanogéniques, les stéroïdes, les terpenoïdes, les xanthones, et les amines (Marles et Norman ,1994).

Tableau II : Quelques exemples de produits naturels purs testés expérimentalement pour l'activité antidiabétique.

Métabolites secondaires	Dosse/kg/h (voie d'administratio)	Durée du traitement (jours)	Pourcentage de diminution de la glycémie (traitement des rats)	Mécanisme d'action	Références
Myricetine	3mg/g/12h (IP)	5	50% après 2 jours	transport du glucose lipogénèse	Ong et al., 2000
Quercetine	10mg/kg/24h (IP)	10	100% après 10 jours	nombre des îlots sécrétion de l'insuline	VessaI et al., 2003
Mangiferine (xanthone glucoside)	20mg/kg/24h (IP)	28	48% après 14 jours	?	Murugananda n et al., 2005
Ptérostilbene	40mg/kg/24h (PO)	42	56% après 42 jours	glycolyse gluconéogénèse	Pari et Amarnathsath eesh ,2006
Triterpenoïdes	30mg/kg/24h (PO)	1	32% après 30 min	absorption intestinale du glucose	Shimizu et al., 2001
Kaempferitrine	100mg/kg/24h (PO)	1	21% après 3h	transport du glucose	Jorge et al., 2004
Scropolioside-D	10mg/kg/24h (PO)	1	34% après 2h	?	Ahmed et al., 2003

Chapitre II :

« Matériels et méthodes »

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES :

Le travail porte sur l'évaluation de l'activité antidiabétique de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* chez les rats *Wistar* rendus diabétique par la streptozotocine et la mise en évidence d'éventuels effets toxiques par des tests de toxicité aigue et subaigüe chez des souris.

II.1 MATÉRIEL VEGETAL



Figure 5 : Photographies de *Cistus albidus* (originaire)

L'espèce *Cistus albidus* (figure 5) appartient la famille des cistacées, qui est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 200 espèces, cette famille présente huit genres incluant, *Cistus*, *Crocanthemum*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea*, *Tuberaria*. Originaire du bassin méditerranéen, d'Asie occidentale, et secondairement d'Amérique (Arrington et Kubitzki, 2003)

II.1.1 DESCRIPTION BOTANIQUE DE *CISTUS ALBIDUS*

Appelé ciste blanc et ciste ou ciste cotonneux, ce sont des arbustes, des plantes herbacées, poilues ou velues, pérennes ou annuelles, à feuilles simples souvent opposées, à fleurs solitaires ou en cymes, à cinq pétales libres (Iserin et al; 1997)

II.1.2 LA CLASSIFICATION BOTANIQUE DE *CISTUS ALBIDUS*Tableau III : La position taxonomique de *Cistus albidus* (Guignard, 2001)

Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
classe	Eudicots ou Eudicotylédones
sous classe	Rosidées (Eurosidées II)
Ordre	Malvales
Famille	Cistacées
Genre	Cistus
Espèce	<i>Cistus albidus</i>

Les espèces de la famille des *Cistacées* sont fréquemment employées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés antimicrobienne, antitumorale, antivirale, anti-inflammatoire, antifongique, antiulcer, anti-oxydant, spasmolytique et hypotensive (**Bouamama et al; 2006**). En Italie, en Grèce, en Espagne et en Turquie les Cistacées sont utilisés pour le traitement de la diarrhée et des ulcères peptiques ; en tant que remèdes généraux pour traiter plusieurs maladies de peau et comme agents anti-inflammatoires et antispasmodiques (**Basaba et al., 2007**)

Les feuilles de *Cistus albidus* en décoction, sont utilisées contre les douleurs gastriques et comme hypoglycémiant. En cataplasme, on les emploie contre les abcès. Les feuilles sont utilisées, en infusion dans du thé, comme agent digestif (**Lahsissene H et al., 2009**).

II.2 MATÉRIELS ANIMAL

L'étude de l'effet antidiabétique a été menée sur des rats *Wistar Albinos* male, pesant entre 150g et 200g, l'investigation toxicologique a été réalisée sur souris albinos, pesant entre 15g et 25g. Les rats et souris proviennent de l'institut pasteur d'Alger (kouba), dès leurs réception (deux semaines avant le début des expérimentations) ils sont placés aléatoirement dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, tapissés de litière, renouvelée tous les 3 jours et maintenus dans des conditions standard de

laboratoire (température ambiante ($20 \pm 5^\circ\text{C}$) et photopériode de 8h/16h.) avec accès libre à l'eau et à la nourriture (régime standard en granules provenant de l'office national de l'alimentation du bétail).



Figure 6 : Groupe de six rats (sur la gauche) groupe de cinq souris (sur la droite) photos prises à l'animalerie de CRD, SAIDAL

II.3 ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIDIABETIQUE DE *CISTUS ALBIDUS*

La première partie de l'étude concernant l'effet antidiabétique et toxicité aigüe a été réalisé au centre de recherche et développement (CRD) SAIDAL El-Mohammadia Alger.

II.3.1 INDUCTION DU DIABETE EXPERIMENTALE

Pour évaluer l'activité antidiabétique de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus*, un modèle de rat diabétique induit par la streptozotocine est choisi. L'injection de la STZ par voie intra péritonéale (figure 7) ($60\text{mg}/\text{kg}$) déclenche le diabète chez le rat (**Akbarzadeh, et al; 2007**), après 48 h de l'injection une évaluation de glucose sanguin a été effectuée grâce à un glycomètre à bandelettes On Call Plus, et les rats dont le glucose sanguin est supérieur à $2\text{g}/\text{l}$ sont considérés diabétique, ils ont été répartie en 4 groupes de 5 rats.

II.3.2 PREPARATION DE L'EXTRAIT ETHANOLIQUE

Deux doses (50 mg/Kg et 200 mg/Kg) de l'extrait éthanolique de feuilles *Cistus albidus* ont été préparées dans une solution de CMC (carboxyméthylcellulose) qui a été utilisé comme solvant, pour faciliter la dissolution de l'extrait de la plante.

II.3.3 TRAITEMENT DES ANIMAUX

Les groupes de rats sont traités comme suit :

- **Lot témoin négatif (non diabétique) :** reçoit quotidiennement par gavage un volume de 2ml de CMC.
- **Lot témoin positif (diabétique) :** reçoit aussi quotidiennement par gavage un volume de 2 ml de CMC.
- **Lot référence (diabétique) :** reçoit par gavage quotidien un volume de 2 ml de glycophage (500mg/kg).
- **Lot essai 50 mg/ kg :** reçoit par gavage quotidien un volume de 2 ml de l'extrait aqueux de la plante en concentration de 50 mg /kg de poids corporel.
- **Lot essai 200 mg/Kg :** reçoit par gavage quotidien un volume de 2 ml de l'extrait aqueux de la plante en concentration de 200 mg /kg de poids corporel.



Figure 7 : Le gavage intragastrique (sur la gauche) et injection intra péritonéale (sur la droite) photos prise au CRD, SAIDAL

II.3.4 L'ÉVALUATION DE LA GLYCEMIE

L'effet antidiabétique a été évalué sur une période de 21 jours, la glycémie a été mesurée tous les 5 jours, et ceci après mise à jeun des rats pour 12h, à l'aide de glycomètre à blondelettes (On Call Plus), et cela en effectuant une petite incision dans la partie distale de la queue, avant et après chaque opération la queue de l'animal doit être désinfectée à l'aide de coton imbibé d'alcool.

II.3.5 L'ÉVALUATION DU POIDS CORPOREL, DE LA QUANTITÉ D'EAU ET DE NOURRITURES CONSOMMÉES

Le poids corporel est un paramètre important lors de l'étude de l'effet antidiabétique, les rats ont été pesés tous les 5 jours, durant les 21 jours de traitement.

D'autres paramètres ont été également suivis telle que la quantité d'eau et de nourriture consommée a été estimée quotidiennement durant les 21 jours de l'étude. La quantité de nourriture déposée dans l'auge (couvercle des cages) a été préalablement pesée la quantité de nourriture consommée est déduite en pesant la quantité de restante dans l'auge, de même la quantité d'eau consommée est déduite en mesurant le volume d'eau restant dans les biberons.

II.3.6 SACRIFICE ET PRÉLEVEMENT DU SANG ET DES PANCREAS

Au 21 jours tous les rats ont été sacrifiés à l'aide de lames bistouri stériles. Après chaque décapitation, le sang est prélevé dans des tubes héparines et immédiatement centrifugé à 4000t/min pendant 15 minutes, le maximum de plasma est récolté dans des tubes Eppendorf et conservé à - 18°C pour effectuer le bilan lipidique.

Après décapitation, on procède à la dissection des rats dans le but de prélever les pancréas qui seront d'abord rincés au NaCl à 0,9%, puis fixés dans du formol à 10% dans le but d'effectuer des coupes histologiques.

II.3.7 BILAN LIPIDIQUE

L'élévation des lipides sériques chez les rats rendus diabétiques par STZ est un paramètre important dans la pathologie du diabète (**Sharma et al ., 2008**), le dosage du cholestérol total,

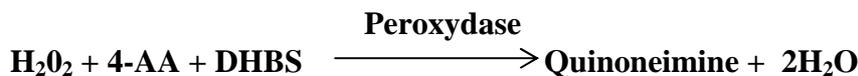
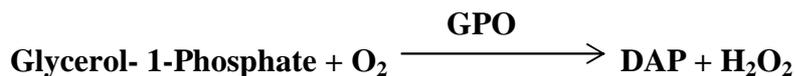
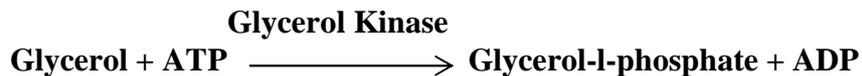
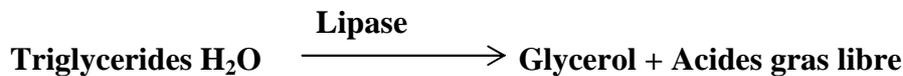
cholestérol HDL, ainsi que les triglycérides du sang ont été effectués selon la méthode enzymatique à l'aide des kits (**Biomagreb, 2007**). :

II.3.7.1 DOSAGE DES TRIGLYCERIDES

Les triglycérides sont des esters d'acides gras, sont hydrolysés en glycérol et acides gras libres.

Les méthodes standards utilisées pour la mesure des concentrations des triglycérides impliquent soit hydrolyse enzymatique ou alcaline pour libérer glycérol.

L'hydrolyse enzymatique est la plus utilisée car elle est spécifique et non soumise à des interférences par les phospholipides.



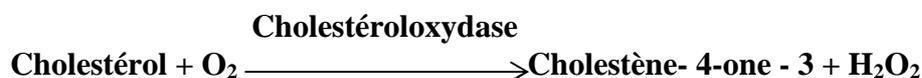
La procédure implique hydrolyse des triglycérides par la lipase.

La concentration en glycérol est alors déterminée par dosage enzymatique couplée avec la réaction de Trinder qui se termine par la formation d'une quinoneimine colorant. La quantité du colorant formé, déterminée par son absorption à 520 nm, est directement proportionnelle à la concentration de triglycéride dans l'échantillon.

II. 3.7.2 DOSAGE DU CHOLESTEROL TOTAL

L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et de l'amino-4-antipyrine en présence de phénol et de peroxydase

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



Péroxydase

La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol qui consiste à précipiter les LDL, VLDL.

II.3.7.3 DOSAGE DU CHOLESTEROL HDL

Le dosage du cholestérol HDL s'effectue après précipitation grâce au réactif phosphotungstique associé au chlorure de magnésium (ref. T01-2801-56 6×6 ml) qui consiste à précipiter les LDL, VLDL. Le cholestérol est alors dosé dans le surnageant résultant de la centrifugation du précipité par la même technique enzymatique que le cholestérol total.

II.3.8 L'ETUDE HISTOLOGIQUE

histologique été effectuée au CHU Mustapha Bacha Alger, au niveau du service d'anatomopathologie selon les étapes suivantes :

- les prélèvements sont retirés du formol, mis dans des cassettes spéciales (figure 8) avec parois permettant le passage des liquide.



Figure 8 : Cassettes pour dépôts des pancréas (photos prise au CHU Mustapha Bacha, Alger)

- Déshydratation : les cassettes sont ensuite placées dans l'automate (figure 9) qui est constitué de 12 cylindres, réparties en : 6 cylindres d'alcool (éthanol 100°) pour déshydrater les échantillons (étape de déshydratation), 4 cylindre de xylène pour les purifier d'alcool (étape d'éclaircissement) et 2 cylindres de paraffine pour éliminer le xylène, chaque bain prend 1h30 dans chaque cylindre.



Figure 9 : Automate LEICA (photo prise au CHU Mustapha Bacha, Alger)

Ces tissus imbibés de paraffine sont alors mis dans un moule de paraffine fondue (Barre Leuckard) qui se solidifie en blocs en se refroidissant (enrobage).

