

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE,
(USTHB) – ALGER.

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



T H E S E

Présentée pour l'obtention du grade de : DOCTORAT D'ETAT

En : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Physiologie Animale

Par

FARID BOUCIF LAHFA

SUJET :

Contribution à l'étude de l'influence nutritionnelle sur l'immunité de *Psammomys obesus* et *Rattus norvegicus* - Thérapeutique antidiabétique à base d'extraits de graines de *Citrullus colocynthis* chez le rat de laboratoire rendu diabétique par la streptozotocine.

Soutenue publiquement le 18 juillet 2012 Devant le jury composé de :

Mme F. LARABA-DJEBARI, Professeur à l'USTHB.....Président

Mme Y. DAHMANI, Professeur à l'USTHB.....Directeur de thèse

Mme F. SEKKAL, Professeur au CHU Bab El Oued -Alger.....Examineur

Mme S. MIMOUNI-ZERGUINI, Professeur au CHU Mustapha Bacha-Alger.....Examineur

Mr K. BOUCHERIT, Professeur au C.U. Naama..... Examineur

Mr B. TABTI, Professeur à l'U.A.B.Tlemcen.....Examineur

Melle Y. BENZAOUZ, Professeur à l'USTHB.....Examineur

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au laboratoire de Nutrition et métabolismes, à la Faculté des Sciences Biologiques de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene d'Alger.

Il a été réalisé sous la direction scientifique du Professeur Y. DAHMANI. Je la remercie vivement de m'avoir accueilli dans son laboratoire, Je voudrais qu'elle trouve ici, l'assurance et l'hommage de mon respectueux et très fidèle attachement. Je voudrai lui exprimer ma profonde gratitude pour la confiance qu'elle m'a toujours témoignée.

A monsieur le Professeur K. BOUCHERIT, Professeur des universités et directeur du Centre Universitaire de Naama . Je le remercie vivement de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour réaliser une partie de ce travail, Je voudrais qu'il trouve ici, l'assurance et l'hommage de mon respectueux et très fidèle attachement. Je voudrai lui exprimer ma profonde gratitude pour l'aide et les conseils qu'il m'a toujours prodigué.

A madame le Professeur F. LARABA-DJEBARI, Professeur de Biochimie et doyenne de la faculté des Sciences biologiques à l'USTHB qui m'a honoré en acceptant d'être Présidente de ce jury, qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect et qu'il me soit permis de la remercier d'avoir bien voulu présider le jury de cette thèse.

A madame le Professeur F. SEKKAL, Professeur de Diabétologie à l'université d'Alger 1 et chef service au CHU de Bab El Oued d'Alger. Je voudrais qu'elle trouve ici tous mes remerciements d'avoir bien voulu examiner ce travail et de faire partie du jury.

A madame le Professeur B S. MIMOUNI-ZERGUINI, Professeur en Médecine à l'université d'Alger 1. Je voudrais qu'elle trouve ici mes remerciements les plus vifs pour avoir accepté d'examiner ce travail.

A madame le Professeur Y. BENZAOUG, Professeur de Physiologie à la faculté des Sciences biologiques à l'USTHB. Je voudrais lui exprimer mes remerciements les plus sincères pour avoir accepté d'examiner mon travail et pour toute l'aide précieuse qu'elle m'a apportée.

A monsieur B. TABTI, Professeur de Chimie et doyen de la faculté des sciences à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Je voudrais lui exprimer ici mes sincères remerciements pour avoir accepté d'évaluer mon travail. Je le remercie et je voudrai lui exprimer ma reconnaissance pour son soutien moral.

On s'étonne trop souvent de ce qu'on voit rarement, et pas assez souvent de ce qu'on voit tous les jours.

« The true sign of intelligence is not knowledge but imagination »

Albert Einstein

Quel difficile exercice que de synthétiser en deux ou trois pages seulement les remerciements que je voudrais adresser aux différentes personnes que j'ai rencontré et apprécié durant ma vie de thésard ainsi, qu'aux personnes que je connais et qui m'entourent depuis bien plus longtemps que ça.

Toutes mes excuses aux personnes que je pourrais oublier, mes pensées vont vers vous également

Au sein du laboratoire de Nutrition et Métabolisme,

Je voudrais que tous mes collègues trouvent ici l'expression de mes chaleureux remerciements pour l'aide qu'ils m'ont toujours apporté. Ma profonde reconnaissance et amitié va à : Mlle Yasmina BENZAOUG, et à Mme Naïma OMARI,

Un grand merci à Mme S Aouichat, à Mme S Boudarba, à Mr A Khalkhal, à Mr C E Belarbi, à Mr A Zelmat ; à Mme D Khemici, à Mme F El Lemdani à Mr A Othmani, à Mme K Othmani, à, à Mme S Mahtout, à Mr EHA Koceir et à Mme S Moussa.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous les collègues enseignants que j'ai connu de la FSB/USTHB

Au sein du laboratoire Antibiotiques, antifongiques, physico chimique : synthèse et activité biologique de l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen

Un grand merci également à Mme le professeur Z Boucherit, à Monsieur le professeur R Djaziri et à tous les collègues de la faculté SNVTU à Tlemcen, si nombreux qui m'ont apporté leur soutien.

Au sein du laboratoire d'Immuno physiologie comparée

mes vifs remerciements :

A monsieur le Professeur P. DESCHAUX, Professeur d'immunologie et physiologie à l'U.E.R des sciences de Limoges et directeur du laboratoire d'Immuno physiologie comparée. Toute ma gratitude d'avoir accepté de me recevoir dans son laboratoire pour réaliser une partie de cette thèse.

A monsieur le Professeur B. DESBALS, Professeur de Physiologie à l'U.E.R des sciences de Limoges

A madame le Professeur D. Troutaut pour l'aide et les conseils précieux qu'elle m'a fournis.

A monsieur le Professeur N. KHAN pour l'aide qu'il m'a fourni lors de son passage à Limoges

Aux doctorants qui sont devenus chercheurs confirmés, François Ferrière, Laurent Taysse, Caroline Le Morvan, Stéphane Betoulle, David Marionet, Jean philippe, Véronique, Pascal, Alain Aires.

A Olga et Michel NARDOU, J.C. FAGE, Annie Villeleger pour toute l'aide apportée et la chaleur de l'accueil

A monsieur Boulahfane Mokhtar, Mr Beninal Rabah, Fayçal Koudri et à tous les collègues de l'institut de Biologie à l'USTHB, mes sincères remerciements pour leur aide au cours de mon périple scientifique.

Je tiens également à remercier ma famille et surtout mes parents, vous m'avez toujours aidé, soutenu et apporté ce dont j'avais besoin. C'est grâce à vous si aujourd'hui, j'en suis arrivé là, merci pour tout.

A ma mère

A mes enfants Imane et Chakib

A mes frères et sœurs

A mon épouse

A toute ma famille,

présents et disparus,

Je leur suis très reconnaissant pour leur soutien et leurs encouragements durant toutes ces années

Table des matières

<i>LISTE DES TRAVAUX PRESENTES ET PUBLIES A L'APPUI DE CETTE THESE</i>	9
<i>Résumé</i>	13
<i>Abstract</i> :	14
INTRODUCTION	15
<i>I- Origine du travail et problématique</i>	2
Origine du travail	2
Problématique	2
Chapitre I	3
Chapitre II	4
Chapitre III	5
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	6
<i>Historique</i>	7
La médecine chinoise et indienne	7
Les civilisations grecques et romaines	7
Les civilisations sumériennes et égyptiennes	7
La civilisation arabo –musulmane.....	7
L'Europe et la phytothérapie.....	8
L'OMS et la médecine traditionnelle	8
<i>Epidémiologie</i>	10
1-Dans le monde.....	10
2-En Algérie	11
<i>Définition</i>	11
Critères de diagnostic et classification.....	11
Nouveaux critères diagnostiques	12
Nouvelle classification du Diabète sucré	14
Diabète insulino-dépendant	16
Anomalies de l'insuline.....	18
<i>Infections</i>	22
<i>Diabète gestationnel</i>	22
Diabète de type 2 (ancien diabète non insulino-dépendant)	22
Autres types de diabètes (comprend la catégorie appelée antérieurement "diabète secondaire")	23
Etiologies (facteurs de risques)	23
<i>Facteur génétique</i>	23
<i>Facteurs environnementaux</i>	24
<i>Physiopathologie</i>	27
<i>Insulinorésistance</i>	27
<i>La carence en insuline</i>	28
<i>Insuline</i>	28
Structure de l'insuline	28
La biosynthèse d'insuline	29
Sécrétion d'insuline	29
Mode d'action de l'insuline.....	30
Les transporteurs du glucose	31

Action de l'insuline sur le [GLU.T.IV]	31
Actions tissulaires de l'insuline	31
Insuline et métabolisme du glucose	34
Insuline et métabolisme du glucose dans le foie	34
Insuline et métabolisme du glucose dans les muscles	34
Insuline et métabolisme du glucose dans les adipocytes.....	34
Insuline et métabolisme lipidique	35
Mécanismes d'action de l'insuline	37
<i>Complications du diabète</i>	37
Les complications aiguës :	38
Les complications chroniques.....	40
<i>La néphropathie diabétique</i>	41
<i>Traitements du diabète</i>	42
<i>Traitement du diabète de type 2.</i>	42
<i>Traitement non médicamenteux</i>	44
<i>Traitement médicamenteux</i>	47
<i>Traitement phytonutritionnel</i>	54
<i>Hyperglycémie et Phytonutrition</i>	54
<i>Hyperglycémie et suppléments nutritionnels</i>	55
Nouveaux traitements.....	56
Streptozotocine	59
Les plantes traditionnelles à pouvoir hypoglycémiantes.....	60
<i>Coloquinte (Citrullus colocynthis)</i>	68
La coloquinte (<i>Citrullus colocynthis</i> (L.) (Schrad.).....	68
Description botanique, habitat et culture :	69
Composition chimique de la plante	69
Action thérapeutique des principes actifs :.....	71
Utilisation populaire	71
Diabète et <i>Citrullus colocynthis</i>	72
MATERIELS ET MÉTHODES	73
<i>Animaux</i>	74
Détermination de la dose létale.....	77
Induction du diabète expérimental.....	77
<i>Techniques</i>	80
1/Prélèvement du Sang	80
2/Techniques analytiques	80
3/ Etude de la prolifération lymphocytaire	80
Tests de transformation lymphoblastiques.....	80
4/Purification de la population des cellules T en double panning	81
5/Dosage du calcium intracellulaire libre [Ca ²⁺] _i	82
<i>Analyses phytochimiques</i>	84
Matériel végétal	84
Extrait brut aqueux.....	84
Extraction des alcaloïdes totaux en milieu acide	85
Extraction des glycosides cucurbitacines.....	85
Extraction des saponosides.....	85
Extraction des flavonoïdes.....	86
<i>Analyse Statistique</i> :	86

<i>RESULTATS ET DISCUSSION</i>	87
<i>Chapitre 1</i>	88
<i>Chapitre 2</i>	92
Paramètres biochimiques	94
Effets de l'insuline, la cyclosporine A et des cytokines sur la prolifération des lymphocytes T	95
Concentrations de calcium libre intracellulaire, $[Ca^{2+}]_i$, dans les cellules T	99
<i>Chapitre 3</i>	105
Détermination de la dose létale	106
Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte	106
<i>CONCLUSION</i>	119
<i>INDEX DES TABLEAUX</i>	138
<i>INDEX DES FIGURES</i>	139

LISTE DES TRAVAUX PRESENTES ET PUBLIES A L'APPUI DE CETTE THESE

LAHFA, F., D. TROUTAUD, H. KOCEIR, Y. DAHMANI, B. DESBALS et P. DESCHAUX. 1990. Immune response of the sand rat *Psammomys obesus* during diabetic syndrome. Joint meeting S.F.I./N.V.I..Sept 27-28, 1990.

LAHFA F., DAHMANI Y. TROUTAUD D. et DESCHAUX P. Influences nutritionnelles sur la prolifération des lymphocytes spléniques chez le rat des sables *Psammomys obesus*. Etude in vitro. SAEM 14-15 avril 1993. Alger.

Y. DAHMANI , F.B. LAHFA , P. DESCHAUX et D.TROUTAUD .1995. Influences de deux régimes alimentaires sur l'activité lymphoproliférative *in vitro* de la rate chez le rat des sables *Psammomys obesus*. . Colloque Nutrition et santé autour de la Méditerranée. 16-17-18 Février 1995. Marseille.

LAHFA F.B., DAHMANI Y, TROUTAUD D et DESCHAUX P. (1995) Nutritional influences on in vitro splenic lymphocyte proliferation in *Psammomys obesus* (Rodentia, Gerbillidae). Cellular and Molecular Biology Research. 41: 5; 387-390.

BENMEHDI H., TABTI B., MELIANI N., DIB M.A., SELLES C., ALLALI H., LAHFA F., DJAZIRI R. Alcaloïdes à activité hypo et anti hyperglycémiantes. 3^{ème} Journées sur l'analyse physico chimiques JAPC III. Alger 10-11 Dec 2002.

LAHFA F., AZZI R., BOUMELLAH O., TABTI B., ZAOUI S. ET DJAZIRI R. Contribution à l'étude des effets antidiabétiques des saponosides et des glucosides extraits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. 3^{ème} Journées sur l'analyse physico chimiques JAPC III. Alger 10-11 Dec 2002.

LAHFA F., AZZI R., BOUMELLAH O., TABTI B. , ZAOUI S., DJAZIRI R.

Contribution à l'étude des effets antidiabétiques des saponosides et des glucosides extraits de la coloquinte (*Citrullus Colocynthis*) sur des Rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocin.

3^{ème} Journées sur l'Analyse Physico-Chimique, Santé. Alger 10 -11 décembre 2002.

BENARIBA N. , DJAZIRI R., TABTI B., DAMGE C., LAHFA F., MEDJDOUB H. Etude de l'effet antidiabétique de saponosides et de flavonoïdes extraits de graines de coloquinte (*Citrullus Colocynthis*). 3^{ème} Colloque international sur la Chimie Hétérocyclique. Université A Belkaid Tlemcen, Université d'Oran Es-Senia . Tlemcen, 5-7 mai 2004.

AZZI R., LAHFA F., BOUMELLAH O., TABTI B., DJAZIRI R.

Contribution à l'étude des effets antidiabétiques des saponosides et des glucosides extraits de la coloquinte (*Citrullus Colocynthis*) .3^{ème} Colloque international sur la Chimie Hétérocyclique. Université A Belkaid Tlemcen, Université d'Oran Es-Senia . Tlemcen, 5-7 mai 2004.

BENARIBA N., DJAZIRI R., TABTI B., LAHFA F., KALTENBACHER MC., PINGET M., DAMGE C. Effet antidiabétique des extraits de graine de *Citrullus Colocynthis* chez le Rat diabétique. Congrès ALFEDIAM, Diabète 2004. Nice, 23-27 mars 2004. Diabète et Métabolisme. 2004. 30. 1S33- 1S75.

BENARIBA N. , DJAZIRI R. , TABTI B., DAMGE C. , MEDJDOUB H., LAHFA F.

Etude de l'effet antidiabétique de saponosides et flavonoïdes isolés des graines de *Citrullus Colocynthis*. 1^{er} Congrès Maroc- Espagnol sur la Chimie Organique et 4^{ème} Rencontre Andalou-Marocaine sur la Chimie des Produits Naturels. Marrakech, 16-18 septembre 2004.

H. BENMEHDI, H. ALLALI, B. TABTI, N. DJABOU, A. BENDIABDELLAH, F. LAHFA and R. DJAZIRI Hypo and Antihyperglycaemic Effect of *Citrullus colocynthis* L. Seeds in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Asian J. Chem., Vol. 20, pp. 2711-2718 (2008)

AZZI R., DJAZIRI R., ET LAHFA F. Recherche d'effet anti-hyperglycémiant des alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. Université Abou Bekr Belkaid, Faculté des sciences, Tlemcen, Algérie. 3^{ème} SYMPOSIUM INTERNATIONAL SUR LES PLANTES MEDICINALES ET AROMATIQUES (SIPAM3)

1^{er} CONGRES INTERNATIONAL SUR LES MOLECULES BIOACTIVES. Oujda 29-30 mai 2008 (Maroc)

BENMEHDI H, AZZI R, DJAZIRI R, LAHFA F., BENARIBA N AND TABTI B

Effect of saponosides crude extract isolated from *Citrullus Colocynthis* (L.) seeds on blood glucose level in normal and streptozotocin induced diabetic rats. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(31), pp. 6864-6868, 2011

AZZI R, DJAZIRI R, LAHFA F., SEKKAL FZ, BENMAHDI H AND BELKACEM N. Ethnopharmacological Survey Of Medicinal Plants Used In The traditional Treatment Of Diabetes Mellitus In The North Western And South Western Algeria. J. Med. Plants Res. 6(10), 2041-2050, 2012

Table des abréviations

ADN: Acide désoxy ribonucleique

ARNm : Acide ribonucleique messenger

BSA : bovine serum albumin

Cpm:coups par minute

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CRAC : Calcium Release Activated calcium Chanel

CSA : Cyclosporine

Con A : Concanavoline A

DL₅₀: Doses létales 50

F max : Intensité de fluorescence maximale

Fmin : Intensité de fluorescence minimale

HDL : High density lipoprotéines

IGF: insulin growth factor

IL-1 : Interleukine 1

IL-2 : Interleukine 2

Ins: insuline

IP : voie intrapéritonéale

Kd : constante de dissociation

LDL: low density lipoprotéines

NFAT : facteur de transcription Nucléaire

NOD : Non obese diabetic

PBS : phosphate salin

p.c : poids corporel

PHA : Phytohémagglutinine

PFC : plaque forming cells

SH : sulfamides hypoglycémiants

STZ : Streptozotocine

RTN : Rat Témoin Normal

RTD : Rat Témoin Diabétique

RN E.A : Rat Normal traité aux Extraits bruts aqueux

RD E.A : Rat Diabétique traité aux Extraits bruts aqueux

RNAlc : Rat Normal traité aux Alcaloïdes totaux

RDAlc : Rat Diabétique traité aux Alcaloïdes totaux

RNGcl : Rat Normal traité aux Glycosides cucurbitacines chloroformiques

RDGcl : Rat Diabétique Général traité aux Glycosides cucurbitacines chloroformiques

RN S : Rat Normal traité aux Saponosides

RD S : Rat Diabétique traité aux Saponosides

RN Fla : Rat Normal traité aux Flavonoïdes

RD Fla : Rat Diabétique traité aux Flavonoïdes

SEM : Erreur standard à la moyenne

μ Ci : microCurie

3 H: thymidine tritiée

Résumé

Le premier chapitre a porté sur les rats des sables « *Psammomys obesus* » qui présentent la particularité de développer un syndrome diabétique aux différents stades, comparable au diabète humain, lorsqu'ils sont soumis à un régime standard équilibré. Ce dernier est, par ailleurs, parfaitement adapté aux rats et souris de laboratoire. Les travaux antérieurs du laboratoire ont montré que les rats des sables développent un diabète spécifique nutritionnel dû à une surcharge calorique indépendamment de tout autre facteur étiologique (Marquie *et al.*, 1982). Le régime standard équilibré administré au rat des sables provoque des perturbations:

-hyperglycémie, hyperinsulinémie et hyperlipémie,

-diminution de la prolifération des lymphocytes spléniques B et T en présence de différents mitogènes.

Ces perturbations, dans les processus immunologiques, seraient la conséquence des mécanismes primaires qui apparaissent dans le diabète insulino-dépendant.

Dans un second chapitre, nous avons évalué les effets de l'insuline, des cytokines et de la cyclosporine A sur les lymphocytes T stimulés par des mitogènes chez le rat Wistar rendu diabétique par la streptozotocine. La prolifération des lymphocytes, qu'elle soit stimulée ou non par les mitogènes des cellules T, a toujours été faible chez les rats diabétiques par rapport au groupe témoin, par ailleurs cette faible prolifération des lymphocytes T des rats (Stz) pouvait être restaurée par l'addition de l'insuline. En outre, la cyclosporine A (CsA) connu comme agent immunosuppresseur, réduit la prolifération lymphocytaire des cellules T engendrée par l'insuline et l'interleukine-1(IL-1) à la fois chez les rats (N) et (Stz). Toutefois, la CsA s'avère inefficace sur la prolifération des lymphocytes T, stimulés par des mitogènes. Ces résultats suggèrent que l'IL-1 et l'insuline agissent sur les cellules T par l'intermédiaire d'une voie CsA-sensible. En outre, la concentration intracellulaire en calcium libre $[Ca^{2+}]_i$ des lymphocytes T de rats(N) est supérieure à celle des cellules T de rats diabétiques. Stimulées par l'insuline, les concentrations de calcium libre intracellulaire $[Ca^{2+}]_i$ devenaient plus importantes dans les cellules T normales par rapport aux cellules diabétiques. L'addition de cytokines (IL-1 et IL-2) à des cellules T ont permis de noter qu'il y avait plus de $[Ca^{2+}]_i$ dans le groupe (stz) par rapport au groupe(N). Ces résultats suggèrent que l'homéostasie du $[Ca^{2+}]_i$ des cellules T et leur fonctionnement altérés chez les rats diabétiques, pourraient contribuer à une immunosuppression dans cette maladie.

Le chapitre 3 de notre étude se consacre aux effets hypoglycémisants des extraits bruts aqueux à partir des substances naturelles provenant de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*). Ainsi, dans notre investigation, nous nous sommes intéressés aux effets anti -hyperglycémisants de substrats aqueux des saponosides, des flavonoïdes, des alcaloïdes totaux et de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines des graines de plantes de la famille des cucurbitacées, sur des rats Wistar rendus diabétiques (Stz) et des rats normaux (N). Cette plante est utilisée comme remède traditionnel pour le traitement du diabète sucré dans la région du Maghreb et du Moyen- Orient. Au préalable, la toxicité aiguë de ces extraits a été évaluée par la détermination de la DL₅₀. Les résultats obtenus montrent un effet anti -hyperglycémiant de ces extraits chez l'animal (stz) et sans effets notables sur le métabolisme des rats normaux(N).

Mots clés : *Citrullus colocynthis*, diabetes, alcaloïdes, glycosides, flavonoïdes lymphocytes, insuline, cytokines, Cyclosporine A

Abstract :

Contribution to the study of nutritional influences on immunity in *Psammomys obesus* and *Rattus norvegicus*-Diabetic therapeutics based on extracts from seeds of *Citrullus colocynthis* in laboratory rats made diabetic by streptozotocin

In the first chapter, the standard laboratory diet administered to sand rat (*Psammomys obesus*) induces the following physiological and immunological changes: hyperglycemia and hypercholesterolemia involving mainly the free fraction of cholesterol, with an elevation of high-density-lipoprotein levels and a decrease in B and T splenic lymphocyte proliferation in the presence of different mitogens PHA-P, Con A and LPS. These results demonstrate the important modification that could be induced in sand rat by the standard laboratory diet as compared with natural diet, and thus the sand rat (*P. obesus*) appears to be an interesting model for studies on experimental diabetes mellitus.

In the second chapter, we assessed the effects of insulin, cytokines and cyclosporin A on mitogen-stimulated T lymphocytes of streptozotocin-induced diabetes mellitus in Wistar rat. Diabetes induced by streptozotocin in Wistar rat was followed by hyperglycemia and hyperlipemia. Lymphocyte proliferation, whether resting or stimulated by T-cell mitogens, was always lower in diabetic rats as compared to the control group, and the decreased T lymphocyte proliferation of diabetic rats could be restored by addition of insulin. Cyclosporin A (CsA), a known immunosuppressor, curtailed the insulin- and IL-1-potentiated T lymphocyte proliferation both in normal and diabetic rats. However, the CsA failed to influence the mitogen-stimulated T-cell proliferation. These results suggest that IL-1 and insulin act on T cells via CsA-sensitive pathway. Furthermore, the T cells of normal rat contained higher basal intracellular free calcium, $[Ca^{2+}]_i$ concentrations than those of diabetic rat. Insulin-stimulated $[Ca^{2+}]_i$ concentrations were more pronounced in normal T cells than the diabetic cells. Addition of cytokines (IL-1 and IL-2) to T cells recruited higher $[Ca^{2+}]_i$ concentrations in diabetic group as compared to the control group. These results suggest that the $[Ca^{2+}]_i$ homeostasis of T cells and their functioning, altered in diabetic rats, might contribute to immunosuppression in this disease.

In the third chapter, we try to evaluate the antihyperglycaemic effect of the aqueous extract, saponins, flavonoids, total alkaloids and chloroformic glycosidic extract from seeds of colocynth (*Citrullus colocynthis* L. Shard) "Handal", family of cucurbitaceae, in normal and streptozotocin diabetic rats. This plant was used as traditional remedy for treatment of diabetes in folk medicine in the Maghreb and the Middle East.

First, toxic effect of these compounds was determined by the determination of the LD₅₀. Results showed an antihyperglycemic effect of all extract studied.

The different compounds of the colocynth did not lowered significantly blood glucose levels in fasted normal rats.

Key words: *Citrullus colocynthis*, diabetes, alkaloids, glycosides, flavonoids, lymphocytes; insulin; cytokines, Cyclosporine A

INTRODUCTION

I- Origine du travail et problématique

Origine du travail

Les travaux qui font l'objet de cette présente thèse ont été réalisés dans le laboratoire de Nutrition & Métabolismes, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene d'Alger, en collaboration avec le laboratoire d'Immunophysiologie de l'Université de Limoges et le laboratoire Antibiotiques, antifongiques, physico chimique : synthèse et activité biologique de l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen sous la direction scientifique du professeur Dahmani Yasmina.

Il s'inscrit dans le cadre des recherches pluridisciplinaires effectuées depuis plusieurs années par notre laboratoire et concernent « les approches physiologiques, cellulaires et moléculaires du syndrome plurimétabolique chez quatre modèles expérimentaux : le rat des sables (*Psammomys obesus*), la gerbille (*Gerbillus gerbillus*, *Gerbillus tarabuli*) et le rat de laboratoire (*Ratus norvegicus*) rendu diabétique par la streptozotocine ainsi que les influences pharmacologiques antidiabétiques.

Plusieurs travaux antérieurs de notre laboratoire ont confirmé les différents stades du syndrome diabétique chez le rat des sables *Psammomys obesus* (Marquie, 1977 ; Dahmani, 1981 ; Benazzoug, 1981 ; Mahtout, 1981 ; Bouguerra, 1985 ; Khemici, 1985 ; Bouderbera, 1985 ; Koceir, 1985 ; Othmani, 1989 ; Omari, 1990 ; Khalkhal, 1990 ; Belarbi 1990 ; Zelmat, 1990 ; Moussa, 1990 ; Lahfa, 1995 ; Haddar, 1995). De profonds bouleversements métaboliques ont été enregistrés au cours du développement du syndrome diabétique chez le rat des sables *Psammomys obesus* reproduisant quasi fidèlement la maladie diabétique chez l'être humain.

Problématique

Le diabète est une maladie qui a frappé l'homme depuis la plus haute antiquité. Des descriptions de cette maladie ont été retrouvées dans les manuscrits Egyptiens datant du 15^{ème} siècle avant notre ère.

Les Anciens grecs sont les premiers qui ont donné le mot « Diabète » à cette maladie, partant du mot grec « *diabaino* », signifiant : « passage des boissons à travers le corps sans arrêt » [Chicouri, 1983].

Le diabète est une maladie métabolique nutritionnelle multifactorielle. Il est l'une des principales maladies non transmissibles dont la fréquence augmente à une vitesse alarmante partout dans le monde, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement. Le nombre total de cas de diabète, estimé actuellement est de 346 millions (OMS, 2011).

Si aucune mesure n'est prise, il est probable qu'il y en aura plus du double en 2030. Dans la majorité des cas, au moins 90 %, il s'agit d'un diabète de type 2, il se manifeste sous forme de véritable « épidémie silencieuse ». Il a de graves conséquences en termes de morbidité, de mortalité et de prise en charge médicale très coûteuse. D'après des estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et la Fédération Internationale du Diabète (FID) en 2004.

