



N° d'ordre :

N° de série :

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 حمزة لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE
MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

Effet de l'extrait aqueux de *Phragmites australis* (1841) chez les
rats diabétiques *Wistar albinos*

Présenté par :

AZZI Manel et HAMIDA Abir

Devant le jury composé de:

Présidente : Melle NADJI N M.A.A Université d'El Oued

Promoteur : Mr DEROUICHE S M.A.A Université d'El Oued

Examinatrice : Mme MAHBOUB N M.A.A Université d'El Oued

Année universitaire 2015/2016

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions le DIEU, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Mr.DEROVICHE Samir qui a proposé le thème de ce mémoire, Nous lui remercions pour son enseignement, son support, ils nous ont toujours bien accueilli malgré les obligations et préoccupations administratives mais avoir accepté de diriger du début à la fin et de suivre ce travail avec ses précieux conseils, sagesse et bienveillance. Nous vous remercions infiniment à votre intéressant de la recherche et le développement de la biologie à notre université. Un grand Merci pour votre confiance et l'encouragement !

Nous exprimons nos vifs remerciements à Melle N. NADJI pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire malgré ses nombreuses charges. Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à Mme N. MAHBOUB d'avoir accepté d'examiner notre travail. nous tenons à lui exprimer notre grand respect.

Nos vifs remerciements s'adressent à les ingénieurs de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université d'EL-OUED, pour l'attention qu'elle a porté à ce travail, son support et ses encouragements .

Un grand merci aussi à toute l'équipe de laboratoire de l'Hôpital Ben Amor Djilani pour ses aides et ses confiances à fin d'obtenir des bons résultats.

Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tout ce qui participe à la réalisation de ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

ABIR

MANEL

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation le possible effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de l'extrait aqueux de racines de *Phragmites australis* pendant 21 jours chez des rats rendus diabétiques par alloxane (120mg/kg). L'étude expérimentale est menée au laboratoire sur 24 rats male de la souche *Wistar* répartis en trois lots de quatre rats chacun dont le premier lot sert de témoin, le second est un lot des rats diabétiques et le troisième est un lot des rats diabétique traité par *phragmites australis* (200 mg/kg p.c). Les rats sont rendus diabétiques par l'injection intra péritonéale de 120 mg/kg d'alloxane (dose unique). Le poids corporel est mesuré régulièrement. Après 21 jours de traitement, les rats sont sacrifiés et quelques paramètres sont déterminés. A partir de l'analyse des résultats on observe que la plante de *phragmites australis* ne présente aucun toxicité sur les rats étudiés. De plus l'analyse des résultats montre clairement que le diabète induit chez les rats a provoqué un déficit pondéral, une augmentation de la concentration sérique du glucose, triglycérides, de l'urée. Cependant pas de variation significative de la concentration sérique des protéines totales et du cholestérol. De plus, l'activité des transaminases (TGO, TGP) et phosphatase alcaline sont augmentées et de l'alpha amylase est diminuée. En outre, le diabète a augmenté le stress oxydatif qui traduit par une augmentation de la teneur tissulaire de malondialdéhyde (MDA), une diminution du taux du glutathion réduit (GSH) et une diminution de l'activité de GPX pancréatique et activité de SOD hépatique et rénale. Aussi, les résultats ont montré clairement des altérations structurales de pancréas avec nécrose et dégénérescences tissulaire. Le traitement par *phragmites australis* à presque normaliser les paramètres biochimiques en réduisant la glycémie (15%), triglycérides (36.76%) et LDL (18.96%), avec une amélioration de l'état de stress et protection du tissu pancréatique contre les attaques radicalaires. En conclusion, la présente étude suggère que le *Phragmites australis* a un effet bénéfique contre le développement du diabète et ces complications.

Mots clés : Diabète, *Phragmites*, hypoglycémiant, antioxydant, pancréas.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الأثر الخافض لنسبة السكر والدهون في الدم من جهة والفعالية المضادة للأكسدة من جهة أخرى للمستخلص المائي لجذور نبات القصب (*Phragmites australis*) لدى جردان صارت مريضة بالسكري بعد حقنها بمادة الألوكسان (120 ملغ/كغ)، تحقيقاً لهذه الدراسة أجرينا دراستنا على 24 جرداً ذكراً من نوع ويستار تم تقسيمها إلى فوجين الفوج الأول من أجل دراسة سمية النبتة، والفوج الثاني قسم إلى ثلاث مجموعات، المجموعة الأولى شاهدة، الثانية مجموعة مرضى بالسكري غير معالجة والمجموعة الثالثة مجموعة مرضى بالسكري عولجت بالمستخلص المائي لجذور نبات القصب (200 ملغ/كغ) لمدة 21 يوماً. من خلال تحليل النتائج المتحصل عليها نلاحظ أن نبتة القصب ليس لها آثار سمية كبيرة على الجردان المدروسة، من جهة أخرى النتائج المتحصل عليها أظهرت بوضوح أن مرض السكري قد تسبب بارتفاع نسبة السكر والدهون والبولية في الدم، وفي ارتفاع مستوى نشاطية الإنزيمات TGO, TGP, PAL, α amylase، كما لاحظنا أن مرض السكري أدى إلى زيادة الإجهاد التأكسدي المعبر عنه بزيادة بيروكسيد الدهون (MDA) وانخفاض على مستوى مضادات الأكسدة الإنزيمية (GPx, SOD) وغير الإنزيمية (GSH) النسيجية، وأيضاً نلاحظ تخريب على مستوى الخلايا β البنكرياسية لدى الجردان المريضة بالسكري. النتائج المتحصل عليها أظهرت بوضوح أن العلاج بنبات القصب أدى إلى تخفيض نسبة السكر (15%) والدهون (36.76%) في الدم وتقليل مستوى الإجهاد التأكسدي عن طريق الحد من بيروكسيد الدهون وزيادة نشاطية مضادات الأكسدة على مستوى الأنسجة وحماية خلايا البنكرياس. وفي الختام هذه الدراسة تظهر بان نبات القصب له القدرة على الحد من تطور أعراض مرض السكري ومضاعفاته.

الكلمات المفتاحية: الفئران، مرض السكري، القصب، الإجهاد التأكسدي، البنكرياس.

Sommaire

Introduction générale	
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Diabète	
1. Définition du diabète.....	03
2. Types du diabète	03
2.1. Diabète de type 1 (DID).....	03
2.2. Diabète de Type 2 (DIND).....	03
2.2.1. Mécanismes de l'insulinorésistance.....	04
2.2.2. Mécanismes du déficit insulinosécrétoire.....	04
3. Pancréas	04
4. Insuline	05
4.1. Définition	05
4.2. Sécrétion de l'insuline	05
4.3. Mode d'action d'insuline.....	06
5. Facteurs de risque.....	07
6. Complications organiques.....	08
6.1. Macroangiopathiques	08
6.2. Microangiopathie.....	09
Chapitre II : Stress oxydatif	
1. Définition du Stress oxydatif.....	10
2. Radicaux libres	10
2.1. Définition	10

Sommaire

2.2.Sources des radicaux libres	10
2.3. Cibles et conséquences biologiques des radicaux libres	11
2.3.1. Protéines.....	11
2.3.2. Lipides.....	11
2.3.3. Lipoprotéines.....	12
2.3.4. ADN.....	12
4. Antioxydant	12
4.1. Système antioxydant enzymatique.....	13
4.2. Antioxydants non enzymatique.....	14
5. Stress et les pathologies.....	16
5.1. Stress oxydatif et diabète	16
5.1.1. Les sources des radicaux libres aux cours des états d'hyperglycémie	16
5.2. Stress oxydatif et maladies cardiovasculaires	18
Chapitre III : <i>Phragmites australis</i>	
1. Médecine traditionnelle.....	19
1.1. Définition.....	19
1.2. Phytothérapie	19
1.3. Plantes médicinales	19
1.4. Plantes antidiabétiques	20
1.5. Phytochimie de plantes médicinales	20
2. <i>Phragmites australis</i>	21
2.1. Définition	21
2.2.Classification	21

Sommaire

2.3. Description botanique	22
2.5. Habitat	22
2.4. Composition chimique	23
2.6. Domaines d'utilisation	24
DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I : Matériels et Méthodes	
1. Matériel.....	25
1.1. Matériel végétal.....	25
1.1.1. Récolte de <i>Phragmites australis</i>	25
1.1.2. Préparation de l'extrait aqueux.....	25
1.2. Matériel animal.....	25
1.2.1. Étude de la toxicité des extraits	26
1.2.2. Étude l'effet d'extrait de <i>phragmites australis</i>	27
1.2.2. Induction de diabète	27
1.2.3. Traitement des animaux.....	27
1.3. Produits chimiques	27
1.4. Matériels de laboratoires.....	28
2. Méthodes	28
2.1. Screening phytochimique.....	28
2.2. Méthode de dosage des polyphénols et flavonoïdes.....	29
2.3. Effet scavenger du radical DPPH	30
2.4. Test du glycosylation.....	31
2.5. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes.....	31
2.6. Préparation des échantillons des coupes histologiques	32

Sommaire

2.7.. Préparation de l'homogénat des organes	33
2.8. Méthode de dosage des paramètres biochimiques sériques.....	33
2.8.1. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme des carbohydrates et lipides	33
2.8.1.2. Méthode de dosage des triglycérides.....	33
2.8.1.3. Méthode de dosage du cholestérol total.....	34
2.8.1.4. Méthode de dosage du cholestérol-HDL.....	35
2.8.1.5.Méthode de mesure de la concentration de cholestérol-LDL.....	35
2.8.2. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme protéique.....	35
2.8.2.1. Méthode de dosage de l'urée sérique.....	35
2.8.2.2. Méthode de dosage de dosage de créatinine.....	36
2.8.2.3. Méthode de dosage des protéines totales sériques.....	36
2.8.3.Méthode de dosage des paramètres de l'activité enzymatique.....	36
2.8.3.1. Méthode de dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (ASAT).....	36
2.8.3.2. Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT).....	37
2.8.3.3. Méthode de dosage de l'activité de de phosphatase alcaline (ALP).....	38
2.8.3.4. Méthode de dosage de l'activité de de l α -amylase.....	38
2.9. Méthode de dosage des paramètres de stress oxydatif tissulaire	38
2.9.1. Méthode de dosage des protéines tissulaires	38
2.9.2. Méthode de dosage des Malondialdéhyde (MDA) tissulaire.....	39
2.9.3. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaire.....	39
2.9.4. Méthode de dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx) tissulaire.....	41
2.9.5. Méthode de dosage de l'activité du superoxydedismutase (SOD) tissulaire.....	42
3. Méthode d'analyse statistique.....	43
Chapitre II : Résultats et Discussion	
1.Résultats.....	44

Sommaire

1.1. Étude phytochimiques, dosage de polyphénols et des flavonoïdes	44
1.2. Activité anti-radicalaire d'extrait aqueux de <i>Phragmites australis</i>	44
1.3. Test de glycosylation	45
1.4. Étude Teste de toxicité de <i>Phragmites australis</i>	46
1.4.1. Étude de poids relatifs.....	46
1.4.2. Étude des marques biochimiques et de stress oxydatif	46
1.5. Étude de l'effet de <i>Phragmites australis</i> sur des paramètres biochimiques.....	49
1.5.1. Métabolisme des carbohydrates et lipides.....	49
1.5.2. Métabolisme protéique (Urée, créatinine et protéines totales).....	51
1.5.3. Étude de l'effet de <i>Phragmites australis</i> sur l'activité enzymatique	53
1.6. Étude de l'effet de <i>Phragmites australis</i> sur le stress oxydatif.....	55
1.6.1. Étude de la peroxydation lipidique (MDA) et Glutathion réduit (GSH).....	55
1.6.2. Étude de l'activité de GPx et SOD.....	57
1.7. Étude histologiques de pancréas	59
2. Discussion.....	62
Conclusion générale.....	71
Références bibliographiques.....	73
Annexe.....	88
Résumé et mots et clés.	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Anatomie du pancréas	05
02	Structure de l'insuline	06
03	Mode d'action de l'insuline	07
04	Organes cibles des complications du diabète.	08
05	Peroxydation des acides gras polyinsaturés	12
06	Production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire	17
07	<i>Phragmites australis</i>	21
08	<i>Phragmites australis</i>	25
09	Activité antioxydant de l'extrait aqueux de <i>Phragmites australis</i>	45
10	Variation de la concentration du glucose en fonction de la concentration de l'extrait aqueux de <i>Phragmites australis</i> .	45
11	Variation des marqueurs biochimiques et de stress oxydatif chez les différents groupes de rats.	48
12	Variation de la concentration sérique de glucose, des triglycérides, du cholestérol LDL et HDL chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après	51
13	Variation de la concentration sérique de l'urée, la créatinine et les protéines totales chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.	52
14	Variation de l'activité enzymatique sérique de transaminase glutamate oxaloacétate (TGO) et transaminase glutamate pyruvate (TGP) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21	54

Liste des figures

	jours de traitement.	
15	Variation de l'activité enzymatique sérique de la phosphatase alcaline (PAL) et alpha amylase chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.	54
16	Variation de la teneur hépatique, rénale, cardiaque et pancréatique de Malondialdéhyde (MDA) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.	56
17	Variation de la teneur hépatique, rénale, cardiaque et pancréatique du glutathion réduit (GSH) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.	57
18	Variation de l'activité hépatique, rénale, cardiaque et pancréatique de glutathion peroxydase (gpx)chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.	59
19	Variation de l'activité hépatique, cardiaque de superoxydedismutase (SOD) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.	59
20	Pancréas du rat témoin sain	60
21	Pancréas du rat diabétique non traité	61
22	Pancréas du rat diabétique traité par l'extrait de <i>Phragmites australis</i>	61

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Composition chimique et minérale de <i>P.australis</i>	23
02	Composition de régime standard	26
03	Protocole de dosage le SOD	42
04	Test phytochimique d'extrait aqueux de <i>Phragmites australis</i>	44
05	Contenue en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait aqueux de <i>Phragmites australis</i> .	44
06	Poids relatif des organes (foie, cœur, reins) chez les différents groupes expérimentaux après 7 jours.	46
07	Concentrations des marqueurs biochimiques et des stress oxydatif chez groupe témoins et groupe traité par D1 et D2	47
08	Concentration de glucose (g/l), des triglycérides (mg/dl), du Cholestérol total (mg/dl), de LDL et de HDL chez les différents groupes expérimentaux.	49
09	Concentration sérique de l'urée, la créatinine et les protéines totales chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement par le <i>phragmites australis</i>	51
10	Activité des transaminases(TGO et TGP), de l'amylase et de la phosphatase alcaline chez les différents groupes expérimentaux.	53
11	Concentration de la peroxydation lipidique et glutathion réduit chez les différents groupes expérimentaux.	55

Liste des tableaux

12	Activité de glutathion peroxydase (GPx) et superoxydedismutase (SOD) chez les différents groupes expérimentaux.	58
-----------	---	-----------

Liste des abréviations

8-OHdG: 8-hydroxy-2-désoxyguanosine.

ADN :Acide désoxyribonucléique

AGPI: Acides gras polyinsaturés.

ALAT : Alanine aminotransférase

ALP: Phosphatase Alcaline.

ASAT : Aspartate aminotransférase

BHT :Butyl hydroxy toluene

BSA :Sérum albumine bovine

CHE: Cholesterol esterase.

CHOD: Cholestérol-oxydase.

DID : diabète insulino-dépendant

DNID : diabète non insulino-dépendant

DTNB :Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique.

ES: Ecart-types.

g/l : gramme par litre

G3P: glycérol-3-phosphates.

GPx Glutathion peroxydase

GR: Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

Liste des abréviations

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HDL :High density lipoproteins (lipoprotéines de haute densité)

HE :Hématoxylineéosine

HMG-COA réductase : 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase.

LCAT: Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase..

LDL: Low density lipoproteins

LPL: Lipoprotéine lipase.

MDA :Malondialdéhyde

MDH: Malate déshydrogénase.

Mmol/l : Millimole par litre

NAD: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NBT : Chromogène le nitrobleu tetrazolium

OH^{*} :Radical hydroxyle O₂ Oxygène singulet.

OMS : Organisation mondiale de la santé

SOD : Superoxyde dismutase

TBA : Thiobarbituricacid: L'acide thiobarbiturique

TCA : Trichloroacétique.

TG : Triglycérides

VLDL: Very Low Density Lipoprotein.

Introduction

Le diabète c'est un groupe hétérogène de maladies métaboliques apparaît lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou que l'organisme ne peut utiliser de manière efficace l'insuline ou de ces deux anomalies associées (OMS ; Organisation mondiale de la santé, 2002a). Dans le monde, le diabète touche 284 millions de personnes en 2010, soit 6,6 % de la population mondiale selon les données de la fédération internationale du diabète (Thierry et Harry, 2010). C'est un problème de santé publique aussi bien dans le monde qu'en Algérie, en 2010, la fédération internationale du diabète (FID) a enregistré un million 632 milles diabétiques en Algérie. Ce chiffre peut atteindre jusqu' à 2 millions 850 milles en 2030, avec une augmentation de 61 milles nouveaux cas recensés par an (Whiting, 2011). Il reste une maladie dévastatrice, avec un coût énorme en termes de souffrance humaine et les dépenses de soins de santé.

L'impact de diabète sur les systèmes de santé est très lourd à travers les pertes humaines, aux coûts liés aux traitements, à la prise en charge et aux complications. Les complications chroniques associées au diabète sont le plus souvent vasculaires, elles sont catégorisées en deux sortes : macrovasculaires et microvasculaires. Les maladies artéro-coronariennes ou l'athérosclérose, les maladies cérébrovasculaires et vasculaires périphériques représentent des exemples des complications macrovasculaires, alors que les complications microvasculaires regroupent la néphropathie, la rétinopathie et la neuropathie autonome et périphérique. (Jenkins *et al.*, 2007)

Ces complications sont longtemps supposées liées à l'élévation chronique du glucose qui induit un stress oxydant par plusieurs mécanismes, l'équilibre glycémique joue donc un rôle très important dans la balance prooxydant/antioxydant (Bonfont *et al.*, 2000). Le stress oxydant peut être partiellement réduit par les antioxydants, ainsi plusieurs métabolites secondaires isolés de plante sont montrés une activité antioxydant et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète.

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques et les effets secondaires des médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine traditionnelle. (Bouldjadj, 2009) Dans certaines sociétés traditionnelles non industrialisées (Chine, certains pays africains et latino-américains...), la prise en charge médicamenteuse de

Introduction

pathologies chroniques (tel le diabète) est en grande partie assurée par l'utilisation de plantes médicinales. (Singal *et al.*, 1988)

Ces dernières ont la capacité de produire des métabolites secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisable par l'homme en particulier dans le domaine pharmacologique. (Marouf et Joël, 2007) C'est pourquoi, nous sommes intéressés à étudier le *Phragmites australis* ou le roseau commun appelé communément Gueseb, c'est une mauvaise herbe que l'on retrouve principalement dans les milieux humides non boisés tels qu'en bordure d'un ruisseau (Chehema, 2006), elle est peu utilisable dans le domaine de la phytothérapie, où elle est utilisée comme un traitement traditionnel chez certain nombre de personnes diabétiques dans la région de Touggourt. L'originalité de notre travail c'est que la première étude pour cette plante au sens de la phytothérapie, qui elle n'a été jamais étudiée en Algérie de raison pour laquelle nous avons fixé notre objectif.

L'objectif de cette étude est évaluation l'effet de l'extrait aqueux de rhizomes de *Phragmites australis* (200 mg/Kg de poids corporel) sur les rats rendus diabétiques par l'alloxan. En utilisant des outils biochimiques, des marqueurs de stress oxydatif et analyse histologique du pancréas.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Diabète

1. Définition du diabète

Le diabète est une maladie fréquente, connue depuis fort longtemps, très répandue en ce début de XXI^{ème} siècle. (Buysschaert *et al.*, 1999), la prévalence mondiale, déclarée par la fédération internationale du diabète (FID), était de 8,5% et la prévalence nationale était de 7,4 %. Elle peut augmenter à plus 9,3% en 2030. (Whiting, 2011)

Le diabète sucré se définit aussi par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) ou une glycémie supérieure à 2g /l (11,1 mmol/l) à n'importe quel moment (Sachon *et al.*, 2004), résultant de défauts de l'insuline la sécrétion, l'action de l'insuline ou les deux. (Ozougwu *et al.*, 2013)

2. Types du diabète**2.1. Diabète de type 1 (DID)**

Il représente 10% environ de tous les cas de diabète et se déclare généralement à l'enfance (OMS, 2002a). Résulté par une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques (Couzin-Frankel, 2011). L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% des cellules bêta fonctionnelles. (Blicklé, 2004)

Les îlots de Langerhans sont infiltrés par des cellules mononuclées (insulite). Dans ces infiltrats sont retrouvés principalement des lymphocytes TCD8 dirigés contre des auto antigènes de la cellule β , avec les quels coexistent des lymphocytes T CD4, des lymphocytes B et des macrophages, le processus de destruction implique essentiellement l'immunité à médiation cellulaire (de type Th1) et pourrait passer entre autres par des mécanismes d'apoptose. (Bouhours , Coutant, 2005)

Alors la maladie souvent présente pendant l'enfance et l'adolescence, cependant il peut se développer à un âge plus avancé de différents déterminants génétique et environnementaux. (Mandrup-poulsen, 2003)

2.2. Diabète de Type 2 (DNID)

Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux (Buysschaert *et al.*, 1999 ; Raccah, 2004). Il résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline. L'hyperglycémie est due à une diminution de la sensibilité tissulaire aux effets de l'insuline,

ce qui se traduit par une insulino-résistance, et une altération de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose par les cellules β du pancréas. (Drouin P *et al.*, 1999)

2.2.1. Mécanismes de l'insulino-résistance

L'insulino-résistance est caractérisée chez les sujets diabétiques de type 2 et est spécifique de l'état diabétique, elle est définie comme un état de diminution de la réponse cellulaire et donc tissulaire de l'hormone avec toutefois la présence d'une sécrétion normale de l'insuline (Bouazzaoui, 2012) c'est-à-dire une diminution de l'action de l'insuline au niveau des tissus cibles : les muscles, le foie et le tissu adipeux, se traduisant par des défauts de captation du glucose au sein de ces tissus et un moindre frein de la production de glucose par le foie en réponse à l'insuline. (Anne, 2012)

2.2.2. Mécanismes du déficit insulinosécrétoire

Le diabète de type 2 s'accompagne d'un défaut quantitatif et qualitatif de la sécrétion d'insuline évoluant vers une réduction progressive de cette sécrétion sous-tendue par des phénomènes du pancréas. Plusieurs mécanismes ont été évoqués pour expliquer l'apoptose des cellules β expliquer les pertes de ces cellules et les niveaux élevés de cytokines et chimiokines retrouvés au niveau des îlots des diabétiques de type 2 placent à nouveau l'inflammation au cœur des processus pathogéniques (Anne, 2012), ce phénomène est précédé par 10 à 20 ans d'hyperinsulinisme eu glycémique qui est la conséquence d'une insulino-résistance. (Virallya *et al.*, 2007)

3. Pancréas

Bien que les apports de glucose soient très variables dans le temps, la glycémie reste toujours constante ce qui est assurée par le pancréas. (Racah, 2004)

Le pancréas est un organe complexe constitué d'un tissu endocrine (2%) et majoritairement d'un tissu exocrine (98%) produisant les enzymes nécessaires à la digestion (Daniel, 2014) et composé essentiellement de structures lobulaires appelées 'acini' mais aussi de structures ramifiées constituant les canaux pancréatiques. Un pancréas humain sain peut contenir jusqu'à un million d'îlots ayant chacun sa propre anatomie complexe, sa vascularisation et son innervation. Un îlot comprend de quelques à 5 000 cellules endocrines appartenant principalement à cinq sous-types (Kargar C, Ktorza A, 2009) :

- les cellules beta (~60% des cellules endocrines d'un îlothumain adulte) qui sécrètent l'insuline (seule hormone hypoglycémiante de l'organisme), l'acide gamma-amino-butyrique (GABA) et les polypeptides amyloïdes (IAPP ou amyline) ;
- les cellules alpha (20-30%) qui sécrètent le glucagon (hormone hyperglycémiante) ;
- les cellules delta (~10%) qui sécrètent la somatostatine ;
- les cellules PP (<5%) qui sécrètent le polypeptide pancréatique ;
- les cellules epsilon (~1%) qui sécrètent la ghréline.