- Réalisation des coupes : de ces blocs, sont réalisé des coupes ultra fines de trois micromètres de diamètre grâce au microtome (figure 10). Les coupes sont alors mises sur des lames porte-objet. Ces dernières sont posées sur une plaque chauffante qui permettra l'étalement de ces rubans de coupes et leurs fixations sur la lame.



Figure 10 : Microtome LEICA (photo prise au CHU Mustapha Bacha, Alger)

- Coloration : La coloration topographique choisie pour notre étude est celle du Trichrome de Masson ; elle possède plusieurs avantages tels que la résistance au lavage, la rapidité d'exécution et les teintes obtenues de manière quasi-automatique.

Les colorants utilisés permettent de reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques. Les noyaux sont colorés en noir, les cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes, les muscles sont rouges et les fibres collagènes vertes.

- Après cette coloration, on déshydrate les tissus dans des bains d'alcool et on les monte par la suite sur des lames à l'aide de l'eukitt.
- Observation au microscope : on utilise le microscope photonique équipé d'un appareil photographique (Houlot, 1984; Wheeler et al ; 2001).

II.4 L'ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ AIGUE (DOSE LIMITE) DE L'EXTRAIT ETHANOLIQUE DE *CISTUS ALBIDUS*

L'étude concernant la toxicité aigüe a été réalisée au centre de recherche et développement (CRD) SAIDAL El-Mohammadia Alger,

Il consiste à déterminer la dose létale 50 % (DL50), c'est à dire la dose capable de tuer, par la voie d'administration choisie, la moitié des animaux au cours de l'expérience (Cornel C et al ; 2010).

Afin d'évaluer la toxicité aigüe, 10 souris de poids compris entre 20g et 25g ont été réparties au hasard en deux lots de 5 femelles chacun, un lot utilisé comme témoin et l'autre pour une dose unique de 2000 mg/kg d'extrait.

Après administration de l'extrait, les souris ont été surveillées en permanence pendant 10 heures avec prise de note sur les signes de toxicité apparents. Pour le reste de la période de l'expérience qui est de 15 jours les souris sont surveillées quotidiennement pour signaler la présence de morts ou des signes comportementaux ou clinique supplémentaires de toxicité, et le poids a été évalué tous les 5 jours, le 15^{ème} jour toutes les souris ont été sacrifiées, puis décapitées, et une dissection a été réalisée dans le but de prélever le foie et les reins, et évalué leurs poids relatifs.

II.5 L'ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ SUBAIGÜE DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE DE *CISTUS ALBIDUS*

Le test de toxicité subaigüe a été réalisé au centre de recherche scientifique en analyse physicochimique (CRAPC) de Bousmail à Tipaza.

Pour l'évaluation de la toxicité subaigüe, 18 souris albinos de poids compris entre 20g et 25g ont été répartis au hasard entre trois lots de six souris chacun. Après le test préliminaire de la dose limite 2000 mg/kg, les doses 50 mg/kg et 200 mg/kg ont été administrés par gavage intragastrique quotidiennement pendant une période de 3 semaines.

Le premier lot servant de témoin reçoit une solution de CMC à raison de 0,5ml, alors que les deux autres lots reçoivent l'extrait éthanolique de *Cistus albidus*, à 50mg/kg et 200mg/kg respectivement à raison de 0,05ml par souris. Les animaux ont libre accès la nourriture et l'eau quotidiennement (**Ben-Romdhane et al., 2003**).

II.5.1 MÉTHODE D'OBSERVATION ET L'EXAMEN

Les souris ont été pesées chaque quatre jour et observées quotidiennement pour noter tous les changements physiologiques et/ou comportementaux. À la fin des 3 semaines toutes les souris ont été décapitées, afin d'effectuer des prélèvements du sang et d'organes (Foie et reins).

II.5.2 EXAMEN BIOCHIMIQUE

Les analyses biochimiques ont été réalisées au niveau d'un Laboratoire d'analyses médicales privé. Les paramètres dosés sont les transaminases TGP (ALAT- Alanine aminotransférase), TGO (ASAT- aspartame aminotransférase), l'urée et la créatinine

II.5.2.1 CREATININE

Principe de la méthode

Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium, en formant un complexe de couleur rouge. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé.

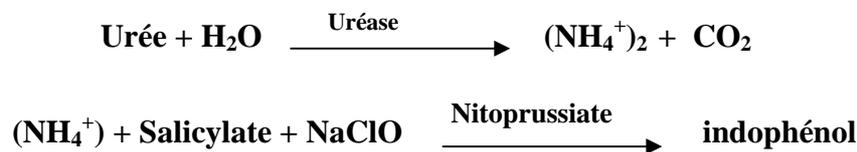
Calculs : $[(\Delta A \text{ échantillon} - \Delta A \text{ blanc}) / (\Delta A \text{ standard} - \Delta A \text{ blanc})] \times 2 = \text{mg/dL}$ de créatinine dans l'échantillon.

Facteur de conversion : $\text{mg/dL} \times 88.4 \mu\text{mol/L}$ (**spinreact, 2014**).

II.5.2.2 UREE

Principe de la méthode

L'urée présente dans l'échantillon est hydrolysée en ammoniac (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2), une réaction catalysée par l'uréase. Les ions d'ammoniac formés réagissent avec le salicylate et le l'hypochlorite (NaClO), en présence du catalyseur nitroprussiate pour former un indophénol vert. La réaction est la suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon.

Calculs : $[(A) \text{ échantillon} / (A) \text{ standard}] \times 50 = \text{mg/dL}$ d'urée dans l'échantillon

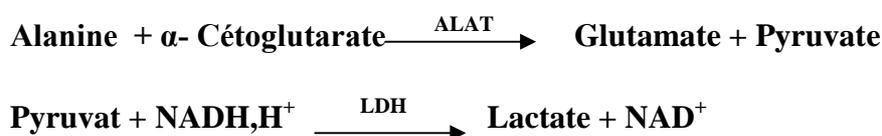
Facteur de conversion : $\text{mg/dL} \times 0.1665 = \text{mmol/L}$ (**Spinreact, 2014**).

II.5.2.3 TRANSAMINASES

II.5.2.3.1 GLUTAMATE PYRUVATE TRANSAMINASE (GPT) OU ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALAT)

GPT(ALAT) catalyse le transfère réversible d'un groupe amine de l'alanine en α -Cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate formé est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le nicotinamide adénine dinucleotide (NADH).

La réaction est la suivante :



La diminution dans la concentration de NADH, H⁺ mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique de GPT (ALAT) dans l'échantillon.

Calculs: $\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L}$ (Spinreact, 2014).

II.5.2.3.2 GLUTAMATE OXALOACETATE TRANSFERASE (GOT) ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (ASAT)

Principe de la méthode

GOT(ASAT) enzyme catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate en α -cétoglutarate formant le glutamate et oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est réduit en malate par le malate déshydrogénase (MDH) et NADH. La réaction est la suivante :



La diminution dans la concentration de NADH mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique de GOT (ASAT) dans l'échantillon

Calculs : $\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L}$. (Spinreact, 2014).

II.6 ANALYSE STATISTIQUE

Les résultats obtenus sont présentés sous forme moyenne \pm SEM (n=6), les résultats ont été traités à l'aide du logiciel GRAPHPAD Prism (version 5) par analyse One-way ANOVA. La comparaison des traitements a été réalisée à l'aide du test Tukey les différences sont considérées significatives à $p < 0,05$.

Chapitre III :

« Résultats et discussions »

III.1- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIDIABETIQUE

III.1.1- VARIATION PONDERALE

Les variations du poids des différents groupes mesuré tous les cinq jours durant les 21 jours d'expérimentation sont représentées dans la (figure11) :

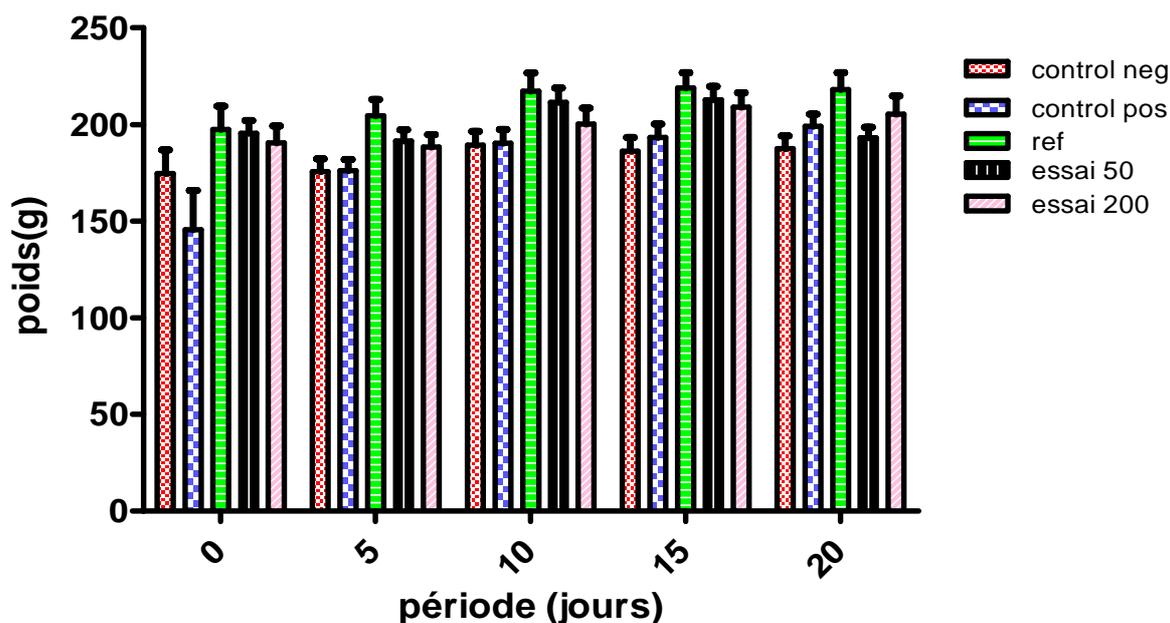


Figure 11 : Variation du poids corporel des rats durant les 21 jours de l'expérimentation, les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=5).

Les valeurs moyennes du poids corporel des rats du groupe témoin négatif passent de $174,66 \pm 27,03$ au début de l'expérimentation à $187,6 \pm 12,08$ g en fin de cette étude, pour le groupe témoin positif les valeurs passent de $145,56 \pm 20,34$ g à $199 \pm 6,30$ g, chez le groupe ayant reçu la molécule de référence (Glucophage) la moyenne des poids est de $197,52 \pm 12,06$ g au début et de $218 \pm 8,78$ g en fin d'expérimentation, de même pour les groupes traités par l'extrait une augmentation du poids corporel a été enregistrée, ainsi le poids des rats traité avec 200 mg/kg passe de $190,6 \pm 8,55$ g à $205,4 \pm 9,31$ g. Le poids des rats des différents lots ne présente aucune variation significative durant la période d'expérimentation.

III.1.2. CONSOMMATION DE LA NOURRITURE ET DE L'EAU

La figure 12 montre l'effet de l'administration des différents traitements sur la quantité de la nourriture ingérée.

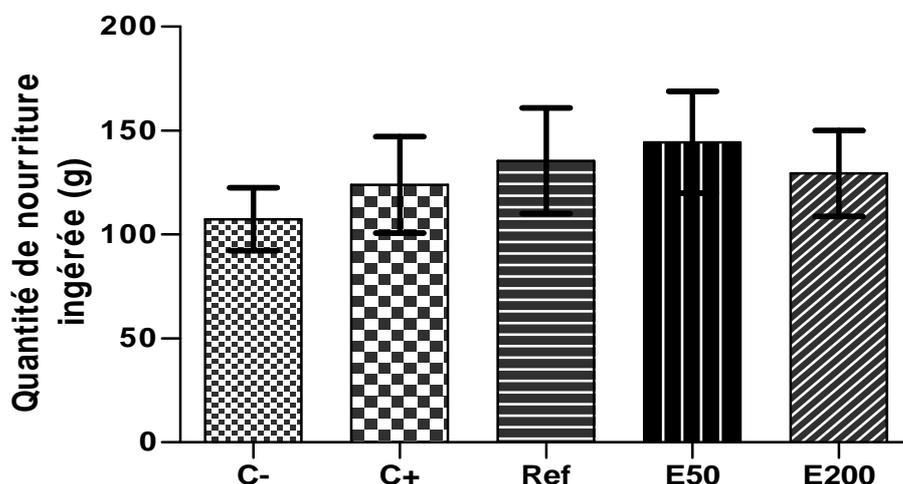


Figure 12 : Variation de la quantité de nourriture ingérée par les rats pendant les 21 jours de l'expérimentation. C- : Control négatif (CMC), C+ :Control positif (diabétique non traités), Ref : Molécule de référence (glucophage), E50 et E200 : Extrait à 50 et 200mg /kg. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (n=5).

L'étude statistique n'a montrée aucune différence significative dans la quantité de nourriture consommée par les rats de différents groupes durant les 21 jours de l'expérimentation.

