



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي كلية

علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en

Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Nanomédecine verte : potentiel thérapeutique
d'une combinaison fenugrec – nanoparticules
d'oxyde de fer dans la gestion du diabète
expérimental chez les rats wistar**

Présenté Par :

Melle. BENDEROUCHE Amina

Melle. BOUHANIA Nour el houda

Devant le jury :

President : Dr BEN KADOUR Mina

Université d'El Oued.

Examinator : Dr BOULAARAS Islam

Université d'El Oued.

Promotrice : M^{me}. AOUMEUR M.

Université d'El Oued

Année universitaire : 2025/2026

Dédicaces

À ceux qui ont fait la joie de mes yeux et la sérénité de mon cœur, à ceux dont je récolte aujourd'hui les fruits du dévouement de toute une vie...

*À ma source de tendresse, ma lumière et le secret de ma réussite... **Ma chère maman.***

*À celui dont je porte fièrement le nom, mon pilier et mon guide qui m'a appris à surmonter les difficultés... **Mon cher papa.***

Que Dieu vous préserve et vous garde comme une couronne sur ma tête.

*À mes précieux frères et sœurs, avec qui j'ai partagé les jours, bons et mauvais, et qui ont été **mon meilleur soutien...** **Ahmed Ramí, Aymen, Bahaa, Louaí, et Maram.***

*À celui qui partage mes ambitions et mes espoirs, qui a su m'insuffler la force et l'optimisme pour atteindre ce jour si spécial... **Mon cher fiancé, Anes.***

*À mes compagnes de route, qui ont rendu ce parcours universitaire si beau et qui ont été pour moi de véritables sœurs... **Mes fidèles amies.***

À ceux qui ont éclairé mon chemin par la science et le savoir, et qui ne m'ont jamais épargnée de leurs précieux conseils... À tous mes respectueux enseignants tout au long de mon parcours scolaire.

À vous tous... je dédie ce modeste travail, fruit de tant d'efforts et de persévérance.

Amína

Dédicaces

*À celle qui a semé dans mon cœur l' amour du savoir et la persévérance, celle dont les prières ont toujours. Accompagné mon parcours, **ma chère mère** « Hadjira » Merci pour ton soutien indéfectible.*

*À celui qui m' . « A appris le sens des responsabilités et du cette formation, **mon cher père** « Idriss*

*À mes chers frères et sœurs qui m' travail sérieux, et qui m' a encouragée à poursuivre ont accompagnée dès le premier pas jusqu' soit par leur soutien moral ou matériel : Sondes, Akram et encouragements constants ' à la dernière étape, que ce Mounsif Bechri
Merci pour votre aide et vos.*

À toute ma famille, du côté de ma mère comme de mon père, à mes grands-parents bien chacun de ses membres du plus grand au plus petit Je vous adresse à tous mon affection remerciements les plus profonds pour votre soutien et votre présence dans ma vie.

NOUR

Résumé

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique associée à un stress oxydatif et à des complications tissulaires. L'utilisation combinée de plantes médicinales et de nanomatériaux représente une voie thérapeutique prometteuse. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet protecteur et synergique de l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum* (fenugrec) et des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) à faible dose, administrés seuls ou en association, chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane. Cinq groupes de rats femelles Wistar ont été constitués : témoin sain, témoin diabétique non traité, diabétique traité par le fenugrec seul (400 mg/kg), diabétique traité par les nanoparticules seules (10 mg/kg), et diabétique traité par la combinaison des deux. Les paramètres suivis incluaient la glycémie, le poids corporel, les marqueurs rénaux (urée, créatinine) et hépatiques (ASAT, ALAT), le fer sérique, les marqueurs du stress oxydatif (MDA, GSH, CAT, GPx, GST) dans le foie, les reins et le cœur, ainsi que l'analyse histologique de ces organes. L'administration d'alloxane a induit une hyperglycémie sévère (>5 g/L), une perte de poids, une altération des fonctions rénale et hépatique, une augmentation du MDA et une diminution du GSH et des enzymes antioxydantes. Les monothérapies (fenugrec seul ou nanoparticules seules) ont partiellement corrigé ces anomalies. La combinaison des deux traitements a normalisé la glycémie (retour à des valeurs proches du témoin sain, environ 1,3 g/L), restauré les paramètres biochimiques et le statut antioxydant, et permis une régénération architecturale du foie, des reins et du cœur, confirmée par l'histologie. En Conclusion : L'association fenugrec – nanoparticules d'oxyde de fer exerce une synergie thérapeutique remarquable, supérieure aux traitements individuels, en protégeant contre le stress oxydatif et les complications du diabète. Cette approche ouvre la voie à une nanomédecine verte.

Mots-clés : Diabète alloxanique, *Trigonella foenum-graecum*, nanoparticules d'oxyde de fer, stress oxydatif, synergie, histologie.

Abstract

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease associated with oxidative stress and tissue complications. The combined use of medicinal plants and nanomaterials represents a promising therapeutic approach. The aim of this study was to evaluate the protective and synergistic effect of aqueous extract of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) and low-dose iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3), administered alone or in combination, in alloxan-induced diabetic rats. Five groups of female Wistar rats were established: healthy control, untreated diabetic, diabetic treated with fenugreek alone (400 mg/kg), diabetic treated with nanoparticles alone (10 mg/kg), and diabetic treated with the combination of both. The monitored parameters included blood glucose, body weight, renal markers (urea, creatinine) and hepatic markers (AST, ALT), serum iron, oxidative stress markers (MDA, GSH, CAT, GPx, GST) in the liver, kidneys and heart, as well as histological analysis of these organs. Alloxan administration induced severe hyperglycemia (>5 g/L), weight loss, impaired renal and liver function, increased MDA and decreased GSH and antioxidant enzymes. Monotherapies (fenugreek alone or nanoparticles alone) partially corrected these abnormalities. The combination treatment normalized blood glucose (return to values close to healthy controls, approximately 1.3 g/L), restored biochemical parameters and antioxidant status, and allowed architectural regeneration of the liver, kidneys and heart, confirmed by histology. In conclusion, the combination of fenugreek and iron oxide nanoparticles exerts a remarkable therapeutic synergy, superior to individual treatments, by protecting against oxidative stress and diabetic complications. This approach opens the way to green nanomedicine.

Keywords : Alloxan-induced diabetes, *Trigonella foenum-graecum*, iron oxide nanoparticles, oxidative stress, synergy, histology.

ملخص

داء السكري هو مرض أيضي مزمن يرتبط بالإجهاد التأكسدي ومضاعفات نسيجية. يمثل الاستخدام المشترك للنباتات الطبية والمواد النانوية نهجاً علاجياً واعداداً. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التأثير الوقائي والتأزري للمستخلص المائي للحلبة (*Trigonella foenum-graecum*) وجزيئات نانو أكسيد الحديد (Fe_2O_3) بجرعة منخفضة، عند إعطائها بمفردها أو مجتمعة، في الجرذان المصابة بداء السكري المستحث بالألوكسان. تم تشكيل خمس مجموعات من الجرذان الأنثوية من سلالة ويستار: مجموعة سليمة ضابطة، مجموعة مصابة بداء السكري غير معالجة، مجموعة مصابة بداء السكري تعالج بالحلبة فقط (400 ملغ/كغ)، مجموعة مصابة بداء السكري تعالج بجزيئات النانو فقط (10 ملغ/كغ)، ومجموعة مصابة بداء السكري تعالج بالتركيبة المزدوجة. تضمنت المعايير المقاسة نسبة السكر في الدم، وزن الجسم، مؤشرات الكلى (اليوريا، الكرياتينين) ومؤشرات الكبد (ASAT)، (ALAT، الحديد المصل، مؤشرات الإجهاد التأكسدي (MDA)، GSH، CAT، GPx، GST) في الكبد والكلى والقلب، بالإضافة إلى التحليل النسيجي لهذه الأعضاء. تسبب الألوكسان في فرط سكر دم شديد (>5 غ/لتر)، وفقدان الوزن، وتدهور وظائف الكلى والكبد، وزيادة في MDA وانخفاض في GSH والإنزيمات المضادة للأكسدة. أدت العلاجات الأحادية (الحلبة فقط أو جزيئات النانو فقط) إلى تحسن جزئي لهذه الاضطرابات. أما العلاج المركب فقد أدى إلى تطبيع نسبة السكر في الدم (العودة إلى قيم قريبة من المجموعة السليمة، حوالي 1.3 غ/لتر)، واستعادة المعايير البيوكيميائية والحالة المضادة للأكسدة، وسمح بتجديد معماري للكبد والكلى والقلب، وهو ما أكدته الفحوص النسيجية. خلاصة القول، إن مزيج الحلبة وجزيئات نانو أكسيد الحديد يُظهر تأزراً علاجياً ملحوظاً، متفوقاً على العلاجات المنفردة، من خلال الحماية من الإجهاد التأكسدي ومضاعفات السكري. يفتح هذا النهج المجال أمام الطب النانوي الأخضر.

الكلمات المفتاحية: داء السكري المستحث بالألوكسان، الحلبة، جزيئات نانو أكسيد الحديد، الإجهاد التأكسدي، تأزر، علم الأنسجة

Liste des abréviations et des symboles

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

μmol : Micromole

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADP : Adénosine diphosphate

ALT : Alanine aminotransférase

ALX : Alloxane

AMs : macrophages alvéolaires

AST : Aspartate aminotransférase

ATP : Adénosine triphosphate

AVC : les accidents vasculaires cérébraux

BHT : Butylhydroxytoluène

CAT : Catalase.

CDNB : 1-chloro-2,4-dinitrobenzène

DG : Diabète gestationnel

DO : Densité optique

DT1 : Diabète Type 1

DT2 : Diabète de type 2

DTNB : Acide 5-5- dithio-bis-2-nitrobensoïque

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe₂O₃ : Nano-maghémites d'oxyde de fer

Fe³⁺ : Fer ferrique

Fe₃O₄ : Nano-Magnétites d'oxyde de fer

GBM : la membrane de sous-sol glomérulaire

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GST : Glutathion-S-transférase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

Hb : l'hémoglobine

IMs : macrophages interstitiels

IMs : macrophages interstitiels

IONPs : Nanoparticules d'Oxyde de fer

IRM : Imagerie Résonance Magnétique

IRP : les protéines régulatrices du fer

Kcs : les cellules de Kupffer

LADA : Latent Autoimmune Diabetes in Adults

M

Mb : la myoglobine

MCV : maladies cardiovasculaires

MDA : Malo dialdéhyde

MODY : Maturity Onset Diabetes of the Young

Mt2 : la matriptase

NaCl : chlorure de sodium

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

NPs : Nanoparticule

PEG : l'enrobage de polyéthylène glycol

Pi : Phosphate inorganique HPO_4

PC : Poids Corporel.

PKC : la protéine kinase C

Qds : fluorescence de quantum dots

ROS : Espèce réactive oxygénées

ROS : Espèce réactive oxygénées.

SPION : Super paramagnetic iron oxide nanoparticles

STZ : Streptozotocin

TBA : Acide thiobarbiturique

TBS : Tris-buffered saline

TCA : Trichloracétique.

Tf : la transferrine

TiO₂ : Oxyde de titane

TRL : La trigonelle

UV : Ultra-violet

Vs : Volume du surnageant

Vt : Volume total

ZnO : Oxyde de zinc

α Fe₂O₃: L'hématite

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Nanoparticules de phosphate d'argent	3
Figure 02	Nanomatériaux avec différentes morphologies (A, B, C, D, E, F)	4
Figure 03	Différentes formes de balles (A) Fullerènes/Buck C60 et(B) C70	5
Figure 04	Représentation schématique et visuelle d'un point quantique	6
Figure 05	Méthodes de synthèse de nanoparticule	9
Figure 06	Schéma des différentes méthodes de synthèse et de transformation des oxydes	11
Figure 07	Taux de glycémie	14
Figure 08	Classification de diabète	15
Figure 09	Physiopathologie du Diabète Type 1 (DT1).	17
Figure 10	Physiopathologie du diabète de type2	18
Figure 11	La rétinopathie diabétique	22
Figure 12	Graines de fenugrec	27
Figure 13	Structures chimiques des principaux métabolites secondaires de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	31
Figure 14	La pesée des rattes	34
Figure 15	Les graines et la poudre fine de fenugrec	35
Figure 16	Le traitement des rattes	37
Figure 17	Mesure de la glycémie	38
Figure 18	Sacrifices et prélèvement des organes	39
Figure 19	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	40
Figure 21	Évolution du taux de la glycémie plasmatique (g/L) chez les différents lots de rats au cours des périodes expérimentales : Après l'induction diabète (AP. D), S1, S2 et S3.	46

Figure 22	Concentration sérique de la glycémie, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités	47
Figure 23	Concentration sérique du ASAT, ALAT, Fer sérique chez le groupe témoin et les groupes traités	48
Figure 24	Taux tissulaires du Malondialdéhyde (MDA) et du Gluta dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats.	49
Figure 25		50
Figure 26	Activités tissulaires de la Catalase (CAT) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents groupes de rats.	52
Figure 27	Activités tissulaires de la Glutathion S-Transférase (GST) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats	53
Figure 28	Activités tissulaires de la Glutathion Peroxydase (GPx) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats.	54
Figure 29	Coupes histologiques du foie chez les cinq groupes (H&E, Gx40). (A) Témoin (T) ; (B) Diabétique (TD) (C) Fenugrec (DFU) ; (D) Nanoparticules (DFE) ; (E) Association (DM).	63
Figure 30	Coupes histologiques du rein chez les cinq groupes (H&E, Gx40). (A) Témoin (T) ; (B) Diabétique (TD) ; (C) Fenugrec (DFU) ; (D) Nanoparticules (DFE) ; (E) Association (DM).	64
Figure 31	Coups histologiques du cœur chez les cinq groups (H&E, Gx40). (A) Témoin (T) ; (B) Diabétique (TD) ; (C) Fenugrec (DFU) ; (D) Nanoparticules (DFE) ; (E) Association (DM).	65

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Situation botanique de l'espèce <i>Trigonella feonum-graecum L</i>	26
Tableau 02	Caractéristiques physiques et nutritionnelles moyenne pour 100 g de graines de fenugrec	28
Tableau 03	Traitement des rattes	36
Tableau 04	Mode opératoire de dosage de glycémie	42

SOMMAIRE

Introduction

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : NANOPARTICULES D'OXYDE DE FER

1. Nanoparticules (NPs) :	3
1.1 Définition des nanoparticules (NPs) :	3
1.2 Classification des nanoparticules :	3
1.2.1 Nanoparticules organiques :	4
1.2.2 Nanoparticules inorganiques :	5
1.3 Propriétés des Nanoparticules :	7
1.3.1 Propriétés Optiques et Historique :	7
1.3.2 Propriétés Électriques, Catalytiques et Mécaniques :	7
1.3.3 Interactions Biologiques et Enjeux Thérapeutiques	8
1.4 Méthodes de synthèse de nanoparticules :	8
2. Nanoparticule d'oxydes de Fer :	9
2.1 Définition et caractéristiques générales :	9
2.2 Les propriétés structurales des nanoparticules d'oxyde de fer :	10
2.2.1 L'hématite (α -Fe ₂ O ₃) :	10
2.2.2 La magnétite (Fe ₃ O ₄) :	10
2.2.3 La maghémite (γ -Fe ₂ O ₃):	10
2.3 Les propriétés magnétiques :	11
2.4 Synthèse des différents oxydes de fer :	11
2.5 Applications biomédicales des nanoparticules d'oxyde de fer :	12
2.6 Toxicité de nanoparticule d'oxyde de fer :	13
2.6.1 Métabolisme et homéostasie protéique du fer :	13
2.6.2 Régulation de l'homéostasie du fer :	13

CHAPITRE II : DIABETE

1. Définition de diabète :	15
2. Classification de diabète :	15
2.1 Diabète de type 1 :	16
2.1.1 Physiopathologique du Diabète Type 1 (DT1)	16
2.2 Diabète de type 2(DT2) :	18

2.2.1 Physiopathologie du diabète de type2 :	19
2.3 Diabète gestationnel (DG) :	20
2.4 D'autres types spécifiques de diabète :	21
3. Complications du diabète :	22
3.1 Complications Cardiovasculaires :	22
3.2 Rétinopathie diabétique :	22
3.3 Néphropathie Diabétique	23
3.4 Neuropathie Diabétique	24
4. Modèles de diabète expérimental : Alloxane et Streptozotocine	24
4.1 Diabète induite par l'alloxane ALX :	25
4.2 Diabète induite par la Streptozotocine (STZ)	25

CHAPITRE III : FENUGREC

1. Généralité :	26
1.1 Étymologie	26
2. Position systématique :	26
3. Description botanique :	27
3.1 Description morphologies des graines : la partie utilisée	27
4. Composition chimique de la graine du fenugrec :	28
4.1 Acides phénoliques :	29
4.2 Les flavonoïdes	30
4.3 Les tanins :	30
4.4 Les Alcaloïdes	30
4.5 Les Composés stéroïdiens et saponines	31
5. Activités biologiques :	32
5.1 Activités hypoglycémiantes	32
5.2 Activités antioxydantes	33
5.3 Activités anti-inflammatoires et hépatoprotectrices :	33
5.4 Activités anticancéreuses	33

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHOD

1. L'objectif :	Error! Bookmark not defined.
2. Matériels :	35
2.1 Matériel biologique :	35

2.2 Matériel végétal :.....	36
2.3 Matériel chimique :	36
2.4 Matériels de laboratoire :.....	37
3. Méthodes :	37
3.1 Méthodes d'élevage et traitement :.....	37
3.1.1 Conditions d'élevage :	37
3.1.2 Traitement et Répartition des rattes :.....	37
3.1.3 Induction du diabète :	39
3.1.4 Sacrifices et prélèvement du sang et des organes :.....	40
3.2 Méthode de préparation de l'extrait <i>Trigonella foenum-graecum</i> L :	43
3.3 Paramètres d'analyses et méthodes :.....	43
3.3.1 Méthodes de dosage des paramètres biochimiques sérique :	43
3.3.2 Méthode de dosage des paramètres du stress oxydatif :	46
3.4 Réalisation des coupes histologiques :	49
3.4.1 Fixation des échantillons :	49
3.4.2 Déshydratation :	49
3.4.3 Inclusion :.....	50
3.4.4 Confection des coupes histologiques :.....	50
3.4.5 Coloration (HES : Hématéine / Éosine / Safran) :.....	50
3.4.6 Montage et observation :.....	50
3.5 Analyse statistique :.....	51
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	
1. Résultats :	51
1.1 Effets de l'extrait de fenugrec (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur les paramètres de la croissance globale et métabolique des rats :.....	51
1.1.1 Évolution du poids corporel :.....	51
1.1.2 Évolution du taux de La glycémie plasmatique :	52
1.2 Effet de traitement par l'extrait de fenugrec (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur des paramètres biochimiques et enzymatique chez les rattes :	53
1.2.1 Étude des paramètres biochimiques :	53
1.2.2 Étude des enzymes sériques :.....	55

1.3 Effet du traitement par l'extrait de fenugrec (<i>Trigonella foenum-graecum L</i>) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur les paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats diabétiques :	56
1.3.1 Etude de la peroxydation lipidique MDA et le glutathion réduit GSH :	56
1.3.2 Etude de l'activité de de catalase CAT, Glutathion S Transférase GST, et du glutathion peroxydase GPx :	58
1.4 Etude la coupe histologique des différents organes chez les rattes :	63
2. Discussion :	69
2.1 Effets de l'extrait de fenugrec (<i>Trigonella foenum-graecum L</i>) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur les paramètres de la croissance globale et métabolique des rats :	70
2.1.1 Évolution du poids corporel:	70
2.1.2 Évolution du taux de La glycémie plasmatique ::	70
2.2 Évaluation des paramètres biochimiques (Glycémie, Urée, Créatinine, TGO, TGP et Fer sérique)	71
2.3 . Évaluation des paramètres du stress oxydatif (MDA, GSH, CAT, GST et GPx) :	71
2.3.1 . Malondialdéhyde (MDA).....	71
2.3.2 Glutathion réduit (GSH)	72
2.3.3 Catalase (CAT).....	72
2.3.4 . Glutathion Stransférase (GST)	72
2.3.5 . Glutathion peroxydase (GPx).....	72
2.4 Évaluation la coupe histologique des différents organes chez les rattes :	73
2.4.1 Les foies :	73
2.4.2 Les reins :	74
2.4.3 Les cœur (myocarde) :	74

CONCLUSION GENERALE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Introduction générale

Au cours des dernières décennies, les nanosciences et les nanotechnologies ont connu un développement rapide et remarquable. Le terme « nano » désigne l'échelle du nanomètre . Lorsque les dimensions des matériaux sont réduites à cette échelle, de nouvelles propriétés physiques, chimiques et biologiques apparaissent, différentes de celles observées à l'échelle macroscopique. Les nanosciences s'intéressent à l'étude de ces nouvelles propriétés ainsi qu'aux interactions entre les nano-objets et leur environnement, tandis que les nanotechnologies visent à appliquer ces connaissances dans divers domaines scientifiques et industriels. L'intérêt pour ce domaine s'est renforcé depuis la célèbre conférence du physicien Richard Feynman en 1959 sur les possibilités offertes par l'échelle atomique (**Armand, 2011**).

Ce domaine s'est largement étendu pour inclure plusieurs secteurs tels que l'électronique, l'industrie, l'environnement et la médecine, avec un intérêt croissant de la part des chercheurs et des industriels, soutenu par les moyens technologiques et financiers nécessaires à son développement (**Armand, 2011**).

En 2008, l'Organisation internationale de normalisation (ISO) a classé les nanomatériaux en trois catégories principales : les nanoparticules, les nanoplaques et les nanofibres. Les nanoparticules sont définies comme des matériaux possédant trois dimensions externes à l'échelle nanométrique (**Lei et al., 2013**).

Parmi les nanomatériaux les plus importants figurent les oxydes métalliques simples tels que l'oxyde d'aluminium, la silice, l'oxyde de zinc, l'oxyde de cuivre, l'oxyde de titane, l'oxyde de manganèse et les oxydes de fer (**Szalay et al., 2012**).

Les nanoparticules d'oxydes de fer, en particulier la magnétite (Fe_3O_4) et la maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés magnétiques remarquables et de leurs nombreuses applications biomédicales et environnementales. Elles sont utilisées en imagerie par résonance magnétique, dans le traitement des tumeurs par hyperthermie magnétique, ainsi que pour la vectorisation des médicaments vers des cibles intracellulaires (**Gupta et al., 2005 ; Ngomsik et al., 2005 ; Puppi et al., 2011 ; Rumenapp et al., 2012 ; Baratli, 2015**). Par ailleurs, ces nanoparticules sont également étudiées pour la dépollution des eaux souterraines et des sols contaminés (**Wei-Xian, 2003**).

Le diabète sucré représente l'une des maladies métaboliques chroniques les plus répandues dans le monde. Cette pathologie est caractérisée par une hyperglycémie persistante résultant d'un défaut de sécrétion ou d'action de l'insuline. Le diabète est associé à plusieurs complications graves touchant notamment les reins, le foie, le système cardiovasculaire et le système nerveux, où le stress oxydatif joue un rôle essentiel dans le développement et la progression de ces complications diabétiques (**American Diabetes Association, 2022**).

Face aux limites des traitements conventionnels et à leurs effets secondaires, un intérêt croissant est porté vers l'utilisation des plantes médicinales dans la prévention et le traitement du diabète. Parmi ces plantes, *Trigonella foenum-graecum* (fenugrec) occupe une place importante grâce à ses propriétés hypoglycémiantes, antioxydantes et anti-inflammatoires. Les graines de fenugrec sont riches en fibres, flavonoïdes, saponines et alcaloïdes capables d'améliorer la sensibilité à l'insuline et de diminuer l'absorption intestinale du glucose (**Basch et al., 2003**).

C'est dans cette perspective globale, visant à coupler les avancées de la nanotechnologie avec les vertus de la phytothérapie pour concevoir des alternatives thérapeutiques innovantes et plus sûres, que s'inscrit ce travail. Cette étude vient ainsi servir le domaine de la recherche biomédicale et pharmacologique en évaluant l'effet thérapeutique et protecteur de l'extrait de *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec) et des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) à faibles doses, administrés seuls ou en combinaison synergique, afin de contrer les perturbations métaboliques et le stress oxydatif induits par l'alloxane chez les rats.

Première Partie :

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : nanoparticules d'oxyde de fer

1. Nanoparticules (NPs) :

1.1 Définition des nanoparticules (NPs) :

Le concept de « nanoparticule » (NPs) désigne généralement des entités physiques dont au moins l'une des dimensions spatiales se situe en dessous du seuil des 100 nanomètres. Étant donné qu'un atome possède un rayon atomique standard d'environ 0,1 nm, une nanoparticule résulte de l'assemblage complexe de quelques dizaines à plusieurs centaines d'atomes. Parmi les structures nanométriques les plus emblématiques, on peut citer les fullerènes, qui se composent uniquement de 60 ou 70 atomes de carbone. Cette échelle de taille extrêmement réduite octroie aux NPs une surface spécifique particulièrement élevée, modifiant ainsi leurs propriétés d'interaction (Figure 1) (Zeyons, 2008).

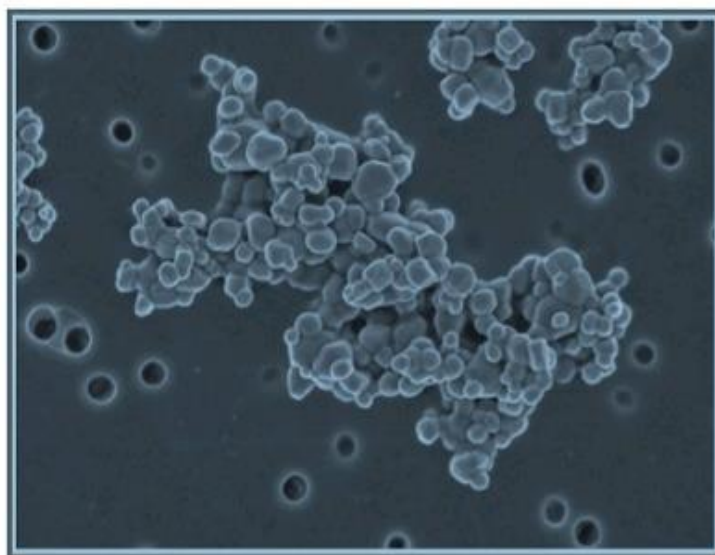


Figure 01: Nanoparticules de phosphate d'argent (Chudobova et al., 2013)

1.2 Classification des nanoparticules :

Les NPs sont généralement classés en différentes catégories selon leur morphologie (figure 02), leur taille et leurs propriétés physiques et chimiques.

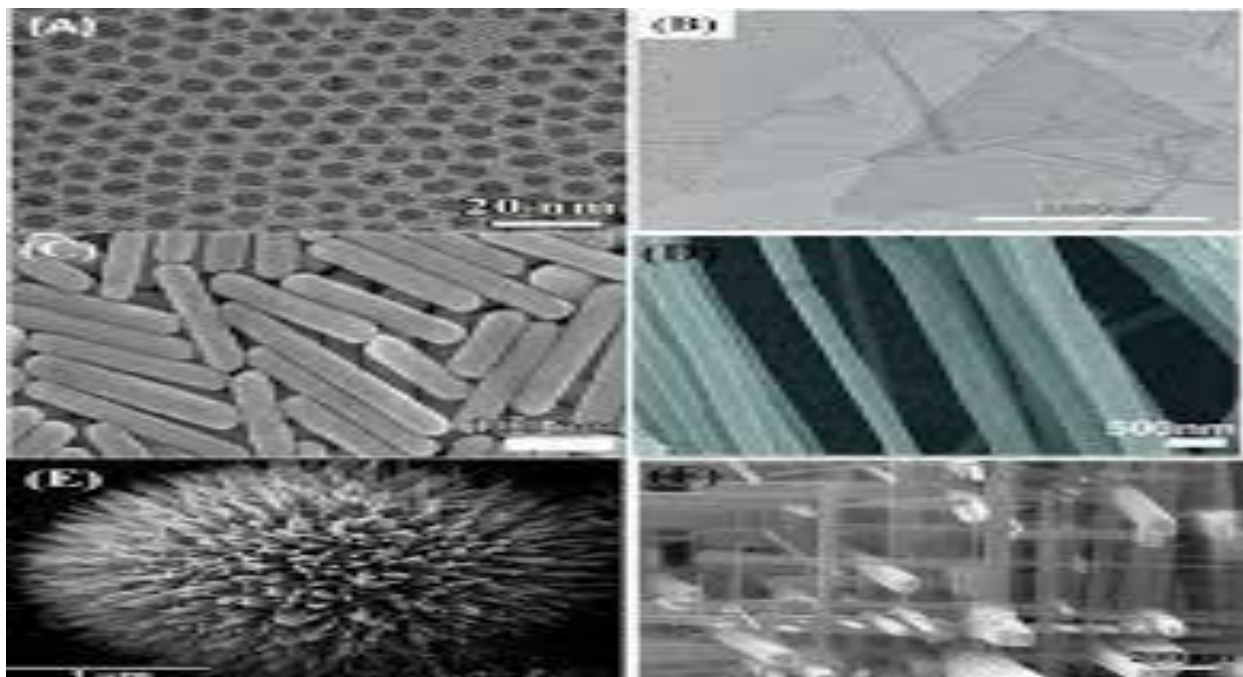


Figure 02: Nanomatériaux avec différentes morphologies (A, B, C, D, E, F)
(Jeevanandam et al., 2018).