Le diabète est à l'origine de plus de 3,4 millions de décès dans le monde, OMS et FID (2004).

Plus de 80% des décès par diabète se produisent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire.

D'après les projections de l'OMS, le nombre total de décès par diabète devrait augmenter de plus de 50% au cours des 10 prochaines années.

L'ensemble des travaux qui font l'objet de cette thèse sont regroupés en trois chapitres comme suit :

Chapitre I

Le rat des sables « *Psammomys obesus* » présente la particularité de développer un syndrome diabétique aux différents stades, comparable au diabète humain, lorsqu'il est soumis à un régime standard équilibré. Ce dernier est, par ailleurs, parfaitement adapté aux rats et souris de laboratoire. Les travaux antérieurs du laboratoire ont montré que le rat des sables développe un diabète spécifique nutritionnel dû à une surcharge calorique indépendamment de tout autre facteur étiologique (Marquie *et al.*, 1980a, Dahmani, 1981, Aouichat *et al.*, 2001; Koceir *et al.*, 2003, Khalkhal *et al.*, 2012).

Nous avons voulu, dans ce 1^{er} chapitre évaluer la réponse immunitaire de ce modèle et connaître la réponse des lymphocytes spléniques à l'action de différents mitogènes (Phytohmmagglutinine-P, Concanavoline-A et lypopolysaccharide) sur des animaux recevant deux régimes alimentaires différents (Lahfa *et al.*, 1995).

La 1^{ère} phase a consisté à induire le diabète par injection de streptozotocine (streptozotocine à 65mg / kg de poids corporel) et à suivre l'installation du diabète par suivi des paramètres biochimiques plasmatiques (glycémie, triglycérides, phospholipides, cholestérol total, cholestérol libre et lipoprotéines HDL et LDL) et des paramètres urinaires (glycosurie et cétonurie).

Après installation du diabète, nous avons réalisé des tests permettant d'évaluer l'état immunitaire de l'animal normal et diabétique par l'intermédiaire de transformation lymphoblastiques en présence de différents mitogènes suscités, nous avons comparé les résultats obtenus dans les 2 groupes d'animaux témoins et rendus diabétiques par la streptozotocine.

Chapitre II

Il est maintenant bien connu que certains types de diabète sont associés à des anomalies des réponses immunitaires (Tish et Devitt, 1996), par exemple, la phagocytose est diminuée (Subbaiah, 1982), une altération des fonctions des granulocytes neutrophiles (Bagdade *et al.*, xxxx), la transformation des lymphocytes est modifiée (Plouffe *et al.*, 1978). La production d'anticorps et de cellules productrices d'anticorps B et T ont été trouvés diminués chez les sujets diabétiques (Hadzija *et al.*, 1984). Il a été montré que l'insuline module différentes activités cellulaires, par exemple, le transport des molécules à travers la membrane plasmique, les niveaux de nucléotides cycliques, les activités des enzymes clés du métabolisme intermédiaire, les taux de synthèse des protéines et de dégradation, le taux de la synthèse des acides nucléiques, y compris l'expression des gènes spécifiques, la croissance et la différenciation cellulaire (Saltiel, 1990). Il a été démontré que les récepteurs à tyrosine kinase sont nécessaires pour la plupart des actions de l'insuline (Morgan et Roth, 1987). Le calcium joue un rôle critique et spécifique dans de nombreuses fonctions cellulaires des lymphocytes T, dont l'activation, la prolifération et la production de cytokines. (Badou *et al.*, 2005).

Cependant, nous disposons de peu de données sur le fonctionnement des cellules immunocompétentes et l'homéostasie du Ca^{2+} dans la cellule T de sujets diabétiques, même si le rôle du Ca^{2+} intracellulaire libre dans l'activation des cellules T normales a été bien établi.

Nous avons dans ce second chapitre, évalué les effets de l'insuline, des cytokines et de la cyclosporine A sur les lymphocytes T stimulés par des mitogènes chez le rat Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine.

Nous avons abordé ensuite l'étude des flux calciques sur les lymphocytes T des rats de laboratoire Wistar témoins et diabétiques, en présence et en absence, d'insuline, cyclosporine, interleukine 1 et interleukine 2. Nous nous sommes intéressés à l'expression des récepteurs de l'interleukine 2 sur les deux groupes d'animaux et nous avons recherché d'éventuelles différences dans l'expression des récepteurs dans les deux groupes d'animaux.

Chapitre III

Le chapitre 3 de notre étude se consacre à la thérapeutique antidiabétique et aux effets hypoglycémisants d'extraits à partir des substances naturelles provenant de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*). Ainsi, dans notre investigation, nous nous sommes intéressés aux effets anti-hyperglycémisants de substrats aqueux des saponosides, des flavonoïdes, des alcaloïdes totaux et d'extraits chloroformiques des glycosides cucurbitacines des graines de plantes de la famille des Cucurbitacées, sur des rats Wistar rendus diabétiques (Stz) et des rats normaux (N). Cette plante est utilisée comme remède traditionnel pour le traitement du diabète sucré dans la région du Maghreb et du Moyen-Orient. Au préalable, la toxicité aiguë de ces extraits a été évaluée par la détermination de la DL₅₀.

Le traitement antidiabétique oral, actuellement, s'articule actuellement autour de 5 classes thérapeutiques, dirigé contre 3 cibles physiopathologiques différentes : une stimulation de l'insulino-sécrétion par les glinides et les sulfamides hypoglycémisants ; une diminution de l'insulino-résistance par les Biguanides et les Thiazolidinediones ; un ralentissement de l'absorption intestinale du glucose par les inhibiteurs des alpha Glucosidases (Charbonnel et Cariou, 1997).

Toutefois, ces différentes approches thérapeutiques restent ou deviennent inefficaces chez beaucoup de diabétiques, en raison d'une prise en charge médicale incorrecte, de l'apparition d'effets secondaires des traitements, de la non disponibilité et du prix élevé des médicaments.

Ainsi, une grande partie de la population diabétique, en Algérie (Azzi *et al.*, 2012) comme dans les autres pays du reste du monde, se tournent de plus en plus vers les traitements traditionnels à base de plantes.

Plusieurs études ethnopharmacologiques réalisées dans la région du Maghreb, dont la population est connue pour l'utilisation de plantes médicinales, montrent la diversité des plantes médicinales utilisées pour le traitement du diabète comme *Citrullus colocynthis*, *Berberis vulgaris*, *Trigonella Foenum*, ... (Ziyyat *et al.*, 1997 ; Jouad *et al.*, 2001 ; Bnouham *et al.*, 2002 ; Azzi *et al.*, 2012).

Nous nous sommes intéressés à la recherche d'effets antidiabétiques de quelques extraits de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) : extraits bruts aqueux, saponosides, flavonoïdes, alcaloïdes et les glycosides (extrait chloroformique) chez les rats wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Historique

La médecine chinoise et indienne

Les premières traces d'utilisations médicinales d'origine végétale dans la civilisation chinoise datent depuis 2900 avant J-C ; à travers le premier livre de matière médicale "SHEN NUNG CAO JING". Ce livre contenait la liste de 365 remèdes d'origine végétale (Fouché *et al.*, 2000).

L'Inde reste un réservoir important d'épices et de drogues, marqué par les plus anciens documents religieux "VAGBHATA et RIGVEDA" datant du 2^{ème} millénaire avant J-C (Wichth et Anton, 1999).

Les civilisations grecques et romaines

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5^{ème} siècle avant J-C) se basant sur la médecine scientifique, cherchent une explication rationnelle et non pas magique.

Théophraste 370-285 avant J-C classe les plantes dans son ouvrage "historia PLANTANUM".

Il inventoria plus de 500 drogues d'origine animale, végétale et minérale ; dans un traité écrit en grec en 77 après J-C. Il fut traduit en latin au 15^{ème} siècle, sous le titre "DE MATERIA MEDICA".

Pendant la période troublée qui suit le démembrement de l'empire romain (5^{ème} siècle après J.-C), les milieux religieux sont restés les détenteurs de la médecine gréco-latine et ont préservé dans la culture des plantes médicinales et leurs usages (Fouché *et al.*, 2000).

Les civilisations sumériennes et égyptiennes

4000 ans avant J.-C, les populations babyloniennes utilisaient les plantes pour se soigner ; 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes telles que le Pavot, la Mandragore...

C'est le Papyrus qui donne le meilleur aperçu de la médecine égyptienne. Ce papyrus (datant d'environ 1600 avant J-C), retrouvé par G. Ebers à Louksor, entre dans la fabrication des remèdes pour toutes les parties du corps.

Plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens, mais la médecine était alors fortement mêlée de pratiques magiques (Fouché *et al.*, 2000).

La civilisation arabo –musulmane

C'est au 9^{ème} siècle seulement, qu'une équipe de traducteurs révisa les documents grecs pour en produire des versions en Arabe. Les Arabes avaient aussi leurs spécialités en médecine et pharmacie.

Abu Bakr al-Razi (865-925) fut l'un grand médecin de son temps et aussi le précurseur de la phytothérapie. Parmi ses ouvrages nous pouvons citer : EL HAOUÏ et EL MANSOURI (Wichth et Anton, 1999).

Il fut suivi de Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) (Fouché *et al.*, 2000) qui a écrit : Kanoun fi Tib en trois tomes. Le premier parle de l'humeur et l'anatomie, le deuxième tome décrit les symptômes

des maladies et des remèdes, et le troisième a été consacré à la préparation des médicaments (Wichth et Anton, 1999).

Mais le plus grand d'entre eux fut sans aucun doute Ibn al Baytar (1197-1248), il rédigea le très complet *Kitab el Gami'* : ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales.

Ce sont les Arabes qui donnèrent à la pharmacie son caractère scientifique (Fouché *et al.*, 2000).

L'Europe et la phytothérapie

C'est au 13^{ème} siècle, qu'apparaissent en Europe les premières boutiques de la pharmacie auxquels Saint Louis donne en 1258 un statut pour la préparation et la vente des médicaments. À cette époque Montpellier devient le premier centre de botanique en Europe.

Aux 16^{ème} et 17^{ème} siècle, des nouvelles drogues introduites en Europe à la suite de la découverte de la route maritime de l'Inde et de l'Amérique firent leur entrée en thérapeutique.

Parcelles (1491-1541), médecin suisse, est devenu célèbre par sa théorie des signatures "l'aspect et la couleur des plantes sont en rapport à leur propriété médicinales" (Fouché *et al.*, 2000).

Le 19^{ème} siècle est considéré comme le grand siècle de la médecine et de la pharmacie, à cause de l'isolement de nombreux principes actifs des végétaux (Fouché *et al.*, 2000 ; Wichth et Anton, 1999) tels que:

Alcaloïdes	Hétérosides
Morphine 1805	Digitaline 1869
Strychnine 1818-1820	
Codéine 1832	
Cocaïne 1853	Ouabaine 1888

L'OMS et la médecine traditionnelle

Il a fallu des siècles pour que les pays du sud conçoivent leurs propres techniques pour se soigner. Les instituts internationaux de la recherche parlent d'une médecine traditionnelle dont les méthodes ont souvent, par le passé, été dénigrées ou même ignorées par les professionnels du Nord.

C'est vers les années 1970, que l'attitude des pays développés commença à changer. L'OMS créa un groupe de travail sur la médecine traditionnelle. Le directeur de l'organisation, HALFDAN MAHLER, écrivait ces lignes dans un numéro spécial de la revue de l'OMS. En 1977 "world Health" : *"Cela fait trop longtemps que le système traditionnel de médecine et la médecine moderne cheminent séparément, dans la plus grande antipathie mutuelle. Mais leurs objectifs ne sont-ils pas les mêmes : améliorer la santé de l'humanité et donc la qualité de la vie ? Seuls les esprits bornés oseraient soutenir que chacune de ses deux écoles n'a rien à apprendre de l'autre"*.

L'OMS a reconnu la médecine traditionnelle tout simplement parce que la plus grande partie de la population mondiale dépend d'elle pour obtenir des soins de santé. Mais elle n'approuve pas

automatiquement toutes les formes de la médecine traditionnelle, elle ne soutient que les composés bénéfiques. Elle s'est donnée pour tâche, d'analyser les mérites des systèmes traditionnels à la lumière de la science moderne afin d'entraver les pratiques qui sont dommageables, d'optimiser celles qui sont utiles et de promouvoir leur intégration à la médecine moderne (Spurgeon, 1995).

Le diabète est une maladie qui a frappé l'homme depuis la plus haute antiquité. Des descriptions de cette maladie ont été retrouvées dans les manuscrits Egyptiens datant du 15^{ème} siècle avant notre ère.

Les Anciens grecs sont les premiers qui ont donné le nom de " Diabète " à cette maladie, partant du mot grec " *diabaino* ", signifiant : " passage des boissons à travers le corps sans arrêt " (Chicouri, 1983).

Il est indiscutable que l'intense polyurie a très longtemps frappé les personnes. La glycosurie a par contre, été plus longtemps méconnue. Ratsimamanga, toutefois, rapporte qu'à Madagascar, les sorciers faisaient le diagnostic de diabète sucré en demandant au malade d'uriner auprès d'une fourmilière. Lorsque l'urine était sucrée, on voyait les fourmis s'en nourrir, chose qu'elles ne faisaient pas avec l'urine physiologique.

C'est indiscutablement Thomas Willis, en 1674, qui a établi l'importance de cette saveur sucrée ainsi pressentie ; et c'est, en fait, à cette date que commence une description valable de la maladie.

En 1775, Matthew Dobson rattache la saveur sucrée à la présence d'un sucre par l'étude des fermentations. Chevreul reconnaît que ce sucre est le même que le sucre de raisin (Derot, 1977).

En 1796, l'Anglais John Rallo, reconnaît la présence de sucre dans le sang, et préconise le traitement de la maladie par un régime alimentaire (Chicouri, 1983).

En 1829, Bouchardat découvre que le taux de la glycosurie dépend de la richesse alimentaire en hydrates de carbone. Claude Bernard, de son côté, établit l'existence d'une glycémie physiologique et constate les variations pathologiques qu'elle peut subir. Von Noorden fait apparaître la notion de tolérance qui a été longtemps pour les diabétologues un guide extrêmement précieux. Tous ces faits concernent la glycosurie et la glycémie (Derot, 1977).

En 1869, Langerhans décrit à l'aide du microscope, des îlots de cellules dans le pancréas qui semblent avoir un rôle de sécrétion hormonale.

En 1889, Minkowski et Von Mehring démontrent que l'on peut produire un diabète chez le chien en lui enlevant le pancréas.

En 1921, Frederick Grant Banting et Charles Herbert Best, découvrent de l'insuline.

L'année 1922 marque indiscutablement le début d'une ère nouvelle dans l'histoire du diabète : deux médecins canadiens vont réussir à abaisser la glycémie d'un chien privé de son pancréas, en lui injectant de l'extrait pancréatique d'un animal sain.

D'autres découvertes médicales plus récentes permettront de trouver de nouveaux médicaments oraux contre certains types de diabètes, tels que les Sulfamides et les Biguanides.

Les résultats successifs issues de recherches effectuées, tout au long du vingtième siècle, ont conduit à définir le diabète sucré en tant que syndrome et non plus en tant que maladie au vu de la diversité de ces aspects cliniques physiopathologiques et étiologiques (Slama *et al.*, 1990).

Epidémiologie

1-Dans le monde

La progression du diabète de type 2 dans le monde est souvent désignée par le terme de pandémie (augmentation rapide de l'incidence d'une pathologie dans le monde) qui est habituellement utilisé pour les maladies transmissibles mais qui sied parfaitement au diabète (Ouadahi *et al.*, 2009).

Le diabète est une maladie courante dont la fréquence augmente à une vitesse alarmante partout dans le monde. C'est la maladie métabolique la plus fréquente. En 1975, on comptait 75 millions de diabétiques dans le monde, dont l'immense majorité était de type 2. En 2000, on recensait 171 millions de diabétiques dans le monde. En 2003, ce nombre a été estimé à 189 millions. Le nombre total de cas de diabète, estimé actuellement est de 346 millions (OMS 2011). Ce chiffre devrait dépasser largement les 380 millions selon l'OMS en 2025 (Partouche *et al.*, 2010 ; Tuchmann, 2009).

Les études épidémiologiques ont montré que le diabète sucré frappe presque toutes les populations et tous les groupes d'âge. Ce groupe comprend une faible proportion de patients recevant un traitement à l'insuline (diabète type 1), un nombre important de personnes (Diabète type 2) prenant des antidiabétiques oraux ou suivant un régime alimentaire approprié (Barceló, 1996).

L'étude de la prévalence du diabète sucré montre de grands écarts entre les différentes régions du monde. La prévalence du DNID est très élevée (30 à 35%) chez les Indiens Pima du sud de l'Arizona (Zimmet, 1982), les autochtones de l'île de Nauru, dans le Pacifique (Zimmet *et al.*, 1984). En Europe et dans les populations de race blanche du Canada et des États-Unis, la prévalence du diabète est moins élevée, variant de 2 % à 7 % (Verrillo *et al.*, 1985 ; Simmons, 1991). C'est en Alaska (Middaugh *et al.*, 1991) et dans certains pays d'Afrique (Teuscher *et al.*, 1987 ; Fisch *et al.*, 1987) que les taux les plus bas ont été enregistrés (Barceló, 1996).

Plus de 80% des décès par diabète se produisent dans des pays à revenus faibles ou intermédiaires. D'après les projections de l'OMS, le nombre total de décès par diabète devrait augmenter de plus de 50% au cours des 10 prochaines années.

Dans la majorité des cas (au moins 90 %), il s'agit d'un diabète de type 2, il se manifeste sous forme de véritable « épidémie silencieuse ». Il a de graves conséquences en termes de morbidité, de

mortalité et de prise en charge médicale très coûteuse. D'après des nouvelles estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et la Fédération Internationale du Diabète (FID) en 2004, le diabète serait à l'origine de plus de 3,4 millions de décès chaque année dans le monde, OMS et FID (2004).

Les études épidémiologiques ont montré que le diabète sucré frappe indistinctement toutes les populations et tous les groupes d'âge. Le diabète de type 2 (diabète non insulino dépendant DNID) touche au moins 90% de cette population (Barceló, 1996).

2-En Algérie

L'Algérie ne fait pas exception à cette pandémie mondiale, en effet, la prévalence du diabète approche les 11 % en 2010. Ce chiffre est certainement sous-estimé par l'ignorance de beaucoup de personnes de l'existence de leur maladie (Ouadahi *et al.*, 2009).

Faute de statistiques fiables, la société Algérienne de Diabétologie, estime approximativement le nombre de diabétiques à plus de 3 millions de personnes en 2011. Selon cette même source, 90% de cette population présentent le diabète de type 2.

Selon l'International Diabetes Federation, le diabète progressera de 94 % en Afrique du nord entre 2010 et 2030 contre seulement 20 % en Europe. De plus, dans les pays en voie de développement, la plupart des diabétiques sont âgés de 45 à 64 ans alors que dans les pays développés, la majorité a plus de 65 ans. Ce décalage par rapport à l'âge de survenue affecte la population active et majore le coût indirect de la maladie (Belhadj, 2010).

Définition

Le diabète sucré est une affection du métabolisme caractérisée par une hyperglycémie chronique. L'affection est due à une défaillance de la sécrétion d'insuline, et/ou de l'action de cette hormone (Wens, 200).

Cette hyperglycémie chronique est associée, à des degrés divers et par des mécanismes encore mal connus, à des complications à long terme, touchant en particulier les yeux (rétinopathie), les reins (néphropathie), les nerfs (neuropathie), le cœur et les vaisseaux sanguins (Fontbonne et Simon, 2004).

Critères de diagnostic et classification

Vers la fin des années 70, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [OMS, 1980] et le National Diabetes Data Group (NDDG) [NDDG, 1979] ont proposé de nouveaux critères de diagnostic et un nouveau système de classification de diabète sucré (diabetes mellitus) (OMS, 1999). Afin

d'uniformiser le cadre des hyperglycémies, le groupe d'experts internationaux ont publié un rapport en 1979 proposant une classification du diabète et des intolérances au glucose (NDDG, 1979). Ce rapport a été adopté et légèrement modifié par l'OMS en 1980, 1985 et 1994 (OMS, 1980, 1985, 1994). Même si cette classification présente un caractère parfois arbitraire, elle est reconnue sur le plan international et elle permet, dans la plupart des cas, d'interpréter une hyperglycémie (Broussolle et Orgiazzi, 1996).

En décembre 1996, Le rapport préliminaire du comité consultatif chargé par l'OMS, a proposé une révision de la classification et des critères diagnostiques du diabète et des troubles de la glycorégulation (OMS, 1999 ; Darmon, 1999) et un groupe d'experts de l'American Diabetes Association (ADA) a officiellement présenté ses nouvelles recommandations en matière de diagnostic (*tableau1*), dépistage et classification du diabète (*tableau2*) [OMS, 1999] à Boston en 1997 (Halimi et Benhamou, 1997).

Nouveaux critères diagnostiques

Les nouveaux critères diagnostiques du diabète et des troubles de la glycorégulation, sont avant tout, caractérisés par l'abaissement de la valeur de la glycémie à jeun définissant le diabète (OMS, 1999 ; Darmon, 1999 ; Broussolle, 1999 ; Pulido et Ospina, 2000) de 1,40 g/l (7,8 mmol/l) à 1,26 g/l (7,0 mmol/l) et par la création d'une nouvelle catégorie intermédiaire, appelée "hyper-glycémie non diabétique à jeun", définie par une glycémie à jeun (Tab. 1). oscillant entre 1,10 g/l (6 mmol/l) et 1,26 g/l (7 mmol/l) (OMS, 1999 ; Darmon, 1999 ; Pulido et Ospina, 2000).

Tableau 1 : Critères diagnostiques pour le diabète de type 2 (Wens, 2007).

	Glycémie mg/dl (mmol/l)	Stade
À jeun	< 100 mg/dl (5.5 mmol/l)	Normal
	≥ 100 mg/dl et < 126 mg/dl (5,5 mmol/l et 7,0 mmol/l)	Glycémie à jeun anormale
	≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l)	Diabète sucré
Au hasard	≥ 126 mg/dl et < 200 mg/dl (7,0 mmol/l et 11.1 mmol/l)	Répéter à jeun
	≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l)	Diabète sucré
2 heures après la prise de 75 g de glucose	≥ 140 mg/dl et < 200 mg/dl (7,8 mmol/l et 11.1 mmol/l)	Intolérance au glucose (IGT)
	≥ 200 mg/dl	Diabète sucré

* A jeun : pas de prise alimentaire depuis au moins 8 heures ;

** Au hasard : à n'importe quelle heure de la journée sans tenir compte du délai depuis le dernier repas [OMS, 1999; Pulido et Ospina, 2000].

En l'absence de signe évident d'hyperglycémie avec décompensation métabolique aiguë, ces critères doivent être confirmés en répétant le dosage (OMS, 1999).

Aspects biochimiques et analytiques du diagnostic

Différents tests biochimiques, pourront être mis en œuvre pour effectuer un diagnostic et un dépistage précoce du diabète, mais aussi pour surveiller celui-ci : glycémie, épreuve d'hyperglycémie provoquée, hémoglobine glyquée, fructosamine, microalbuminurie...

Selon l'OMS, on est diabétique si la glycémie à jeun est supérieure ou égale à 1,26g/L à 2 reprises et/ou si la glycémie est supérieure à 2g/L à n'importe quel moment de la journée, avec signes d'hyperglycémie (polyurie, polydipsie, polyphagie, perte de poids inexplicable), (Eugène, 2010).

De plus, le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est un meilleur indicateur de la survenue du diabète, y compris des complications. De grandes études ont montré qu'un traitement intensif, fondé sur HbA1c, réduisait les complications du diabète (Garcia, 2010).

C'est une protéine glycosylée du sang qui reflète l'équilibre glycémique pendant les deux à trois mois qui précèdent l'analyse. Ce taux est fonction de plusieurs facteurs comme la glycémie, l'âge du diabète et la présence de complications (Ghouali *et al.*, 2009).

Elle a des avantages significatifs par rapport à la glycémie à jeun, les niveaux ne sont pas affectés par l'effort, ils ont une plus grande stabilité, et le prélèvement peut être effectué à n'importe quel moment de la journée.

Ce dosage doit être effectué 3 à 4 fois / an. Le taux normal se situe entre 4 à 6% de l'hémoglobine totale.

L'HbA1c est utilisée non seulement pour diagnostiquer le diabète mais également pour identifier les personnes à risque. Ceux qui ont une hémoglobine glyquée entre 6,0% et 6,5% sont considérés à très haut risque de développer un diabète sur 5 ans (Eugène, 2010).

Pour les diabétiques, l'HbA1c est supérieure à 6,5%.

L'HbA1c doit être inférieure à 7% pour pouvoir parler de diabète bien équilibré.

Plus le pourcentage est élevé, plus les risques de voir survenir des complications sont importants.

D'un point de vue théorique le diagnostic comporte deux étapes : d'abord l'identification du diabète sucré qui est défini par l'existence d'une hyperglycémie chronique; ensuite sa classification.

Les incertitudes sur le mécanisme étiopathogénique des diabètes expliquent que la définition du diabète se résume à l'hyperglycémie, que ce soit l'hyperglycémie responsable du syndrome "polyurie-polydipsie-amaigrissement-hyperphagie" ou l'hyperglycémie asymptomatique comportant un risque de micro-angiopathie, en particulier de rétinopathie (Desch, 2001).

Nouvelle classification du Diabète sucré

Les propositions de l'OMS rejoignent, pour une large part, les conclusions émises en 1997 par le comité d'experts de l'American Diabetes Association (ADA). La nouvelle classification du diabète repose sur l'étiologie et/ou la pathogénie de chaque type de diabète (OMS, 1999 ; Darmon, 1999), elle est basée sur l'aspect clinique proposé par Kuzuya et Matsuda (Kuzuya et Matsuda ; 1997), alors que la précédente était essentiellement fondée sur des considérations d'ordre thérapeutique (diabète insulino-dépendant, non insulino-dépendant) (Darmon, 1999). La nouvelle classification contient les étapes qui reflètent les divers degrés d'hyperglycémie chez différents sujets quelles que soit les causes qui peuvent mener au diabète sucré (OMS, 1999). La classification proposée est à double entrée. Elle tient compte à la fois de l'étiologie (la catégorie " type II " devant tendre à se fondre dans la catégorie " autres types spécifiques " au fur et à mesure de l'évolution des connaissances) et du degré de l'hyperglycémie (Tab. 2). Le diabète de malnutrition disparaît et rejoint le cadre des maladies du pancréas exocrine. La notion de diabète " insulino-dépendant " et " non insulino-dépendant ", trop subjective, est remplacée par les termes de diabète de *type I* et *type II*. Enfin, une nouvelle catégorie de troubles de la glycorégulation (Tab. 2) : " hyperglycémie modérée à jeun " apparaît (OMS, 1999 ; Gavin *et al.*, 2002). Le seul point de discordance entre le

NDDG-ADA et l'OMS reste le diabète gestationnel, l'OMS et l'ADA conservant leurs propres méthodes et leurs propres critères (Gavin *et al.*, 2002).

Le terme "*diabète primaire*" signifie qu'il n'y a pas d'autre maladie associée, tandis que le terme "*diabète secondaire*" regroupe tous les diabètes qui sont la conséquence d'une maladie, d'une intoxication ou d'une médication, ou qui font partie d'un syndrome génétique.

Tableau 2 : classification prenant à la fois en compte l'étiologie (entrée verticale) et le degré de L'hyperglycémie (entrée horizontale) selon l'OMS (OMS, 1999 ; Gavin *et al.*, 2002)

Stade Type de diabète	Glycémie normale	Hyperglycémie			
	Tolérance normale au glucose	Intolérance au glucose et/ou hyperglycémie modérée à jeun	Diabète sucré		
			Pas d'exigence d'insuline	Exigence contrôlée d'insuline	Exigence d'insuline pour la survie
Type 1 a. d'origine immunologique b. idiopathique					
Type 2 c. Insulinorésistance prédominante d. Insulinopénie prédominante Autres types spécifiques *					
Diabète Gestationnel*					

Dans ces catégories; il existe des rares patients qui peuvent exiger l'insuline pour la survie (par exemple la toxicité par le Vacor, type 1 présentant dans la grossesse, etc.) (Gavin *et al.*, 2002).