Nos résultats concernant la variation de du poids corporel et la consommation de la nourriture sont similaires avec ceux **Taleb-Senouci et al.,(2009)** qui n'ont trouvé aucune variation du poids corporel et de la consommation alimentaire chez des rats rendus diabétiques par la STZ et traités avec un extrait aqueux d'Ajugaiva (5g/kg de régime), pendant 28 jours. Des résultats similaires ont été constatés avec l'extrait méthanolique de *Globularialypum*(**Zennakiet al.,2009**).

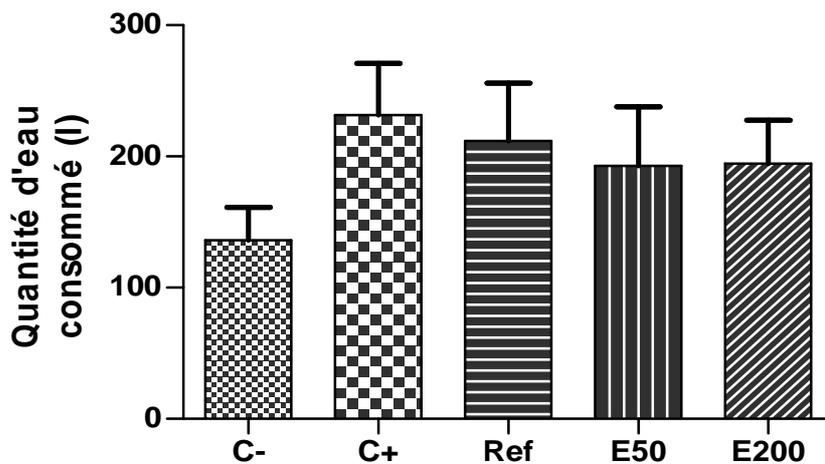


Figure 13 : Quantité d'eau consommée par les rats pendant les 21 jours de traitement. **C-** : Control négatif (CMC), **C+** : Control positif (diabétique non traités), **Ref** : Molécule de référence (glucophage), **E50** et **E200** : Extrait à 50 et 200mg /kg. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (n=5).

La figure 13 nous montre l'effet des différents traitements sur la consommation d'eau. On constate qu'il ya pas de différences significatives dans la quantité d'eau consommée par les rats des différents groupes.

III.1.3 EVALUATION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES SANGUINS

III. 1.3.1. EVALUATION DE LA GLYCEMIE

La figure 14 représente la variation de la glycémie des différents groupes de rats :

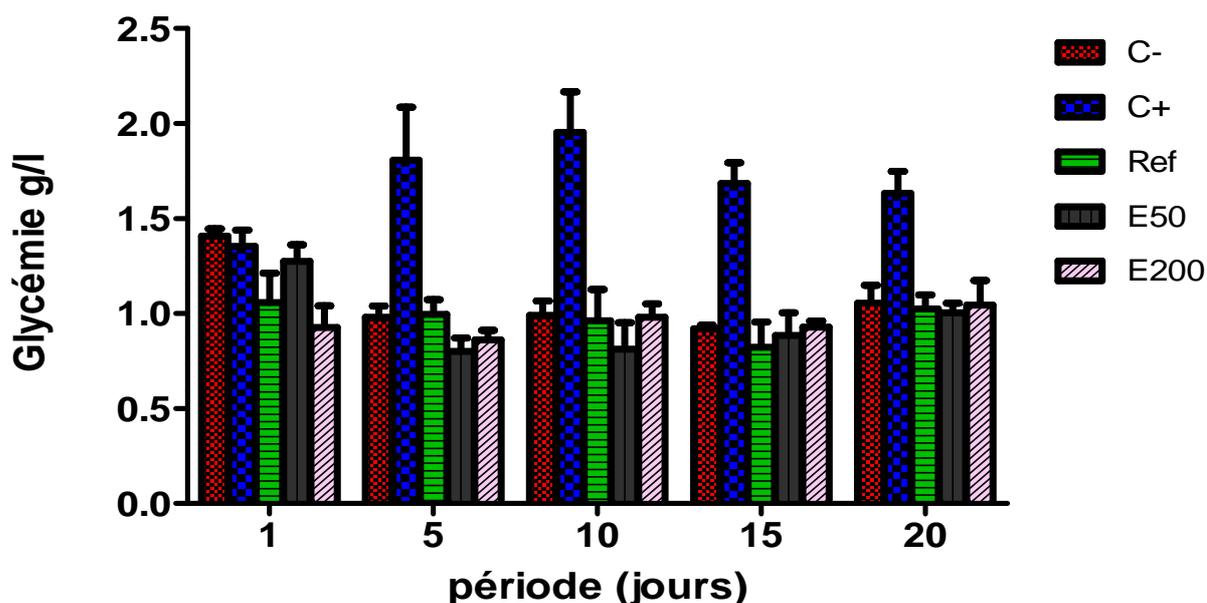


Figure 14 : Variation de la glycémie. C- :Control négatif(CMC), C+ :Control positif(diabétiques non traités, Ref : Molécule de référence (glucophage), E50 et E200 : Extrait à 50 et 200mg /kg. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (n=5).

Les résultats obtenus montrent une hyperglycémie préliminaire chez les différents groupes de rats qui s'est manifesté 48h après l'injection de la streptozotocine. L'administration de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* induit une réduction significative ($P < 0,05$) de la glycémie par rapport au groupe diabétique non traité. Une réduction qui se manifeste à partir du 5^{ème} jours de l'expérimentation chez le groupe traité par l'antidiabétique orale le glucophage (référence). L'effet hypoglycémiant observé persiste jusqu'au 21^{ème} jour, indiquant ainsi l'efficacité de l'extrait et du glucophage dans la réduction de l'hyperglycémie induite par la streptozotocine.

Le diabète est un groupes hétérogènes de maladies métaboliques, dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultante d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Sharma *et al.*; 2008).

Cistus albidus utilisé en médecine traditionnelle pour ces effets hypoglycémiant. Lahsissene H *et al.*, (2009), Benkhniqne *et al.*, (2014) dans leurs enquêtes ethnobotanique ont apporté l'efficacité de cette plante pour réduire la glycémie

Dans la présente étude l'effet antidiabétique de *Cistus albidus* a été testé sur le rat rendu diabétique par la streptozotocine STZ.

La STZ représente l'une des substances chimiques utilisées pour induire le diabète (type 1 ou 2) chez l'animal, en particulier les rats et les souris (**Hayashiet al., 2006**). Elle engendre une nécrose des cellules bêta pancréatique et une carence sévère en insuline avec une hyperglycémie diabétique établie dans les deux jours suivants (**Ruzaidietal., 2005 ; Akbarzadehet al., 2007**). Les effets toxiques de cette substance semblent être associés à une production accrue des radicaux libres (**Bedoyaet al., 1996**).

L'administration quotidienne de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* exerce un effet bénéfique sur l'hyperglycémie induit par la STZ. En effet nous avons constaté une baisse significative ($P < 0,001$) de la glycémie chez rats traités par 50 et 200 mg/kg d'extrait cette réduction est plus significative par rapport à celle observée avec le médicament de référence le glucophage.

Plusieurs hypothèses ont été proposées quant à l'effet hypoglycémiant de certains extraits de plantes médicinales chez le rat. L'amélioration de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta pancréatique expliquerait la diminution de la glycémie (**sathishesekar et subramanian 2005; fernandeset al., 2007; Abdollahiet al., 2010; Dawiet al., 2010**).

Par ailleurs, il a été rapporté que certains extraits peuvent agir de la même façon que les antidiabétiques oraux par la fermeture de canaux K^+/ATP , la dépolarisation membranaire et la stimulation de l'afflux de Ca^{2+} , première étape clé pour la sécrétion d'insuline (**Pari et latha, 2005**).

III.1.3.2- PROFIL LIPIDIQUE

Les concentrations sériques du cholestérol total, du cholestérol HDL et des triglycérides sont représentées dans les figures 15, 16 et 17 respectivement

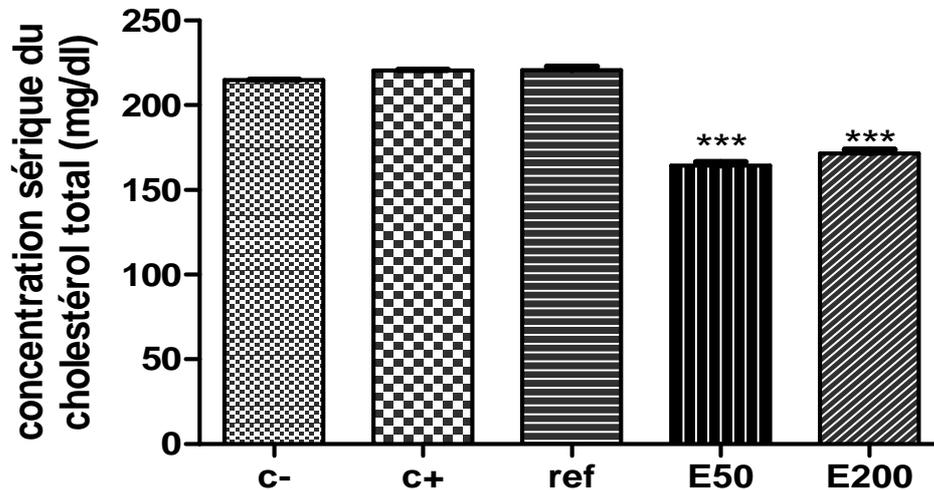


Figure 15 : Concentration sérique du cholestérol total. C- : Control négatif (CMC). C+ : Control positif (diabétiques non traités), Ref : Molécule de référence (glucophage). E50 et E200 : Extrait à 50 et 200 mg /kg. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (n=5). ***P<0,001.

Comme on peut le voir sur la figure 15, une diminution significative ($P < 0,001$) de la concentration du cholestérol total a été induite par les deux doses d'extrait. Les valeurs de $164,27 \pm 10,18$, $171,53 \pm 11,07$ mg/dl ont été enregistrées.

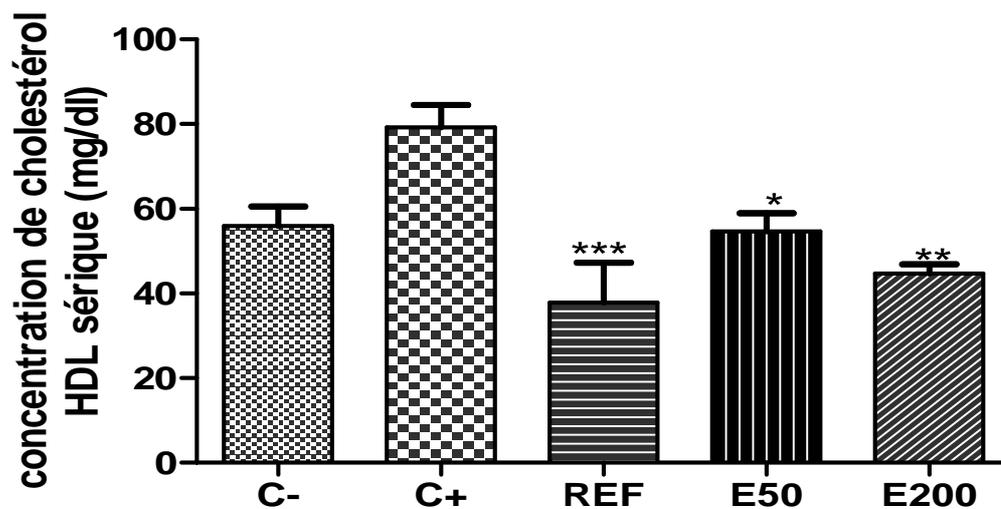


Figure 16 : Concentrations sériques du cholestérol HDL. **C-** :Control négatif(CMC),**C+** :Control positif(diabétiques non traités), **Ref** :Molécule de référence (glucophage). **E50** et **E200** : Extrait à 50 et 200mg /kg. Les résultats sont exprimés en moyenne±SEM(n=5).*P<0,05,**P<0,01, ***P<0,001.

Les résultats illustrés par la figure 16 montre une élévation de la concentration du cholestérol HDL chez le group diabétique non traité 79,22±11,88mg/dl par rapport au contrôle négatif (55,94±10,19 mg/dl), pour le groupe de référence on distingue une diminution significative de taux de cholestérol HDL une valeur de 37,83±21,06mg/dl a été noté, de même chez les groupes traités par l'extrait une réduction significative du taux du cholestérol HDL a été observé (54,62±9,69 et 44,69±4,80mg/dl).