1.2.1 Nanoparticules organiques :

Nanoparticules organiques inclus le système micellaire et lipidique, les nanoparticules à base de polymères et aussi les nanotubes de carbone et les fullerènes.

1.2.1.1. Système micellaire/lipidique :

Récemment, les micelles polymériques de taille entre 10-200nm ont retenu l'attention en tant que véhicules de vectorisation du médicament. Les micelles polymériques sont formées par autoassemblage des copolymères consistant en 2 ou plusieurs chaînes polymériques à différents degrés de solubilité dans l'eau. Ces copolymères s'assemblent spontanément pour former une structure micellaire dans un milieu aqueux afin de minimiser l'énergie libre du système. Plus précisément, lors d'un contact direct avec de l'eau, la partie hydrophobe centrale minimise l'exposition au milieu aqueux, alors que la partie hydrophile forme l'enveloppe externe qui stabilise le centre de la micelle (Jordanovska, S. 2015).

1.2.1.2. Nanoparticules à base de polymères :

De nombreux polymères organiques courants peuvent être produits dans des dimensions nanométriques. Le chlorure de polyvinyle ou le latex ainsi produits, par exemple, peuvent être, dans certaines conditions, solubilisés ou modifiés chimiquement. Plusieurs de ces polymères

organiques sont à même d'être préparés sous forme de nano fils, donnant lieu à leur utilisation dans l'élaboration de systèmes d'ultrafiltration en phase liquide ou gazeuse, ou comme senseurs notamment. Certaines nanofibres organiques biodégradables pourraient être utilisées en médecine pour la réingénierie tissulaire, la régénération osseuse ou encore pour contrôler le relargage de médicaments. (Ostiguy, Claude, et al.2010).

1.2.1.3. Les nanotubes de carbone et Les fullerènes :

Les fullerènes et les nanotubes de carbone (CNT) représentent deux grandes classes de nanoparticule à base de carbone. Les fullerènes contiennent des nanomatériaux constitués d'une cage globuleuse creuse, comme des formes allotropes de carbone. Ils ont créé un intérêt commercial remarquable en raison de leur conductivité électrique, leur haute résistance, leur structure, leur affinité électronique et leur polyvalence. Ces matériaux possèdent des unités pentagonales et hexagonales de carbone, tandis que chaque carbone est sp^2 hybridé (Figure 03) montre quelques-uns des fullerènes bien connus composés de C60 et C70 avec un diamètre de 7,114 et 7,648 nm, respectivement (Khan, et al. 2017).

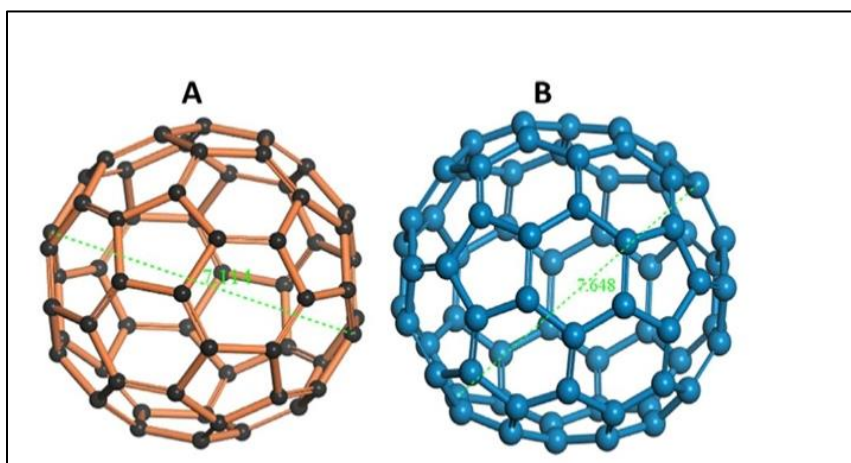


Figure 03 : Différentes formes de balles (A) Fullerènes/Buck C60 et(B) C70(Khan et al., 2017)

1.2.2 Nanoparticules inorganiques :

Elles ont la même structure de base que les NPs organiques, avec un noyau aux propriétés fluorescentes, magnétiques ou optiques et une couche protectrice organique en surface. À cette pellicule de surface peuvent être attachées des molécules vectrices (Chuto, G et al. 2010).

1.2.2.1. Puits quantiques :

Puits quantiques ou quantum dots ou encore les points quantiques sont typiquement composés de combinaisons d'éléments des groupes II et IV ou des groupes III et V du tableau périodique. Ils ont été élaborés sous forme de semi-conducteurs, d'isolants, de métaux, de matériaux magnétiques ou d'oxydes métalliques. Le nombre d'atomes des points quantiques, qui peuvent varier de 1 000 à 100 000, n'en font ni une structure solide étendue ni une entité moléculaire (figure 04) (*Ostiguy, C et al. 2010*).

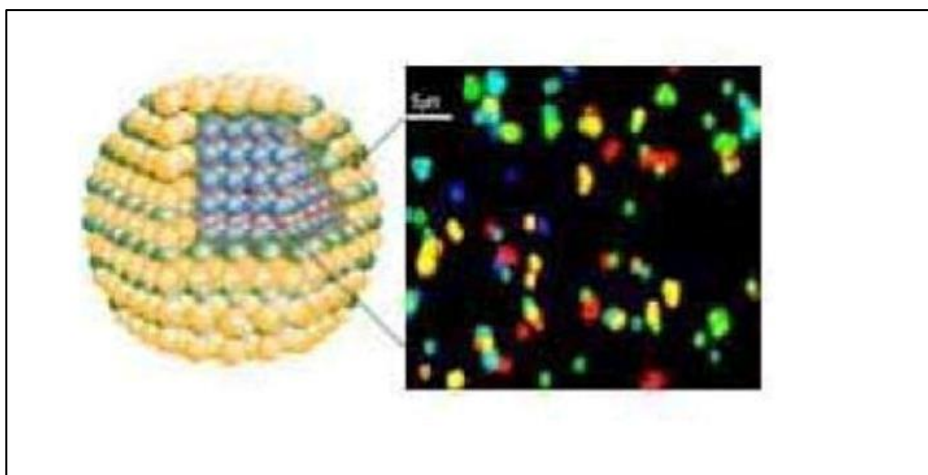


Figure 04 : Représentation schématique et visuelle d'un point quantique (*Ostiguy et al., 2010*)

1.2.2.2. Nanoparticules d'oxyde de fer magnétique et supermagnétique :

Elles sont formées d'un noyau métallique magnétiquement actif et sont utilisées comme agent de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM). Elles sont couvertes d'une couche organique protectrice sur laquelle peuvent être attachées des molécules vectrices. Elles peuvent être encapsulées dans des micelles. (*Chuto, G et al. 2010*).

1.2.2.3. Nanoparticules de diamants photoluminescents :

L'ajout d'une impureté (atome d'azote et de nickel) lors de la production d'un diamant synthétique peut conduire à la formation de centres colorés photoluminescents (exemple : les centres azote-lacune (NV)) (*Chuto, G et al. 2010*).

1.2.2.4. Sondes Raman :

Formées d'un noyau métallique (or, argent ou bismuth) possédant des propriétés physiques permettant l'étude spectroscopique en imagerie optique, elles sont recouvertes d'une couche de silice. (Chuto, G. 2010).

1.3 Propriétés des Nanoparticules :

Les nanoparticules (NPs) représentent une interface unique entre l'échelle atomique et les matériaux massifs (bulk), présentant des caractéristiques structurales distinctives. Contrairement aux matériaux conventionnels, les propriétés des NPs évoluent intrinsèquement en fonction de leur dimensionnement. À une échelle extrêmement réduite, elles sont régies simultanément par les lois de la physique classique et les phénomènes de mécanique quantique. Ces particularités se déclinent en diverses propriétés : optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques et biologiques. L'étude de ces caractéristiques permet non seulement de comprendre l'intérêt technologique des nanomatériaux, mais aussi d'appréhender les questionnements relatifs à leur potentielle toxicité (Jeevanandam et al., 2018).

1.3.1 Propriétés Optiques et Historique :

Historiquement, les propriétés optiques des NPs étaient exploitées dès le IX^{ème} siècle en Mésopotamie pour l'ornementation des poteries. Cette méthode artisanale reposait sur la réduction de sels métalliques (cuivre et argent) à la surface de l'argile pour générer un effet de lustre métallique. Plus tard, Faraday (1847) fut le premier à établir un lien scientifique entre la coloration des suspensions d'or (sols d'or) et la taille des particules.

Par ailleurs, certaines NPs d'oxydes métalliques, telles que le ZnO et le TiO₂, possèdent une forte capacité d'absorption dans le spectre ultraviolet (UV). Elles sont largement intégrées dans les produits cosmétiques et les écrans solaires, offrant une protection efficace tout en restant transparentes, car leurs dimensions sont inférieures aux longueurs d'onde du spectre visible (400-700 nm) (Guitou, 2014).

1.3.2 Propriétés Électriques, Catalytiques et Mécaniques :

Sur le plan électrique, l'incorporation de nanotubes de carbone dans des matrices composites améliore considérablement la conductivité des matériaux. Ce phénomène de confinement quantique, lié à la proximité des niveaux d'énergie, favorise également des

capacités catalytiques exceptionnelles. C'est le cas des NPs de TiO_2 , ZnO et CeO_2 , utilisées pour concevoir des surfaces « autonettoyantes » dans les secteurs du bâtiment et du textile.

En particulier, le dioxyde de cérium (CeO_2) agit comme un piègeur de radicaux libres grâce à sa facilité de changement de degré d'oxydation. **(Sajid et al., 2015).**

D'un point de vue mécanique, les NPs présentent des performances remarquables, allant de la superplasticité à une résistance extrême. Par exemple, la dureté des nanotubes de carbone à parois multiples peut rivaliser avec celle du diamant.

1.3.3 Interactions Biologiques et Enjeux Thérapeutiques

En raison de leur taille nanométrique, ces particules interagissent de manière spécifique avec les systèmes biologiques (protéines, membranes cellulaires). Si l'usage des NPs à des fins thérapeutiques notamment pour la vectorisation de médicaments et l'imagerie médicale est exploré depuis deux décennies, leur application clinique reste conditionnée par une évaluation rigoureuse de leur innocuité. Des études de toxicité approfondies sont impératives avant toute généralisation de leur emploi diagnostique ou curatif **(Avis de l'AFSSET, 2006 ; Zeyons, 2008).**

1.4 Méthodes de synthèse de nanoparticules :

Dans la synthèse de nanoparticules, qui peuvent être d'origine naturelle ou synthétique et présenter des propriétés uniques à l'échelle nanométrique, deux approches de base incluant différentes méthodes de préparation et connues depuis les débuts sont utilisées. La première approche est la méthode " de haut en bas " qui consiste à décomposer des matériaux solides en petits morceaux en appliquant une force externe. Dans cette approche, de nombreuses techniques physiques, chimiques et thermiques sont utilisées pour fournir l'énergie nécessaire à la formation de nanoparticules. La seconde approche, dite " de bas en haut ", consiste à rassembler et à combiner des atomes ou des molécules de gaz ou de liquides. Ces deux approches présentent des avantages et des inconvénients l'un par rapport à l'autre. Dans l'approche haut en bas, qui est plus coûteuse à mettre en œuvre, il est impossible d'obtenir des surfaces et des bords parfaits en raison des cavités et de la rugosité pouvant survenir dans les nanoparticules ; alors que d'excellents résultats de synthèse de nanoparticules peuvent être obtenus par une approche ascendante. De plus, avec l'approche ascendante, il ne se forme plus aucun déchet à éliminer et les nanoparticules de plus petite taille peuvent être obtenues grâce

au meilleur contrôle des tailles des nanoparticules. La classification des méthodes de synthèse des nanoparticules est donnée à la (Iravani, 2011) (Makarov et al., 2014)

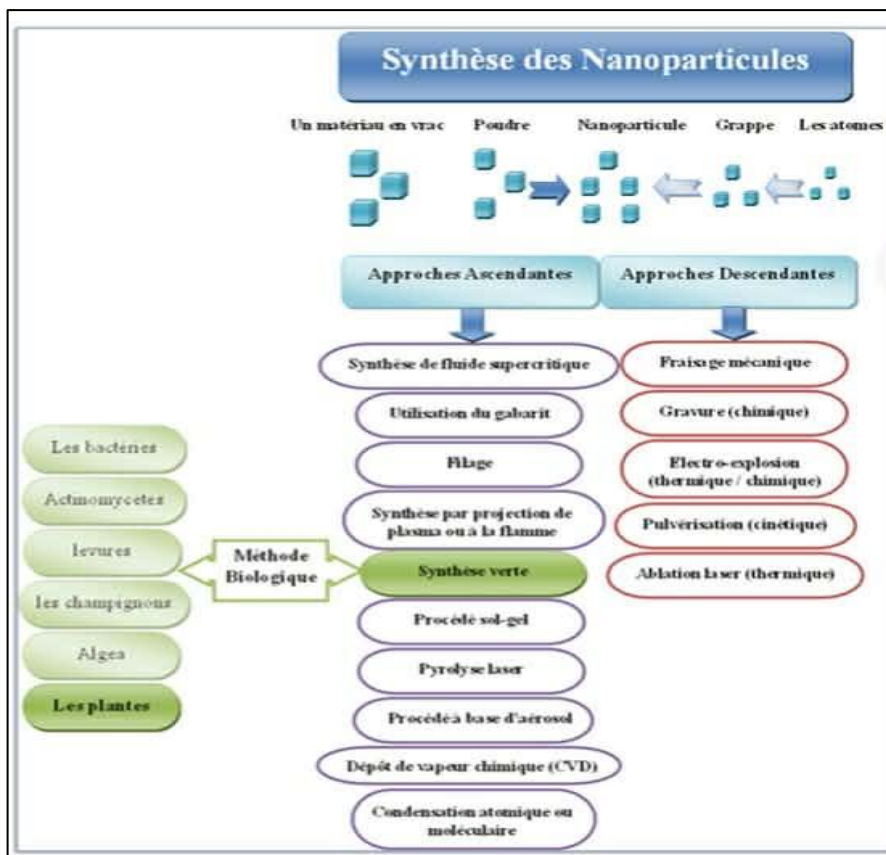


Figure 05 : Méthodes de synthèse de nanoparticule (Iravani, 2011) (Makarov et al., 2014).

2. Nanoparticule d'oxydes de Fer :

2.1 Définition et caractéristiques générales :

D'un point de vue chimique, un oxyde résulte de l'association de l'oxygène avec un élément présentant une électronégativité inférieure. Selon la nature de l'élément lié et son état d'oxydation, ces composés peuvent adopter une forme moléculaire (à l'instar du CO_2) ou une structure cristalline. Cette dernière varie entre une forte ionicité (cas de Na_2O) et des propriétés semi-conductrices comme celles observées chez le FeO . (Sara.,2009).

Les oxydes de fer sont globalement définis comme des solides ioniques où coexistent des anions d'oxygène (état d'oxydation -II) et des cations métalliques. Le fer s'y présente principalement sous deux états d'oxydation : +II (ferreux) et +III (ferrique). (Nadour., 2012 ; Babadi., 2013).

On distingue ainsi trois classes majeures d'oxydes selon leur degré d'oxydation :

L'oxyde ferreux.

L'oxyde magnétique.

L'oxyde ferrique.

Dans le secteur de la santé, ces composés jouent un rôle prépondérant, notamment comme agents de contraste performants en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). **(Babadi, 2013)**

2.2 Les propriétés structurales des nanoparticules d'oxyde de fer :

2.2.1 L'hématite (α -Fe₂O₃) :

Considérée comme la forme la plus stable sur le plan thermodynamique, l'hématite se distingue par une structure à symétrie rhomboédrique **(Baroudi, 2014)** ; Sur le plan magnétique, elle manifeste un comportement ferromagnétique de faible intensité (Hamidouche, 2012). Sa synthèse repose principalement sur l'utilisation d'ions ferriques (Fe³⁺), bien qu'elle puisse également résulter de la croissance granulaire d'autres oxydes tels que la magnétite (Fe₃O₄). **(Arturo et al., 2009)**.

2.2.2 La magnétite (Fe₃O₄) :

La magnétite se présente comme un minéral noir cristallin caractérisé par la présence simultanée de fer divalent (FeII) et trivalent (FeIII) **(El mendili, 2011)**. Sa configuration structurale s'appuie sur un arrangement cubique à faces centrées des anions oxygène (O₂). Grâce à sa haute biocompatibilité et ses excellentes propriétés magnétiques à haute fréquence, cette forme est jugée très prometteuse pour diverses applications. En outre, elle peut servir de précurseur dans la formation de la maghémite ou de l'hématite. **(Arturo et al., 2009)**.

2.2.3 La maghémite (γ -Fe₂O₃):

De couleur brun-rouge, la maghémite est un oxyde ferromagnétique cristallisant dans un système cubique. Contrairement à la magnétite, la totalité du fer s'y trouve à l'état trivalent (FeIII). Elle est généralement obtenue par l'oxydation ménagée de la magnétite. Ses caractéristiques physiques demeurent étroitement liées à plusieurs paramètres tels que la dimension des particules, le désordre structural interne ainsi que l'état de surface (Amedea).

Actuellement, son exploitation connaît une expansion remarquable dans les secteurs technologiques et biomédicaux.

2.3 Les propriétés magnétiques :

Le magnétisme est un terme pour décrire comment les matériaux répondent à un champ magnétique. Lorsqu'un champ magnétique externe (H) est appliqué sur un matériau, les dipôles nucléaires ont tendance à s'aligner sur le terrain, ce qui provoque un moment magnétique. Le moment magnétique est la quantification des propriétés magnétiques, ces derniers sont déterminés par la disposition des électrons dans les orbitales d'une molécule donc le moment magnétique dépend de rotation globale d'électrons. La quantité de moment magnétique par unité de volume est définie comme l'aimantation (M). Les électrons circulant autour les noyaux atomiques qui est chargés positivement et tournant sur leurs axes sont tous des dipôles magnétiques, également appelés magnétons. Il existe différentes formes de magnétisme qui se pose en fonction de la façon dont les dipôles interagissent les uns avec les autres. Les formes courantes de magnétisme sont paramagnétisme, ferromagnétisme, antiferromagnétisme et ferrimagnétisme. (Matthias,2016)

2.4 Synthèse des différents oxydes de fer :

La diversité des méthodes de synthèse et les mécanismes de transformation mutuelle des oxyhydroxydes de fer sont synthétisés dans la Figure 06. Ce schéma met particulièrement en évidence le rôle central de la goethite et de l'hématite en tant que phases pivots dans ces processus. Les cadres en pointillés indiquent les espèces en solution aqueuse et les nombreux font référence aux principales voies de synthèse de la goethite et de l'hématite décrites dans le textettransition chimique. (Lodhia, Mandaran, Ferris, Cowell,2009).

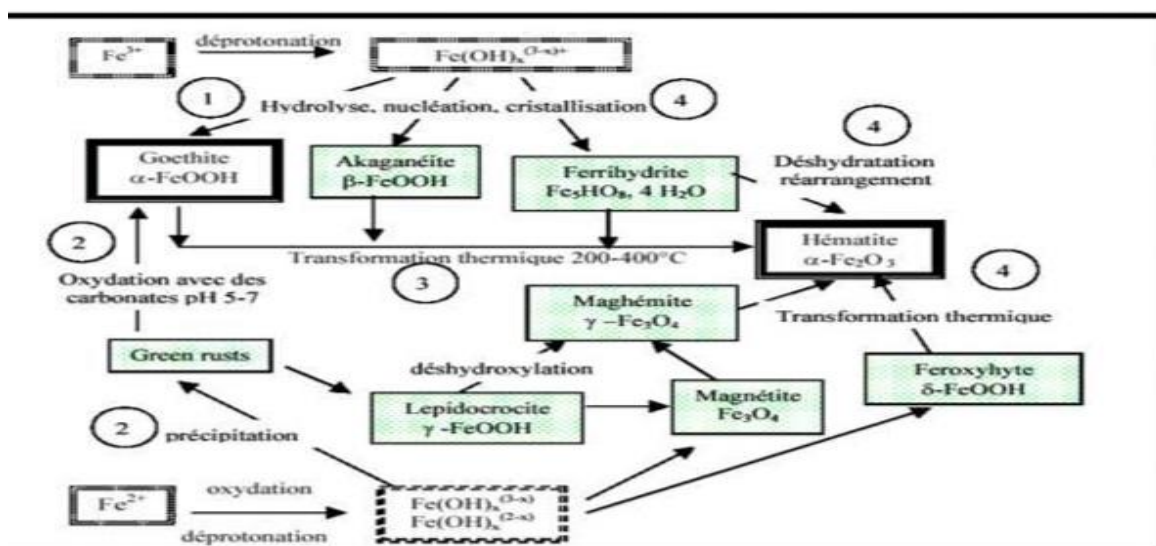


Figure 06 : Schéma des différentes méthodes de synthèse et de transformation des oxydes (Lodhia, Mandaran, Ferris, Cowell, 2009).

2.5 Applications biomédicales des nanoparticules d'oxyde de fer :

Les nanoparticules d'oxyde de fer, plus particulièrement la magnétite et la maghémite, occupent une place prépondérante dans le secteur biomédical. Leur succès repose essentiellement sur leur excellente biocompatibilité et leur toxicité réduite vis-à-vis de l'organisme humain (Haw et al., 2010). Parmi leurs utilisations majeures, on peut citer :

Vecteurs de principes actifs : Grâce à leur caractère superparamagnétique, ces nanoparticules font office de transporteurs ciblés. Sous l'influence d'un champ magnétique externe, elles permettent d'acheminer les médicaments précisément vers le site pathologique, assurant ainsi une libération locale contrôlée. (Haw et al., 2010).

Hyperthermie magnétique : Cette approche thérapeutique vise l'élimination des cellules tumorales par élévation thermique. En soumettant les nanoparticules localisées dans la tumeur à un champ magnétique, on génère un échauffement local (entre 42,5 et 44 °C) capable de détruire les tissus malins sans affecter les tissus sains environnants.

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) : Les SPIONs sont largement exploités comme agents de contraste performants. Ils améliorent significativement la résolution des images, permettant une observation fine et détaillée des tissus mous (Wang et al., ...)

2.6 Toxicité de nanoparticule d'oxyde de fer :

2.6.1 Métabolisme et homéostasie protéique du fer :

La gestion du fer au sein de l'organisme est assurée par un réseau complexe de protéines spécialisées, classées selon leurs fonctions de transport, de stockage et de régulation (**Sophie et al., 2008**).

2.6.1.1. Transport et Acquisition Cellulaire :

Le transport plasmatique est majoritairement assuré par la transferrine (Tf). L'entrée du fer dans la cellule s'effectue principalement via la liaison du complexe Fer-Tf à son récepteur spécifique TfR1 (**Sanghoon, 2015**). Au niveau membranaire, d'autres acteurs comme le transporteur de métaux divalents (DMT1) et la ferroportine (FPN1) collaborent avec des ferroxidases (telles que la céruloplasmine) pour assurer le flux ferrique à travers les membranes cellulaires (**Brigitta, 2012**).

2.6.1.2. Régulation et Contrôle :

L'équilibre systémique du fer est finement modulé par des déterminants clés, notamment l'hépcidine, la matriptase (Mt2) et les protéines régulatrices du fer (IRP) (**Mohapatra, 2010**). Ces molécules interviennent à différents niveaux pour maintenir l'homéostasie et éviter toute toxicité liée au fer libre.

2.6.1.3. Stockage et Utilisation :

Une fois internalisé, le fer est soit dirigé vers des "produits finaux" fonctionnels comme l'hémoglobine (Hb), la myoglobine (Mb) ou diverses enzymes (**Mohamed Ahmed Ali, 2014**), soit stocké de manière sécurisée. La ferritine joue ici un rôle crucial de détoxification en séquestrant jusqu'à 4500 atomes de Fe (III) dans sa cavité protéique (**Sanghoon, 2015**). Enfin, il existe un pool de transit cytosolique où le fer est lié à des ligands de bas poids moléculaire (ATP, Citrate) pour faciliter son acheminement vers les organites comme les mitochondries (**Gribouski, 2009**).

2.6.2 Régulation de l'homéostasie du fer :

L'équilibre du fer dans l'organisme repose sur l'interaction coordonnée de trois types cellulaires majeurs. Selon Brigitta (2012), ce processus implique :

Les entérocytes duodénaux : responsables de l'absorption du fer d'origine alimentaire.

Les macrophages : qui assurent le recyclage du fer à partir des érythrocytes usés.

Les hépatocytes : servant de site de stockage principal, capables de mobiliser le fer selon les besoins physiologiques.

Sur le plan fonctionnel, la plus grande partie du fer corporel est incorporée dans l'hémoglobine. La récupération de ce fer est assurée par l'action de l'hème oxygénase1 (HO-1), ainsi que ses homologues (HO-2 et HO-3), permettant ainsi de réutiliser le Fe (II) libéré lors de la dégradation de l'hème **(Sanghoon, 2015)**.

En dehors du compartiment sanguin, le foie et les tissus musculaires représentent les principales réserves de l'organisme. Le fer restant est distribué entre la myoglobine, les cytochromes et diverses enzymes essentielles au métabolisme cellulaire. **(Sanghoon, 2015)**

Chapitre II : diabète

1. Définition de diabète :

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'une insuffisance de la sécrétion d'insuline par le pancréas ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit ou de ces deux anomalies. **(Drouin, P et al.1999)**. L'insuline est la principale hormone régulatrice du métabolisme des glucides et des lipides et des protéines. **(Portha, B. 2022)**

Défini par l'OMS Une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L (7 mmol/L), à deux reprises, est suffisante pour affirmer le diagnostic **Figure01**. Il n'y a pas lieu de demander une hyperglycémie provoquée orale. **(Grimaldi, A.2009)** D'autres critères peuvent également être utilisés, notamment une glycémie aléatoire égale ou supérieure à 2,00 g/L (11,1 mmol/L) en présence de symptômes cliniques classiques, ou un taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) égal ou supérieur à 6,5 % **(American Diabetes Association, 2024)**. L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux. **(OMS.2023)**.