Diabète insulino-dépendant

Le diabète de type 1, beaucoup moins fréquent (6 % à 10% des cas), touchant principalement les enfants et les jeunes adultes, résulte de la destruction auto-immune des cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas à l'origine d'une carence insulinique sévère (Djakoure *et al.*, 2010 ; Romon *et al.*, 2010).

Le nombre de diabète de type 1 chez les moins de 5 ans est en nette augmentation. Une meilleure connaissance et description des étiologies et caractéristiques du diabète chez le très jeune enfant devra prendre en compte les connaissances en particulier génétiques nouvelles, afin de permettre une prise en charge adaptée (Kammoun *et al.*, 2010).

Il s'agit d'une maladie auto-immune due à la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans (OMS, 1999 ; Eisenbarth, 1986). Il survient essentiellement chez le sujet jeune. Il s'agit de sujet non obèse qui présente une cétose spontanée en l'absence d'insulinothérapie. De début brutal, le tableau clinique est habituellement caractéristique, dû à l'insulinopénie profonde : polyuro-polydipsie, polyphagie, amaigrissement et asthénie (Broussole, 1999 ; Grimaldi, 2000).

Le diabète insulino-dépendant (type 1) est une maladie auto-immune spécifique déclenchée par un ou plusieurs facteurs liés à l'environnement qui survient chez un sujet génétiquement prédisposé. Ce diabète résulte de la destruction progressive des cellules β des îlots de Langerhans (Rodier, 2001).

Le déclenchement de processus auto-immuns de destruction des cellules β est contrôlé par des facteurs génétiques et environnementaux.

Plusieurs arguments démontrent l'existence d'une susceptibilité génétique au diabète de type 1. Les cas familiaux représentent 10% des diabètes de type 1 et le taux de concordance chez les jumeaux monozygotes est de 35% (Timsit, 1996).

La principale région génomique contrôlant cette prédisposition génétique est celle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) dit système HLA de classe I et II ; localisée sur le bras court du chromosome 6 (Rodier, 2001).

Les gènes de classe I codent pour les antigènes HLA A, B et C présents à la surface de toutes les cellules musculaires. Le DID fait une liaison avec les allèles HLA B8- B15- B18.

Les gènes de classe II codent pour les antigènes HLA DR, DQ et DP exprimés à la surface de certaines cellules du système immunitaire : macrophages, lymphocyte B et T activés. Ces molécules dimères comportent une chaîne α et une chaîne β . Ainsi 95% des sujets atteints possèdent l'allèle HLA DR3 et/ou DR4 tandis que, l'allèle DR2 semble exercer un effet protecteur. Il est apparu aussi qu'un polymorphisme de la chaîne HLA DQ $\beta\beta$ pourrait jouer un grand rôle dans la susceptibilité ou la résistance au DID (Grimaldi et Timsit, 1996).

Des marqueurs d'auto-immunité sont présents chez 85 à 90% des patients lors de la découverte de l'hyperglycémie. Ces marqueurs témoignent d'une auto-immunité dirigée contre les cellules β -pancréatiques qui, à terme conduit à l'insulinodépendance.

La spécificité de ces marqueurs peut atteindre 100% quand plusieurs anticorps sont présents comme les anticorps anti-cellules d'îlots (ICA), les anticorps anti-glutamate décarboxylase (GAD) et les anticorps anti-insuline, Anticorps anti-tyrosine phosphatase IA-2 (Giudicelli et Cattan, 2001 ; Atkinson et MacLaren, 1994 ; Lan *et al.*, 1996).

Diabète de type 1 autoimmun:

Cette forme apparaît le plus souvent chez l'enfant et l'adolescent, mais de plus en plus des cas sont diagnostiqués à l'âge adulte (Molbak *et al.*, 1994). Il est associé à une maladie autoimmune, soit endocrinienne (*thyroïdite de Hashimoto, maladie de basedow, maladie d'Addison...*) entrant dans le cadre des *syndromes polyglandulaires auto-immuns*, soit non endocrinienne (*maladie de Biermer, vitiligo, hépatite auto-immune...*) (Drouin *et al.*, 1999 ; Assan *et al.*, 1994).

Diabète de type 1 idiopathique:

Ce type de diabète a une étiologie mal connue. Les patients atteints ont une insulinopénie permanente et sont enclin à l'acidocétose, mais n'ont aucun signe indicateur de maladie autoimmune (Drouin *et al.*, 1999 ; McLarty *et al.*, 1990). Cette forme de diabète est plus commune parmi des individus d'origine africaine et asiatique (Drouin *et al.*, 1999 ; Ahren et Corrigan, 1984).

Diabètes liés à un déficit génétique de la fonction de la cellule bêta

Il s'agit des formes monogéniques de diabète de type 2 pour lesquelles la mutation d'un seul gène est suffisante pour entraîner une hyperglycémie par déficit de l'insulinosécrétion (Broussolle, 1999).

Diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young)

C'est un diabète d'hérédité autosomiale dominante, caractérisé par un début d'hyperglycémie doux à un âge jeune (généralement avant l'âge de 25 ans). Les altérations de l'insulinosécrétion sont prédominantes (Broussolle, 1999 ; Byrne *et al.*, 1996 ; Clement *et al.*, 1996).

Diabète mitochondrial (diabète secondaire à une mutation de l'acide désoxyribonucléique mitochondrial)

Les diabètes liés à des cytopathies mitochondriales ont été décrits récemment (Reardon *et al.*, 1992). Des mutations d'ADN mitochondriale se sont avérées pour être associées au diabète à début précoce apparaissant entre 25 et 40 ans, une surdité de la perception bilatérale (Broussolle, 1999 ; Grimaldi, 2000 ; Walker et Turnbull, 1997), sont associés à des atteintes neurosensorielles et musculaires. La mutation la plus commune est située sur l'ADN mitochondrial codant pour l'ARNt de la leucine, menant à une substitution de A à G. Cette mutation est observée dans le syndrome MIDD (maternally inherited diabetes and deafness). La transmission est uniquement maternelle (Onishi *et al.*, 1993) ainsi que dans le syndrome MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Syndrome) (Onishi *et al.*, 1993 ; Johns, 1995).

Anomalies de l'insuline

Les anomalies de structure de l'insuline ou de la proinsuline par mutation d'un acide aminé sont à transmission autosomique dominante (Haneda *et al.*, 1984 ; Gruppuso *et al.*, 1984 ; Robbins *et al.*, 1984). L'*hypeproinsulinémie familiale* s'accompagne de troubles mineurs de la glycorégulation, voire absents. Trois variétés d'*insulines mutantes* ont été décrites (*Chicago, Los Angeles, Wakayama*) (Broussolle, 1999).

Défaut génétique de l'action de l'insuline

Il y a quelques causes exceptionnelles du diabète résultant à des caractères génétiquement anormaux d'action de l'insuline. Les caractères métaboliques anormaux sont associés avec des mutations du récepteur de l'insuline, caractérisé par l'hyperinsulinisme associé à un degré variable d'hyperglycémie au diabète symptomatique (Kahn *et al.*, 1976 ; Taylor, 1992). Quelques individus avec ces mutations ont l'*acanthosis nigricans*. Dans le passé, ce syndrome a été appelé *insulinorésistance de type A* (Gavin *et al.*, 2002 ; Kahn *et al.*, 1976). *Lépréchaunism* et le syndrome de *Rabson-Mendenhall* sont deux syndromes pédiatriques définis par des mutations du gène du récepteur de l'insuline s'accompagnent d'insulino-résistance extrême par déficit récepteur ou post-récepteur (Taylor, 1992). Le diabète *lipoatrophique* est une affection peu fréquente, d'étiologie indéterminée, qui comporte une absence totale ou partielle de tissu adipeux (Schultz *et al.*, 1986), le déficit siège au niveau post-récepteur (Broussolle, 1999).

Maladie du pancréas exocrine (diabète pancréatique)

N'importe quel processus blessant diffusément le pancréas peut causer le diabète. Les processus acquis incluent *la pancréatite, trauma, infection, carcinome, et la pancréatectomie* (Gullo *et al.*, 1994 ; Larsen *et al.*, 1987). Excepté *le cancer*, les dommages au pancréas doivent être étendus pour que le diabète se produise. Cependant, des adénocarcinomes associés au diabète touchent seulement une petite partie du pancréas. Cela implique un autre mécanisme qu'une simple réduction massive de cellules β pancréatiques (Permert *et al.*, 1994), si assez fréquemment, la *fibrose cystique* et *l'hémochromatose* altèrent aussi les cellules bêta et réduisent la sécrétion de l'insuline (Moran *et al.*, 1994 ; Phelps *et al.*, 1989).

La pancréatite fibrocalculeuse est décrite dans les pays tropicaux en voie de développement comme *l'Afrique, l'Inde et l'Amérique du sud* (Millan, 1986). Elle se manifeste dès l'enfance par des douleurs abdominales et une diarrhée (Hoe *et al.*, 1996). Il existe des calcifications pancréatiques radiologiquement visibles et des signes d'insuffisance pancréatique exocrine (Hoe *et al.*, 1996 ; Yajnik *et al.*, 1992).

La survenue d'un diabète après *pancréatectomie partielle* dépend de trois facteurs : La zone d'exérèse puisque la queue du pancréas est plus riche en cellule bêta que la tête ; l'état du parenchyme restant et enfin l'étendue de l'exérèse. *La pancréatectomie totale*, rarement pratiquée, entraîne obligatoirement un diabète insulino-prive (Broussolle, 1999).

Endocrinopathie

De nombreuses maladies endocriniennes peuvent se compliquer d'une intolérance au glucose ou d'un diabète. Il s'agit le plus souvent d'un diabète non insulino-dépendant régressant avec la guérison de l'affection causale (Broussolle, 1999). Plusieurs hormones s'opposent à l'action de l'insuline (L'hormone de croissance, le cortisol, le glucagon...). Les maladies associées à la sécrétion excessive de ces hormones peuvent causer le diabète (*l'Acromégalie, Syndrome de Cushing, Glucagonome et Phéochromocytome*) (MacFarlane, 1997).

La Somatostatine et l'hyperaldostéronisme induit l'hypokaliémie, peuvent provoquer le diabète, en empêchant la sécrétion d'insuline (Broussolle, 1999 ; Krejs *et al.* 1979 ; Conn, 1965).

Diabète d'origine médicamenteuse ou chimique

Un grand nombre de médicaments peuvent induire une hyperglycémie chez des sujets sans diabète connu et ils peuvent détériorer l'équilibre glycémique des patients diabétiques (Pandit *et al.*, 1993 ; Kahn et Schechter, 1990). Il faut, cependant, souligner que, dans la plupart des cas, il est impossible de déterminer si l'hyperglycémie est due uniquement à une action *pharmacologique* ou s'il existe

une *interaction* entre une *prédisposition* à une anomalie de la tolérance au glucose et les *effets pharmacologiques* du médicament (Broussolle, 1999). Dans ces cas-ci, la classification est ambiguë. La suprématie de dysfonctionnement de cellules bêta ou l'insulinorésistance est inconnue. Certaines toxines telles que *Vacor* (un poison de rat) et *pentamidine* peuvent de manière permanente détruire les cellules bêta pancréatiques (Gallanosa *et al.*, 1981 ; Assan *et al.*, 1995). Il y a également beaucoup de drogues et d'hormones qui peuvent altérer l'action d'insuline comme par exemple, l'acide *nicotinique* et les *glucocorticoïdes* (Phelps *et al.*, 1989 ; Yajnik *et al.*, 1992). La liste montrée dans le *tableau 3* ne présente pas toutes les drogues, hormones ou toxines, qui peuvent induire le diabète et l'hyperglycémie, mais elle nous montre les plus communes (OMS, 1999). Les mécanismes d'action des médicaments sont résumés dans le *tableau 4: inhibition périphérique directe des effets de l'insuline, inhibition de la sécrétion d'insuline ou effet mixte ; par exemple les diurétiques thiazidiques* induisent à la fois des altérations de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline, probablement secondaires aux modifications de la kaliémie (Pollare *et al.*, 1989).

Tableau 3 : Principaux médicaments hyperglycémiant et leurs sites possibles d'action [Forrest *et al.*, 1971]

Médicaments	Sites d'action possible			
	Pancréas	Foie	Périphérie	Autres
1. Adrénaline	+	+	+	
2. Glucocorticoïdes				
3. Diurétiques thiazidiques		+	+	
4. Contraceptifs	+	+	+	
5. Oestro-progestatifs oraux	+		+	
6. Agonistes β 2-adrénergiques	+	+	+	
7. Inhibiteurs calciques	+			+
8. Clonidine	+			+
9. Diazoxide	+			
10. Pentamidine	+			
11. Interféron- α	+			
12. Ciclosporine	+			
13. Chlorpromazine	+			
14. phénytoïne	+			
	+			

Infections

Certains virus peuvent provoquer le diabète à la suite d'une destruction des cellules bêta. Ce diabète se produit chez quelques malades avec la rubéole congénitale (Forrest *et al.*, 1971). De plus, Coxsakie B, cytomegalovirus et d'autres virus (comme l'adénovirus et oreillons) ont été impliqués dans l'induction de la maladie (King *et al.*, 1983 ; Pak *et al.*, 1988).

Diabète gestationnel

Par définition le terme "diabète de grossesse" implique qu'il n'y a pas de diabète préexistant et que la glycémie revient à la normale six semaines après l'accouchement. Cette définition n'exclut pas la possibilité qu'une intolérance au glucose non détectée ait pu exister avant la grossesse (Capet *et al.*, 1999).

Cette forme de diabète est généralement transitoire et disparaît dans les six semaines suivant l'accouchement. Le diabète gestationnel est associé à une élévation de l'incidence de la macrosomie foetale ("gros bébés"), de la prééclampsie et des césariennes. Les femmes qui ont souffert du diabète gestationnel risquent davantage de développer un diabète de type 2 par la suite. Certaines données indiquent qu'environ le tiers des femmes ayant des antécédents de diabète gestationnel seront plus tard atteintes du diabète de type 2 (Naylor *et al.*, 1997).

Diabète de type 2 (ancien diabète non insulino-dépendant)

C'est la forme la plus commune (plus de 92 % des cas de diabète), qui est caractérisée par une résistance à l'insuline et une carence relative de sécrétion d'insuline. Il est souvent associé à une obésité (Djakoure *et al.*, 2010; Romon *et al.*, 2010).

Considéré jusqu'à une époque récente comme une maladie de la maturité, il est aujourd'hui décrit chez l'enfant, avec une fréquence variable souvent non négligeable selon les pays, en rapport avec l'obésité juvénile.

Son évolution est silencieuse et insidieuse jusqu'à l'apparition de graves complications lourdes de conséquences tant en termes de morbidité que de mortalité (Djakoure *et al.*, 2010).

La pathogenèse du diabète non insulino-dépendant reste encore sujette à controverses et demeure mal comprise. Reprenant les travaux réalisés ces dernières années Cerasi *et al.* (1997), en sont venus à considérer le DNID comme étant essentiellement une maladie des cellules β pancréatiques. Pour d'autres auteurs (Ziv et Shafrir, 1997), c'est le phénomène d'insulinorésistance qui semble préexistant dans cette pathologie.

Le diabète de type 2 est suspecté devant une hyperglycémie associée à un ou plusieurs facteurs de risque d'apparition du diabète (Busch-Brafin et Pinget ; 2001).

Autres types de diabète (comprennant la catégorie antérieurement appelée "diabète secondaire")

Sont actuellement des causes moins communes au diabète, mais sont ceux dans lesquels le processus fondamental de trouble ou de maladie peut être identifié d'une façon relativement spécifique. Ils incluent, par exemple, la Pancréatite fibrocalculeuse, une forme de diabète qui a été autrefois classifié (OMS, 1999) comme un diabète de malnutrition (Tab. 3).

Etiologies (facteurs de risques)

On pense que le DNID est déclenché par des facteurs environnementaux chez des individus qui y sont génétiquement prédisposés. L'importance relative des facteurs environnementaux et génétiques semble varier d'une population et d'un groupe ethnique à l'autre (Barceló, 1996).

Facteurs génétiques

Le diabète de type 2 est une maladie souvent familiale, et les futurs diabétiques ont une vulnérabilité génétique qui les prédispose à cette maladie (Bouatia-Naji, 2009). Chez les jumeaux monozygotes, le risque pour le second jumeau d'être atteint est de 50 à 90 %.

Plusieurs gènes sont impliqués, tels que les gènes codant les facteurs de transcription, les protéines impliquées dans le métabolisme du glucose et les molécules de la voie de signalisation de l'insuline et de son sécrétion (Meyre *et al.*, 2009).

Il est hors de doute que le facteur génétique joue un rôle majeur dans l'apparition de DNID. Il est confirmé par des études effectuées sur la concordance entre jumeaux monozygotes (50 à 80%) (Barnett *et al.*, 1981) est très largement supérieure à celle entre jumeaux dizygotes (moins de 20%) (Velho et Froguel, 1997).

Le diabète non insulino-dépendant (DNID) apparaît le plus souvent comme une maladie polygénique à début tardif (Velho et Froguel, 1997) ; hétérogène et multifactorielle résultant à la fois de facteur génétique de prédisposition et de facteur d'environnement (Ktorza *et al.*, 1997).

L'analyse de la transmission familiale de DNID a montré qu'il existait de nombreuses familles où le diabète était transmis de manière mendélienne: c'est le diabète monogénique à début souvent précoce dont une mutation d'un seul gène suffit à entraîner une hyperglycémie chronique (Froguel, 1999). Les premières mutations géniques associées à des troubles de l'homéostasie glucidique ont été trouvées dans le gène de l'insuline et le récepteur de l'insuline (Velho et Froguel, 1997).

Le diabète de type MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) est la forme monogénique la plus fréquente, sa prévalence est environ 5% des diabètes DIND (Velho et Froguel, 1997).

Il est caractérisé par une hyperglycémie chronique d'origine non auto-immune d'apparition précoce avant l'âge de 25 ans, présentant une transmission autosomique dominante avec trois générations au moins atteintes (Busch-Brafin et Pinget, 2001).

Biologiquement, les patients MODY ont en général des concentrations normales ou basses d'insuline malgré leur hyperglycémie chronique témoignant d'une anomalie primitive de l'insulinosécrétion (Velho et Froguel, 1997).

Le gène *MODY 1* le plus fréquent est celui de la Glucokinase sur le bras court du chromosome 7 dénommé *MODY 2* (Froguel *et al.*, 1992). La glucokinase est une enzyme clé du contrôle du métabolisme du glucose dans les cellules insulino-sécrétoires du pancréas endocrine et dans les hépatocytes. La mutation de ce gène diminue l'activité enzymatique de phosphorylation du glucose (Gidh-jain *et al.*, 1993).

En 1992, *MODY 1* a été localisé sur le chromosome 20q, gène codant pour HNF-4 α (hepatocyte nuclear factor) appartenant à la superfamille des récepteurs aux stéroïdes (Yamagata *et al.*, 1996).

Par la suite, en 1995, *MODY 3* a été localisé sur le chromosome 12q (Vaxillaire *et al.*, 1995), gène codant pour HNF-1 α ; un facteur de transcription homéotique exprimé dans le foie, dans le pancréas endocrine et dans d'autres organes (Yamagata *et al.*, 1996). A la différence de la glucokinase, HNF-1 α est responsable d'un diabète sévère, de début postpubertaire, rapidement évolutif et associé à des complications de microangiopathies précoces (Velho *et al.*, 1996).

Une quatrième variante a été récemment attribuée aux mutations dans un autre gène de facteur de transcription, IPF-1, qui sous sa forme homozygote conduit à une agénésie pancréatique totale est appelé *MODY4* (Stoffers *et al.*, 1997).

Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux qui sont à l'origine du DNID semblent être intimement liés, et l'obésité paraît être l'élément principal de ce mécanisme complexe. Les principaux facteurs associés au DNID sont l'alimentation, l'obésité, le manque d'activité physique, le statut socio-économique, ... (Zimmet *et al.*, 1986).

Obésité

De nombreuses études du DNID ont confirmé que l'obésité est le facteur de risque prépondérant de cette maladie dans les deux sexes, 80% des patients souffrant de DNID sont obèses (Orchard *et al.*, 1992).

Le risque pour qu'un sujet obèse développe un diabète, dépend de sa prédisposition génétique, du degré et de l'ancienneté du surpoids estimé par l'indice de masse corporelle (ICM) ou BMI (Body

Mass Index: rapport du poids en Kg sur la taille en mètre au carré], et surtout du type d'obésité. En effet des études prospectives ont indiqué que l'obésité androïde ou centrale avec une répartition de la graisse à la partie supérieure du corps appréciées par la mesure du rapport taille/hanches, est plus diabétogène que l'obésité gynoïde (Tourniaire *et al.*, 1994).

Alimentation

Le diabète prospère partout où la pauvreté et le manque d'hygiène de vie poussent les familles à consommer des aliments néfastes pour leur santé : faible consommation de fruits et de légumes, pain à chaque repas ainsi que la consommation de boissons économiques riches en calories.

Nourriture trop riche et obésité épuisent les cellules beta tandis que les cellules alpha pancréatiques continuent à sécréter du glucagon. Il en résulte une hyperglycémie chronique. Le diabète est une maladie nutritionnelle (Slama, 2010).

Dans plusieurs études, les chercheurs ont signalé l'association entre certains éléments du régime alimentaire et un risque plus élevé de présenter un DNID. L'influence de l'alimentation sur le diabète peut être quantitative ou qualitative. Un apport calorique important peut causer l'obésité et mener à l'intolérance au glucose et au diabète (Nuttal et Gannom, 1981).

D'autre part, la consommation de certains aliments (tout particulièrement les graisses et les sucres raffinés) a été associée à un risque plus élevé de présenter un diabète (Feskens *et al.*, 1991). Un régime alimentaire pauvre en fibres et riche en acides gras saturés a été associé à une réduction de la sensibilité insulinaire et à la tolérance au glucose anormale (Zimmet, 1992). Par contre, une consommation importante de fibres et une consommation régulière de légumineuses présentent un effet inverse (Feskens *et al.*, 1991).

Activité physique

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'exercice physique joue un rôle protecteur contre le diabète car le manque d'activité physique fait diminuer la sensibilité insulinaire et la tolérance au glucose (OMS, 1985). L'importance de l'exercice se confirme par l'incidence beaucoup plus faible du diabète dans les milieux ruraux où le travail physique est dur, en comparaison avec des populations urbaines (Golay, 1994).

Niveau socio-économique

IL existe beaucoup d'informations affirmant que le diabète est une maladie de riche (Golay, 1994). West et Kalbfleisch ont constaté que la prévalence du diabète était plus élevée dans les classes supérieures que dans les classes pauvres en Amérique centrale (West et Kalbfleisch, 1970). Des changements radicaux dans les habitudes de santé (surnutrition, manque d'activité physique) et l'obésité sont fréquents dans les populations migrantes et ces facteurs ont été associés à une fréquence élevée du diabète Tay(lor *et al.*, 1985). Cependant, aux États-Unis, la fréquence du diabète sucré serait plus élevée chez les gens pauvres et moins scolarisés que chez les personnes riches et ayant un niveau d'instruction plus élevé (Harris, 1984).

Médicaments

Il a été constaté (NDDG, 1979) que la prise de certains médicaments et l'utilisation de certains agents chimiques a un effet nocif sur le métabolisme du glucose (les corticoïdes, les diurétiques furosémide, métalazone, thiazide), les contraceptifs oraux, les glucocorticoïdes, la prolactine, les inhibiteurs des récepteurs β -adrénergiques et la phénytoïne).

D'autres médicaments sont considérés comme toxiques (Golay, 1994) pour les cellules β pancréatiques : (Streptozotocine, l'alloxane, les quinoliéines, la pentamidine et les produits N-nitrosés).

Age

L'incidence du DNID augmente progressivement avec l'âge, et diminue parfois après 85 ans (Dornan, 1994). Cette augmentation de la prévalence avec l'âge a été observée dans la plupart des études épidémiologiques (Harris *et al.*, 1987). Généralement, Le DNID se manifeste chez des sujets âgés de plus de 40 ans, mais des sujets plus jeunes en sont parfois atteints, surtout dans des groupes de population où la fréquence de la maladie est élevée (Barceló, 1996).

Sexe

Il existe certaines différences entre les deux sexes pour ce qui est des taux de prévalence et d'incidence du diabète sucré, différences qui varient d'un groupe ethnique et d'une population à l'autre. Les diverses caractéristiques des facteurs de risque (l'obésité, l'inactivité physique), peuvent expliquer ces différences entre les sexes. Des études réalisées sur des Cubains (Barceló *et al.*, 1993 ; Acosta *et al.*, 1973), des Américains de race noire (Everhart, 1985) et des Indiens Pima (Knowler *et al.*, 1993) ont montré que le risque était plus élevé pour les femmes. Par contre, d'autres études ont révélé que les taux étaient plus élevés chez les hommes (Barrett-Connor, 1980 ;

Klein, 1984). Cette différence entre les taux de diabète sucré diagnostiqué chez les hommes et les femmes peut s'expliquer par la différence de fréquentation des établissements de soins de santé par les deux sexes. Toutefois, le sexe comme tel n'est pas considéré comme un facteur de risque pour le DNID (Barceló, 1996).

Stress

Le stress est défini comme un ensemble de perturbations organiques et psychiques provoquées par des agents agresseurs variés (froid, infections, choc chirurgical, etc.).

Les expériences animales montrent que des conditions stressantes appliquées à des modèles de rats génétiquement prédisposés au diabète non insulino-dépendant, précipitent l'apparition de l'intolérance au glucose par rapport à des animaux non stressés (Surwit, 1992).

L'accumulation des stress peut favoriser l'apparition du diabète de différentes façons. La stimulation du système nerveux entraîne une augmentation de l'excrétion des catécholamines, donc de la glycolyse et la gluconéogenèse ; ainsi l'activité de l'hypophyse augmente, et ceci donne un effet anti-insuline périphérique (Petrides, 1987).

Physiopathologie

Les principales difficultés rencontrées dans l'étude de la physiopathologie du DNID tiennent à l'hétérogénéité de la maladie. En effet, l'âge de survenue de la maladie, sa prévalence en fonction de l'origine ethnique ou de l'obésité, l'importance de l'hyperglycémie et la concentration de l'insuline circulante sont des facteurs extrêmement variables d'un patient à l'autre. Il existe en effet à la fois une anomalie de la sensibilité à l'action de l'insuline et une carence en insuline par atteinte des cellules β (Tourniaire *et al.*, 1994).

Insulinorésistance

La résistance à l'insuline se définit comme un état de diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à l'hormone en présence normale au pris d'insulinémie élevée. En effet, tant que la sécrétion β pancréatique est suffisante pour contrer la résistance à l'insuline, la glycémie reste normale ou modérément altérée. Ainsi, le syndrome métabolique se traduit biologiquement par une hyperinsulinémie et une altération de la tolérance au glucose, soit une évolution par un diabète de type 2 lorsque les capacités sécrétoires du pancréas sont dépassées. Il concerne en premier lieu le foie et les muscles ; plus récemment les tissus adipeux (Bastard *et al.*, 2001).

La carence en insuline

Au cours du diabète non insulino-dépendant, les troubles de la sécrétion de l'insuline peuvent être mis en évidence soit en conditions basales soit en conditions de stimulation. Ces anomalies de l'insulinosécrétion résultent d'anomalies fonctionnelles et de lésions anatomiques des cellules Langheransiennes (Tourniaire *et al.*, 1994).

La carence insulinique et l'excès de sécrétion de Glucagon sont responsables d'une augmentation du débit hépatique de glucose avec augmentation de la néoglucogenèse hépatique responsable de l'hyperglycémie à jeun (Grimaldi, 1999).