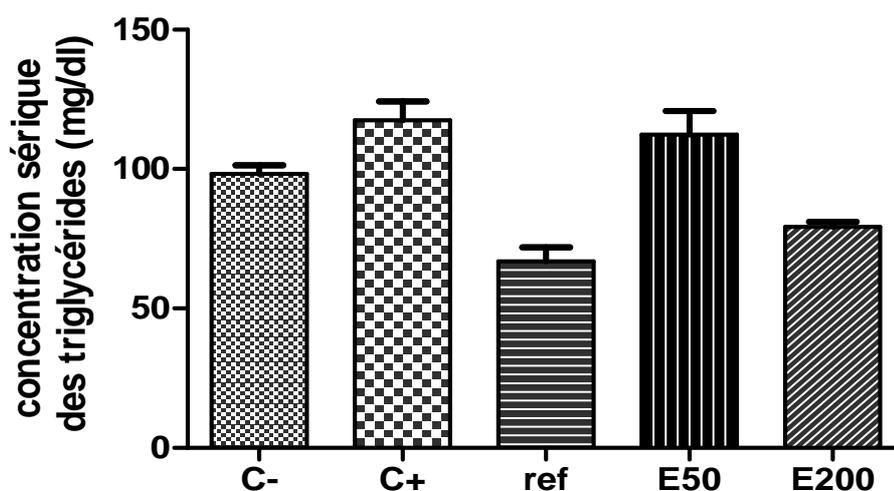


Figure 17 : Concentrations sériques des triglycérides. C- : Control négatif(CMC),C+:Control positif(diabétiques non traités), **Ref** : Molécule de référence glucophage). **E50** et **E 200** : Extrait à 50 et 200mg /kg. Les résultats sont exprimés en moyenne±SEM(n=5)

D'après la figure 17 ont a constaté chez le groupe diabétique non traité une augmentation de la concentration des triglycérides circulantes qui atteint $117,53 \pm 15,11$ mg/dl par rapport au témoin saint dont le taux est de $98,33 \pm 6,70$ mg/dl, chez le groupe traité par la molécule de référence (le glucophage) on remarque une diminution significative($P < 0,001$) de taux de triglycérides sérique qui est de $66,99 \pm 10,96$ mg/dl par rapport au témoin positif et négatif. Chez les lots traités par l'extrait la diminution de la concentration sérique de triglycérides a été hautement significative($P < 0,001$), un taux de triglycérides sériques de $79,32 \pm 3,80$ mg/dl a été noté chez les rats traité par 200 mg/kg d'extrait.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Sharma et al (2008)**. Le traitement avec l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* induit des effets hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant. Plusieurs études, chez le rat montre un effet hypolipémiant des plantes telles que *Coriolus verscosa*(**Byung-keun et al ., 2008**), *Globularia alypum* (**Zenneki et al; 2009**), *Dodonaea viscosa*(**Veerapure et al., 2010**), *Portulaca aleracea*(**An Sook et al., 2012**) et *Zygophyllum album*(**El ghoulet et al., 2012**).

Le diabète est lié à l'hyperlipidémie et provoque de profondes perturbations dans la teneur et la composition des lipides plasmatiques (**Sebbagh et al ., 2007**).

Dans notre étude, une augmentation de concentrations plasmiqes en cholestérol total, en triglycérides est notée chez les rats diabétiques non traités par contre chez les rats diabétiques traités par l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* on a constaté une diminution significative des taux cholestérol et triglycérides. Selon **Fayong et al (2009)**, la diminution du contenu en cholestérol pourrait être due à une réduction de l'activité de la HMG-CoA (hydroxyméthylglutaryl coenzyme A) réductase, enzyme-clé de la biosynthèse hépatique du cholestérol. De plus, les faibles concentrations en esters de cholestérol (EC), notés au niveau du foie laissant suggérer une diminution de l'estérification du cholestérol intracellulaire par l'acyl-CoA cholestérol acyltransférase (ACAT) L'effet hypotriglycéridémiant de l'extrait de *Cistus albidus* pourrait être du a une diminution de la synthèse des acides gras (**Bopanna et al., 1997**), une inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (**Mc Carty ,2001**), augmentation du catabolisme des LDL ou une activation de la LCAT et des lipases tissulaire (**Khanna et al., 2002**).

Un très grand nombre de travaux ont montré l'effet hypolipidémique de plusieurs flavonoïdes et d'autre composés phénolique (**Shao et al., 2007; De Souza et al ., 2008 ; Deng et al ., 2008**). Donc l'effet hypolipémiant de *Cistus albidus* peut être liée à la sa richesse en métabolites secondaires tels que les richesses ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires incluant en particulier les terpènes, les composés phénoliques constituant principalement les flavonoïdes (comme aglycones et glycosides), et les tanins en faibles quantités (**V. Hywood ,1996**)

III.1.3.3. ETUDE HISTOLOGIQUE

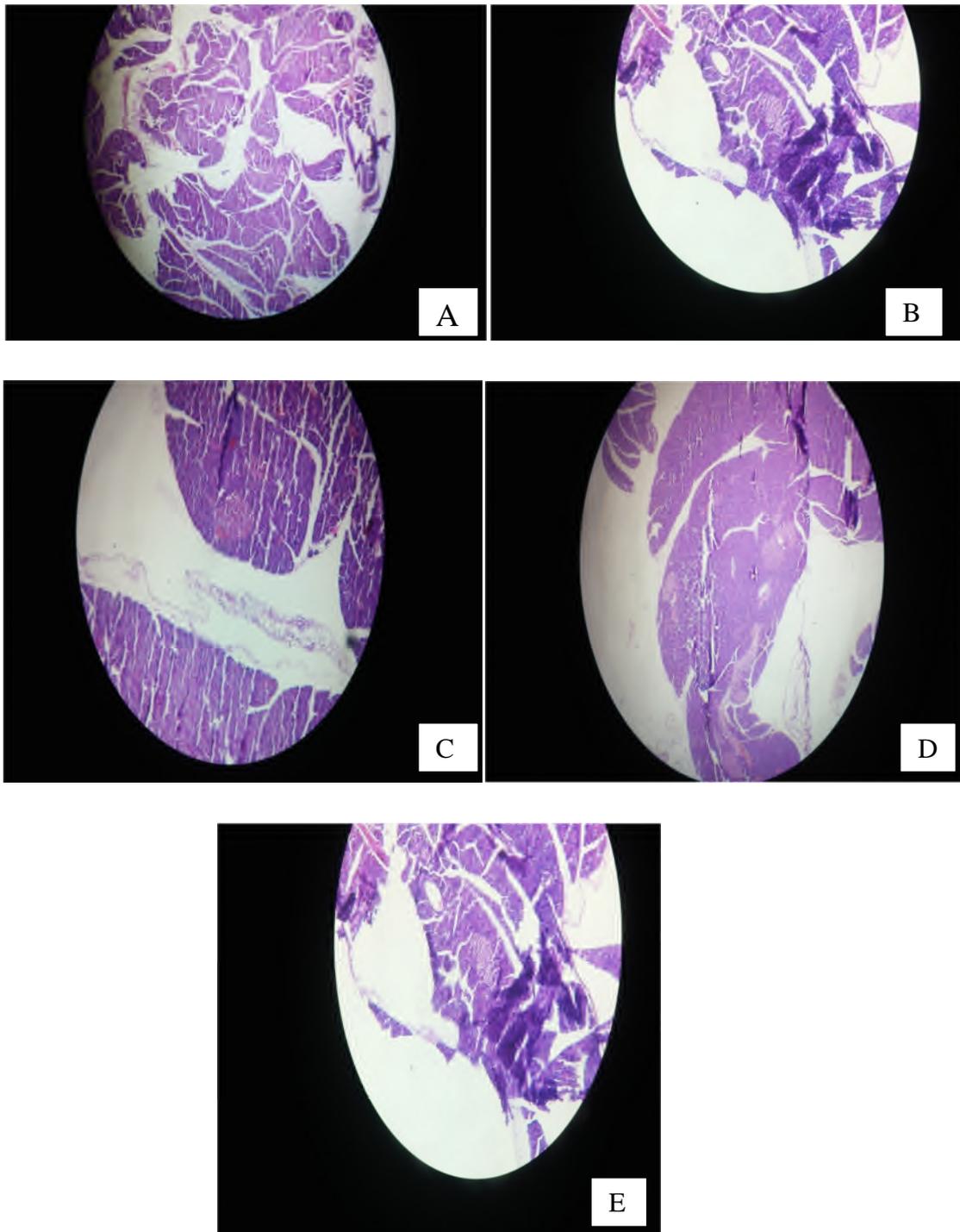


Figure18 : Photographie microscopiques des pancréas de rats **A** : témoin positif **B** : témoin négatif, **C** : référence, **D** : essai 200, **E** : essai 50mg/kg

L'interprétation des coupes histologiques du pancréas a été faite par Mme Maamri professeur d'anatomophysiologie au niveau de CHU Mustapha Bacha

La (figure 18) montre les images microscopiques de pancréas de rat des lots.

A : Montre le pancréas de rat du groupe témoin positif qui montre l'absence des îlots de Langerhans ils ont été complètement détruit par la streptozotocine (60mg/kg).

B : Montre le pancréas de rat du groupe témoin négatif qui montre la présence des îlots de Langerhans à leur état normal.

C : Montre le pancréas de rat du groupe référence qui a montré la présence d'un seul îlot de Langerhans régénéré grâce au traitement par le glucophage ou non détruit par la dose 60mg/kg de streptozotocine qui n'a pas été suffisante pour détruire tous les îlots de Langerhans.

D : Montre le pancréas de rat du groupe traité par la dose 200mg/kg qui a montré la présence de huit îlots de Langerhans ce qui peut être expliqué par la capacité de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* de régénérer le tissu du pancréas notamment les îlots de Langerhans

E : Montre le pancréas de rat du groupe traité par la dose 50 mg/kg de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* qui a montré la présence de 3 îlots de Langerhans qui ont été régénérés ce qui peut être expliqué par la capacité de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* de régénérer le tissu de pancréas même à cette faible dose mais avec une efficacité moindre par rapport à la dose 200mg/kg.

III -2 ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE

III-2-1 EVALUATION DU POIDS CORPOREL

L'évolution du poids corporel des souris est rapportée dans la Figure 19.

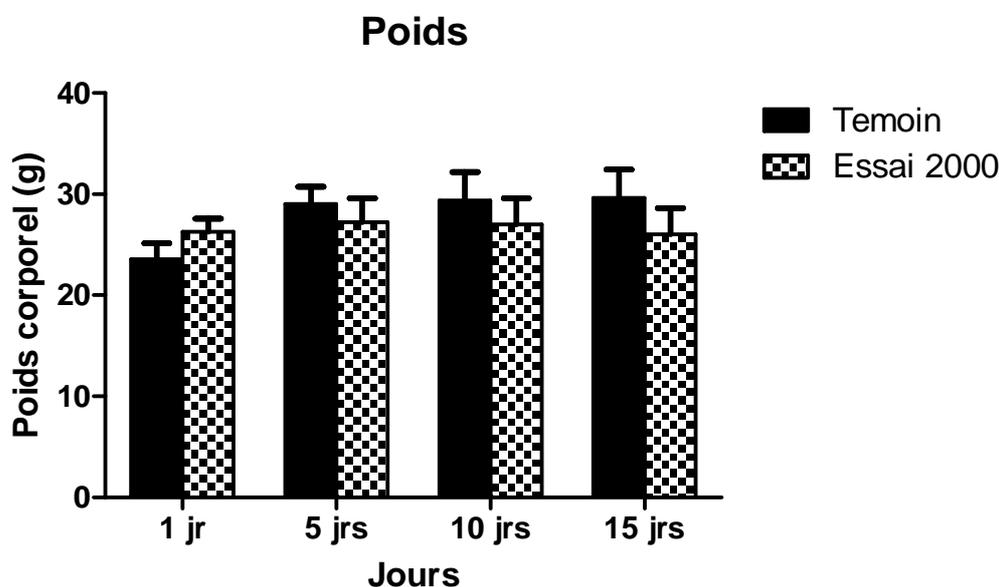


Figure 19 : Evolution du poids corporel des lots de souris au cours de l'évaluation de la toxicité aiguë (lot témoin, Essai 2000mg/kg). Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM(n=5).

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait éthanolique de *C.albidus* sur des souris Albinos pendant 14 jours, par administration orale d'une dose unique de 2000 mg/Kg n'a montré aucune variation significative du poids corporel des souris du lot traité comparativement au lot témoin (figure 19).

Au début de l'étude et durant les cinq premiers jours de l'expérience, le poids corporel des souris traité par la dose unique de 2000mg/kg a augmenté et cela est suivi directement par une stabilité durant toute la période de l'étude. Ce même changement est observé chez le lot témoin, ce qui laisse conclure que cette augmentation du poids corporel est due à l'adaptation des souris au milieu expérimental (Figure 19).

L'administration orale de l'extrait à une dose unique de 2000 mg / kg n'a pas produit de changements significatifs dans le comportement, la respiration, les réponses du système

nerveux sensoriels, et des effets gastro-intestinaux ou cutanés chez les souris après 4h d'administration de l'extrait. Aucun décès n'a été enregistré dans le lot traité au cours de 14 jours de l'expérience.