Figure 07 : Taux de glycémie (FID,2019)

2. Classification de diabète :

Le diabète sont classés en deux types principaux : diabète de type 1, diabète de type 2. De plus, les femmes qui développent un diabète pendant leur grossesse sont classées comme ayant un diabète gestationnel. Il existe une variété de formes rares et diverses de diabète, causées par des infections, des médicaments, des endocrinopathies, une destruction

pancréatique ou des anomalies génétiques. Ces formes non apparentées sont regroupées sous la catégorie Autres types spécifiques et classées séparément **Figure1. (Solis-Herrera, 2018).**

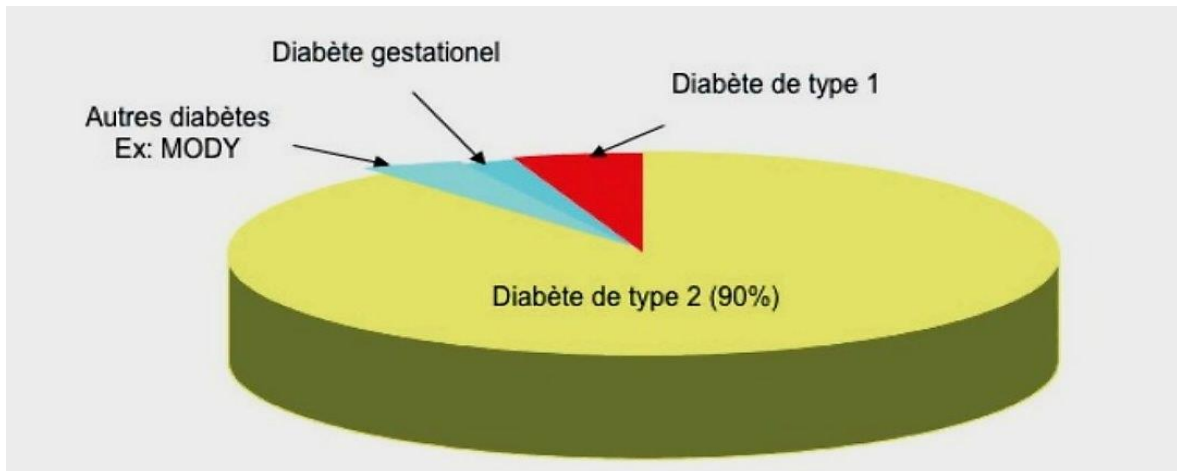


Figure 08 : Classification de diabète (khelifa, N.2025)

2.1 Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 correspond à une destruction des cellules bêta pancréatiques aboutissant à terme, à une carence de production d'insuline. **(Marchand et al.2016).** L'hyperglycémie est la conséquence d'une insulino-pénie absolue résultante de la destruction progressive et drastique (> 80 %) des cellules sécrétrices d'insuline induite par une réaction auto-immune. **(Tenenbaum et al.,2018).** Ce type de diabète apparaît le plus souvent durant l'enfance (diabète juvénile) ou chez personnes de moins de 35 ans. (LADA). Il concerne environ 10 % des diabétiques. Les effets délétères du système immunitaire contre les cellules β résulteraient probablement d'un ensemble de facteurs génétiques et environnementaux. **(BarakaVidot, J.2014).**

2.1.1 Physiopathologie du Diabète Type 1 (DT1)

Un processus auto-immun chronique, initialement asymptomatique, résultant d'une interaction complexe entre une prédisposition génétique (particulièrement les gènes HLA) et des facteurs environnementaux (tels que les infections virales et les altérations du microbiote intestinal). **(Conceicao, F.S.2010)**

2.1.1.1. Facteurs Immunologique et Chronologie :

Ces facteurs déclenchent une perte de la tolérance immunitaire, marquée par l'apparition d'auto-anticorps spécifiques (notamment anti-GAD65, anti-IA2 et ICA) dirigés contre les cellules β pancréatiques. Cette agression immunitaire évolue vers une insulite, stade où les lymphocytes T (CD4+ et CD8+) détruisent les cellules sécrétrices d'insuline par des

mécanismes de cytotoxicité et d'apoptose. Une fois la masse cellulaire critique épuisée (perte > 80 %), l'organisme devient incapable de maintenir une insulïnémie basale, conduisant ainsi à l'apparition des signes cliniques et d'une hyperglycémie persistante. **(Djermoun, M.2013)**

2.1.1.2. Facteurs Environnementaux et Microbiote :

Les facteurs environnementaux jouent un rôle déterminant dans le déclenchement de la pathologie. Les infections virales, notamment par les entérovirus comme le Coxsackie B4, sont fortement suspectées d'induire le DT1. Des méta-analyses confirment l'association étroite entre la présence de ces virus dans le sérum et le développement d'autoanticorps.

Des études sur des modèles murins suggèrent qu'une augmentation de la perméabilité intestinale et une altération du microbiote contribuent à la pathogenèse. Une réduction significative de la bactérie *Akkermansia muciniphila* a été observée chez les patients et les souris diabétiques, tandis que sa réintroduction semble retarder l'apparition de la maladie. Des facteurs nutritionnels tels qu'un sevrage précoce, une alimentation riche en gluten ou contaminée par des polluants sont également associés au risque de DT1. **(Tenenbaum, M.2018)**

2.1.1.3. Facteurs Génétiques :

Le terrain génétique influence considérablement la susceptibilité au DT1. Les polymorphismes nucléotidiques (SNP) les plus significatifs sont localisés dans les gènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH). Les individus porteurs des haplotypes HLA-DR3 et HLA-DR4 présentent un risque supérieur à 20 % de développer la maladie.

Au-delà du système HLA, plus de 50 SNP ont été identifiés. Certains gènes, comme PTPN22 et STAT3 modulent la réponse immunitaire, tandis que d'autres (HIP14, GLIS3 et TNFAIP3) interviennent dans le contrôle de la survie des cellules β pancréatiques. Ces derniers exercent un rôle anti-apoptotique via la signalisation NF- κ B. De plus, les gènes GLIS3 et HIP14 sont impliqués dans l'organogenèse du pancréas et la régulation de la sécrétion d'insuline. **(Marchand, L.2016)**

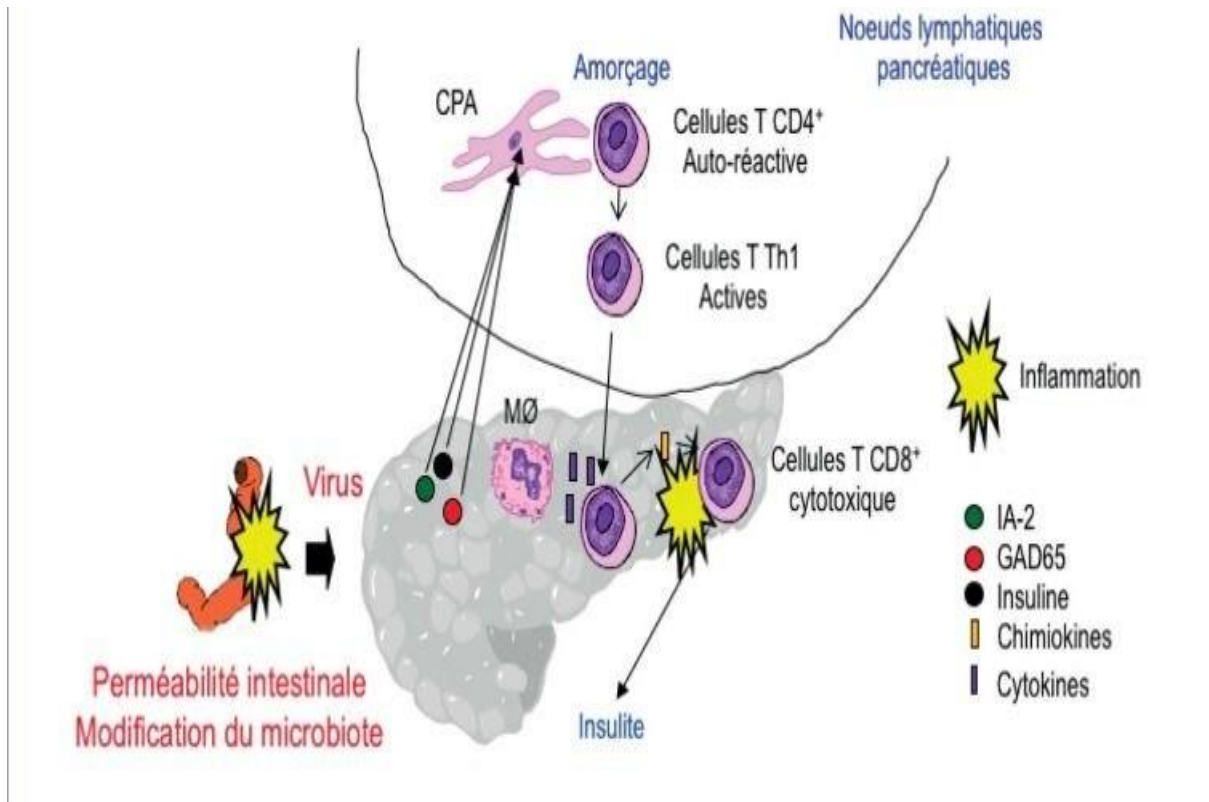


Figure 09 : Physiopathologie du Diabète Type 1 (DT1). (Tenenbaum, M.2018)

2.2 Diabète de type 2(DT2) :

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique chronique et hétérogène, représentant environ 85 % à 90 % des cas de diabète. Il se caractérise par une hyperglycémie chronique résultant de l'interaction entre des prédispositions génétiques et des facteurs acquis tels que l'obésité, la sédentarité et une alimentation déséquilibrée. (Spinass, G.2001)

Sur le plan physiopathologique, les éléments clés comprennent une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles, tissu adipeux) à l'action de l'insuline, associée à une insuffisance de sécrétion par les cellules β du pancréas. De plus, des mécanismes plus récents sont impliqués, notamment une sécrétion inappropriée de glucagon et une diminution de l'effet des incrétines, hormones intestinales essentielles à la régulation glycémique post-prandiale. Cette détérioration de l'homéostasie du glucose s'accompagne d'une altération du métabolisme des graisses et des acides aminés, conduisant à terme à des complications graves touchant les systèmes vasculaires et nerveux. (Brailard, O.2017).

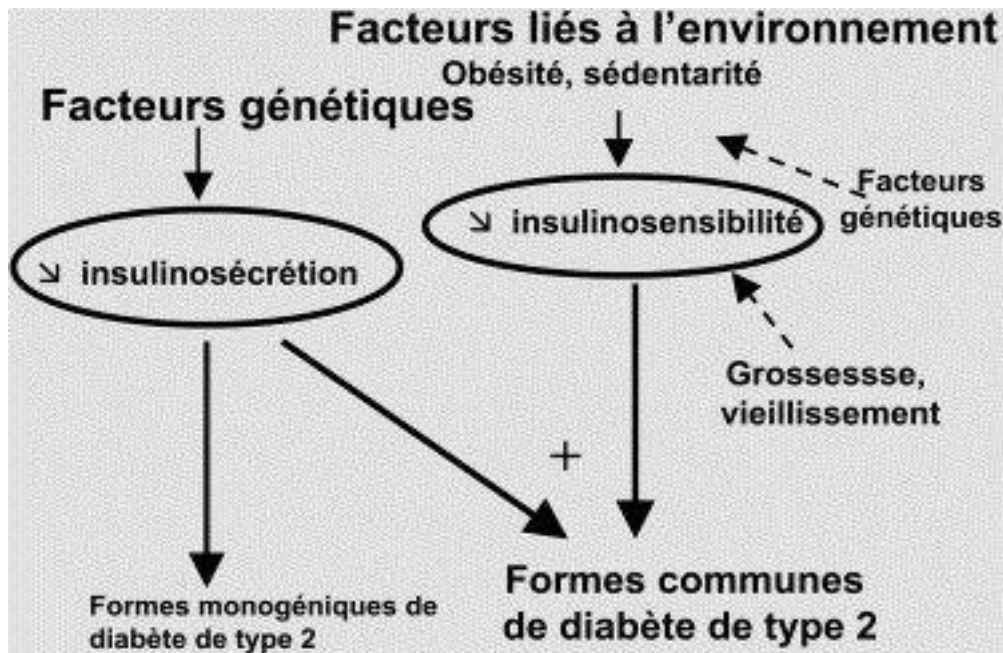


Figure 10 : Physiopathologie du diabète de type2 (Guillausseau, P.J.2003)

2.2.1 Physiopathologie du diabète de type2 :

Le diabète de type 2 (DT2) ne se manifeste pas de manière aléatoire ; son apparition est étroitement liée à des facteurs déterminants tels que l'hérédité, l'obésité et le vieillissement, tout en s'inscrivant dans une dynamique évolutive. Ses mécanismes physiopathologiques fondamentaux à savoir l'insulinorésistance et l'insulinodéficience provoquent une production endogène excessive de glucose associée à un défaut de son utilisation périphérique, aboutissant ainsi à l'hyperglycémie chronique. Bien que ces processus échappent largement à l'observation clinique directe, leur mise en évidence et leur compréhension approfondie requièrent l'application de techniques de recherche avancées. (Rigalleau, V.2007)

2.2.1.1. L'insulinorésistance :

La résistance à l'insuline constitue le pilier fondamental de la physiopathologie du diabète de type 2. Il s'agit d'un phénomène complexe qui précède le diagnostic clinique de 10 à 20 ans, influencé par l'hérédité, l'obésité et le vieillissement. Cette résistance se traduit par une diminution de l'efficacité de l'insuline à inhiber la production hépatique de glucose et à stimuler son utilisation périphérique, un paramètre mesurable avec précision par la technique du clampon observe une augmentation de la néoglucogenèse hépatique, une diminution de la captation musculaire du glucose (une anomalie primaire détectable par RMN) et une lipolyse exagérée au niveau du tissu adipeux, entraînant une élévation des acides gras libres. (Portha, B. (2022)). Loin d'être spécifique au diabète, cette condition s'intègre dans le syndrome

métabolique associé aux risques cardiovasculaires, et peut également survenir lors d'états physiologiques tels que la puberté ou la grossesse. Néanmoins, elle demeure partiellement réversible grâce aux mesures hygiéno-diététiques et aux interventions pharmacologiques. **(Rigalleau, V.2007)**

Dans le diabète de type 2, l'insulinorésistance est induite par une lipotoxicité (accumulation d'acyl-CoA) et une inflammation systémique (TNF α , IL-6), qui bloquent la captation du glucose. Au niveau moléculaire, bien que les récepteurs soient présents, leur fonction est altérée en aval par la glucotoxicité et l'inactivation par phosphorylation anormale ou dégradation des protéines substrats IRS-1 et IRS-2, ce qui affaiblit considérablement la réponse cellulaire à l'insuline **(Rigalleau, V., 2007)**.

2.2.1.2. L'insulinodéficience :

L'insulinodéficience dans le diabète de type 2 résulte d'une altération multifactorielle de la fonction et de la survie des cellules β pancréatiques. L'inflammation chronique de faible grade, exacerbée par l'hyperlipidémie et la dysbiose intestinale, expose ces cellules à des cytokines pro-inflammatoires qui inhibent leur réponse sécrétoire au glucose et déclenchent, à terme, leur mort par apoptose. Parallèlement, l'activation du stress du réticulum endoplasmique réduit drastiquement la capacité de synthèse de l'insuline. Ce déclin fonctionnel est renforcé par des mécanismes épigénétiques, notamment des modifications de la méthylation de l'ADN, qui altèrent l'expression de gènes clés essentiels à la survie et à l'homéostasie des îlots pancréatiques. **(Tenenbaum, M.2018)**

2.3 Diabète gestationnel (DG) :

Le diabète gestationnel est défini par l'OMS comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse et ce, quel que soit le traitement nécessaire ou l'évolution dans le post-partum. **(Bougherara, L.2017)**. La prévalence de cette pathologie est estimée entre 2,2 % et 8,8 % des grossesses selon les populations et les critères de dépistage utilisés, avec une estimation de 4 % à 5 % en France selon les données de 2008 **(Senat, M.2016)**.

Cette complication obstétricale connaît une augmentation constante corrélée aux évolutions des habitudes alimentaires à l'augmentation de l'âge maternel moyen ainsi qu'à l'élévation de l'indice de masse corporelle. **(Bougherara, L.2017)**. Les principaux facteurs de risque identifiés incluent la surcharge pondérale, l'âge, l'origine ethnique, les antécédents

familiaux de diabète de type 2, les antécédents obstétricaux de DG ou de macrosomie, ainsi que le syndrome des ovaires polykystiques. Il est impératif de souligner qu'une hyperglycémie non contrôlée est source de complications maternelles et fœtales bien documentées, qu'elles surviennent à court ou à plus long terme. **(Senat, M.2016).**

2.4 D'autres types spécifiques de diabète :

Outre les formes prépondérantes (Type 1 et Type 2), il existe une diversité d'autres types de diabète, classés selon leur étiologie et leurs caractéristiques physiopathologiques spécifiques

- Le diabète de type 1 idiopathique : Il regroupe des formes d'insulinopénie sans étiologie auto-immune démontrée, notamment le type 1B et le type 2 cétonurique, qui se manifeste par des épisodes de cétose nécessitant une insulinothérapie transitoire ou permanente.
- Le diabète LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) : Forme de diabète auto-immun à progression lente chez l'adulte, il se distingue par une absence initiale de dépendance à l'insuline tout en présentant des marqueurs immunologiques typiques du type 1.
- Les diabètes monogéniques : Résultant de mutations sur un seul gène, cette catégorie inclut le diabète néonatal (survenant avant l'âge de 6 mois) et les formes MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), caractérisées par un défaut de sécrétion d'insuline à transmission héréditaire.
- Les diabètes secondaires aux atteintes du pancréas exocrine : Ils surviennent suite à des pathologies pancréatiques telles que les pancréatites chroniques, la mucoviscidose, l'hémochromatose ou après une pancréatectomie.
- Les diabètes secondaires aux endocrinopathies : L'hyperglycémie est induite par un excès d'hormones antagonistes de l'insuline, comme dans l'acromégalie (hormone de croissance), le syndrome de Cushing (cortisol) ou le glucagonome.
- Les diabètes iatrogènes et toxiques : Causés par l'exposition à certains médicaments ou substances chimiques qui altèrent la fonction des cellules β ou l'action de l'insuline, tels que les glucocorticoïdes ou les interférons.
- Les diabètes d'origine infectieuse : Certaines infections virales (rubéole congénitale, cytomégalovirus) peuvent entraîner une destruction directe des cellules pancréatiques.

- Les syndromes génétiques associés : Le diabète peut être une composante de divers syndromes génétiques tels que la trisomie 21, le syndrome de Turner ou le syndrome de Wolfram. **(Portha, B. 2022)**

3. Complications du diabète :

En raison de la prévalence élevée du diabète, les cliniciens sont fréquemment confrontés à de nombreuses complications associées à cette pathologie. Les complications majeures et classiques incluent un risque accru de maladies cardiovasculaires, ainsi que la progression de la néphropathie, de la rétinopathie et de la neuropathie **(Forbes, J. 2013)**.

3.1 Complications Cardiovasculaires :

Le diabète sucré augmente significativement le risque de maladies cardiovasculaires (MCV), à tel point qu'un patient diabétique présente un risque d'infarctus du myocarde équivalent à celui d'un sujet non diabétique ayant déjà un antécédent coronaire. Les MCV sont responsables de plus de 50 % de la mortalité au sein de la population diabétique, le risque d'infarctus étant multiplié par trois par rapport à la population générale.

Dans le cadre du diabète de type 1, l'évolution vers les MCV est étroitement liée à l'altération de la fonction rénale. Concernant le diabète de type 2, l'atteinte rénale demeure un facteur de risque majeur, s'ajoutant à la dyslipidémie, au déséquilibre glycémique et à l'hypertension artérielle persistante. Ces troubles incluent l'athérosclérose précoce, l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux (AVC) ainsi que la dysfonction cardiaque, principalement de type diastolique. La prise en charge thérapeutique repose sur un contrôle glycémique strict, associé à des agents hypotenseurs (ciblant le système rénine-angiotensine), des hypolipémiants (statines et fibrates) et des antiagrégants plaquettaires. **(Forbes, J. 2013)**

3.2 Rétinopathie diabétique :

La rétinopathie diabétique constitue l'une des complications microvasculaires les plus sévères du diabète, étant souvent révélée lors d'un examen ophtalmologique consécutif à une baisse de l'acuité visuelle. En l'absence de traitement, cette pathologie peut mener à une cécité irréversible, le risque augmentant proportionnellement à la durée de l'exposition à l'hyperglycémie. Sur le plan physiopathologique, l'hyperglycémie chronique induit une activation de la protéine kinase C (PKC), ce qui déclenche une cascade de dysfonctionnements incluant une perméabilité capillaire accrue, une croissance cellulaire anarchique et l'apoptose des cellules rétinienne.

Parallèlement, le stress oxydatif joue un rôle prépondérant via la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces radicaux libres provoquent une peroxydation lipidique intense et une altération des systèmes antioxydants protecteurs, menant ultimement à des dommages irréparables au niveau de l'ADN rétinien. Ces altérations biochimiques, couplées à la stimulation de facteurs de croissance apoptotiques, favorisent également d'autres complications oculaires telles que la cataracte diabétique. (Orban, J. C.2008)

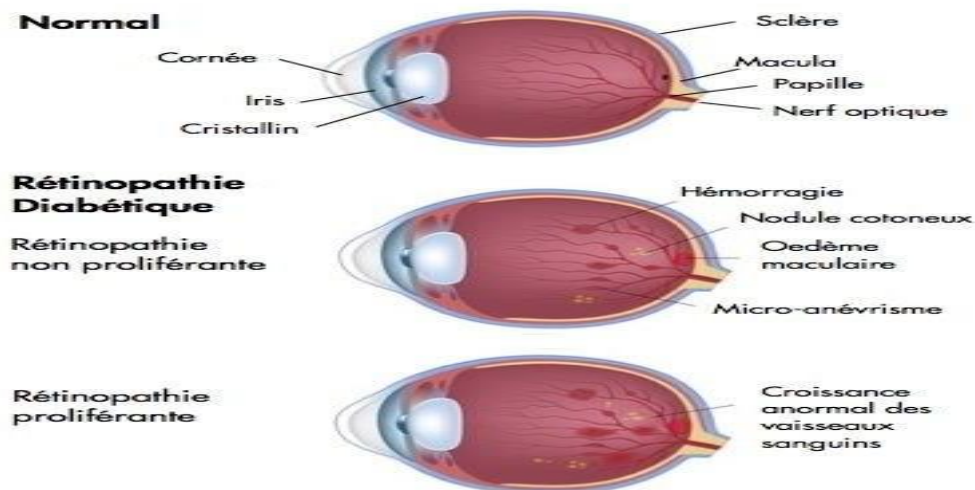


Figure 11 : La rétinopathie diabétique

3.3 Néphropathie Diabétique

La néphropathie diabétique se manifeste par des altérations morphologiques de la barrière endothéliale glomérulaire ainsi que de la membrane basale glomérulaire. Ces dégradations structurelles entraînent une augmentation de la filtration des protéines dans les urines, témoignant d'une perturbation du métabolisme protéique chez le patient diabétique. Par ailleurs, la progression du stress oxydatif induit l'expression génique de l'angiotensinogène, provoquant ainsi une altération de la fonction rénale.

Cette pathologie résulte d'une interaction complexe entre une susceptibilité génétique et des facteurs environnementaux délétères. Environ un tiers des patients diabétiques non équilibrés évoluent vers une néphropathie terminale nécessitant une dialyse rénale. Ce déclin fonctionnel est souvent exacerbé par l'interaction des cytokines avec les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou les produits de glycation avancée. L'augmentation de l'excrétion urinaire d'albumine (microalbuminurie) constitue le marqueur précoce et prédictif de l'atteinte rénale diabétique. (Orban, J. C.2008)

3.4 Neuropathie Diabétique

La neuropathie constitue l'une des complications les plus prévalentes du diabète, affectant plus de la moitié des patients à terme. Elle représente un facteur de risque majeur, avec une incidence d'amputation des membres inférieurs pouvant atteindre 15 % dans certaines populations. Ce syndrome englobe à la fois les divisions somatiques et autonomes du système nerveux périphérique. Toutefois, des données récentes soulignent également l'implication de la moelle épinière et du système nerveux central supérieur. La neuropathie joue un rôle déterminant dans la pathogenèse du retard de cicatrisation, de la dysfonction érectile et des troubles cardiovasculaires associés au diabète.

Sur le plan clinique, la progression de la maladie est traditionnellement associée à des anomalies vasculaires, telles que l'épaississement de la membrane basale capillaire et l'hyperplasie endothéliale, entraînant une hypoxie tissulaire. L'amélioration de la vitesse de conduction nerveuse par les inhibiteurs du système rénine-angiotensine suggère que l'augmentation du flux sanguin neuronal est un levier thérapeutique clé. À un stade avancé, la détérioration des fibres nerveuses se manifeste par une altération de la sensibilité vibratoire et thermique, évoluant vers une perte totale de la perception sensorielle. Bien que la douleur (hyperalgésie, paresthésie, allodynie) affecte 40 à 50 % des patients neuropathiques, elle peut également survenir chez 10 à 20 % des sujets diabétiques sans signes cliniques apparents, altérant gravement leur qualité de vie. (Forbes, J.2013)

4. Modèles de diabète expérimental : Alloxane et Streptozotocine

L'induction d'une pancréatectomie chimique repose principalement sur l'utilisation de deux agents diabétoènes, tous deux analogues structuraux du glucose : l'alloxane (ALX), un dérivé pyrimidique synthétisé initialement en 1938, et la streptozotocine (STZ), reconnue pour ses propriétés antimicrobiennes et son action alkylante.

La spécificité de ces composés réside dans leurs propriétés physico-chimiques, lesquelles déterminent leur potentiel diabétoène. En raison de leur caractère hydrophile ces molécules sont incapables de franchir la membrane plasmique par diffusion simple. Leur internalisation dans le cytosol dépend exclusivement du transporteur de glucose GLUT2, fortement exprimé au niveau de la membrane des cellules β pancréatiques. Par conséquent, cette sélectivité de transport explique pourquoi les cellules bêta dépourvues de ce transporteur

manifestent une résistance intrinsèque à l'action cytotoxique de la STZ et de l'ALX. (Wattiez, A.2012)

4.1 Diabète induite par l'alloxane ALX :

L'alloxane (2, 4, 5, 6-tétraoxypyrimidine) est un agent diabétogène largement reconnu pour son action cytotoxique sélective sur les cellules β des îlots de Langerhans. Le mécanisme de toxicité repose sur l'établissement d'un cycle d'oxydoréduction avec son produit de réduction, l'acide dialurique, générant ainsi des radicaux libres superoxydes. Cette production massive d'espèces réactives de l'oxygène, conjuguée à une élévation délétère des concentrations de calcium cytosolique, entraîne une nécrose rapide des cellules β .

l'alloxane exerce une inhibition enzymatique par analogie structurale, entrant en compétition avec les substrats ou inactivant les cofacteurs essentiels. Cette molécule est fréquemment employée en expérimentation animale pour modéliser le diabète. Son utilisation peut être isolée ou combinée à la streptozotocine, un autre agent cytotoxique, afin d'optimiser l'induction de la pathologie. (SAMIRA, B. 2014)

4.2 Diabète induite par la Streptozotocine (STZ)

La toxicité de la STZ repose principalement sur son pouvoir d'alkylation de l'ADN génomique, complété par l'effet délétère de la glycosylation protéique. Ce processus induit une sur stimulation de l'ADP ribosylation, laquelle provoque un épuisement critique des réserves intracellulaires en NAD⁺ et par conséquent, une chute drastique du stock d'ATP. Cette rupture énergétique conduit inéluctablement à la nécrose des cellules β . Il est important de noter que ce mécanisme pathologique s'étend à l'ensemble des tissus exprimant le transporteur GLUT2, incluant notamment les cellules hépatiques et rénales. (Wattiez, A.2012)

Chapitre III : Fenugrec

1. Généralité :

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*. L) est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des Fabacées. C'est l'une des plus anciennes plantes médicinales et alimentaires connues dans l'histoire. Originaires de l'Inde et de l'Afrique du Nord, aujourd'hui largement répandue à travers le monde, notamment en Chine, au Nord et à l'Est de l'Afrique, en Ukraine et en Grèce.

Le fenugrec occupe une place privilégiée dans le système de médecine. Il a été utilisé pour de nombreuses indications dans la médecine ayurvédique et chinoise traditionnelle comme tonique général et pour améliorer le métabolisme et de soutenir les fonctions digestives. Les recherches pharmacologiques et cliniques contemporaines ont démontré que le fenugrec possède des propriétés antioxydant, antidiabétique, gastro protecteur, hépato protecteur, hypocholestérolémiant et hypoglycémiant cette efficacité biologique est étroitement corrélée à un profil phytochimique complexe comprenant notamment des stéroïdes (diosgénine), des alcaloïdes (trigonelline), des flavonoïdes (lutéoline), des coumarines, des acides aminés (hydroxy-isoleucine), des mucilages (galactomannane), des constituants volatiles, une huile fixe et diverses autres substances. La consommation de fenugrec aux doses usuelles n'entraîne aucune toxicité. Cependant, des précautions d'utilisation sont recommandées chez les sujets souffrant d'allergies alimentaires. **(Oueslati, H.2015)**

1.1 Étymologie

Le fenugrec, scientifiquement connu sous le nom de *Trigonella foenum-graecum*, appartient au genre botanique *Trigonella* qui vient du latin « trigonu » signifiant trigone/triangle, se référant probablement à la forme triangulaire des fleurs. Le nom latin de l'espèce *foenum-graecum* signifie « foin grec », en référence au parfum intense de la plante séchée du fenugrec. **(Oueslati, H.2015)**

2. Position systématique :

La classification botanique d'une plante médicinale permet de déterminer précisément son identité taxonomique et ses parentés phylogénétiques. Le tableau 01 suivant résume la position systématique complète de l'espèce *Trigonella foenum-graecum* L., de son règne jusqu'à son ordre d'appartenance. **(Ghedira, K.2010).**

Tableau 01: Situation botanique de l'espèce *Trigonella foenum-graecum L* (Ghedira, K.2010).

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	Trigonella L.
Espèce	<i>Trigonella foenum-graecum L.</i>

3. Description botanique :

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L.*) est une plante herbacée annuelle ‘pouvant atteindre une hauteur de 50 cm. Sa tige est dressée et rameuse ‘présentant une pilosité variable (poilue ou glabre) selon les variétés. Les feuilles sont alternes ‘pétiolées et composées de trois folioles ovales aux marges dentées. Les fleurs ‘de type papilionacé et de forme triangulaire (caractéristique du genre *Trigonella*) ‘ sont axillaires ‘solitaires ou groupées par deux. Leur coloration varie du jaune pâle au violet clair. Le fruit est représenté par une gousse allongée et arquée ‘dont la longueur peut atteindre 20 cm. (Ghedira, K.2010).