Insuline

Structure de l'insuline

La molécule d'insuline est constituée de deux chaînes polypeptidiques : une de 21 acides aminés (chaîne A) et la seconde de 30 acides aminés (chaîne B). Ces deux chaînes sont reliées par deux ponts disulfure (Fig.1) A7-B7 et A20-B19 (Baudin, 2001).

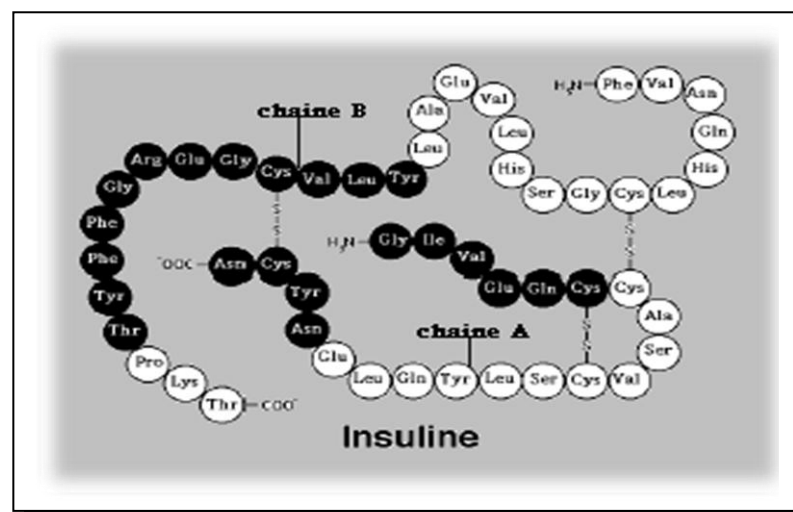


Figure 1 : schéma de la structure de l'insuline.

La biosynthèse d'insuline

L'insuline est sécrétée par les cellules β situées au centre des îlots de Langerhans. L'insuline est synthétisée sous forme d'une chaîne polypeptidique unique de pré-proinsuline, dont les 23 premiers acides aminés servent de points d'ancrage sur le réticulum endoplasmique granuleux (REG), facilitant la pénétration du peptide dans cette organelle.

C'est dans la lumière du REG qu'ont lieu les premières modifications, telle la formation des ponts disulfures et le clivage du peptide signal, aboutissant à la formation de la proinsuline.

La proinsuline est transportée vers l'appareil de Golgi sous forme de vésicules lisses. Après cet passage, cette pro-hormone est empaquetée dans des granules entourés d'un manteau de chlatrine, où elle subit le clivage en milieu acide en insuline et peptide C (Tourniaire *et al.*, 1994).

Sécrétion d'insuline

Le principal stimulant physiologique de la sécrétion d'insuline est le D-glucose; il pénètre dans la cellule par deux types de transporteurs, GLUT1 et surtout GLUT2. Après phosphorylation par une hexokinase et une glucokinase, le glucose intracellulaire entame un processus de glycolyse. L'élévation de l'ATP qui résulte de l'activation de la voie de la glycolyse, est en majeure partie responsable de la fermeture des canaux potassique ATP dépendants et de la diminution secondaire de l'efflux d'ions potassiques. Cette action entraîne une dépolarisation membranaire et l'activation secondaire des canaux calciques. L'accumulation cytosolique du calcium ionisé apparaît comme le facteur déclenchant de l'exocytose des grains sécrétoire d'insuline (Tourniaire *et al.*, 1994).

Les stimuli influençant la sécrétion d'insuline sont de diverses origines :

- Des métabolites : le glucose, la plupart des acides aminés (arginine surtout), les acides gras et les corps cétoniques dans une moindre mesure stimulent la sécrétion,
- Des hormones : hormones gastrointestinales (gastrine, sécrétine, glucagon), Glucocorticoïdes, oestrogènes, progestérone stimulent la sécrétion,
- Des neuromédiateurs : les agents cholinergiques stimulent la sécrétion et les catécholamines l'inhibent (Baudin, 2001).

Mode d'action de l'insuline

Son action principale favorise la formation et la mise en réserve de matériaux nécessaires à la croissance. En plus de son influence sur le métabolisme des glucides elle exerce une action régulatrice importante sur les métabolismes lipidique et protéique. L'insuline accroît l'utilisation du glucose par les cellules et facilite sa transformation en lipides, protéines, glycogène, ou son oxydation en CO₂ et H₂O. Au niveau du foie l'insuline ralentit la néoglucogenèse et favorise la transformation du glucose en glycogène constituant la réserve hépatique et musculaire.

Le récepteur à insuline est une glycoprotéine, codée par le gène situé sur le bras court du chromosome 19. Le nombre total de molécules d'insuline qui peuvent être liées par une cellule varie entre 1000 et 200 000. Le mécanisme moléculaire d'action de l'insuline est un mécanisme qui implique une auto-stimulation tyrosine-kinase du récepteur lui-même. L'insuline a en effet un mode d'action similaire à celui de certains facteurs de croissance (IGF1, IGF2, EGF) La régulation de la synthèse de protéines spécifiques ne serait pas nécessairement une action sur la traduction d'ARN messenger dans le cas de la phosphoenol pyruvate carboxy kinase. L'insuline régule directement la transcription du gène spécifique (Granner *et al.*, 1988).

La protéine réceptrice de l'insuline est une glycoprotéine constituée de deux sous unités alpha de poids moléculaire de 130 000 contenant le site spécifique de reconnaissance et une sous unité bêta de poids moléculaire 95 000 possédant une activité tyrosine-kinase et assure la transmission du message. Le récepteur est donc une molécule transmembranaire qui assure à elle seule la reconnaissance et l'activation enzymatique déterminant l'action spécifique de l'hormone. Le récepteur est un récepteur-enzyme qui réalise une transduction directe (Idelman 1994). La liaison à la chaîne β extra-cellulaire du récepteur, active la chaîne β transcellulaire, entraînant son auto-phosphorylation sur des radicaux tyrosine. En effet la chaîne β du récepteur de l'insuline est une tyrosine kinase, apparentant le récepteur de l'insuline aux récepteurs des facteurs de croissance. A l'opposé, la phosphorylation des résidus serines et thréonines de la chaîne β , provoquée par la stimulation insulinique (par l'intermédiaire de l'activation de la protéine kinase C), inhibe en retour la phosphorylation des radicaux tyrosine: véritable boucle de régulation négative qui vient en quelque sorte "bâillonner" le récepteur lors d'une stimulation "trop prolongée". En fait, la phosphorylation de la chaîne β sur les radicaux tyrosine est le résultat d'une cascade d'auto-phosphorylation, cette auto-phosphorylation "sauterait" même d'une chaîne β à l'autre et peut-être d'un récepteur à l'autre, dans la mesure où les récepteurs activés s'agrègent en un point de la membrane plasmique, cette agrégation jouerait un rôle important dans l'amplification et la transmission du message hormonal aux effecteurs intra-cellulaire (Grimaldi, 1995).

Les transporteurs du glucose

Le passage trans-membranaire du glucose est assuré par des protéines de transport situées à la surface cellulaire dans la membrane plasmique. Il en existe 2 types :

- Le co-transporteur sodium-glucose, responsable du transport actif au niveau de l'intestin grêle et du tube contourné proximal renal,
- Les transporteurs du glucose, responsables d'une diffusion facilitée du glucose. Ces transporteurs sont trouvés pratiquement au niveau de toutes les cellules de l'organisme.
 - 1.Le [GLU. T. I] : Transporteur I du glucose : retrouvé au niveau des érythrocytes, du placenta, du cerveau, du rein, du colon, du tissu musculaire et du tissu adipeux,
 - 2.Le [GLU. T. II] : Retrouvé essentiellement au niveau du foie et de la cellule B,
 - 3.Le [GLU. T. III] : Essentiellement retrouvé au niveau du cerveau ,
 - 4.Le [GLU. T. IV] : Insulino-sensible retrouvé au niveau du muscle et du tissu adipeux,
 - 5.Le [GLU. T. V] : Retrouvé uniquement au jéjunum (Tourniaire *et al.*, 1994).

Action de l'insuline sur le [GLU.T.IV]

Les protéines GLU.T.IV sont retrouvées au niveau des membranes plasmiques et dans le cytoplasme au niveau des membranes de microsomes de faible densité. L'insuline a une double action sur ces protéines GLU.T.IV.

A court terme, elle provoque une translocation des protéines du pool intra-cellulaire vers la membrane plasmique et active les protéines au niveau de cette membrane. Il s'agit d'un processus rapide requérant de l'énergie.

A plus long terme, l'insuline régule la quantité de protéine de transport GLU.T.IV en induisant leur synthèse nucléaire.

Actions tissulaires de l'insuline

L'insuline est la principale, sinon la seule, hormone hypoglycémisante. Indispensable à la vie, c'est la première hormone peptidique dont la structure primaire a été analysée, la première totalement synthétisée *in vitro*, la première enfin obtenue par biosynthèse *in vitro* au moyen du génie génétique. Sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans, déversée dans la veine porte, l'insuline atteint le foie, son premier tissu cible et l'un des sites de son catabolisme. Au delà du foie, elle se répand dans l'organisme et atteint les autres tissus cible (muscles, tissu adipeux) avant d'être catabolisée et/ou excrétée par les reins. Il existe ainsi un important gradient physiologique de concentration d'insuline entre la veine porte et la périphérie, gradient qui n'est pas reproduit par l'insulinothérapie conventionnelle.

L'insuline modifie de nombreux métabolismes : glucidique (foie, muscles et adipocytes), lipidique (foie, adipocytes), protidique (foie, muscles). Mais si le foie, le tissu adipeux et les muscles sont les principales cibles de l'insuline, il existe des récepteurs pour cette hormone sur la plupart des tissus ou cellules : hématies, lymphocytes, fibroblastes, tissu placentaire, cellules tubulaires rénales dont on ne connaît pas encore les fonctions physiologiques (facteur de croissance?).

Les cliniciens considèrent souvent les actions physiologiques de l'insuline en terme de variations aiguës des concentrations de substrats circulants, réduction des concentrations du glucose, des acides gras non estérifiés, des corps cétoniques, des acides aminés. Il est important de se représenter ces variations de concentrations comme la résultante des variations de flux de substrats circulants, elles-mêmes secondaires aux effets métaboliques aigus sur les tissus : stimulation de l'anabolisme (glycogène, triglycérides, protéines), inhibition du catabolisme (stimulation de l'oxydation du glucose). Il existe aussi des actions plus lentes, telles que la stimulation de la croissance et la prolifération de certaines lignées cellulaires.

Les différentes actions de l'insuline ont des chronologies différentes, de quelques secondes à quelques heures. Schématiquement, les actions qui ont trait aux régulations sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Chronologie des actions de l'insuline.

Les actions métaboliques sont rapides et transitoires, permettant une adaptation minute par minute. Celles qui ont trait à l'anabolisme et à la croissance sont plus lentes à s'installer et plus soutenues que les actions régulatrices du métabolisme. Le tableau 11, emprunté à Rosen, schématise, de façon peut-être un peu arbitraire la chronologie des actions de l'insuline.

Secondes	Liaison aux récepteurs Autophosphorylation des récepteurs Activation de la tyrosine kinase du récepteur
Secondes à	Modification de la transcription de gènes
Minutes	Modification du transport d'hexoses et d'ions Modification d'activités enzymatiques Internalisation des complexes insuline-récepteurs
Heures	Synthèse de protéines, lipides, acides nucléiques Régulation négative des récepteurs Croissance cellulaire

Insuline et métabolisme du glucose

Ces effets de l'hormone se manifestent principalement sur le foie, le tissu adipeux et les muscles. En fait, les métabolismes du glucose, des lipides et des protéines sont étroitement intriqués, de même que les influences de l'insuline sur ces différents métabolismes.

Insuline et métabolisme du glucose dans le foie

Les classiques expériences de Madison, tout comme les techniques récentes, utilisant traceurs isotopiques et clamp euglycémique hyperinsulinémique, démontrent que la perfusion lente d'insuline induit une réduction du débit de glucose dans les veines sus-hépatiques. Cette réduction de la production hépatique de glucose est le résultat de plusieurs effets élémentaires.

Le glucose pénètre dans l'hépatocyte par un processus de diffusion facilitée par un transporteur de glucose non insulino-dépendant et de K_m très élevé, permettant d'équilibrer rapidement la concentration du glucose intracellulaire avec celle du glucose plasmatique. La glucokinase le transforme en glucose-6 phosphate. Celui-ci peut s'orienter vers la synthèse de glycogène ou être métabolisé dans la voie de la glycolyse. Les activités glucokinase et glycogène synthétase sont fortement accrues par l'insuline. La glycolyse est également stimulée. Les enzymes clés de cette voie, phosphofructo-kinase, pyruvate kinase et pyruvate déshydrogénase sont stimulées par l'insuline.

Au contraire, glycogénolyse (enzyme clé : phosphorylase) et néoglucogénèse (enzyme clé : phosphoénolpyruvate carboxykinase, PEPCK) sont inhibées. Il est à noter que l'inhibition par l'insuline de la néoglucogénèse a pour conséquence une réduction de l'uréogénèse, donc une épargne protéique.

Insuline et métabolisme du glucose dans les muscles

Les voies métaboliques et les effets de l'hormone sur ces voies, le transfert endocellulaire du glucose nécessite un transporteur spécifique des tissus insulino-dépendants. Le glucose ainsi transféré est aussitôt phosphorylé par une hexokinase: ici encore, l'enzyme régulatrice (pyruvate déshydrogénase) est activée par l'insuline.

Insuline et métabolisme du glucose dans les adipocytes

Comme dans le muscle, un transporteur de glucose spécifique des tissus insulino-dépendants est nécessaire à l'entrée du glucose dans la cellule. Le glucose ainsi capté peut être oxydé ou stocké. Le stockage, essentiellement sous forme de triglycérides, fait intervenir d'une part la lipogénèse, synthèse d'acyl CoA, d'autre part la synthèse d' α -glycérophosphate qui estérifie les acyl CoA pour

former les triglycérides. Chacune de ces deux voies fait intervenir des enzymes dont certaines sont activées par l'insuline : ATP-citrate lyase, acétyl CoA carboxylase, synthétase des acides gras.

Insuline et métabolisme lipidique

Dans les adipocytes

L'insuline stimule la lipogenèse à partir du glucose. Elle stimule aussi indirectement le dépôt de triglycérides dans les adipocytes à partir des acides gras contenus dans les chylomicrons et les lipomicrons (VLDL) circulants, en favorisant la synthèse de la lipoprotéine lipase qui arrache au passage des acides gras à ces particules (Fig. 11.4). Sa diminution, au contraire, lors des carences insuliniques profondes, entraîne l'hypertriglycéridémie qui accompagne parfois l'acidocétose diabétique. A l'opposé, la lipolyse est inhibée par l'insuline, qui inhibe la triglycéride lipase adipocytaire dépendant de l'AMP cyclique.

Dans les hépatocytes

L'insuline est lipogénétique et anticétogène. Les acides gras non estérifiés provenant du plasma et transformés en acyl CoA dans le cytosol des hépatocytes, peuvent s'orienter soit vers la cétogenèse (intramitochondriale), soit vers la synthèse de triglycérides (dans le cytosol) Cette orientation dépend en particulier du rapport insuline/glucagon, l'insuline favorisant l'estérification cytosolique des acides gras et le glucagon l'inhibant. L'insuline, en stimulant la glycolyse, augmente la disponibilité en citrate et en malonyl CoA. Celui-ci inhibe fortement la carnitine-palmitoyl transférase I (*CPT I*) les acyl CoA à longue chaîne rentrent dans le cytosol où ils sont ré-estérifiés. Le glucagon, au contraire, inhibe la glycolyse et réduit la disponibilité en citrate et en malonyl CoA. La *CPT1* n'est plus inhibée : les acyl CoA, transportés dans la mitochondrie, y sont oxydés en corps cétoniques.

Insuline et métabolisme proteique

L'insuline stimule le captage des acides aminés par le foie et par les muscles par une action directe sur les systèmes de transport transmembranaire. De plus, la synthèse de certaines protéines dans le réticulum endoplasmique est stimulée par l'insuline.

La protéolyse est inhibée et la libération d'acides aminés par les muscles freinée. Cet effet est sélectif et varie avec la concentration d'insuline circulante. Pour des élévations modérées de l'insulinémie (après charge orale de glucose) c'est la libération d'acides aminés ramifiés et/ou cétogènes (leucine, isoleucine, phénylalanine, tyrosine) qui est réduite. Pour des insulinémies plus

élevées (sous insulinothérapie, par exemple) tous les acides aminés, en particulier l'alanine, voient leur concentration sanguine décroître.

Effets transcriptionnels et post-transcriptionnels

L'expression de certains gènes codant des enzymes ou des protéines de structure est augmentée par des effets transcriptionnels ou post-transcriptionnels.

Autres actions

Electrolytes

Le transfert du potassium du plasma vers les cellules est fortement stimulé par l'insuline : effet mis à profit en réanimation pour le traitement d'urgence de l'hyperkaliémie aiguë, mais aussi effet redoutable pendant la phase thérapeutique du coma acidocétosique déplété en potassium. Cet effet paraît être partiellement indépendant du transfert de glucose dans les cellules. En l'absence d'insuline, au contraire, une forte hyperglycémie peut induire une hyperkaliémie menaçante.

L'insuline a des effets sur les transferts de K^+ et Na^+ dans les cellules tubulaires rénales. En clinique, une rétention sodée et des oedèmes modérés accompagnent souvent le début d'une insulinothérapie intensifiée chez les diabétiques. La question reste posée des rapports entre hyperinsulinisme, rétention sodée et hypertension artérielle dans l'obésité, l'intolérance au glucose et le diabète de type 2.

Prolifération cellulaire

Un effet prolifératif de l'insuline est démontré, tout du moins *in vitro* ou dans des conditions expérimentales.

La multiplicité des effets de l'insuline fait intervenir des mécanismes cellulaires multiples par exemple translocation du transporteur de glucose, activation et inactivation *d'enzymes cytosoliques, ribosomales et mitochondriales*, actions transcriptionnelles et post-transcriptionnelles sur l'expression du génome.

Par ailleurs, l'effet de l'insuline sur un processus métabolique donné est réalisé par des actions coordonnées à plusieurs niveaux. Ainsi, pour la pyruvate kinase hépatique, l'enzyme est activée par déphosphorylation, la synthèse de la protéine enzymatique augmentée, l'expression du gène correspondant stimulée par des effets transcriptionnels (synthèse accrue d'ARN messagers) et post-transcriptionnels (réduction de la dégradation des ARN messagers).

Mécanismes d'action de l'insuline

La première étape de l'action cellulaire de l'insuline est sa liaison à récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique des cellules cibles. Ce récepteur se présente comme une glycoprotéine multifonctionnelle (Tourniaire *et al.*, 1994), codé par le gène situé sur le bras court du chromosome 19. Il est constitué de deux sous unités (Fig. 2), une sous unité extra membranaire α contenant le site spécifique de la reconnaissance est une sous unité transmembranaire β , possédant une activité tyrosine-kinase et assure la transmission du message (Grimaldi, 1995). La transmission du message hormonal s'effectue soit par des phosphorylations en cascade suite à l'activation du domaine de type tyrosine-kinase soit par la libération de médiateurs intracellulaires comme les protéines G, ou l'IPG ou inositol phosphoglycane (Tourniaire *et al.*, 1994).

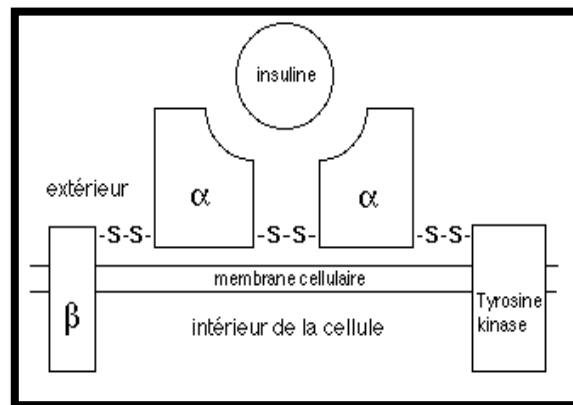


Figure 2: Structure moléculaire du récepteur de l'insuline (Gerald, 1996).

Complications du diabète

Les complications du diabète sont importantes et sont de deux types :

- des complications aiguës qui sont très répandues chez les DID e
- et d'autres chroniques qui se trouvent surtout chez les DNID (Tab. 5).

Tableau 5: Complications du diabète

Complications aiguës	Hypoglycémie (suite au traitement) Hyperglycémie	Acido-cétosique Coma hyperosmolaire Acidose lactique
Complications chroniques	Microvasculaires Macrovasculaires	Rétinopathie Néphropathie Neuropathie

Les complications aiguës :

Acido-cétose :

L'acido-cétose est la résultante clinique et biologique d'un trouble métabolique, ionique et hydrique lié à la carence absolue ou relative en insuline. Elle se définit de façon arbitraire par un pH < 7.2 et une hyperglycémie > 3g/L ; cette acidose étant en rapport avec une concentration excessive de corps cétoniques.

Cette complication métabolique touche le plus souvent les diabétiques de type 1 et exceptionnellement de type 2 (Tourniaire *et al.*, 1994).

Cet accident métabolique provoque une hyperglycémie liée à la non utilisation du glucose dans les tissus périphériques et le muscle en particulier, à l'accélération de la glycolyse, à l'augmentation de la néoglucogenèse hépatique à partir des acides aminés et du lactate, une stimulation de la lipolyse qui conduit à la production des corps cétoniques, de plus un excès d'hormones anti insuline (glucagon, cortisol, catécholamines, hormones de croissance). Il entraîne aussi une polyurie osmotique et une déshydratation (Rodier, 2001).

Acidose lactique

L'acidose lactique est définie par un tableau clinique et métabolique d'acidose sévère consécutif à une hyperlactatémie. C'est une complication rare mais de pronostic sévère (mortalité de 50%) par collapsus, anurie et mort en quelques heures. Elle survient le plus souvent chez un diabétique âgé traité par biguanides sans respect des contre-indications de cette médication et secondaire le plus

souvent à une insuffisance rénale, plus rarement à l'absorption excessive de ces antidiabétiques oraux.

Chez les diabétiques traités par biguanides (en France exclusivement la metformine), dont l'effet hypoglycémiant s'accompagne d'une hyperproduction de lactate, s'il existe une élimination rénale insuffisante et ou une autre cause de production accrue de lactate (tout état hypoxique) il peut en résulter une élévation de l'acide lactique circulant et une acidose métabolique.

L'acidose métabolique est très intense (pH sanguin en moyenne à 6.9), l'hyperkaliémie est inconstante, le trou anionique calculé est considérable, la lactémie est le plus souvent supérieure à 7 mmol/l pouvant atteindre 30 mmol/l, les corps cétoniques sont modérément augmentés, la glycémie est variable (élevée, normale ou abaissée) (Halimi, 1994).

Coma hyperosmolaire:

Ce syndrome associé à une glycémie égale ou supérieure à 6g/l (33mmol/l), une osmolarité à plus de 320 à 350 mmol/kg, un pH supérieur ou égal à 7,20 ou 7,30, des bicarbonates plasmatiques égaux ou supérieurs à 15 mmol/l, l'absence de cétonémie franche. Les patients sont comateux ou très somnolents (Halimi, 1994).

L'âge avancé, peut être le sexe féminin et le DNID surtout méconnu représentent les circonstances favorisantes. D'autres facteurs déclenchants sont classiquement décrits (diurétiques, corticothérapie, hydantoïnes, et β bloquants...).

Elle débute par une élévation brutale de la glycémie qui entraîne une déshydratation rapide, avec insuffisance rénale fonctionnelle par hypovolumie et élévation du seuil rénal du glucose. Ainsi s'installe un cercle vicieux : hyperglycémie déshydratation (Perlemuter, 1994).

Coma hypoglycémique :

Ce coma est la conséquence d'une neuroglucopénie sévère, l'apport énergétique du cerveau étant essentiellement dépendant du glucose circulant. Le coma est en règle de survenue brutale, agitée et se complique volontiers, en particulier chez l'enfant, d'une crise convulsive grand mal.

Le traitement préventif essentiel, repose sur la prévention des hypoglycémies dont la répétition conduit à une véritable désensibilisation aux hypoglycémies par perte de la riposte adrénargique qui est à la base des signes d'alarme de l'hypoglycémie (pâleur, tremblements, tachycardie, sueurs,...) et sur l'éducation de l'entourage. Le traitement, véritable urgence, consiste à resucrer le malade par la bouche s'il est capable de déglutir ou bien par voie intraveineuse. Le glucagon, injecté par voie SC ou IM peut aussi être utilisé sous réserve que les réserves glycogénétiques ne soient pas épuisées (Rodier, 2001).

Les complications chroniques

L'hyperglycémie chronique est responsable des complications liées à la microangiopathie qui regroupe la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie ; et aussi à la macroangiopathie regroupant les accidents vasculaires.

Les complications de type microangiopathie

La neuropathie diabétique

Les neuropathies diabétiques représentent actuellement la cause de neuropathie la plus fréquente dans le monde industrialisé, et une complication invalidante et potentiellement grave du diabète sucré.

Le polymorphisme clinique de la neuropathie diabétique est bien connu, la forme la plus fréquente étant la polyneuropathie distale symétrique. Elle est sensitive et s'accompagne souvent de troubles végétatifs plus ou moins sévères. Cette polyneuropathie peut s'accompagner de douleurs distales, ou rester parfaitement latente, ignorée des patients. Dans les deux cas, le risque est grand de voir apparaître des troubles trophiques des pieds qui doivent être prévenus par une surveillance et une éducation des patients.

Le second type de neuropathie est représenté par les atteintes focales ou multifocales, paralyses oculomotrices réversibles spontanément et neuropathie proximale des membres inférieurs.

La prévalence de la neuropathie augmente avec la durée du diabète, surtout au-delà d'une durée de 5 ans chez les DNID. Exceptionnellement, une neuropathie sévère peut apparaître dans les 2 à 3 ans qui suivent l'installation d'un DID très mal équilibré (Saïd, 1999).

La rétinopathie diabétique:

La rétinopathie diabétique reste une cause majeure de malvoyance et de cécité. Sa prévalence augmente avec la durée du diabète et le niveau de l'hyperglycémie chronique. La baisse visuelle est tardive, causée par les complications de rétinopathie diabétique (Massin *et al.*, 1999).

L'étude UKPDS a évalué la prévalence de la rétinopathie à 39 % pour l'homme et 35 % pour la femme, au moment du diagnostic. Dès la découverte du diabète, il peut exister des lésions ophtalmologiques, avec par ordre de gravité, la forme non proliférante (microanévrismes, hémorragies rétinienne et exsudats lipidiques) et la forme proliférante caractérisée par des néovaisseaux exposant au risque d'hémorragies, de décollement rétinien et de cécité (Busch-Brafin et Pinget, 2001).

La néphropathie diabétique

La prévalence de la néphropathie dans le diabète de type 2 augmente de manière assez rapide et est devenue la 1^{ère} cause d'insuffisance rénale dans de nombreux pays (Fosse *et al.*, 2010).

La néphropathie incipiens, premier stade de la néphropathie diabétique est définie par une microalbuminurie (albuminurie supérieure à 25 mg/24H et inférieure à 250). Elle évolue progressivement vers la néphropathie lésionnelle avec une protéinurie, avant d'aboutir à l'insuffisance rénale (Busch-Brafin et Pinget, 2001).

La néphropathie diabétique se définit comme glomérulopathie spécifique du diabète, elle expose à deux risques principaux :

- D'une part, conduire à l'insuffisance rénale jusqu'au stade ultime terminal nécessitant la dialyse ou la transplantation ;
- D'autre part, elle définit un groupe de diabétiques plus exposé à un pronostic vitale beaucoup plus défavorable avant même d'avoir atteint le stade de l'insuffisance rénale terminale (Halimi, 1994).

Les complications macrovasculaires

Par opposition à la microangiopathie qui touche la micro-circulation, le terme de macroangiopathie diabétique désigne l'atteinte des artères musculaires allant de l'aorte jusqu'aux petites artères distales d'un diamètre supérieur à 200 mm.