III – 2-2 POIDS DES ORGANES :

A la fin de l'expérimentation, après 14 jours de l'étude les organes internes (foie et rein) ont été récupéré et leurs poids mesurés, les résultats obtenus sont rapportés dans la figure 20

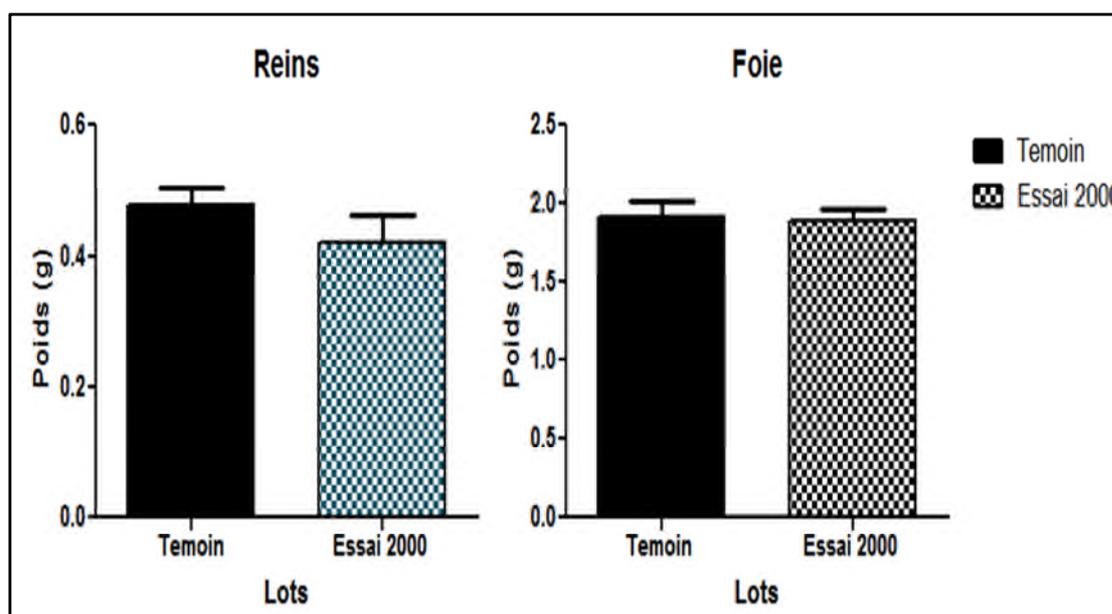


Figure 20 :Poids des organes (foie, reins) au cours de l'évaluation de la toxicité aiguë. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=5).

D'après la figure 20 le poids moyen des foies des souris du lot traité par 2000 mg/kg est de $1,89 \pm 0,067g$ ne présente aucune différence significative par rapport à celui du lot témoin ($1,91 \pm 0,098g$). De même le poids moyen des reins des souris traitées par l'extrait est de $0,42 \pm 0,042g$ est similaire à celui du lot témoin dont le poids est $0,47 \pm 0,024g$.

L'évaluation du poids corporel et celui des organes internes des animaux traités lors de l'étude de la toxicité sont parmi les paramètres cruciaux (Sellers et al., 2007), et une modification de ces deux paramètres est considérée comme un indice sensible de la toxicité après une exposition à une substance toxique (Berenguer-Rivas et al., 2013).

Les résultats obtenus sont en corrélation avec des données bibliographiques, en effet lors d'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait *Cistusladaniferus* de la famille des cistacées sur

des souris, les résultats n'ont montré aucun signe de toxicité, aucune anomalie au niveau des organes internes et la dose létal 50 (DL50) est estimée être supérieure à 7000mg/kg, et il a été suggéré que la plante est pratiquement non toxique par ingestion aigue (Aziz et al., 2011).

Aussi, une étude était menée pour évaluer la toxicité aiguë de l'huile végétal de *Cistusladanifer L.*, a démontré que la DL50 par voie orale est supérieur à 5000g/kg (Tisserand et Young, 2013). De même Küpeli et Yesilada (2007) ont rapporté l'absence de toxicité aiguë de *Cistuslaurifolius L.*

Les résultats de notre étude ont montré que la dose unique de 2000 mg/kg de l'extrait éthanolique de *Cistusalbidas*, n'a pas des effets néfastes sur les souris et indiquent que la dose létale (DL₅₀) est supérieure à 2000 mg / kg. Selon la classification de Looms et Hayes (1996) qui suggère que les substances ayant DL50 entre 500 et 5000 mg / kg de poids corporel sont considérés comme étant pratiquement non-toxiques.

III –3 ETUDE DE LA TOXICITE SUBAIGUË

III-3-1 EVALUATION DU POIDS CORPOREL

L'évolution du poidsdes souris pendant les 21 joursdans l'étude de la toxicité subaiguë sont rapportés dans laFigure 21 :

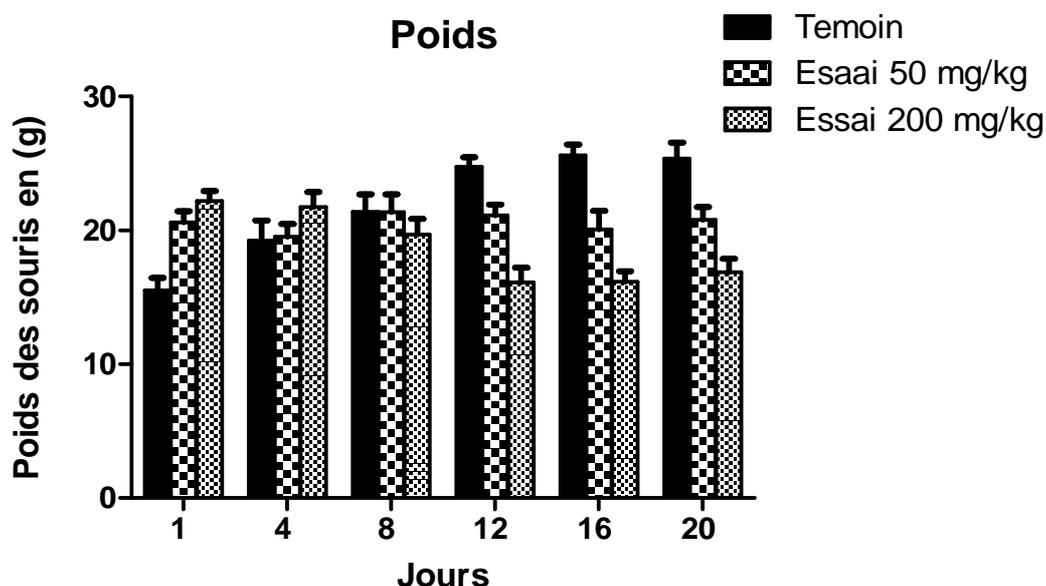


Figure 21 : Variation du poids corporel des souris au cours de l'évaluation de la toxicité subaiguë. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=6)

Comme on peut le constater sur la figure 21, les souris des différents lots ont subi des variations au niveau de leur poids corporel, du premier au quatrième jour de l'étude, une diminution du poids corporel du lot traité par 50 et 200mg/kg d'extrait, suivi par une augmentation du poids jusqu'au huitième jour où le poids des souris s'est stabilisé, ainsi au 21^{ème} jour les valeurs observées ne révèlent aucune variation significative du poids corporel des lots traités par l'extrait comparativement au lot témoin.

Nous avons également constaté l'absence de mortalité, de comportement inhabituels, d'ataxie locomotrice ou d'autres signes de toxicité suite à l'administration des deux doses de l'extrait.

III – 3-2 PARAMETRE BIOCHIMIQUE

III – 3- 2-1 PARAMETRES NEPHRETIQUES

III-3-2-1-1 DOSAGE DE LA CREATININE

Les résultats du dosage de la créatinine sont rapportés dans la figure 22 :

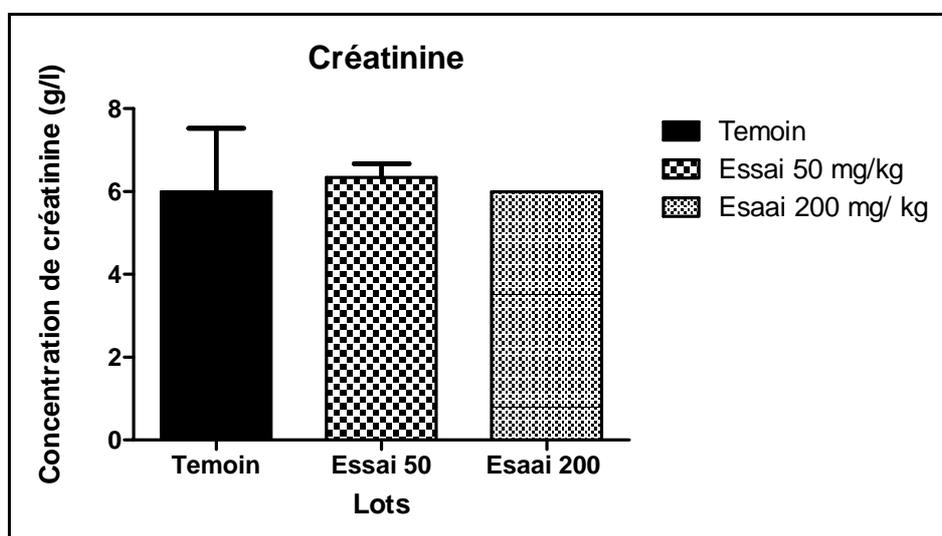


Figure 22 : Taux de créatinine sérique chez les souris des différents lots. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.(n=6)

Comme on peut le constater sur la figure 22, les lots 1 et 2 traités respectivement par les doses de 50 et 200mg/Kg d'extrait éthanolique présentent des taux respectifs de $6,33 \pm 0,33$ g/l et 6

$\pm 0,0$ g/l, et ne présentent pas de différences significatives par rapport au lot témoin dont le taux de créatinine sérique est de $6 \pm 1,527$ g/l.

La concentration sérique de la créatinine, qui est le produit final du métabolisme de la créatine dans le muscle, augmente lorsque la fonction rénale est réduite. Dans ce cas la créatinine du sang n'est plus éliminée efficacement (**Le Meur, 1998**).

D'après les résultats obtenus on peut déduire que la créatinine du sang des souris traitées par l'extrait est bien éliminée par les reins.

III-3-2-1-2 DOSAGE DE L'UREE

Les résultats du dosage de l'urée sont rapportés dans la figure 23 :

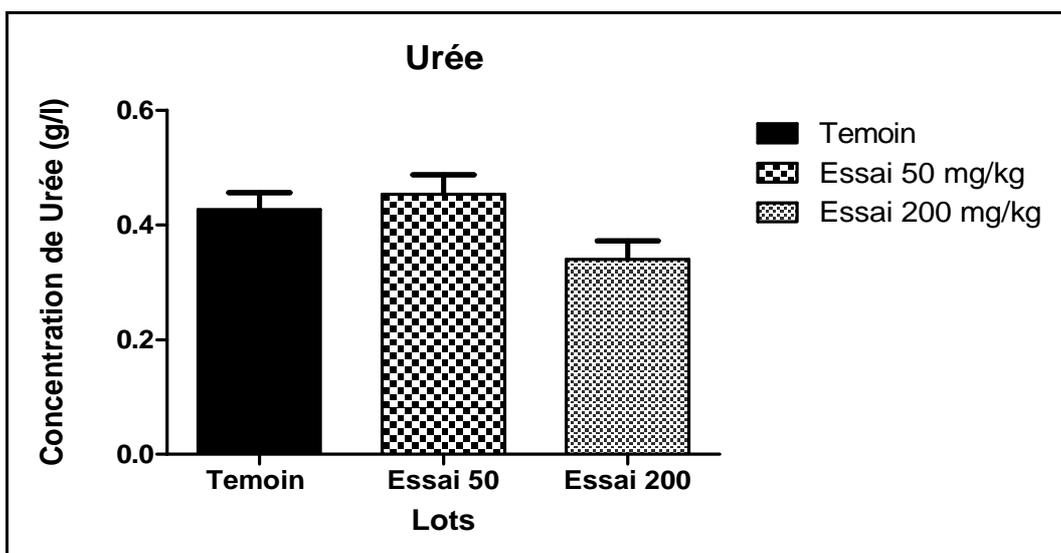


Figure 23 : Taux de l'urée sérique des différents lots. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Les résultats du dosage de l'urée, montrent que les lots 1 et 2 traités respectivement par 50 et 200 mg/Kg de *Cistus albidus* présentent des concentrations respectives de $0,45 \pm 0,033$ g/l et $0,34 \pm 0,032$ g/l ne présentent pas de différences significatives par rapport au lot témoin qui a un taux d'urée sérique de l'ordre de $0,42 \pm 0,029$ g/l (Figure 23).

L'urée qui est le produit final du métabolisme des protides est éliminé par les reins, l'augmentation de sa concentration dans le sang indique un dysfonctionnement au niveau de cet organe (Jacob, 2007). Ce résultat indique que l'urée est bien éliminée de l'organisme. Ainsi cela signifie, l'absence de lésions au niveau des reins tels qu'un dysfonctionnement, insuffisance rénale ou hémorragies.