3.1 Description morphologies des graines : la partie utilisée

le fenugrec soit une plante herbacée complète, la graine demeure l'organe le plus important en pharmacologie en raison de sa concentration élevée en principes actifs.

Les graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L.*) se distinguent par une morphologie spécifique qui facilite leur identification botanique. Elles se présentent sous une forme rhomboïdale ou quadrangulaire irrégulière, de petite taille, mesurant généralement entre 3 à 6 mm de longueur pour 2 à 3 mm de largeur. Caractérisées par une texture très dure et une coloration variant du jaune-orangé au brun-verdâtre, ces semences présentent sur leur surface

un sillon profond et oblique. Ce dernier divise la graine en deux lobes inégaux, séparant ainsi l'embryon de l'albumen. Sur le plan organoleptique, les graines dégagent une odeur aromatique intense et persistante, accompagnée d'une saveur amère prononcée (principalement attribuée à leur richesse en métabolites secondaires tels que les saponines stéroïdiques et les alcaloïdes. (Oueslati, H.2015)



Figure12 : Graines de fenugrec (Oueslati et Ghédira, 2015)

4. Composition chimique de la graine du fenugrec :

Les graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) possèdent une haute valeur nutritionnelle et une composition chimique complexe. Elles contiennent une proportion importante de protéines 30% riche en lysine, ainsi que des lipides composés principalement d'acides gras oméga-6 et oméga-3. Les glucides y sont dominés par des fibres mucilagineuses pouvant atteindre 40 %. Par ailleurs, ces graines regorgent d'une variété de composés bioactifs, notamment des alcaloïdes tels que la trigonelline, la gentianine et la choline et des salicylates, des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que des saponines. L'importance fonctionnelle et pharmacologique du fenugrec est mise en évidence par la présence de 4-hydroxyisoleucine, un composé dont les études ont démontré l'efficacité dans la réduction du taux de glycémie, ainsi que des polysaccharides tels que le galactomannane, des huiles essentielles, de l'acide nicotinique et des acides aminés libres. En outre, les graines contiennent un ensemble riche en vitamines (A, B1, C) ainsi qu'en minéraux et oligo-éléments tels que le calcium, le magnésium, le phosphore, le fer et le soufre, comme illustré dans le tableau N°02 qui résume la composition nutritionnelle des graines de fenugrec. (Benziane, M. 2020)

4.1 Acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont les principaux polyphénols alimentaires, se trouvent dans tous les fruits, légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale en polyphénols de l'alimentation. Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés naturels qui ont des activités pharmacologiques et se distinguent par la présence d'antioxydants, ainsi que par des propriétés antivirales et antibactériennes. Les acides phénoliques existent sous deux formes, à savoir les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. (Atia Insaf, B. I.2024)

Tableau 02 : Caractéristiques physiques et nutritionnelles moyenne pour 100 g de graines de fenugrec (Rahmani, M.2015)

Constituants	Valeurs nutritionnelles
• Humidité	13 à 14g
• Glucides	7à8g
• Sucres totaux	2,5 à 3g
• Protéines	28 à 32 g
• Lipides	7à8g
• Lipides saturés	1,2 à 1,6g
• Fibre	23,5 à 25,5 g
• Cholestérol	3,8 à 4,3 mg
• Calcium	140 à 160 mg
• Sodium	28 à 32 mg
• Vitamine A	22 à 26 µg
• Vitamine C	0 µg
• Cendre	2,9 à 3,3g
• Fer	9 à 12 mg
• Valeur énergétique	200 à 240 Kcal 910 à 950 KJ

4.2 Les flavonoïdes

Parmi les nombreux flavonoïdes identifiés dans le fenugrec, la quercétine, la lutéoline, la vitexine et le kaempférol apparaissent comme étant les plus répandus. Sur le plan structural, la quercétine et le kaempférol appartiennent à la classe des flavanols, tandis que la lutéoline est une flavone et la vitexine une flavone glycosylée. Ces composés jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense de la plante contre les agressions microbiennes. D'un point de vue chimique, les flavonoïdes possèdent un squelette de base constitué de trois anneaux : deux cycles aromatiques (A et B) liés par un hétérocycle oxygéné à trois carbones (C).

Ces composés sont classés comme biologiquement actifs en raison de leurs effets pharmacologiques chez l'homme. À ce titre, leur intégration régulière dans l'alimentation quotidienne est préconisée pour la gestion de l'hypercholestérolémie, des pathologies malignes et du diabète sucré, compte tenu de leurs propriétés hypoglycémiantes, antilipidémiantes, anticancérigènes et cholagogues. **(Kouachi Riane,2024)**

4.3 Les tanins :

Les tanins sont des polyphénols solubles dans l'eau de masse moléculaire oscillant entre 500 et 3000. Ce sont des molécules hautement hydroxylées qui ont la capacité de former des complexes insolubles lorsqu'elles sont associées à des glucides, des protéines et des enzymes digestives, ce qui conduit à une moindre digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et à de nombreux minéraux. **(Atia Insaf, B. I.2024)**

4.4 Les Alcaloïdes

L'endosperme du fenugrec contient environ 35 % d'alcaloïdes, incluant principalement la neurine, la triméthylamine, la trigonelline, la choline, la carpaine, la gentianine et la bétaine, avec une prédominance marquée de la trigonelline. Sur le plan chimique, la trigonelline est définie comme l'acide N-méthylnicotinique. Il s'agit d'un zwitterion résultant de la méthylation de l'atome d'azote de la niacine. Ce composé, de formule chimique $C_7H_7NO_2$, a été rapporté pour ses effets hypoglycémiants modérés et son activité anti-pellagre

La trigonelle (TRL) possède la capacité d'activer les récepteurs œstrogéniques, ce qui permet de la classer parmi les phytoestrogènes Concernant sa répartition au sein de la plante, bien que la synthèse de la trigonelline soit plus intense dans le péricarpe, sa concentration demeure significativement plus élevée dans les graines. Ce phénomène suggère une translocation d'une partie de la trigonelline synthétisée dans le péricarpe vers les graines, où

elle est mobilisée ultérieurement au cours de la germination. Il a été démontré que la TRL contribue à la réduction du taux de cholestérol sanguin, favorise la régénération nerveuse et exerce des propriétés anticancéreuses et sédatives. Néanmoins, ses mécanismes d'action spécifiques sur la voie AMPK et sur l'autophagie au sein des cellules mésangiales glomérulaires en situation d'hyperglycémie restent encore à élucider. **(Kouachi Riane,2024)**

4.5 Les Composés stéroïdiens et saponines

Les phytoconstituants présents dans le fenugrec, les saponines constituent la fraction la plus abondante, représentant 4 à 8 % de la composition des graines. La diosgénine est la sapogénine principale, largement exploitée par les industries pharmaceutiques et nutraceutiques. Sa biosynthèse s'effectue principalement à partir du cholestérol, un processus commun à la majorité des végétaux. Après hydrolyse acide, les sapogénines libérées sont essentiellement la diosgénine et la yamogénine. Ces composés correspondent aux aglycones des saponines dérivées de stéroïdes végétaux, possédant une structure de base à 6 carbones, dotée de 2 à 3 chaînes latérales substituées par des groupements méthyle ou hydroxyle. En tant que glycosides amphiphiles, les saponines intègrent à la fois des molécules hydrophiles (sucres) et des triterpènes lipophiles, leur conférant des propriétés tensioactives moussantes. La diosgénine, composé stéroïdien en C27, sert actuellement de matière première à l'industrie pharmaceutique pour la fabrication de contraceptifs oraux et d'hormones sexuelles.

Sur le plan thérapeutique, la diosgénine s'est avérée bénéfique dans plusieurs conditions pathologiques, notamment le diabète, l'hyperlipidémie, le cancer, les maladies cardiovasculaires, ainsi que dans la lutte contre le stress oxydatif et l'inflammation. Structuellement, elle consiste en une fraction osidique hydrophile liée à une aglycone stéroïdienne hydrophobe. Étant un précurseur de l'œstrogène, la diosgénine est impliquée dans

la production d'hormones humaines et est utilisée comme médicament stéroïdien, notamment dans la gestion des troubles liés à la ménopause. (Kouachi Riane,2024)

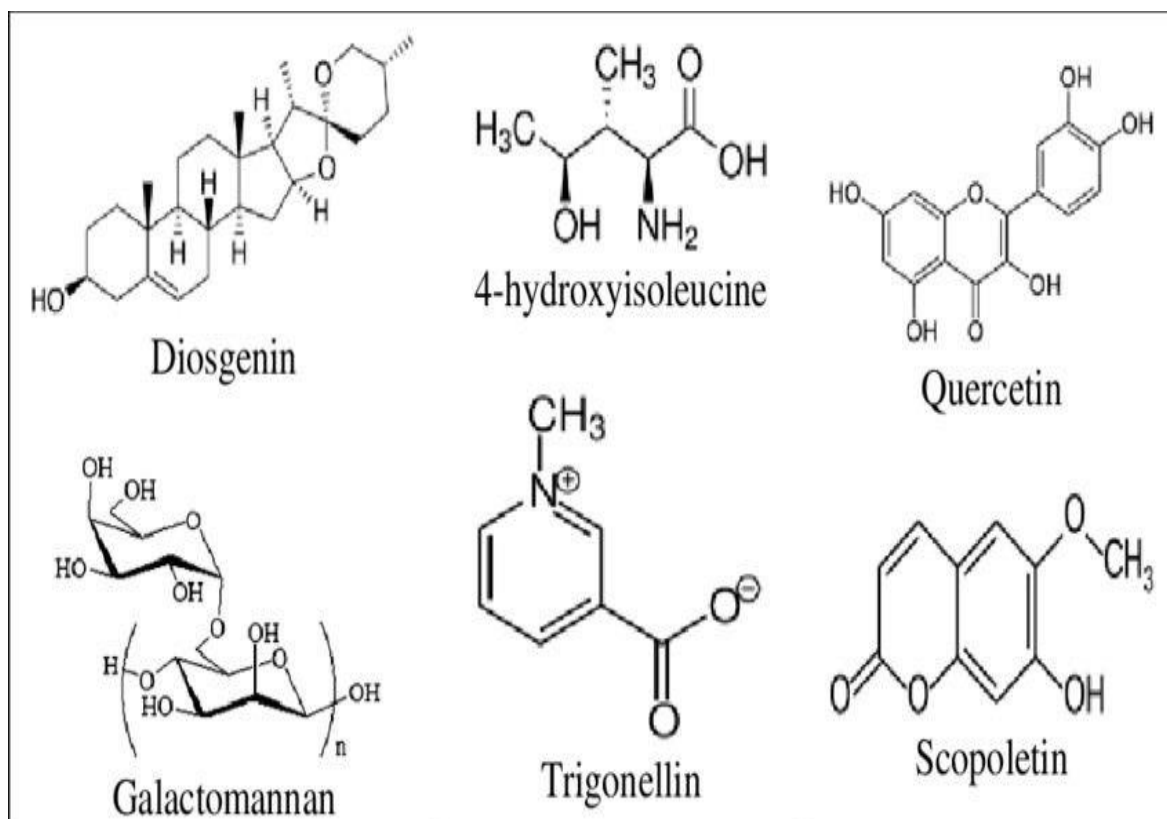


Figure13 : Structures chimiques des principaux métabolites secondaires de *Trigonella foenum-graecum* L (Atia Insaf, B. I.2024)

5. Activités biologiques :

5.1 Activités hypoglycémiantes

L'activité hypoglycémiante du fenugrec est principalement attribuée à la présence combinée de fibres solubles, de saponines et d'alcaloïdes au sein de la graine :

Fibres solubles : Ces composés jouent un rôle déterminant en ralentissant l'absorption intestinale du glucose, ce qui permet d'atténuer significativement les pics de glycémie postprandiaux.

Saponines et alcaloïdes : Ces molécules stimulent la sécrétion insulinaire et améliorent la sensibilité tissulaire à l'insuline, contribuant ainsi à la réduction des taux de glucose circulant.

Action métabolique : Par ailleurs, le fenugrec exerce un effet régulateur sur la glycémie en inhibant certaines enzymes impliquées dans la production hépatique de glucose. (**Benziane, M. N. I. 2020**)

5.2 Activités antioxydantes

La richesse du fenugrec en composés phénoliques et en flavonoïdes lui confère une capacité antioxydante significative. Cette activité est essentielle pour atténuer le stress oxydatif, contribuant ainsi à prévenir ou à ralentir la progression de diverses pathologies. De plus, ces propriétés antioxydantes sont exploitées pour retarder l'oxydation des lipides au sein de différentes matrices alimentaires

5.3 Activités anti-inflammatoires et hépatoprotectrices :

Des études in vitro ont démontré les capacités anti-inflammatoires et hépatoprotectrices du fenugrec. Les graines de *Trigonella foenum-graecum* L. agissent comme des agents protecteurs capables de prévenir les anomalies hépatiques induites. Par ailleurs, l'usage traditionnel des graines est attesté pour soulager les processus inflammatoires, ainsi que pour apaiser les douleurs rhumatismales et musculaires. (**Sabrine, C.2024**)

5.4 Activités anticancéreuses

Les propriétés anticancéreuses du fenugrec sont largement documentées et attribuées à la présence de divers composés bioactifs, notamment les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines et les stérols. Ces métabolites secondaires agissent en inhibant la prolifération des cellules tumorales, en induisant l'apoptose et en entravant l'angiogenèse, processus essentiel à la vascularisation des tumeurs.

Dans cette perspective, ont démontré que les extraits alcoolisés totaux de *Trigonella foenum-graecum* manifestent une activité cytotoxique significative in vitro vis-à-vis de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses humaines.

ont mis en évidence que l'extrait éthanolique de fenugrec réduit la viabilité des cellules MCF-7 (cellules de cancer du sein exprimant les récepteurs aux œstrogènes). Cet effet s'accompagne de modifications apoptotiques précoces, caractérisées par l'inversion de la phosphatidylsérine et une diminution du potentiel de membrane mitochondriale. De plus, l'analyse du cycle cellulaire a révélé l'émergence d'une population apoptotique sous-G1 et un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M, confirmant ainsi que l'induction de l'apoptose constitue

l'un des mécanismes fondamentaux de l'action anticancéreuse des extraits de fenugrec.
(Benziane, M. N. I. 2020)

Deuxième Partie :

Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthode

Travail est d'évaluer l'effet thérapeutique et protecteur de l'extrait de *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec) et des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) à faibles doses, administrés seuls ou en combinaison synergique, contre les perturbations métaboliques et le stress oxydatif induits par l'alloxane chez les rats.

La partie expérimentale présente de manière rigoureuse le protocole méthodologique et le matériel biologique adoptés dans notre étude. Elle décrit l'ensemble des étapes opératoires ainsi que les techniques biochimiques mises en œuvre pour évaluer l'efficacité thérapeutique du fenugrec et des nanoparticules d'oxyde de fer, administrés seuls ou en combinaison, sur la régulation métabolique et l'état oxydatif de l'organisme.

6. Matériels :

6.1 Matériel biologique :

utilisés
étude
vivo

Wistar
nombre
poids



Les
animaux
dans notre
réalisées in
sont des rattes
femelles
Albinos au
de 25 rattes, le
varie de 146 à

197g.elles proviennent de l'institut Pasteur d'Alger, et élevées à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El-oued.



Figure14 : la pesée des rattes.

6.2 Matériel végétal :

Les graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) utilisées dans ce travail ont été achetées au marché local. Elles ont été nettoyées, puis pulvérisées à l'aide d'un mixeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette poudre est conservée dans des flacons hermétiques, à l'obscurité et à température ambiante jusqu'au début de l'expérimentation

6.3 Matériel chimique :

Nanoparticules d'oxyde de fer (poudre), Alloxane (poudre), Chlorure de sodium (NaCl), Tris, H₂SO₄, EDTA, Chlorure d'hydrogène (HCl), acide salicylique (SA), acide trichloracétique (TCA), acide thiobarbiturique (TBA), Butylhydroxytoluène (BHT), Peroxide d'hydrogène

Figure15 : les graines et la poudre fine de fenugrec

(H₂O₂), Tampon phosphate (KH₂PO₄), acide salicylique, 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), GSH, 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB). Kit de réactif de l'urée, Kit de réactif de créatinine, Kit de réactif de Fer sérique, Kit de réactif de l'aspartate aminotransférase, Kit de réactif de l'alanine aminotransférase.

6.4 Matériels de laboratoire :

Évaporateur rotatif de type BüchiRotavapor R-200. Centrifugeuse horizontale de type SIGMA. Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240. Bain marie de type MEMMERT. Balance électrique de type KERN EMB 2200-O. Balance analytique de type KERN ABJ/ABS. Agitateurs magnétiques à plaque chauffante. Analyseurs d'hématologie de type Medonic. Micropipette. Hawn. Verreries (bucher, erlenmeyer, éprouvette, tubes à essai, Pipette graduée).

3. Méthodes :

3.1 Méthodes d'élevage et traitement :

3.1.1 Conditions d'élevage :

Les rattes ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, aux conditions de l'animalerie à une température ambiante (T° 25 de chambre) avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité (une photopériode de 12 h/12 h). Étaient mis dans des cages plastiques, celles-ci sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ces animaux ont un accès libre de nourriture par un régime standard et d'eau était remplie dans des biberons.

3.1.2 Traitement et Répartition des rattes :

Les rattes sont réparties en cinq (05) groupes égaux gardés dans les mêmes conditions à raison de 5 rattes par groupe, Après la confirmation de l'état diabétique, les animaux des groupes traités ont été soumis à un protocole thérapeutique quotidien. Le traitement a été administré chaque matin par gavage oral (figure 16) pendant une période de 21 jours, comme détaillé dans le tableau 03 suivant :

Tableau 03 : Traitement et Répartition des rattes

Groupe	Traitement
Groupe T	Des rats sains ne recevant aucun traitement, servant de référence pour les paramètres physiologiques normaux.
Groupe (DT)	Des rats rendus diabétiques par injection d'Alloxane, ne recevant aucun traitement thérapeutique afin d'observer l'évolution de la maladie.
Groupe (DFU)	Des rats recevant chaque jour une dose de 400 mg / kg d'extrait de Fenugrec (préparé à une concentration de 100 mg / ml). Chaque rat a reçu un volume de 0.8 ml par jour.
Groupe (DFE)	Des rats recevant chaque jour une dose de 10 mg / kg de nanoparticules d'oxyde de fer. La solution a été préparée à une concentration de 2.5 mg / ml, et le volume administré a été ajusté selon le poids corporel (4 ml / kg).
Groupe (DM)	Ce groupe a reçu une dose combinée de 10 mg / kg de nanoparticules d'oxyde de fer et 400 mg / kg d'extrait de Fenugrec. Le mélange a été administré par gavage oral pour évaluer l'effet synergique des deux agents.

Durant la période expérimentale, deux paramètres clés ont été suivis rigoureusement:

Évolution du poids corporel : Les rats ont été pesés tous les trois (03) jours afin d'ajuster les doses du traitement et de suivre l'état général des animaux.

Mesure de la glycémie : Le taux de glucose sanguin a été mesuré une fois par semaine. Pour garantir la précision des résultats, les mesures ont été effectuées après un jeûne de 6 heures, et précisément 3 heures après l'administration du traitement, en utilisant un glucomètre digital à partir d'une goutte de sang de la queue.



Figure 16 : le traitement des rattes

3.1.3 Induction du diabète :

Après une période d'adaptation de 15 jours, les rats ont été pesés et leur glycémie initiale a été mesurée. Le diabète a été induit par une injection intra-péritonéale d'Alloxane (150 mg/kg), administrée après un jeûne hydrique de 16 heures. Deux heures après l'injection, une solution de glucose a été fournie aux rattes afin de prévenir les chocs hypoglycémiques sévères, puis l'accès libre à l'eau et à la nourriture a été rétabli. Après 72 heures, le taux de glucose sanguin a été mesuré à l'aide d'un glucomètre. Seuls les rats présentant une glycémie supérieure à 2.5 g/l ont été confirmés diabétiques et sélectionnés pour la phase de traitement.



Figure 17 : mesure de la glycémie

3.1.4 Sacrifices et prélèvement du sang et des organes :

Après 16h de jeûne, Les rattes sont anesthésiées par chloroforme (94%) et sont sacrifiées par décapitation. Le prélèvement sanguin s'effectue le moment de sacrifice des rattes dans des tubes secs pour les analyses biochimiques. Après, centrifugation du sang à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le sérum est utilisé pour le dosage des paramètres biochimiques (glycémie, l'urée, créatinine, fer sérique, TGO, TGP). Après la dissection, le foie, le cœur et les reins sont soigneusement prélevés, rincés dans l'eau physiologique, séchés et ensuite pesés. Une partie des organes est utilisé pour la préparation de l'homogénats et l'autre est conservé dans formol (10%) pour faire des coupes histologiques. Les suspensions mitochondriales des organes sont utilisées pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH), catalase (CAT), glutathion-S transférase (GST), et glutathion peroxydase (GPx)).



Figure 18 : Sacrifices et prélèvement des organes

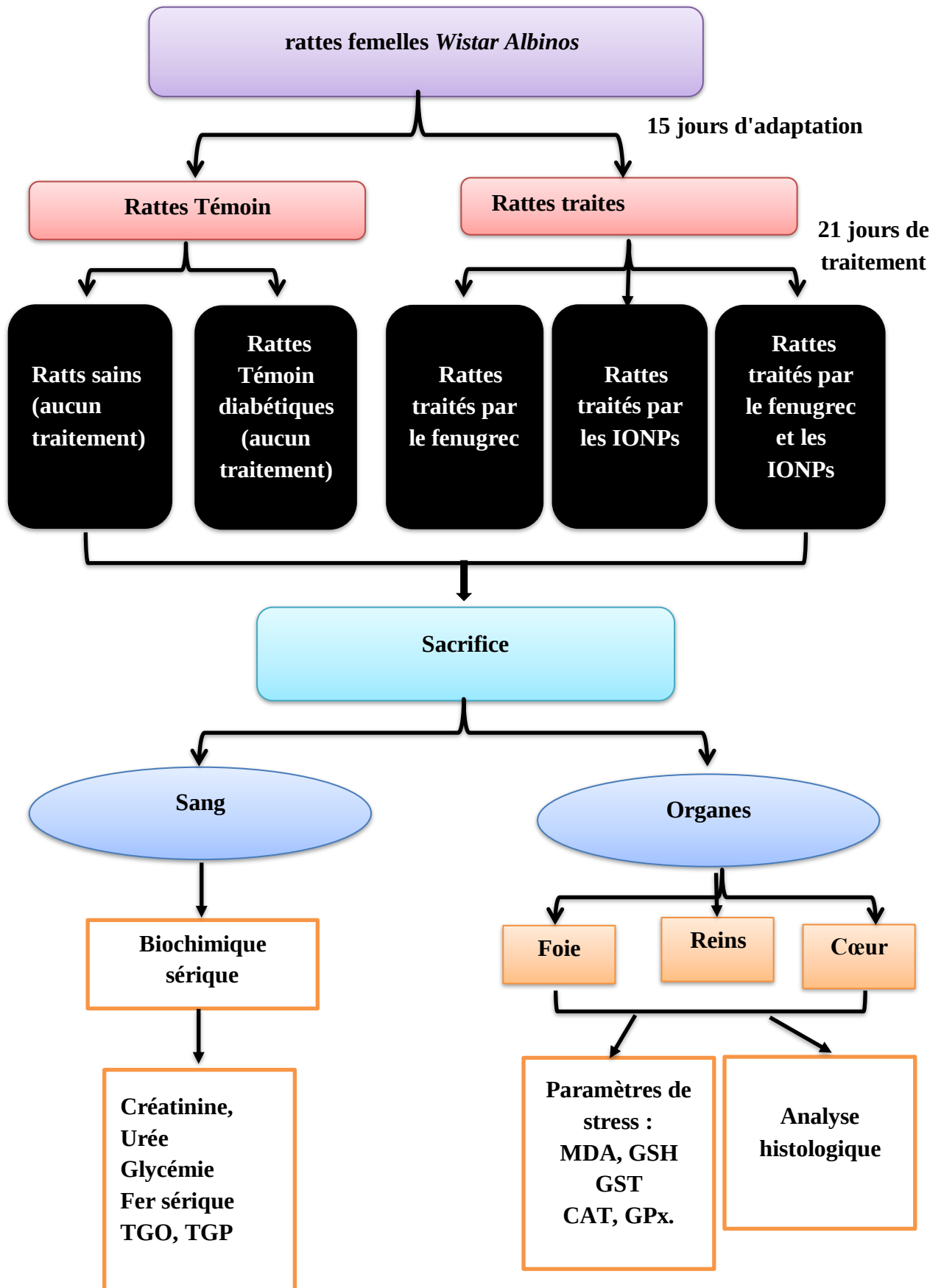


Figure 19 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

3.2 Méthode de préparation de l'extrait *Trigonella foenum-graecum* L :

Le protocole de préparation de l'extrait a été réalisé selon les étapes suivantes:

Broyage : Les graines de Fenugrec ont été broyées pour obtenir une poudre fine.

Mélange : Une quantité de 10 g de poudre a été ajoutée à 100 ml d'eau distillée (soit une solution à 10%).

Chauffage : Le mélange a été chauffé à une température comprise entre 80°C et 90°C pendant 10 minutes.

Repos : La solution a été laissée au repos pendant une durée de 12 à 24 heures pour une extraction optimale.

Filtration : Le mélange a été filtré pour obtenir l'extrait pur.

Stabilité : La solution finale ne doit pas dépasser 48 heures de conservation pour garantir sa stabilité.

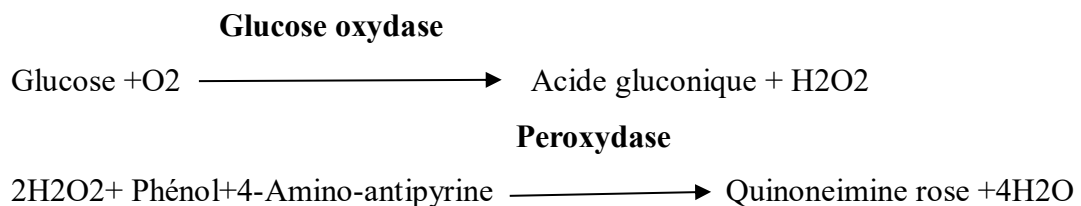
3.3 Paramètres d'analyses et méthodes :

3.3.1 Méthodes de dosage des paramètres biochimiques sérique :

3.3.1.1. Dosage de la glycémie :

• Principe :

La glycémie est la détermination enzymatique du glucose se fait selon les réactions suivantes :



❖ Mode opératoire :

- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif
- Doser selon le tableau () ci-après. En suite lire la DO après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 mn à 20-25 °C la coloration est stable 30 minutes.

Tableau 04 : Mode opératoire de dosage de glycémie

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10ul	--
Echantillon	--	--	10ul
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

3.3.1.2. Méthode de dosage de fer sérique :

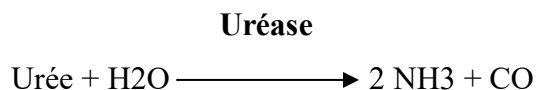
- **Principe :**

Le dosage de fer sérique se fait selon une méthode colorimétrique. A pH 4,8 le fer Ferrique (Fe^{+++}) est libéré instantanément de la transferrine. L'acide ascorbique le réduit en fer ferreux (Fe^{++}). La ferrozine forme avec le fer ferreux, un complexe coloré soluble, mesurable de 560 à 580 nm. La présence de thiourée permet d'éliminer l'interférence des ions cuivreux. (Williams., 1977).

3.3.1.3. Méthode de dosage d'urée sérique :

- **Principe :**

Le dosage d'urée sérique se fait selon la méthode de Berthelot modifiée. L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée. (Mac Key & Rackeyll., 1927).

3.3.1.4. Méthode de dosage de créatinine :

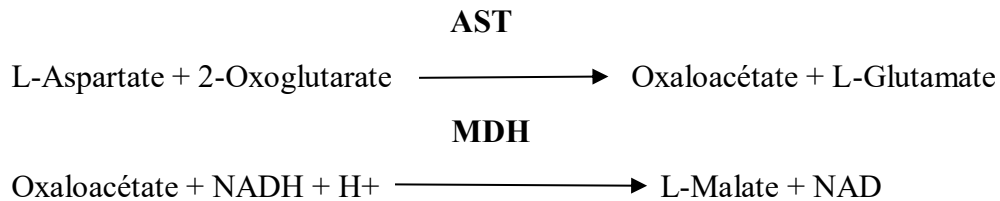
- **Principe :**

La créatinine a été déterminée suivant une méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation. La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine (Larsen., 1972).