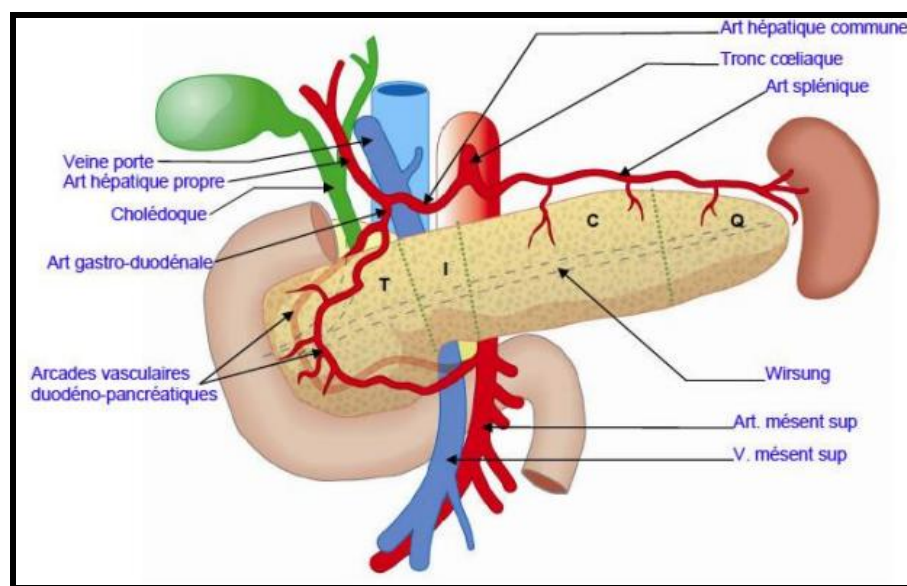


Figure (01): Anatomie du Pancréas. (Bouhalouas *et al*, 2014)

4. Insuline

4.1. Définition

L'insuline est une hormone polypeptidique formée, après élimination du peptide C par hydrolyses, de deux chaînes de 21 et 30 acides aminés, reliées par deux ponts disulfures synthétisée dans les glandulaires des îlots de Langerhans ou cellules Bêta de pancréas. (Allan, 2008)

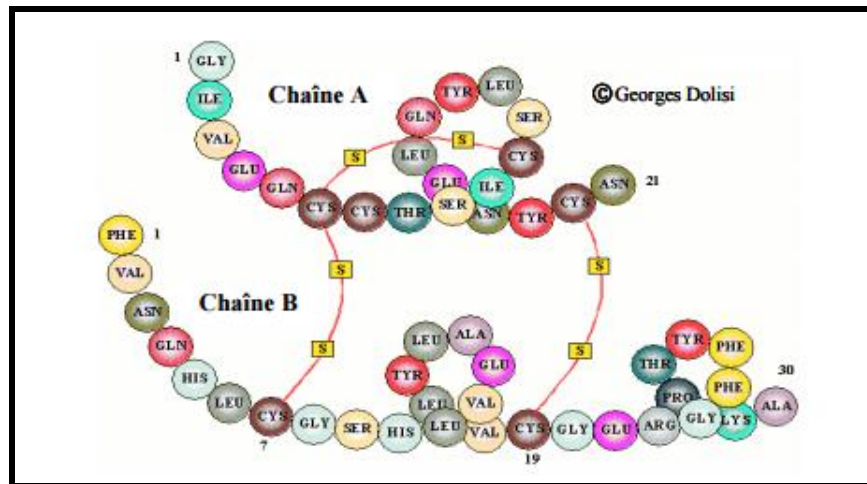


Figure (02): Structure de l'insuline. (Allan, 2008)

4.2. Sécrétion de l'insuline

En cas de l'augmentation de la glycémie, le glucose pénètre dans la cellule β d'îlots de Langerhans par l'intermédiaire d'un transporteur (GLUT-2), le métabolisme du glucose dans cette cellule est à l'origine d'une production accrue de protons (H^+) et ATP conduit donc à la cascade d'événements aboutissant finalement à l'augmentation massive de la concentration cytosolique de Ca^{2+} de concert avec d'autres seconds messagers (AMPc), stimule la libération d'insuline. (Ktorza, Magnan, 2005)

4.3. Mode d'action d'insuline

Les récepteurs insulinémiques sont des glycoprotéines membranaires de type «Tyrosine kinase», l'insuline se fixe à la sous-unité α , la sous-unité β change alors de conformation, ce qui active une tyrosine kinase qui phosphoryle l'unité β et d'autres tyrosines intracellulaires. La régulation du nombre de récepteurs est sous la dépendance de l'insulinémie. (Valdiguié, 2000)

Au niveau des cellules cibles, cette hormone facilite la pénétration du glucose dans les cellules en augmentant la perméabilité de leur membrane via des récepteurs au glucose exemple GLUT 4 Figure (03) où des vésicules contenant les transporteurs fusionnent avec la membrane (Wang *et al.*, 1997). Elle stimule la glycogénogenèse au niveau du foie et favoriser l'utilisation du glucose par les tissus. (Weaber, 2007)

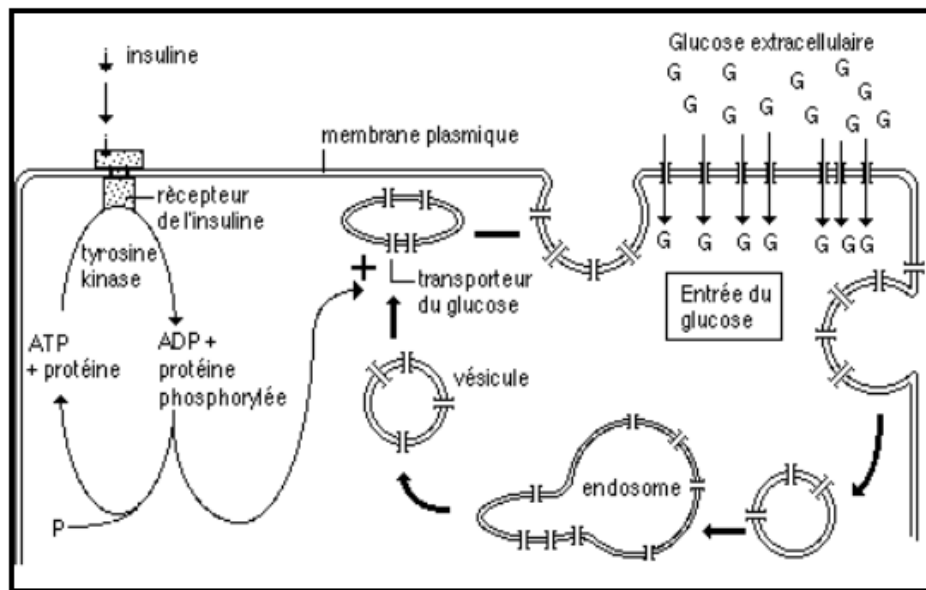


Figure (03) : Mode d'action de l'insuline (Kahn, 1992).

5. Facteurs de risque:

- l'obésité, appréciée par l'index de masse corporelle (IMC) ou Body Mass Index (BMI). On détermine le surpoids par un BMI > 25 kg/m² et l'obésité par un BMI > 28. Le surpoids est favorisé par une alimentation surcalorique, riche en graisses saturées et en alcool, il a été associée à un risque plus élevé de présenter un diabète. (Feskens *et al*, 1991)
- la résistance à l'insuline, chez les personnes présentant une répartition abdominale des graisses (androïde). Car les cellules adipeuses viscérales produisent des quantités importantes de cytokines pro inflammatoires qui perturbent l'action de l'insuline sur les cellules adipeuses et musculaires. Ensuite, l'adiposité viscérale est liée à une accumulation de graisse dans le foie. Le résultat est une libération excessive d'acides gras libres dans le sang en raison de la lipolyse accrue, et une augmentation de la production de glucose par le foie. (Mélanie, 2011)
- prévalence augmente parallèlement à des influences de l'environnement telles que le vieillissement, l'origine ethnique, les antécédents familiaux de diabète, faible poids de naissance (Moneva, Dagogo, 2002) et la sédentarité dans les populations des pays industrialisés en particulier, en raison d'une prédisposition génétique couplée à une modification rapide du mode de vie. (Hamza, 2011)

6. Complications organiques

La gravité du diabète reste liée à ses complications (OMS, 2007), Les sujets diabétiques, de type 1 et surtout de type 2 sont porteurs de plusieurs complication :

6.1. Macroangiopathiques :

Le terme de macro-angiopathie désigne l'ensemble des lésions des grosses et moyennes artères. Les complications macroangiopathiques constituent le plus important facteur de mortalité des patients diabétiques. (Dekkar, 2012)

-Athérosclérose :

L'athérosclérose est une maladie cardiovasculaire inflammatoire chronique, est associée à un dysfonctionnement endothéliale. L'activation de certaines voies métaboliques par l'hyperglycémie (PKC, voies des polyols...etc.) augmente la production des ROS intervenant dans le processus d'endommagement de l'endothélium vasculaire. (Beaudeau *et al.*, 2005)

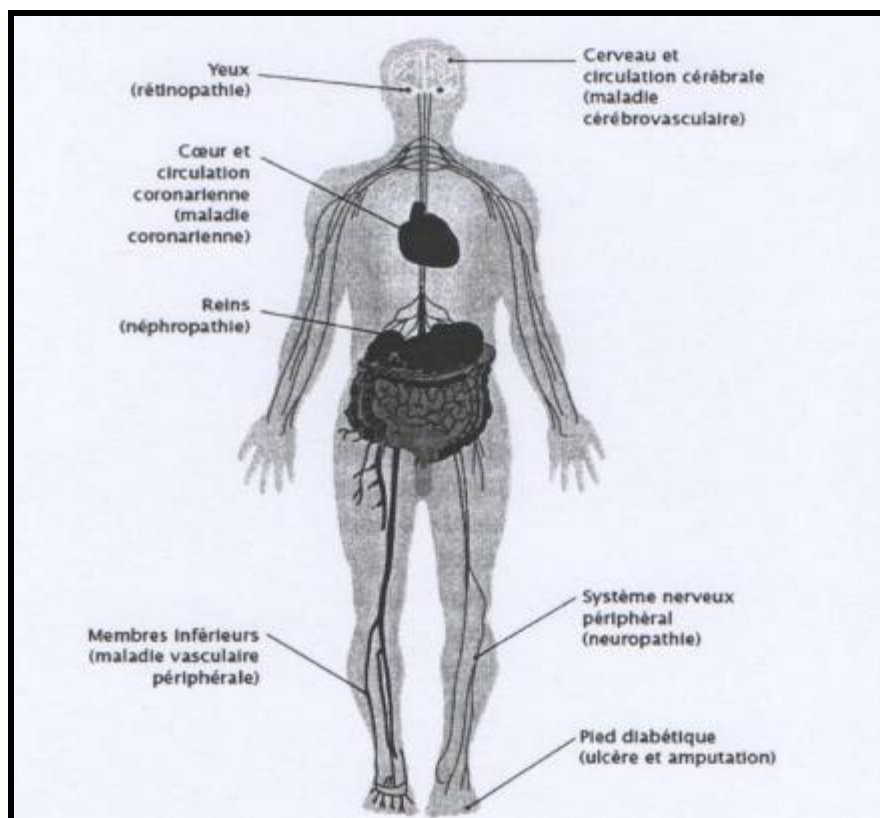


Figure (04) : Organes cibles des complications du diabète. (Aurelien, 2010)

6.2. Microangiopathie

Trois tissus sont particulièrement le siège de cette microangiopathie : la rétine, le glomérule rénal et le nerf périphérique. (Dekkar, 2012)

-Rétinopathie diabétique

Elle représente les complications oculaires les plus sévères du diabète, comme pour les autres complications, le stress oxydant joue un rôle pertinent.

Elle est détectée chez les trois quarts des patients diabétiques (Pepa *et al.*, 2005). Dans les pays développés, la rétinopathie diabétique reste la première cause de cécité chez les sujets de 20 à 60 ans. Au total, 2 % des diabétiques deviennent aveugles et 10 % deviennent mal voyants. (Weekers, Kerzesinki, 2005)

-Néphropathie diabétique

Les données épidémiologiques de prévalence d'une albuminurie supérieure à 30 mg/24 heures est de 20 à 30% chez les diabétiques. Les décès en insuffisance rénale terminale représentent 25 à 30% des diabétiques de type 1 et 5% des diabétiques de type 2. (Said *et al.*, 1998)

l'hyperglycémie joue un rôle dans le développement et la progression de la néphropathie associée au diabète par le biais du stress oxydant (Derubertis *et al.*, 2005)

-Neuropathie diabétique

Les neuropathies sont la complication la plus fréquente et la plus précoce du diabète. Elles affectent essentiellement le système nerveux périphérique (somatique et végétatif), plus rarement le système nerveux central (Emmanuel *et al.*, 2000). L'un des mécanismes par lesquels l'hyperglycémie provoque la dégénérescence neuronal est le stress oxydatif élevé accompagnant le diabète sucré. (Rahimi *et al.*, 2005)

Chapitre II

Stress oxydatif

1. Définition de stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes (Kirschvink *et al.*, 2008), ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles par les radicaux libres qui peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles: protéines, lipides et acide nucléiques. (Angelos *et al.*, 2005)

2. Radicaux libres**2.1. Définition**

Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) sur leur couche externe et capable d'existence indépendante (Angelos *et al.*, 2005) de part sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner la stabilité. (Delattre *et al.*, 2005)

2.2. Sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits par un grand nombre d'origine tant endogènes qu'exogènes:

2.2.1. Sources endogènes

Sont essentiellement d'origine enzymatique et découle dans plusieurs mécanismes possibles: (Barouki et Morel, 2001)

-NADPH oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques.

-Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des radicaux libres.

2.2.2. Sources exogènes

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles. (Priyadarsini, 2005)

2.3. Cibles et dommages biologiques des radicaux libres**2.3.1. Protéines**

Les protéines sont des cibles pour les ROS en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine (Tratner, 2003), causés, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non- reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire. (Haleng *et al.*, 2007)

2.3.2. Lipides

Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation, cette réaction appelée peroxydation lipidique qui peut induire une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes. (Hong *et al.*, 2004)

Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN, Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique. (Marnett, 1999)

Malondialdéhyde (MDA)

C'est un produit de décomposition oxydative des lipides insaturés médiées par les radicaux libres . Il peut être également formé à partir de composés non lipidiques tels que l'acide ascorbique, les acides aminés, le désoxyribose ou le saccharose lorsqu'ils sont exposés à l'action des hydroxyles, il est libéré dans l'espace extracellulaire et enfin dans le sang. MDA a été utilisé comme un bio marqueur d'oxydation des lipides. (Haj *et al.*, 2012)

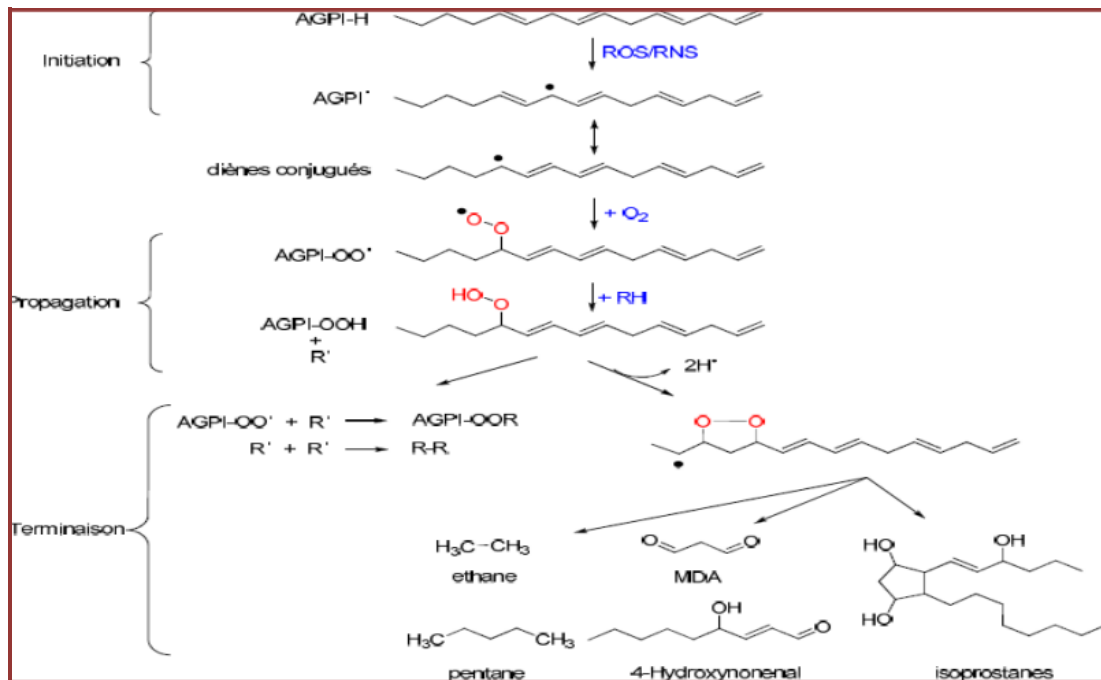


Figure (05): Peroxydation des acides gras polyinsaturés (Toussaint *et al.*, 2003).

2.3.3. Lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées (Haleng *et al.*, 2007), qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses qui jouent un rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose. (Nakajima *et al.*, 2006)

2.3.4. Acide désoxyribonucléique (ADN)

Cinq classes principales de dommages oxydatifs de l'ADN médiés par OH• peuvent être générées, parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet *et al.*, 2002). Les guanines sont préférentiellement attaquées et le produit de leur dégradation est la 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) qui est à l'origine de mutations géniques pouvant conduire au développement du cancer. (Beckman *et al.*, 1997)

3. Antioxydant

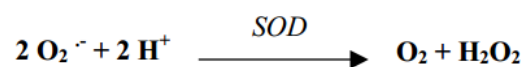
Les antioxydants sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont fonction des

apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogène (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...) (Kirschvink *et al.*, 2008)

3.1. Système antioxydant enzymatique

3.1.1. Superoxyde dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases ou SOD sont des enzymes ubiquitaires catalysant la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Frank *et al.*, 2004) :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases. (Caroline , 2003)

Il existe trois espèces de cette enzyme :

- * Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD).
- * Une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD).
- * Une forme extracellulaire (Ec-SOD).

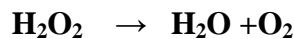
Il été récemment montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace intermembranaire. (Okado, Fridovich, 2001).

3.1.2. Catalase

La catalase est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire.

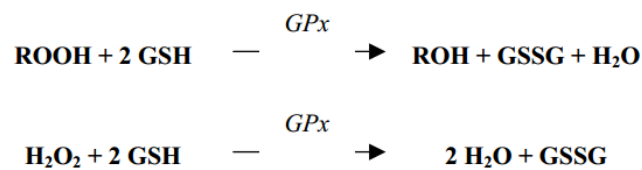
Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex; érythrocytes). (Sehpar, Shaffer, 1993)

La réaction catalysée par cette enzyme est une dis mutation du peroxyde d'hydrogène:



3.1.3. Glutathion peroxydases (GPx)

Les glutathion peroxydases présentes dans la plupart des tissus de mammifères, catalysent la réduction par le glutathion du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques produits. Les réactions mises en jeu sont les suivantes (Caroline , 2003) :



3.1.4. Glutathionne-S-transférase (GST)

Glutathion S-transférase est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes. (Renuka *et al.*, 2003)

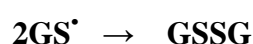
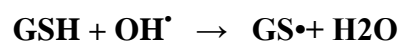
La glutathion-S-transférases (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes. (Zhihua *et al.*, 2004)



3.2. Antioxydants non enzymatique

3.2.1. Glutathion (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) (Li *et al.*, 2005), dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant réside principalement dans sa fonction de co-substrat des glutathion peroxydases. (May *et al.*, 1997)



3.2.2. Vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et peroxydes, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux. Le produit formé est le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines. (Delattre *et al.*, 2005)

3.2.3. Vitamine E

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (α , β , δ , γ). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. Seuls α et δ tocophérols possèdent les propriétés antioxydantes les plus intéressantes. (Vertuani *et al.*, 2004)

3.2.4. β carotène

Le β Carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités : précurseur de la vitamine A, capte l'oxygène singlet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante. (Goudable, Favier, 1997)

3.2.5. Polyphénols

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices. (Delattre *et al.*, 2005)

4. Stress oxydatif et pathologie

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à l'évolution des complications. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un

tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. (Boumaaza, 2009)

4.1. Stress oxydatif et diabète

L'hyperglycémie induit une production prolongée des espèces réactives de l'oxygène intracellulaire et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons généré dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anion superoxyde, qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif. (Korshunov *et al.*, 1997)

4.1.1. Radicaux libres et l'hyperglycémie

-Voie des polyols

Dans un état d'hyperglycémie, les deux voies du métabolisme de glucose –la voie de la glycolyse et la voie des pentose-phosphates– fonctionnent moins bien. Cette perturbation est due à la saturation de l'héxokinase qui permet la phosphorylation du glucose en vue de son utilisation par ces deux voies, ce qui conduit à l'accumulation du glucose dans les tissus insulino-indépendants (reins, tissu rénal, microvaisseaux rétinien...etc.) et l'activation de la voie des polyols faisant intervenir une enzyme inductible : l'aldose réductase (AR) qui n'est active que pour des concentrations élevées en glucose, et une autre enzyme qui est : la sorbitol déshydrogénase (SDH). Ceci implique directement dans la production des ROS et l'inhibition de certains antioxydants. (Mohora *et al.*, 2006)

-Voie des hexosamines

L'augmentation du glucose intracellulaire conduit à la formation accrue de Fructose-6-Phosphate, qui est métabolisé en Glucosamine-6-Phosphate en présence de glutamine, par l'enzyme glutamine: fructose-6-phosphate amidotransférase (GFAT), puis finalement transformé en UDP-N-acétylglucosamine (UDP-GlcNac). Les cibles potentielles intracellulaires de l'UDP-GlcNac sont nombreuses, diverses protéines cytoplasmiques et nucléaires peuvent effectivement être O-glycosylées. L'activation de la voie des hexosamines pourrait ainsi induire plusieurs modifications biochimiques, comme l'expression des gènes et la fonction de protéines, impliquée dans la pathogenèse des complications diabétiques. (Kolm-Litty *et al.*, 1998)

- Glycation des protéines

L'hyperglycémie est une cause essentielle de la glycosylation non enzymatique ou la glycation des protéines qui résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines. Cette liaison donne naissance à des produits dits d'Amadori possédant un groupement Cétol qui forme, en présence de métaux de transition, de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$. (Ramasamy *et al.*, 2006)

- Production des radicaux libres par la mitochondrie

La source principale des radicaux libres au cours des états d'hyperglycémie est bien la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Le taux élevé du glucose favorise un gradient électrochimique (de protons) au niveau de la membrane interne mitochondriale suite à une activation des donneurs d'électrons du cycle des acides tricarboxyliques, ce qui induit une forte production de l'anion superoxyde. (Delattre *et al.*, 2005)

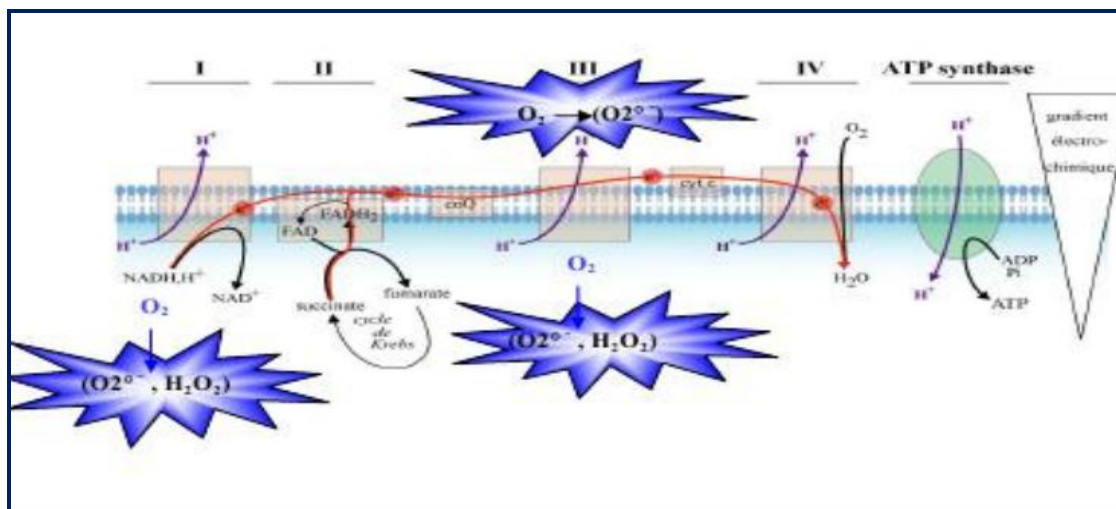


Figure (06) : Production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire. (Boumaaza, 2009)

4.2. Stress oxydatif et maladies cardiovasculaires

En effet les différents facteurs de risques cardiovasculaires (tabagisme, hypertension artérielle, obésité, excès de cholestérol...) provoquent la production de radicaux libres (ROS) par les cellules de la paroi vasculaire et par les monocytes macrophages (globules blancs). Ces radicaux libres vont oxyder le cholestérol LDL. Dans un deuxième temps, les globules blancs (macrophages) « avalent » les LDL oxydées pour les éliminer, et les transforment en cellules spumeuses (foam cells), qui vont initier la formation de la plaque d'athérome, conduit à la

maladie athéromateuse, l'hypertension artérielle, l'accident vasculaire cérébral, l'insuffisance cardiaque. (Kabouche ,2010)

Chapitre III

Phragmites australis

1. Médecine traditionnelle**1.1. Définition**

Selon l'OMS la médecine traditionnelle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales. (Zeghad, 2009)

1.2. Phytothérapie

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques (Mohammedi, 2013), l'utilisation des plantes en thérapeutique est très ancienne et connaît (Marc, 2001). Actuellement la phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Connaît de jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques. (Iserin *et al.*, 2001)

1.3. Plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986), Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales représentent une des sources de médicaments pour environ 80 % des populations africaines. Le savoir-faire des guérisseurs traditionnels, d'une valeur inestimable, est un point de départ pour l'investigation pharmacologique et phytochimique de ces médicaments naturels (Obame, Louis, 2009), sont utilisées depuis longtemps comme remèdes contre plusieurs maladies (Tipu *et al.*, 2006; Viegi *et al.*, 2003). Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits,... etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages. (Mohammedi, 2013)

1.4. Plantes antidiabétiques

Les plantes médicinales sont employées pour le contrôle du diabète dans beaucoup de pays. L'inventaire et la sélection des plantes médicinales et des produits naturels utilisés dans la pharmacopée traditionnelle s'imposent afin de vérifier expérimentalement certaines indications thérapeutiques qui peuvent éventuellement présenter un intérêt pour la médecine moderne toujours sollicitant en matière de substances actives nouvelles. Environ 1200 plantes, couvrant 725 genres différents et 183 familles de plantes dans le monde sont jugées bénéfiques pour les diabétiques et utilisées à travers le monde, la plupart d'entre elles auraient des propriétés hypoglycémiantes, mais la plupart du temps, ces affirmations sont isolées et peu d'entre elles ont fait l'objet d'une vérification scientifique. (Bouxi, 2012)

- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta.
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques bêta
- Effet protecteur de la destruction des cellules bêta
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose (Jarald *et al.*, 2008).
- Inhibition de β -galactosidase, de α -glucosidase et de α -amylase
- prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules beta remarqué dans le diabète.
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.
- Prévention de la conversion de l'amidon en glucose.
- Diminution des activités du cortisol. (Bouxi, 2012)

1.5. Phytochimie de plantes médicinales

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition chimique des plantes. Depuis le XVIII^e siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent, on considère les plantes et leurs effets en

fonction de leurs principes actifs (Paul, 2001) tels que : les flavonoïdes, tanins, saponosides et les alcaloïdes ...