Les taux de l'urée et de créatinine augmentent lorsque la fonction rénale est perturbée, et leurs concentration dans le sang est en relation avec le débit de filtration glomérulaire (Henry et Thompson, 2004).

L'extrait n'a provoqué aucun changement de concentration plasmatique de ces deux paramètres néphrétiques urée et créatinine comparativement au lot témoin. Ces résultats montrent que l'extrait de cette plante ne présente aucune toxicité néphrétique.

Des résultats similaires ont été obtenus par Thillaivanan et al (2013) lors de l'étude de toxicité subaiguë de l'extrait de plante *Isappukol Chooranam*. Ainsi que Babu et al (2003) lors d'évaluation de la toxicité d'extrait alcoolique de *Cassia Kleinii* suspecter d'avoir une activité antidiabétique, administrée à une dose de 200mg/ kg sur des souris pendant 14 jours.

III-3-2-2 PARAMETRES HEPATIQUES

Le dosage des transaminases (ALAT, ASAT) de lot de souris traité par la dose 50mg/kg de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* n'a pas été effectué à cause de la quantité insuffisante de sérum du sang.

III-3-2-2-1 DOSAGE DE LA GLUTAMATE PYRUVATE TRANSAMINASE OU ALANINE AMINOTRANSFERASE (GPT OU ALAT)

Les résultats du dosage de GPT sont rapportés dans la figure 24 :

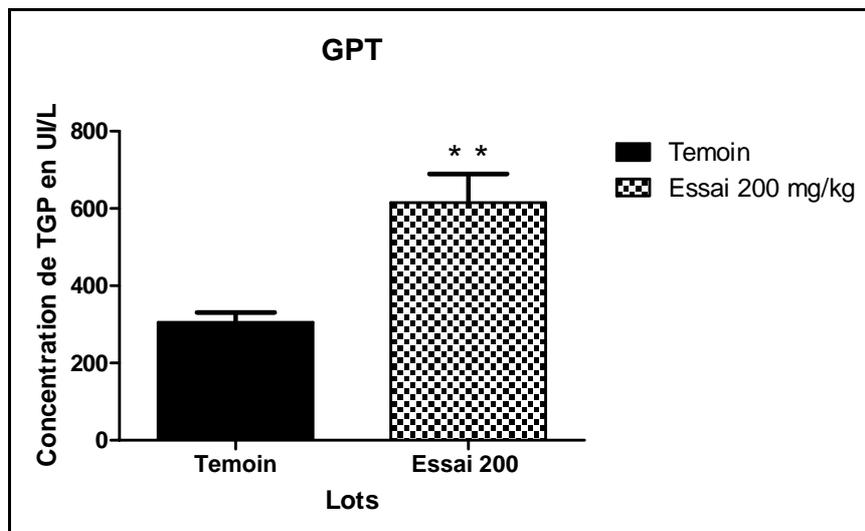


Figure 24 : Taux de la glutamate pyruvate transaminase sérique. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (n=6). *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001.

Les résultats du dosage de la GPT, montrent que le groupe de souris traité par l'extrait présente une concentration de $615 \pm 74,54$ UI/l, une concentration significativement (**P < 0,01**) plus élevée par rapport au lot témoin qui est à un taux de GPT sérique de l'ordre de ($305,33 \pm 25,41$ UI/l).

l'Alanine aminotransférase (ALAT/GPT) est une enzyme considérée comme un bon indicateur de la fonction hépatique et un biomarqueur pour prédire la toxicité éventuelle (Rahman et al., 2001).

Cette enzyme est présente essentiellement dans le foie, et l'augmentation de sa concentration dans le sang, est la conséquence de lésions et des dommages au niveau de cet organe, qui mène à la sortie de l'enzyme vers le sang (Mdhluli, 2003).

Ainsi, l'augmentation de la concentration de l'ALAT de lot traité par la dose de 200mg/kg/jour de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* suggère que, cette plante altère les hépatocytes, et par conséquent le métabolisme de la souris.

III-3-2-2-2 DOSAGE DE LA GLUTAMATE OXALOACETIQUE TRANSAMINASE OU ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (GOT / ASAT)

Les résultats de dosage de GOT sont rapportés dans la (figure 25) :

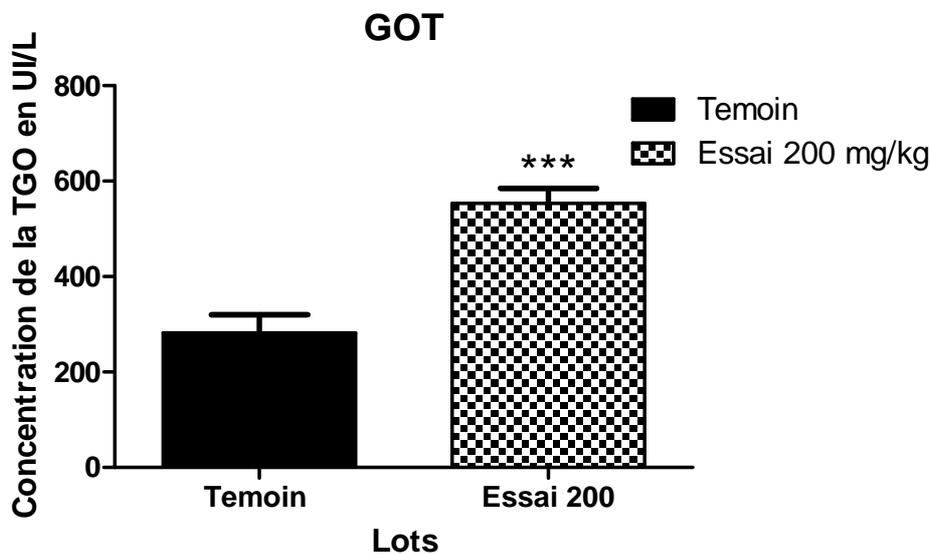


Figure 25 : Taux de la glutamate oxaloacétique transaminase GOT (ASAT) sérique. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (n=6)

Les résultats du dosage de la GOT, montre que le groupe de souris traité par l'extrait présente une concentration de $553,66 \pm 31,09$ UI/l, une concentration significativement ($P < 0,001$) plus élevée par rapport au lot témoin pour qui le taux de GOT sérique est de $282,66 \pm 37,53$ UI/L.

L'aspartate aminotransférase (GOT / ASAT) est une enzyme d'origine à la fois mitochondriale et cytoplasmique. Elle est présente dans différents tissus, toute augmentation peut être considéré comme un premier signe de lésions cellulaires qui mène à la sortie des enzymes dans le sérum (Mdhuli, 2003).

En cas d'augmentation discrète ou modérée des transaminases ASAT et ALAT (deux à dix fois la normale), toutes les causes de maladies du foie et des voies biliaires peuvent être suspectées. Lorsque la concentration de l'enzyme ASAT est supérieure à la concentration de l'enzyme ALAT, comme dans le cas de nos résultats, il peut s'agir d'une atteinte musculaire en raison du contenu plus riche en ASAT des myocytes, et le dosage de la créatine phosphokinase (CPK) permet de confirmer le diagnostic (Berthélémy, 2015).

La valeur diagnostique du rapport ASAT/ALAT permet de prédire les pathologies toxicologiques et les tissus atteints (**Jaunin-Stalder, 2009**). Dans le cas présent, le rapport ASAT/ALAT > 1 et ce résultat indique plusieurs hypothèses qui doivent être exploré : Cytolyse hépatique, une myopathie ou une hémolyse du sang (un deuxième dosage est nécessaire), présence de macro-ASAT (séparation par une électrophorèse) (**Valla, 2003**). En règle générale, les dommages des cellules parenchymateuses du foie entraînent des élévations des deux transaminases (ALAT et ASAT) dans le sang (**Wolf et al., 1972**).

D'après les résultats obtenus après l'administration orale de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* à des doses de 50mg/kg et 200mg/kg pendant 21 jours, on constate que *Cistus albidus* administré à une dose de 200mg/kg altère les hépatocytes du foie et une toxicité probable au niveau d'autres organes. Une dose inférieure de cet extrait peut donner de meilleurs résultats et des analyses complémentaires sont nécessaires afin de mieux cerner l'effet toxique et les tissus touchés.

« *Conclusion et perspectives* »

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le diabète est une maladie très fréquente dans le monde entier, il est traité par l'insuline et des antidiabétiques oraux qui peuvent causer des effets secondaires graves. La complexité de la maladie rend son contrôle difficile, et les recherches s'accroissent pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires de la maladie et afin de trouver des traitements plus efficaces. .

Le présent travail nous a permis de mettre en évidence les effets de l'administration de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* sur certains paramètres glucidiques et lipidiques chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine d'une part et d'évaluer l'éventuelle toxicité de la plante d'autre part.

Les résultats concernant l'effet de l'extrait éthanolique à 50 et 200mg/kg sur les marqueurs du diabète montrent une diminution significative de la glycémie dès le cinquième jour de traitement et persiste jusqu'au 21^{ème} jour. L'extrait induit également un effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant significatifs.

L'étude histologique du pancréas, révèle chez les rats traités avec l'extrait l'apparition des îlots de Langerhans, comparativement aux rats de groupe diabétique non traité. Ces résultats indiquent que l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* pourrait régénérer les îlots de Langerhans.

Dans l'étude de la toxicité aiguë, la dose unique de 2000mg/kg de l'extrait éthanolique de *Cistus albidus* n'a révélée aucun signe de toxicité sur les souris traitées, et la dose létale 50 (DL50) est estimée être supérieure à 2000mg/kg.

Par ailleurs, l'étude de la toxicité subaiguë de cet extrait à des doses de 50mg/kg et 200mg/kg n'a révélé aucun signe de toxicité sur les souris traitées, or la dose de 200 mg/kg a révélé une éventuelle hépatotoxicité traduite par une élévation des transaminases ASAT et ALAT, $553,66 \pm 31,098$ UI/L, $615 \pm 74,54$ UI/L respectivement.

Dans notre étude on a utilisé une dose de 60mg/kg de streptozotocine pour un essai préliminaire, il serait intéressant d'induire un diabète plus sévère avec une dose plus élevée de streptozotocine afin d'évaluer les effets de *Cistus albidus* dans ce cas.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les études effectués sur *Cistus albidus* ont révélés sa richesse en métabolites secondaires il serait pertinent d'identifier les molécules actives responsable de l'effet hypoglycémiant et hypocholestérolémiant pour des investigations pharmacologiques. Une étude de toxicité de longue durée telle que l'étude sub-chronique serait également intéressante.

« *Références bibliographiques* »

A

- Abdollahi M, Zuki ABZ, Goh YM, Rezaeizadeh A, Noordin MM.** (2010). The effects of *Momordica charantia* on the liver in streptozotocin-induced diabetes in neonatal rats. *African Journal of Biotechnology*, 9(31): 5004-5012.
- Akbarzadeh A., Norouzian D., Mehrabi M.R. et al.** (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian journal of clinical biochemistry*, 22 (2).
- Alain Damier.** (2002). *Guide du traitement des déchets*. 3^e édition. Dunod. Paris.
- Al-Achi A.** (2005). Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*. 8(7): 325-330
- Alvin CP.** (2002). *Classification du diabète sucré IN : Harrison principe de Médecine Interne*. Paris : Flammarion. 967p.
- Anderson T., Schein PS., McMenamin MG., Cooney DA.** (1974) Streptozotocin Diabetes: Correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *Journal of clinical investigation.*, 54:672-677.
- Andrew S. Levey., Ronald D. Perrone., Nicolaos E. Madias.** (1988) Serum Creatinine and renal function, *Ann. Rev. Med.* 1988.39: 465-90.
- Annie S., Rajendran K., Punitha I.S.R.** (2005). Antidiabetic activity of alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97 :369–374.
- An sook L, Yun Jung L, So Min L, Jung Joo Y, Jin Sook K, Dae Gill K, Ho Su.** (2012). *Portulaca Oleracea* Ameliorates Diabetic Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction in db/db Mice. *Evid Based Complement Alternat Medicine*, 10-1155.
- Ashafa, A.O.T., Yakubu, M.T., Grierson, D.S., et Afolayan, A.J.** (2009). Toxicological evaluation of the aqueous extract of *Felicia muricata* Thunb, Leaves in Wistar rats. *Journal of Biotechnology*, 6 :949–954.
- Aughstee AA.** (2000). An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. *J of Electron Microscopy*, 49(5):681-690.
- Ayodele OE., Alebiosu CO., et Salako BL.** (2004). Diabetic Nephropathy: A Review of the Natural History: Burden, Risk Factors and Treatment. *Journal of the National Medical Association*, 96 (11): 1445- 1454.
- Aziz, M., Karim, A., Tab, N., et al.** (2013). Antidiarrhoeal activity of *Cistus ladaniferus* aqueous extract. *Spatula DD*, 1(3): 175-179.