En réalité, la macroangiopathie diabétique associe deux maladies artérielles distinctes :

- D'une part, l'athérosclérose qui semble histologiquement identique à l'athérosclérose du non diabétique
- D'autre part, l'artériosclérose, caractérisée par une prolifération endothéliale et une dégénérescence de la média aboutissant à la médiocalcose (Grimaldi, 2000).

L'athérosclérose

L'atteinte coronaire représente la principale cause de décès du diabète de type 2. L'infarctus du myocarde est le plus fréquent, les lésions coronaires plus sévères et les complications (récidive, choc, trouble de la conduction et insuffisance cardiaque) plus nombreuses. Le pronostic est plus mauvais que chez les sujets non diabétiques (Jacoby et Nesto, 1992).

Les accidents vasculaires cérébraux sont la deuxième cause de décès. L'infarctus cérébral est surtout lacunaire. Il est plus fréquent que l'accident ischémique transitoire ou l'accident hémorragique, comparé à la population générale (Bell, 1994). L'équilibre glycémique ainsi que la durée d'évolution du diabète sont des facteurs prédictifs (Kuusisto *et al.*, 1994).

Artérite des membres inférieurs apparaît plus précoce, plus fréquente et plus sévère chez les diabétiques que chez les non diabétiques. Elle prédomine cependant sur les artères de moyen et de petit diamètre (Halimi, 1994).

Dyslipidémie

C'est la plus grande fréquence et sévérité des accidents cardio-vasculaires, au cours du diabète. Elles présentent des anomalies quantitatives et qualitatives (Vergés, 1999).

Les anomalies quantitatives comportent principalement une hypertriglycéridémie, liée à une augmentation des VLDL, IDL, LDL et une baisse du HDL cholestérol (Laakso,1997).

Parmi les anomalies qualitatives, on retient essentiellement une modification de taille des VLDL.

Traitements du diabète

Le diabète non insulino-dépendant (DNID), comme le diabète Insulino-dépendant (DID), se complique de microangiopathie, de neuropathie et susceptibilité accrue aux infections mais son pronostic est en réalité dominé par le risque macrovasculaire. Les enjeux de son traitement consistent, d'une part à contrôler le niveau glycémique des malades par l'insulinothérapie pour les diabétiques insulino-dépendant et par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux ou de l'insuline, sans oublier la phytothérapie présentée par des plantes hypoglycémiantes pour les diabétiques non insulino-dépendant, et d'autre part, à contrôler les nombreux facteurs de risque vasculaire qui lui sont généralement associés comme l'hypertension, l'obésité, ...(Fig. 4). (Charbonnel et Cariou, 1997).

Traitement du diabète de type 2.

Le traitement du diabète type 2 repose toujours sur deux éléments primordiaux : Le régime alimentaire et l'activité physique (UKPDS, 1998).

Le traitement médicamenteux (Tab. 6) fait appel aux antidiabétiques oraux et si besoin, à l'insuline (ANAES ,2000).

Tableau 6: Escalade thérapeutique dans le diabète de type 2 (Halimi *et al.*, 2006)

Seuil de prescription	Stratégie thérapeutique		Objectif
HbA1c > 6 %	Etape 1 Mesures hygiéno-diététiques (MHD)		HbA1c < 6 %
Si malgré étape 1 HbA1c >6% (à la phase précoce du diabète)	Etape 2 Monothérapie+MHD : Metformine voire IAG Monothérapie au choix + MHD Metformine ou IAG ou SH ou Glinides		Maintenir l'HbA1c < 6.5 %
Si malgré étape 1, HbA1c > 6,5%			
Si malgré étape 2, HbA1c > 6.5 %	Etape 3 Bithérapie + MHD		Ramener L'HbA1c < 6.5 %
Si malgré étape 3, HbA1c > 7 %	Etape 4 Trithérapie + MHD	Etape 4 Insuline ± ADO + MHD	Ramener L'HbA1c < 7
Si malgré étape 4, HbA1c > 8 %	Etape 5 Insuline ± ADO + MHD	Etape 5 Insuline fractionnée + MHD	Ramener L'HbA1c < 7

ADO = antidiabétiques oraux IAG = Inhibiteurs des alpha-glucosidases, SH = sulfamides hypoglycémiant, insuline + ADO = mise à l'insuline: intermédiaire ou lente le soir; insuline fractionnée: > 1 injection / J soit 2 à 4 / J MHD = mesures hygiéno-diététiques.

Traitement non médicamenteux

Diététique

1-La diététique

La diététique de diabète a trois objectifs :

- Limiter l'hyperglycémie, mais aussi éviter l'hypoglycémie ;
- Permettre une réduction pondérale si nécessaire ;
- Diminuer le risque d'athérome.

La prise en charge diététique est à la base de la thérapeutique du diabète non insulino-dépendant avec, pour objectif, l'amélioration de l'équilibre glycémique et le contrôle des autres facteurs de risque cardio-vasculaire.

L'activité physique

L'activité physique consiste en des modifications réalistes du mode de vie quotidien et autant que possible repose sur trois heures par semaine d'activité plus intensive adaptée au profil du patient (Halimi *et al.*, 2006).

Il faut considérer l'activité physique comme une thérapeutique supplémentaire capable de prévenir et de soigner les maladies cardio-vasculaires et métaboliques (Halimi *et al.*, 1999).

Elle est indispensable dans la prise en charge des diabétiques par ses effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique et lipidique (Tourniaire *et al.*, 1994). Elle est surtout efficace lors des déséquilibres glycémiques modérés (Charbonnel et Cariou, 1997).

Cette activité physique est justifiée par :

- Une augmentation de l'utilisation musculaire et de la sensibilité tissulaire à l'insuline [Tourniaire *et al.*, 1994] ;
- Accroître les dépenses énergétiques et la consommation du glucose,
- Une amélioration du profil tensionnel et lipidique (Boudiba, 2000) ;
- Une perte de poids ou un maintien d'une masse maigre stable ;
- Une diminution des risques cardiovasculaires (Charbonnel et Cariou, 1997).

De plus, cette activité contribue à la réinsertion sociale et psychologique de tous et augmente l'autonomie des personnes âgées (Monnier et Avignon, 1997).

La pratique d'un exercice physique doit être adaptée pour chaque diabétique, au minimum 3 fois par semaine (Tourniaire *et al.*, 1994).

Le régime alimentaire

Il est indispensable quelle que soit la variété du diabète. Il doit obéir à plusieurs principes

- Apporter la ration calorique nécessaire ;
- Equilibrer les apports de glucides, lipides et protéines ;
- Réduire le plus possible, l'hyperglycémie et la glycosurie (Domart et Bourneuf, 1986).

Les besoins énergétiques dépendent de la taille, du sexe, l'âge, du climat, la situation physiologique et surtout du niveau d'activité physique (Absolonne, 1994).

L'alimentation devrait être équilibrée tant au niveau des horaires que des quantités et visera à une diminution du poids d'un kilogramme par mois pour obtenir un BMI < 25 (Peter-Riesch *et al.*, 2002).

La correction des principales erreurs alimentaires qualitatives repose sur :

- La réduction des lipides surtout saturés,
- Une réduction des sucres simples et de la consommation d'alcool est aussi nécessaire.

La mise en place d'un régime modérément hypocalorique est nécessaire sachant qu'un amaigrissement même limité (-5% du poids corporel) apporte un bénéfice glycémique très significatif (Halimi *et al.*, 2006).

La ration glucidique peut être comprise entre 45 à 50 % (Gin et Rigalleau, 1999), en favorisant les glucides complexes à digestion et absorption lentes et indice glycémique faible (le pouvoir hyperglycémique), comme le riz, les pâtes, le pain, les légumes secs... en réduisant les glucides simples à absorption rapide et à indice glycémique élevé comme le sucre, les fruits, la confiture, le miel, la crème... (Tab. 7) [Tourniaire *et al.*, 1994].

Les fruits et le lait (sucre à absorption rapide) ne peuvent pas être supprimés à cause de la présence des vitamines et de calcium, ils doivent être en quantité limitée et contrôlée. La ration lipidique est constituée entre 30 à 35% (Gin et Rigalleau, 1999), dont il faut insister sur la réduction des acides gras saturés (les graisses animales : viandes rouges), remplacés par des acides gras mono insaturés (les graisse végétales, huile d'olive) et des acides gras polyinsaturés (poisson) (Tourniaire *et al.*, 1994).

La ration protéique est d'ordre de 18% à 20% de l'apport énergétique (Gin et Rigalleau, 1999).

Tableau 7: Valeurs de l'indice glycémique

Aliment	Indice Glycémique
Glucose	138
Flocons de maïs	119
Pommes de terres (purée)	100
Sucre (saccharose)	92
Bouillie d'avoine, de gruau	87
Crème glacée	87
Riz blanc	81
Banane	76
Petits Pois (verts)	68
Orange	62
Spaghetti blanc	59
Pomme	52
Haricots	42

Les résultats sont des moyennes calculées à partir des sources publiées (indice glycémique du pain blanc = 100)]
(Anderson, 1996)

Traitement médicamenteux

En cas d'échec de ces mesures (après un mois: glycémie à jeun >7 mmol/L et postprandiale ≥ 8 mmol/L et HbA1C $\geq 7\%$), l'association d'un traitement antidiabétique est alors nécessaire (Peter-Riesch *et al.*, 2002).

1-Les antidiabétiques oraux

Jusqu'en 2008, 5 types d'agents hypoglycémiantes oraux étaient disponibles : les sulfonylurées (ou sulfamides), les glinides, les biguanides, les thiazolidinediones et les inhibiteurs des alpha glucosidases. L'action hypoglycémiante de ces 5 classes de médicaments est bien établie, leurs mécanismes d'action différents (Poutignat *et al.*, 2007).

Le traitement antidiabétique oral s'articule actuellement autour de 5 classes thérapeutiques, dirigé contre 3 cibles physiopathologiques différentes :

- Une stimulation de l'insulino-sécrétion par les glinides et les sulfamides hypoglycémiantes ;
- Une diminution de l'insulino-résistance par les Biguanides et les Thiazolidinediones ;
- Un ralentissement de l'absorption intestinale du glucose par les inhibiteurs des alpha Glucosidases (Charbonnel et Cariou, 1997).

1 -1 Médicaments stimulant l'insulinosécrétion**Sulfamides hypoglycémiantes**

Découvert par JAMBON en 1942 à Montpellier en observant que des malades traités par des sulfamides anti-infection présentaient des accidents hypoglycémiantes (Blickle, 1999).

Les sulfamides ont été initialement étudiés par Loubatieres qui a montré que ces médicaments avaient des propriétés hypoglycémiantes chez le chien normal ou après une pancréatectomie partielle, mais qu'ils étaient inefficaces chez l'animal ayant subi une pancréatectomie totale ; démontrant ainsi que le site d'action principal est la cellule β des îlots de langerhans du pancréas.

Il a ensuite été montré que les sulfamides hypoglycémiantes induisent une sécrétion d'insuline indépendamment de la glycémie ambiante, sans augmenter la synthèse de cette hormone (Larger, 1997).

En fonction de la durée d'action ; on distingue deux générations de sulfamides hypoglycémiantes :

- Les sulfamides de la 1^{er} génération : à durée d'action particulièrement longue (DIABENESE, GLUCIDORAL, ISODIANE, DOLPOL,...) qui ne doivent plus être utilisés à cause des accidents hypoglycémiantes ;

- les sulfamides de la de 2^{ème} génération dont la demi-vie plasmatique est relativement courte (DAONIL, GLUTRIL, GLIBENESE, ...) (De Broucker, 1986).

Structure générale des sulfamides hypoglycémiants

Les sulfamides hypoglycémiants possèdent tous une structure commune :

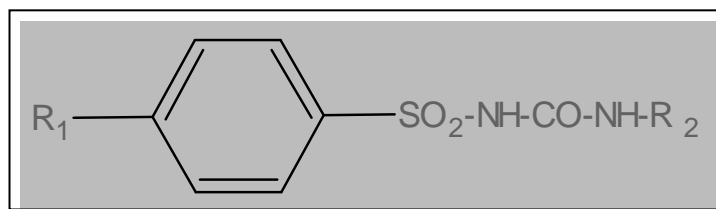


Figure 3 : structure générale des sulfamides hypoglycémiants (Blicklé, 1999)

Mécanismes d'action des sulfamides hypoglycémiants

Effets pancréatiques

Les récepteurs du S.H sont liés aux canaux potassiques ATP-dépendants. En bloquant l'afflux de potassium, ils entraînent une dépolarisation membranaire qui ouvre les canaux calciques voltage dépendant permettant ainsi l'entrée du calcium qui déclenche alors la sécrétion d'insuline. L'affinité de liaison des différents S.H aux récepteurs est étroitement corrélée à leur efficacité biologique sur l'insulino-sécrétion. Le glucose potentialise l'effet des S.H sur la fermeture du canal potassique (Tourniaire *et al.*, 1994). Donc le glucose entre dans la cellule β par le récepteur de glucose GLUT2, est phosphorylé par la glucokinase, puis oxydé. Ceci augmente la concentration cytoplasmique d'ATP est diminuée celle d'ADP. L'augmentation du rapport ATP\ADP module l'activité de SUR et ferme le canal potassique (Larger, 1997).

Les sulfamides hypoglycémiants sont capables de normaliser ou de réduire l'hyperglycémie des diabétiques de type 2 sans surpoids et avec surpoids (diminution de l' d'HbA1c de l'ordre de 1% à 1.5%).le glibenclamide, le chlorpropamide et le glipizide ont réduit les complications microangiopathiques oculaires et rénales proportionnellement à l'abaissement du taux d'HbA1c qu'ils avaient permis (Halimi *et al.*, 2006).

L'effet extra-pancréatique des sulfamides hypoglycémiants est lié à une diminution de la production hépatique du glucose principalement en freinant la néoglucogénèse (Tourniaire *et al.*, 1994).

1-2 Les biguanides

Les biguanides sont des dérivés de guanidine, comprend de nombreux composants dont quelques molécules ayant une activité hypoglycémiante.

La GALEGINE, extraite de *Galega officinalis*, semble avoir été utilisée par ses propriétés hypoglycémiantes dès le Moyen Age.

La phenformine (β -phenéthylbiguanide), découverte vers le début du 20^{ème} siècle, a été retiré du commerce dans la plupart des pays à la fin des années 70 en raison des nombreuses acidoses lactiques mortelles (de 25 à 100/100000 patients par an).

La METFORMINE (1-1 diméthylbiguanide) seul composant commercialisé, diffère largement de celui de phenformine ; provoque 3 cas d'acidoses lactiques par an /100000 patients (Larger, 1997).

Structure chimique de la Metformine

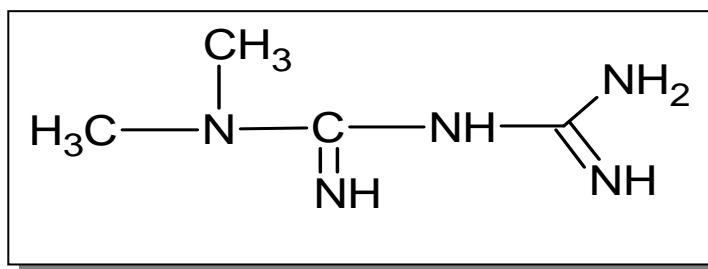


Figure 4 : structure générale de la metformine (Blicklé, 1999)

Mécanisme d'action des Biguanides

Contrairement aux sulfamides, les Biguanides n'ont aucune action insulino-sécrétrice ; mais elles ont un mode d'action exclusivement extra pancréatique surtout dans le foie, muscle, tissu adipeux ...

La metformine en monothérapie réduit l'hyperglycémie des diabétiques de type 2 et a diminué la survenue des complications micro et macroangiopathiques (Halimi *et al.*, 2006).

La metformine est antihyperglycémiante. Elle réduit la glycémie basale et postprandiale en :

- Diminuant la production hépatique du glucose (inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse),

- Favorisant la capture et l'utilisation périphérique du glucose principalement au niveau musculaire (augmente la sensibilité à l'insuline),
- Retardant l'absorption intestinale du glucose.

Sur le plan moléculaire, elle stimule le glycogène synthétase et augmente la capacité de transport de tous les types de GLUT transporteurs membranaires du glucose (Anonymes, 2009).

Elles améliorent la sensibilité des tissus cibles à l'insuline endogène ou exogène.

Elles ont une affinité particulière pour les membranes mitochondriales.

Elles diminuent la production hépatique du glucose.

Elles stimulent la glycolyse anaérobie.

Dans les muscles, elles augmentent la captation du glucose, et dans les tissus adipeux, elles diminuent le taux de triglycéride et de cholestérol.

La Metformine ne semble pas entraîner la diminution de l'absorption intestinale du glucose, même si celle-ci peut être ralentie (Larger, 1997).

Indications thérapeutiques

Les Biguanides sont prescrits aux diabétiques non insulino-dépendant avec surpoids et après échec de régime. Elles peuvent être associées à des sulfamides hypoglycémiantes (Perlemuter, 1999).

Médicaments inhibant la digestion et l'absorption des glucides alimentaires

1-3 Inhibiteurs de l'alpha glucosidase

L'inhibiteur des alphasglucosidases acarbose entrave la décomposition des oligo- et polysaccharides dans l'intestin grêle et inhibe de cette manière l'absorption du glucose (Wens, 2007).

Ils sont principalement actifs sur la glycémie post-prandiale. Les inhibiteurs des alphasglucosidases ne peuvent induire d'hypoglycémie par eux-mêmes (Halimi *et al.*, 2006).

Les glucides complexes absorbés sont dégradés par l'amylase salivaire et pancréatique en disaccharides (saccharose, lactose, maltose...) ; puis par les alphasglucosidases (maltase, saccharase, invertase,...) en monosaccharides (glucose, fructose,...) qui peuvent franchir la barrière intestinale.

L'Acarbose

L'Acarbose est un pseudo-tétracosaccharide isolé à partir d'une bactérie (Actinoplanacea) dont l'homologie structurale avec les tétracosaccharides de l'alimentation explique la liaison aux Alpha glucosidase de la bordure en brosse des entérocytes. Leur efficacité tient à la très forte affinité de

cette liaison, il s'agit d'une liaison rapidement réversible et compétitive avec le site d'action de l'enzyme (Larger, 1997).

Ils sont indiqués dans le cas d'intolérance au glucose ou après échec de régime. Ils peuvent être associés aux sulfamides et/ou biguanides ou insuline (Boudiba ; 2000).

1-4 Médicaments potentialisant l'effet de l'insuline

Thiazolidinediones (TDZ) (Glitazones)

Les glitazones améliorent la sensibilité à l'insuline dans les tissus adipeux et dans le foie (Wens, 2007).

Les glitazones sont des antidiabétiques oraux de la famille des thiazolidinediones qui sont indiqués dans le traitement du diabète de type 2 en monothérapie ou en bithérapie associés à la metformine ou à un sulfamide hypoglycémiant voir parfois même en trithérapie (Anonymes, 2009).

Ce sont des agonistes sélectifs des récepteurs nucléaires PPAR γ , récepteurs activateurs de la prolifération des peroxisomes (Anonymes, 2009).

L'action de ces récepteurs et leur fixation au niveau de l'ADN modulent la transcription et l'amplitude de l'expression des transporteurs du glucose, stimulent ainsi l'utilisation périphérique du glucose et des acides gras libres et stimulent la clearance adipocytaire et de certaines cytokines comme *TNF α* (*Tumor Necrosis Factor*).

Tous ses effets concourent à améliorer la sensibilité périphérique de l'insuline en réduisant la toxicité et les compétiteurs antagonistes de l'action de l'insuline.

1-5 Glinides

Le Répaglinide est le seul représentant commercialisé de cette classe. Il peut être associé à la metformine lorsque celle-ci ne suffit pas.

Le répaglinide est un dérivé de l'acide carbamoyleméthyl-benzoïque. Il n'appartient pas à la famille des sulfamides mais se fixe également sur la protéine SUR [Anonymes, 2009]

Le répaglinide est un insulinosécréteur d'action plus rapide et de plus courte durée. Le pouvoir hypoglycémiant du répaglinide est proche de celui des sulfamides hypoglycémiants (diminution de l' d'HbA1c de l'ordre de 1%).

L'association du répaglinide et d'un sulfamide hypoglycémiant n'apporte aucun bénéfice par rapport à l'usage de chacun séparément à sa dose maximale efficace (Halimi *et al.*, 2006).

Tableau 8 : Principaux médicaments antidiabétiques oraux (Avignon, 2001)

Classe	Action	Nom commercial	Inconvénients
Biguanides (metformine)	Améliorent la sensibilité à l'insuline	Glucophage Glucinan	Problèmes gastro-intestinaux. Acidose lactique (rare)
Sulfamides (sulfonylurées)	Stimulation de l'insulinosécrétion pancréatique	Daonil Diamicron	Hypoglycémie Prise de poids
Glinides (répaglinide)	Stimulation de l'insulinosécrétion pancréatique	Novonorm	Risque hypoglycémique moindre
Inhibiteurs de l alpha-glucosidase (acarbose)	Inhibent la digestion de glucide complexe	Glucor Miglitol	Troubles gastro-intestinaux
Thiazolidinediones (Glitazones)	améliorent la sensibilité à l'insuline	Avandia Actos	Prise de poids Insuffisance cardiaque. œdème

L'insulinothérapie :

Le diabète de type 1 est caractérisé par une perte de la fonction pancréatique avec une insulino-pénie absolue. Devant cette condition, les objectifs thérapeutiques consistent à apporter l'insuline endogène qui fait défaut (Gin et Rigalleau, 1999).

Ce traitement consiste à remplacer l'insuline qui manque par des injections d'insuline commercialisée extraite de pancréas d'animaux (porc, bœuf) appelées insuline humaine hémissynthétique ou produite par le génie génétique à partir d'*Echérichia coli* appelé Insuline humaine biosynthétique.

2-L'insulinothérapie dans le diabète type 2

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

L'insulinothérapie est souvent le seul moyen pour obtenir un contrôle satisfaisant de la glycémie du patient diabétique de type 2, après quelques années d'évolution de la maladie (Blickle, 2003).

En effet, elle est indiquée dans trois situations :

- Lorsque l'association de trois classes des médicaments antidiabétiques oraux à doses maximales ne permet plus d'atteindre les objectifs glycémiques ;
- Lorsqu'il existe une contre indication aux traitements antidiabétiques oraux ;
- Lorsqu'il existe un phénomène intercurrent, nécessitant une insulinothérapie transitoire, comme l'existence d'une complication aiguë du diabète, une intervention chirurgicale, une infection, un traitement concomitant avec risque de décompensation, comme une corticothérapie (Avignon, 2001).

Après des années d'évolution, certains diabétiques DNID, peuvent ne pas équilibrer leur glycémie par le traitement médicamenteux oral. Le recours à l'insuline peut s'avérer alors nécessaire pour normaliser les chiffres glycémiques. La mise en route d'une insulinothérapie ne transforme pas un DNID en DID. Il est proposé comme un traitement transitoire qui permet pendant quelques semaines (15 à 30 jours) d'obtenir un bon profil glycémique et de supprimer la glucotoxicité (De Broucker, 1986). Plusieurs situations peuvent conduire à entreprendre une insulinothérapie chez les DNID :

- L'échec des antidiabétiques oraux ;
- Le risque d'évolution vers un accident métabolique aiguë ;
- Devant des complications dégénératives évolutives [Halimi et Benhamou, 1992] ;

- Lors d'une grossesse prévue ou présente si la glycémie n'est pas strictement normale (Tchobroutsky).

Le choix d'insulinothérapie peut être associé aux antidiabétiques oraux si le diabétique est obèse ou en insulino-résistance ; il nécessite l'adjonction d'un biguanide qui améliore la qualité des récepteurs d'insuline. Si le patient est de poids normal, l'adjonction d'un sulfamide hypoglycémiant au moment du repas stimule l'insulino-sécrétion et peut améliorer l'équilibre glycémique (Zerguini, 2000).

Traitement par greffes de cellules souches

Nouvel espoir dans le traitement du diabète insulino-dépendant, grâce à une autogreffe de cellules souches prélevées dans leur propre moelle osseuse. Cette étude débutée en 2003 a porté sur 14 patients (Vantuyghem *et al.*, 2009).

En 2004, l'équipe de recherche dirigée par Pattou annonçait la réussite d'une greffe de cellules pancréatiques chez un patient atteint de diabète de type 1. Cinq ans après, 14 patients atteints de diabète sévère ont bénéficié de cette nouvelle thérapie cellulaire. La majorité d'entre eux garde un équilibre glycémique satisfaisant en l'absence d'injection insuline (Vantuyghem *et al.*, 2009).

Traitement phytonutritionnel

Hyperglycémie et Phytonutrition

Les plantes à mucilages peuvent jouer un rôle important dans le traitement des hyperglycémies, car elles ont un effet favorable sur la surcharge pondérale et les sécrétions excessives du pancréas. Les propriétés hydrophiles des fibres mucilagineuses, en formant un gel, diminuent l'assimilation des glucides et des lipides (Robin et Rouchy, 2001).

Le *fenugrec* (*Trigonella foenum-graecum*) est une herbe annuelle à feuilles. Le fruit est une gousse contenant 10 à 20 graines. La moitié du poids des graines séchées est constituée de mucilages. Elles contiennent des substances qui régulent la glycémie postprandiale. De plus, la prise de fenugrec augmente le taux de HDL cholestérol (bon cholestérol), tout en abaissant le taux de cholestérol total. Il peut aider à prévenir les maladies cardiovasculaires auxquelles les diabétiques sont particulièrement exposés. Cette plante a toutefois des effets de stimulant utérin et n'est donc pas recommandée en cas de grossesse (Chauenberg *et al.*, 1977 ; Wichtl et Anton, 1999).

L'*acide corosolique* est le composant actif des feuilles de l'arbre *Lagestroemia speciosa*. L'acide corosolique aurait une activité antioxydante permettant de limiter la peroxydation liée au diabète. De plus il aiderait à maintenir une pression artérielle et une fonction rénale normales, en évitant les

effets toxiques de l'hyperglycémie, en particulier, la glycation sur les vaisseaux sanguins et les reins (Robin et Rouchy, 2001).

Le *momordique*, concombre sauvage ou melon amer (*Momordica charantia*) aide à réguler la glycémie. L'administration quotidienne de 5 g de momordique en poudre diminue de 54 % la glycémie, et 50 ml d'extrait de momordique la réduisent de 20 %.

Le *Gymnema sylvestre* : 85 % des diabétiques de type I ont vu leur glycémie et leur glucosurie diminuer après une supplémentation. De plus, elle améliore le fonctionnement des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, permettant un meilleur contrôle de la glycémie.

L' *Eucalyptus* (*Eucalyptus globulus*) est originaire d'Australie. Sa partie active, la feuille, lorsqu'elle est prise sous forme de poudre, a des effets hypoglycémiant. Elle réduit la glycémie des non diabétiques et régule la glycémie des diabétiques.

Le *Panax ginseng* est une plante herbacée dont la partie active est la racine. Elle contient des ginsénosides qui ont une activité hypoglycémiant remarquable. Ils stimulent les îlots de Langerhans et diminuent la glycogénèse hépatique. Le ginseng potentialise l'effet insulino-sécréteur du glucose sanguin. Chez les diabétiques de type II sous traitement médicamenteux, le ginseng permet de diminuer les doses d'anti-diabétiques oraux de synthèse (Schauenberg, 1977 ; Wichtl et Anton, 1999).

La feuille de myrtille (*Vaccinium myrtillus*) : contient un glucoquinine qui est hypoglycémiant.

Hyperglycémie et suppléments nutritionnels

Magnésium : Une carence en magnésium est observée chez 80 % des diabétiques de type II. Un déficit chronique en magnésium pourrait être à l'origine d'une insulino-résistance. Il a été démontré que l'accumulation de magnésium, sous l'effet d'insuline, limite l'insulino-résistance, donc l'hyperglycémie (Lefebvre *et al.*, 1994).