2. *Phragmites australis*

2.1. Définition

C'est une plante vasculaire la plus répandue dans le monde (Claude, 2007). Le *Phragmites australis* ; Poaceae (Lavoie, 2007) est une plante qui résiste aux milieux les plus argileux et rocaillieux, facile à implanter aux marécageux (Fauteux, 2002), généralement l'espèce dominante dans les zones qu'elle occupe, la nature agressive de *P. australis* est un reflet direct des fonctions adaptatives de son cycle de vie (Baran *et al.*, 2000).



Figure (07): *Phragmites australis*. (Photo original, 2016)

2.2. Classification (Jean, 2013)

Embranchement: Angiospermes

Classe: Monocotylédones

Sous-classe: Commélinidées

Ordre: Cypéales

Famille: Poacées

Genre: *Phragmites*

Espèce: *Phragmites australis*

2.3. Description botanique

C'est une plante herbacée à faible profondeur (2 à 3 m) (Scholz, Xu , 2001), sa hauteur est de 1 à 5 mètres, cette plante comporte 2 sortes de tiges : les une souterraines appelées rhizomes, les autres aériennes dressées et simples portant de longues feuilles rubanées qui se terminent par des inflorescences (Cronk , Fennessy, 2001). Elles sont dressées au bord de l'eau (nappe de roseau) et appelées roselier ou phragmitaire (Mireille, 2006). Le développement de nouvelles tiges intervient entre le printemps et l'automne (d'avril à octobre). Ce végétal peut même supporter des périodes de gel dont l'action est positive sur la déshydratation des boues (phénomène gel – dégel– rétractation) (Esser, Pronost, 2005). Les roseaux sont capables d'absorber et de concentrer des quantités importantes de certains polluants et ils contribuent à l'autoépuration des eaux. Le Phragmite commun s'adapte facilement aux périodes d'inondation et d'assèchement et tolère de grands écarts de température. Par conséquent, cette plante envahissante est très agressive et très résistante (Fauteux, 2002). Lorsque *Phragmites* est établi, que ce soit par des graines ou des segments de rhizomes, l'expansion se produit principalement par rhizomes dans les sols organiques humides et les rhizomes et les stolons à sable sols. Dans des conditions optimales, la croissance de plus de 10 mètres est commun au sein d'une seule saison de croissance. Cette croissance rapide est possible parce que l'horizontale des tiges de *Phragmites* afficher une forte dominance apicale. (Mal, Narine, 2004)

2.4. Habitat

C'est un grand herbe émergente trouvé dans les zones humides à travers le monde (Cronk, Fennessy, 2001) (sauf en Antarctique). (Haslam, 1972; Mal, Narine, 2004), c'est à dire trouvé principalement dans les zones humides d'eau douce et saumâtre, de plus en plus à ou au-dessus signifie hautes eaux (Kristin, 2002), aussi les littoraux très productifs (Minchinton *et al.*, 2006). Il a un distribution mondiale (Tucker, 1990), a une distribution cosmopolite et est abondant dans les marais et les communautés le long de la frontières de lacs, des étangs et des rivières. Il est une graminée vivace qui reproduit principalement par la croissance végétative, bien que la dispersion en graines peut se produire à des fréquences basses (Kristin, 2002).

2.5. Constituants chimiques et minéraux

Plusieurs substances bioactives ont été extraites à partir de *Phragmites australis*.

Tableau (01): Composition chimique et minérale de *P.australis*. (Baran *et al.*, 2002)

Acides aminés		Composition chimique	
Thr (g·kg ⁻¹)	4.393	Matière sèche (%)	93,8
Val (g·kg ⁻¹)	3.604	N-substances (g·kg ⁻¹)	120.6
Ile (g·kg ⁻¹)	3.158	Matières grasses brutes (g·kg ⁻¹)	18.2
Leu (g·kg ⁻¹)	6.042	Cellulose brute (g·kg ⁻¹)	278.3
Tyr (g·kg ⁻¹)	4.962	Ash (g·kg ⁻¹)	67,3
Phe (g·kg ⁻¹)	4.995	Substances N-libres (g·kg ⁻¹)	453.4
His (g·kg ⁻¹)	2.200	La matière organique (g·kg ⁻¹)	870,5
Lys (g·kg ⁻¹)	5.082	Composition minérale	
Arg (g·kg ⁻¹)	7.247	Mg (g·kg ⁻¹)	2.649
Met (g·kg ⁻¹)	0.378	Mg (g·kg ⁻¹)	2.649
Asp (g·kg ⁻¹)	9.819	K (g·kg ⁻¹)	10.899
Ser (g·kg ⁻¹)	4.330	Na (g·kg ⁻¹)	0.534
Glu (g·kg ⁻¹)	9.376	P (g·kg ⁻¹)	1.575
Pro (g·kg ⁻¹)	7.081	Fe (mg·kg ⁻¹)	58.750
Gly (g·kg ⁻¹)	4.307	Mn (mg·kg ⁻¹)	96.964
Ala (g·kg ⁻¹)	6.981	Zn (mg·kg ⁻¹)	26.964
Cys (g·kg ⁻¹)	0.199	Cu (mg·kg ⁻¹)	8.452

2.6. Domaine d'utilisation

Elle est utilisée traditionnelle, comme un diurétique doux, et il a longtemps été utilisé pour le traitement de l'hépatite dans la médecine traditionnelle chinoise (Song *et al.*, 2013). Le *P. australis* est utilisé aussi dans le domaine d'épuration des eaux usées à base des plantes. (Valerie, Dirk, 2007)

Le roseau commun est une plante particulièrement efficace pour filtrer les polluants qui se trouvent dans l'eau. Il est d'ailleurs fréquemment utilisé dans les marais filtrants artificiels comme agent biologique épurateur. Le roseau est très efficace pour soutirer des eaux de drainage l'azote et, dans une moindre mesure, le phosphore (Mal, Narine, 2004). Elle a une adaptation parfaite aux conditions hydriques d'exploitation des filtres plantés. Bon transfert de l'oxygène depuis les parties aériennes jusqu'aux rhizomes et aux racines, favorisant ainsi le développement des bactéries dans leur entourage. (Chehema, 2006)

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

1. Matériels**1.1. Matériel végétal****1.1.1. Récolte de *Phragmites australis***

La plante utilisée dans ce travail est *Phragmites australis*, a été récolté dans la région de Touggourt (les zones humides, ses végétations associés avec des autres mauvaises herbes, la terre humifère) au moment de Septembre 2015. Après la récupération de la plante, les racines sont nettoyés, puis mis à sécher à l'abri des rayons solaires et à température ambiante. Les rhizomes secs sont finement broyés.



Figure (08): *Phragmites australis* (Original, 2016)

1.1.2. Préparation de l'extrait aqueux

10g de poudre des racines dissous dans 100ml d'eau distillée chaude à macérer pendant 24h à température de la chambre, Après filtration sur un tissu mousseline, puis sur papier filtre, ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 65°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. (Aslan *et al.*, 2007)

1.2. Matériel animal

Notre étude a été réalisée sur vingt quatre (24) rats mâles *Wistar Albinos* âgés de 10 à 12 semaines et pesant entre 225g et 370g. Ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Alger, et élevés à l'animalerie au niveau de la faculté de sciences de la nature et de vie à l'université d'El-oued. Dans des conditions environnemental standard: température 25C°, et l'humidité 64.5% et un cycle de la lumière 12h/24h). Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture par un régime standard. (Southon *et al.*, 1984)

Tableau (02) : Composition de régime standard. (Southon *et al.*, 1984)

Matières premières	Quantité (g/kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéine	168	16.8
Cellulose	40	4
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	40	4

-Poids

Les rat sont pesées chaque semaine en utilisant une balance électronique (10-3) de type KERN EMB 2200-O.

1.2.1. Étude de la toxicité des extraits (ou Test d'innocuité)

L'étude de la toxicité aiguë est une analyse qualitative et quantitative de l'altération irréversible des fonctions vitales après administration unique d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours. C'est le premier test qu'un toxicologiste effectue sur un nouveau composé destiné à être utilisé comme un traitement (Ruckebusch, 1980).

Selon la méthode Taziebou *et al* (2007) nous avons utilisé 12 rats *Wistar* (mâles) à jeun d'alimentation sauf l'eau ou l'extrait pendant 16 heures répartis en 3 lots de 4 rats dans chacun gardés dans des mêmes conditions le poids a été enregistré pendant la durée de l'expérimentation (7jours):

Groupe 01: rats recevant eau distillée (lots témoins).

Groupe 02: rats recevant l'extrait aqueux de *phragmites australis* 500 mg/kg p.c (D1)

Groupe 03: rats recevant l'extrait aqueux de *phragmites australis* 1000mg/kg p.c (D2)

Des observations ont été effectuées et remarquées régulièrement 1h, 2h, 4h et 24h après l'administration de la solution. Les observations visuelles comprenaient la motilité. Le nombre de survivants a été enregistré après 24h et les animaux ont été observés quotidiennement pendant les prochains 7 jours.

Le bioessai a été réalisé conformément à la directrice Organisation Mondiale de la Santé pour l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base de plantes. (OMS, 2000)

1.2.2. Étude l'effet d'extrait de *phragmites australis*

1.2.2.1. Induction du diabète expérimental

Des rats mâles sont rendus diabétiques par l'injection intrapéritonéale de 120 mg/kg p.c alloxan (Alloxan; Sigma, UK) préparée fraîchement dans une solution d'eau physiologique. Au bout de quelques jours, les rats sont suivis par la mesure de la glycémie et le poids corporel. (Laxmi *et al.*, 2010)

1.2.2.2. Traitement des animaux

Après l'induction du diabète, les 12 rats soit diabétiques et sains ont été divisés en trois groupes de quatre (04) rats chacun et gardés dans des mêmes conditions et le poids a été enregistré journalier pendant la durée l'expérimentation, mis à accès libre de l'eau et l'alimentation:

Groupe 01 (4 rats): rats témoins sains recevant un régime standard pendant 21 jours (Témoin).

Groupe 02 (4 rats): rats diabétiques recevant un régime alimentaire standard pendant 21 jours (Diabétique).

Groupe 03 (4 rats): rats diabétiques recevant un régime standard et traité par 200 mg/Kg p.c de l'extrait aqueux de *Phragmites australis* pendant 21 jours (Diabétique+Phr)

1.3. Produits chimiques

Chlorure de sodium (NaCl), Méthanol, Chloroforme, Bleu de Comassie, Acide phosphorique (H_3PO_4), sérum bovin albumine (BSA), Acide gallique, Acide trichloroacétique (TCA), Acide thiobarbiturique (TBA), butylhydroxytoluène (BHT), chlorure d'hydrogène HCl, Tris, Acide salicylique, DTNB(5-5'-dithiobis2-nitrobenzoïque), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), GSH, $FeCl_3$, Magnésium (Mg), liqueur de Fehling, acide sulfurique, NBT, riboflavine.

Les kits de réactifs de l'urée et créatinine, le kit de réactif de Protéine totale sérique et α -amylase, le kit de réactif de triglycéride, les kits de réactifs de cholestérol et triglycéride HDL-cholestérol, les kits des réactifs de TGP et TGP et PAL, sont achetés du SPINREACT (Espagne).

1.4. Matériels de laboratoires

- * Evaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R- 200.
- * Centrifugeuse horizontale de type SIGMA.
- * Autoanalyseur de type (BIOLIS24j)
- * Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240.
- * Étuve de type MEMMERT.
- * Bain-marie de type MEMMERT.
- * Balance analytique de type KERN ABJ/ABS.
- * Balance électrique de type KERN EMB 2200-O.

2. Méthodes

2.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques (Screening) sont des tests qualitatifs qui permettent de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits préparés de la plante en milieu aqueux par des techniques de caractérisation qualitatives, selon les méthodes de (Evans, 2009 ; Harborne, 1998).

- Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence d'alcaloïdes.

-Les substances polyphénoliques***Les tanins**

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2%, la présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

***Les flavonoïdes**

Ajouter dans un tube à essai, 5ml d'extrait à tester, quelques gouttes de HCl et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

***Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 2ml de l'extrait à analyser, ajouter 2ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence de saponines.

-Les sucres réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5ml réactif A et 0,5ml réactif B) à 1ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs.

-Terpénoïdes :

Dans un tube à essai, ajouter à 2,5ml d'extrait, 0,4ml de chloroforme et 0,6ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

2.2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

- **Polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) (Boizot, Charpentier, 2006): 100 µl d'extrait d'artichaut sont mélangés avec 500 µl du réactif FC et 400 µl de Na₂CO₃ à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (50 - 100 - 150 - 200 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

- **Flavonoïdes**

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon la méthode décrite par Dehpour et al (2009) : 500 µl de chaque extrait à analyser sont ajoutés à 1500 µl de méthanol à 95 %, 100 µl de AlCl₃ à 10 % (m/v), 100 µl d'acétate de sodium 1 M et 2,8 ml d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. Le blanc est réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol à 95 % et l'absorbance est mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

La courbe d'étalonnage de la quercétine est effectuée par quercétine à différentes concentrations (10 - 20 - 30 - 40 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

2.3. Effet scavenger du radical DPPH (activité antioxydant in vitro)

L'activité anti-radicalaire de l'extrait a été évaluée, in vitro, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Cuendet *et al.*, 1997). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela, 50 µl d'une dose 0.2g/l de l'extrait ont été incubés avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes, l'absorbance à 517 nm ont été enregistrées. Le résultat obtenu pour l'extrait ont été exprimé par rapport à ceux obtenus pour l'acide galliques et l'acide

ascorbique comme des antioxydants de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par l'extrait a été calculé comme suit:

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

2.4. Test du glycosylation (Effet d'extrait sur la complexation du glucose in vitro)

Le but de ce test est d'estimer la capacité des flavonoïdes de l'extrait aqueux de *Phragmites australis* à complexer le glucose libre *in vitro*, donc démontrer leur rôle de "glucophage". Bien que les conditions *in vivo* et *in vitro* soient différentes, ce test pourra nous renseigner sur un des mécanismes hypoglycémiant les flavonoïdes qui contiennent dans l'extrait. Pour cela, 10 µl d'une solution glucosée (0.61g/l) est mélangé avec 10 µl de chaque extrait de *Phragmites australis* à différentes concentrations : 1 mg, 2mg et 4 mg/ml. Le mélange ainsi obtenu est incubé à 37°C pendant 15 min. Le dosage de glucose non lié aux extraits est mesuré par le glucomètre.

2.5. Sacrifice et prélèvement de sang et les organes

Les rats sont anesthésiés par chloroforme (94%) après 16 h de jeûne et sont sacrifiés (par décapitation). Au moment du sacrifice, le sang est collecté sur des tubes secs et des tubes héparinés. La glycémie est mesurée par le glucomètre pour chaque rat au moment du sacrifice. Après centrifugation à 3000 tours/minute pendant 15 minutes, le sérum est récupéré et conservés à (-20C°).

Pour le teste de toxicité qui permet de rechercher d'éventuels effets toxiques aigus des extraits, 500mg/Kg et 1000mg/Kg de pc des rats, des racines de *phragmites australis*, par le dosage de quelques paramètres sériques en relation avec le métabolisme glucidique (glucose), avec la fonction hépatique (transaminases TGO TGP et phosphatases alcalines) et la fonction rénale (urée et créatinine) et quelques paramètres hépatiques tissulaires du stress oxydatif.

Pour étudier l'effet de phragmites sur les rats diabétiques, on fait le dosage des paramètres biochimiques (l'urée, créatinine, protéine, α amylase, TGO, TGP, PAL, TG, HDL, cholestérol), Après la dissection le foie, le cœur, pancréas, les reins sont soigneusement prélevés, rincés avec l'eau physiologique, ensuite pesés. Une partie du pancréas est récupérée dans des flacons de formol (10%) pour faire l'étude histologique Les homogénats

des organes sont préparés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif tissulaires (protéines, glutathion, glutathion peroxydase et MDA, SOD).

2.6. Préparation des échantillons pour l'étude histologique

Pour l'étude histologique, les pancréas de tous les lots sont prélevés. Ils doivent être rapidement prélevés pour éviter son autolyse qui s'effectue après quelques instants de la mort de l'animal. Après le rinçage des échantillons avec l'eau physiologique froide, ils sont immédiatement fixés dans une solution de formol 10%.

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau d'hôpital de Gafsa, service la nappâtes à Tunis. La technique utilisée est celle décrite par Houlot (1984) qui comporte les étapes suivantes :

-La fixation

La fixation des échantillons (fragment de chaque organe) dans le formole, puis mise de ces échantillons tissulaires dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

-Déshydratation

Déshydratation des échantillons à l'aide d'un appareil automatique qui permet le passage automatiques et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 95% et 100%).

-Inclusion et réalisation

Inclusion et réalisation des blocs : Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 μm en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés « Microtomes ». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixés sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

-La coloration

Pour la coloration, la technique utilisée est celle à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique).la coloration suit les étapes suivantes : Déparaffinage et hydratation des lames à l'eau du robinet puis rinçage à l'eau distillée. Puis sont misent dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).Les lames sont plongées dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) ; ensuite dans un bain d'eau du robinet avec vérification de la différenciation au microscope.

Misent dans un bain d'eau ammoniacale, puis dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

-Observation au microscope

Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

2.7. Préparation de l'homogénat des organes

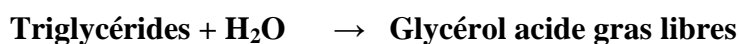
Un gramme de tissu (foie, le cœur, pancréas, les reins) de chaque rat des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (3000 tour/min, 15 pendant minutes), puis le surnageant obtenu est conservé à -20 °C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres de stress oxydatif tissulaires.

2.8. Méthode de dosage des paramètres biochimiques sériques**2.8.1. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme et lipides****2.8.1.1. Méthode de dosage des triglycérides****-Principe**

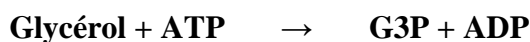
Dans notre étude, Les triglycérides sont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de triglycérides (Buccolo, Harold, 1973). Les triglycérides incubés avec la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphates (G3P) et de l'adénosine -5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé dihydroxiacétone phosphate(DAP) et en peroxydée d'hydrogène (H₂O₂) par GPO.

Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge.

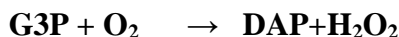
LPL



Glycérolkinase



GPO



POD



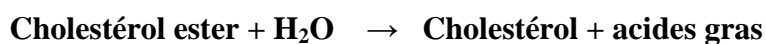
Le taux des triglycérides est déterminé à une longueur d'ondes de 505 nm. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé.

2.8.1.2. Méthode de dosage du cholestérol total

-Principe

Dans notre étude, Cholestérol total ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de cholestérol total (Meiattini *et al.*, 1978). La réaction consiste à libérer le cholestérol de la liaison ester par la cholestérol-estérase, et d'oxyder le cholestérol libre non estérifié par la

cholestérol-oxydase. L'indicateur est une quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminophénazone, sous l'action catalytique de la peroxydase. La concentration en quinoneimine colorée est mesurée à 505 nm, elle est proportionnelle à la concentration en cholestérol total.

CHE**CHOD****POD****2.8.1.3. Méthode de dosage du cholestérol-HDL****-Principe**

Dans notre étude, cholestérol-HDL ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de du cholestérol-HDL (Naito, 1984). Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et chylomicrons du spécimen sont précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium. Le cholestérol-HDL obtenu dans le surnageant après centrifugation est ensuite dosé par réactif pour le dosage du cholestérol total.

2.8.1.4. Méthode de calcul de la concentration de cholestérol LDL

Le dosage se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de Friedwald *et al* (1972).

$$\text{LDL-C (mg/dl)} = \text{Cholesterol total (mg/dl)} - [\text{HDL-C (mg/dl)} + \text{TG}/5] \text{ (mg/dl)}.$$

2.8.2. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme protéique**2.8.2.1. Méthode de dosage de l'urée sérique****-Principe**

Dans notre étude, l'urée sérique a été déterminée suivant une méthode colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'urée sérique

(Kaplan, 1984). L'uréase catalyse l'hémoxyde de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). L'ammoniac formé est incorporé à l' α -cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD

Uréease



GLDH₂



La diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé. L'absorption est mesurée à 340 nm.

2.8.2.2. Méthode de dosage de créatinine

-Principe

Le dosage est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium. Créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps choisi pour les mesures évite les interférences provenant d'autres constituants du sérum. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon. (Murray *et al.*, 1984)

2.8.2.3. Méthode de dosage des protéines totales sériques :

-Principe

Dans notre étude, les protéines totales ont été déterminées suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de protéine totale (Tietz et Amerson, 1995). Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines formant un complexe bleu violet ou l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des protéines plasmatiques l'absorption est mesurée à 550 nm.

2.8.3. Méthode de dosage des paramètres de l'activité enzymatique

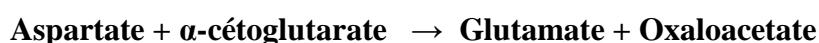
2.8.3.1. Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

-Principe

L'Aspartate aminotransférase (ASAT) a été déterminé slon la méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'Aspartate aminotransférase (ASAT) . (Murray, 1984b)

L'Aspartate aminotransférase (ASAT) est une transaminase, également connue sous le non de glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-Aspartate vers l' α -cétoglutarate pour donne du L-glutamate et l'oxaloacetate. L'oxaloacetate est réduit au Malate par Malate déshydrogénase (MDH).

ASAT



MDH



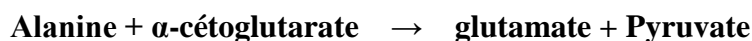
Le taux de diminution de NADH, mesurée photo-métriquement. Elle est proportionnelle avec la concentration de ASAT catalyse dans L'échantillon. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

2.8.3.2. Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT)

-Principe

L'alanine aminotransférase (ALAT) a été déterminé suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de L'alanine aminotransférase (ALAT) (Murray, 1984 a). L'alanine aminotransférase (ALAT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate-transaminase (GPT). L'ALAT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' α -cétoglutarate pour donne du L-glutamate et pyruvate. Pyruvate est réduit au lactate par lactate déshydrogénase (LDH) et NADH. La mesure du taux de diminution de NADH, est photo-métriquement proportionnelle a l'activité catalytique de ASAT dans L'échantillon. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

ALAT



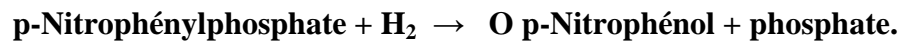
LDH



2.8.3.3. Méthode de dosage de l'activité de phosphatase alcaline (ALP)

-Principe

La phosphatase alcaline (ALP) catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate (pNPP) au pH 10.4, en libérant p-nitrophenol et phosphate, selon la réaction suivante :

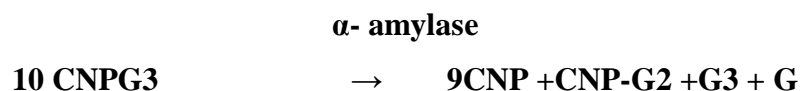


Le taux de la formation de p-Nitrophénol, mesuré photométriquement, est proportionnel à la concentration d'Alcaline phosphatase présente dans le sérum (Wenger *et al.*, 1984).

2.8.3.4. Méthode de dosage de l'activité de l' α -amylase

-Principe

L' α amylase hydrolyse la 2-chloro-4-nitrophenyl- α -D-maltotrioside (CNPG3) pour libérer 2-chloro-4-nitrophénol (CNP) et 2-chloro-4-nitrophenyl- α -D-maltotrioside, (CNPG2), maltotriose(G3) et glucose(G) correspondant (Ying, 1998) selon la fiche technique Spinreact , et la réaction suivante :



CNP- G2: 2- Chloro- nitrophényl- α D maltoside, G3: Trimaltose , G: Glucose

2.9. Méthode de dosage des paramètres de stress oxydatif tissulaires

2.9.1. Méthode de dosage des protéines tissulaires

Les protéines tissulaires a été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre de type SHIMATZU en utilisant le bleu de Coomassie comme réactif qui est réagi avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595 nm (Bradford, 1976).

- Préparation de réactif de Bradford

- Dissoudre 100 mg de bleu de coomassie dans 50 ml d'éthanol (95%).
- Agiter le mélange pendant 2 heures avec un agitateur à l'abri de la lumière.
- Ajouter 100 ml de l'acide orthophosphorique (H₃PO₄) (85%).
- Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée.
- Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre.

Ce réactif est stable pendant 2 semaines à 4°C.

2.9.2. Méthode de dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires

- Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm (Yagi, 1976).

-Réactif

Acide trichloroacétique (TCA) 20% P/V; Acide thiobarbiturique (TBA) 0,375% P/V; Butylhydroxytoluène (BHT) 0,01% P/V ; Chlorure d'hydrogène (HCl) 1 N. 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0,01g de BHT, 25 ml de HCl 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml et le volume complété à l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

-Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100ul d'échantillon, 400ul de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

-Expression des résultats

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/l}$.