3.3.1.5. Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST) :

- **Principe :**

Le dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (AST ou TGO) est selon une méthode développée par Karmen et optimisée par Henry (Conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :

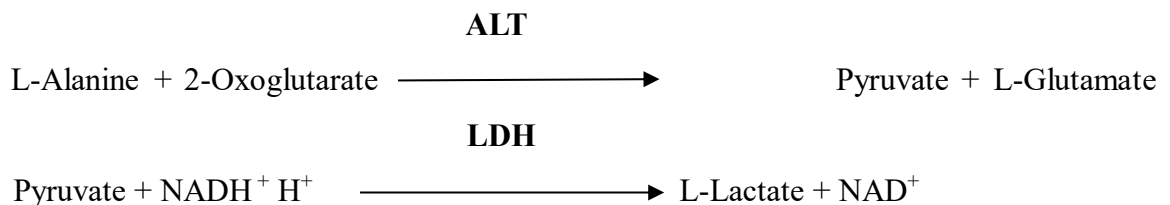


La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD et proportionnelle à l'activité AST dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué. **(Henry., 1960)**

3.3.1.6. Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT) :

- **Principe :**

Le dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT ou TGP), est selon une méthode développée par Wroblewski et La Due, et optimisée par Henry et Bergmeyer (conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ et proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué. **(Bergmeyer., 1978)**

3.3.2 Méthode de dosage des paramètres du stress oxydatif :

3.3.2.1. Préparation de l'homogénats des organes :

Pour préparer l'homogénats, un gramme de t issu (foie, reins, cœur et la rate) est broyé dans la solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4) jusqu'à l'obtention d'une solution homogène pour chaque ratte. L'homogénat est centrifugé à 3000 t/min pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu est récupéré puis conservés à -4°C. Cette surnageant est utilisé pour le dosage des paramètres de stress oxydatif.

3.3.2.2. Dosage de glutathion (GSH) :

• Principe :

Le dosage du glutathion est réalisé selon le procédé de **Weckbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5 mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide salicylique 0.25%) afin de garder uniquement les groupements-SH spécifique du glutathion.

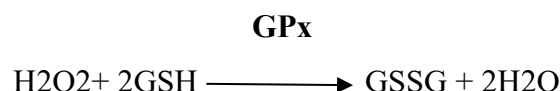
❖ Protocole expérimentale :

- Mélanger à l'aide d'un agitateur un volume de 0,8 ml de la solution homogène avec 0,2 ml d'acide salicylique.(% 0,25)
- Placer le mélange obtenu au réfrigérateur et laisser incuber pendant 15 minutes.
- Centrifuger l'échantillon à 1000 tours/minute pendant 5 minutes afin de séparer le précipité.
- Prélever délicatement 0,5 ml du surnageant, puis y ajouter successivement 1 ml de solution tampon Tris (contenant du NaCl, solution 1) et 0,025 ml de DTNB (0,01 mol/l dans du méthanol, solution 3).
- Laisser réagir le mélange final à température ambiante pendant 5 minutes.
- Mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption moléculaire à une longueur d'onde de 412 nm, en utilisant l'eau distillée comme blanc de référence.

3.3.2.3. Glutathion peroxydase (GPx) :

- **Principe :**

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante (**Flohe et Gunzler, 1984**) :



- ❖ **Protocole expérimentale :**

Dans un tube à essai sec, le mélange réactionnel est préparé en ajoutant 0,2 ml de surnageant à 0,4 ml de GSH (0,1 mM), suivis de 0,2 ml de tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4). Ce milieu est ensuite incubé au bain-marie à 25 °C pendant 5 minutes avant d'initier la réaction enzymatique par l'ajout de 0,2 ml de H₂O₂ (1,3 mM). Après une incubation de 10 minutes, la réaction est stoppée en ajoutant 1 ml de TCA à 1 %. Le mélange est immédiatement placé dans la glace pendant 30 minutes, puis soumis à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Pour l'étape de révélation, un volume de 0,48 ml du surnageant obtenu est transféré dans une cuve de spectrophotométrie, auquel on ajoute 2,2 ml de TBS et 0,32 ml de DTNB (1 mM). La mesure de la densité optique (absorbance) est effectuée à une longueur d'onde de 412 nm dans les 5 minutes.

3.3.2.4. Glutathion-S- transférase (GST) :

- **Principe :**

La mesure de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al., 1974**). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro-2,4 di nitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyl 2-4 Dinitrobenzène.

- ❖ **Protocole expérimentale :**

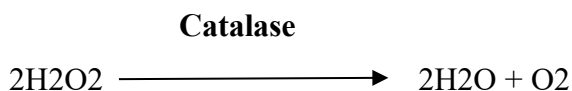
La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé, elle-même liée à l'intensité de l'activité enzymatique de la Glutathione S-

Transfêrase (GST). Pour ce faire, les échantillons sont d'abord homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6,5). L'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 9000 tr/min pendant 30 minutes (vitesse déduite classiquement pour ce protocole), et le surnageant récupéré est utilisé comme source d'enzymes. Le dosage proprement dit consiste à faire réagir 200 µl de ce surnageant avec 1,2 ml d'un mélange de CDNB (1 mM) et de GSH (5 mM). Enfin, le suivi cinétique est réalisé par la lecture des absorbances à une longueur d'onde de 340 nm pendant une minute, avec une prise de mesure toutes les 15 secondes, le tout mesuré contre un tube blanc de référence contenant 200 µl d'eau distillée.

3.3.2.5. Catalase (CAT) :

• Principe :

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène. (Aebi., 1984)



❖ Protocole expérimentale :

Dans des tubes à essais en mélanger 1ml de tampon phosphate (KH₂ PO₄, 0.1 M, pH7.2), 0.975 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de l'homogénat. L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes.

3.3.2.6. Malondialdéhyde (MDA) :

• Principe :

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation in vitro. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode de (Esterbauer *et al.*, 1992).

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie à 530 nm (**Esterbauer *et al.*, 1992**).

❖ Protocole expérimentale :

Le protocole débute par le prélèvement de 375 µl d'homogénat (surnageant), auquel sont ajoutés 150 µl de solution tampon TBS (pH 7,4) et 375 µl de solution de TCA-BHT. Après une étape d'homogénéisation au vortex, le mélange est soumis à une centrifugation à 1000 tr/min pendant 10 minutes. Par la suite, un volume de 400 µl du surnageant ainsi obtenu est récupéré, puis traité successivement avec 80 µl d'HCl (0,6 M) et 320 µl de solution Tris-TBA (composée de Tris 26 mM et de TBA 120 mM). L'ensemble est soigneusement mélangé, puis incubé au bain-marie à une température de 80 °C pendant 10 minutes. Enfin, la mesure de la densité optique (absorbance) est effectuée à une longueur d'onde à 530 nm.

3.4 Réalisation des coupes histologiques :

L'analyse histologique a été réalisée au laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El-oued. La technique utilisée est celle décrite par (**Houlot., 1984**) qui comporte les étapes suivantes :

3.4.1 Fixation des échantillons :

Après le sacrifice des ratte, les reins et le foie et le cœur sont immédiatement prélevés et immergés dans du formol à 10 %, ce qui permet l'immobilisation et la fixation des structures ainsi que des constituants cellulaires. Ensuite, ces échantillons tissulaires sont placés dans des cassettes d'inclusion spécifiques à parois perforées (ajourées) afin de permettre la pénétration et le passage du liquide de Bouin alcoolique (composé de 26 ml de formol, 7 ml d'acide acétique, 45 ml d'acide picrique à 1 % dans de l'éthanol à 95 % et 22 ml d'eau distillée). Pour l'étude histologique, les organes sont découpés à l'aide d'un scalpel bien tranchant en fragments d'une surface de 1 à 2 cm² et d'une épaisseur d'environ 1,5 mm.

3.4.2 Déshydratation :

Les échantillons sont ensuite déshydratés à l'aide d'un automate de l'histologie pendant un minimum de 12 heures afin d'éliminer l'eau tissulaire. Cette opération est réalisée par le passage successif des tissus dans des bains d'éthanol de concentrations croissantes (70 %, 80

%, 90 % et 100 %). Ce processus de déshydratation peut être optimisé et accéléré par une agitation continue au sein d'automates spéciaux.

3.4.3 Inclusion :

À l'issue de la déshydratation, les tissus sont plongés dans des bains de paraffine liquide maintenue à température de fusion. Une fois les tissus parfaitement imprégnés de paraffine, on procède à l'étape de l'enrobage. Celle-ci consiste à couler le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant à température ambiante, servira de support rigide pour la coupe. Cette opération est réalisée à l'aide d'une station d'enrobage (ou appareil à inclusion).

3.4.4 Confection des coupes histologiques :

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés (dégrossis) avant d'être coupés au microtome pour obtenir des coupes fines d'une épaisseur de 4 à 5 μm . Les rubans de paraffine ainsi formés sont délicatement étalés sur des lames porte-objets, puis dépliés et fixés à l'aide d'une eau gélative chauffée à 40 °C. Enfin, les lames sont séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure pour assurer une parfaite adhérence des coupes.

3.4.5 Coloration (HES : Hématéine / Éosine / Safran) :

La coloration permet de révéler les différents constituants cellulaires en assurant la fixation permanente des colorants sur leurs groupements acides ou basiques (à un pH donné). Réalisée directement sur les lames, la coloration HES accentue les contrastes afin de mieux distinguer les structures tissulaires. Avant d'appliquer les colorants, les coupes doivent obligatoirement subir un déparaffinage (par la chaleur et des bains de toluène ou de xylène), suivi d'une réhydratation progressive en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants (100°, 95°, 70°) puis dans de l'eau distillée. Différents colorants sont ainsi utilisés pour discriminer les compartiments cellulaires.

3.4.6 Montage et observation :

Après la coloration, les coupes sont montées entre lame et lamelle à l'aide d'une résine synthétique hydrophobe, dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre. On obtient ainsi une préparation microscopique finale (appelée « lame ») prête à être examinée. L'observation et l'analyse histologique des résultats sont ensuite réalisées au microscope optique (MO) à un grossissement de $\times 40$.

3.5 Analyse statistique :

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de deux répétitions (moyen $\pm$ écart type), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2019 pour représentés ces résultats sous forme des graphiques et des histogrammes. La signification de différence entre les groupes témoin et les groupes traités est vérifiée en utilisant le test t de *Student*, et le résultat de comparaison par la valeur critique $\alpha=0,05$.

Expression des résultats

En raison de l'absence de dosage des protéines totales dans l'homogénat tissulaire, et afin de comparer les variations relatives du statut oxydatif entre les différents groupes expérimentaux (T, TD, DFU, DFE, DM), les résultats ont été exprimés directement sous forme semi-quantitative à partir des valeurs brutes de la densité optique (D.O):

- Pour le MDA et le GSH : Les niveaux sont exprimés directement en Unités d'Absorbance (U.A) ou (D.O), mesurées respectivement aux longueurs d'onde de 532 nm et 412 nm.
- Pour les enzymes antioxydantes (CAT, GST, GPx) : Les activités enzymatiques sont exprimées par la variation de la densité optique par minute ($\Delta DO / \text{min}$), reflétant directement la vitesse initiale de la réaction cinétique pour chaque échantillon. (Ohkawa,1979)

Chapitre II :

Résultats et Discussion

1. Résultats :

1.1 Effets de l'extrait de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur les paramètres de la croissance globale et métabolique des rats :

L'évaluation des effets de l'extrait de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.), des nanoparticules d'oxyde de fer, ainsi que de leur formulation combinée sur l'évolution du poids corporel et le profil glycémique des rats a été réalisée tout au long de la période expérimentale.

Les résultats obtenus reflètent l'impact de l'induction du diabète par l'alloxane ainsi que l'efficacité thérapeutique potentielle des différents traitements administrés, comme le montrent les sections suivantes :

1.1.1 Évolution du poids corporel :

Les résultats de l'évaluation du poids corporel chez les différents lots de rats traités par l'extrait de fenugrec, les nanoparticules d'oxyde de fer, ainsi que leur combinaison, durant les différentes périodes expérimentales (Avant l'induction du diabète, (AV. D) Après l'induction diabète (AP. D), Au cours du traitement (TR), Après le traitement (AP.TR), sont illustrés par la Figure 20.

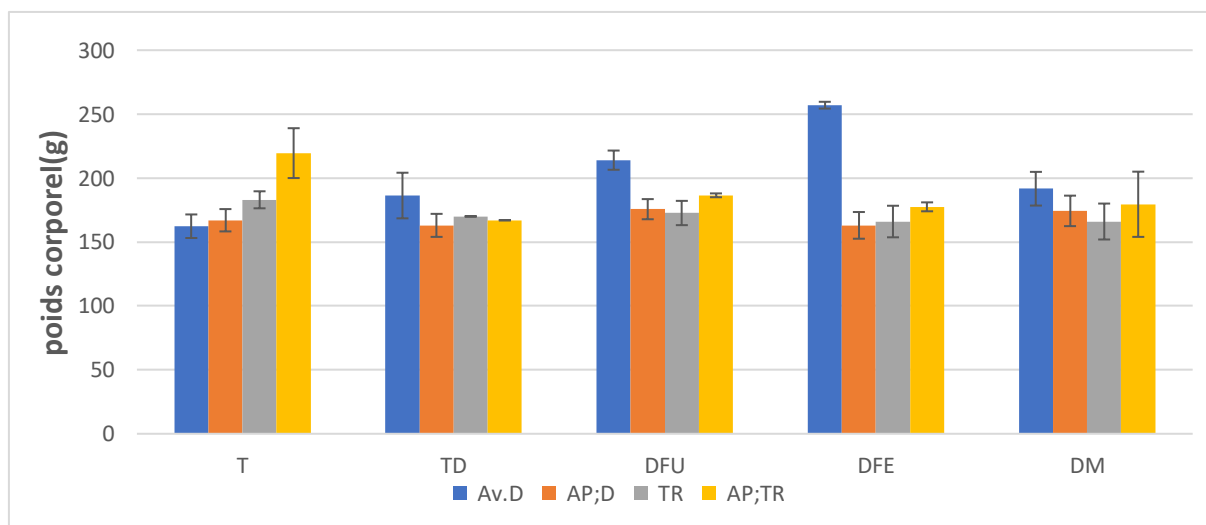


Figure 20 : Poids corporel (PC) chez les rats témoins et traités : au cours différentes périodes expérimentales (Avant l'induction du diabète, (AV. D) Après l'induction diabète (AP. D), Au cours du traitement (TR), Après le traitement (AP.TR)

Les résultats illustrés par la Figure 20 montrent une stabilité et une croissance pondérale progressive et normale chez les rats du groupe témoin sain (T) tout au long de la période expérimentale. En revanche, l'induction du diabète par l'alloxane a entraîné une diminution

significative ($P < 0.05$) du poids corporel chez tous les groupes par rapport à la période initiale avant l'injection (AV. D). Cet amaigrissement progressif reste persistant chez le groupe témoin diabétique non traité (TD) jusqu'à la fin de l'expérience. Cependant, les lots traités par l'extrait de fenugrec seul (DFU) et le traitement des nanoparticules d'oxyde de fer (DFE) affichent une amélioration progressive et un début de récupération pondérale à la fin de la période de traitement. Il est à noter que le groupe traité par la formulation combinée (DM) enregistre la meilleure cinétique de correction du poids, où les différences statistiques disparaissent totalement (NS) par rapport au groupe témoin sain (T) à la phase finale (AP.TR), ce qui prouve la capacité de cette formulation à restaurer l'équilibre physiologique et la biomasse des rats.

1.1.2 Évolution du taux de La glycémie plasmatique :

Les résultats du suivi de la glycémie plasmatique au cours du temps chez les différents groupes d'rats (T, TD, DFU, DFE et DM) durant les différentes périodes expérimentales (Après l'induction diabète (AP. D), S1, S2 et S3) sont représentés par la Figure (21).

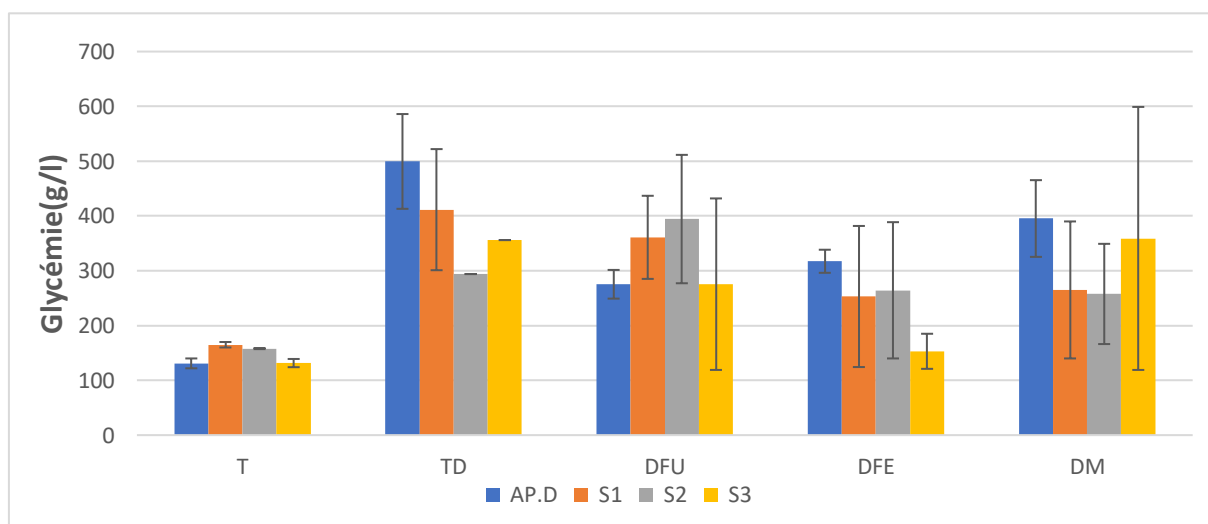


Figure 21 : Évolution du taux de la glycémie plasmatique (g/L) chez les différents lots de rats au cours des périodes expérimentales : Après l'induction diabète (AP. D), S1, S2 et S3.

Les résultats illustrés par la Figure 21 montrent que les rats du lot témoin sain (T) maintiennent une glycémie stable et normale tout au long de l'expérience. En revanche, l'induction du diabète entraîne une hausse drastique de la glycémie chez tous les autres lots (TD, DFU, DFE, DM) au stade initial (AP. D). Cette hyperglycémie sévère (dépassant 5 g/L) reste persistante et sans amélioration chez le lot témoin diabétique non traité (TD) jusqu'à la phase finale (S3). Concernant lot du groupe traité par l'extrait de fenugrec seul (DFU) et le traitement des nanoparticules d'oxyde de fer (DFE), on observe une diminution progressive du

taux de glucose sanguin au cours des semaines (S1 et S2), se stabilisant à la troisième semaine (S3). Enfin, le groupe traité par la formulation combinée (DM) enregistre la baisse glycémique la plus efficace et la plus rapide dès la première semaine (S1), pour atteindre à la phase finale (S3) des valeurs physiologiques normales, optimales et très proches de celles du lot témoin sain (T).

1.2 Effet de traitement par l'extrait de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L*) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur des paramètres biochimiques et enzymatique chez les rattes :

1.2.1 Étude des paramètres biochimiques :

Afin d'évaluer l'impact du diabète expérimental ainsi que l'effet protecteur et thérapeutique de l'extrait de fenugrec et des nanoparticules d'oxyde de fer sur les fonctions hépatique et rénale, plusieurs biomarqueurs sériques ont été dosés à la fin de l'expérimentation. Les variations quantitatives des transaminases hépatiques de l'Urée et de la Créatinine plasmatiques chez les différents groupes des rats.

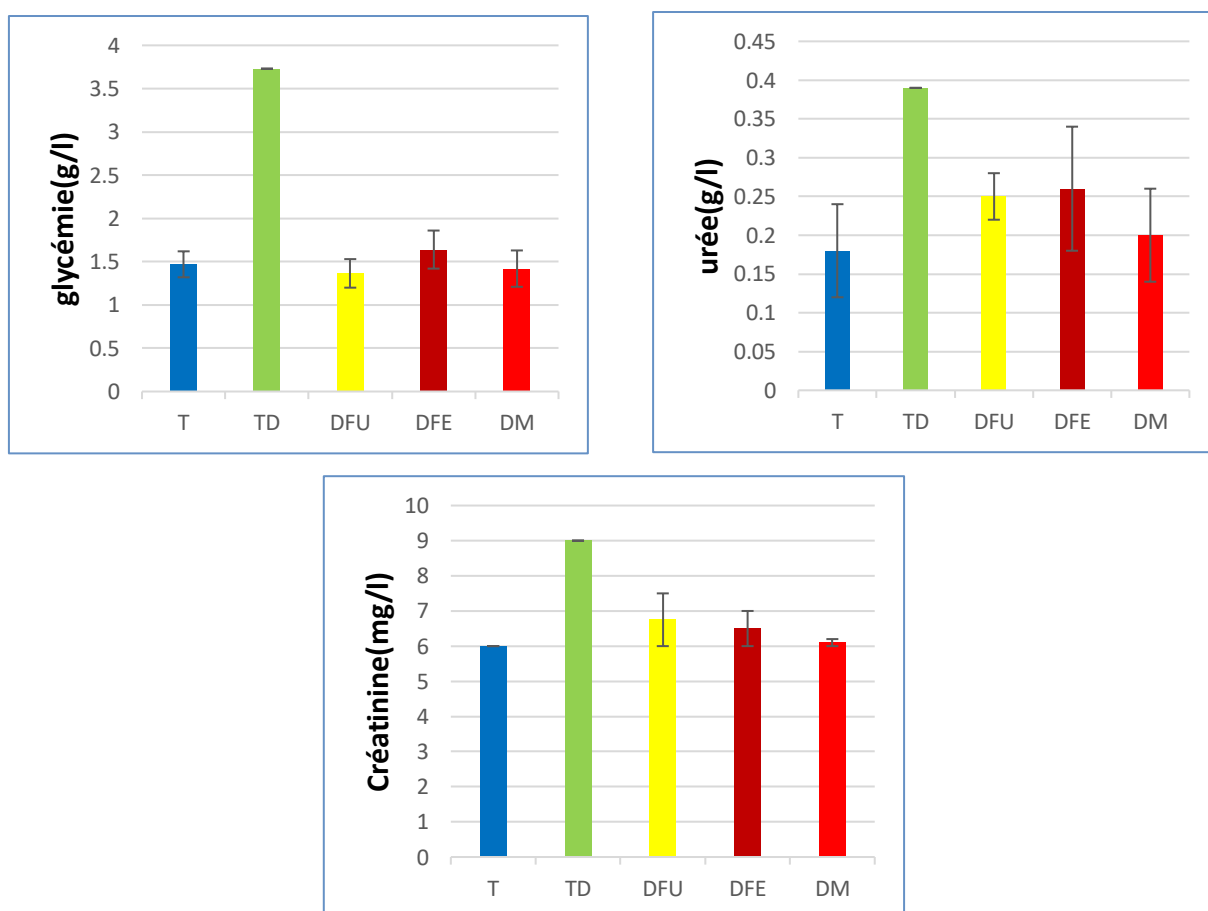


Figure 22 : Concentration sérique de la glycémie, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités

Les valeurs sont exprimées en Moyenne $\pm$ SEM.

(NS) : Non significatif ($P > 0.05$) comparé au lot témoin (T).

() : Différence hautement significative ($P < 0.01$) comparé au lot témoin (T).**

Les résultats de la Figure 22 indiquent qu'aucune différence statistique significative (NS) n'est enregistrée pour :

La Glycémie

L'analyse des profils glycémiques, illustrée par la Figure 22, montre que les rats sains du lot témoin (T) maintiennent une glycémie physiologique stable aux alentours de 1.45 g/l. À l'inverse, l'injection de l'alloxane provoque chez les rats non-traités du lot (TD) une hyperglycémie drastique et hautement significative (marquée NS), atteignant un pic critique de 3.7g/l suite à la destruction des cellules β pancréatiques. L'introduction des thérapies révèle un effet antihyperglycémiant remarquable : les lots traités par le fenugrec seul (DFU) et par la combinaison thérapeutique (DM) affichent une baisse nette et efficace de la glycémie sanguine, ramenant les valeurs vers des taux normaux (marqués NS). Néanmoins, le lot traité uniquement par les nanoparticules d'oxyde de fer (DFE) conserve une glycémie relativement élevée (notée NS), ce qui indique l'absence d'un effet hypoglycémiant direct puissant pour ces nanoparticules lorsqu'elles sont administrées séparément sans leur matrice végétale.

L'Urée

En ce qui concerne l'évaluation du taux d'urée plasmatique, indicateur clé de la fonction rénale, les rats du lot témoin (T) présentent une concentration basale normale et stable d'environ 0.18g/l. Suite à l'installation du diabète, le lot malade non-traité (TD) enregistre une augmentation significative de l'urémie, culminant à près de 0.39 g/l (notée NS), ce qui met en évidence l'apparition d'un dysfonctionnement rénal induit par la toxicité alloxanique. Suite aux interventions thérapeutiques, une réduction notable de ce paramètre est constatée dans tous les groupes traités. Une normalisation quasi-complète (notée NI) est obtenue chez le lot sous extrait de fenugrec (DFU) ainsi que chez le lot sous traitement combiné (DM), tandis que le lot recevant les nanoparticules seules (DFE) montre une baisse de concentration d'urée plus modérée.

La Créatinine

Pour ce qui est de la créatininémie, les résultats confirment de manière synchrone le profil de l'urée. Le lot témoin (T) stabilise son taux de créatinine à un niveau physiologique optimal de 6 mg/l, alors que le lot diabétique non-traité (TD) subit une élévation prononcée atteignant 9

mg/l (marquée NS), traduisant une détérioration de la capacité de filtration glomérulaire rénale. L'évaluation des groupes traités met en évidence une correction statistiquement significative de cette atteinte rénale. Les lots DFU et DM parviennent à une restauration intégrale des valeurs initiales (marqués NS), tandis que le lot DFE présente lui aussi une réduction statistiquement très significative (marquée **) de la créatinine par rapport au lot diabétique, soulignant ainsi le rôle cytoprotecteur des nanoparticules biosynthétisées contre le stress oxydatif néphrotique.

1.2.2 Étude des enzymes sériques :

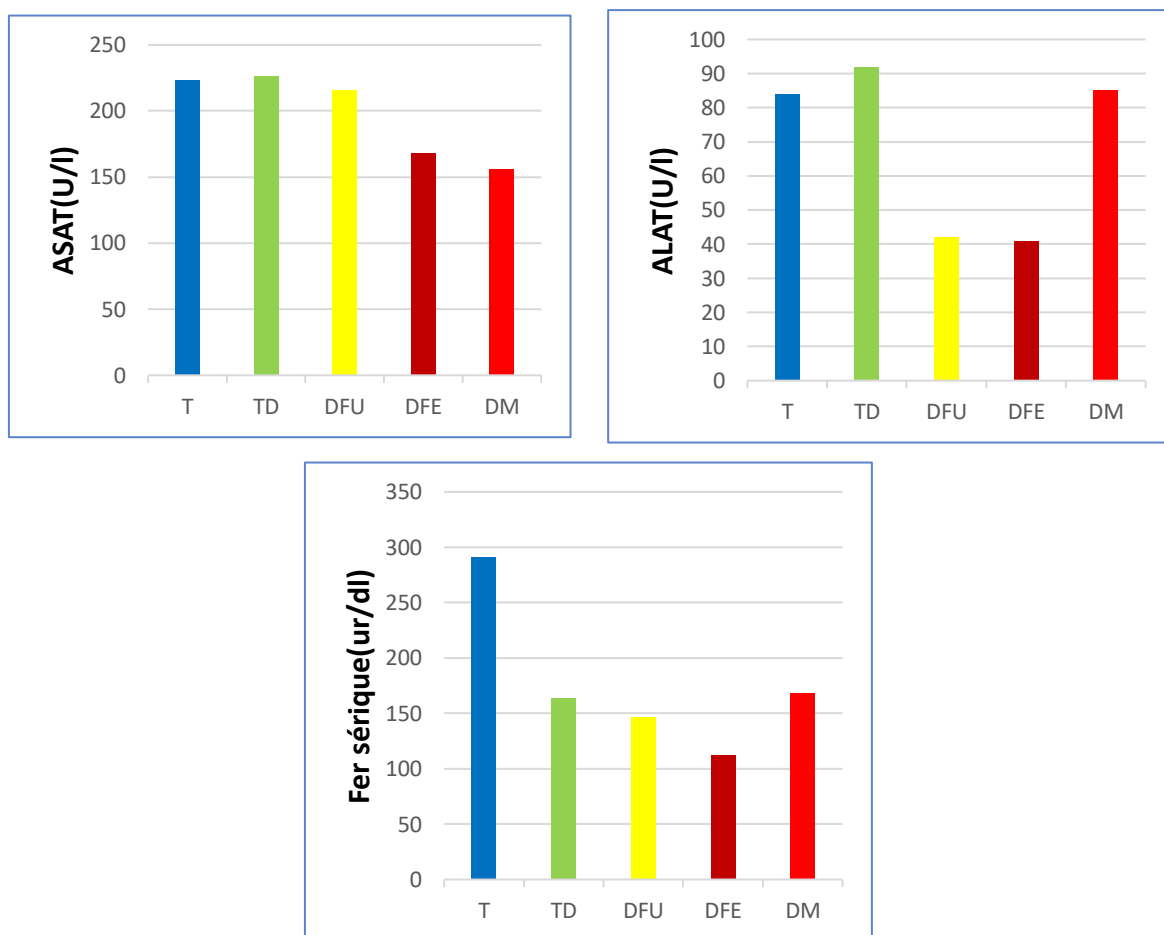


Figure 23 : Concentration sérique du ASAT, ALAT ,Fer sérique chez le groupe témoin et les groupes traités.