Le chrome, intervient dans le métabolisme glucidique, favorisant l'action de l'insuline en stimulant les récepteurs à insuline. Il permet ainsi de diminuer la glycémie. Une insuffisance en chrome provoque une diminution de la tolérance glucidique. Ce phénomène est amplifié par l'augmentation de l'excrétion de chrome en cas d'hyperinsulinisme. Ce phénomène peut aggraver l'état d'insulino-résistance (Saavedra et Kolanowqki, 1994).

Acide lipoïque : Des études indiquent que l'acide lipoïque peut réduire l'hyperglycémie. Il est utilisé en Allemagne dans le traitement du diabète avec succès depuis 35 ans. Son administration augmente le transport du glucose en stimulant ses transporteurs (GLUT1 et GLUT4). Cette activité est indépendante de l'insuline.

L'administration à long terme d'acide lipoïque (600 à 800 mg/j) permet de corriger la neuropathie diabétique en induisant la croissance des fibres nerveuses. L'acide lipoïque est l'agent de choix pour la prévention des complications diabétiques, incluant la neuropathie, la cardiomyopathie et la rétinopathie.

Une supplémentation en acide lipoïque peut entraîner une carence en vitamine B12. Il est donc recommandé d'associer acide lipoïque et vitamine B12 (Wolfson, 2000 ; Faure, 1999).

Vitamine E et sélénium, ont montré une baisse importante de la glycémie à jeun et des taux d'hémoglobine glyquée ainsi qu'une amélioration du contrôle de la glycémie. La vitamine E renforce les effets de l'insuline. De plus, cette supplémentation diminue la peroxydase lipidique au niveau plasmatique ainsi que l'oxydabilité des lipoprotéines de basse densité (LDL). Elle améliore aussi les propriétés rhéologiques du sang, en diminuant la rigidité des membranes, retardant l'évolution des complications (Robin et Rouchy, 2001).

Nouveaux traitements

Glimipiride (AMAREL®)

Nouveau Sulfamide présentant un site de fixation distinct au niveau de la cellule B pancréatique ; sa cinétique d'association et de dissociation plus rapide sur le récepteur et lui confère moins de risque d'hypoglycémie. Sa durée d'action de 20 heures permet une prise unique avec un ajustement de dose de 1 à 6 mg en fonction des circonstances métaboliques (Boudiba, 2000).

Répaglinide (NOVONORM®)

C'est un dérivé de l'acide benzoïque dont l'efficacité thérapeutique serait supérieure à celle des sulfamides hypoglycémisants. Le mode d'élimination biliaire sous forme de métabolites inactifs offre un intérêt particulier chez les insuffisants rénaux (Boudiba, 2000). C'est une molécule apparentée aux sulfamides. Sa demi-vie d'élimination plasmatique (1 heure) est courte (Halimi *et al.*, 1999).

Les incrétines

Les incrétines ont été découvertes quand on s'est aperçu que le glucose donné par voie orale stimulait davantage la sécrétion d'insuline que le glucose perfusé (Riveline, 2009).

Les deux hormones incrétines, le GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1) et le GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Peptide) sont des hormones peptidiques produites par l'intestin lors du passage des nutriments (Riveline, 2009).

Elles potentialisent l'effet insulino-sécrétoire du glucose, augmentent la synthèse d'insuline et exercent un effet trophique sur la masse beta-cellulaire par inhibition de l'apoptose et stimulation de la prolifération de ces cellules (Riveline, 2009).

La GLP1 est une hormone très fragile détruite dans le sang en 3mn par une enzyme, la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), sous sa forme native elle n'est pas utilisable en thérapeutique (Slama, 2010).

Afin de contourner cette difficulté, l'industrie pharmaceutique a développé deux types (Tab. 9) de stratégies (Riveline, 2009) :

- Soit un inhibiteur de DPP4 pour permettre à la GLP1 native d'agir plus longtemps,
- Soit produire des mimétiques du GLP-1 (une molécule ressemblant à la GLP1 et ayant les mêmes effets) résistant à l'action de la DPP-IV (Slama, 2010).

La chirurgie

La chirurgie bariatrique représente l'option majeure pour obtenir une perte de poids considérable et durable chez les sujets atteints d'obésité morbide.

Elle consiste soit à diminuer le volume de l'estomac (une restriction gastrique) afin d'obtenir un sentiment de satiété plus rapidement (anneau gastrique), soit à diminuer l'absorption des éléments nutritifs par l'intestin.

Des études ont montré que la chirurgie bariatrique, initialement destinée à traiter l'obésité, pouvait permettre de guérir spécifiquement le diabète (Mingrone et Castagneto-Gissey, 2010).

Greffes de pancréas

Des greffes de pancréas entiers sont réalisées depuis des années. La première d'entre elles, pratiquée aux Etats-Unis, remonte même à 1966. Le contrôle de la glycémie est satisfaisant. Mais ces interventions sont lourdes et doivent être suivies d'un traitement pour éviter le rejet du greffon qui peut s'avérer plus dangereux que les complications mêmes du diabète. Elles ne sont donc proposées qu'à un tout petit nombre de malades chez lesquels la greffe d'un autre organe (un rein par exemple) est déjà indispensable. Ce qui exclut naturellement la grande majorité des patients (Vaisman *et al.*, 1997).

Tableau 9 : Caractéristiques des différentes classes thérapeutiques antidiabétiques.

(Riveline, 2009 ; Radermacker, 2010)

Classe Pharmacologique	Dénomination générique	Mode d'action	Réduction de l'HbAc	Effets secondaires
Biguanides	Metformine	Diminue la résistance à l'insuline et la production hépatique de glucose	1,5%	Troubles digestifs : nausées, diarrhées Acidose lactique (rare)
Sulfamides Hypoglycémiant	Glipizide Gliquidone Glibenclamide	Stimule la sécrétion d'insuline par la cellule bêta du pancréas	1,5%	Hypoglycémies Prise de poids (de 1,8 kg à 3 kg).
Glitazones	Pioglitazone Rosiglitazone	Améliore la sensibilité à l'insuline, au niveau de tissu adipeux et les muscles.	0,8 à 1,0%	Prise de poids, œdèmes Insuffisance cardiaque Oedème maculaire Fracture chez la femme.
Inhibiteurs de l'alphaGlucosidase	Acarbose	Ralentit l'absorption intestinale du glucose	0,5 à 0,8 %	Troubles digestifs: flatulence, diarrhées une perte de poids
Glinides	Répaglinide	Le même mode d'action que les sulfamidés mais le répaglinide est rapide.	1,0 à 1,5%	une prise de poids hypoglycémie
Les Incrétinomimétiques	Les analogues synthétiques de GLP1 (Exenatide)	Stimule l'insulino sécrétion, inhibe la sécrétion de glucagon, ralentit la vidange gastrique, réduit la prise alimentaire.	0,6%	une perte de poids (environ 1,8 kg). Hypoglycémie (si association aux sulfamides) Nausées/vomissements
	les inhibiteurs de la DPP4 (gliptines)	Inhibe la dégradation du GLP1 endogène sécrétée en réponse à un repas.	0,5 à 0,9%	une perte de poids Troubles infectieux Troubles gastro-intestinaux Affections rhumatologiques.

Streptozotocine

Elle a été isolé pour la première fois en 1956 d'une bactérie (*Streptomyces achromogenes var. streptozoticus*) et à cause de leur action significative sur une large gamme des microorganismes elle a été considéré comme antibiotique (Lewis et Barbiere, 1960). En 1963, des recherches effectuées sur des tumeurs de rats ont montré que la streptozotocine (STZ) provoque une hyperglycémie (Rakieten *et al.*, 1963). D'autres études toxicologiques chez des chiens et des singes ont démontré que la STZ a un effet diabétique (Carter *et al.*, 1971).

Structure et Propriétés de la STZ

C'est une substance dérivée de la glucosamine (Fig. 5), c'est la 2-deoxy-2-(3-méthyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose ($C_8H_{15}N_3O_7$) (Weiss, 1982).

La STZ est une poudre cristalline de couleur ivoire, a une masse molaire de 265 g/mol. Elle est très soluble dans l'eau, cétone et l'éthano l dilué, peu soluble dans les solvants organiques polaires et insoluble dans les solvants organiques non polaires.

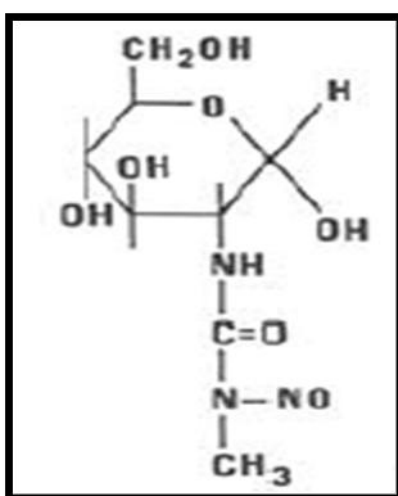


Figure 5 : Structure de la streptozotocine

Actions pharmacologiques

En plus de leur action antibiotique la STZ possède également d'autres propriétés pharmacologiques : anti-tumeur (White, 1963), oncogénique (Rakieten *et al.*, 1971) et diabétique (Rakieten *et al.*, 1963).

En 1976, Like et Rossini ont rapporté que l'injection des faibles doses de la STZ chez les souris a produit une insulite pancréatique avec destruction des cellules β qui se termine par un diabète sucré. La STZ est donc un composé hyperglycémiant qui provoque la destruction sélective des cellules β langerhansiennes. L'administration intraveineuse de 65 mg/kg à des rats induit une réponse triphasique : élévation aiguë de la glycémie entre la première et la deuxième heure (en rapport avec une glycogénolyse intense du stress), puis une hypoglycémie profonde de la 7ème à la 10ème heure (libération de l'insuline par les cellules β en voie de lyse), puis diabète sucré durable avec insulémie basse. L'administration des doses supérieures (100 mg/kg) entraîne un diabète intense et définitif avec une mort en acidocétose en 3 jours (Giroud *et al.*, 1988).

A la dose de 50 mg/kg, elle induit une hyperglycémie pendant 3 mois, puis il y a normalisation de la glycémie. Pour des doses entre 30 et 40 mg/kg il apparaît un diabète transitoire où la concentration en glucose devient normale après 10 jours (Ar'Rajab et Ahren, 1993).

Les plantes traditionnelles à pouvoir hypoglycémiant

Deux chercheurs du Diabetes Research Institute de l'Université Aston, à Birmingham, ont examiné les traitements traditionnels à base de plantes pour le diabète (Bailey et Day, 1989).

Plus de 400 plantes et extraits de plantes sont jugés bénéfiques pour les diabétiques, selon les chercheurs. La plupart d'entre elles auraient, dit-on, des propriétés hypoglycémiques (réduisant le taux de glycémie dans le sang), mais la plupart du temps ces affirmations sont isolées et peu d'entre elles ont fait l'objet d'une vérification scientifique (Tab. 10).

L'étude de 140 monographies sur le sujet a persuadé les chercheurs que l'analyse de ces médicaments pourrait offrir une solution naturelle pour créer une pharmacie pour le diabétologue de l'avenir. Ils concluent que les plantes antidiabétiques ne semblent pas pouvoir produire « un substitut oral efficace d'origine botanique pour l'insuline », elles pourraient conduire à la découverte de nouvelles façons de stimuler la production de l'insuline chez les malades en développant de nouveaux composés. Ou bien encore, elles pourraient servir « de simples adjuvants alimentaires aux thérapies existantes » (Spurgeon, 1995).

L'évaluation des effets de ces plantes est essentiellement de leurs principes actifs (substances naturelles) est la raison logique qui a conduit les chercheurs à trouver et à développer de nouvelles drogues en vue de guérir ou minimiser la souffrance des diabétiques (Nmila *et al.*, 2000).

Tableau 10 : Agents hypoglycémiants des plantes traditionnellement antidiabétiques

Plantes		Familles	Régions d'utilisation	Partie active	Substance active	Activité démontrée
Nom latin	Nom français					
<i>Aconitum carmichaeli</i>	Aconit	Renonculacées	Orient	Racine	Aconitan A (polysaccharide)	Souris diabétiques [Konno <i>et al.</i> , 1985]
<i>Allium cepa</i>	oignon	Liliacées	Asie, Europe, Moyen- Orient	Bulbe	Alkyldisulfides	Lapins diabétiques [Augusti, 1974]
<i>Allium sativum</i>	Ail	Liliacées	Asie, Europe, Moyen- Orient	Bulbe	Alkyldisulfides	Lapins sains [Jain <i>et al.</i> , 1973]
<i>Amorphophallus konjac</i>	Konjac, Fucus	Aracées	Orient	tubercule	Glucomannan (polysaccharide)	Patients avec DID et DNID [Doi <i>et al.</i> , 1979]
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	Zhi mu	Liliacées	Orient	Rhizome	Anemaran A (polysaccharide)	Souris diabétiques [Takahashi <i>et al.</i> ,

						1985]
<i>Atractylodes japonica</i>	Bai zhu	Composées	Orient	Rhizome	Atractan A (polysaccharide)	Souris diabétiques [Konno, Suzuki <i>et al.</i> , 1985]
<i>Blighia sapida</i>	Ackee, akee	Sapindacée	Afrique, Amérique centrale	Fruit (non mûr)	Hypoglycins (dérivés acides aminopropyl- propioniques)	Patients avec DID et DNID [Bressler <i>et al.</i> , 1969]]
<i>Catharanthus roseus</i>	Pervenche de Madagascar	Apocynacée	Afrique, Asie, Euroe, Australie	Feuilles	Alcaloïdes	Rats sains [Peters, 1957]
<i>Citrullus colocynthis</i>	Coloquinte	Cucurbitacées	Asie, Afrique centrale, ouest d'Afrique	Écorce	Saponosides	Lapins diabétiques [Abdel-Hassen <i>et al.</i> , 2000]
<i>Coccinia india</i>		Cucurbitacées	Asie	feuilles	Alcaloïdes Non caractérisé	Patients avec DNID [Azad Khan <i>et al.</i> , 1980]

<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Guer	Papilionacées	Asie	Graines, cosse	Galatomannan (polysaccharide)	Patients avec DID et DNID [Pillai <i>et al.</i> , 1980]
<i>Dioscorea japonica</i>	Igname	Dioscoréacées	Orient	Rhizophore	Dioscoran C (polysaccharide)	Souris diabétiques [Hikino <i>et al.</i> , 1986]
<i>Eleutherococcus senticosus</i>	Éleuthérocoque, ginseng de Sibérie	Araliacées	Orient	Racines	Elutherans (polysaccharides)	Souris diabétiques [Hikino, Takahashi <i>et al.</i> , 1986]
<i>Ephedra distachya</i>	Ephèdre du Valais	Éphédracées	Orient	Partie aerien	Ephedran A (polysaccharide)	Souris diabétiques [Konno, Mizuno <i>et al.</i> , 1985]
<i>Ficus bengalensis</i>	Banien (figuier d'Inde)	Moracées	Asie	Écorce de tige	Glycoside non caractérisé	Rongeurs sains [Brahmachari et Augusti, 1969]
<i>Galega officinalis</i>	Galega	Papilionacées	Europe	Feuilles	Guanidine	Patients avec DNID [Sterne, 1982]

<i>Ganoderma lucidum</i>	Polypore luisant		Orient	Corps de fruit	Ganoderan A (polysaccharide)	Souris diabétiques [Hikino, Konno <i>et al.</i> , 1985]
<i>Gymnema sylvestere</i>			Asie, Afrique du sud	Feuilles	Glycoside non caractérisé	Lapins diabétiques [Shanmugasundar <i>et al.</i> , 1989]
<i>Lupinus termis</i>	Lupin	Papilionacéess	Moyen-Orient	graine	Alcaloïdes quinoléique	rats diabétiques [Shani <i>et al.</i> , 1974]
<i>Momordica charantia</i>	Margose, momordique	Cucurbitacées	Asie, Australie, ouest d'Afrique, Amérique central	Partie aérienne	Alcaloïdes et glycosides non caractérisé	Patients avec DNID [Leatherdale <i>et al.</i> , 1981]
<i>Momordica foetida</i>		Cucurbitacée	ouest d'Afrique	Partie aérienne	glycosides non caractérisé	Patients avec DNID [Olaniyi, 1975]

<i>Oryza sativa</i>	Riz	Pâturin	Orient	Racine	Oryzarans (polysaccharides)	Souris diabétiques [Hikino, Murakami <i>et al.</i> , 1986]
<i>Panax ginseng</i>	Ginseng	Araliacées	Orient	Racine	Panaxans (polysaccharides)	Souris diabétiques [Day, 1986]
<i>Panax quinquefolium</i>	Ginseng américain	Araliacées	Orient	Racine	quinquefolans(polysa ccharides)	Souris diabétiques [Oshima <i>et al.</i> , 1987]
<i>Saccharum officinarum</i>	Canne à sucre	graminées	Orient	Tige	Saccharan C (polysaccharides)	Souris diabétiques [Takahashi <i>et al.</i> , 1985]
<i>Tecoma stans</i>	Chevalier	bignoniacées	Amérique centrale, Amérique du sud, ouest d'Afrique et Afrique central	Feuille	Alcaloïdes bien caractérisé	Lapins diabétiques [Hammouda <i>et</i> Amer, 1966]

<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Fenugrec	Papilionacées, légumineuses	Asie, Europe	Graine	Trigonelline (alcaloïdes)	Animaux diabétiques [Shani <i>et al.</i> , 1974]
<i>Vaccinum myrtillus</i>	Myrtille	Ericacées	Europe, Amérique de nord	Feuille	Neomyrtillin (glycosie)	Humains diabétiques [Allen, 1927]

Coloquinte (*Citrullus colocynthis*)

Les cucurbitacées sont des herbes à feuilles isolées, et à tiges souvent rampantes ou grimpantes à l'aide de vrilles (Crété, 1965). Les cucurbitacées se composent environ de 100 genres et plus de 750 espèces (Yamaguchi, 1983). Bien que la plupart de ces espèces aient de vieilles origines dans le monde (Whitaker et Davis, 1962), plusieurs espèces se sont développées à nos jours (Esquinas-Alcazar et Gulick, 1983). Les espèces de cette famille sont caractérisées par une diversité génétique énorme, elles se sont adaptées et sont distribuées dans les régions tropicales et subtropicales, des déserts arides et des endroits tempérés. Quelques espèces se sont adaptées et se reproduisent aux altitudes aussi hautes que 2000 m.

La diversité génétique des cucurbitacées agit sur les caractéristiques végétatives et reproductrices.

L'évidence archéologique a indiqué que les cucurbitacées étaient présentes dans les cultures anciennes et préhistoriques. *Lagenaria* a été associée à l'homme dès 12.000 avant J-C au Pérou. Les expéditions archéologiques dans la région d'Oaxaca du Mexique ont rapporté que *Cucurbita pepo* à était associée à l'Homme dès 8500 avant -C et cultivé depuis 4050 avant J-C (Esquinas-Alcazar et Gulick, 1983). Des archives d'origine chinoise ont été trouvées dès 685 avant J-C décrivant l'utilisation des cucurbitacées cultivées (Herklots, 1972). Les Indiens américains ont cultivé les cucurbitacées en quelques temps de précolombien (Whitaker et Davis, 1962), et la chayote était un légume commun parmi l'Aztèque avant la conquête espagnole [Herklots, 1972]. Dépendant de l'espèce, pratiquement toutes les parties de la plantes peuvent être employées pour la nourriture, y compris des feuilles, les pousses, les racines, les fleurs, les graines, et les fruits non mûrs et mûrs. L'amidon peut être extrait à partir des racines, les graines sont une source riche d'huiles et des protéines (Jacks *et al*, 1972). En outre, quelques espèces ont été employées pour des buts décoratifs (courges), pour des ustensiles (cuvettes, poches, éponges, boîtes, cages d'oiseaux, instruments musicaux), et pour le carburant et des usages pharmacologiques dans certains secteurs du monde (Timothy, 1993).

La coloquinte (*Citrullus colocynthis* (L.) (Schrad.)

La coloquinte possède plusieurs noms vernaculaires comme "Hadja, Handal, Hantel, Taberka et Tefersite. La pastèque sauvage ou pomme amère (*Citrullus colocynthis*) qui est une espèce proche de la pastèque. On la trouve dans de nombreux pays d'Afrique, du Moyen-Orient et d'Asie (Neela et Mukherjee, 1997). La coloquinte est indigène en Afrique tropicale et fortement tolérante à la sécheresse. La productivité est augmentée pendant les périodes sèches et ensoleillées et réduites pendant les périodes des précipitations excessives et d'humidité élevée. Les fruits sont extrêmement amers, mais les graines peuvent être enlevées et utilisées comme produit comestible (Soliman *et al*, 1985). Les graines sont riches en huiles.

Description botanique, habitat et culture :

C'est une plante herbacée d'origine tropicale à tiges rampantes portant de vrilles. Elle est maintenant largement distribuée dans la région phytogéographie Arabo-Saharien, en Afrique et la région de Méditerrané. Les tiges sont angulaires et rugueuses; les feuilles sont aussi angulaires et rugueuses, lobées de 5–10 cm de longueur; à fleurs jaune pâle solitaires à sexe séparé, les fleurs femelles sont aisément distinguées par un ovaire globeux, velu, inférieur. Chaque plante produit 15 à 30 fruits ronds, de 7 à 10 cm de diamètre, vert avec des raies jaunes ondulées, lisses, ayant à maturité la grosseur et la couleur d'un citron, à épicarpe coriace blanchâtre ou jaunâtre et à pulpe blanchâtre très amère contenant des graines brunes lisses de petite taille (~6 mm dans la longueur) et une saveur amère mucilagineuse. Elle fleurit entre mai et août (Feinbrun–Dothan, 1978 ; Flückiger, 1891).

Composition chimique de la plante

Les cucurbitacées sont reconnues par leurs richesses en métabolites secondaires. Des alcaloïdes ont été trouvés dans *Momordica*, et des saponines ont été trouvées dans *Cucurbita*, *Citrullus*, *Lagenaria* et *Momordica* (Timothy, 1993). La coloquinte contient une résine soluble dans le chloroforme, des glucosides (elaterine, citrullol, elatericine B et dihydro-elatericine B), les substances amères sont la colocynthine et le colocyntheine (Tab. 11).

La fraction lipidique de la plante a fait l'objet de plusieurs recherches. Elle contient des huiles volatiles, des acides gras...

La composition des graines comporte 26,6% des huiles ; 13,5% des protéines ; 2,1% des cendres ; 52,9% des fibres brutes ; 4,9% d'azote libre et 322 mg/100g de potassium, 119 mg/100g de phosphore et 3,3 mg/100g de fer (Sawaya *et al*, 1986). Elles contiennent également la phytosteroline (ipurand), 2 phytosterols, 2 hydrocarbures, saponines, alcaloïdes, polysaccharides, glucosides, et des tannins (Duke, 1978).

Tableau 11 : Composition chimique de *Citrullus colocynthis* (Duke, 2001)

Plante	Fruit	Pétiole	Graine
*Bêta-Sitosterol-D-Glucoside.	*Alpha-Elaterin-2-D-Glyco-pyranoside	*10,13-Dimethylpenta-13-Decen-1-al.	*Alpha-Amyrin
*Citronellal.	*Alpha-Elaterin-1, 26-Hexa-cosanol	* Alpha-Elaterin-2-D-Glyco-pyranoside.	*1800ppm; Alpha-Elaterin-2-D-Glyco-pyranoside.
*Citronellol.	*Alpha-Spina-sterol	*Anethole.	*Myristoleic-Acid.
*Citrullone.	* Acide Caffeique	*Anisaldehyde.	*Stigmasta-7,25-Diene-3Beta-ol
*Colocyntheine.	* Acide Chlorogenique	*Benzyl-Alcohol.	
*Colocynthine.	*Citrulline	*Capric-Acid.	
*Luteolin-7-O-Glucoside.	*Citrullol	*Citral.	
*Methyl-Eugenol.	*Coloside-A	*Decanoic-Acid.	
*Methyl-Heptanone.	*Cucurbitacine-(B, E, L)	*Docosanyl-Acetate.	
* Acide Oleanolique.	*Cucurbitacin-E-2-D-Gluco-pyranoside.	*Geranyl-Acetate.	
*Phenethyl- Alcool.	*Cucurbitacin-J-Glucoside.	*Heptanoic-acid.	
	*Cucurbitacin-L-Glycoside.	*Hexadecanoic-Acid.	
	*Dihydro-Elatericin-B.	*Hexanoic-Acid.	
	* Acide Ferulique	*Limonene.	
	*Hentriacontane.	*Octanoic-Acid.	
	*Heptacosan-1-ol.	*P-Cymene.	
	* Acide M-Coumarique		

Action thérapeutique des principes actifs :

Pendant des périodes bibliques, les fruits ont été recueillis et considérés comme poison mortel. La plante est considérée comme cathartique, emménagogue, fébrifuge, hydragogue, purgative et vermifuge. La coloquinte est employée contre l'ascite, le cancer, la fièvre, l'ictère, la leucémie, le rhumatisme, des tumeurs (particulièrement de l'abdomen) et des troubles urogénitaux (Duke, 1978).

Le principe actif de la Coloquinte inclut un alcaloïde amorphe amer et une résine qui ont une action purgative violente. Les racines sont employées dans les traitements de l'ictère, les maladies urinaires et le rhumatisme. L'huile extraite à partir des graines est employée pour traiter des morsures de serpent, de scorpion, plaintes d'entrailles, l'épilepsie, et pour favoriser la croissance de cheveux et pour noircir les cheveux gris (Nadkarni, 1998).

Les fruits sont fréquemment utilisés en médecine traditionnelle, particulièrement contre les douleurs d'estomac. Sa pulpe séchée était autrefois utilisée comme purgatif et en raison de sa teneur en glucosides, le colocynthine a des propriétés cathartiques et laxatives (Dafni *et al.*, 1984 ; Burkill, 1985).

Utilisation populaire

Il y a plusieurs modes d'utilisation :

Pulvérisée, la coloquinte est très utilisée contre les hémorroïdes en application locale soit seule, soit associée à des feuilles de tabac.

La décoction de la coloquinte serait insecticide, elle est indiquée pour la destruction des puces.

Bouillies et torrifiées, les graines de coloquinte sont utilisées comme aliment de bétail dans les marchés du sud.

Les feuilles sont utilisées contre l'hémorragie. Elles sont prescrites pour soulager les douleurs des membres inférieurs, le dos et les articulations (Banarjee et Dandiya, 1967).

Actuellement, cette plante est fréquemment utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète à cause de son activité hypoglycémiant. Plusieurs modes d'utilisation du fruit sont mentionnés:

- Graines séchées.
- Fruit frais utilisé dans le bain.
- Préparation d'une poudre à partir de l'épicarpe séché et mélangé avec les aliments.

Elle est utilisée aussi, au Sahara algérien comme agent antifongique, après trempage dans l'eau froide pendant 24h contre la fusariose des palmiers dattiers (*fusarium oxysporum. F. sp. Albedinis*).

Diabète et *Citrullus colocynthis*

Plusieurs recherches ont été effectuées sur les effets antidiabétiques et hypoglycémians de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) :

- Aux Emirats Arabes Unis, les chercheurs ont évalué l'effet de l'extrait chloroformique et méthanolique des graines, aussi l'extrait éthanolique des feuilles et de pulpe de *Citrullus colocynthis* sur des rats normaux et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine, ainsi que chez des rats et des lapins après ablation des organes responsables de la glycorégulation (Wasfi, 1994).
- Au Maroc oriental, la coloquinte est utilisée parmi les 38 plantes sélectionnées pour le traitement du diabète (Ziyyat *et al.*, 1997).
- De même, les effets hypoglycémiques et antihyperglycémiques ont été recherché en Iraq sur des extraits aqueux de fruits de *Citrullus colocynthis* chez les lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane. Ils ont remarqué que des extraits des saponosides ont des effets hypoglycémians en agissant sur les cellule bêta en stimulant la libération d'insuline après dès la deuxième heure de l'administrartion (Abdel-Hassan *et al.*, 2000).

D'autres travaux ont été réalisé par Nmila *et al.* (2000) ont montré des effets insulinothropiques des extraits de fruit de *Citrullus colocynthis* (Nmila *et al.*, 2000).