$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon} / 1,53 \times 10^5) / \text{mg de prot}$

2.9.2. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaires

- Principe

Dans notre étude, le glutathion à été déterminé suivant une méthode colorimétrique de (Weckbercker et Cory, 1988) par un spectrophotomètre, la mesure de la densité optique résulte de la formation de l'acide 2- nitro-5 mercocapturique à partir de la réduction de l'acide dithio-bis2-nitrobenzoïque ce qu'on appelle réactif de d' Ellman avec les groupements SH existent dans le GSH.

-Mode opératoire

- Peser 250mg de tissus hépatique.
- Broyer le tissu avec 10 ml de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.
- Prendre 0.8 ml de solution homogène et 0.2ml de l'acide salicylique (0.25%) solution2.
- Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minute dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5minutes et le surnagent utiliser pour le dosage de glutathion comme suite.
- Mélanger:
- 0.5ml de surnagent.
- 1ml de solution tampon tris avec NaCl solution1.
- 0.025ml de DTNB (0.01mol) méthanol solution 3.

Laisser le mélange 5min de température de chambre puis lire l'absorbance avec spectrophotomètre d' absorption moléculaire à 412 nm contre le blanc (eau distillé).

- Calcule

$$\text{GSH nM/mg de prot} = \frac{(\text{Do} \times 1 \times 1.525)}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de prot}} \times d$$

13133: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1.525ml: volume total de mélange.

0.5ml: volume de solution surnagent.

1: volume de mélange de protéine.

0.8ml: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

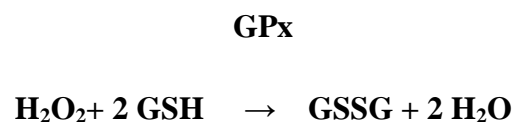
(GSH): concentration de glutathion.

d : facteur de dilution.

2.9.3. Méthode de dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx) tissulaires

-Principe

Dans notre étude, L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de (Flohe et Gunzler, 1984), en utilisant un spectrophotomètre de type SHIMATZU. 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 :



- Mode opératoire

Nous avons procédé aux étapes suivantes:

- Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Incuber au bainmarie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0.48 ml du surnageant.
- Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM).

- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

- Calcule

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH/mg de prot}) = \frac{[(\text{Do échantillon} - \text{Do étalon}) \times 0.04]}{\text{Do étalon}} \times 5/\text{mg de prot}$$

DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.

DO étalon: Densité optique de l'étalon.

0.04: Concentration de substrat (GSH).

2.9.4. Dosage de l'activité de superoxyde dismutase (SOD)

-Principe

Le superoxyde dismutase est l'enzyme antioxydante la plus importante du stress oxydatif puisqu'elle assure la première ligne de défense contre le stress oxydant. En effet, cette enzyme dismute l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène

La méthode de dosage de l'activité SOD à l'aide de NBT par l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$), est utilisée comme base de détection de la présence de SOD, selon Beauchamp et Fridovich (1971).

Tableau (03) : Protocole de dosage le SOD

Prélever dans des tubes	Blanc (à l'obscurité)	Échantillon (tube illuminée)	Concentration dans le milieu réactionnel
EDTA-Met	1000 μl	1000 μl	0,1mM EDTA
Tampon phosphate	892,2 μl	892,2 μl	13 mM Met
Echantillon	0	50 μl	
Tampon phosphate	1000 μl	950 μl	50 mM

NBT	85,2 µl	85,2 µl	75 µM
Riboflavine	22,6 µl	22,6 µl	2 µM

-Calcul de l'activité SOD:

L'activité SOD = % d'inhibition /mg de protéine

$$Y = \frac{(\text{DO Échantillon} - \text{DO Blanc})}{\text{DO Blanc}} \times 100 \times 1 / \text{Protéines mg/ml} \times \text{Facteur de dilution}$$

Y est le pourcentage d'inhibition/mg de protéine

Ce qui donne une activité spécifique SOD = Y / 50 Unité SOD / mg de protéines.

3. Méthode d'analyse statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le test *T student*. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types pour 24 rats. n=4. Alors, on utilise des logiciels *MINITAB* (version 2013) et *EXCEL* (version 2010) qui nous aide pour faire ce travail, la signification est déterminée par la valeur critique $\alpha=0.05$

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Étude de test phytochimique, dosage de polyphénols et des flavonoïdes

Tableau (04): Test phytochimique d'extrait aqueux de *Phragmites australis*.

Composée	Présence
Flavonoïdes	(+++)
Tanins	(++) T. catéchiques
Alcaloïdes	(-)
Saponines	(-)
Terpénoïdes	(+)
Sucres réducteurs	(+)

(+) Présence , (-) Absence

Tableau (05): Conteneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait aqueux de *Phragmites australis*.

Plante	Polyphénols (mg d'AG/g MS)	Flavonoïdes (mg de Querc/g MS2)
<i>L'extrait aqueux des Phragmites Australis</i>	15.75	14.85

1.2. Activité anti-radicalaire d'extrait aqueux de *Phragmites australis*

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux de *Phragmites australis* a une activité anti-radicalaire très important comparable à l'effet de la vitamine C (76.12%) et de l'acide gallique (72.14%).

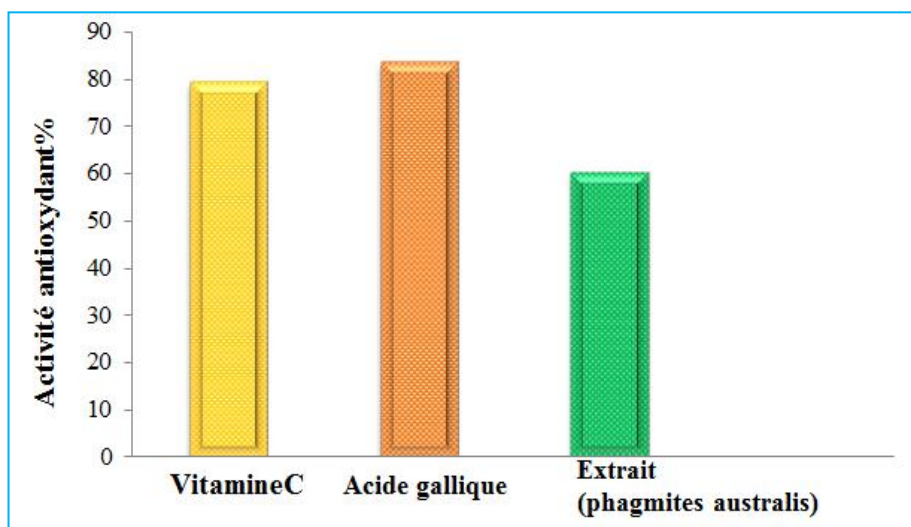


Figure (09) : Activité antioxydant de l'extrait aqueux de *Phragmites australis*.

1.3. Test de glycosylation

Dans notre résultats le test de glycosylation révèle qu'il ya une diminution de la concentration de glucose en fonction aux différentes concentrations de l'extrait *Phragmites australis*.

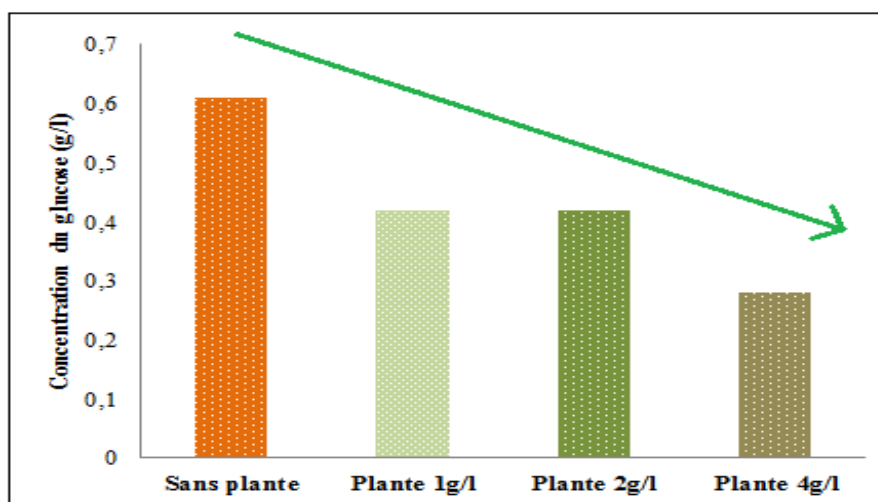


Figure (10): Variation de la concentration du glucose en fonction de la concentration l'extrait aqueux de *Phragmites australis*.

1.4. Étude Teste de toxicité de *Phragmites australis*

1.4.1. Étude de poids relatifs

D'après notre résultats on observe une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de poids relatif du cœur chez le groupe traité par D1 (500mg/kg), et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de poids relatif du rein chez le groupe traité par D2 en comparé avec groupe témoins. D'autre part les deux doses étudiées n'ont aucun effet significative sur le poids relative de foie par rapport au témoin.

Tableau (06): Poids relatif des organes (foie, cœur, reins) chez les différents groupes expérimentaux après 7 jours.

Paramètres		Lot témoin	Lot D1 (500mg)	Lot D2 (1000mg)
Poids relatif(g)	Foie	3.55±0.69	3.3±0.15 ^{NS}	3.71±0.05 ^{NS}
	Cœur	0.32±0.055	0.28±0.008 ^{**}	0.41±0.005 ^{NS}
	Reins	0.83±0.14	0.56±0.006 ^{**}	0.59±0.001 [*]

Moy ± ES de 4 rats de chaque groupe

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

1.4.2. Étude des marqueurs biochimiques et de stress oxydatif

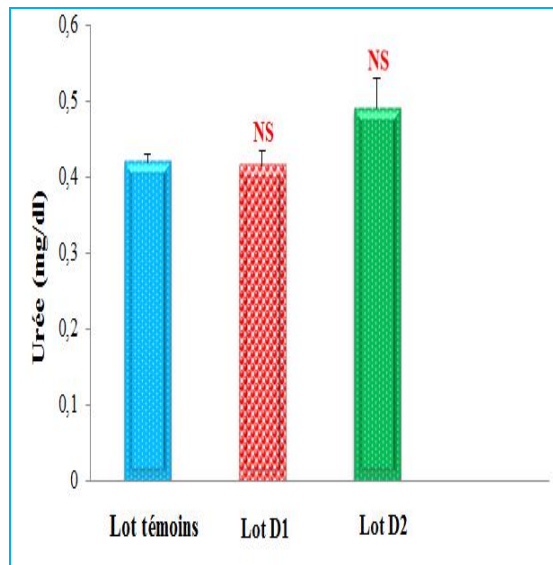
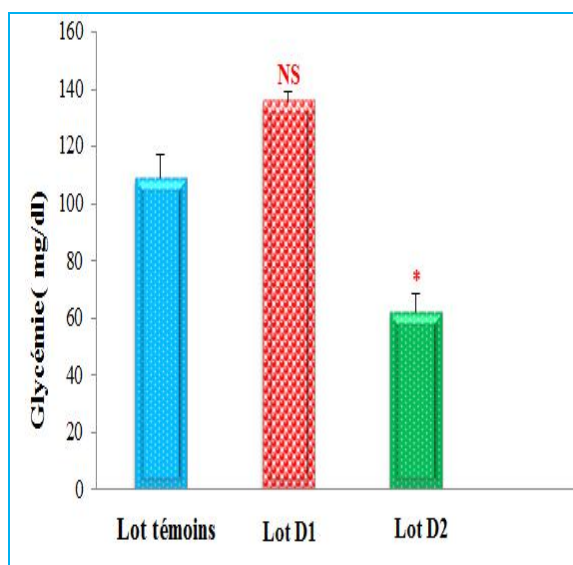
Les résultats du test de toxicité (Tableau07) montrent que le traitement des rats par *phragmite australis* avec dose (500mg/kg) pendant 7 jours provoque une augmentation significative de la concentration de la créatinine et une diminution de MDA hépatique et activité de TGO par rapport aux rats sains témoins. de plus cette dose n'a aucun effet signalé sur la concentration du glucose, de l'urée, de GSH hépatique et sur l'activité de TGP et PAL. Par ailleurs, le traitement par la dose (1000mg/kg) provoque une augmentation de la concentration de créatinine et activité de TGO avec une diminution significative de la glycémie et MDA hépatique. De plus cette dose n'a aucun effet sur l'urée, TGP, PAL et GSH hépatique par rapport aux rats non traités (témoin).

Tableau(07) : Concentrations des marqueurs biochimiques et des stress oxydatif chez groupe témoins et groupe traité par D1 et D2.

Paramètres		Lot témoin	Lot D1 (dose 500mg)	Lot D2 (dose 1000mg)
Glycémie (mg/dl)		109±8.02	136.50±3.15 ^{NS}	62±6.35 [*]
Urée (mg/dl)		0.42±0.011	0.415±0.020 ^{NS}	0.49±0.040 ^{NS}
Créatinine (mg/dl)		3.83±0.23	5.09±0.47 [*]	9.18±0.47 ^{**}
TGO (U/l)		298±4.62	227.3±13.6 [*]	343.5±0.87 ^{**}
TGP (U/l)		99±16.7	102±2.6 ^{NS}	72±2.3 ^{NS}
PAL (U/l)		209±17.9	132.7±13 ^{NS}	205±0.6 ^{NS}
GSH	Foie	0.40±0.07	0.81±0.09 ^{NS}	0.33±0.055 ^{NS}
MDA	Foie	0.281±0.02	0.138±0.03 [*]	0.136±0.02 [*]

Moy ± ES de 4 rats de chaque group.

* p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin



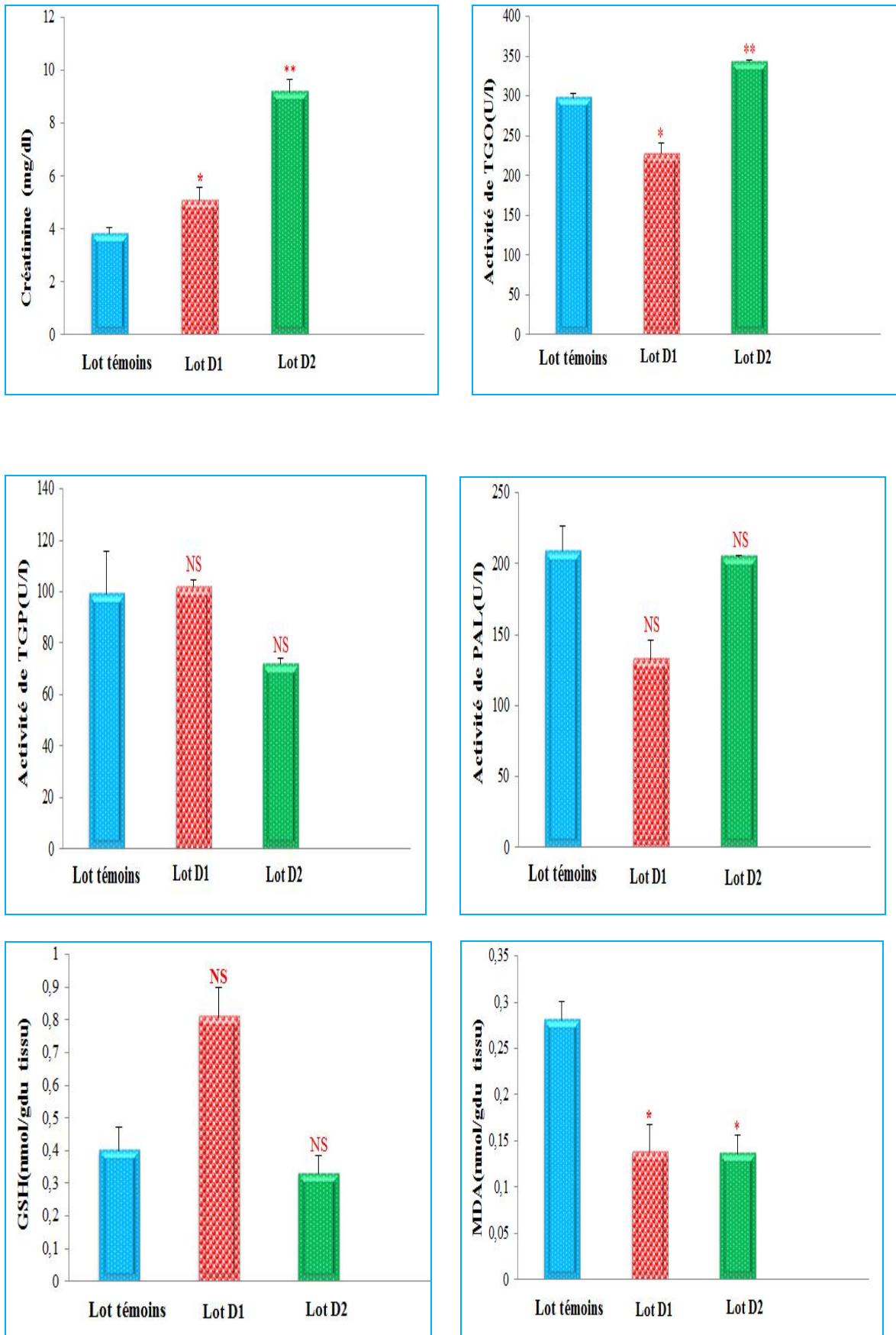


Figure (11) : variation des marqueurs biochimiques et de stress oxydatif chez les différents groupes de rats.

1.5. Étude de l'effet de *Phragmites australis* sur quelques paramètres biochimiques

1.5.1. Métabolisme des carbohydrates et lipides

Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique de glucose chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin, cependant, la glycémie est diminuée de façon très hautement significatif chez les rats de groupe diabétique traité par l'extrait de *Phragmites australis* ($p < 0.01$) par rapport au groupe diabétique.

Aussi, nos résultats représentent une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique de triglycéride avec une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez les rats diabétique par rapport aux rats témoins.

Toutefois, le groupe diabétique traité par la plante représente une diminution significative du triglycérides et LDL-C sériques ($p < 0.01$) et ($p < 0.05$) respectivement par rapport au groupe diabétique. D'autre part on observe une augmentation significative du HDL-C sériques.

Remarques ; Les résultats de gain de poids et le poids relatifs dans l'annexe.

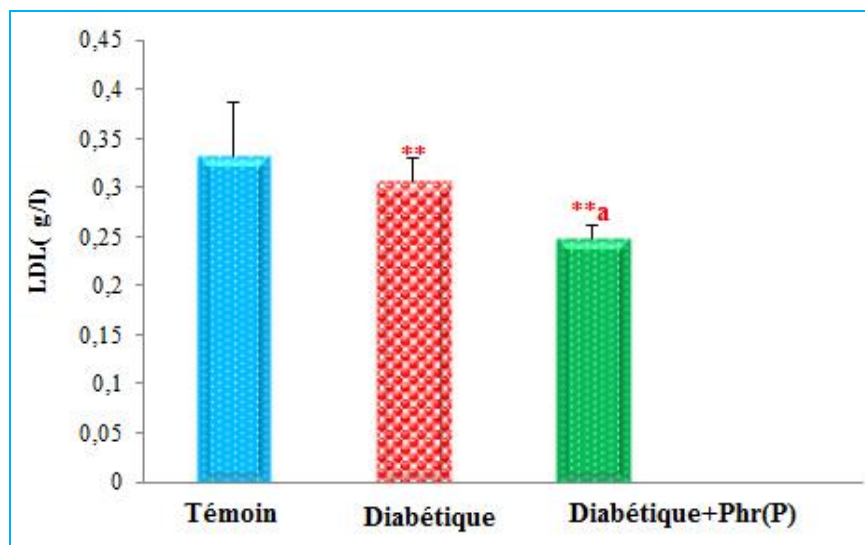
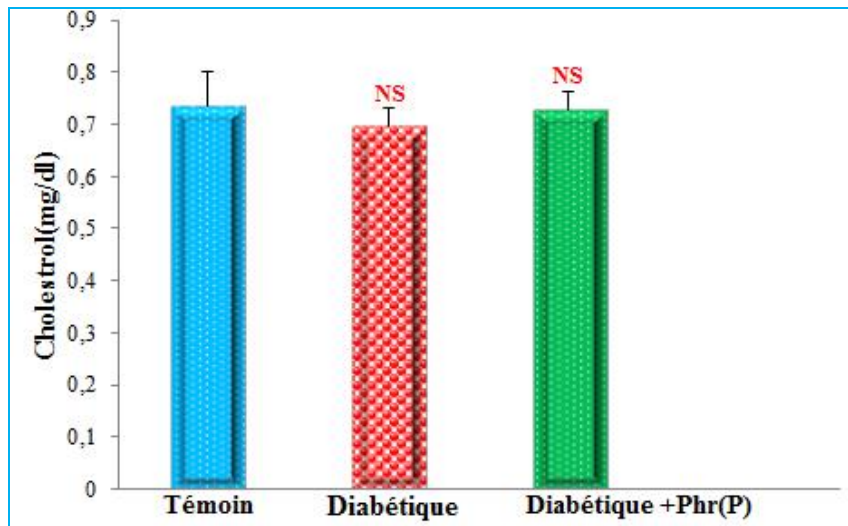
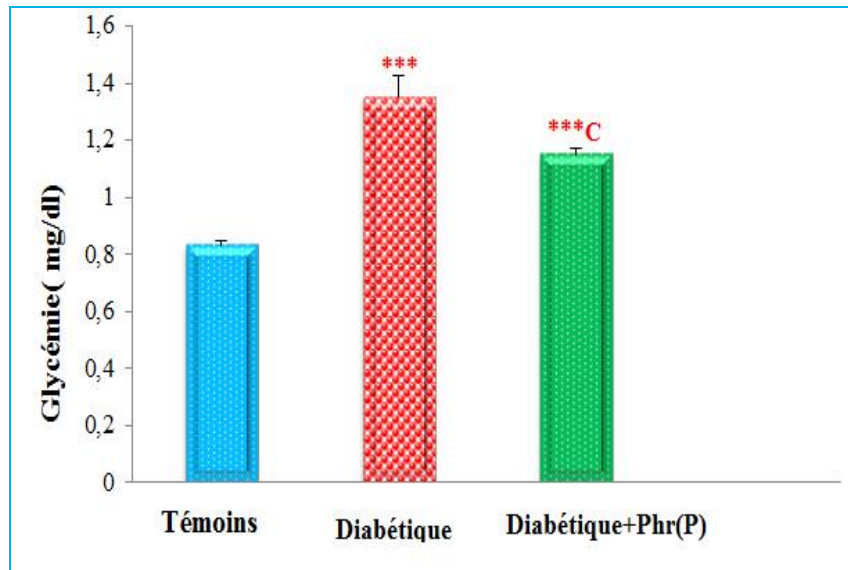
Tableau (08): Concentration de glucose (g/l), des triglycérides (mg/dl), du Cholestérol total (mg/dl), de LDL et de HDL chez les différents groupes expérimentaux

Paramètres	Témoin	Diabétique	Diabétique+ <i>Phrag</i>
Glycémie (g/l)	0.83±0.02	1.35±0.075 ^{***}	1.15±0.02 ^{***c}
Triglycéride (mg/dl)	0.495±0.025	0.585±0.020 [*]	0.37±0.017 ^{**b}
Cholestérol (mg/dl)	0.735±0.065	0.695±0.037 ^{NS}	0.727±0.034 ^{NS}
LDL (g/l)	0.331±0.055	0.306±0.023	0.248±0.013 ^{**a}
HDL (g/l)	0.305±0.005	0.245±0.008 ^{**}	0.312±0.023 ^a

Moy ± ES de 4 rats de chaque group.

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot **témoin**

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot **diabétique**



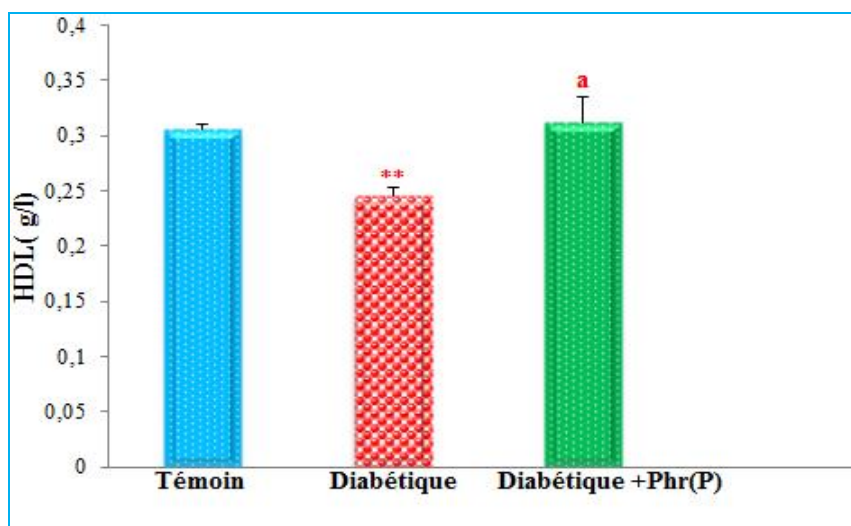


Figure (12): Variation de la concentration sérique de glucose, du cholestérol, LDL et HDL chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

1.5.2. Métabolisme protéique (Urée, créatinine et protéines totales)

Nos résultats montrent une augmentation significative de la concentration de l'urée sérique chez le groupe diabétique et diabétique traité comparés au groupe témoin, ($p < 0.05$) et ($p < 0.01$) respectivement.

Pareillement, on n'observé aucune variation significative de la concentration de la créatinine et des protéines totales chez les groupes étudiés.

Tableau (09): Concentration sérique de l'urée, la créatinine et les protéines totales chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement par le *phragmites australis*.

Paramètres	Témoin	Diabétique	Diabétique+ <i>Phrag</i>
Urée (mg/dl)	0.415±0.005	0.645±0.059*	0.673±0.072**
Créatinine (mg/dl)	10.34±0.49	10.75±0.29 ^{NS}	10.0±0.098 ^{NS}
Protéines totales (g/dl)	75.0±3.0	77.0±2.08 ^{NS}	73.0±2.52 ^{NS}

Moy ± ES de 4 rats de chaque group.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot diabétique.