Les valeurs représentent des données individuelles d'un rat représentatif de chaque groupe.

D'après les données illustrées par la Figure 23, nous observons une légère augmentation de l'activité de l'ALAT chez le lot diabétique (TD) par rapport au lot témoin (T), révélant l'impact de la cytotoxicité de l'alloxane. En revanche, le traitement par l'extrait de fenugrec seul (DFU) ou formulé (DFE) induit une baisse remarquable des taux d'ASAT et d'ALAT,

démontrant un effet protecteur hépatique évident. Pour le Fer sérique, une diminution nette est constatée chez tous les lots pathologiques et traités par rapport au lot témoin normal (T), le lot DM affichant la valeur la plus basse.

1.3 Effet du traitement par l'extrait de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L*) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur les paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats diabétiques :

1.3.1 Etude de la peroxydation lipidique MDA et le glutathion réduit GSH :

Les résultats obtenus suite à l'évaluation MDA et GSH :

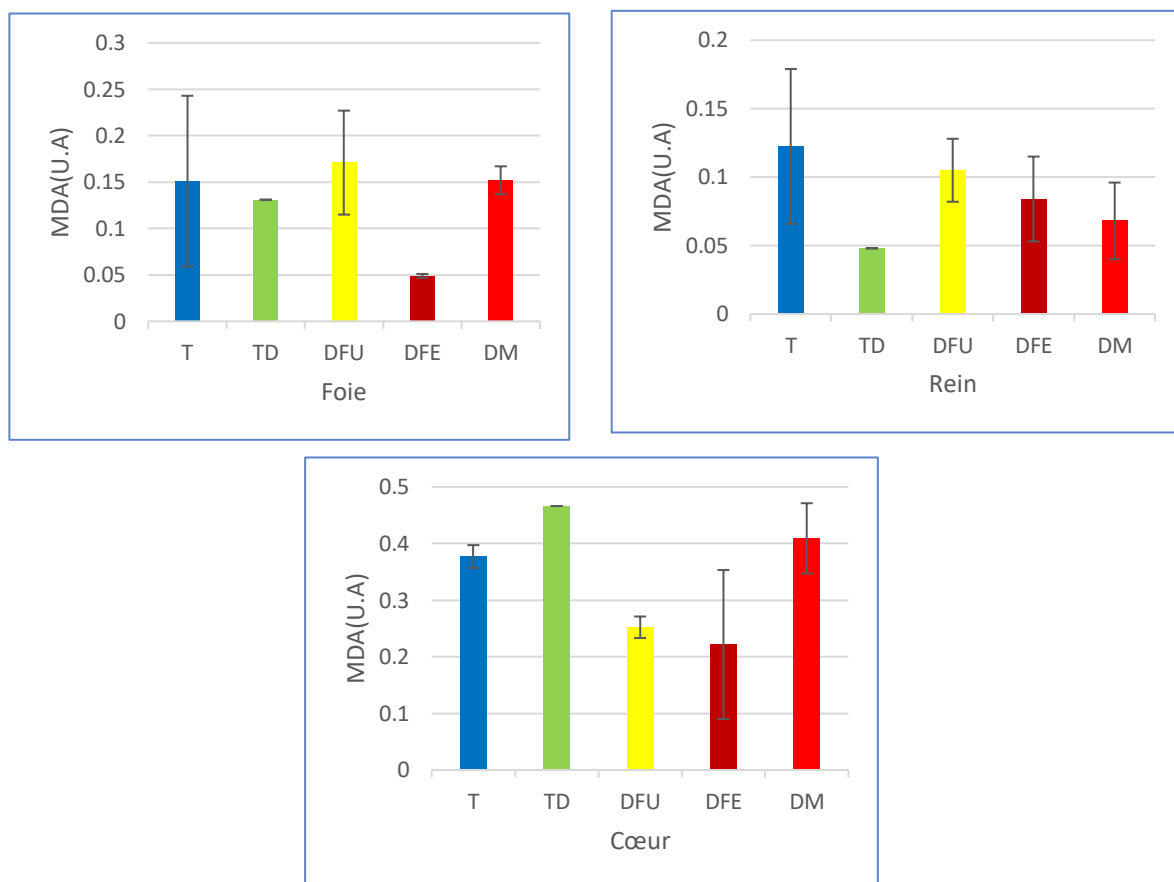


Figure 24 : Taux tissulaires du Malondialdéhyde (MDA) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats.

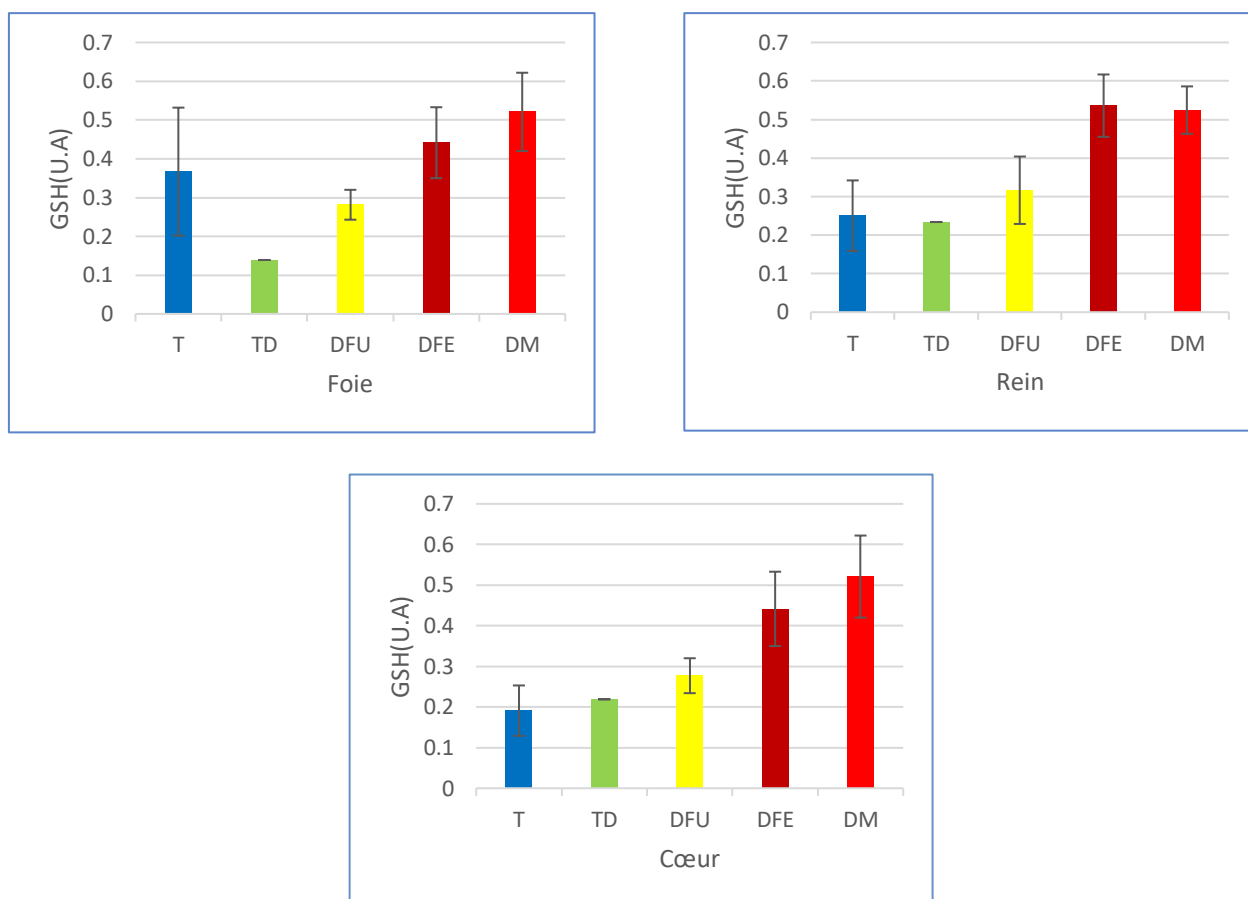


Figure 25 : Taux tissulaires du Glutathion réduit (GSH) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats.

MOY $\pm$ S.E.M (n = 2 rattes par groupe)

NS : Différence non significative ($p > 0.05$) par rapport au groupe témoin (T)

Évaluation du biomarqueur de la peroxydation lipidique (MDA)

L'analyse comparative des taux tissulaires du Malondialdéhyde (MDA) révèle des profils cinétiques variables entre les organes, bien que les différences restent statistiquement non significatives (NS). Au niveau du foie, le lot témoin diabétique (TD) montre une relative stabilité, tandis que le lot traité par les nanoparticules seules (DFE) se démarque en enregistrant la plus forte baisse de la peroxydation lipidique, suivi par le lot traité par l'extrait de fenugrec seul (DFU). En revanche, au niveau du tissu rénal, le lot TD affiche paradoxalement la valeur la plus basse, alors que parmi les groupes thérapeutiques, c'est le lot sous traitement combiné (DM) qui démontre la réduction la plus progressive et efficace du MDA par rapport aux lots DFU et DFE. Quant au tissu cardiaque, l'impact délétère du diabète est clairement visible chez le lot TD qui enregistre le pic maximal de MDA, confirmant un stress myocardique sévère ; ce

pic est remarquablement régressé par l'administration des nanoparticules seules (DFE), qui surpasse ici l'effet de l'extrait de fenugrec seules (DFU) et du traitement mixte (DM).

Évaluation du système de défense antioxydant (GSH)

Concernant le taux du Glutathion réduit (GSH), les résultats graphiques traduisent une réponse protectrice nette et homogène des formulations face à l'oxydation cellulaire. Dans le foie et les reins, le diabète provoque une diminution des défenses antioxydantes chez le lot TD comparativement au lot témoin sain (T), reflétant l'épuisement cellulaire face aux radicaux libres. Cependant, l'administration des différents traitements induit une réaugmentation graduelle et remarquable du taux de GSH ; cette restauration s'avère hautement optimisée chez le lot traité par la formulation combinée (DM), prouvant l'existence d'une synergie d'action puissante entre l'extrait de fenugrec et les nanoparticules d'oxyde de fer par rapport aux monothérapies (DFU et DFE). Au niveau cardiaque, une cinétique similaire est observée où le lot TD subit une baisse de GSH, tandis que les lots traités manifestent une excellente récupération de leur potentiel antioxydant endogène, les lots DFE et DM affichant les réponses protectrices les plus performantes et les plus proches du lot témoin (T).

1.3.2 Etude de l'activité de de catalase CAT, Glutathion S Transférase GST, et du glutathion peroxydase GPx :

Les résultats de l'évaluation des activités enzymatiques de la catalase (CAT), de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du foie, des reins et du cœur chez les différents lots de rats témoins et traités

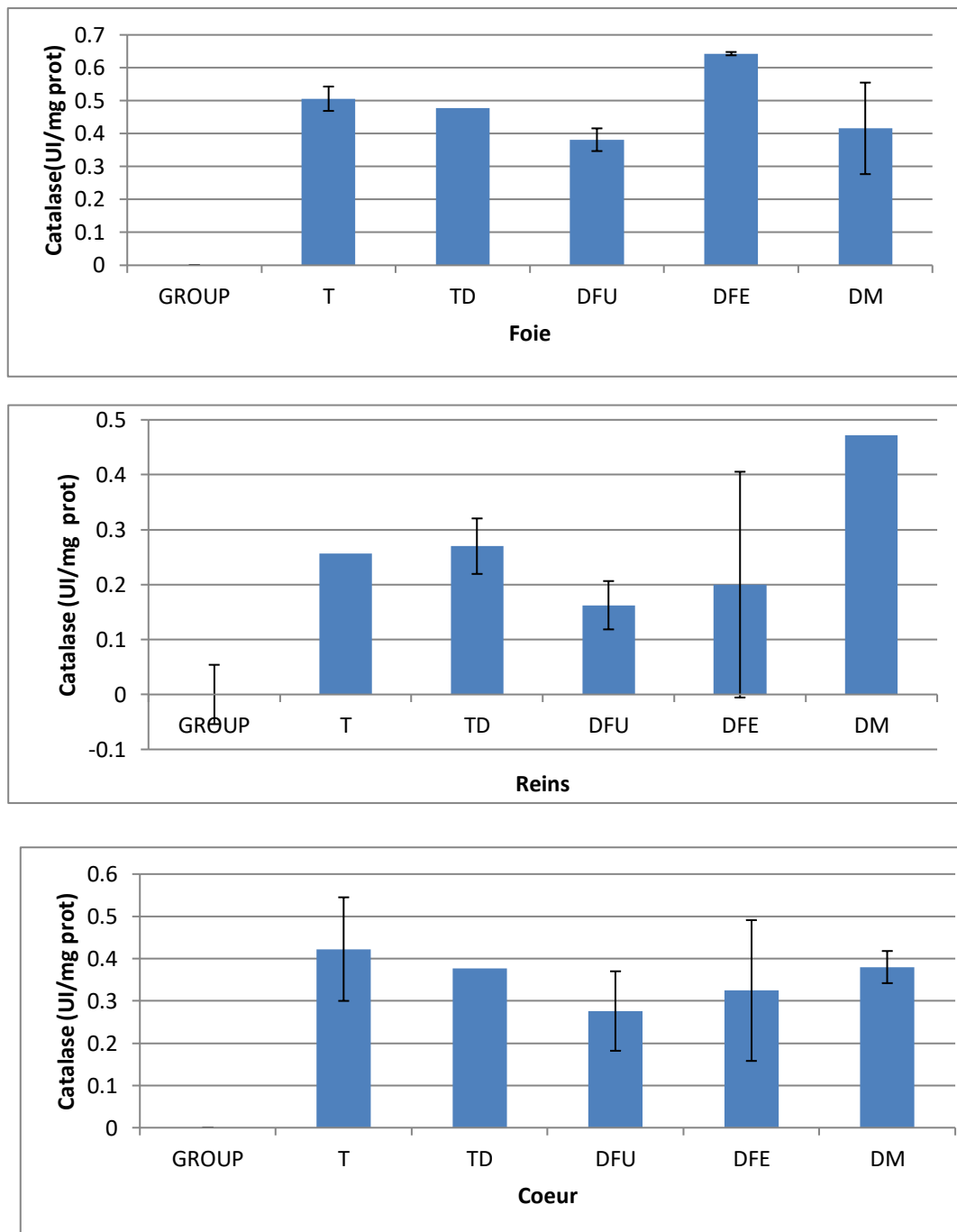


Figure 26: Activités tissulaires de la Catalase (CAT) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents groupes de rats.

Les valeurs représentent la Moyenne $\pm$ SEM (n=2). (NS) : non significatif ($P > 0.05$).

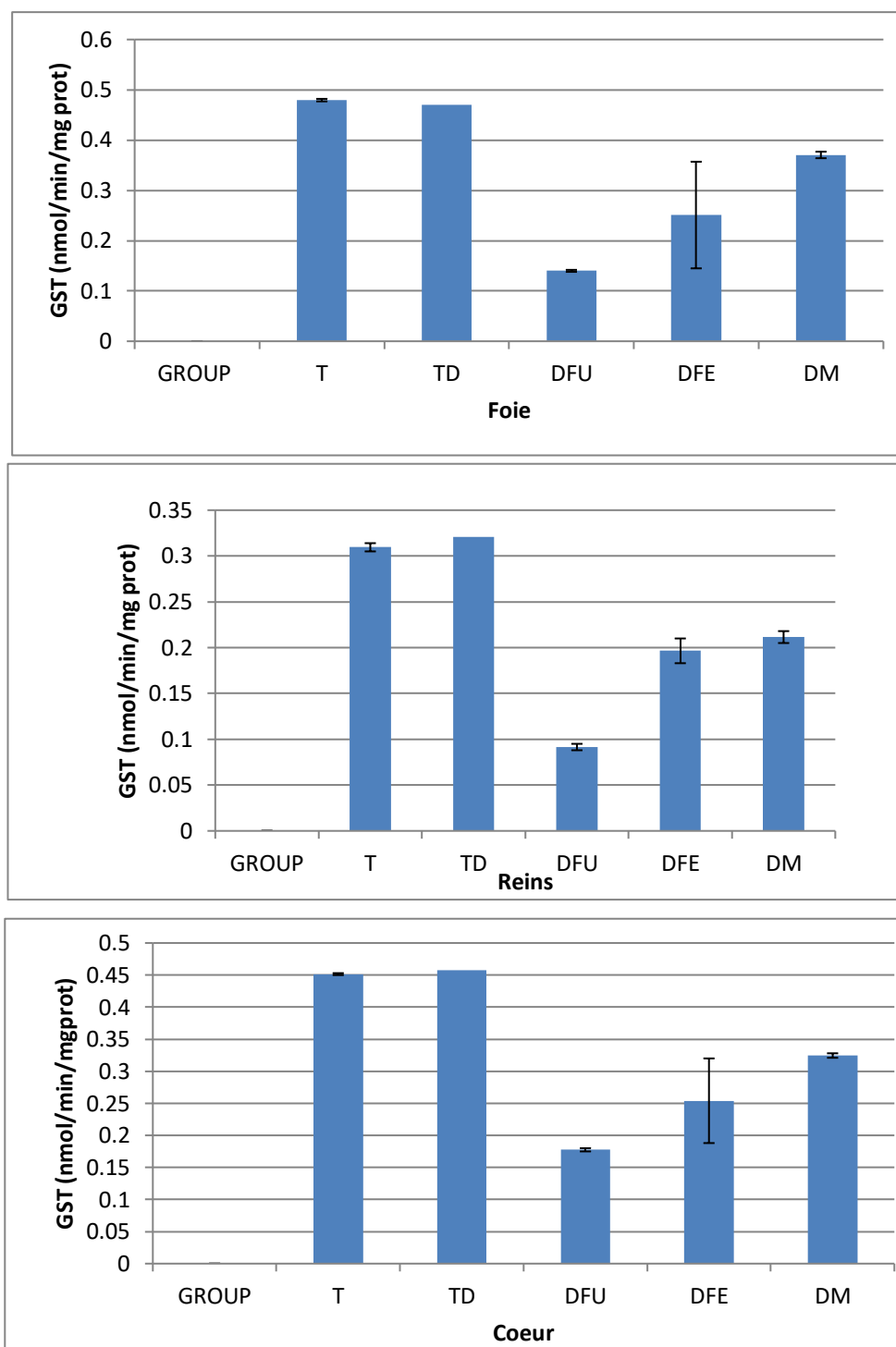


Figure 27 : Activités tissulaires de la Glutathion S-Transférase (GST) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats.

Les valeurs représentent la Moyenne $\pm$ SEM (n=2).

(NS) : non significatif ($P > 0.05$).

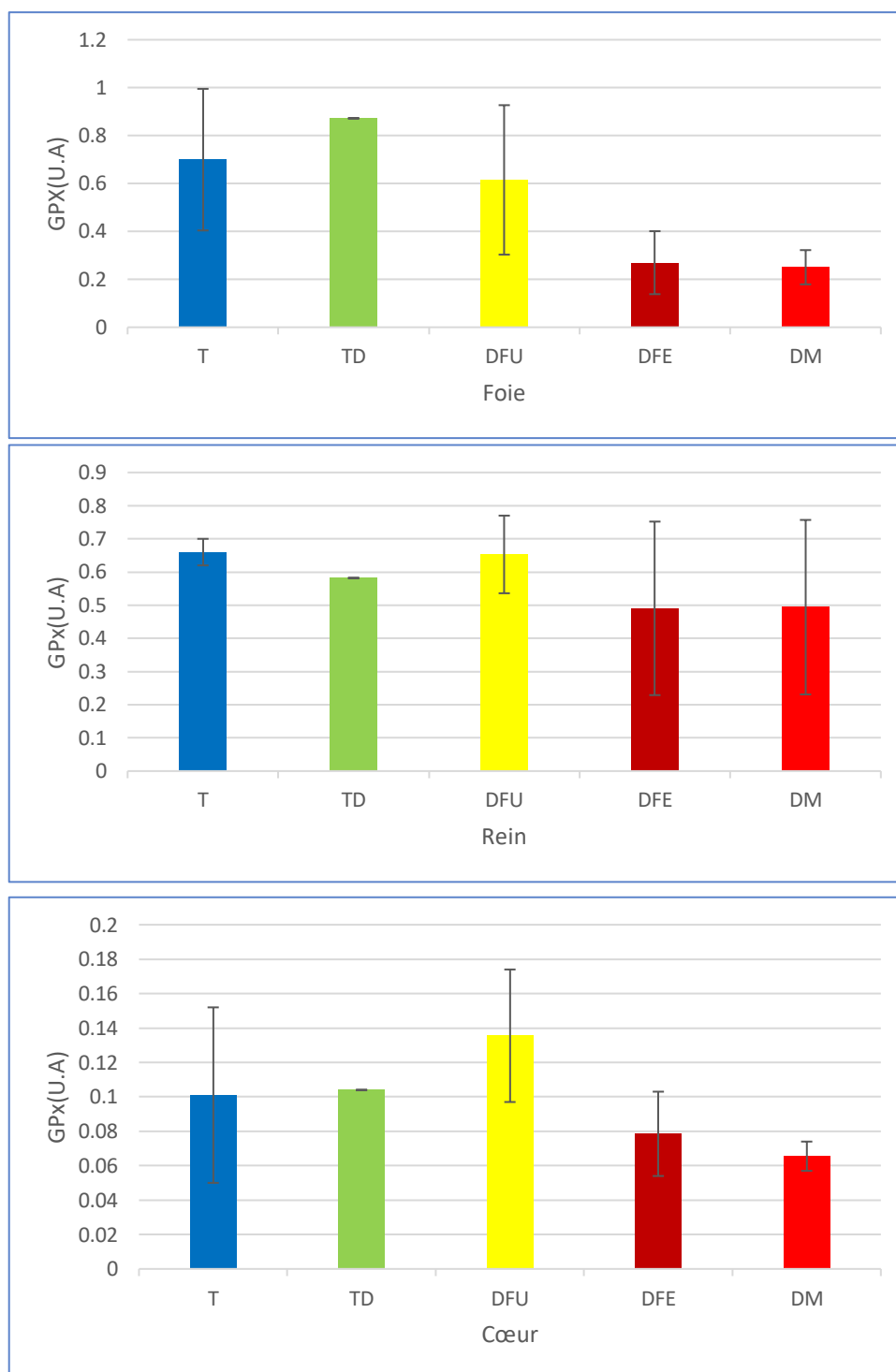


Figure 28 : Activités tissulaires de la Glutathion Peroxydase (GPx) dans le foie, les reins et le cœur chez les différents lots de rats.

Les valeurs représentent la Moyenne $\pm$ SEM (n=2).

(NS) : non significatif ($P > 0.05$).

L'évaluation de l'activité de la catalase (CAT) dans de la Figure 26 montre des fluctuations tissulaires visibles entre les différents groupes expérimentaux, bien qu'elles demeurent statistiquement non significatives (NS). Au niveau du foie, le lot témoin diabétique (TD) présente une légère diminution de l'activité enzymatique par rapport au lot témoin sain (T), diminution qui s'accroît chez le lot traité par le fenugrec seul (DFU). À l'inverse, l'administration des nanoparticules seules (DFE) induit une forte stimulation de l'activité de la CAT, surpassant tous les autres lots. Au niveau rénal, une tendance inverse est observée où le lot TD montre une légère hausse, tandis que le lot sous traitement combiné (DM) manifeste une augmentation spectaculaire et maximale de l'activité de la CAT. Dans le tissu cardiaque, l'alloxane induit une baisse de l'activité enzymatique chez le lot TD. Cette inhibition est partiellement corrigée chez le lot DFE et restaurée de manière optimale proche de la normale chez le lot DM, confirmant l'efficacité synergique du traitement mixte contre le stress oxydatif myocardique.

Concernant la glutathione S-transférase (GST), dans de la Figure 27 enzyme clé de la détoxification cellulaire, les profils d'activité graphique révèlent une cinétique très homogène à travers les trois organes étudiés. Dans le foie, les reins et le cœur, l'induction du diabète chez le lot TD ne montre pas de rupture immédiate par rapport au lot sain (T), mais le lot traité par l'extrait végétal seul (DFU) subit une chute drastique et remarquable de l'activité de la GST dans tous les tissus. Cependant, l'introduction des nanoparticules d'oxyde de fer seules (DFE) permet une réaugmentation nette de cette activité détoxifiante. De façon plus performante, le traitement combiné (DM) induit la meilleure récupération de l'activité de la GST, montrant des colonnes graphiques en nette progression ascendante, ce qui indique un effet protecteur concerté de la formulation mixte face à la toxicité radicalaire.

Pour l'activité de la glutathione peroxydase (GPx), dans la Figure 28 les réponses tissulaires expriment une grande sensibilité aux traitements administrés. Au niveau hépatique, le lot diabétique (TD) affiche une augmentation de l'activité, probablement adaptative, qui tend à diminuer progressivement chez le lot DFU. Les lots traités par les nanoparticules seules (DFE) ou en combinaison (DM) enregistrent les valeurs d'absorbance les plus basses, ce qui pourrait traduire une diminution du fardeau oxydatif hépatique. Au niveau rénal, l'activité reste relativement stable chez le lot TD et DFU, mais fléchit légèrement chez les lots DFE et DM. Enfin, dans le tissu cardiaque, l'activité de la GPx est augmentée chez le lot DFU par rapport au lot témoin (T), alors que l'administration des nanoparticules seules (DFE) et du traitement

combiné (DM) ramène cette activité vers des valeurs plus faibles et stables, suggérant une régulation efficace de l'homéostasie redox myocardique.

1.4 Etude la coupe histologique des différents organes chez les rattes :

Les foies :

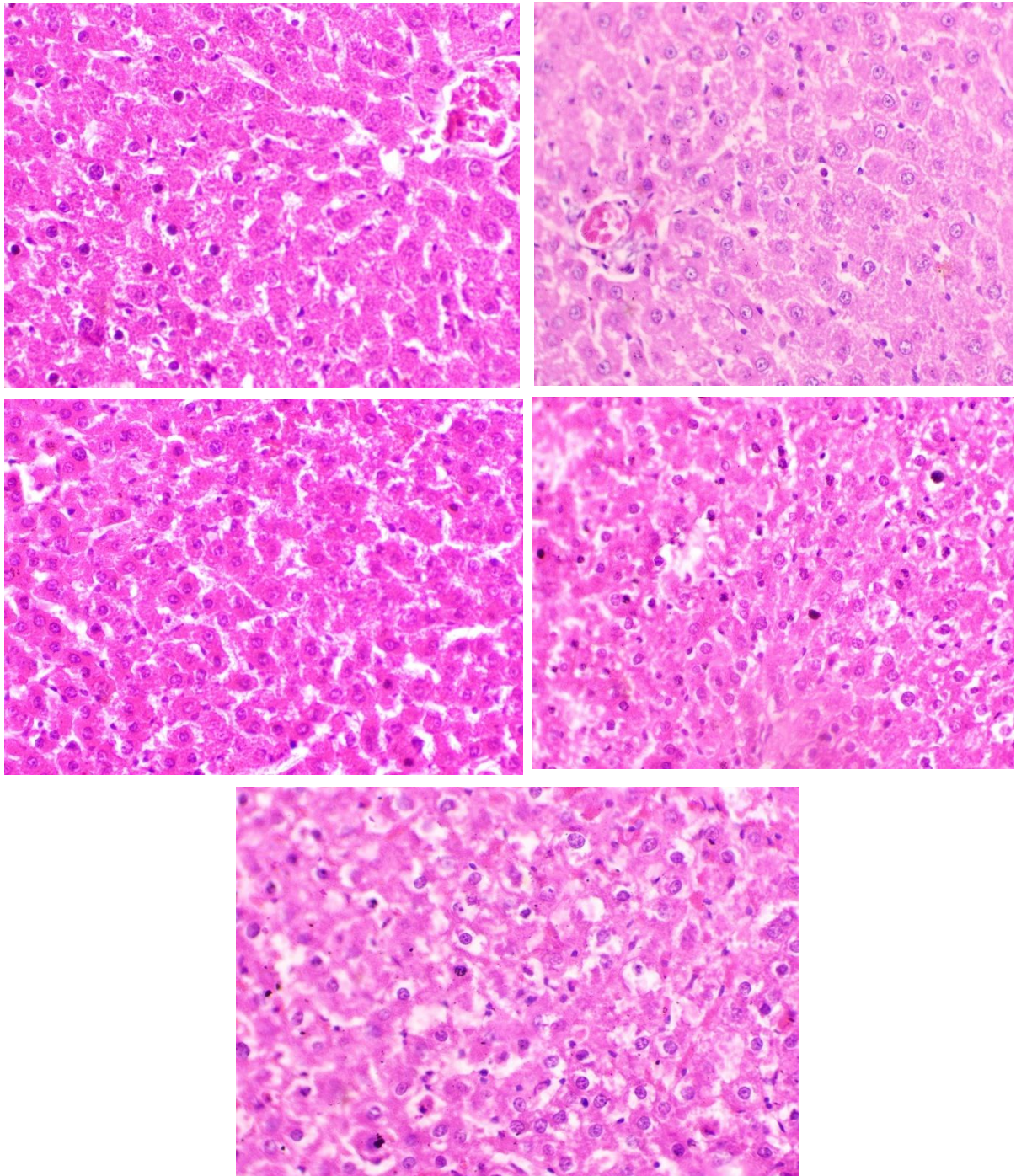


Figure 29 : Coupes histologiques du foie chez les cinq groupes (H&E, Gx40). (A) Témoin (T) ; (B) Diabétique (TD) (C) Fenugrec (DFU) ; (D) Nanoparticules (DFE) ; (E) Association (DM).