B

- Babu ,V., Gangadevi ,T., Subramoniam, A.** (2003). Antidiabetic activity of ethanol extract of *Cassia kleinii* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. *Indian J Pharmacol*,35 :290–296.
- Bach, J.M.** (2000). Le pancréas endocrine, entre constance et variation. *Le Point Vétérinaire*, 31 (209) :17-24.
- Barnett, A.** (2012).Type 2 Diabetes.*Oxford University Press*, 162 p.
- Ben Azouz, K.** (2010).*Relation entre propriétés rhéologiques et structure microscopique de dispersions de particules d'argile dans des dispersions de polymères*, En vue d'obtention d'un Doctorat, Université de Haute Alsace – Mulhouse.
- Bedoya FJ, Solano F, Lucas M .** (1996). N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets *Experientia*. 52: 344-347.
- Benkhniq O, Ben Akka F, Salhi S, Fadli M, Douira A, Lahcen Z.**(2014). Catalogue des plantes médicinales utilisée dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 1 : 3539-3568.
- Benmahdi A.** (2001). Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie*, 6: 11-27.
- Bhowmik A., Khan L.A., Akhter M., Rokeya B., 2009.** Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on non diabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. *Bangladesh J. Pharmacol.*; 4:110-114.
- Ben-romdhane, S., Romdane, M.N ., Feki, M., et al.** (2003).Valeurs usuelles des principaux constituants biochimiques sériques du dromadaire (*Camelusdromedarius*). *Revue de Médecine Vétérinaire*,154 (11) : 695-702.
- Berthélémy, S.** (2015). Bilan hépatique. *Actualités Pharmaceutiques*, 54 :59–61.
- Boitard C.** (2002). The origin of type 1 diabetes: an autoimmune disease?. *Diabetes Metab*, 28 : 263 – 265.
- Bopanna KN, Kannan J, Gadgil S, Balaraman ER, Rathore SP.** (1997). Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seed karnel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*, 29: 612-167.

Boyle JP., Honneycutt AA., et Narayan KM. (2001). Projections of diabetes burden through 2050: Impact of changing demography and disease prevalence in the US. *Diabetes Care*, 24: 1936-1940.

Brownlee, M.(2001).Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414 (6865): 813-20.

Buyschaert M. (2006).Diabétologie clinique. De Boeck Supérieur.180 p.

Buswell, L., et Stalder , H. (2001). Elevation des transaminases (Amino-peptidases).

Bva, Frame, Bspca, Ufaw. (1993). Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Laboratory Animals*, 27: 1-22

Byung-Keun Y, Guk-Nam K, Yong-Tae J, Pradeep M, Chi-Hyun S. (2008).

Hypoglycemic Effects of Exo-biopolymers by Produced by Five Different Medicinal Mushrooms in STZ-induced Diabetic Rats. *The Korean Society of Mycology*, 36(1): 45-49.

C

Cabrol, D., Goffinet, F. (2008). Protocoles cliniques en obstétrique. *Elsevier Masson*.189p.

Caquet, R. (2010). *250 examens de laboratoire*. Elsevier Masson. 384p

Charriere S., Rognant N., Chiche F., Cremer A., Deray G., Priou M. (2008). Insuffisance rénale chronique et maladie cardiovasculaire. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. Pp 40 52.

Chanton. R., Paniel. J. (1966) Biologie animale. Anatomie et physiologie animals II fonction de nutrition. *Edition Doin Deren et Cie*, pp.127.

Chen V, Ianuzza CD. (1981). Dosage effect of streptozotocin on rat tissue enzyme activities and glycogen concentration. *Can J Physiol Pharmacol*, 60: 1251-1256.

Chirita ,C., et al. (2010).Pharmacological evaluation of acute and subacute toxicity and antidepressant effect after acute administration of novel n-substituted Benzamides. *Farmacia*, 58 (1).

Coustan , D.R., Jovanovic ,L. (2011).Screening and diagnosis of diabete mellitus during pregnancy.URL : <http://www.uptodate.com>.

Crawford TN., Alfaro DV., Kerrison JB et al. (2009).Diabetic retinopathy and angiogenesis. *Curr Diabetes Rev*, 5(1): 8-13.

Crouch R, Kimsey G, Priest DG, Sarda A, Buse MG.(1978). Effect of streptozotocin on erythrocyte and retinal superoxide dismutase. *Diabetologia*, 15:53-57.

Ⓓ

Dawei Gao, Qinwang Li, Yusheng Fan. (2010). Hypoglycemic effects and mechanisms of *Portulaca oleracea* L. in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of medicinal Plants Research*, 4(19): 1996-2003.

Deng , Gao GH, Zheng SN, Li FM. (2008). Qualitative and quantitative analysis of flavonoides in the leaves of *Isatis indigatica* Fort by ultra-performance liquid chromatography with PDA and electrospray ionization tandem mass spectrometry detection. *J Pharm Biomed Anal*, 48: 562-567.

De Souza LM, Cipriana TR, Iacomini M . (2008). HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoides and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. *J Pharm Biomed Anal*, 47: 59-67.

Ⓔ

El Ghou J, Smiri M, Ghrab S, Boughattas N, Ben Attia M. (2012). Antihyperglycemic, and antioxidant activities of traditional aqueous extract of *Zygophyllum album* in streptozotocin diabetic mice. *Pathophysiology*, 19: 35-42.

Ⓕ

Fayon G, Fenglin L, Lili Z, Jing L, Zhong Z, Guangyao W. (2009). Hypoglycemic Effects of Crude Polysaccharide from *Portulaca oleracea* L. *African Journal of Biotechnology*, 8(4): 569-573.

Frank C.LU. (1992) *Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque.* Paris pp 73- 202.

Fernandes NPC, Lagishetty CV, Pnda CV, Naik SR. (2007). An experimental evaluation of the antidiabetic and antilipidemic proprieties standardized *Momordica charantia* fruit extract. *BMC complement-Altern-Med.* 7:29.

Ferré, P. (2005). Action et sécrétion de l'insuline : double jeu pour les canaux potassiques. *Médecine/ Sciences*, 21 (8-9) : 694-6.

Fery ,F., et Paquot, N. (2005). Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège* ,60 (5) : 361-368.

Freychet , P. (1988). Mécanisme d'action de l'insuline. *Médecine/ Sciences*, 4 :70-1.

Ⓖ

Ganong ,W. (2005). *Physiologie médicale.* De Boeck Supérieur. 849 p.

Gerche, S. Diabète non insulino-dépendant, diabète de type 2 ou DNID. Consulté le 28/05/2015. URL : <http://www.docteurcliv.com/maladie/diabete-non-insulino-dependant-type-2-DNID.aspx#p5>

Grimaldi, A.(2001). *Guide pratique du diabète*. Paris: Masson. 312 p.

Gillroy A.M, Macpherson et ROSS L.M. (2010). Atlas d'Anatomie. Paris : p.158-189.

Guillausseau, P.J.(1997). Classification and diagnostic criteria of diabetes: propositions of ADA and WHO. *Diabetes Metab*, 23 (5) : 454-5.

Guillausseau P.J., Laloi-Michelin M. (2003). Physiopathologie du diabète de type 2. *La revue de médecine interne*, 24 (11) : 730-737.

H

Hayashi K, Kojima R, Ito M. (2006). Strain differences in the dactivity of streptozotocin in mice. *Biol Pharmaceut Bull*. 29: 1110-1119.

Henry, M.M., Thompson, J.M. (2004). *Chirurgie clinique: Technique et pratique*. De Boeck Supérieur. 752p.

Horn F., Lindenmeier G., Grillhosl C., Moc I., Berghold S., Schneider N., Munster B. (2005). Biochimie humaine.(ed.). *Medecine-sciences. Flammarion*. Pp: 512.

Huang, X., Choi, Y., Im, H., Yarimaga, O., Yoon, E., Kim, H.(2006). Aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques. *Sensors* , 6 :756–782.

I

Ishikawa A., Yamashita H., Hiemori M., Inagaki E., Kimoto M., Okamoto M., Tsuji H., Memon A.N., Mohammadi A., Natori Y.(2007). Characterization of inhibitors of post prandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*; 53:16-173.

Izzedine, H., Launay-Vache, R.V., Isnard-Bagnis, C., et al. (2003). Drug-induced Fanconi's syndrome. *Am J Kidney Dis*, 41:292-309.

(INRS). Institut national de recherche et de sécurité (2011). Aide à l'évaluation des risques.

J

Jacob, L. (2007). *L'insuffisance rénale aiguë*. Springer Science & Business Media. 344p.

Jakuš, V., Rietbrock, N. (2004). Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiological Research*, 53:131-142.

Jarrin M., Sánchez H., Fernández P., García-Layana A., López M. (2002). Streptozotocin Induced Diabetes in Wistar Rat: Is it a Good Model of Diabetic Retinopathy?. *Invest Ophthalmol*, 43: E-Abstract 1334.

Jaunin-Stalder, N., Pasche, et Cornuz, O.J. (2009). Patient avec des tests hépatiques perturbés : que faire ?. *La Revue Médicale Suisse*, 5 : 2410-4 .

Jorge, A.P., Horst, H., De Sousa, E., Pizzolatti, M.G., Regina, F., Silva, M.B. (2004). Insulinomimetic effects of Kaempferitrin on glycaemia and on ¹⁴C-glucose uptake in rat soleus muscle, *Chemico-Biological Interactions* 149,89-96.

Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J of Clinical Investigation*, 48:2129-2139.

Κ

Kadowaki T, Kasaga M, Akamuma Y, Ezaki O, Takaku F. (1984). Decreased autophosphorylation of the insulin receptor kinase in streptozotocin diabetic rats. *J Biol Chem.*, 259: 14208-14216.

Kamalakkannan N., Prince P.S. (2005). The effect of *Aegle marmelos* fruit extract in streptozotocin diabetes: A histopathological study. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*; 5: 87-98.

Khanna K, Rizvi F, Chander R. (2002). Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 82 : 19 - 22.

King, GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. (2008). *Journal Periodontol*, 79: 1527-34.

Kojima I., Umezawa K. (2006). Conophylline: A novel differentiation inducer for pancreatic β cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*; 38: 923-930.

Verdrager J. Ces médicaments qui ne nous viennent des plantes ou les plantes médicinales dans le traitement modernes. *Edition Maloine SA*. Paris. 1978.

Küpelia, E., Yesilad, E. (2007). Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 112 (3) 524–530.

Küpeli, E., Orhan, D.D., Yesilada, E. (2006). Effect of *Cistus laurifolius* L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(3):455–460.

L

Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M. & Hseini S. (2009) .*Lejeunia* Revue De Botanique; série N° 18.

Laroche, L.H. (2001). Toxicologie générale, 25.

Laura, T.M, Aránzazu, M.S., Enrique, B.C. (2013).Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. *Food and Chemical Toxicology* , 55: 313-322.

Lecaque, J. (2011). Place du pharmacien d'officine dans les campagnes de dépistage du diabète de type 2 et dans l'éducation thérapeutique du patient diabétique. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques Université Henri Poincaré, Nancy I.

LeMeur, Y . (1998). *L'insuffisance rénale chronique: du diagnostic à la dialyse*. France : Wolters Kluwer.196 p.

Lesluyes L., Vialettes B.(1996).Le diabète gestationnel. *Diabetes Metab.*22 (5):359-63.

Li Y., Wen S., Kota B.P., Peng G., Li G.Q., Yamahara J., Roufogalis B.D.(2005). *Punica granatum* flower extract, a potent alpha-glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *J. Ethnopharmacol.*; 99 (2): 239-244.

Loomis, T.A., Hayes, A.W. (1996). *Loomis's Essentials of Toxicology*. California: Academic Press. 208-245.

M

Marles RJ, Farnsworth NR. (1994). Plants as sources of antidiabetic agents. *Econ Med Plant Res*, 6:149-187.

Mather, A., Pollock ,C. (2011). Glucose handling by the kidney. *Kidney Int*, 120:S1-6.

Mc Carty MF. (2001). Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by cystamine may mediate the hypotriglyceridemic activity of pantetheine. *Medical Hypotheses*. 56: 314-317.

Mdhluli, M. (2003). toxicologiques et enquêtes stérilisants de l'acide oléanolique dans les vervets mâles (*Chlorocebus aethiops*). Faculté des sciences physiologiques, Université de Western Cape, Cape Town, Afrique du Sud.

- Mohammadi J., Naik P.R. (2008).** Evaluation of Hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. *Indian J of Pharmacoly*; 40(1):15-18.
- Monnier, L., Thuan , JF. (2007).**Diabète sucré de type 1 de l'enfant et de l'adulte. *La Revue du Praticien*, 57: 653-64.
- Moussard, C. (2005).***Biologie moléculaire*.De Boeck Supérieur. 328p.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P.K., LaI, J.(2005).** Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats, *J Ethnopharmacol*, 97:497-501.