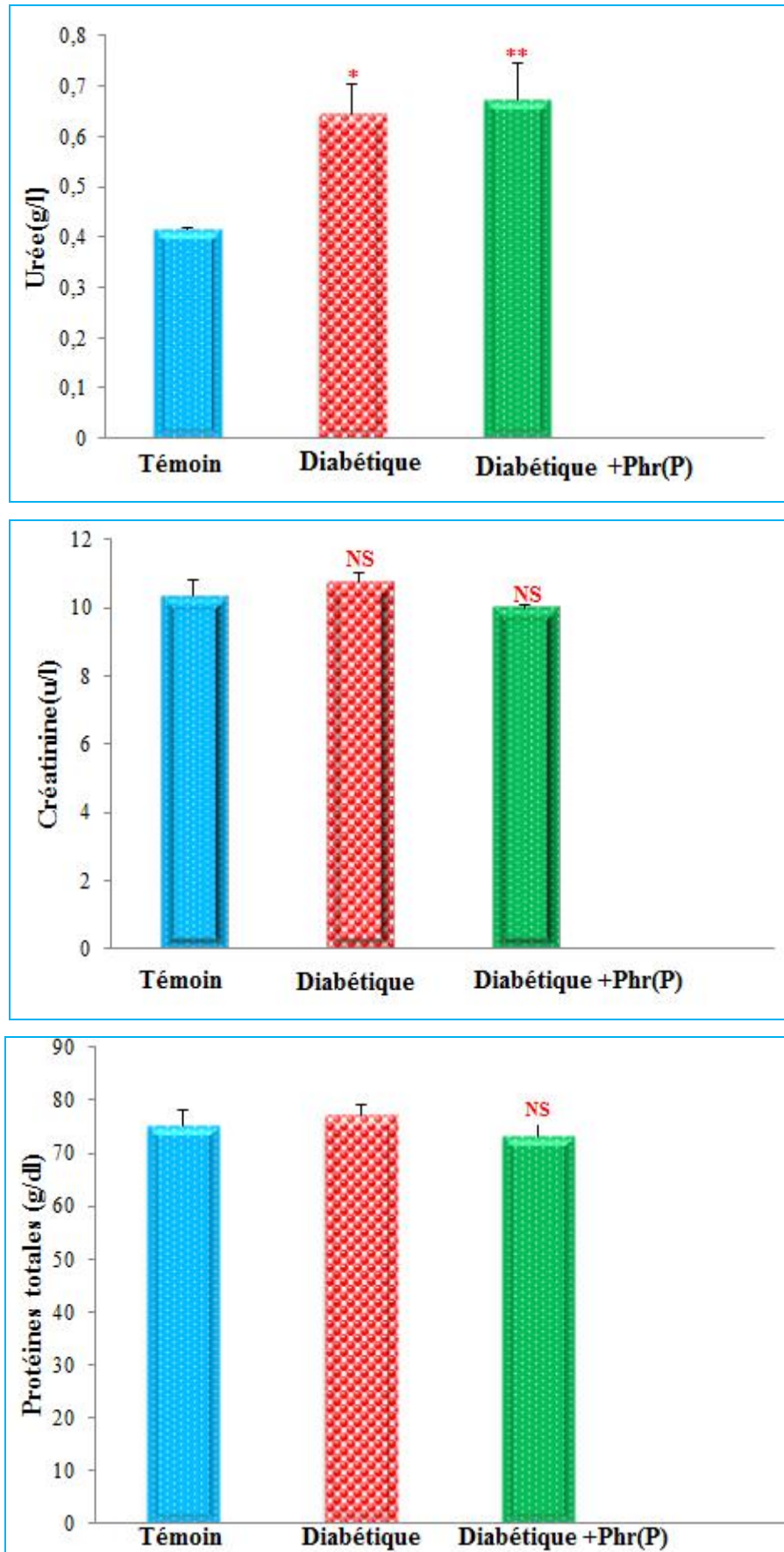


Figure (13) : Variation de la concentration sérique de l'urée, la créatinine et les protéines totales chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

1.5.3. Étude de l'effet de *Phragmites australis* sur l'activité enzymatique

Les résultats de cette étude représentent une augmentation significative de l'activité sérique de TGP et PAL chez les rats diabétiques comparés aux témoins ($p < 0.05$). Le traitement des rats diabétiques par 200mg/Kg d'extrait aqueux de *Phragmites australis* induit une diminution de TGP ($p < 0.05$) et augmentation de PAL ($p < 0.001$) par rapport aux rats diabétiques. Concernant l'activité sérique de TGO, les résultats obtenus ne montrent aucune variation chez les groupes diabétique non traité et diabétique traité par rapport au témoin.

Pour l'activité sérique d' α -amylase notre résultats montrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez le groupe diabétique traité par rapport aux rats de groupe diabétique et témoins.

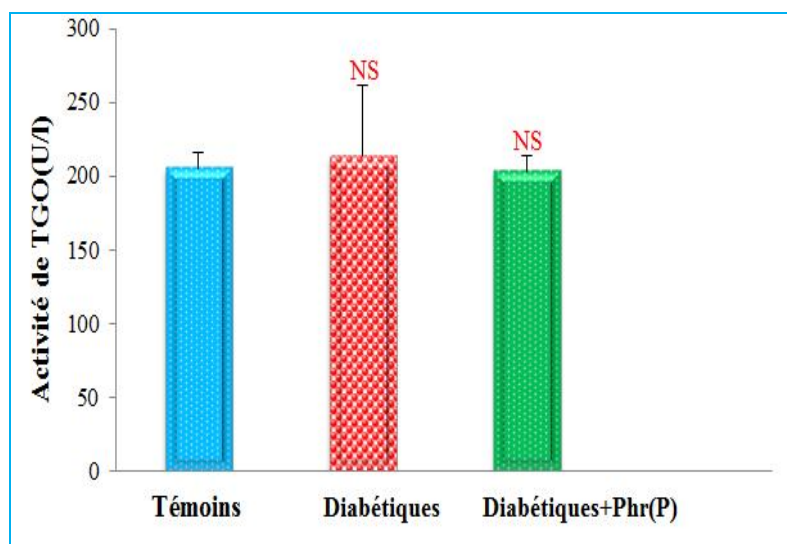
Tableau(10) : Activité des transaminases(TGO et TGP), de l'amylase et de la phosphatase alcaline chez les différents groupes expérimentaux.

Paramètres	Témoin	Diabétique	Diabétique+ <i>Phr</i> (P)
TGO (U/l)	206±10	214±3.48 ^{NS}	203.5±11 ^{NS}
TGP (U/l)	65±12	83±5.81 [*]	67.5±1.57 ^c
α amylase(U/l)	707±0.6	641.7±27.02	296±21.2 ^{**b}
PAL(U/l)	127±8	242.7±40 [*]	368.3±36.6 ^{***a}

Moy ± ES de 4 rats de chaque group.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot diabétique.



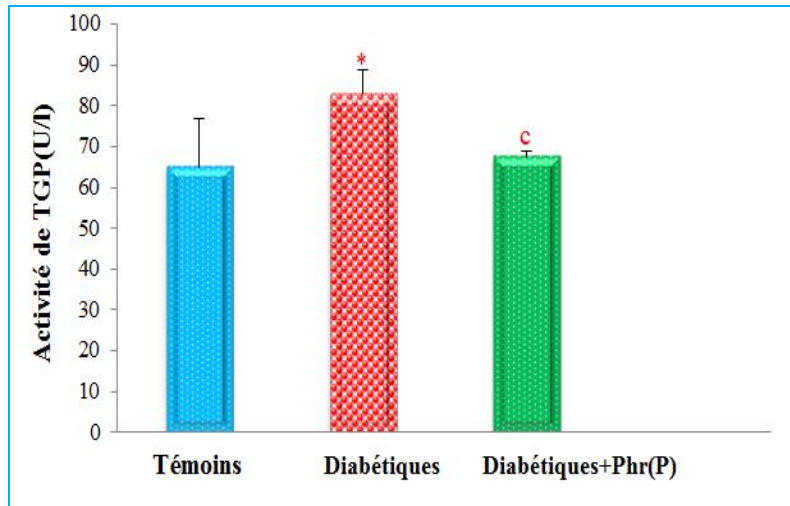


Figure (14) : variation de l'activité enzymatique sérique de transaminase glutamate oxaloacétate (TGO) et transaminase glutamate pyruvate (TGP) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

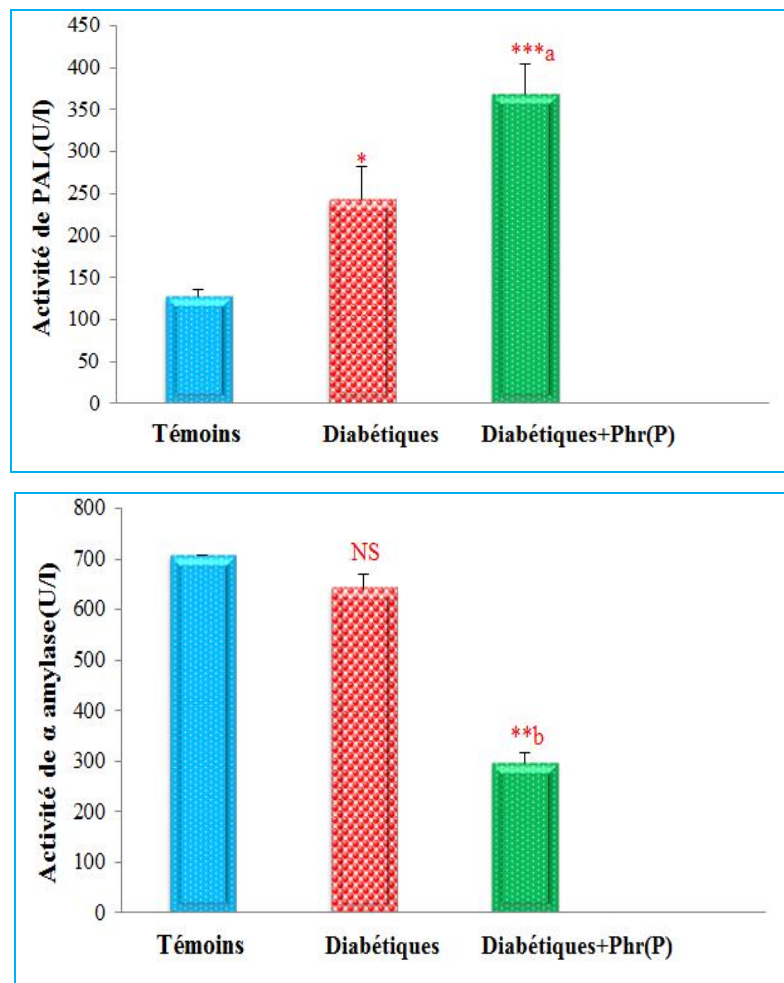


Figure (15): Variation de l'activité enzymatique sérique de la phosphatase alcaline (PAL) et alpha amylase chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

1.6. Étude de l'effet de *Phragmites australis* sur le stress oxydatif

1.6.1. Étude de la peroxydation lipidique (MDA) et Glutathion réduit (GSH)

Nos résultats montrent que la peroxydation lipidique rénale et pancréatique chez les rats diabétiques non traité augmentée de façon significative ($p < 0.05$) et ($p < 0.001$) respectivement par rapports au témoin. Quoique le traitement des rats diabétiques par le *Phragmites australis* induit une diminution du taux de MDA rénale et cardiaque en comparaison avec les rats diabétique non traités, ($p < 0.001$) et ($p < 0.01$) respectivement. D'autre part, nos résultats obtenus révèlent que la concentration de GSH hépatique, cardiaque et pancréatique diminue, ($p < 0.001$), ($p < 0.01$) ($p < 0.001$) respectivement, chez les rats diabétique par rapport au témoin. Mais les résultats de rats diabétiques traités par la plante représentent une amélioration ($p < 0.01$) au niveau GSH cardiaque et pancréatique comparés aux rats diabétiques non traités.

Tableau(11) : Concentration de la peroxydation lipidique et glutathion réduit chez les différents groupes expérimentaux.

Paramètres	Organes	Témoin	Diabétique	Diabétique+ Phr(P)
MDA (nmol/g tissu)	Foie	1.386±0.257	1.529±0.139 ^{NS}	1.481±0.350 ^{NS}
	Rein	2.27±1.36	3.55±0.69 [*]	2.30±±0.079 ^c
	Cœur	1.647±0.392	1.621±0.407 ^{NS}	0.902±0.170 ^{**b}
	Pancréas	1.60±0.099	1.80±0.013 ^{***}	1.37±0.496 ^{NS}
GSH (nmol/g org)	Foie	2.532±0.535	1.548±0.140 ^{***}	1.828 ±0.350
	Rein	2.42±0.40	2.069±0.13 ^{NS}	2.2±0.1 ^{NS}
	Cœur	1.956±0.249	1.589±0.043 ^{**}	2.191±0.284 ^b
	Pancréas	4.31±1.54	1.5±0.029 ^{***}	3.033±0.70 ^b

Moy ± ES. de 4 rats de chaque group. / ^{*} $p < 0.05$; ^{**} $p < 0.01$; ^{***} $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin/ ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot diabétique

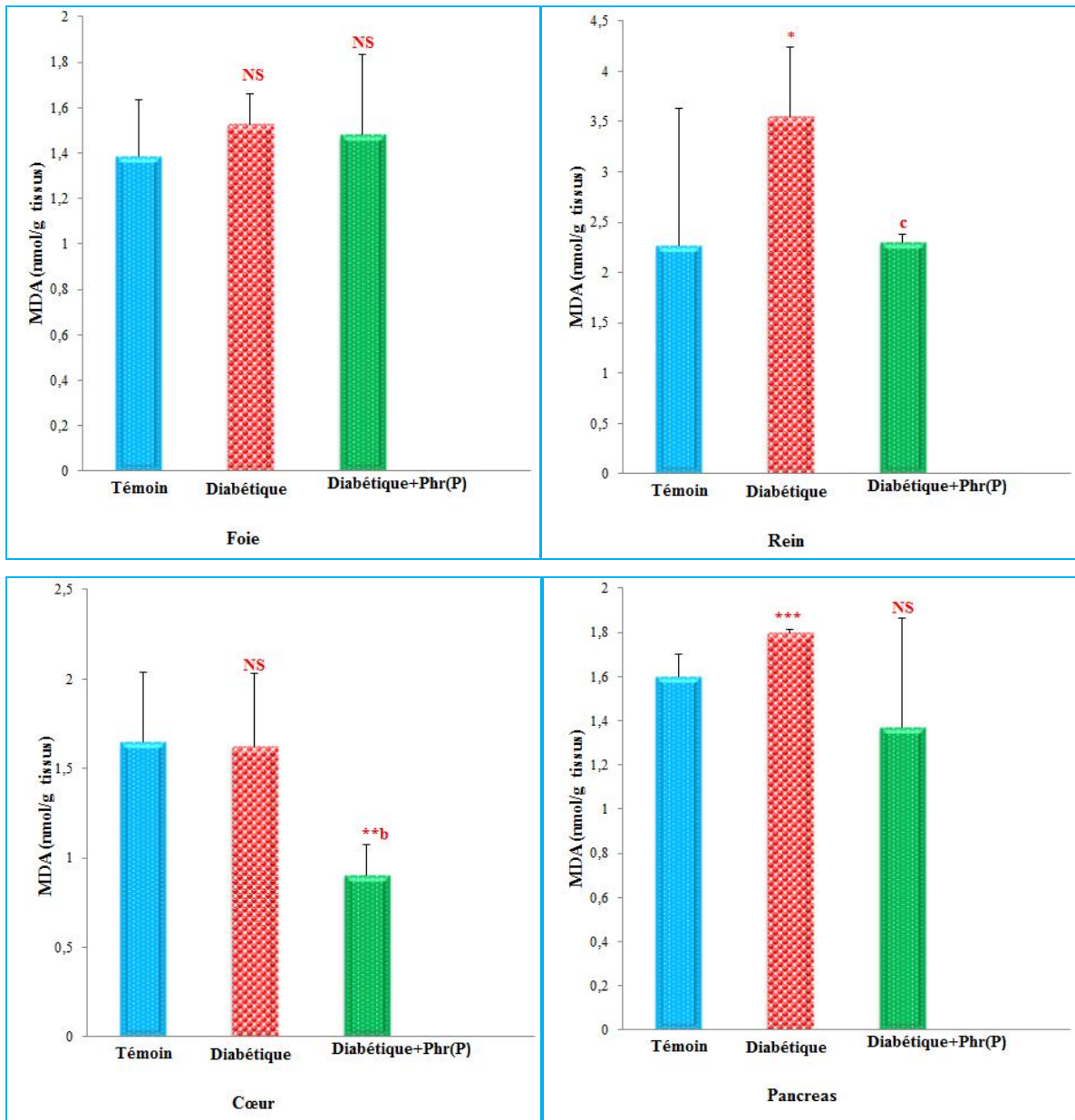
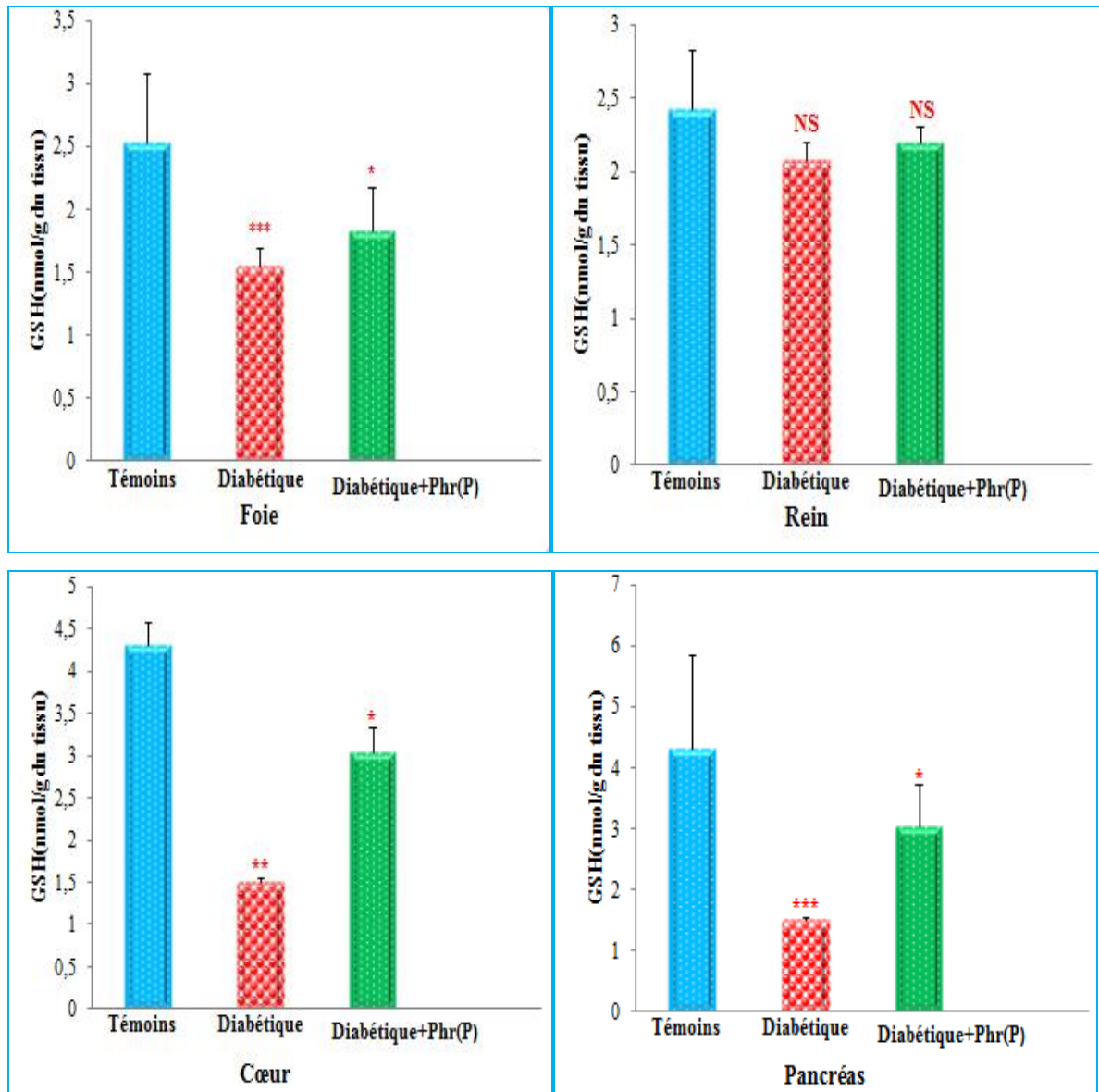


Figure (16): Variation de la teneur hépatique, rénale, cardiaque et pancréatique de Malondialdéhyde (MDA) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.



Figure(17) : Variation de la teneur hépatique, rénale, cardiaque et pancréatique du glutathion réduit (GSH) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

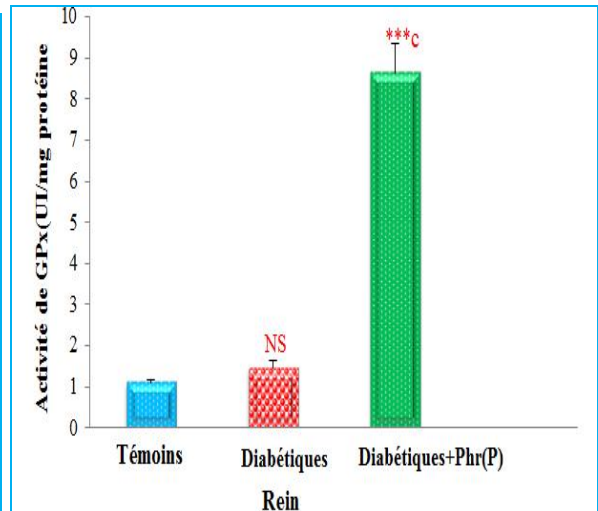
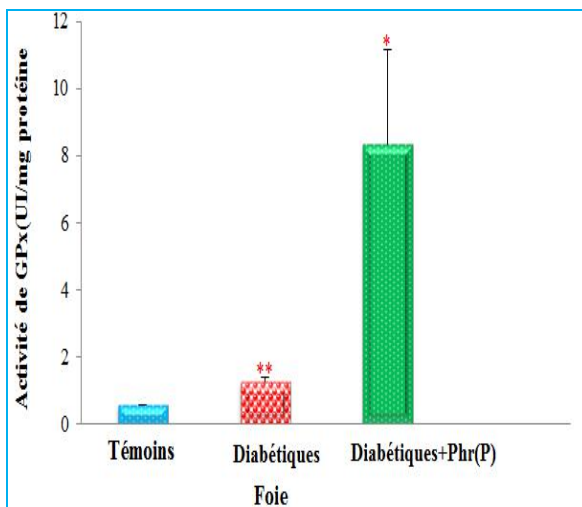
1.6.2.Étude de l'activité de GPx et SOD

Au niveau des antioxydants enzymatiques, nos résultats montrent une diminution au niveau de l'activité de GPx pancréatique ($p < 0.05$) et de la SOD hépatique ($p < 0.05$) et cardiaque ($p < 0.01$) chez les rats diabétiques par rapport au témoin, et aucune variation au niveau de l'activité de GPx hépatique, cardiaque et rénale. Après 21 jours de traitement des rats diabétiques par l'extrait aqueux de *Phragmites australis* on observe une haute amélioration de l'activité de GPx tissulaire, foie ($p < 0.05$), reins ($p < 0.001$), cœur ($p < 0.001$) et pancréas ($p < 0.001$), et de l'activité de superoxyde dismutase SOD hépatique ($p < 0.05$) et cardiaque ($p < 0.01$) par rapport aux rats diabétiques non traités.

Tableau (12) : activité de glutathion peroxydase (GPx) et superoxyde dismutase(SOD) chez les différentes groupes expérimentaux.