Les reins :

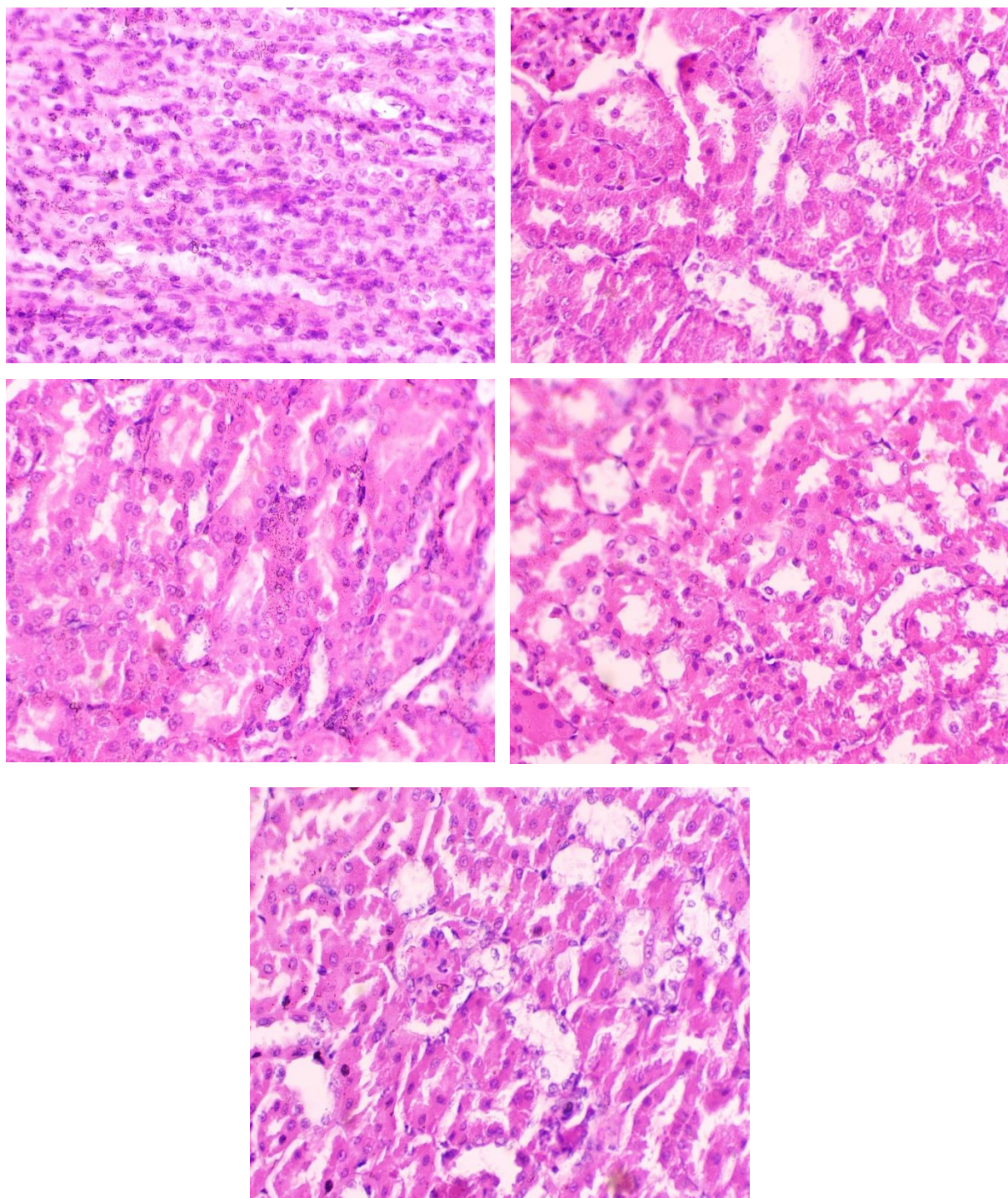


Figure 30 : coupes histologiques du rein chez les cinq groupes (H&E, Gx40). (A) Témoin (T) ; (B) Diabétique (TD) ; (C) Fenugrec (DFU) ; (D) Nanoparticules (DFE) ; (E) Association (DM).

Les cœurs :

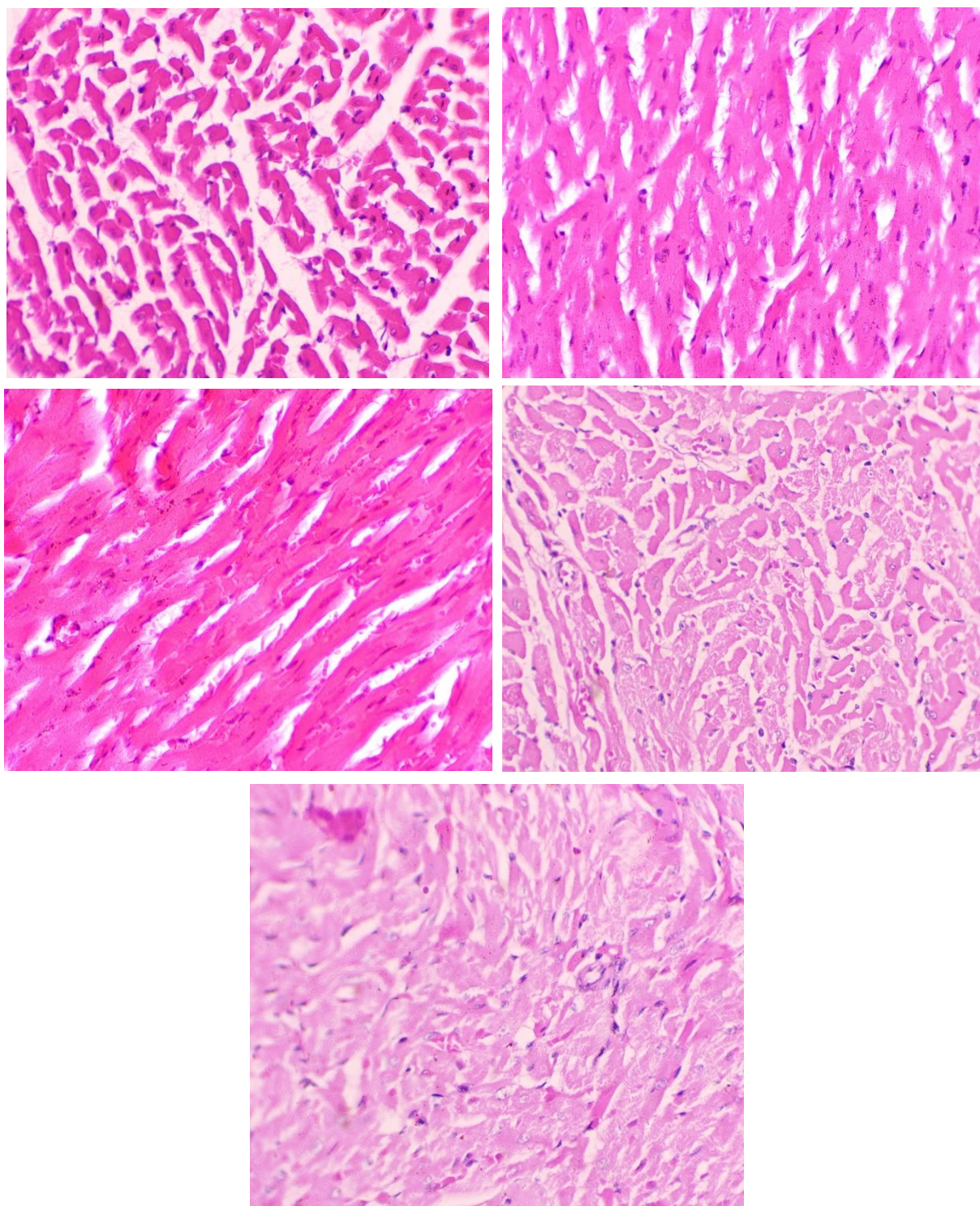


Figure 31: Coups histologiques du cœur chez les cinq groupes (H&E, Gx40). (A) Témoin (T) ; (B) Diabétique (TD) ; (C) Fenugrec (DFU) ; (D) Nanoparticules (DFE) ; (E) Association (DM).

Interprétation :

Les foies :

Groupe Témoin (G1) : L'architecture du parenchyme hépatique est parfaitement conservée. Les hépatocytes, de forme polygonale, sont organisés en cordons réguliers (travées de Remak) convergeant vers les vaisseaux. Les noyaux, arrondis et centraux, sont bien colorés (normochromiques) et homogènes. Les capillaires sinusoides situées entre les travées sont distinctes et d'aspect normal.

Groupe Diabétique non traité (G2) : On observe des altérations structurelles nettes liées à l'état diabétique. Les hépatocytes présentent une perte de leur alignement régulier. Le cytoplasme apparaît par endroits plus clair, vacuolisé ou « optiquement vide », signe possible de stéatose hépatique ou de surcharge glycolénique/lipidique fréquente dans le diabète. Certains noyaux montrent des signes de souffrance cellulaire (pycnose ou anisocaryose, c'est-à-dire des tailles irrégulières.)

Groupe Diabétique traité par le fenugrec (G3) : On note une nette amélioration de la structure hépatique par rapport au groupe diabétique. Les cordons de cellules retrouvent une disposition plus régulière. La vacuolisation cytoplasmique est fortement diminuée, et la majorité des hépatocytes possèdent à nouveau un noyau central bien défini.

Groupe Diabétique traité par les nanoparticules d'oxyde de fer (G4) : Le tissu montre une réorganisation partielle par rapport au groupe G2. Cependant, on peut observer de petites zones de condensation cellulaire, de légers infiltrats ou la présence de points sombres. Ces éléments peuvent correspondre soit à l'accumulation des nanoparticules dans les macrophages du foie (cellules de Kupffer), soit à un léger stress résiduel. L'aspect global est meilleur que celui du groupe malade mais moins homogène que celui du groupe fenugrec.

Groupe Synergie (G5) : Cette coupe montre la restauration la plus spectaculaire, très proche du groupe témoin. Le cytoplasme des hépatocytes est dense, homogène et uniformément rosé (éosinophile), sans vacuoles majeures. Les travées hépatocytaires sont parfaitement alignées, les noyaux sont ronds, clairs et actifs. Les signes de toxicité du diabète ont quasiment disparu.

Les reins :

Groupe Témoin (T) : L'architecture du parenchyme rénal est parfaitement préservée. Les glomérules présentent une cellularité normale et une structure lobulaire intacte. L'espace de Bowman (l'espace clair entourant le glomérule) est net et régulier. Les tubules rénaux (proximaux et distaux) affichent une bordure en brosse et une lumière claire, avec des cellules épithéliales cubiques bien définies aux noyaux ronds, réguliers et basaux.

Groupe Diabétique non traité (DT) : On observe de sévères altérations structurales caractéristiques de la néphropathie diabétique. Les glomérules sont déformés, montrant parfois des signes d'hypercellularité ou de rétraction. L'espace de Bowman est irrégulier. Au niveau des tubules, les modifications sont majeures : les cellules épithéliales tubulaires présentent une tuméfaction (gonflement cellulaire), une vacuolisation cytoplasmique prononcée et, par endroits, une desquamation (détachement des cellules vers la lumière du tubule). La lumière tubulaire est par conséquent obstruée ou déformée.

Groupe Diabétique traité par le fenugrec (DFU) : On constate une amélioration significative de la structure globale du cortex rénal par rapport au groupe pathologique. L'intégrité des glomérules est mieux conservée. Au niveau tubulaire, bien qu'il subsiste de légères zones de gonflement cellulaire, la vacuolisation et la desquamation des cellules épithéliales sont nettement réduites. La majorité des noyaux tubulaires ont retrouvé un aspect sain et régulier.

Groupe Diabétique traité par les nanoparticules d'oxyde de fer (DFE) : Le tissu montre une restauration partielle. Les structures glomérulaires tendent à se stabiliser. Cependant, les tubules présentent encore une lumière irrégulière et des signes résiduels d'atteinte cellulaire (cytoplasme clair, limites cellulaires imprécises). On peut également suspecter de discrets dépôts ou une infiltration cellulaire localisée. L'effet protecteur est visible par rapport à groupe DT, mais le parenchyme reste histologiquement hétérogène.

Groupe Synergie (DM) : Cette coupe histologique montre la restauration la plus complète et la plus remarquable, très proche du groupe témoin. Les glomérules récupèrent une forme parfaitement sphérique et harmonieuse, avec un espace de Bowman régulier et bien délimité. Les tubules rénaux présentent des cellules épithéliales cubiques intactes, sans vacuolisation notable, et leur lumière est libre et bien dessinée. Les signes de nécrose ou de souffrance cellulaire rénale ont pratiquement disparu.

Les cœurs :

Groupe Témoin (T) : L'architecture du myocarde est parfaitement conservée. Les fibres musculaires cardiaques sont régulièrement orientées, denses et ramifiées de manière typique. Les cardiomyocytes présentent des noyaux ovales, centraux et bien colorés. L'espace interstitiel et l'endomysium sont fins, réguliers, sans signe d'œdème ni d'infiltration inflammatoire.

Groupe Diabétique non traité (DT) : On note de profondes altérations structurelles caractéristiques de la cardiomyopathie diabétique. Les fibres myocardiques montrent une désorganisation spatiale évidente (perte de l'alignement parallèle). On observe une hypertrophie de certains cardiomyocytes, associée à des zones de fragmentation myofibrillaire (lyse des fibres). L'espace interstitiel est élargi par endroits, traduisant la présence d'un œdème interfibrillaire et d'une possible infiltration ou début de fibrose interstitielle.

Groupe Diabétique traité par le fenugrec (DFU) : Le traitement par le fenugrec apporte une amélioration tissulaire notable par rapport au groupe pathologique. L'alignement des fibres musculaires est globalement restauré et plus homogène. Les zones de fragmentation myofibrillaire sont nettement réduites et l'œdème interstitiel est estompé, bien que de légères variations de taille cellulaire (hypertrophie résiduelle) puissent persister.

Groupe Diabétique traité par les nanoparticules d'oxyde de fer (DFE) : À faible grossissement, la structure tissulaire montre une réorganisation architecturale par rapport à groupe DT. Les faisceaux musculaires récupèrent une meilleure continuité. Cependant, le parenchyme reste hétérogène avec des zones de condensation et de légers infiltrats. L'effet protecteur systémique du fer sur le métabolisme aide à atténuer l'évolution de la cardiomyopathie, mais des zones de stress cellulaire local persistent.

Groupe Synergie (DM) : Cette coupe montre la restauration myocardique la plus impressionnante, se rapprochant de façon spectaculaire du groupe témoin. Les cardiomyocytes affichent une continuité parfaite, un cytoplasme dense et homogène, et des noyaux sains. L'œdème interstitiel a totalement disparu et l'alignement des fibres est optimal.

2. Discussion :

Afin de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents, il est essentiel d'analyser l'interaction biologique entre l'extrait aqueux de *Trigonella foenum graecum* (fenugrec), les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) et l'agent diabétogène, l'alloxane (Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008). L'alloxane induit une toxicité aiguë en générant un flux massif d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui détruit les cellules β pancréatiques et altère l'équilibre redox des tissus environnants (Szkudelski, 2001). Nos résultats expérimentaux montrent que l'administration de l'extrait de fenugrec permet de contrer efficacement cette agression (Abou El Soud et al., 2007 ; Mowl et al., 2009).

Cette observation corrobore les données de la littérature concernant la cytotoxicité sélective de l'alloxane. Celui-ci pénètre rapidement dans les cellules β et inactive la glucokinase en se liant à ses groupements sulfhydriles ($-\text{SH}$) (Szkudelski, 2001). Il en résulte un cycle redox continu avec l'acide dialurique, produisant des radicaux superoxydes et des radicaux hydroxyles très destructeurs via la réaction de Fenton, ainsi qu'une perturbation majeure de l'homéostasie calcique cytosolique (Szkudelski, 2001 ; Rohilla & Ali, 2012).

À l'inverse, les composés phytochimiques actifs du fenugrec polyphénols, flavonoïdes et l'alcaloïde 4hydroxyisoleucine exercent des actions antidiabétique et antioxydante remarquables (Dall'Asta et al., 2015 ; Sarker et al., 2024). Ces molécules atténuent l'hyperglycémie induite par l'alloxane en stimulant la capture périphérique du glucose, en régulant des enzymes clés du métabolisme hépatique (pyruvate kinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase) et en favorisant la translocation des transporteurs GLUT4 (Mohammad et al., 2006 ; Kumar & Tiwari, 2026).

Par ailleurs, lors de la synthèse verte des nanoparticules de Fe_2O_3 , les métabolites secondaires de la plante agissent comme agents réducteurs et de coiffage (capping agents) (Shabbir et al., 2023 ; Abdullah et al., 2020). Cette fonctionnalisation biologique empêche l'agglomération des nanoparticules, améliore leur biocompatibilité et renforce leur potentiel thérapeutique (Abdullah et al., 2020). L'action synergique entre l'extrait végétal et les nanoparticules permet de piéger les radicaux libres, de restaurer l'activité des enzymes antioxydantes endogènes et de protéger l'architecture cellulaire du cœur, du foie et des reins contre les dommages nécrotiques et le stress oxydatif (Shabbir et al., 2023 ; Daniel et al., 2022 ; Kumari et al., 2012).

2.1 Effets de l'extrait de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L) et les nanoparticules d'oxyde de fer sur les paramètres de la croissance globale et métabolique des rats :

2.1.1 Évolution du poids corporel:

La dynamique pondérale est un indicateur physiologique majeur de la sévérité du diabète alloxanique et de l'efficacité des traitements. Nos résultats montrent une perte de poids rapide et hautement significative chez les rats diabétiques non traités (TD) par rapport aux témoins sains (T). Ce dépérissement s'explique par l'absence d'insuline endogène, qui entraîne une privation énergétique cellulaire et active des voies cataboliques intenses (protéolyse musculaire, lipolyse périphérique), associées à la triade diabétique (polyurie, polydipsie, polyphagie) (Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008)

L'administration de l'extrait de fenugrec seul (DFU) atténue la chute pondérale et permet une reprise progressive du poids, confirmant la capacité des composés bioactifs du fenugrec à restaurer l'anabolisme tissulaire (Mohammad et al., 2006 ; Sarker et al., 2024). Les nanoparticules d'oxyde de fer seules (DFE) stabilisent le poids corporel sans toxicité, ce qui s'accorde avec leur innocuité à faible dose et leur effet protecteur contre le stress oxydatif (Shabbir et al., 2023 ; Daniel et al., 2022).

Le traitement combiné (DM) montre la meilleure récupération pondérale, annulant les signes de la triade diabétique. Cette synergie entre la matrice végétale et les nanoparticules neutralise précocement le stress oxydatif et relance les processus métaboliques constructeurs (Shabbir et al., 2023; Abdullah et al., 2020 ; Kumar & Tiwari, 2026).

2.1.2 Évolution du taux de La glycémie plasmatique ::

Le groupe témoin sain (T) maintient une glycémie normale tout au long de l'expérience. En revanche, l'alloxane provoque une hyperglycémie aiguë et sévère (5 g/L) chez le groupe TD, due à l'internalisation sélective de l'alloxane via GLUT2, au stress oxydatif intramitochondrial et à la destruction des cellules β (Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008 ; Rohilla & Ali, 2012).

Le traitement par le fenugrec seul (DFU) réduit significativement l'hyperglycémie, grâce à l'action insulinomimétique de la 4hydroxyisoleucine et des polyphénols, qui stimulent la sécrétion d'insuline, améliorent la sensibilité périphérique et favorisent la translocation de GLUT4 (Mohammad et al., 2006 ; Sarker et al., 2024). Les nanoparticules seules (DFE)

stabilisent la glycémie à des niveaux modérés, en piégeant les radicaux libres et en protégeant les tissus métaboliques (Shabbir et al., 2023 ; Daniel et al., 2022).

La combinaison (DM) normalise la glycémie (valeurs proches de T), émontrant une synergie puissante : l'effet insulino-mimétique du fenugrec associé aux propriétés antioxydantes des nanoparticules permet de restaurer complètement l'homéostasie glucidique (Shabbir et al., 2023 ; Abdullah et al., 2020 ; Kumar & Tiwari, 2026).

2.2 Évaluation des paramètres biochimiques (Glycémie, Urée, Créatinine, TGO, TGP et Fer sérique)

Les rats témoins sains (T) présentent des valeurs stables des biomarqueurs rénaux et hépatiques, confirmant l'intégrité tissulaire (Szkudelski, 2001). Chez les rats diabétiques non traités (TD), l'hyperglycémie chronique induit une augmentation des taux d'urée, de créatinine, des transaminases (ASAT, ALAT) et une perturbation du fer sérique. Ces modifications reflètent une néphropathie et une cytolysse hépatique liées au stress oxydatif (Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008 ; Rohilla & Ali, 2012).

Le traitement par le fenugrec seul (DFU) diminue ces marqueurs, grâce à la richesse de la plante en antioxydants phénoliques et flavonoïdes (Mohammad et al., 2006 ; Sarker et al., 2024). Les nanoparticules seules (DFE) stabilisent les paramètres sans toxicité secondaire, régulant également le métabolisme du fer sérique (Shabbir et al., 2023 ; Daniel et al., 2022). Le traitement combiné (DM) restaure l'ensemble des biomarqueurs à des niveaux normaux, confirmant la synergie protectrice contre les dommages rénaux et hépatiques (Shabbir et al., 2023 ; Abdullah et al., 2020 ; Kumar & Tiwari, 2026).

2.3 .Évaluation des paramètres du stress oxydatif (MDA, GSH, CAT, GST et GPx) :

L'évaluation de l'état redox tissulaire est fondamentale pour comprendre la cytotoxicité de l'alloxane et l'effet protecteur des traitements. Nos résultats montrent une augmentation drastique du MDA et un effondrement du GSH, de la CAT, de la GST et de la GPx chez le groupe TD, témoignant d'un stress oxydatif sévère.

2.3.1 .Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA, indicateur de la peroxydation lipidique, reste bas chez le groupe T (Szkudelski, 2001). Il augmente fortement chez le groupe TD en raison de l'accumulation d'alloxane dans les cellules β via GLUT2 et de la production massive de radicaux hydroxyles

qui attaquent les acides gras membranaires (**Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008**). Le fenugrec seul (DFU) réduit significativement le MDA, confirmant l'effet antioxydant des flavonoïdes et polyphénols (**Sarker et al., 2024**). Les nanoparticules seules (DFE) stabilisent modérément le MDA (**Daniel et al., 2022**). Le traitement combiné (DM) abaisse le MDA au niveau physiologique, grâce à la synergie plantenanoparticules (**Shabbir et al., 2023 ; Sarker et al., 2024**) .

2.3.2 Glutathion réduit (GSH)

Le GSH, antioxydant non enzymatique majeur, s'effondre chez le groupe TD par oxydation massive en GSSG pour compenser le stress radicalaire (**Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008**). Le fenugrec seul restaure partiellement le GSH (**Sarker et al., 2024**), tandis que les nanoparticules seules maintiennent un niveau stable, confirmant leur biocompatibilité (**Daniel et al., 2022**). La combinaison (DM) permet la restauration la plus complète des stocks de GSH, grâce à la synergie entre les métabolites végétaux et le nanovecteur (**Shabbir et al., 2023 ; Abdullah et al., 2020**)

2.3.3 Catalase (CAT)

La CAT, enzyme de dismutation du peroxyde d'hydrogène, est inhibée chez le groupe TD par l'attaque radicalaire (**Szkudelski, 2001 ; Rohilla & Ali, 2012**). Le fenugrec seul stimule son activité (**Sarker et al., 2024**), de même que les nanoparticules seules (**Daniel et al., 2022**). Le traitement combiné rétablit une activité CAT comparable au groupe T, démontrant une protection enzymatique synergique (**Shabbir et al., 2023 ; Dall'Asta et al., 2015**).

2.3.4 .Glutathion Stransférase (GST)

La GST catalyse la conjugaison du GSH avec des électrophiles toxiques. Son activité diminue chez le groupe TD par saturation et carence en GSH (**Lenzen,2008**). Le fenugrec seul restaure l'activité GST (**Sarker et al., 2024**), les nanoparticules seules la maintiennent à des valeurs fonctionnelles (**Daniel et al., 2022**). La combinaison (DM) optimise cette détoxification, grâce à la vectorisation des principes actifs par les nanoparticules (**Shabbir et al., 2023; Abdullah et al., 2020**).

2.3.5 .Glutathion peroxydase (GPx)

La GPx réduit le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques en utilisant le GSH. Son activité s'effondre chez le groupe TD, par attaque radicalaire directe et déficit en GSH (**Szkudelski, 2001 ; Rohilla & Ali, 2012**). Le fenugrec seul stimule la GPx (**Sarker et**

al., 2024), les nanoparticules seules maintiennent une activité physiologique (Daniel et al., 2022). La combinaison (DM) rétablit la GPx à un niveau identique au groupe T, confirmant l'élimination complète du stress oxydatif (Shabbir et al., 2023 ; Kumar & Tiwari, 2026).

2.4 Évaluation la coupe histologique des différents organes chez les rattes :

2.4.1 Les foies :

G2 (Diabétique non traité) : L'induction du diabète par l'alloxane provoque une stéatose hépatique et une souffrance cellulaire. Ces altérations sont classiquement décrites dans la littérature. (Aristi et al. 2015) rapportent que l'hyperglycémie chronique entraîne une accumulation d'acides gras libres dans le foie, une peroxydation lipidique et une vacuolisation des hépatocytes. L'anisocaryose et la pycnose nucléaire reflètent un stress oxydatif intense et une apoptose.

G3 (Fenugrec seul) : La nette amélioration observée confirme les propriétés hépatoprotectrices de *Trigonella foenum-graecum*. Thakran et al. (2004) ont montré que la poudre de graines de fenugrec réduit les anomalies histologiques hépatiques chez le rat diabétique, notamment la stéatose et la nécrose, grâce à ses composés antioxydants (flavonoïdes, saponines). (Al Kaabi & Sattar Rasheed (2026) soulignent également l'effet bénéfique du fenugrec sur l'hépatopathie diabétique.

G4 (Nanoparticules d'oxyde de fer seules) : La récupération partielle mais hétérogène, avec présence de micro-dépôts sombres, s'explique par la biodistribution des IONPs. (Aghasi et al 2015). Ont montré que les nanoparticules d'oxyde de fer s'accumulent dans les cellules de Kupffer et peuvent induire un stress oxydatif local (réaction de Fenton), ce qui limite l'homogénéité de la restauration tissulaire. Cependant, l'effet métabolique systémique du fer atténue certains désordres diabétiques.

G5 (Synergie Fenugrec + IONPs) : La restauration quasi-totale démontre un effet synergique majeur. Selon (Ramesh et al. (2019), l'extrait de fenugrec agit comme agent réducteur et de coiffage (capping) lors de la synthèse verte des nanoparticules. Cet enrobage naturel neutralise la toxicité du fer, tandis que les nanoparticules améliorent la biodisponibilité des principes actifs du fenugrec, permettant une régénération hépatique optimale.