N

- Nammi S., Boini M.K., Lodagala S., Behara R.B.S. (2003).** The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits. *BMC Compl. Alternative Med*; 3(4):1-4.
- Nassar, H., Kantarci, A., Van Dyke, T.E. (2007).** Diabetic periodontitis: a model for activated innate immunity and impaired resolution of inflammation. *Periodontol*, 43:233-44.
- Nmila R., Rchid H., Gross R., Manteghetti M., Ribes G., Petit P., Tijane M.,Sauvaire Y .(2002).** Mise en évidence d'un effet insulino-stimulant de fractions de graines de coloquinte *Citrullus colocynthis* L. Schrader. *Biologie & Santé* ; 2 (2) : 88-99.
- Ndomou, M., Djidjou, P.K., Ntah, A.M., Gouado,I, Tchiegang, C. (2014).** Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de feuilles de *Gnetum africanum* et *Gnetum bulchozianum* (Gnétacées).*Sciences, Technologies et Développement*, 15 : 60-65.
- Nguyen SY, Bourouina R et Anne-Claude. (2008).** *Manuel d'anatomie et de physiologie* . Paris : p.38-53.

O

- Ojiako, O.A., Nwanyo ,H.U. (2006).** Is *Vernonia amygdalina* hepatotoxic or hepatoprotective? Response from biochemical and toxicity studies in rats. *Journal of Biotechnology* 5:745–750.
- Ong, K.C., Khoo, H.E. (2000).** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats, *Life Sci* 67, 1695-1705.

P

Pari L, Latha M. (2005). Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis*: effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *Gen Physiol*, 24: 13-26.

Pari, L., satheesh, M.A.(2006). Effect of pterostilbene on hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin- and nicotinamide-induced diabetic rats, *Life Sci* 79,64 1 645.

Perlemuter, L., Hernandez Morin, N. (2002) . *Endocrinologie, diabétologie, nutrition* . De Boeck secondaire. p., 409p.

Perlemuter, G. (2013). *Atlas du diabète de la FID*. Fédération Internationale du Diabète.

Peter-Riesch , B., Philippe, J., Stalder H. (2002) Découverte d'un diabète sucré. *Primary care* , 2:284–290.

Peumery, J.J. (1987). *Histoire illustrée du diabète*. Michigan : Dacosta.124p.

Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., Frullani, Y. (2014). Diabète de type 2: l'essentiel sur la pathologie. *Elsevier Masson*, 53 (541) :18-22.

Piquilloud, L., Blanc, M.H., Milliet, N. (2004). Acidose lactique et biguanides. *Schweiz Med Forum*, 4 :479–481

Priyadarsini K I, Unnikrishnan M K. (2010). Antidiabetic, hypolipidaemic and antioxidant activity of *Dodonaea viscosa* aerial parts in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Phytomedicine*, 2: 59-70.

Q

Querin S et Valiquette L. (2012). *L'essentiel sur la néphrologie et l'urologie*. Anatomie et histologie du rein, des voies urinaires et des organes masculins, p.320.

R

Rahman, M.F., Siddiqui, M.K., Jamil, K. (2001). Effects of Vepacide (*Azadirachtaindica*) on aspartate and alanine aminotransferase profiles in a subchronic study with rats. *Human and Experimental Toxicology*, 20: 243–249.

Raza, M., Al-Shabanah, O.A., El-Hadiyah, T.M., Al-Majed, A.A. (2002).Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of swiss albino mice. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70 :135–46.

Richet G. (1988). Nephrologie.Pp: 361.

Robbins MJ, Sharp RA, Slonim AE, Burr IM. (1980). Protection against streptozotocin induced diabetes by superoxide dismutase. *Diabetologia.*, 18:55-58.

Rohfleisch, A., Nseir, G., Chehade, H., et al. (2013). Glucosurie rénale. *Rev Med Suisse*, 9 : 636-40.

Rolland A. (1988). Etude pharmacologique et contribution à l'étude botanique et chimique d'Eschscholtzia californica, Doctorat de l'université de M et z, mention pharmacognosie, p 441.

Ruckebusch Y. (1981). Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, 2ème Ed. Maloine S. A. Paris.

Ruzaidi A, Amin I, Nawalyah AG, Hamid M, Faizul H. (2005). The effect of malaysian cocoa extract on glucose levels and lipid profiles in diabetic rats. *J. Ethnopharmacol*, 98: 55-66.

S

Saad B., Azaizeh H., Abu-Hijleh G., Said O. (2006). Safety of traditional Arab herbal medicine. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med*, 3(4): 433-439.

Sathishsekar D, Subramanian S. (2005).Antioxidant properties of Momordica Charantia (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*. 14 (2): 153-158

Scheen, A. J., Luyckx, F.H. (2010).L'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) revisitée: 1re partie: Tolérance au glucose, diabète gestationnel et hypoglycémie réactive. *Médecine des Maladies Métaboliques*,4: 569-574.

Sebbagh N, Chabane Sari D, Ataleb S, Ouali F, Magan C, Ktorza A. (2007). Evaluation du profil du stress oxydatif chez des rats Wistar rendus diabétiques et ayant reçu un régime a base de l'huile de coloquinte a pourvoir hypoglycémiant. *Diabètes & Métabolisme*, 33 : 153.

Sellers, R ., Morton, D., Michael, B., et al. (2007).Society Of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendations For Toxicology Studies *Toxicologic Pathology*, 35:751–7550.

Sharma A.K., Bharti S., Goyal S., Arora S., Nepal S., Kishore K., Joshi S., Kumari S., 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: 1457-1465.

Shao B, Guo HZ, Cui YJ. (2007). Simultaneous of six major stilbenes and flavonoids in *Smilax china* by high performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 44: 737-742.

Sherwood, L. (2006). *Physiologie humaine.* De Boeck Supérieur.768 p.

Shibib B.A., Khan L.A., Rahman R.(1993) . Hypoglycemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6- phosphatase and fructose-1,6- biphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem. J.*; 292: 267-270.

Shimizu K., Ozeki M., Iino A., Nakajyo S., Urakawa N. (2001). Structure-activity relationships of triterpenoid derivatives extracted from *Gymnema inodorum* leaves on glucose absorption. *pharmacol.* 86,223-229.

Shubik P., Sicé J. (1956). Chemical carcinogenesis as a chronic toxicity test. *Cancer Res*, 16, 728.

Suckow M. A., Weisbroth S. H., Franklin C. L. (2005). *The laboratory RAT.* ISBN 13: 978-0-12-074903-3; pp 106.

Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rats pancreas. 50:536-546.

Suckow Mark A., Peggy D., Cory B. 2001. *The Laboratory mouse.*, ISBN: 0-8493-0322-2; pp 18.

Szkudelski T, Szkudelska K. (2002). Streptozotocin induces lipolysis in rat adipocytes in vitro. *Phys Res*, 51:255-259.

T

Taleb-Senoucia D, Ghomaria H, Kroufa D, Bouderbala S, Prostb J, Lacaille-Dubois MA, Bouchenaka M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 25 : 221-235.

Teo, S., Stirling, D., Thomas, S., Hobermann, A., Kiorpes, A., Khetani, V.A. (2002). 90 jours étude de toxicité orale par gavage de d-méthyl penidate et DL penidate de méthyle chez des rats Sprague-Dawley . *Toxicology*, 179 : 183- 96.

Tisserand, R., et Young R. (2013). Essential Oil Safety. *Elsevier Health Sciences*, 784.

Traesel, G.K , De Souza, J.C, De Barros A.L., et al. (2014). Acute and subacute (28 days) oral toxicity assessment of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. *Food and Chemical Toxicology* , 74 :320–325.

Truhaut R. (1956). Les risques d'action cancérigènes des substances étrangères ajoutées en vue d'améliorer les qualités organoleptiques des aliments. (Paris). 49, 107, 136.

Trevoux R., Arnal-Schnebelen B., Schnebelen J. (2000). Interactions médicamenteuses Interactions entre les plantes médicinales et la médication traditionnelle. Actualités reproduction humaine, VIII (1) : 28-32.

Trivin, F.,Chevenne, D. (2003). Bioclinique Et Biopathologie Du Diabete Sucri Gestationnel.*Revue Frangaise des Laboratoires*, 357 : 25-29.

Tron I., Piquet O., Baert A. (2002). Toxon : manuel de toxicologie, Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie : 32-34 ; 26-27.

V

Valensi, P., Banu, I., Chiheb S. (2010).*Neuropathie diabétique*. Elsevier Masson.

Valla, D.C. (2003). Augmentation chronique inexplicée des transaminases. *John Libbey Eurotext*, 10 (4).

Vambergue, A., Valat, A.S., Dufour, P. (2002). Physiopathologie du diabète gestationnel. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 31(6) : 3-10.

Veerapur VP, Prabhakar K R, Vipan Kumar Parihar, Punit Bansal, Srinivasan K K, V. Hywood. (1996). Les plantes à fleurs, Nathan.

Vessai, M., Hemmati, M., Vasei, M. (2003). Antidiabetic effects of quercetin in streptozotocin induced diabetic rats, *Comp Biochem Physiol C* 135,357-364.

Viala A., Botta A(2007). Toxicologie, 2ème Ed,Pp: 06.

W

Wallance A. (2008). Principle and methods of toxicology. Ed Tayler & Francis, New York, p. 1134.

Wheater, P.R., YOUNG, B., HEALTH, J.W. (2001).*Histologie fonctionnelle*. De Boek, Belgique. 406p.

WHO. (1991). World Health Organization.

WHO. (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: Report of World Health Organization / International Diabetes Federation.

Wolf ,P.L., Williams ,D., Tsudaka ,T., Acosta, L. (1972) Méthodes et techniques de chimie clinique. *John Wiley & Sons.* 132-196.

World Health Organisation. (1999). Definition, Diagnostic and classification of Diabetes mellitus and its complications. Department of Non communicable Disease Surveillance, Geneva.

Υ

Yeruham, I., Orgad, U., Avidar, Y., Perl, S., Liberboim, M., Adler, H., and Shlosberga, A. (2002). Urinary retention syndrome in beef cows probably caused by ingestion of *Cistus salvifolius*. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153 (10):627-632.

Young B., Lowe J S., Stevens A, Heath J W. (2008). Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater. 2eme edition. DeBoeck. Pp: 288, 294, 402.

Z

Zennaki S, Krouf D, Taleb-Senouci D, Bouchenak M. (2009). *Globularia alypum* L. Lyophilized Methanolic Extract Decreases Hyperglycemia and Improves Antioxidant Status In Various Tissus of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of complementary and Integrative Medicine*, 6(1):34.

RESUME

Lors de cette étude l'activité antidiabétique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus albidus* (50 et 200mg/kg) à été évalué sur des rats *Wistar* rendus diabétique par la streptozotocine (60mg/kg) d'une part et d'autre part, l'évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë a été effectué sur souris albinos. Les résultats ont montrés une diminution hautement significatives de la glycémie ($P < 0,001$), ce résultat est confirmé par l'étude histologique qui révèle une régénération des ilots de Langerhans, une diminution significative du taux du cholestérol et des triglycérides sériques a été également noter. La DL50 de l'extrait est estimée être supérieure à 2000mg/kg, l'extrait semble être dépourvue de toxicité néphrétique, par contre une toxicité hépatique est éventuelle à la dose de 200mg/kg.

Mots clés : diabète, antidiabétique, *Cistus albidus*, streptozotocine, toxicité, phytothérapie.

ABSTRACT

In this study the antidiabetic activity of the ethanol extract of the leaves of *Cistus albidus* (50 and 200mg / kg) was evaluated in *Wistar* rats made diabetic with streptozotocin (60mg / kg) on the one hand and moreover, the evaluation of acute and subacute toxicity was conducted on albino mice. The results showed a highly significant decrease in blood glucose ($P < 0.001$), this result is confirmed by histological study showing regeneration of islets of Langerhans, a significant decrease in cholesterol levels and serum triglyceride was also noted . The LD50 of the extract was estimated to be greater than 2000mg / kg, the extract appears to be devoid of renal toxicity, liver toxicity against is possible at a dose of 200mg / kg.

Keywords: diabetes, antidiabetic, *Cistus albidus*, streptozotocin, toxicity, phytotherapy.

ملخص

في هذه الدراسة تم تقييم نشاط خافض سكر الدم للمستخلص الإيثانولي لأوراق *Cistus albidus* (50 و 200 ملغ / كغ) في فئران ويستار حرض فيها داء السكري بواسطة streptozotocin (60 ملغ / كغ) من جهة و من جهة أخرى، تم إجراء تقييم السمية الحادة وتحت الحادة على الفئران البيضاء. أظهرت النتائج انخفاضا ملحوظا للغاية في مستوى السكر في الدم ($P < 0.001$). تؤكد هذه النتيجة عن طريق دراسة نسيجية تظهر تجديد جزر لانجرهانز، لوحظ انخفاض كبير في مستويات الكوليسترول والدهون الثلاثية في الدم أيضا. قدرت (DL50) للمستخلص أن تكون أكبر من 2000 ملغ / كغ، و يبدو أنها تخلو من سمية كلوية، لكن الجرعة 200 ملغ / كغ قد تسبب سمية الكبد.

الكلمات المفتاحية : مرض السكري، مخفض السكري، *Cistus albidus*، streptozotocin، سمية، التداوي بالأعشاب الطبية.