Paramètres	Organes	Témoin	Diabétique	Diabétique+ Phr(P)
GPx(UI/mg Pro)	foie	0.57±0.003	1.25±0.17 ^{NS}	8.35±2.82 ^{*a}
	Rein	1.10±0.06	1.45±0.2 ^{NS}	8.64±0.7 ^{***c}
	Cœur	0.96±0.28	1.40±0.02 ^{NS}	8.65±1.12 ^{***c}
GPx (UI/mg Pro)	pancreas	1.73±0.26	1.03±0.28 [*]	14.46±4.41 ^{***c}
SOD (UI/mg Pro)	foie	2.88±1.12	2.023±0.49 [*]	4.89±0.8 ^{**b}
	Cœur	1.90±0.24	0.91±0.2 ^{**}	1.83±0.4 ^a

Moy ± ES. de 5 rats de chaque groupe / ^{*} p < 0.05 ; ^{**} p < 0.01 ; ^{***} p < 0.001 comparaison avec le lot témoin/ ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot diabétique



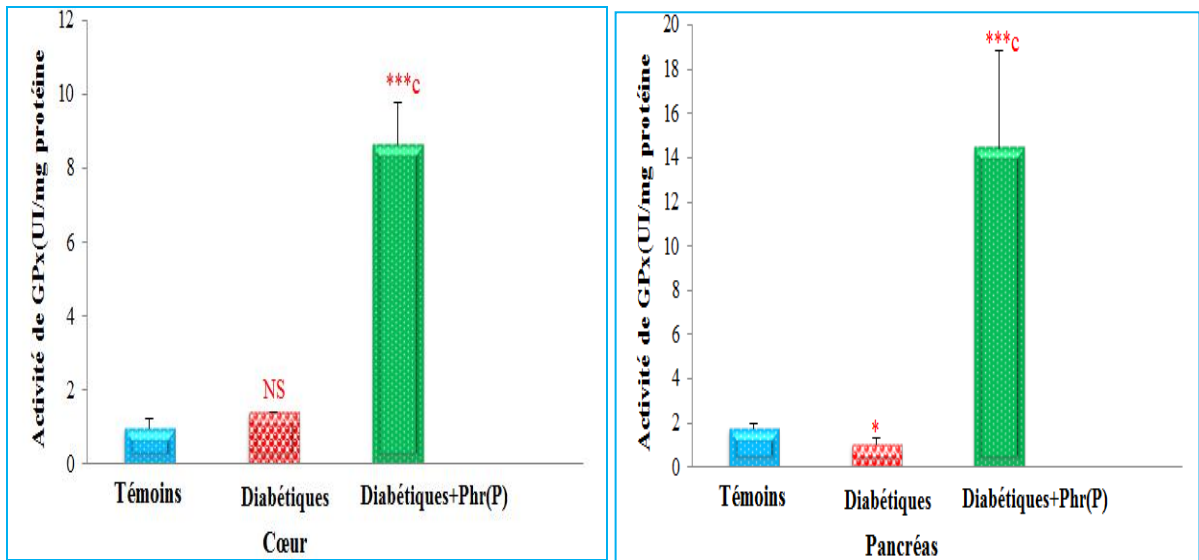


Figure (18) : Variation de l'activité hépatique, rénale, cardiaque et pancréatique de glutathion peroxydase (GPx) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

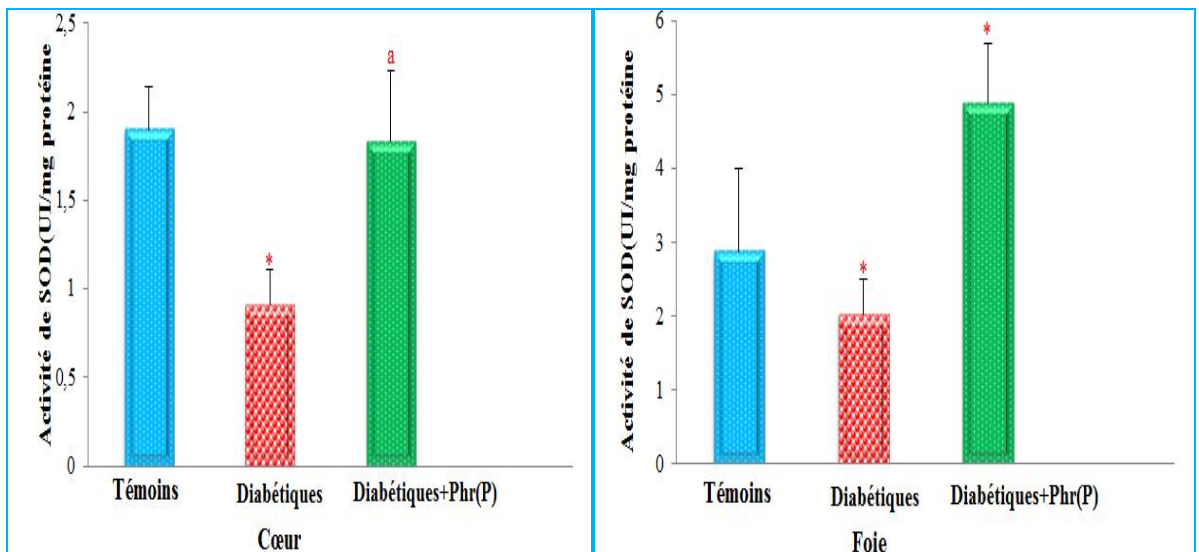


Figure (19) : Variation de l'activité hépatique, cardiaque de superoxyde dismutase (SOD) chez les rats témoins, diabétiques et traités par la plante après 21 jours de traitement.

1.7. Étude histologiques de pancréas

L'observation microscopique de coupes histologiques du pancréas des rats traités par l'alloxane révèle une modification cellulaire bien visible, qui traduit par une atrophie cellulaire chez les rats diabétiques. Alors que les coupes histologiques du pancréas des rats traités par l'extrait aqueux des racines de la plante *Phragmites australis* présente une amélioration au niveau cellulaire.

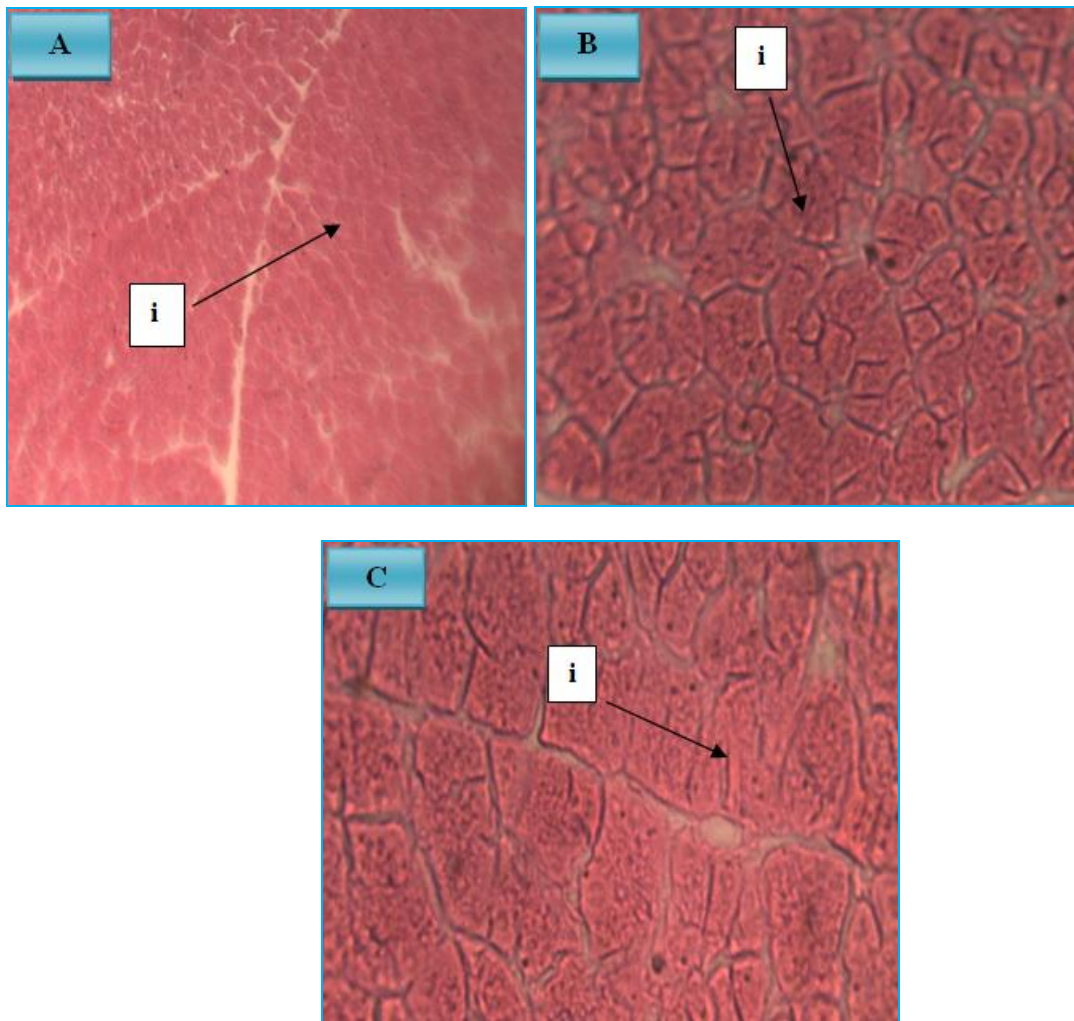
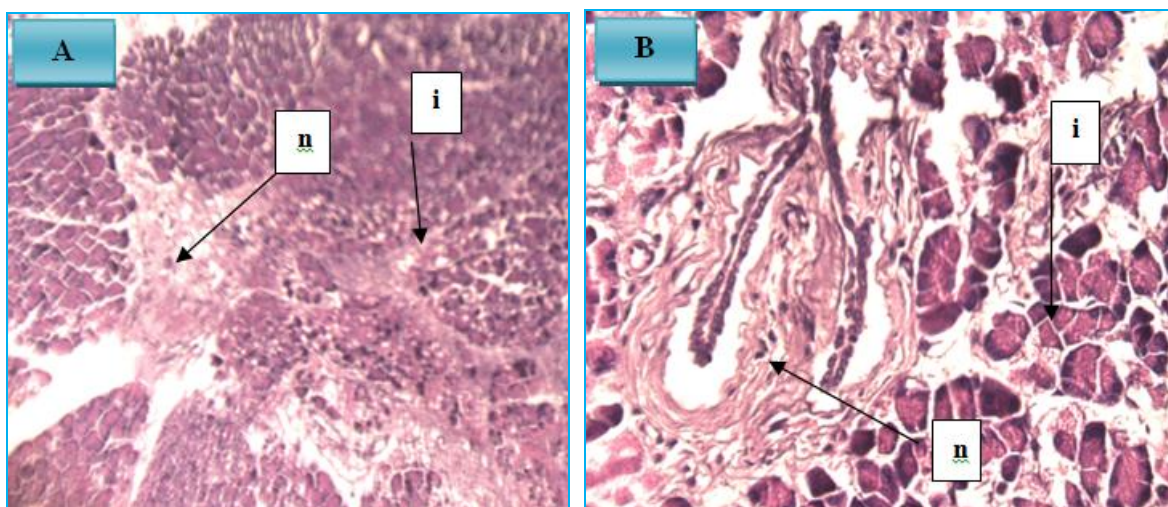


Figure (20) : Pancréas du rat témoin sain : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100. (i) : îlots de Langerhans.(Photo original,2016)



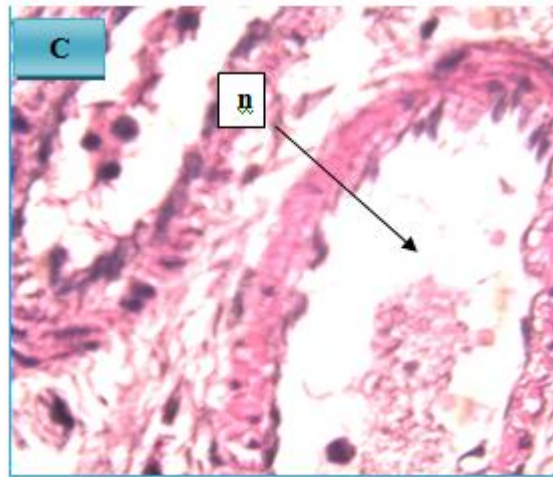


Figure (21) : Pancréas du rat diabétique non traité: (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100. (i) : îlots de Langerhans (n) : Atrophie des îlots de Langerhans. (Photo original,2016)

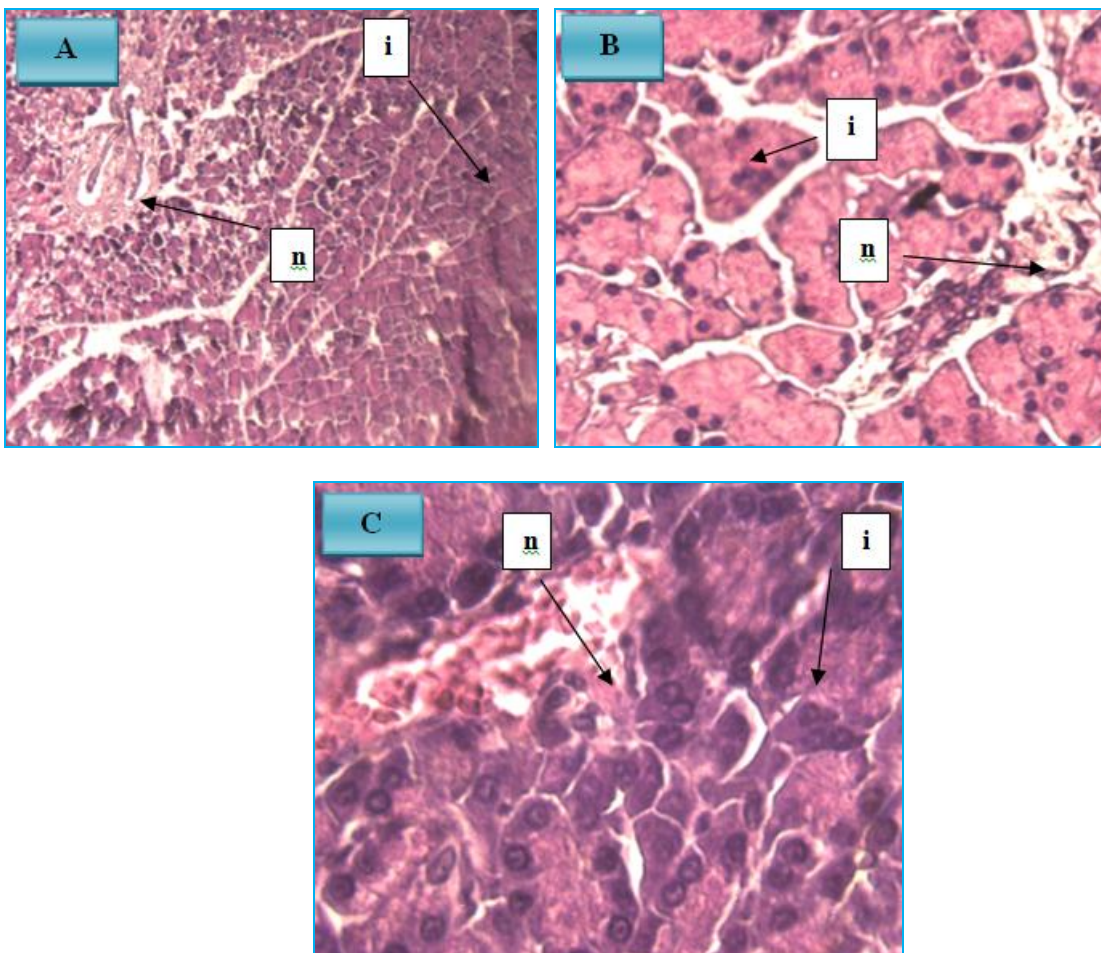


Figure (22) : Pancréas du rat diabétique traité par l'extrait de *Phragmites australis*: (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 , (C) couleur HEx100. (i) : îlots de Langerhans (n) : Atrophie des îlots de Langerhans. (Photo original,2016)

2. Discussion

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie résultant de problème de sécrétion d'insuline, l'action ou les deux. Il a déjà été établi que l'hyperglycémie chronique, du diabète est associé à des dommages à long terme, d'un dysfonctionnement et, éventuellement, la défaillance d'organes, en particulier les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (Huang *et al.*, 2005). En général, tous les agents antidiabétiques (antidiabétiques oraux, insuline) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace et éventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable. L'utilisation de plantes médicinales pour le traitement du diabète sucré remonte des papyrus Ebers d'environ 1550 av. J-C (Kesari *et al.*, 2005). Plus de 400 plantes traditionnelles utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre eux ont subis un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités (Bailey et Day, 1989).

Le but de ce travail est d'étudier l'effet d'extrait aqueux de racines de *phragmites australis* (200 mg/Kg de poids corporel) sur des rats diabétiques. Dans cette étude, le choix de la plante, la voie d'administration, la posologie ainsi que les paramètres suivis sont des points essentiels à discutés.

La base de notre choix pour cette plante où elle est utilisée comme un traitement traditionnel chez certain nombre de personnes diabétiques dans la région de Touggourt, elle est peu utilisable dans le domaine de la phytothérapie. Nous voulons essayer de valoriser de cette mauvaise herbe (*Phragmites australis*) à travers d'étudier l'aspect scientifique de l'effet thérapeutique contre le diabète et ses complication.

Les résultats de l'analyse phytochimique effectuée sur l'extrait aqueux de racines de *phragmites australis* ont montré la présence de certains composés bioactifs. Des flavonoïdes de concentration 14.85 mg/g et polyphénol 15.75 mg/g d'extrait sec de racines de *phragmites australis*, on a remarqué aussi la présence de tanins, des terpénoïdes, et sucres réducteurs ont été trouvées dans l'extrait. Et l'absence de saponines et les alcaloïdes. . Avec une activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux de la plante comparable à l'activité de la vitamine C 76.12% et de l'acide gallique 72.14%.

L'absence des alcaloïdes n'indique qu'aucune toxicité (Mohammedi, 2013), et la présence de composés phénoliques sont bien connues comme des agents antioxydants et dirigé contre les radicaux libres associés aux dommages oxydatifs. Le tanin et les flavonoïdes

agissent sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti-enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus. (Hertel, 2003)

La voie d'administration choisie est la voie orale pour de multiples raisons. D'une part, c'est la voie d'utilisation des plantes dans la médecine traditionnelle. D'autre part, c'est une voie d'administration physiologique, elle offre certain nombre de critères, d'efficacité et de commodité, et pour éviter les risques éventuels d'intoxication. De plus cette voie ne nécessite aucun matériel particulier. De point de vue pharmacologique, la voie per os est la plus couramment utilisée, cette voie est généralement, bien acceptée par les patients. (Bourine, Jolliete, 1999)

Afin de choisir la dose administrée dans notre expérimentation, nous avons faire un teste préliminaire (teste de toxicité), dont on a choisi les doses 500mg et 1000mg d'extrait de *phragmites* /Kg de p c des rats, on n'observe aucune mortalité dans tous les groupes pendant les 48h après le traitement.

Les deux doses choisisses de l'extrait aqueux de *phragmites* causent une augmentation de taux de la créatinine et la forte dose 1000mg/Kg provoque une diminution de taux de glucose sérique, et une augmentation de la transaminase hépatique TGO chez les rats.

La créatinine et la TGO sont considérées souvent comme des paramètres cliniques pour détecter les effets toxiques reliés au traitement par des composées sur les reins et le foie chez les animaux expérimentaux. (Travlos *et al.*, 1996)

D'autre part, on n'a pas aucune variation chez les deux groupes, par rapport au témoin, concernant le taux de l'urée, l'activité enzymatique sériques de la TGP et la PAL, et les poids relatifs hépatique et rénal.

Pour étudier mieux la toxicité de cette plante par le statu de stress oxydatif, les résultats montrent une diminution du taux de MDA hépatiques chez le lot traité par 1000 mg/Kg d'extrait aqueux de *Phragmites australis* et aucune variation au niveau GSH hépatiques.

D'après les résultats de test de toxicité, le *phragmite* n'a aucun effet mortel, aucun effet néfaste sur l'organisme mais à forte dose 1000mg/kg peut conduire à un risque d'atteint rénal et hépatique, c'est pour ça nous avons choisi la dose 200mg/Kg pour faire notre expérimentation d'évaluer l'effet thérapeutique éventuel de *Phragmites australis* au cours de diabète.

Dans cette étude les rats rendus diabétiques par l'injection intra péritonéale d'une dose de 120 mg/kg de Alloxan ont montré une augmentation significative du taux du glucose dans le sang par rapport aux rats témoin .Ceci est consistant avec les résultats des autres études antérieures. (Laxmi *et al.*, 2010)

Cet effet est expliqué par la cytotoxicité de l'Alloxan aux cellules β de Langerhans pancréatique , induit plutôt un diabète de type 1 avec une certaine sécrétion d'insuline (Szkudelski, 2001). L'action cytotoxique de Alloxan est due à sa propriété oxydant forte excentre une activité cytotoxique sur les cellules β par le produit de sa réduction, l'acide diallurique (Grankvist *et al.*, 1981). Il établit un cycle d'oxydoréduction avec formation de radicaux superoxydes, associé à l'internalisation de fortes doses de calcium dans le cytosol provoquant ainsi la destruction rapide des cellules β . (Lenzen *et al.*, 1996)

L'administration d'extrait aqueux de *Phragmites* pendant 21 jours améliore le gain du poids des rats diabétiques ($p < 0.05$), l'augmentation pondérale est due à la croissance normale des rats et peut être à l'effet protectrice de cette plante contre la perte de poids associée à la maladie du diabète , où l'amélioration de poids corporel du groupe traité par la plante pourrait être expliquée par le pouvoir de la plante à restaurer le stock en triglycérides, grâce à l'amélioration de l'insulinosécrétion. (Babu *et al.*, 2007)

Pour étudier l'effet hypoglycémiant d'extrait aqueux de *Phragmites australis* on a fait ; d'une part, le test positif de complexation de glucose ou la glycosylation in vitro peut nous renseigner sur la possibilité d'attribuer le rôle de « glucophage » à ces substances, c'est-à-dire la capacité de fixer le glucose, et intégrer ainsi cet effet parmi les actions possibles des composés phénoliques sur la glycémie des animaux traités. Il faut noter dans ce contexte que les flavonoïdes ont naturellement tendance à lier des oses pour donner les flavonoïdes glycosides. (Bruneton, 1993)

D'autre part, nous avons constaté que l'administration de l'extrait aqueux des racines de *phragmites australis* pendant 21 jours a pu jouer un rôle crucial dans la baisse de la concentration sérique de glucose de façon très hautement significative ($P < 0.001$) chez les rats diabétique, soit par la stimulation de la sécrétion de l'insuline, soit par une action extra-pancréatique et donc par l'influence de l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus.

D'après notre résultats le *phragmites australis* est très riche en flavonoïdes de 14.85 mg de Quercitrine/g d'extrait sec, ainsi la présence de terpénoides, ces deux molécules peuvent

influencent sur les cellules β pancréatique en stimulent la sécrétion de l'insuline (Jang *et al.*, 2000) par l'activation peut être de l'enzyme SIRTUINE 1, enzyme stimulatrice de la chaîne de signalisation de la sécrétion de l'insuline, ainsi que cette enzyme joue un rôle très important dans la sensibilité des cellules périphérique vis à vis de l'insuline. (Kilic *et al.*, 1998)

De plus, les flavonoïdes inhibent les transporteurs du glucose dans les intestins, diminuent l'expression des gènes qui contrôlent la néoglucogenèse, augmentent le stockage du glucose dans le foie et réduisent la dégradation du glycogène (Sarkhail *et al.*, 2007), et la conversion en acides gras au niveau hépatique. (Palsamy, Subramanian, 2008)

L'effet hypoglycémiant de certains extraits de plantes médicinales chez les rats on indique une élévation de l'expression de l'ARNm des protéines de transport du glucose (Glut4) dans les muscles squelettiques. (Shih *et al.*, 2009)

Pour bien compréhension de l'effet hypoglycémiant de *phragmites*, on étudie l'activité sérique de α -amylase, où on observe une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez les rats traités par rapport aux rats diabétique et témoin .

L' α -amylase (1,4- α -D-glucosyl-hydrolase) (Banner *et al.*, 1975), est responsable de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin grêle. Cette dégradation permet l'absorption du glucose et fait augmenter la glycémie. De ce fait, l'inhibition de cette enzyme permette une limitation de l'augmentation de la glycémie (Goetz, 2007). L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes inhibition de β -galactosidase, α -glucosidase et α -amylase (Jarald *et al.*, 2008), ce qui réduit la dégradation de l'amidon et les oligosaccharides, par conséquent, elles agissent par une réduction de l'absorption du glucose au niveau intestinal. En fonction de nos résultats indiquent l'inhibition de l' α -amylase par *Phragmites australis*, donc on suggère que le Phragmite présente un effet bénéfique contre l'hyperglycémie des diabétiques.

Le diabète sucré est aussi associé avec une hyperlipidémie qui provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides. (Cooperstin, Watkin, 1981) Dans cette étude on a enregistré des chiffres significatifs indiquent que le taux des triglycérides sériques augmenté ($p < 0.05$) et un niveau bas de HDL ($p < 0.01$) chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, Il a été confirmé que le diabète est un facteur hyperlipémiant (Garber *et al.*, 2002); l'augmentation de la concentration des triglycérides dans les conditions diabétique est associée à la surproduction hépatique des triglycérides (Dunn *et al.*, 1984). Le traitement des rats diabétiques par l'extrait de *phragmites australis* à

une dose de 200 mg/kg provoque une diminution hautement significative des triglycérides et LDL par rapports aux rats diabétiques, aussi une augmentation significative ($p < 0.01$) au niveau HDL.

Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypolipidémique de plusieurs flavonoïdes, terpènes et d'autres composés phénoliques (Sarkhail *et al.*, 2007). L'effet de notre plante peut être lié à la présence de certaines de ces molécules.

Cet effet est expliqué aussi probablement par l'influence de la plante sur l'excrétion des TG par les voies biliaires et l'action direct sur les enzymes impliquées dans l'anabolisme des triglycérides d'une parts et l'activation des enzymes impliquées dans le stockage des graisse au niveau des adipocytes sous forme des lipides simples (Daiki *et al.*, 2003) , la diminution de LDL peut être expliquer par plusieurs mécanismes, parmi celles-là, par la diminution de la synthèse des acides gras (Bopanna *et al.*, 1997) augmentation du catabolisme des LDL, le renforcement de l'absorption des LDL par l'augmentation des récepteurs LDL , et activation de la LCAT et des lipases tissulaire et/ou inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase. (Khanna *et al.*, 2002)

Il est bien connu que l'hyperlipidémie qui caractérise les rats rendus diabétiques par alloxan est la conséquence de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques sur les tissus adipeux. Étant donné que dans les tissus adipeux l'insuline a une action antilipolytique en inhibant la lipase hormonosensible (Bouldjadj , 2009) , donc peut être l'extrait aqueux de *Phragmites australis* soit activer l'action de l'insuline, soit stimuler la synthèse de l'insuline. Par ailleurs plusieurs études montre que les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation de LDL. (Laughton *et al.*, 1989)

Concernant le métabolisme des protéines, on n'a observé aucune variation au niveau de la créatinine et les protéines sériques, sauf que une augmentation remarquable de l'urée a été notée chez les rats diabétiques traités et non traités ($p < 0.01$), ($p < 0.05$) respectivement,

L'urée et la créatinine sont des produits finals du catabolisme des protéines dans le foie et les muscles, filtrées par les reins et ensuite sont éliminées par les urines, donc ils sont considérés comme des indicateurs de la dysfonction rénal (Boubchir, 2002). Nous avons constaté une augmentation significative de la concentration sérique de l'urée, chez les rats des lots diabétiques non traité et les lots des rats traités par la plante, ceci peut être expliqué par la dégradation accélérée des protéines hépatiques et plasmatiques (Sugden, Fuller, 1991) et par la dégradation de quelques composés protéiques du corps par la protéolyse due à l'alloxane ou

ceux apportés par l'alimentation qui peuvent être dégradés en acides aminés puis en urée. L'urée est l'étape ultime du catabolisme des acides aminés libres. Ceux-ci ont un taux sérique élevé chez les diabétiques (Ganon, 1986) où la perte d'appétit caractérise le diabète (Penny et Lesley, 2008), dans notre travail la plante protège les rats diabétiques contre la perte de poids, ainsi peut-elle améliorer l'appétit au cours du diabète par l'influence sur le système nerveux grâce à des substances bioactives comportées dans cette plante ce qui peut influencer sur le contrôle hormonal de la digestion, et conduit à la dégradation des protéines alimentaires ceci permet la modulation de l'uréogénèse.