MATERIELS ET MÉTHODES

ANIMAUX

Notre étude dans la 1ère partie a concerné pendant 6 mois, 18 rats des sables *Psammomys obesus* répartis en deux lots de 9 animaux chacun :

- Lot 1 : les animaux reçoivent le régime naturel qui est un régime à base de plantes halophiles,
- Lot 2 : les animaux reçoivent un régime standard qui est un régime équilibré mais qui s'avère hypercalorique pour le rat des sables.

Les rats des sables *Psammomys obesus* proviennent de la région de Beni-Abbes (Sud-ouest Algérien) 36°7 de latitude Nord et 2°10 Longitude ouest.

C'est un Rongeur diurne de la famille des muridés et la sous famille des Gerbillidés.

Le poids des rats des sables est compris entre 80 et 200 grammes.

Ils vivent en solitaire et leur longévité est de 3 ans. Ils se nourrissent essentiellement de plantes halophiles de la famille des Chénopodiacées : *Traganum nudatum*, *Salsola foetida* et *Sueda molis* (DALY, 1973).

La composition centésimale du régime naturel est notée dans le Tableau12.

Tableau 12 : Composition centésimale du régime naturel

Eau	80,79
Eléments minéraux	6,86
Lipides	0,40
Protéines	3,53
glucides	8,42

Les Glucides se répartissent comme suit : Sucres totaux (0.18) : lignine (1.12) : hémicellulose (2.62) : cellulose (2.23) : indéterminé (2.27).

La Composition Centésimale du Régime Standard est la suivante (Tab. 13) :

Tableau 13 : Composition centésimale du régime standard

Eau	9.00
Eléments minéraux	7.10
Lipides	7.50
Protéines	25.00
Cellulose brute	4.00
Extractif non azoté	47.40
Vitamines E, A, D3	Traces

A leur arrivée au laboratoire, les animaux soumis au régime naturel consomment environ 50 grammes par jour de plantes halophiles fraîches équivalent à 20-22 calories par jour. Les animaux soumis au régime standard avec environ 10 grammes par jour d'aliment standard équivalent à 32.5 calories par jour et reçoivent de l'eau salée (NaCl à 0.9%) *ad libitum*.

Dans la 2eme partie, l'étude a été menée sur 32 rats mâles Wistar, pesant 200 ± 50 g, répartis en deux groupes:

- Groupe 1 (groupe témoin): 16 animaux ont été injectés par voie intrapéritonéale (IP) avec une solution de NaCl (9 ‰) pH =7,4.
- Groupe 2 (groupe diabétique): 16 animaux ont été injectés par voie intrapéritonéale (ip) avec 65 mg/ (kg poids corporel de streptozotocine, dissoute dans une solution de NaCl (9 ‰) à pH= 7,4.

Les animaux ont eu accès libre au régime standard et l'eau pendant toute la durée de l'expérimentation. Toutes les expériences ont été approuvées par le Comité d'Éthique d'expérience sur les animaux de l'université

La glycémie et les lipides ont été déterminés.

Dans le chapitre 3, nous avons réalisé nos expérimentations sur 163 rats blancs (*Rattus norvegicus*) variété Wistar de sexe mâle et femelle âgés de 3 à 6 mois et ayant un poids moyen de 250g.

Les rats sont maintenus dans les conditions optimales d'élevage (au niveau de l'animalerie du département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen) ; température (25 à 30°C), taux d'humidité entre 60 et 70% et une photopériode de 12 heures / 12 heures.

Ces animaux sont nourris avec un aliment complet standard sous forme de granulés. Il est composé de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie, plus un complexe minéralo-vitaminiques dans les proportions suivantes (Tab. 14) :

Tableau 14: Composition de l'aliment « EL ALF » en pourcentage

Constituants	Glucides	Protéines brutes	Graisses brutes	Cendres brutes	Cellulose brute	CMV+ minéraux	Teneur en eau
Pourcentage (%)	52.8	17,4	3,6	6,2	5,0	1	14

L'eau et l'aliment leur sont fournis *ad libitum*.

Toutes les expériences ont été approuvées par le Comité d'Éthique d'expérience sur les animaux de l'université de Tlemcen.

Détermination de la dose létale

Pour la toxicité de l'extrait aqueux, 8 lots de 4 rats sont soumis à des injections intra-péritonéales d'extrait brut aqueux à des doses croissantes de 0.025 à 12.5g/kg (p.c).

Pour l'extrait des alcaloïdes totaux, des glycosides cucurbitacines et des saponosides, l'expérimentation a été réalisée sur 96 rats répartis en 16 lots de 6 rats. Les 16 lots sont répartis en 5 groupes.

1^{er} Groupe : 1 lot témoin, soumis à des injections intra-péritonéales (IP) d'1 ml de sérum physiologique de 0,9% de NaCl.

2^{ème} Groupe : 5 lots soumis à des injections intra-péritonéales d'1 ml de l'extrait des alcaloïdes totaux à des doses croissantes de 100 à 800 mg/kg du poids corporel (p.c)

3^{ème} Groupe : 5 lots soumis à des injections intra-péritonéales d'1 ml d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines à des doses croissantes de 50 à 300 mg/kg (p.c).

4^{ème} Groupe : 5 lots soumis à des injections intra-péritonéales d'1 ml d'extrait de saponosides à des doses croissantes de 50 à 250 mg/kg (p.c).

Pour l'extrait des flavonoïdes, 5 lots de 7 rats sont soumis à des injections intrapéritonéales à des doses croissantes de 11.2 à 224 mg/kg (p.c).

Induction du diabète expérimental

Des rats sont rendus diabétiques par une injection unique intra-péritonéale de 65mg/kg de Streptozotocine STZ (Sigma Aldrich) préparée fraîchement dans une solution tampon de citrate (0.1M, pH 4.5).

Ces animaux sont suivis durant les premiers jours par mesure de la glycémie à l'aide d'un glucomètre à bandelettes réactives (One touche Ultra) à partir de l'extrémité caudale et de quelques paramètres urinaires (trace de sang, corps cétoniques, glucose, protéines, pH) à l'aide des bandelettes réactives.

L'apparition de quelques symptômes de diabète sucré (polyurie, polyphagie, polydipsie, chute de poids) nous a permis de confirmer ainsi l'installation du diabète chez ces animaux.

Les rats ayant une glycémie à jeun supérieur à 2 g/l et une glycosurie importante (+++) sont considérés diabétiques et sont retenus pour l'expérimentation (Bagri *et al.*, 2008).

L'évolution du poids corporel est suivie périodiquement tout au long de l'expérimentation.

La glycémie basale est mesurée au début de l'expérimentation.

Les rats wistar ont été répartis en lots (Tab. 1) et reçoivent l'injection intra-péritonéale des différents extraits de coloquinte, après l'installation du diabète. Les effets antidiabétiques des extraits de coloquinte ont été recherchés sur les rats durant 9 semaines

Tableau 15 : Répartition des lots expérimentaux et injection des extraits des graines de la coloquinte pour les tests antidiabétiques à long terme.

lots	Effectif	Poids moyen (g)	Extraits injectés (t ₀)	Doses injectées
RTN	04	333.9 ± 22.91	Eau physiologique	0.9%
RTD	04	298.13 ± 12.37		
RN E.A	04	223.75 ± 21.46	Extrait brut aqueux	2.5g/kg p.c
RD E.A	04	168.5 ± 10.98		
RNAlc	04	254.58 ± 9.56	Alcaloïdes totaux	60 mg/kg p.c
RDAlc	04	239 ± 15.19		
RNGcl	04	223.8 ± 13.80	Glycosides cucurbitacine chloroformique	20 mg/kg p.c
RDGcl	04	244.16 ± 4.82		
RN S	04	158.6 ± 1.82	Saponosides	20 mg/kg p.c
RD S	04	172 ± 1.27		
RN Fla	04	265.4 ± 6.87	Flavonoïdes	11.2 mg/kg p.c
RD Fla	04	219.8 ± 5.3		

Les taux de glucose plasmatique, de cholestérol total et des triglycérides sont mesurés périodiquement chaque semaine, à partir du sang prélevé du sinus rétro-orbital de l'animal à jeun.

TECHNIQUES

1/Prélèvement du Sang

Il se fait par ponction au niveau du sinus rétro-orbital. Cette technique permet d'éviter l'emploi d'anesthésiques qui influencent le dosage des paramètres biochimiques.

Le sang est recueilli dans un tube hépariné, centrifugé à 1200g pendant 10 minutes.

Le plasma obtenu est réparti dans des tubes Eppendorf et stocké à -25°C pour les dosages ultérieurs du glucose, d'insuline et de lipides.

2/Techniques analytiques

La glycémie est mesurée par la méthode enzymatique de Neese *et al.* (1976) grâce au KIT (Ciba-Corning) qui permet d'évaluer la concentration de glucose plasmatique par spectrophotométrie à 340 nanomètres.

Les phospholipides sont dosés par la méthode colorimétrique enzymatique de Takayama *et al.* (1977) grâce au KIT (Boehringer).

Les triglycérides sont dosés par la méthode colorimétrique enzymatique de Fossati *et al.* (1982)

Grâce au Kati (Ames), le Cholestérol total est dosé par la méthode de Siedel *et al.* (1981) grâce au Kit (Boehringer)

Le cholestérol libre est dosé par la méthode de Stahler *et al.* (1977) grâce au Kit (Boehringer)

Le cholestérol des lipoprotéines HDL est mesuré par la méthode de Lopes-Virella *et al.* (1977) grâce Au Kit (Boehringer).

Le cholestérol des lipoprotéines LDL est mesuré par la méthode de Assman (1979) grâce Au Kit (Boehringer).

3/ Etude de la prolifération lymphocytaire

Tests de transformation lymphoblastiques

Elle permet d'évaluer la capacité de prolifération de lymphocytes en présence de mitogènes (PHA, PKM, concavaline, LPS). Ils se réalisent sur les cellules mononuclées isolées du sang total ou d'organes lymphoïdes par centrifugation.

Le test de prolifération initialement utilisé comme « gold standard » était le test de prolifération lymphocytaire ou « test de transformation lymphoblastique » (« TTB »).

Ce test consistait à mettre des cellules à proliférer en présence de mitogènes pendant 72 heures à 37°C sous une atmosphère de 5% de CO₂. La thymidine tritiée [³H]thymidine était ensuite ajoutée pendant 6 à 18 heures. Elle était incorporée proportionnellement à la synthèse de DNA et l'évaluation se faisait par la mesure de la radioactivité non précipitable. L'utilisation de la radioactivité, nécessitant des mesures de sécurité appropriées et réglementées.

Les animaux ont été sacrifiés par décapitation. Les rates ont été prélevées aseptiquement et placées dans des boîtes de Pétri contenant une solution saline de Hank's. Ensuite, elles ont été broyées sur filtre en acier inoxydable (100 mailles). La suspension cellulaire est filtrée à travers une gaze de nylon stérile. Après lavage, les érythrocytes ont été éliminés par lyse hypotonique et les cellules restantes ont été lavées avec une solution saline de Hank's froide. Les splénocytes ont finalement été remis en suspension dans un milieu RPMI 1640 avec HEPES 25 mM tampon additionné de 10% inactivé par la chaleur sérum de veau foetal, L-glutamine (2 mM), 2-mercaptoéthanol (5x10⁻⁵M), la pénicilline (100 UI / ml) et streptomycine (100 pg / ml). Tous les milieux de culture de tissus et de réactifs ont été acquis chez Gibco, Etats-Unis. Les cellules ont été comptées et la viabilité a été évaluée par le test d'exclusion au bleu Trypan.

La concentration cellulaire finale a été ajustée à 1.25x10⁶ cellules/ml. 2x10⁵ cellules par puits ont été incubées en microplaques 96 puits en présence ou en absence des agents suivants: phytohémagglutinine (PHA-P, de 6,25 µg/ml), la concanavaleine A (Con A, 6,25 µg/ml) d'insuline (Ins, 5 µg/ml), la cyclosporine A (CsA, 500 ng/ml), l'interleukine-1 recombinant de souris (IL-1, 250 U/ml) et l'interleukine-2 de Rat (IL-2, 20 U/ml). Toutes les interleukines ont été acquises chez Boehringer, Mannheim. Les cultures ont été réalisées en triple et maintenues à 37 ° C en atmosphère humidifiée CO₂ de 5% pendant 3 jours. 18 heures avant la récolte 0,4 µCi de thymidine tritiée (Amersham, Etats-Unis, l'activité spécifique étant de 29 mCi / mM) a été ajouté dans chaque puits. Les cellules ont été récoltées sur des filtres en fibre de verre (Skatron), et la radioactivité a été mesurée avec un compteur à scintillation liquide Packard Tricarb. Les résultats sont exprimés en cpm.

4/Purification de la population des cellules T en double panning

Les cellules T ont été purifiées à partir de cellules de la rate totale par la technique du double panning comme décrit par Mason *et al.* (1987). Cette méthode est basée sur l'observation que les surfaces en polystyrène peuvent adsorber les protéines en conservant les capacités de

liaison à l'antigène des anticorps. Par conséquent, deux anticorps ont été utilisés, immunoglobuline anti rat (Sigma, USA) et anti rat Mac1 α (Pharmingen, USA), dans le but d'éliminer les cellules B et les macrophages, respectivement. Deux séries de boîtes de Pétri (100 x 15 mm) ont été recouvertes avec du milieu purifié d'anticorps d'anti-immunoglobulines et d'anti Mac1 α dans 8 ml de tampon phosphate salin (PBS), pH 7,4, et laissé à 4 ° C toute la nuit. Le lendemain, la solution contenant des anticorps non adsorbés a été décanté et les boîtes de Pétri ont été lavées trois fois avec du PBS. 5 ml de PBS contenant de la BSA (w 0,2% p / v) a été ajouté dans chaque boîte de Pétri pendant 30 min à température ambiante pour saturer tous les sites de liaison restants qui réduit l'adhérence des cellules non spécifiques. Les boîtes ont été lavées une fois avec du PBS et les cellules (4×10^6 cellules / boîte) ont été ajoutées dans les boîtes de Pétri avec revêtement anticorps Mac1 α . De même, après une incubation de 45 min à 4 ° C, le surnageant contenant des cellules T a été décanté dans des tubes. Au cours de chaque incubation, les boîtes de Pétri ont été une fois doucement agité. Les cellules T ont été lavées avec du PBS (200g x 15 min) et le nombre de cellules a été compté.

5/Dosage du calcium intracellulaire libre [Ca²⁺]_i

La capacité d'activation cellulaire T peut être mesurée par la montée du calcium intracellulaire. Les principales sondes fluorescentes utilisées pour mesurer ce relargage sont le Fura-2 et l'Indo 1 dérivées d'un chélateur de calcium. Dans le cas du Fura-2, la liaison du calcium avec la sonde entraîne essentiellement un déplacement du spectre d'excitation.

Le Fura-2 et l'Indo-1 possèdent un fort rendement quantique ce qui en fait des molécules de choix pour réaliser de l'imagerie calcique sur cellule unique. L'emploi de ces deux molécules nécessite des systèmes de mesure adaptés. La concentration moyenne du calcium dans le cytosol des cellules est de l'ordre de quelques dizaines de nM. Cette concentration après stimulation peut atteindre plusieurs microM. La mesure de la libération du calcium est une technique délicate car c'est un événement transitoire nécessitant une observation continue des cellules individuelles dont les réponses ne sont pas synchronisées.

Les splénocytes après isolement sont remis en suspension dans le RPMI 1640 et passés à travers une colonne de laine de Nylon qui a pour propriété de retenir les cellules B et laisse passer les cellules T selon la technique de Julius *et al.* (1973) modifiée par Trizio *et al.* (1974). Nous obtenons une population lymphocytaire enrichie en cellule T. Cette dernière est lavée et incubée dans un tampon.

Nous avons vérifié le taux de purification de la population des cellules T en utilisant la technique en double panning mise au point par Mason *et al.* (1987).

Les préparations obtenues et purifiées des cellules T ont été utilisées pour déterminer les concentrations intracellulaires de calcium libre après lavage par centrifugation à 200g pendant 15 min. Après numération, les cellules sont ajustées à 2.10^6 cellules par ml dans le tampon d'incubation suivant : NaCl 110 mM; KCl 5,4 mM; $CaCl_2$ 1,2 mM; $MgCl_2$ 0,8 mM; HEPES 20mM; Glucose 10 mM et KH_2PO_4 0,4 mM; $NaHCO_3$ 25 mM; NaH_2PO_4 0,33 mM. Le pH est ajusté à 7,4.

Les cellules ont été chargées avec Fura-2-AM (1 μM) dans le tampon identique plus 2% d'albumine sérique bovine, BSA, (w / v) pendant 30 min à 37 ° C.

Les cellules sont incubées en présence d'une sonde fluorescente Fura2/AM à 1 μM dans un tampon identique contenant 2% de BSA pendant 30 minutes à 30°C.

La sonde Fura2/AM traverse facilement la membrane plasmique où des estérases membranaires vont scinder la Fura2/AM en Fura2 qui en se liant au calcium intracellulaire émet une fluorescence.

Après incubation, les cellules ont été lavées deux fois, centrifugées à 800g pendant 10 min, et remises en suspension dans le tampon identique sans BSA. La concentration de $[Ca^{2+}]$ libre est mesurée selon la méthode de Grynkiewicz *et al.* (1985).

La fluorescence est mesurée par un spectrofluorimètre Kontron avec une longueur d'onde monochromatique de 345 nm en excitation et 480 nm en émission.

Durant les mesures de concentration intracellulaire de $[Ca^{2+}]$ libre, la cuvette est agitée continuellement par un barreau magnétique.

Les données sont enregistrées et traitées par un micro-ordinateur Olivetti PS/2

$[Ca^{2+}]$ est calculée selon la formule suivante:

$$[Ca^{2+}]_i = Kd \frac{(F - F_{min})}{(F_{max} - F)}$$

La fluorescence maximale (F_{max}) est obtenue par addition d'un ionophore l'ionomycine (5 μM) qui permet la perméabilisation de la membrane plasmique cellulaire des cellules et la saturation en Ca^{2+} de la sonde fluorescente.

La fluorescence minimale est obtenue par addition de $MnCl_2$ à 2 mM qui piège le calcium et le fixe avec une affinité plus forte que la sonde fluorescente Fura2 ce qui permet donc de quencher le signal du Ca à toutes les longueurs d'onde.

Une valeur de 224 nM pour le Kd apparent de Ca^{2+} se liant à Fura-2 a été appliqué.

Analyses phytochimiques

Matériel végétal

Les fruits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schard); famille des cucurbitacées sont récoltés à maturité durant le mois de Septembre dans la région de Ain Sefra, Wilaya de Naama, Sud Ouest algérien.

Préparation des graines de la coloquinte

Au laboratoire, les graines sont récupérées à partir de fruits séchés, elles sont nettoyées et séchées à l'air libre et à l'ombre. Puis elles sont broyées en poudre très fine à l'aide d'un moulin à café.

Dégraissage du matériel végétal

Généralement la préparation des extraits organiques nécessite un dégraissage du matériel végétal, l'intérêt du dégraissage est l'élimination souvent de quantités appréciables de graisses, de cires, de pigments et d'autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif en induisant la formation d'émulsions. Nous avons procédé au dégraissage du matériel végétal selon la technique utilisée par Bruneton (1999).

Le dégraissage nécessite le passage d'un solvant à travers la substance pulvérisée contenue dans une cartouche de papier filtre. Dans un ballon de 500 ml qui contient 200 ml d'hexane surmonté d'un soxhlet, avec une cartouche de 100 g des graines de la coloquinte broyée, on porte l'ensemble à reflux pendant 6 heures à l'aide d'un chauffe ballon avec une température d'ébullition stable.

Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal.

Extrait brut aqueux

- 50g de graines broyées sont mise en présence de 100ml d'eau distillé puis portés à ébullition pendant 2h ;
- Filtration et centrifugation pour éliminer le marc ;

Conservation de l'extrait aqueux (500g/l) à 4°C.

Extraction des alcaloïdes totaux en milieu acide

Cette extraction est faite selon la méthode de Harborne (1998) :

- Macération sous reflux sous agitation, pendant 16 heures, de 90g de graines de coloquinte broyées et dégraissées en présence de 250ml de HCl 2% et 110ml d'acétate d'éthyle ;
- Addition du NH_4OH à la phase acide jusqu'à ce que le pH soit ajusté entre 9,5 – 10 ;
- Extraction liquide – liquide du filtrat avec l'acétate d'éthyle jusqu'à épuisement total des alcaloïdes de la phase aqueuse ;
- Elimination des traces d'eau par l'adition de Mg SO_4 ;
- Concentration de la phase organique à sec.

La caractérisation des alcaloïdes totaux se fait à l'aide des réactifs spécifiques suivants : *Réactif deMayer* et *Réactif de Wagner*.

Extraction des glycosides cucurbitacines

Cette extraction est faite selon la méthode de Natiq *et al.* (1989) :

- Extraction sous reflux, pendant 6 heures, 50g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées en présence de 150ml de chloroforme ;
- Filtration du mélange et récupération du filtrat;
- Elimination des traces d'eau par l'adition de Na_2SO_4 ;
- Concentration de la phase organique à sec;

Les glycosides cucurbitacines (extrait chloroformique) sont obtenus sous forme d'un liquide visqueux de couleur marron.

Extraction des saponosides

L'extraction est faite selon la méthode de Bruneton (1999) :

- Extraction sous reflux pendant 8h de 105g de poudre de graines dégraissées en présence de 280ml d'eau distillé et 120ml d'éthanol 96% ;
- Filtration et centrifugation de la solution ;
- Extraction du filtrat 4 fois par 50ml de n-butanol (extraction liquide-liquide) ;
- Elimination d'eau et d'éthanol par distillation
- Précipitation des saponosides par l'ajout de 15ml d'éther diéthylique ;

Les saponosides sont récupérés après filtration sous vide.

Extraction des flavonoïdes

La méthode d'extraction est faite selon Bruneton (1999) :

- Extraction sous reflux pendant 12h de 50g de graines dégraissées en présence de 90ml d'acétone et de 90ml d'eau distillé ;
- Filtration et centrifugation ;
- Extrait liquide-liquide 2 fois 50ml par l'éther de pétrole pour éliminer les lipides et la chlorophylle ;
- Extraction des flavonoïdes libres 3 fois par 50ml d'éther diéthylique ;
- Extraction des flavonoïdes hétérosidiques 3 fois par 50ml d'acétate d'éthyle ;

Analyse Statistique

Les moyennes calculées sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (SEM). Le test de Student a été utilisé pour comparer les moyennes et exprimer la significativité entre les lots témoins et les lots essais.

Test de Student

Pour comparer les moyennes des deux échantillons indépendants, nous avons appliqué le test de student « T » à un degré de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon.

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

Peu significative si $p < 0,05$ (*)

Significative si $p < 0,01$ (**)

Très significative si $p < 0,001$ (***)

Hautement significative si $p < 0,0001$ (****)

RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre 1

Les rats des sables *Psammomys obesus* soumis au régime standard de laboratoire présentent une hyperglycémie et une hypercholestérolémie localisée essentiellement dans la fraction libre de cholestérol, avec une élévation significative du taux de lipoprotéines HDL sans pour autant affecter la fraction lipoprotéines LDL. Quant aux autres paramètres biochimiques plasmatiques, c'est-à-dire, phospholipides, ils sont légèrement ou pas modifiés dans les deux lots d'animaux (Tab. 16).

Tableau 16 : Poids et Paramètres biochimiques plasmatiques chez le rat des sables *Psammomys obesus* soumis à deux régimes alimentaires différents.

Paramètres Plasmatiques	Régime Plantes (0 sem)	Régime Plantes (24 sem)	Régime Standard (0 sem)
Cholestérol total mg/100ml:	72.4 ± 4.3	59.0 ± 7.9	93.0 ± 9.2*
Cholestérol libre mg/100ml	20.4 ± 1.9	16.2 ± 3.9	27.4 ± 1.4*
Cholestérol estérifié mg/100ml	52.3 ± 5.9	42.8 ± 4.5	65.6 ± 8.9
HDLipoproteines mg/100ml	57.0 ± 8.3	84.6 ± 11.6	152.2 ± 19.5*
LDLipoproteines mg/100ml	60.7 ± 15.8	100.6 ± 13.4	173.0 ± 74.0
Triglycérides mg/100ml	69.8 ± 11.7	80.6 ± 16.0	64.2 ± 7.0
Phospholipides mg/100ml	158.1 ± 23.7	118.6 ± 14.8	164.2 ± 14.6*
Glucose mg/100ml	50.0 ± 10.4	42.8 ± 1.5	246.9 ± 73.1*
Poids g	93.1 ± 2.7	96.1 ± 6.1	114.5 ± 6.2

*Significatif à $P < 0.5$

Chez les rats des sables soumis au régime hypercalorique, les lymphocytes en présence de phytoemmagglutinine-P à 6.25µg/ml incorporent (5671±663) cpm de Thymidine ³H contre (9131±795) cpm chez leur témoin soumis aux plantes.

En présence de Concanavoline A à 6.25µg/ml, les lymphocytes spléniques du rat des sables soumis au régime au hypercalorique incorporent une quantité de thymidine ³H quatre à cinq fois plus faible à ceux de l'animal normal.

Enfin, le lipopolysaccharide à 100µg/ml qui est un mitogène stimulant spécifiquement les lymphocytes B entraîne une diminution significative de l'incorporation de la thymidine ³H de ces cellules (13791 + 2410) cpm chez l'animal soumis au régime hypercalorique contre (28303 + 1939) cpm chez l'animal normal (Tab. 17).

Tableau 17: Taux de Thymidine ³H incorporée par les lymphocytes spléniques en présence de différents mitogènes.

Dose Mitogènes	Régime naturel	Régime standard
Contrôle	3256±915	4800±591
Phytohemmagglutinine-P 6.25µg/ml	9131± 495	5671 ± 663
Concanavoline-A 6.25pg/ml	38093 ± 4044	8024 ± 1058
Lipopolysaccharide 100µg/ml	28309 ± 1939	13791 ± 2410

Le diabète altère la plupart des fonctions immunes. La phagocytose est significativement réduite et la vitesse de destruction des organismes étrangers est elle aussi réduite (Bagdade, 1976; Cooper et Plath, 1982; Subbaiah et Bagdade, 1982). Les polynucléaires neutrophiles perdent peu à peu leurs fonctions chez les diabétiques (Bagdade *et al.*, 1974) et la transformation des lymphocytes est altérée (Plouffe *et al.*, 1978). La formation d'anticorps et le nombre de plages de lyse diminuent (Ludwig et al 1976., ; Hadzija *et al.*, 1984). Des altérations sont observées dans la réponse immunitaire impliquant aussi bien les lymphocytes B que les lymphocytes T chez les diabétiques. Le nombre de récepteurs à l'insuline dans les lymphocytes est en relation étroite avec la concentration d'insuline *in vivo*. L'insuline et l'Insulin like Growth Factor (IGF I) apparaissent comme des facteurs importants dans le processus de prolifération lymphocytaire car les lymphocytes activés par des mitogènes ou des antigènes portent les récepteurs membranaires de l'insuline et de l'IGF I. De plus des concentrations nanomolaires d'insuline ou d'IGF I intensifient les processus anaboliques ou la synthèse d'ADN dans les lymphocytes activés par les mitogènes, par contre l'insuline à

des doses supraphysiologiques inhibe aussi bien la prolifération des lymphocytes que la synthèse d'anticorps selon Hunt et Eardley (1986).

L'insuline et l'insuline growth factor I (IGF I) apparaissent comme prépondérantes dans les processus de prolifération lymphocytaires. Après stimulation par des antigènes ou des mitogènes, des récepteurs à l'insuline sont synthétisés à la surface des lymphocytes T.

L'insuline favorise la capacité des lymphocytes cytotoxiques à détruire les cellules cibles; en revanche elle inhibe la lyse des ADCC (Bar *et al.*, 1977) et la phagocytose des fragments Fc.