2.4.2 Les reins :

G2 : Les lésions glomérulaires et tubulaires sont caractéristiques de la néphropathie diabétique. **(Al Kaabi & Sattar Rasheed (2026))** décrivent des déformations glomérulaires, un épaissement de la membrane basale et une vacuolisation tubulaire chez les rats diabétiques. L'hyperglycémie active la protéine kinase C (PKC) et favorise l'accumulation de produits de glycation avancée (AGEs), altérant les pompes ioniques et entraînant une dégénérescence hydropique.

G3 : L'amélioration significative confirme l'effet néphroprotecteur du fenugrec. **(Zhou et al.2014)** ont montré que le fenugrec inhibe la voie TGF- β 1/CTGF et réduit le stress oxydatif rénal, préservant l'architecture glomérulaire et tubulaire.

G4 : La persistance d'anomalies tubulaires résiduelles est cohérente avec les travaux de **Radu et al. (2021)** : l'exposition aux IONPs induit des modifications biochimiques et histologiques rénales transitoires, liées au passage des nanoparticules dans le filtrat glomérulaire et à leur interaction avec les tubules proximaux.

G5 : La synergie permet une restauration optimale. **(Ramesh et al. (2019))** soulignent que l'association plante nanoparticules annule la néphrotoxicité du fer grâce au capping polyphénolique, tout en améliorant la délivrance des agents antioxydants au niveau rénal.

2.4.3 Les cœur (myocarde) :

G2 : Les altérations observées (désorganisation des fibres, fragmentation, œdème interstitiel) sont typiques de la cardiomyopathie diabétique. **(Bhatt et al. (2021))** décrivent que l'hyperglycémie chronique induit un stress oxydatif et une accumulation d'AGEs dans le myocarde, altérant les protéines contractiles et favorisant l'apoptose des cardiomyocytes.

G3 : La protection myocardique par le fenugrec est documentée par **(Anuradha & Ravikumar2001)** les extraits de fenugrec restaurent les enzymes antioxydantes cardiaques (catalase, GPx) et réduisent la peroxydation lipidique, préservant ainsi l'intégrité structurale des fibres.

G4 : La récupération partielle mais hétérogène s'explique par la haute vascularisation du cœur. **Kanakis et al. (2023)** rapportent que les IONPs peuvent générer localement des radicaux hydroxyles par réaction de Fenton, limitant l'homogénéité de la restauration tissulaire.

G5 : La quasi-normalisation du myocarde dans le groupe synergique confirme l'intérêt de la nanophytomédecine. **(Ramesh et al. (2019)** montrent que l'association fenugrec IONPs potentialise la cardioprotection en combinant l'effet antioxydant massif de la plante et la capacité vectorielle des nanoparticules, permettant un ciblage efficace des principes actifs vers les cardiomyocytes.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Cette étude expérimentale apporte une contribution scientifique prometteuse dans le domaine de la nanomédecine verte en évaluant l'efficacité thérapeutique de l'extrait d'alcaloïdes de *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec) et des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_3O_4), administrés seuls ou en combinaison, face aux désordres métaboliques et au stress oxydatif induits par l'alloxane chez les rats. Les résultats obtenus confirment en premier lieu la haute toxicité systémique de l'alloxane, qui s'est traduite par une altération drastique du poids corporel, une hyperglycémie aiguë, et des perturbations sévères des biomarqueurs réno-hépatiques tels que l'urée, la créatinine, les transaminases TGO et TGP, ainsi que le fer sérique. Au niveau cellulaire, ce dysfonctionnement global est intimement lié à l'instauration d'un stress oxydatif majeur, objectivé par une lipoperoxydation membranaire intense marquée par l'élévation du MDA, parallèlement à un effondrement des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques à savoir le GSH, la catalase, la GPx et la GST.

En contrepartie, l'administration des traitements a révélé des propriétés correctrices majeures et encourageantes. L'extrait de fenugrec seul a prouvé son rôle crucial d'agent hypoglycémiant et cytoprotecteur naturel, capable de stimuler l'anabolisme et de limiter efficacement les fuites enzymatiques tissulaires. Parallèlement, les nanoparticules d'oxyde de fer seules, administrées à des doses minimales et sub-toxiques, ont démontré une excellente biocompatibilité systémique, régulant positivement la glycémie et l'homéostasie du fer sans induire de surcharge métallique ni de toxicité organique chez les animaux traités.

De façon remarquable, c'est le traitement combiné (Lot DM) qui a affiché les performances thérapeutiques les plus optimales et les plus stables. Cette association a permis une restauration quasi-totale de l'homéostasie du glucose, une protection absolue des rats contre la mortalité, et un rétablissement spectaculaire de l'équilibre oxydant/antioxydant. Ce phénomène valide l'existence d'une synergie d'action unique où les nanoparticules à faible dose agissent potentiellement comme des "nanozymes" mimétiques, tandis que la matrice végétale du fenugrec fournit un bouclier antioxydant complémentaire tout en optimisant la biodisponibilité et le ciblage des principes actifs vers les organes lésés.

En ouverture, ces résultats prometteurs tracent la voie à plusieurs perspectives futures indispensables pour approfondir ce travail. Il serait particulièrement intéressant d'initier des

Conclusion Générale

analyses moléculaires par Western Blot ou RT-PCR afin d'évaluer l'expression exacte des transporteurs GLUT4 et des gènes de signalisation de l'insuline.

L'étude histologique a apporté une confirmation directe et complémentaire aux analyses biochimiques. Chez les rats diabétiques non traités (G2), les coupes de foie, de reins et de cœur ont révélé des altérations majeures : vacuolisation cytoplasmique et stéatose hépatique, néphropathie avec desquamation tubulaire, et cardiomyopathie caractérisée par une désorganisation des fibres myocardiques. Les monothérapies par le fenugrec seul (G3) ou les nanoparticules d'oxyde de fer seules (G4) ont permis une amélioration partielle, mais laissaient persister des signes de souffrance tissulaire résiduelle. En revanche, le groupe traité par la combinaison synergique (G5) a montré une restauration architecturale spectaculaire des trois organes, quasi identique à celle des rats sains. Ces observations histologiques valident pleinement l'efficacité supérieure de l'approche combinée et confortent l'existence d'une synergie entre l'extrait de fenugrec et les nanoparticules d'oxyde de fer dans la protection contre les complications tissulaires du diabète.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdullah, J. A. A., Eddine, L. S., Abderrhmane, B., Alonso-González, M., Guerrero, A., & Romero, A. (2020). Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles by pheonix dactylifera leaf extract and evaluation of their antioxidant activity. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 17, 100280.

Abou El-Soud, N. H., Khalil, M. Y., Hussein, J. S., Oraby, F. S. H., & Farrag, A. H. (2007). Antidiabetic effects of fenugreek alkaliod extract in streptozotocin induced hyperglycemic rats. *J Appl Sci Res*, 3(10), 1073-1083.

Aebi.1984. Catalase, methods in enzymology. In : L. Packer (Ed). *Academic pres, Orlando*. 105 : 121-125.

Aghasi, M., et al. (2015). Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver and kidney in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 5.222-214 ,(3)

Al Kaabi, M., & Sattar Rasheed, A. (2026). Therapeutic Role of Trigonella Foenum graecum L. Seeds Alone or Combined with Antidiabetic Agents in Mitigating Alloxan Induced Hepatopathy and Nephropathy in Diabetic Male Rats. *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*, 17.(1)

Alloun, K.2011. Etude de la cytotoxicité des nanoparticules d'oxydes de fer.Mem.Doctorat:P 21.

Amedea, B., Seabra,A., Nelson, D.2015. Nanotoxicology of metal oxide nanoparticles. *Metals*.ISSN 2075-4701:P 934-975.

American Diabetes Association Professional Practice Committee.2024. Introduction and methodology: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*, 47(Supplement_1), p 51

Références bibliographiques

Anuradha, C. V., & Ravikumar, P. (2001). Restoration of tissue antioxidants by fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) in alloxan-diabetic rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 45(4), 408-414.

Aristi, S., et al. (2015). Alloxan-Induced Diabetes Causes Morphological and Ultrastructural Changes in Rat Liver and Kidney Tissues. *Journal of Diabetes Research*, vol. 2015, Article ID 479163.

Arturo, I., Martine, M.A., Garcia ,L., Perry,D. L.(2009). Study of the properties of iron oxidenanostructures. In: *Research in Nanotechnology Developments* ISBN: 978-1-60741:07-28P.

Arturo, I., Martine, M.A., Garcia,L., Perry,D. L.2009. Study of the properties of iron oxide nanostructures. In : *Research in Nanotechnology Developments* ISBN: 978-1-60741:P 7-28.

Atia Insaf, B. I. 2024. Etude bibliographique sur les rôles de la *Trigonellafoenum-graecum* dans la survenue des malformations congénitales (Doctoral dissertation).

B

B.A, Arvidson. 1994, A review of axonal transport of metals, *Toxicology*. 88:P 1-14.

Babadi, V.Y., Najafi, L., Najafi, A., Gholami, H., Beigi Zarji, M.E., Golzadeh, J., Amraie, E., & Shirband, A., (2012). Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *J Pharm Biomed Sci*, 23(04), 1-5.

Babadi, Y., 2013. Evaluation of Iron Oxide nanoparticles effects on tissue and Enzymes of Thyroid in Rats. *Annale de l'ISSN*. vol. 2 (7):P 1-3.

Babadi, Y., 2013. Evaluation of Iron Oxide nanoparticles effects on tissue and Enzymes ofThyroid in Rats. *Annale de l'ISSN*. vol. 2 (7): 1-3.

Baraka-Vidot, J.2014. Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion– Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Baroudi, I.2014.Rétention de Samarium (III) par des Particules magnétiques. *Mem Master*,01-P 64.

Références bibliographiques

BENZIANE, M. N. I. 2020. Phytochimie et propriétés biocides et émulsifiantes des extraits aqueux des graines de fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.) (Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun-Tiaret-).

Bergmeyer, H.U., 1978. *Clin Chem*, 24, 58-73. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80027.

Bhatt, S. P., et al. (2021). Advanced Glycation End-Products (AGEs) and Oxidative Stress in Diabetic Cardiomyopathy: Molecular Mechanisms and Histographical Alterations in Rat Models. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 154, 45-58.

Bouchra, M. E. D. D. O. U. R. 2022. Caractérisation pharmacologique des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique du fenugrec (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).

Bougherara, L., Hanssens, S., Subtil, D., Vambergue, A., & Deruelle, P. 2017. Diabète gestationnel. *EMC-Obstétrique/Gynécologie*, 30, P 2-11.

Braillard, O., & Gastaldi, G. 2017. Le diabète de type 2. Service de médecine de premier recours–DMCPRU-HUG, 8(02).

C

Chudobova, Dagmar, et al.28 juin 2013, Complexes of Silver(I) Ions and Silver Phosphate Nanoparticles with Hyaluronic Acid and/or Chitosan as Promising Antimicrobial Agents for Vascular Grafts. s.l. : licensee MDPI, *International Journal of molecular Sciences*, p. 13596

Chudobova, Dagmar, et al.28 juin 2013,Complexes of Silver(I) Ions and Silver PhosphateNanoparticles with Hyaluronic Acid and/or Chitosan as Promising Antimicrobial Agents forVascular Grafts. s.l. : licensee MDPI, *International Journal of molecular Sciences*, p. 13596

Chuto, G, Chaumet-Riffaud, P et (SFMN). 12 février 2010, Les nanoparticules. s.l. : Elsevier Masson SAS, *Médecine Nucléaire*,P 371-373.

Chuto, G, Chaumet-Riffaud, P et (SFMN). 12 février 2010,Les nanoparticules. s.l. : ElsevierMasson SAS, *Médecine Nucléaire*, pp. 371-373.

Cristina, M.M., Pei, Y., Ring, A.T. 2013. Room temperature co-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases. *Materials*.6.

D

Dall'Asta, M., Bayle, M., Neasta, J., Scazzina, F., Bruni, R., Cros, G., ... & Oiry, C. (2015). Protection of pancreatic β -cell function by dietary polyphenols. *Phytochemistry reviews*, 14(6), 933-959.

Daniel, A. I., Umar, M. B., Tijani, O. J., & Muhammad, R. (2022). Antidiabetic potentials of green-synthesized alpha iron oxide nanoparticles using stem extract of *Securidaca longipedunculata*. *International Nano Letters*, 12(3), 281-293.

Drabo, Y. J., Kabore, J., & Lengani, A. 1996. COMPLICATIONS DU DIABÈTE SUCRÉ. *Bull. Soc. Path. Ex*, 89, P 191-195.

Drouin, P., Blicke, J. F., Charbonnel, B., Eschwege, E., Guillausseau, P. J., Plouin, P. F., Daninos, J. M., Balarac, N., & Sauvanet, J. P. 1999. Diagnostic et classification du diabète sucré: Les nouveaux critères. *Diabetes & Metabolism (Paris)*, 25(1), P 72

E

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G. 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13:341.

F

FID (Fédération internationale du diabète) (2019). Atlas du diabète de la FID. 9ème Édition. P1.

Flohe L et Gunzler W. 1984. Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* P : 114–117.

Forbes, J. M., & Cooper, M. E. 2013. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*, 93(1), P 137-188.

G

Ghedira, K., Goetz, P. L. J. R., & Le Jeune, R. 2010. Fenugrec : *Trigonella foenum-græcum* L.(Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie*, 8(3), 180-184.

Références bibliographiques

Gribouski, E., Jaimes ,R.(2009). The use of iron-oxide nanoparticles for hyperthermia cancer treatment and simultaneous mri monitoring. Project Number: CYS-U539:01-62P.

Grimaldi, A., & Hartemann-Heurtier, A.2009. Guide pratique du diabète (4e éd.). Masson.P4

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

Guitou, Marie-Anne.23 juin 2014, Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂. s.l. : UNIVERSIT DE BORDEAUX, P 34-35.

Guitou, Marie-Anne.23 juin 2014,Nanoparticules et santé : des applications aux risquespotentiels. L'exemple du TiO₂. s.l. : UNIVERSIT DE BORDEAUX, pp. 34-35.

H

Habig H., Pabst MJ., Jacobi WB.1974. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J.Biol Chem* 249:7130-7136.

Hansen, L. A., Prakash, U. B., & Colby, T. V. 1989. Pulmonary complications in diabetes mellitus. Mayo Clinic proceedings, 64(7), P 791–799.

Haw, C. Y., Mohamed, F., Chia, C. H., Radiman, S., Zakaria, S., Huang, N. M., & Lim, H. N., 2010.Hydrothermal synthesis of magnetite nanoparticles as MRI contrast agents, *Ceramics International*, 36(4): P 1417-1422.

Haw, C. Y., Mohamed, F., Chia, C. H., Radiman, S., Zakaria, S., Huang, N. M., & Lim, H. N.,(2010).Hydrothermal synthesis of magnetite nanoparticles as MRI contrast agents, *CeramicsInternational*, 36(4): 1417-1422.

Henry, R.J., 1960. *Am J clin Path.*, 34, 381-398. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80025.

HN, P., Patil, P. B., Tote, M. V., Mutha, S. S., & Bhosale, A. V. Antidiabetic Effects of Fenugreek Alkaliod Extract in alloxan Induced Hyperglycemic Rats.

Houlot R., 1984. Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Ed. Maloine. 1921, 225 227.

I

Iravani, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chemistry* 13(10) (2011)
2638-2650

Irena, M.M.2009. Emulsions structurées et nanoparticules magnétiques dans un hydrogel : réalisation, caractérisation et validation en tant que système de délivrance thermomagnétique. Thèse Doctorat :01-P 153.

J

Jay, A.2006. The toxicity of iron, an essential element. *Toxicology Brief. Veterinary Medicine*:P 82-90.

Jeevanandam, Jaison, et al. 3 avril 2018, Review on nanoparticles and nanostructured materials:history, sources, toxicity and regulations. s.l. : licensee Beilstein-Institut, Beilstein Journal of Nanotechnology, pp. 1053-1054.

Jordanovska, Svetlana.15 décembre 2015, Les nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique: comparaison des méthodes de fabrication. s.l. : Sciences pharmaceutiques,HAL, p. 23.

K

Kanakis, I., et al. (2023). Evaluation of Iron Oxide Nanoparticles Accumulation in High Vascularized Organs: Histopathological and Oxidative Stress Biomarkers in Rat Heart. *Toxicology Reports*, 10, 212-221.

Khan, Ibrahim, Saeed, Khalid et Khan, Idrees. 18 mai 2017, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. s.l. : Elsevier B.V. on behalf of King Saud University, *Arabian Journal of Chemistry*, P. 909.

KHELIFA, N., & KACIMI, M. 2025. Diagnostics et Contrôle de la Maladie de Diabète-2 à base de Théorie de l'Évidence (Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun–Tiaret).

KOUACHI Riane, C. B. 2024. Etude phytochimique et activités biologiques de *Trigonella foenum-graecum* L : Etude bibliographique (Doctoral dissertation), P 18-19.

Références bibliographiques

Kumar, P., & Tiwari, S. B. (2026). Phytochemical investigation and integrating network pharmacology of *Trigonella foenum graecum* Linn. for antidiabetic potential. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 63(2), 153-162.

Kumari, M., Rajak, S., Singh, S. P., Kumari, S. I., Kumar, P. U., Murty, U. S., ... & Rahman, M. F. (2012). Repeated oral dose toxicity of iron oxide nanoparticles: biochemical and histopathological alterations in different tissues of rats. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 12(3), 2149-2159.

L

L, Ohl, et al. 2004,CCR7 governs skin dendritic cell migration under inflammatory and steady-state conditions. *Immunity* . 21: P 279- 288 .

L'AFSSET, A et A.D.2006, Les nanomatériaux.effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement, agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail paris, P 248.

Laurent, C.2005.Rôle du stress oxydatif dans le développement des effets cellulaires radio-induits au niveau cutané :application aux irradiations localisées accidentelles.le grade de Docteur.Max Weber Le savant et le politique, P 226

Lenzen, S.2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), P 216-226.

Lingling Zhang et all .2010. Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli* p1632 15. SS, Tinkle, et al. 2003, Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. *Environ Health Perspect.* 111: 1202-1208

M

MA, Akerman, et al. 2002, Nanocrystal targeting in vivo. *Proc Natl Acad Sci . USA* : s.n., P 99, 1261712621.

Mac Key, E.M., Rackeyll, J., 1927. *Clin. Invest, J. Clin. Invest.*, 4, 295. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20141

Références bibliographiques

Mahdavi ,M., Bin Ahmad,M., Mdjelas , H., Namvar ,F., Nadi,B .,Mohamad-Zaki, A.R., Amin ,J.2013. Synthesis, surface modification and characterisation of biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications.

Mahmoud, I. A. A.2020. Anti-hepatotoxic and Anti-Diabetic Activities of Origanum majorana L and Solenostemma argel on Wistar Rats (Doctoral dissertation, Al-Neelain University).

Makarov, A. Love, O. Sinitsyna, S. Makarova, I. Yaminsky, M. Tiliansky, N. Kalinina,2014. “Green”nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants, Acta Naturae (англоязычная версия) 6.

Marchand, L., & Thivolet, C. 2016. Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1. EMC-Endocrinologie-Nutrition, 13(4), P 1-12.

Massin, P., Dupas, B., Erginay, A., Feldman, S., & Leclerc-Collet, A. 2023. Rétinopathie diabétique (3e éd.). Elsevier Masson.

Mohamed-Ahmed-Ali ,L.(2014). Toxicity studies of polymer based supermagnetic iron oxide nanoparticles.Thèse. Doctorat. Colección de Estudios de Física Vol. XX :01-240P.

Mohammad, S., Taha, A., Akhtar, K., Bamezai, R. N. K., & Baquer, N. Z. (2006). In vivo effect of Trigonella foenum graecum on the expression of pyruvate kinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, and distribution of glucose transporter (GLUT4) in alloxan-diabetic rats. Canadian journal of physiology and pharmacology, 84(6), 647-654.

Mohapatra, M., Anand, S. (2010). Synthesis and applications of nanostructured iron oxides/hydroxides a review.International Journal of Engineering, Science and Technology, Vol. 2, No. 8,127-146P

Molinier, A. (2008). Pathologie médicale et pratique infirmière: Hématologie, oncologie, neurologie, ORL, stomatologie, chirurgie maxillofaciale, ophtalmologie, dermatologie, maladies infectieuses. Ed. Wolters Kluwer France, Paris. 601P.

Moller P, Wallin H & Knudsen LE., 1996. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. Chem Biol Interact 102, 17-36.

Mowl, A., Alauddin, M., Rahman, M., & Ahmed, K. (2009). Antihyperglycemic effect of Trigonella foenum-graecum (fenugreek) seed extract in alloxan-induced diabetic rats and its

Références bibliographiques

use in diabetes mellitus: a brief qualitative phytochemical and acute toxicity test on the extract. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 6(3).

N

Nadour, E.H., 2012. Synthèse par Co- précipitations d'un oxyde mixte de fer et de chrome et caractérisation physico-chimique. Thèse magister, UMM. Tizi-Ouzou, P 65.

O

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical biochemistry, 95(2), 351-358.

Orban, J. C., & Ichai, C. 2008. Complications métaboliques aiguës du diabète. Réanimation, 17(8), P 761-767.

Ostiguy, Claude, et al.mai 2010, Les nanoparticules de synthèse Connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST. s.l. : l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST),P 10.

Oueslati, H. A., & Ghédira, K. 2015. Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur Trigonella foenum-graecum. Phytothérapie, 13(4), P 234-238.

P

Portha, B. 2022. Physiopathologie du diabète : Mécanismes d'une pandémie silencieuse. Elsevier Health Sciences.

R

Radu, M., et al. (2021). Exposure to Iron Oxide Nanoparticles Induces Renal Transitory Biochemical and Histopathological Changes in Mice. Nanomaterials (Basel), 11,(5) 1243.

Rahman , M., Sherbahadar, K., Jamal ,A., Faisal ,M .Aisiri,A.M.2011 .Ironoxidenanoparticles. Nanomaterials:P 44-66.

Rahmani, M., Toumi-Benali, F., Hamel, L., & Dif, M. M. 2015. Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur Trigonella foenum-graecum L. Phytothérapie, P 1-3.

Références bibliographiques

Ramesh, M., et al. (2019). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Trigonella foenum-graecum seed extract: Characterization, cardioprotective synergy, and antioxidant potential. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 10(3), 1-8.

RICAUD, M et & WITSCHGER, O.2012, Les nanomatériaux: définitions; risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention, INRS.

Rigalleau, V., Lang, J., & Gin, H. 2007. Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition*, 10, P 366.

Rohilla, A., & Ali, S. (2012). Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*, 3(2), 819-823.

S

S. Iravani, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, Green Chemistry 13(10) 2011 2638-2650.

S. Iravani, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chemistry* 13(10) (2011) 2638-2650

Sabrina, C. H. E. L. O. U. F. I. 2024. Étude des composés actifs de la plante médicinale fenugrec à travers des analyses chimiques et phytochimique et évaluation de son potentiel anti-arthrosique (Doctoral dissertation, Université Chadli Bendjedid El-Tarf).

Sadiq,M., Zamin,G., Razia,A., Ilyas ,M.2014.Synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles supported on ziconia and its application in the gas-phase oxidation of cyclohexanol to cyclohexanone. *Modern Research in Catalysis*, 3, 12-17:P 14-17.

SAMIRA, B. 2014. Contribution à l'étude de l'effet du sélénium sur le mécanisme biochimique chez le diabète expérimental (Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar).

Sara BELATTAR., 24 novembre 2009. Réactivités thermiques et photochimiques du fer en solution aqueuse vis-à-vis de molécules organiques en phase homogène et hétérogène; MAGISTER EN CHIMIE, P 134.

Sara BELATTAR., 24 novembre 2009. Réactivités thermiques et photochimiques du fer en solution aqueuse vis-à-vis de molécules organiques en phase homogène et hétérogène;MAGISTER EN CHIMIE, p: 134.

Sarker, D. K., Ray, P., Dutta, A. K., Rouf, R., & Uddin, S. J. (2024). Antidiabetic potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A magic herb for diabetes mellitus. *Food Science & Nutrition*, 12(10), 7108-7136.

Sashindran R, Balasundaram M, Jegathambigai R and Kumar P., 2015. Evaluation of Neuroprotective effect of Quercetin and coenzyme q10 in ethanol induced neurotoxicity in mice. *IJABPT* 67-71pp.

Schwertmann U., Cornel R.M., 1991. Iron Oxides in the laboratory- preparation and characterization, edition VCH.

Senat, M. V., & Deruelle, P. 2016. Le diabète gestationnel. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 44(4), P 244-247.

Shabbir, M. A., Naveed, M., Rehman, S. U., Ain, N. U., Aziz, T., Alharbi, M., ... & Alasmari, A. F. (2023). Synthesis of iron oxide nanoparticles from *Madhuca indica* plant extract and assessment of their cytotoxic, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic properties via different nanoinformatics approaches. *ACS omega*, 8(37), 33358-33366.

Solis-Herrera, C., Triplitt, C., Reasner, C., DeFronzo, R. A., & Cersosimo, E.2018. Classification of Diabetes Mellitus. In K. R. Feingold (Eds.) et. al., *Endotext*. MDText.com, Inc.

Sophie, L., Delphine, F., Marc, P., Alain, R., Caroline, R., Luce,V .E., & Robert, N., 2008.Muller, Magnetic Iron Oxide Nanoparticles:Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations,and Biological Applications*Chem. Rev* ; P 108.

Sophie, L., Delphine, F., Marc, P., Alain, R., Caroline, R., Luce,V .E., & Robert, N.,(2008).Muller, Magnetic Iron Oxide Nanoparticles:Synthesis, Stabilization, Vectorization,Physicochemical Characterizations,and Biological Applications*Chem. Rev* ; 108; 2064-2110.

Spinas, G. A., & Lehmann, R. 2001. Diabète sucré : Diagnostic, classification et pathogenèse. In *Forum Med Suisse* ,P 519-525.

Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), P 537-546.

Références bibliographiques

Tenenbaum M, Bonnefond A, Froguel P, Abderrahmani A .2018. Physiopathologie du diabète. Revue Francophone Des Laboratoires. 502: P 26–32

Thakran, S., et al. (2004). Trigonella foenum graecum seed powder protects against histopathological abnormalities in tissues of diabetic rats. Molecular and Cellular Biochemistry, 266(1-2), 151-159.

U

UNFRIED, K, et al. 2007,Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms.Nanotoxicology . 1, P 52-71.

V

V. Makarov, A. Love, O. Sinitsyna, S. Makarova, I. Yaminsky, M. Taliansky, N. Kalinina,2014 “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants, Acta Naturae P 6.

Vaidya, V., Gangan, N., & Sheehan, J. 2015. Impact of cardiovascular complications among patients with Type 2 diabetes mellitus: a systematic review. Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research, 15(3), P 487–497.

W

WANG, BING, et al. 2012, Metabolism of Nanomaterials in Vivo : Blood Circulation and Organ Clearance. s.l. : American Chemical Society, ACCOUNTS OF CHEMICAL RESEARCH, pp. P 765-767

Wang, J., Zhang, B., Wang, L., Wang, M., & Gao, F., (2015). One-pot synthesis of water-soluble superparamagnetic iron oxide nanoparticles and their MRI contrast effects in the mouse brains, Materials Science and Engineering: C, 48: 416-423.

Wang, J., Zhang, B., Wang, L., Wang, M., & Gao, F., 2015. One-pot synthesis of water-soluble superparamagnetic iron oxide nanoparticles and their MRI contrast effects in the mouse brains, Materials Science and Engineering : C, 48:P 416-423.

Wang, N., & Zhang, C. (2024). Oxidative stress : a culprit in the progression of diabetic kidney disease. Antioxidants, 13(4), 455.

Références bibliographiques

Wattiez, A. S., Dupuis, A., & Courteix, C. 2012. Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse ? *Douleur et analgésie*, 25(1), P 38-45.

Weckbeker G et Cor J. 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letter* 40: 257-260.

Williams., 1977. *Clin. Chem.*, 23, 237. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20061

Z

Zeyons, Ophélie, 20 octobre 2008, Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. s.l. : Université Pierre et Marie Curie - Paris, p. 23

Zhang, W., Zuo, X. D., Wu, C. W. 2015. Synthesis and magnetic properties of carbon nanotube-iron oxide nanoparticle composites for hyperthermia: a review. *Rev. Adv. Mater. Sci.* 40 : P 165-176.

Zhou, J., et al. (2014). *Fenugreek Prevents the Development of STZ-Induced Diabetic Nephropathy in a Rat Model via Alleviating Renal Oxidative Stress and Inhibiting TGF- β 1 Signaling Pathway. * *Experimental and Therapeutic Medicine*, 7(6), 1555-1660.