Dans la présente étude, on a observé une élévation significative de l'activité de TGP et PAL chez le groupe diabétique par rapport aux témoins aussi on n'observe aucune variation au niveau de l'activité de TGO. L'augmentation de l'activité de TGP et PAL chez les diabétiques due peut être à la destruction des cellules hépatiques (cytolyse hépatique) par des substances toxiques (effet hépatotoxique de l'alloxane). (Barbosa, 2006)

L'administration journalière de l'extrait aqueux de *Phragmites australis* pendant 21 jours provoque une diminution significative de TGP chez les rats diabétiques traités ceux-ci probablement due à une diminution d'apport des acides aminés en conséquence d'amélioration du système de défense contre la protéolyse, aussi par la réduction de processus de la néoglucogénèse qu'une étape essentielle nécessite l'intervention de TGO et TGP (Derouiche, Kechrid, 2013) ce qui confirme l'effet hypoglycémiant de phragmites.

D'après les résultats phytochimiques de *phragmites australis*, on a remarqué la présence des flavonoïdes et triterpénoïdes, qui sont connus par leur activité antioxydante et hépatoprotectrice. (Anusha *et al.*, 2011)

L'administration de *phragmites australis* par les rats diabétiques favorise une amélioration au niveau PAL par rapport aux rats diabétiques et normaux. Selon l'étude de Hai-Ming Zhang *et al* (2014), le *phragmites australis* a un effet anti-polyurie dont améliorer les symptômes de diabète. Ce qui conduit effectivement à la diminution de la perte des oligoéléments tel que le zinc (Zn) par les reins ce qui favorise la rétention de cet oligoélément dans le corps, le zinc est essentiel pour l'activité de la phosphatase alcaline. Il joue un rôle structural, régulateur et catalytique de la fonction de cette enzyme. (Derouiche, Kechrid, 2013)

Dans le diabète, il a été observé à la fois une augmentation de la production des radicaux libres et une diminution des défenses antioxydantes, conduisant à stress oxydant, dans

la présente étude on a montré un état de stress oxydatif chez les rats diabétiques exprimé par des marqueurs spécifiques.

Nos résultats montrent une augmentation du marqueur de la peroxydation lipidique MDA dans les reins et le pancréas chez les rats diabétiques. L'oxydation de lipides rendent les membranes plus rigides et donc moins fluides (Levin *et al.*, 1990). L'augmentation de MDA joue un rôle très important dans l'altération de la γ -glutamylcystéine synthétase (γ -GCS), l'enzyme responsable de la synthèse du glutathion (Cai, Fang, Yang, 2003) dans ce contexte notre résultats montre une diminution de GSH dans les organes étudiés de rats diabétiques. Cette résultat est expliquée par l'état d'hyperglycémie associé au diabète, le glucose est utilisé par la voie des polyols et se transforme en sorbitol, cette réaction consomme le NADPH, ce dernier est indispensable pour la régénération des molécules de glutathion par l'enzyme glutathion réductase ce qui expliquer aussi la diminution de la glutathion chez les diabétiques (West, 2000 ; Baynes, 1991).

Par contre les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux du *phragmites australis* qui contient des composés chémoprotecteurs cellulaires pourvus d'un pouvoir antiperoxydant jouant un effet contre l'effet délétère des radicaux libres, ce qui expliquer le maintien de MDA et GSH à ses niveaux cytosoliques normales dans les organes étudiés (foie, cœur, rein et pancréas).

D'autre part on observe une augmentation significative de l'activité de GPx et SOD tissulaire donc, une grande amélioration au niveau enzymatique contre au stress oxydant chez les rats diabétiques traité par rapport au non traités.

D'après notre résultats, le *phragmites australis* a pu maintenir les systèmes de défense cellulaire antioxydants à leur niveau cellulaire normal pour empêcher ainsi la perte de l'équilibre redox prooxydants / antioxydants. la superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GPx) sont les enzymes majeures antioxydantes, la réaction de dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ainsi que la réduction de celui-ci en eau (H_2O), des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. (Fridovich, 1995)

D'après l'étude de Baran *et al* (2002) le *Phragmites australis* contient le Mn (96.964 mg·kg⁻¹), le Zn (26.964mg·kg⁻¹) et le Cu (8.452 mg·kg⁻¹) , ces sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un

cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc. (Buldak *et al.*, 2014)

Les systèmes enzymatiques de défense antioxydants (SOD, GPx) ne sont pas donc altérés et le taux cellulaire du GSH est conservé sous l'effet chémoprotecteur de *Phragmites australis*, puisque la variation du MDA cellulaire reste normale témoignant de l'absence d'une lipoperoxydation sensible et d'une intégrité cellulaire des organes étudiés dans notre travail.

Par ailleurs une telle hyperperoxydation pourrait être le résultat d'une modification importante du statut redox cellulaire dans le pancréas en faveur des prooxydants, car l'alloxane s'est avéré générateur de radicaux libres qui, par leur pouvoir oxydant, sont à l'origine de l'oxydation de l'ADN, de lipides et de carbohydrates aboutissant ainsi à la mort des cellules β et l'installation du diabète. (Quinlan et Gutteridge, 1988 ; Huk *et al.*, 1998)

Dans ce travail, le traitement des rats alloxanisés par l'extrait aqueux de *phragmites* permet la mise en évidence d'un effet chémoprotecteur et préventif de ses substances contre l'induction alloxanique du diabète. Dans ce contexte, les résultats de la recherche de mécanismes d'action des composés flavonoidiques montrent une activité antioxydante permettant la neutralisation des radicaux libres oxygénés générés par l'alloxane au niveau des cellules pancréatiques. Effectivement le statut redox cellulaire est maintenu à son équilibre en normalisant le taux des systèmes antioxydant des cellules pancréatiques (GPx ,GSH , SOD) chez les rats alloxanisés traités par *phragmites australis* peut être empêche une lipoperoxydation excessive et protège ainsi la mort des cellules β , empêche l'installation du diabète.

L'analyse histologique du pancréas des rats diabétiques par rapport aux rats sains témoins présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules β . Ceci est dû à l'effet cytotoxique de l'alloxane qui se comporte comme un agent relatif d'inhibition enzymatique ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défection apparue de la sécrétion insulinique. (Hincu *et al.*, 2006)

Les coupes histologiques du pancréas des rats diabétiques traités par *Phragmites australis* montrent la présence des ilots de Langerhans mieux délimités avec très peu des nécroses cellulaires. Cela pourrait signifier que la plante a un effet protecteur de la structure et la fonction des cellules β de Langerhans. Cet effet protecteur des ilots observé pourrait être

du à la présence des composés antidiabétiques révélés par l'étude phytochimique. En effet il a été rapporté que les flavonoïdes avait la faculté de régénérer les cellules beta da langerhans et donc de restaurer la sécrétion d'insuline chez les rats rendus diabétique par l'alloxane (Perez *et al.*, 1998), de même les flavonoïdes et plusieurs autres composés phénoliques (exp :tanins) ont été testés comme cytoprotecteurs et chélateurs de radicaux libres (Ouali *et al.*, 2007). Notre plante comporte ces familles de molécules (flavonoïdes, triterpènes et tanins), et il n'est pas impossible que l'une ou l'autre ou la synergie de tous ces composés soit responsable de la (protection) cellulaire des ilots de Langerhans. Il est à noter également que la protection pourrait être due a d'autre principes actifs n'étant pas encore identifiés.

Nos résultats montrent donc l'effet protecteur de l'extrait aqueux de *Phragmites australis* expliqué par sa capacité à protéger les dommages cellulaires contre le stress oxydatif.

Conclusion

Conclusion

Le travail que nous avons mené est consacré à l'étude de l'effet de *Phragmites australis* sur l'évolution du poids corporel, le bilan biochimique sanguin, des paramètres de stress oxydatif et l'architecture du tissu pancréatique chez des rats diabétiques. L'objectif de ce travail est d'étudier si le traitement par d'extrait aqueux de racines de *phragmites australis* a un effet sur la prévention des dégâts de diabète et ses complications. A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

-L'analyse qualitative et quantitative de la plante montre que l'extrait aqueux de *Phragmites australis* est très riche en polyphénols, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes et sucres réducteurs, ainsi que notre plante avoir une activité anti-radicalaire, ce qui pourrait représenter une nouvelle source potentielle des molécules bioactives ont un important effet thérapeutique contre plusieurs pathologies.

- Les résultats de teste de toxicité montrent clairement que le *Phragmites australis* n'a aucun effet néfaste ou toxique sur l'organisme et ne conduit aucun cas de mortalité chez les rats traités, ce qui nous permet d'utiliser la dose 200mg/Kg de *Phragmites australis* pour évaluer l'effet thérapeutique de cette plante.

-Le traitement par la plante chez les rats diabétique pendant 21 jours améliore les paramètres biochimiques, en diminuant la glycémie et triglycéridimie le taux de LDL sérique ; et en augmentant le HDL ce qui montre l'effet bénéfique de cette plante contre les perturbations métaboliques associées au diabète et ses complications cardiovasculaires.

-Pareillement nos résultats ont montré que l'extrait aqueux de *Phragmites australis* réduit la peroxydation lipidique et améliore le statut antioxydant (GSH, GPx et SOD) ce qui fournit la preuve que l'utilisation de cette plante pourrait protéger le foie, le cœur, les reins et le pancréas contre les pathologies lies aux effets délétères des radicaux libres accompagnés au diabète.

-Concernant les analyses histologiques, une protection partielle au niveau de cellules pancréatique observé sous l'effet de traitement par l'extrait chez les rats diabétiques.

On peut conclure que le *Phragmites australis* a un grand intérêt thérapeutique contre le diabète et ses complications.

Conclusion

Perspectives

Vu l'importance de ces résultats, ce travail nécessite d'autres études approfondies pour mieux comprendre les molécules responsables de l'effet pharmacologique et les mécanismes et leur mode d'action sur les différents systèmes biologiques au cours de diabète

Cette étude aussi nécessite d'autre étude complémentaire pour identifier l'effet de l'extrait aqueux sur la sécrétion et l'action de l'insuline chez des rats ont le diabète de types 1 et 2.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. **Allan , L.(2008).** *Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique.* Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé. Université Louis Pasteur Strasbourg,231 p.
2. **Angelos,M.G.,Kutala,V.K.,Torres,C.A.,HE,G.,Stoner,J.D.,Mohammed,M.,Oerannan, K.(2005).**Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation *Am J Physiol Heart Circ Physiol* , 290: 341-347.
3. **Anne,C.D.(2012).***La sixième complication du diabète.* université de bretagne occidentale, p72.
4. **Anusha,M.,Venkateswarlu,M.,Prabhakaran,V.,Shareen,T.A.J.S.,Pushpa,K.B.,Ranganayakulu ,D.(2011).**Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Portulaca oleracea* in combination with lycopene in rats. *Indian J Pharmacol*, 43(5): 563-567.
5. **Aslan,M.,Didem,D.O.,Nil,U.O.,Ekrem,S.,Erdem,Y.(2007).**In vivo antidiabetic and antioxidant potential of *Helichrysum plicatum* ssp.*plicatum* capitulum in streptozotocin-induced-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* ,109 : 54–59.
6. **Aurelien ,P.(2010).***Rofils glycémiques périopératoires des patients ayant bénéficié d'une chirurgie de l'aorte abdominale.* Université henri poincaré.nancy . Faculté de médecine de nancy, 94p.
7. **Babu,P.S.,Prabuseenivansan,S.,Lgnacimuthus,S.(2007).**Cinnamaldehyde-a potential antidiabetic agent.*phytotherapy* ,14:15-22.
8. **Bailey ,C.J., Day, C .(1989).** Traditional plants medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*, 12(8) : 553-564.
9. **Banner, D. W., Bloomer, A. C., Petsko, G. A., Phillips, D. C., Pogson, C. I., Wilson, I. A., Corran, P. H., Furth, A. J., Milman, J. D., Offord, R. E., Priddle, J. D.,Waley,S.G. (1975).**Structure of chicken muscle triose phosphates isomerase determined crystallographically. *Nature* ,255: 609-614.
10. **Baran ,M., Varadyova, Z (2002).**The common reed (*phragmites australis*) as a source of roughage in ruminant nutrition. *ACTA VET. BRNO* , (71): 445–449.
11. **Barbosa,N.B.V.,Rocha,J.B.T.,Wandracek,D.C.,Perottoni,J.,Zeni,G.,NOgueira,W .(2006).**Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia: possible relationship with oxidative stress. *Chemico.Biological Interactions*,163: 230-238.

Références bibliographiques

12. Barouki R, Morel Y.(2001).Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress : mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol* , 61 : 511-516.
13. Baynes ,J.W.(1991).Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*,40:405-412.
14. Beauchamp,C., Fridovich ,I.(1971). Assay of superoxide dismutase. *Anal Biochem*,44: 276-287.
15. Beaudeau,J.L.,Dominique,B.R.(2005).*Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Edition médicales. Internationales ,550 p.
16. Beckman ,K .,et. Ames, B.N. (1997).Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem*, 272 : 19633-19636.
17. Blickle, J.F.(2004).Actualités sur les traitements oraux du diabète. *Elsevier.Paris* : 209-221.
18. Boizot,N., Charpentier ,J.P.(2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah. Tech. INRA*. N°. special, 79-82.
19. Bonnefont ,R.D., Bastard ,J.P., Jaudon ,M.C., Delattre,J.(2000).Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes and Metabolism.(Paris)*,26 : 163-176.
20. Bopanna,K.N.,Kannan,J.,Gadgil,S.,Balaraman, E.R.,Rathore ,S.P.(1997).Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seed kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*,29 : 162 – 167.
21. Bouazzaoui, K.(2012). *Toxicité aigue et effet hypoglycémiant alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (Citrullus colocynthis), famille des cucurbitacées, chez les rats Wistar*. Université abou bekr belkaid .Tlemcen Faculté des sciences de la vie et science de la terre et de l'univers Département de biologie,241p.
22. Boubchir, M.A.(2002).Biochimie de néphrologie. 2ème ed. ISBN, 320:789-23.
23. Bouhalouas ,T.(2014).Pseudo-kyste du pancréas .Université Aboubakr Belkaid Tlemcen Faculté de médecine,45.p
24. Bouhours,N.,Coutant,R.(2005).Diagnosis and characteristics of childhood type1.diabetes.elsevier. France. EMC-Pédiatrie, 2 : 220–242.
25. Bouldjadj, R.(2009).*Etude l'effet antidiabetique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilise d'artemesia herba alba asso chez des rats sains et des rats rendues*

Références bibliographiques

- antidiabétique par streptozotocine*.thèse de magistère en Biologie Cellulaire et Moléculaire.Constantine,111 p.
26. **Boumaza,A.(2009)**,*Effet de l'extrait méthanoïque de Zygophyllum cornutumcoss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation*. Thèse magister: Toxicologie Cellulaire et Moléculaire. Constantine,125p.
27. **Bourine ,M ., Jolliete ,P.(1999)**,*pharmacologie général et pratique*. Ed ellipse. Paris,142 p.
28. **Bouxid ,H .(2012)** .*les plantes medicinales et diabete de type 2*. Universite sidi mohammed ben abdellah faculte de medecine et de pharmacie,106p.
29. **Bradford ,M.M.(1976)**.A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Academic Press*,72 (57): 248-254.
30. **Bruneton, J.(1993)**.Pharmacognosie. phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC. *Paris*, 2^{ème} édition.268-277.
31. **Buádak ,L., Labuzek ,K., Buádak ,R.J., Kozáowski, M., Machnik ,G., LIBER, S., SUCHY, D., Duáawa,B.A., Okopieč ,B.(2014)**.Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase. catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages.*Pharmacol Rep*,66(3):418-429.
32. **Buccolo ,G., Harold ,D.(1973)**.Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin .chem*. Vol 19.(5). 476-482. Cité par fiche technique *SPINREACT*, Ref:1001310.
33. **Buyschaert ,M., Vandeleene , B., Parus ,I., Hermans , M.P.(1999)**.Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. *Louvain Med*,118:189-195.
34. **Cadet ,J et al. (2002)**.Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repairglycosylases, *Biol Chem*, 383(6) : 93 - 100.
35. **Cai ,Y.J.,Fang ,J.G.,Yang, L.(2003)**.Inhibition of free radical induced peroxidation of rat liver microsomes by resveratrol and its analogues. *Biochimica et Biophysica Acta*,1637:31-38.
36. **Caroline ,J .(2003)**. *stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabete .etude du glutathion et de la glutathion peroxydase*. l'institut national des sciences appliquees de lyon .spécialité biochimie,200 p .

Références bibliographiques

37. **Chehna, A.(2006).***Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien.* Ed, P.E.Z.A.S. Algérie,140p
38. **Claude ,L.(2007).**Le roseau commun au Québec : enquête sur une invasion. *Le naturaliste Canadien*,132(2):5-9.
39. **Cooperstin ,S.J., Watkin,D.(1981).**Action of Toxic Drugs on Islet Cells in the Islets of Langerhans. *Academic Press*, New York : 387 – 425.
40. **Couzin ,F. J.(2011).**Trying to reset the clock on type 1 *.diabetes.Science*,333:819-821.
41. **Cronk,J.K.,Fennessy,M.S.(2001).***Wetland Plants .Biology and Ecology.*Lewis Publishers. USA,462 p.
42. **Cuendet,M., Hostettmann,K., Potterat,O.(1997).**Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta* ,80 :1144-1152.
43. **Daiki, M.,Yutaka ,M.,Kazumi,Y.(2003).**Hypolipidemic action of dietary resveratrol. a phytoalexin in grapes .in hepatoma-bearing rats. *Life Sci*,73:1393-1400.
44. **Daniel,L.M.D.(2014).***Anatomy and Histology of the Pancreas.Department of Pathology.*Geisel School of Medicine at Dartmouth, Lebanon. NH, 16 p.
45. **Dehpour ,A. A., Ibrahimzadeh ,M. A., Seyed, F. N., Seyed M N.(2009).**Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*,60: 405-412.
46. **Dekkar ,O.(2012).***l'éducation thérapeutique du patient diabétique (pratiques et messages éducatifs) (a propos de 100 cas).* Université sidi mohammed ben abdellah .Faculte de medecine et de pharmacie fes,187p.
47. **Delattre , J., Beaudoux, J.L., Bonnefont ,R.(2005).**Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier edition TEC and DOC éditions médicales internationales Paris* ,1 - 405.
48. **Derouiche ,S., Kechrid, Z.(2013).**Influence of calcium supplements on zinc status, carbohydrate metabolism and the liver activity of detoxifying glutathione enzymatic system in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, Vol.1(6): 425-429.
49. **Derubertis,F.R.,Craven,P.A.,(2005).***Oxidative and glycoxidative stress in diabetic nephropathy.* Ed: P.Cortes .,et. C.E Magensen. Humana press Inc, Totawa N.J.

50. Drouin ,P., Blickle ,J.F., Charbonnel ,B., Eschwege ,E., Guillausseau, P.J., Daninos J.M., Balarac ,N., Sauvanet, J.P.(1999).Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. *Diabète et Métabolisme*. Paris ,25(1) : 72-83.
51. Dunn ,F.L.,Raskin P.,Bilheimer ,D.W.,Grundy ,S.M.(1984).The effect of diabetic control on very low-density lipoprotein triglyceride metabolism in patients with type II diabetes mellitus and marked hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 33: 117-123.
52. Emmanuel ,C.K et al.(2000).Diabète et troubles mictionnels. *Service d'Urologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris.France, E. Chartier-Kastler et coll. Progrès en Urologie*,10 : 14-23.
53. Esser,D.,Pronost ,J.(2005).*Traitement de l'azote et du phosphore - des stations filtres plantés de roseaux pour dépasser le niveau d'épuration D4*. Environnement et Technique.246 p.
54. Evans ,W.C.(2009).*Trease and Evans' Pharmacognosy*. 16e. Ed. Saunders Elsevier. London,616 p.
55. Falleh ,H., Ksouri, R., Chaieb ,K., Karray-Bouraoui ,N., Trabelsi ,N., Boulaaba ,M., Abdelly,C.(2008).Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs. and their biological activities. *Compt. Rend. Biol*, 331:372-379.
56. Farnsworth ,N. R., Akerele ,O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo ,Z.(1986).Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé* ,64 (2) : 159-164.
57. Faucteux,A.(2002).*Des roseaux contre les eaux usées*. Revue de la science au QUEBEC. Nouvelle édition ,220 p.
58. Feskens ,E.J.M., Bowles, C.H., Kromhout,D .(1991).Carbohydrate intake ind body mass index in relation to the risk of glucose tolerance in an elderly population.*Am.J.Clin.Nutr*,54 :136-140.
59. Flohel., Gunzler.(1984).Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*,Vol. 105: 114-121.
60. Frank ,M. Faraci; Sean P. Didion.(2004).Vascular Protection Superoxide Dismutase Isoforms in the Vessel Wall. *Thrombosis and Vascular Biology* , 24:1-1367.
61. Fridovich ,I.(1995).Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 64: 97-112.
62. Friedwald ,T.W., Fredrickson ,D.S., Levy ,R.J.(1972).LDL cholesterol estimation. *Clin Chem*,18: 499-501.

63. Ganon ,W.F.(1986).Physiologie médicale. *Ed Masson,Paris*, 283- 403
64. Garber,A.J.,Attenuating,C.V.(2002).Risk factors in patients with diabetes: clinical evidence to clinical practice. *Diabetes Obes Metab* , 1:5-12.
65. Goetz , P.(2007).Phytothérapie du diabète. *Springer*,5: 212–217.
66. Goudable,J.,Favier ,A.(1997).Radicaux libres oxygenes et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol*,11:115 - 120.
67. Grankvist,K., Marklund,S.L.,Taljedal,I.B.(1981).Cu Zn-superoxide dismutase. Mn-superoxide dismutase. catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochem. J*, 199: 393-398.
68. Hai-Ming,Z., Feng-Xia ,L., Rui ,CH.(2015).Review Article Ancient Records and Modern Research on the Mechanisms of Chinese Herbal Medicines in the Treatment of Diabetes Mellitus. Hindawi Publishing Corporation.Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. ID 747982,14 p.
69. Haj,M.D., Ezzaher ,A., Neffati, F.,Douki ,W.,Gaha L., Najjar, M .F.(2012).Étude d'un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs : le malondialdéhyde . *Elsevier Masson SAS. Immuno-analyse et biologie spécialisée*, (27): 153-158.
70. Haleng, J., J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Harlier, J.P.(2007). HaPelle,C.Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62 (10) : 628-638.
71. Hamza ,N.(2011).Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. thèse du doctorat: science alimentaire, Constantine,154 p.
72. Harborne ,J.B.(1998).Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis. Ed. Chapman and Hall. London,302 p.
73. Haslam ,E.(1974).Polyphenol-Protein Interaction. *Biochem. J*,139 : 285-288.
74. Hertel,J.M. (2003).Plantes médicinales et diabète. *Nouveau Magazine de phytomania*.
75. Hincu,M., Pantea,S., Anca, M., Coman ,E.M .,Mehedinti ,T.(2006).L'effet de l'alloxane sur l'histologie du tissu pancréatique. *Fascicula XVII. Anul*.
76. Hong ,J .H., Kim ,M. J., Park, M. R., Kwag ,O. G., Lee, I. S., Byun ,B .H., Lee ,S ,C.,Lee ,K. B ., Rhee, S. J.(2004).Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin induced diabetic rats. *Clin Chim Acta* ,340:107-115.

Références bibliographiques

77. Houlot, R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Ed. Maloine, 19-21:225-227.
78. Huang, T.H.W., Peng, G., Kota, B.P., Li, G.Q., Yamahara, J., Roufogalis, B.D., Li, Y. (2005). Anti-diabetic action of Punica granatum flower extract: activation of PPAR-cand identification of an active component. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 207:160–169.
79. Huk, J., Brokovich, V., Nanobashvili, J., Weigel, G., Neumayer, C., Partika, L., Patton, N., Malinski, T. (1998). Bioflavonoid quercetin scavenger superoxide and increases nitric oxide concentration in ischemia-reperfusion injury: an experimental study. *Brit J Surg*, 85: 1080- 1085.
80. Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., Laage, D.E., Meux, D.E, A., Moulard, F., Zha, E., Roque, R., Roque, O., Vican, P., Deesalle, F.T., Biaujeaud, M., Ringuet, J., Bloth, J., Botrel, A. (2001). Larousse des plantes medicinales : identification. Préparation. soins. Ed Larousse, p10-12.
81. Jang, Y.Y., Song, J.H., Shin, Y.K., Han, E.S., Lee, C.S. (2000). Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in STZ-induced diabetic rats. *Pharmacol Res*, 42 : 361 -371.
82. Jarald, E., Balakrishnan, S.J., Chandra, J.D. (2008). Diabetes and Herbal Medicines. *Iranian journal of pharmacology and therapeutics*. 97-106.
83. Jenkins, A.J., Hill, M.A., Rowley, K.G. (2007). Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. *Holtzman J.L (ed)*, 123-160.
84. Kabouche, S. (2010). *Etude de la relation du thé vert. Maladies cardiovasculaires et Stress oxydant*. These de magister Université Mentouri .Constantine .Faculté des Sciences. Département de Biologie Animale, 105 p.
85. Kahn, B.B., et, Flier, J.S. (2000). Obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investestigation*, 106(4): 473-481.
86. Kaplan, A.U., Kaplan, A et al. (1984). *Clin Chem* .The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1257-1260 and 437 and 418. cite par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001331.
87. Kargar, C., Ktorza, A. (2009). Anatomie-histologie fonctionnelle du pancréas. Traité de diabétologie 2ème édition.
88. Kesari, A.N., Gupta, R.K., Watal, G. (2005). Hypoglycemic effects of *Murraya koenigii* on normal and alloxan diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol*, 11 : 223–231.

Références bibliographiques

89. Khanna ,K., Rizvi ,F., Chander ,R.(2002).Lipid lowering activity of Phyllanthus niruri in hyperlipemic rats. *J. Ethnopharmacol*, 82: 19-22.
90. Kilic, N., Malhatun ,E., Elmali ,E., Altan ,N.(1998).An investigation into the effect of sulfonylurea glyburide on glutathione Peroxidase activity in streptozotocininduced diabetic rat muscle tissue. *Gen Pharmacol*,30(3):399-401.
91. Kirschvink ,N *et al.* (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*, (177):178–191.
92. Kolm-litty, V., Sauer ,U., Nerlich,A.,Lehmann, R., Schleicher ,E.D .(1998).High glucose.induced transforming growth factor beta1 productionis mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J. Clin. Invest.* 101 : 160 - 169.
93. Korshunov,S.S.,Skulachev ,V.P.,Starkov,A.A.(1997).High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS letters* ,416: 15-18.
94. Kristin ,S.(2005).Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North America , 99 :1-4. 2445–2449.
95. Ktorza,A.,Magnan,C.(2005).Production et sécrétion de l’insuline par la cellule b pancréatique . *EMC.Endocrinologie* ,2 : 241–264.
96. Laughton ,M.J.,Halliwell,B.,Evans ,P.J., Hault, J., Robin ,S.(1989).Antioxy dant andpro-oxy dantactions of the plant phenolics quercetin, gossy pol and myricetin.*Biochem Pharmacol*,38 (17): 2859-2865.
97. Lavoie ,C.(2007).Le roseau commun au Québec : enquête sur une invasion. *Le Naturaliste canadien*, 131 (2) : 5-9.
98. Laxmi ,V.,Anirudh, K.,Basant,K., Umesh,K.,Rajesh,P.,Pawar ,S.(2010).Antidiabetic activity of *Cassia occidentalis* (Linn) in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Pharmacol*,42(4): 224–228.
99. Lenzen ,S., Munda,Y. R.(1991). Thiol group reactivity , hydrophilicity and stabilit y of alloxan, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochem Pharmacol*,42: 1385–91.
100. Levin, G., Cogan, U., Mokady, S.(1990).Riboflavin deficiency and the function and fluidity of rat erythrocyte membranes. *J Nutr* ,120 (8) : 857–861.
101. Li ,Y., Cao, Z., Zhu ,H., Michael ,T.A.(2005).Differential roles of 3H-1,2-dithiole-3-thione-induced glutathione, glutathione s-transferase and aldose reductase

Références bibliographiques

- in protecting against 4-hydroxy-2-nonenal toxicity in cultured cardiomyocytes .
Archives of Biochemistry and Biophysics 439(1): 80-90.
102. **Mal,T.K et . Narine L.(2004).** The biology of Canadian weeds. *Phragmites australis* (Cav.) *Trin. ex Steud. Can. J. Plant Sci*,84: 365–396.
103. **Mandrup-poulsen, T.(2003).**Recent advances :*Diabetes. BMJ* , 316:1221-1225.
104. **Marc ,T., Gerard ,W., Denis,L.(2001).**Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. *Etudiants et professionnels paramédicaux*,4^{eme} Edition,426 P.
105. **Marnett, L. J. (1999).** Lipid peroxidation DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*,424: 83-95.
106. **Marouf, A.,Joël ,R.(2007).**La botanique de A à Z.*Edition Dunod. Paris*, p.66-82.
107. **May,J.M.,Mendiratta,S.,Hill,K.E. Burk,R.F.(1997).**Reduction of dehydroascorbate to ascorbate by the selenoenzyme thioredoxin reductase. *J. Bio. Chem*, 272: 22607-22610.
108. **Meiattini ,F et al.(1978).**The 4 hydroxybenzoate/4 aminophenazone chromogenic system. *Clin chem*, 24(12): 2161-2165.
109. **Melanie ,B.(2011).**depistage du diabete detype 2 par les pharmaciens d'officine: enquête descriptive sur la pratique auprès de leurs patients etrésultats de plusieurs campagnes de dépistage dans les officines lorraines en 2007,2008 et 2010. universite henri poincare .nancy, 1. 152 p.
110. **Minchinton ,T.E.,Simpson ,J.C, Bertness ,M.D .(2006).** Mechanisms of exclusion of native coastal marsh plants by an invasive grass. *Journal of Ecology* ,94: 342–354.
111. **Mireille, V. (2006).** *Utilisation de plantes agronomiques et lacustres dans la dépollution des sols contaminés par le RDX et le TNT : approches en laboratoire.* Le titre de docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse,116p.
112. **Mohammedi,Z.(2013).***Etude phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie.* Faculté des Sciences Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire Laboratoire des Produits Naturels. l'université de Tlemcen,170 p.

Références bibliographiques

113. Mohora ,M., Virgolici,B.,Paveliu,F.,Lixandru ,D., Muscurel,C.,Greabu,M .(2006).Free radical activity in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Rom. J. Intern. Med.*1: 69 - 78.
114. Murray ,R.(1984 a).Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. Toronto. Princeton:1088-1090. Cité par fiche technique SPINREACT, Ref: 1001170.
115. Murray ,R. (1984b) .Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. toronto. Princeton:1112-116. Cité par fiche technique SPINREACT, Ref:1001160.
116. Murray,R.L.(1984c).Creatinine In: Clinical Chemistry; Theory, Analysis and Correlation, Kaplan, L.A., Pesce A.J. (Ed) *CV Mosby Company St Louis*, 1247-1253.
117. Moneva ,M.H., Dagogo,J.S.(2002).Multiple drug targets in the management of type 2 diabetes. *Current Drug Targets*,3: 203-221.
118. Nakajima,K.,Nakano,T.,Tanaka,A.(2006).The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The compairison of atherogenic effects on oxidized LDL and rem-nant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*,367: 36-47.
119. Naito, H.K.(1984).High-density lipoprotein (HDL) cholestérol. Kaplan A et al. Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. Toronto. Princeto,1207-1213 and 437. Cité par fiche technique SPINREACT,Ref:1001095.
120. Obame, E., Louis,C.(2009).*Etude Phytochimique. Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines*.Universite de ouagadougou unité de formation et de recherche sciences de la vie et de la terre (UFR-SVT), Centre de recherche en sciences biologiques alimentaires et nutritionnelles (crsban) Pôle Régional D'Excellence en Biotechnologies de Ouagadougou .PREBO,277 p.
121. Okado ,M .A .,et. Fridovich ,I.(2001).Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem*. 276:38388-38393.
122. OMS (Organisation mondiale de la Santé).(2000).Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. *WOH/TRM/2000*,1 : annexe II : 31-35.
123. OMS (Organisation Mondiale de la Santé).(2002).*Diabète sucré*. Aide mémoire ,138.

Références bibliographiques

124. OMS (Organisation Mondiale de la Santé).(2007). Prévention et contrôle du diabète :Une stratégie pour la région africaine de l'oms . Comité régional de l'africaine. Brazzaville. Congo ,43 p.
125. Ozougwu ,C .J et al.(2013).The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus.Physiology and Biomedical Research Unit. *Department of Biological Sciences.College of Basic and Applied Sciences. Rhema University Aba. Abia State. Nigeria*, 4(4).pp :46-57).
126. Palsamy.,Subramanian.(2008).Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomed and pharmacothe*,(62): 598-605.
127. Paul,I.(2001).*Enceclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition)* . france.
128. Penny ,M .,et .Lesley C.(2008).Gérer les jours de maladie chez les personnes atteintes de diabète.*Diabète voice* , 53 :1-2.
129. Peppia ,M., Uribarri ,J .,Vlassara ,H.(2005).Diabets and advanced glycoxidation End products. *Ed:M.T Jhonstone. Humana press Inc. Totowa N.J*,47-71p.
130. Perez,G.A.M.,Zavala,S.M.A.,Perez.,G.S.,Perez,G.C.(1998).Antidiabetic effect of compounds islated from plants .*phytomedicine*.5:55-75.
131. Priyadarsini ,K. I. (2005). Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. *Founder's Day Special Issue* ,1-6.
132. Quali,K.,Trea,F.,Toumi,L.,Bairi,A.,Maurel,D.,Guellati,M.A.(2007).l'hesperidine.un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental.*phytothérapie*. 5 :204-209.
133. Quinlan,G.,Gutteridege ,J.(1988).Hydroxyradical generation by the tetracycline antibodies with free radical damage to DNA, lipids, carbohydrates carbohydratesin the presence of iron and copper salts. *Biol Med*, 5:341-8.
134. Raccah ,D.(2004).Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*,1(1): 29-42.
135. Rahimi ,R.,Nikfar ,S., Larijani ,B., ., Abdollahi, M .(2005).A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications.*Biomedicine and pharmacotherapy* ,59:365-373.

Références bibliographiques

136. **Ramasamy, R., Yan ,S.F., Schmidt ,A.M .(2006).**Glycation and RAGE: Common Links in the Pathogenesis of Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Canadian Journal Of Diabetes*,30 (4) : 422 - 429.
137. **Renuka ,B. Rajurkar,Z.H.Govind,T.G.(2003).**Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*,85: 1355-1360.
138. **Ruckebusch,Y.(1981).**Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, 2èmeEd. *Maloine S. A. Paris*,46-79 .
139. **Sachon, C., Cornet ,P., Grimaldi, A.(2004).** Diagnostic du diabète. In Diabète de typeII, coordonné par Grimaldi A. *EMC référence.Elsevier, Paris* , 83-101.
140. **Said ,G. (1998).**Diabetic neuropathies: classification and management. *Diabetes Metab. .24 Suppl*, 3: 50-54.
141. **Sarkhail,P.,Rahmanipour ,S., Fadyevatan,S., Mohammad, I.A., Dehghan ,G., Amin, G., Shafiee ,A., Abdollahi ,M .(2007).**Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta* : Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research* , 56 : 261 - 266.
142. **Scholz ,M., XU,J.(2001).**Performance comparison of experimental constructed wetlands with different filter media and macrophytes treating industrial wastewater contaminated with lead and copper. *Bioresource Technology* ,83 : 71-79.
143. **Sehpard,L.B., Shaffer,J. (1993).**Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med*, 15 : 8– 581.
144. **Shih ,C.,Lin ,C.,Lin ,W.,Wu ,J.(2009).**Momordica charantia extract on insulin resistance and the skeletal muscle GLUT4 protein in fructose-fed rats.*J Ethnopharmacol*,123:82-90.
145. **Singal ,P.K., Petkau ,A.,Gerrard,J.M.(1988).**Free Radicals in health and disease. *Mol.Cell. Biochem*,121-122.
146. **Song,C.H.,Minli ,J et al .(2013).**Hepatoprotective and Antioxidant Activities of the Aqueous Extract from the Rhizome of *Phragmites australis* . *Z Naturforsch C*,68 (11- 12):439-44.
147. **Southon ,S., Gee .,J., Johnson, I.T.(1984).**Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *Brit J Nutr*, 52(5): 371.

Références bibliographiques

148. Sugdan ,P.H., Fuller ,S.J.(1991).Regulation of protein turn over in skeletal and cordiac muscle. *Biochem. J*,273:21-37.
149. Szkudelski ,T.(2001).The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Actionin B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res*,50: 536-546.
150. Taziebou ,L.C., Etoa ,F.X., Nkegoum, B., Pieme ,C. A.,Dzeufiet ,D.P.D.(2007).Acute and subacute toxicity of aspilia africana leaves . *Afr. J. Trad. CAM* ,4 (2):127 – 134.
151. Thierry, M., Harry ,D.(2010).Pré-diabète de type 2 et MODY l’avenir de la diabétologie pédiatrique .*Rev Med Brux* , 31 :113-123.
152. Tietz ,N.W., Amerson,A.B.(1995).Clinical guide to laboratory tests .E d. Saunders, Michigan. 931p. Cité par fiche technique *SPINREACT*, Ref: 1001290.
153. Tipu ,M.A., Akhtar ,M.S., Anjum ,M.I., Raja ,M.L.(2006). New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*, 26 (3) : 144–148.
154. Toussaint ,J.F., Jacob, M.P., Lagrost,L., Chapman, J.(2003).*L’athérosclérose: physiopathologie, diagnòstics, thérapeutiques*. Ed.Elsevier Masson, Paris,776p.
155. Tucker, G. C.(1990).The genera of Arundinoideae (Graminae) in the southeastern .*United States*,71: 145-177.
156. Tratner ,J. (2003).Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux. *Médecine/Sciences*,12(19) :1291-1292.
157. Travlos ,G.S., Morris, R.W., Elwell ,M.R. Duke ,A., Rosenblum ,S., Thompson ,M.B. (1996).Frequency and relationships of clinical chemistry and liver and kidney histopathology findings in 13-week toxicity studies in rats. *Toxicology*,107:17-29.
158. Valdiguie ,P.(2000).*Biochimie clinique* . Ed 2éme.l’université Paul-Sabatier de Toulouse. Edition Médicales internationales,340 p.
159. Valérie,G., Dirk,E.(2007).The reed bed filters for runoff treatment : Efficiency notion. *NOVATECH. France*, 4(2):869-876.
160. Vertuani,S.,Angusti, A.,Manfredini ,S.(2004).The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*,10: 1677-1694.
161. Viegi,L., Pieroni ,A., Guarrera,P.M.,Vangelisti,R.(2003).A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*,89 : 221–244.

Références bibliographiques

162. Virallya,M.,Blickle,J.F., Girardc, J., Halimid ,S., Simone ,D., Guillausseup ,J.(2007). Type 2 diabetes mellitus: epidemiology. Pathophysiology. unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes and Metabolism* ,33 : 231–244.
163. Wang,Y., Kole ,H.K., Montrose ,R.C., Perfetti ,R., Bernier,M., Egan, J.M.(1997).Regulation of glucose transporters and hexose uptake in 3T3-L1 adipocytes: glucagon.like peptide. and insulin interactions. *J Mol Endocrinol* ,19 (3): 241-8.
164. Weaber ,G.(2007).Diabétologie expérimentale. *Revue médicale de la Suisse Romande*,120 : 907-913.
165. Weckbercker,G.,Cory,J.G.(1988).Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*, 40(3): 257-264.
166. Weekers ,L., et. Krzesinski JM. (2005) .Diabetic nephropathy.*Rev Med Liege* ,60: 479- 486
167. Wenger ,C *et al.*(1984).Alkaline phosphatase. In Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation. Kaplan L.A., Pesce A.J. (Ed.) *CV MosbyCompany St Louis*, 1094-1098.
168. West ,I.C.(2000).Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*. 17: 171-180.
169. Whiting, D.R., Guariguata,L., Weil,C., Shaw,J.(2011).IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice* ; 94: 311-321.
170. Ying Foo ,A.(1998).Amylase measurement with 2-chloro-4nitrophenyl maltotrioxide assubstrate. *Clin Chim* ,272; 137-147.
171. Zeghad ,N. (2009). *Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne*. Université Mentouri Constantine Faculté des sciences de la nature et de la vie. Département de biologie végétale et écologie , 130 p.
172. Zhihua,J.,Elias,S.J.A.,Ying,M., Linda,J., Jinming,S., Siqu,Z., Shujun,L., Ruiying,W.Tianzhu,Z.,Ganglin,Y.,Junqiu,L.,Jiacong,S.,Guimin,L.(2004).Expression of selenocysteine-containing glutathioneS-transferase in Escherichia coli. *Biochem and Bioph Res Commun* , 321:94–101.

Annexe

Annexe

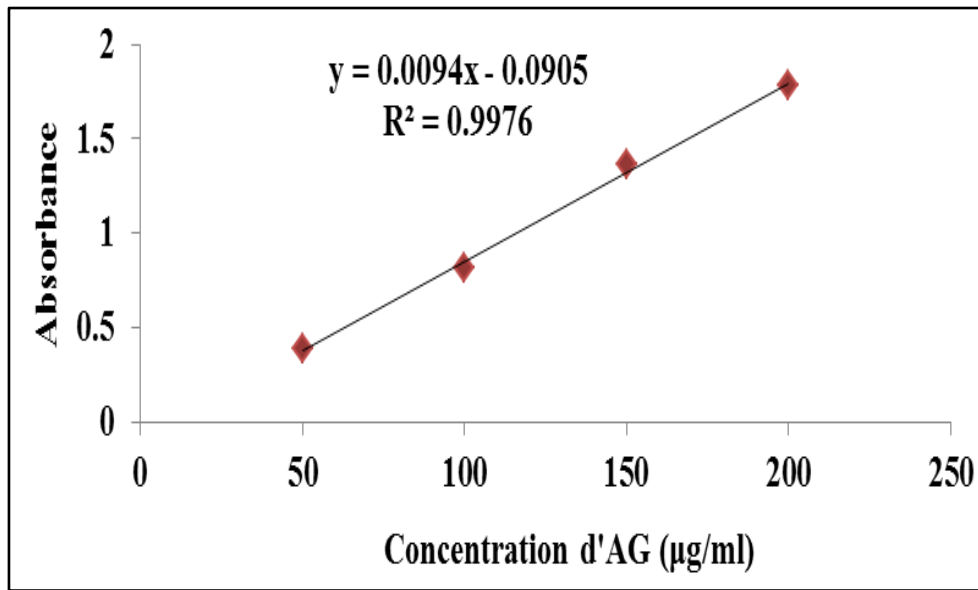


Figure : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

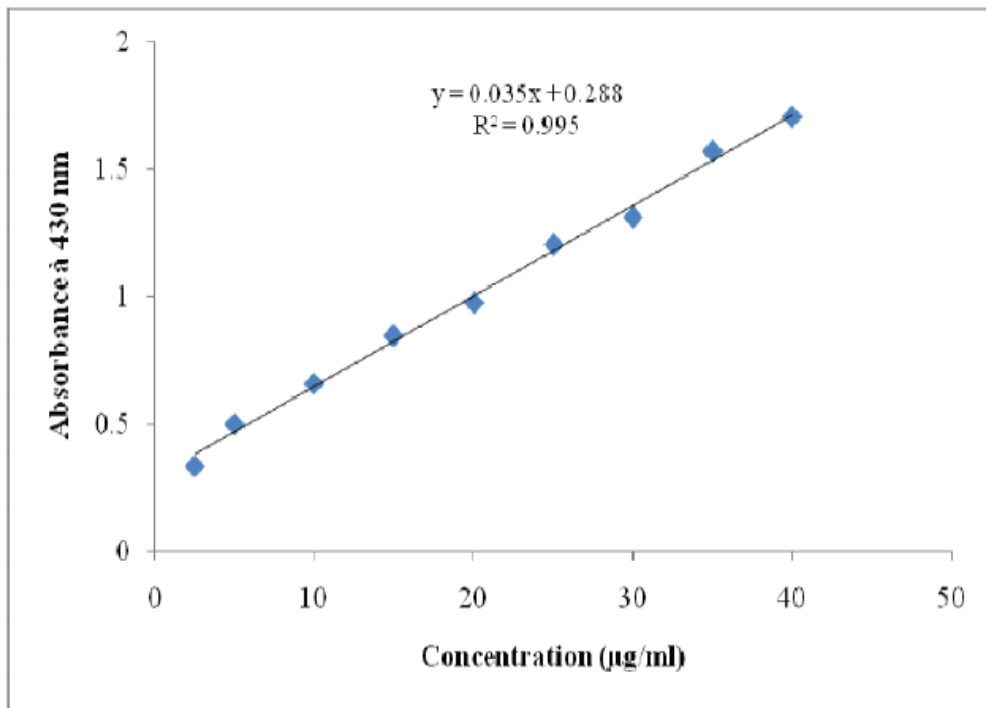


Figure : Courbe d'étalonnage Quercétine pour le dosage des flavonoïdes

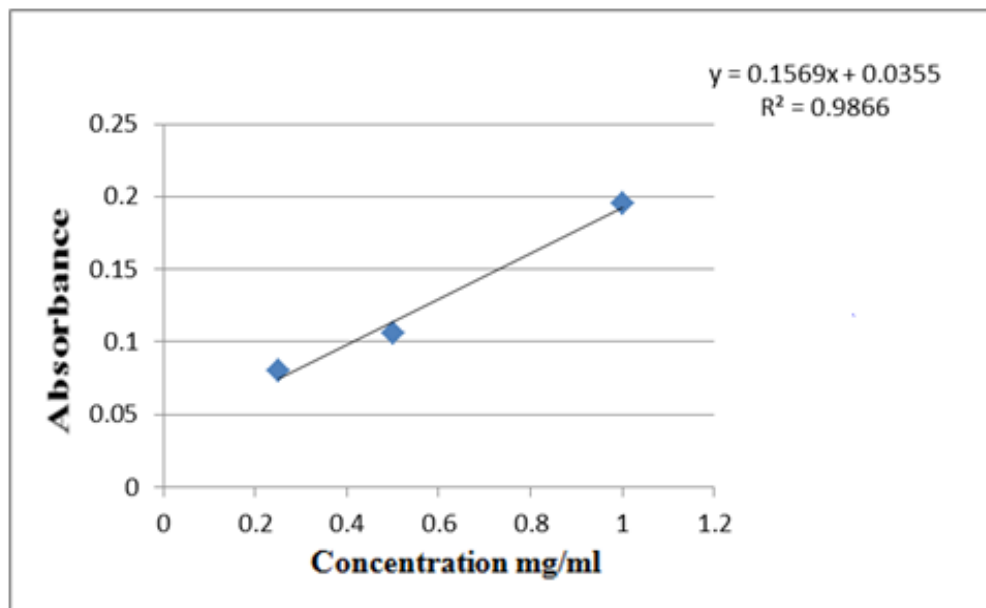


Figure : Courbe d'étalonnage de BSA mg/ml pour le dosage des protéines tissulaires.

Tableau: Poids initiale (g), Gain du poids corporel (g/jour/rat) et le poids relatif des organes (foie, cœur, reins et pancréas) chez les différents groupes expérimentaux.

Paramètres		Témoin	Diabétique	Diabétique ± <i>Phr</i>
		Moy±Es	Moy±Es	Moy±Es
Poids initial (g)		313,6±13,2	313,8±13,6	311,3±12,6
Gain du poids (g/jour/rat)		0,4210±0,0300	0,1300±0,0286 ^{**}	0,3123±0,0478 ^a
Poids relatif(g)	Foie	0,02650±0,00144	0,02693 ±0,00220 ^{NS}	0,02780±0,00198 ^{NS}
	Cœur	0,003350±0,000087	0,003090±0,000201 ^{NS}	0,003040±0,000260 ^{NS}
	Reins	0,005300±0,000173	0,005640±0,000524 ^{NS}	0,005727±0,000327 ^{NS}
	Pancréas	0,002550±0,000157	0,002135±0,000317 ^{NS}	0,002618±0,000326 ^{NS}

Moy ± ES de 4 rats de chaque group.

Annexe

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin

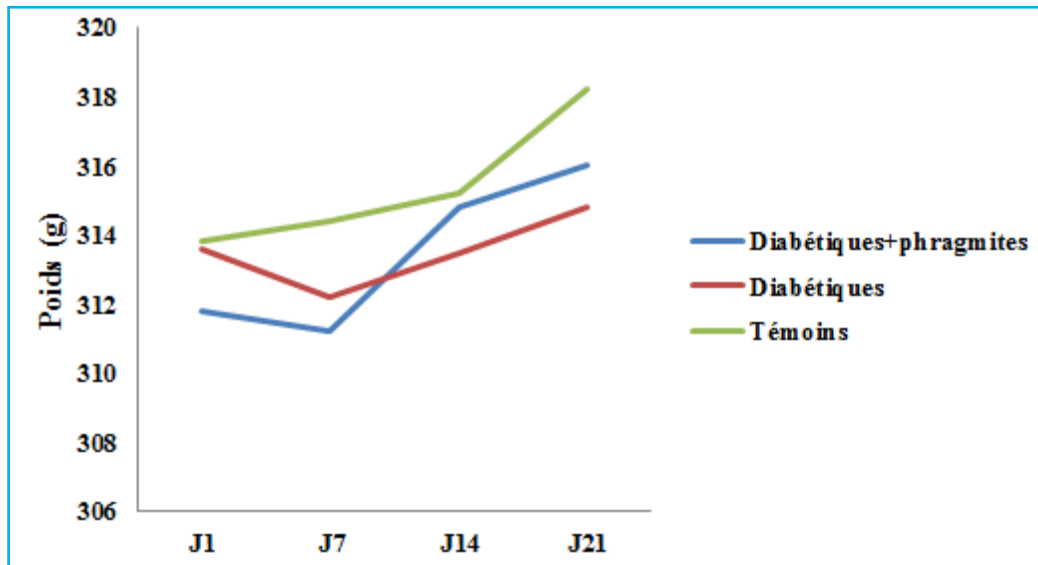


Figure : Gaine de poids corporels chez les rats témoins, diabétique et traités par la plante après 21 jours de traitement.