L'insuline agit directement sur les lymphocytes en modulant l'activité ATPase, la pénétration de glucose et de l'acide amino isobutyrique. L'activation *in vivo* et *in vitro* des lymphocytes chez les humains et les rongeurs induisent l'expression des récepteurs à l'insuline sur les lymphocytes B et T (Krug *et al.*, 1972; Helderman *et al.*, 1978). Les récepteurs à l'insuline apparaissent comme des marqueurs des cellules T activées (Misbin *et al.*, 1977; Aman *et al.*, 1981; Galbraith *et al.*, 1982). Les glucocorticoïdes modulent le nombre de récepteurs insuliniques sur les lymphocytes ou monocytes en culture. Cette régulation se fait par l'augmentation de la synthèse d'ARNm codant pour les récepteurs à l'insuline et *de novo* la synthèse des récepteurs à l'insuline (Shibasaki *et al.*, 1988).

Ces activités et modulation de ces différents processus cellulaires par l'insuline varient avec le type cellulaire, l'état de différenciation de la cellule, la présence d'autres hormones et la quantité d'insuline.

Des études avec les anticorps antirécepteurs à l'insuline indiquent que l'activité des tyrosines kinases est nécessaire à l'expression de toutes les activités biologiques de l'insuline. De même il est connu que les lymphocytes expriment des récepteurs à l'insuline dont le nombre est régulé par la glycémie de l'animal. Les récepteurs à l'insuline ont d'abord été détectés sur les mononucléaires du sang, puis sur les lymphocytes (Garin *et al.*, 1972).

La streptozotocine est connue comme induisant le diabète par la destruction sélective des îlots de Langerhans pancréatiques (Bhuyan 1970). La streptozotocine se décompose spontanément pour former de l'isothiocyanate et du méthyldiazohydroxyde, ce dernier se décompose en dégageant un ion carbonium hautement réactif qui peut alkyler le DNA (Masiello *et al.*, 1981). Wilson *et al.* (1988) ont postulé que la streptozotocine peut non seulement alkyler le DNA mais aussi les composants nécessaires à la synthèse d'ATP. L'étape finale de l'action cytotoxique sur les cellules B des îlots de Langerhans se traduit par une augmentation des radicaux oxygénés libres car les activités de la catalase, la glutathion reductase et la superoxyde dismutase sont augmentées dans le pancréas (Wohaieb et Godin, 1987).

Les animaux présentant un diabète induit par la streptozotocine montrent une réduction importante du nombre de lymphocytes dans le thymus, la rate et les ganglions lymphatiques démontrant un effet immunosuppresseur direct de la streptozotocine à forte concentration (Nichols *et al.*, 1978, Wellhausen; 1986). Cet effet est dû à l'inhibition de la synthèse d'ADN dans les thymocytes et les cellules de la moelle osseuse (Wellhausen 1986).

Le nombre de cellules spléniques chez des animaux traités par la streptozotocine diminue de plus de la moitié par rapport aux témoins.

La diminution du nombre des T lymphocytes et particulièrement de la sous population helper retarde mais ne suffit pas à prévenir le développement de l'hyperglycémie (Dayer-Metroz *et al.*, 1988).

Chez le rat, l'administration d'adjuvant complet de Freund combiné avec des doses non diabétogènes de streptozotocine induisent une destruction des cellules B des îlots de Langerhans du pancréas, ce qui laisse supposer que l'activation du système immunitaire déclenche une réaction immunitaire anti cellule B après exposition à la streptozotocine (Kohnert *et al.*, 1987).

Nous avons, dans ce travail, voulu connaître l'action du diabète induit chimiquement par la streptozotocine sur les rats Wistar, sur la prolifération lymphocytaire en présence de Concanavale A, Phytohémagglutinine-P et lipopolysaccharides, d'insuline, des interleukines 1 et 2 et d'un immunosuppresseur la Cyclosporine au niveau splénique.

Nos résultats comparés à ceux obtenus chez la souris de laboratoire Balb/c nourries au régime standard montrent que les rats des sables recevant le régime naturel présentent des réponses lymphoprolifératives plus faibles. Cette diminution est plus accentuée par l'administration du régime standard de laboratoire. Il semble que cette diminution de l'activité concerne aussi bien les lymphocytes T que les lymphocytes B de la gerbille mongolienne d'après Karavodin et Ash (1977). Les travaux réalisés par Yukawa *et al.* (1991) montrent que la rate de la gerbille mongolienne (*Mérianes unguiculatus*) présente une réponse anticorps Plaque-Forming-Cells (PFC) nettement plus faible que chez la souris de laboratoire Balb/c.

L'hyperglycémie et l'hypercholestérolémie présentées par les rongeurs désertiques soumis au régime standard de laboratoire laissent supposer que nous sommes en présence d'animaux diabétiques qui présentent les symptômes du diabète non insulino-dépendant et qui évolueraient par un processus autoimmun lent vers le diabète insulino-dépendant comme l'ont suggéré Groop et son équipe en 1986 qui l'ont observé chez des patients humains.

Chapitre 2

Dans la 2^{ème} partie concernent les mécanismes cellulaires impliqués dans la prolifération des cellules immunocompétentes qui ont modifiés au cours du diabète induit par la streptozotocine. Nous avons mesuré les concentrations intracellulaires de Ca^{2+} et évalué les effets de l'insuline, les cytokines et d'autres agents sur le fonctionnement des cellules immunitaires sur des rats de laboratoire wistar normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine.

La voie calcique

La variation de la concentration en calcium intracellulaire est un paramètre qui va permettre d'évaluer l'état d'activation d'un lymphocyte T. En effet, suite à l'interaction du TCR avec le complexe CMH/peptide spécifique il y a augmentation de la concentration en calcium intracellulaire. Cela va être la conséquence de la fixation de l'IP3 sur des récepteurs présents à la surface du réticulum endoplasmique. Cette interaction va permettre le relargage des stocks de calcium réticulaire dans le cytoplasme. L'augmentation temporaire du calcium intracellulaire va ouvrir des canaux calciques au niveau de la membrane du lymphocyte T, les CRAC (Calcium Release Activated calcium Chanel). L'ouverture des CRAC (Fig. 6). va permettre une entrée de calcium depuis le milieu extracellulaire permettant ainsi d'assurer une concentration intracellulaire en calcium élevée continue. L'ouverture de ces canaux va permettre également de reconstituer les stocks de calcium intracellulaire. Le calcium relargué va alors se fixer sur la calmoduline, ce qui permet l'activation de la calcineurine. La calcineurine est une phosphatase qui assure la déphosphorylation du facteur de transcription NFAT. Sous forme phosphorylée NFAT a une localisation cytoplasmique, sa déphosphorylation permet sa translocation nucléaire. NFAT induit l'expression de multiples gènes dont celui codant l'IL-2 (Feske *et al.*, 2001; Lewis 2001).

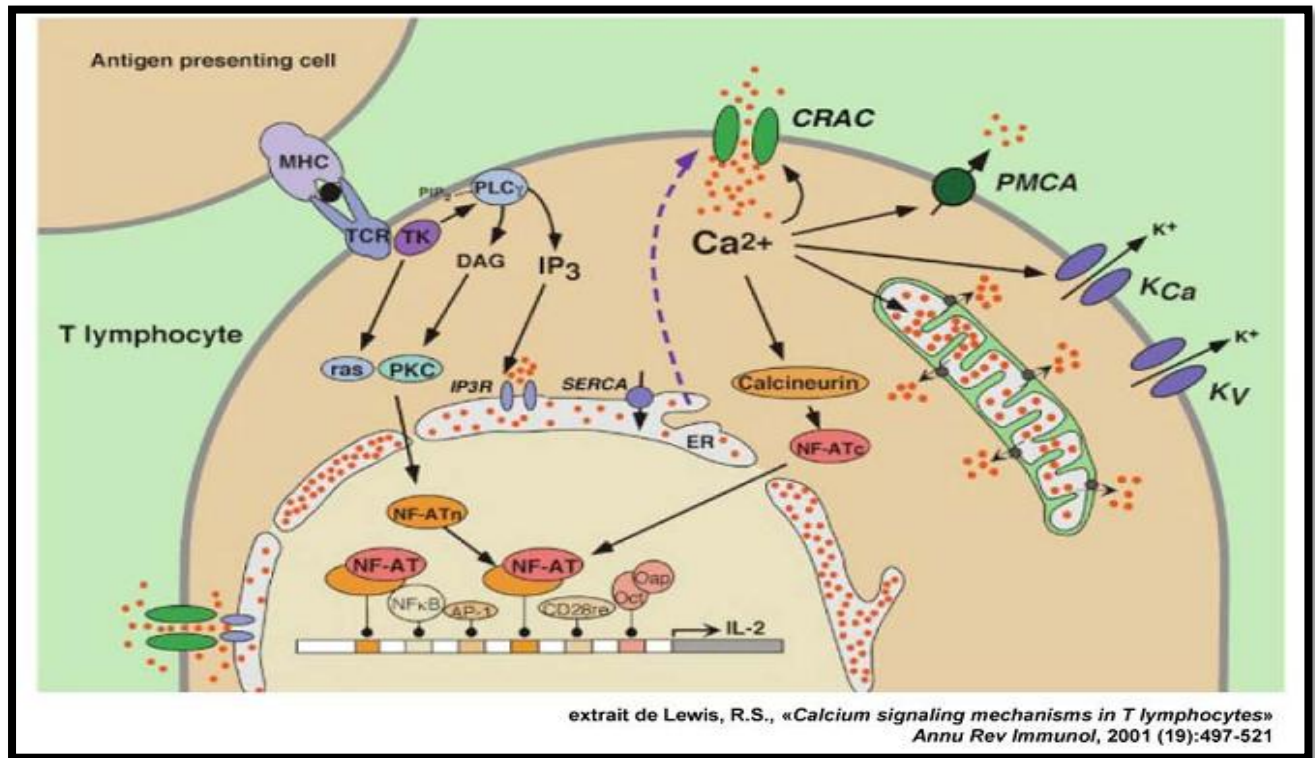


Figure 6. Représentation schématique de la voie calcique.

La fixation de l'IP3 sur son récepteur va permettre le relargage cytoplasmique de calcium conduisant à l'ouverture des CRAC. Après activation de la calcineurine, la déphosphorylation de NFAT va permettre sa translocation nucléaire.

Paramètres biochimiques.

Le tableau 18 montre que le taux de cholestérol total et de lipoprotéines LDL sont significativement plus élevés dans le groupe des diabétiques par rapport au groupe témoin. En ce qui concerne les autres paramètres biochimiques plasmatiques, c'est à dire les triglycérides et les phospholipides, ils ont été légèrement modifiés chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine.

Tableau 18 : Paramètres biochimiques plasmatiques chez le rat de laboratoire normal et rendu diabétique par la streptozotocine

Paramètres	Contrôle (n=10)	Diabétiques (n=12)
Glucose (mg/100 ml)	119,27 ± 8,12	249,24 ± 32,81 **
Triglycérides (mg/100 ml)	47,48 ± 3,60	52,24 ± 3,95
Phospholipides (mg/100 ml)	47,10 ± 3,98	52,97 ± 3,94
Cholestérol total (mg/100 ml)	57,19 ± 3,60	69,44 ± 2,65 **
Cholestérol libre (mg/100 ml)	18,69 ± 1,99	20,29 ± 1,62
Cholestérol estérifié (mg/100 ml)	49,15 ± 2,65	41,62 ± 4,10
Lipoprotéines HDL (mg/100 ml)	21,30 ± 2,56	26,62 ± 2,79
Lipoprotéines LDL (mg/100 ml)	30,33 ± 4,75	44,59 ± 4,70 *

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne.

Les valeurs sont significatives (* p <0,05, ** p <0,01) par rapport au groupe témoin.

Effets de l'insuline, la cyclosporine A et des cytokines sur la prolifération des lymphocytes T

Dans un premier temps, nous avons évalué les effets de l'insuline et des cytokines sur la prolifération des splénocytes en l'absence de mitogènes. Nous avons observé que l'insuline et les cytokines (IL-1, IL-2) stimulent considérablement la prolifération des lymphocytes, l'IL-2 présentant une stimulation la plus élevée (Fig. 7).

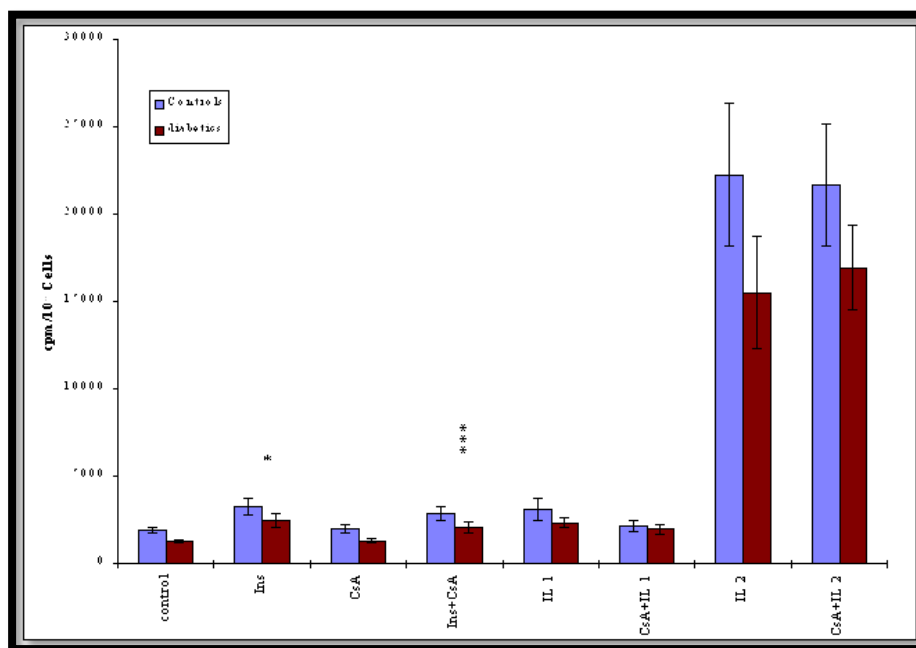


Fig. 7. Evaluation de la prolifération des lymphocytes de rats wistar rendus diabétiques par la streptozotocine et les rats témoins.

Les cultures ont été effectuées en triple durant 3 jours.

18 heures avant la récolte, 0,4 μ Ci de thymidine tritiée a été ajoutée dans chaque puits.

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne, (n = 10, pour le groupe témoin et n = 12, pour le groupe diabétique).

Les valeurs sont significatives (**p<0,01, ***p<0,001) vs groupe contrôle respectif.

Cependant, la prolifération de splénocytes a été plus faible dans le groupe de diabétiques par rapport aux rats du groupe témoin. Deuxièmement, nous avons étudié le rôle de l'insuline et les cytokines sur les lymphocytes T stimulés par les mitogènes (PHA et Con A). En présence de l'une des mitogène (PHA ou Con A), la prolifération des cellules T a toujours été plus faible dans le groupe diabétique que dans le groupe contrôle (Fig. 8 et 9). L'ajout d'insuline potentialise l'action de la PHA, mais pas de la Con A, et stimule la prolifération des cellules T à la fois chez les diabétiques et le groupe témoin (Fig. 8 et 9).

La cyclosporine (CsA) A réduit de façon significative la prolifération des lymphocytes T stimulés par l'insuline en présence de PHA dans les deux groupes (Fig. 8).

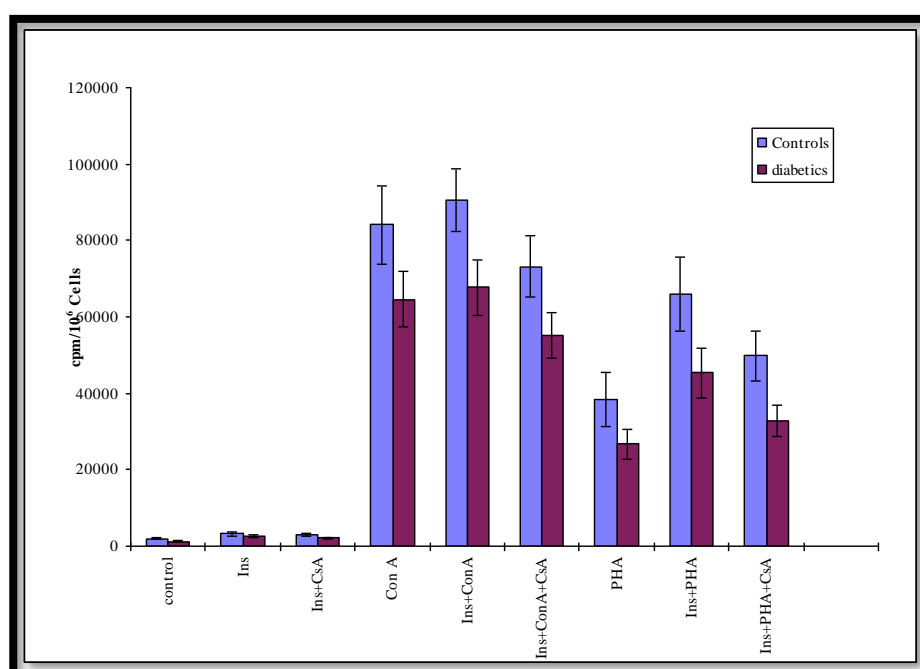


Fig. 8. Effets de l'insuline et de la cyclosporine A sur la prolifération des cellules T stimulées par un mitogène (PHA) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Les cultures ont été effectuées en triple durant 3 jours. 18 heures avant la récolte, 0,4 μ Ci de thymidine tritiée a été ajoutée dans chaque puits. Les cultures ont été effectuées en triple durant 3 jours. 18 heures avant la récolte, 0,4 μ Ci de thymidine tritiée a été ajoutée dans chaque puits. Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne, (n = 10, pour le groupe témoin et n = 12, pour le groupe diabétique). Les valeurs sont significatives (* p <0,05) vs groupe contrôle respectif.

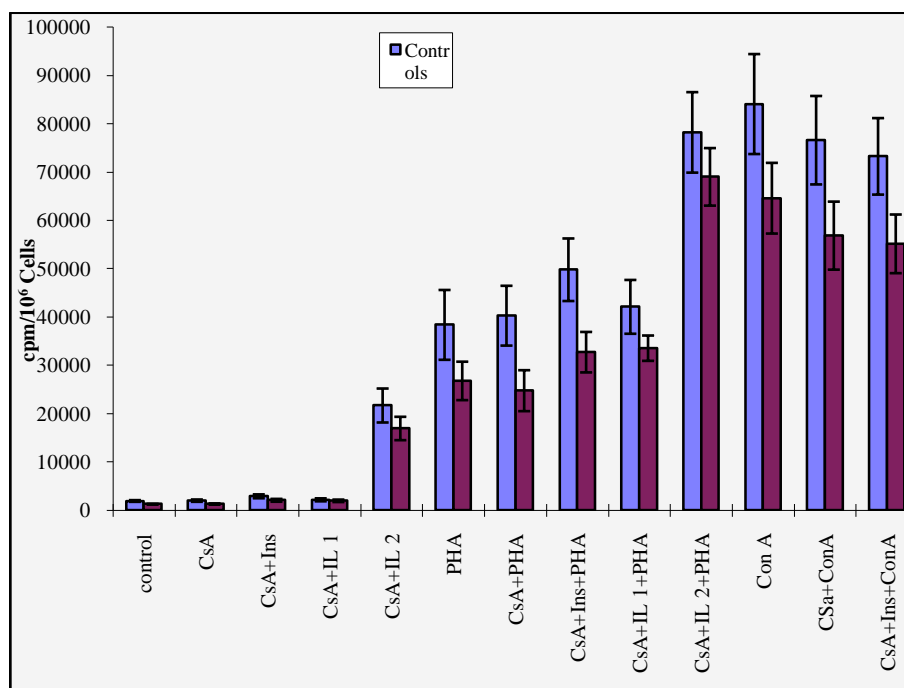


Figure 9 : Effets de l'insuline et de la cyclosporine A sur la prolifération des cellules T stimulées par le mitogènes (Con A) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Les cultures ont été effectuées en triple durant 3 jours. 18 heures avant la récolte 0,4 pCi de thymidine tritiée a été ajouté dans chaque puits. Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne, (n = 10, pour le groupe témoin et n = 12, pour le groupe diabétique).

La CSA a également légèrement diminué la prolifération des lymphocytes T en présence d'insuline et de Con A dans les deux groupes expérimentaux (Fig. 3).

La CSA ne diminue pas la prolifération des lymphocytes T stimulés la PHA ou Con A- (Fig. 8 et 9).

IL-1 et IL-2 a potentialisé la prolifération des lymphocytes T stimulés par la PHA, pas par la Con A (Fig. 10 et 11).

L'ajout de la CsA diminue la prolifération des lymphocytes T potentialisée en présence de PHA dans les deux groupes l'IL-1-, mais pas l'IL-2-, (Fig. 10).

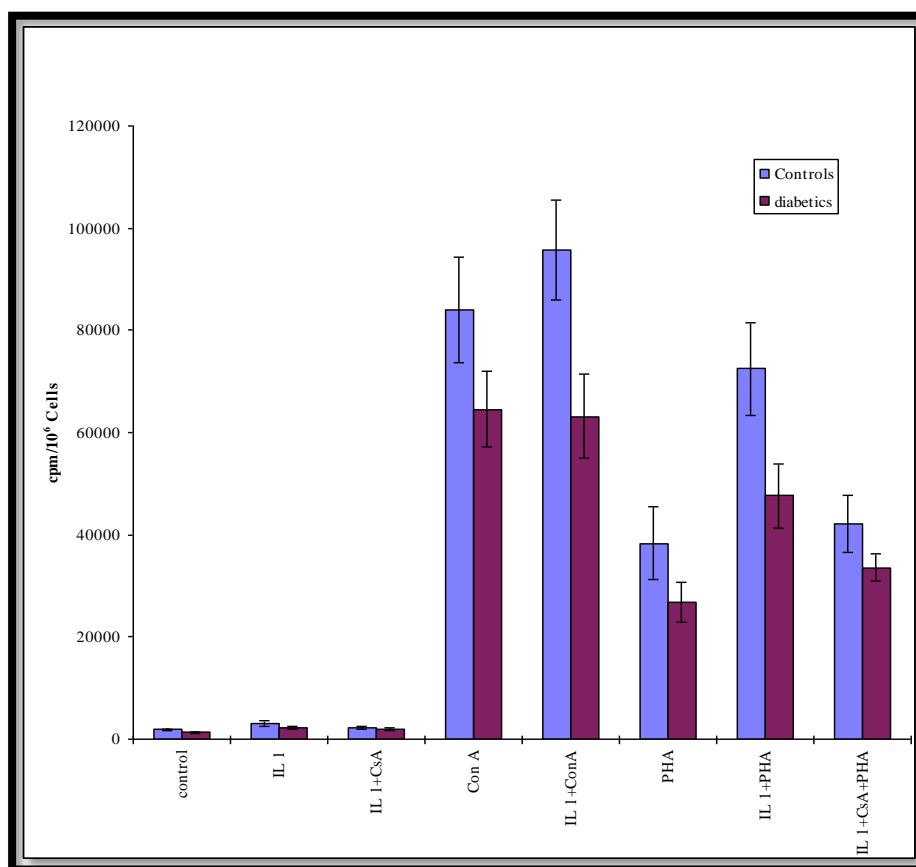


Fig. 10. Effets des cytokines sur la prolifération des cellules T stimulées par le mitogène (Con A) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Les cultures ont été effectuées en triple durant 3 jours. 18 heures avant la récolte, 0,4 μ Ci de thymidine tritiée a été ajouté dans chaque puits.

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (n = 10, pour le groupe témoin et n = 12, pour le groupe diabétique).

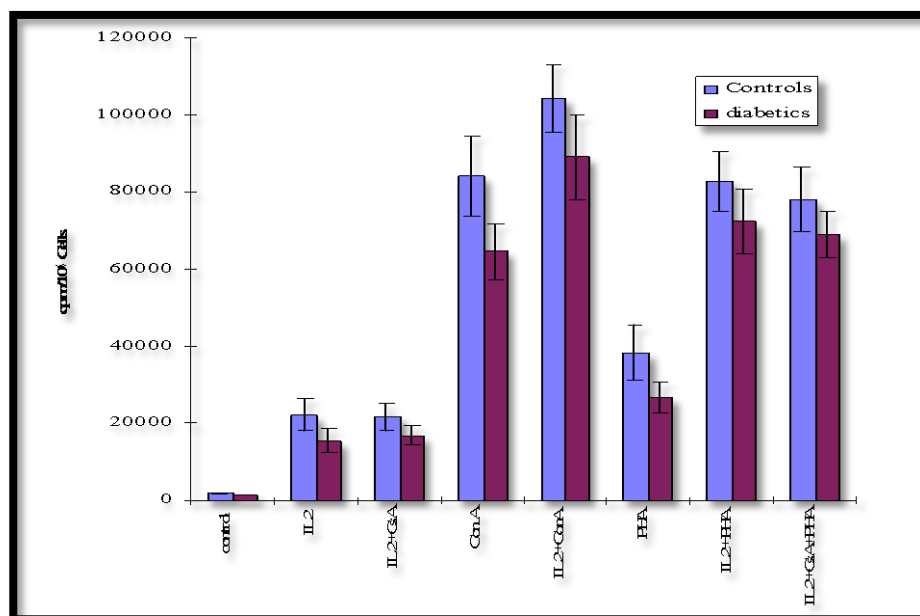


Figure 11 : Effets des cytokines et de la cyclosporine A sur la prolifération des lymphocytes T stimulés par un mitogène (PHA) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Les cultures ont été effectuées en triple pour 3 jours. 18 heures avant la récolte, 0,4 pCi de thymidine tritiée a été ajouté dans chaque puits.

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne, (n = 10, pour le groupe témoin et n = 12, pour le groupe diabétique).

Les valeurs sont significatives (p ** <0,01, *** p <0,001) vs groupe contrôle respectif.

Concentrations de calcium libre intracellulaire, [Ca²⁺]_i, dans les cellules T

Nous avons mesuré le calcium libre intracellulaire, [Ca²⁺]_i dans des populations de cellules T grâce à la sonde fluorescente Fura 2. Le tableau 7 montre que l'addition de l'insuline a augmenté la [Ca²⁺]_i à la fois dans les cellules T normales et diabétiques, toutefois, la réponse induite par l'insuline a été moins prononcée dans le dernier groupe. Comme cela était prévisible, le CSA n'a pas augmenté significativement les concentrations de [Ca²⁺]_i dans l'un des groupes. IL-1 et IL-2 augmentent significativement la concentration [Ca²⁺]_i des cellules T chez les diabétiques, mais pas chez les témoins (Tab. 19).

Tableau 19: Concentrations de calcium intracellulaire libre $[Ca^{2+}]_i$ dans les lymphocytes T de rats wistar normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine.

Ajout	Contrôle $[Ca^{2+}]_i$ nM (n=10)	Diabétique $[Ca^{2+}]_i$ nM (n=12)
Basale	400 ± 15	200 ± 23
Insuline (5 µg/ml)	660 ± 40 *	300 ± 10 *
Cyclosporine A (500 ng/ml)	400 ± 27	225 ± 10
Interleukine 1 (250 U/ml)	380 ± 30	410 ± 20 *
Interleukine 2 (20 U/ml)	350 ± 25	450 ± 26 *

Les concentrations de calcium intracellulaire libre ont été mesurées en utilisant une sonde fluorescente Fura2/AM. Les moyennes sont affectées de l'erreur à la moyenne standard d'échantillons triples. Les valeurs sont significatives (* $p < 0.01$) comparées à leurs concentrations de Ca^{2+} basales respectives

Le diabète sucré est composé de plusieurs troubles ayant en commun une relation de glucose-insuline anormale. Dans sa forme la plus sévère, il est caractérisé par une hyperglycémie, une cétose, une polyurie, une polydipsie et une perte de poids rapide, non traitée, la mort s'ensuivra (Ellenberg et Rifkin 1983). L'idée que certains types de diabète sont liés à des mécanismes auto-immuns a conduit à la nouvelle classification du diabète (Irvine 1977). Il est maintenant bien connu que certains types de diabète sont associés à des anomalies des réponses immunitaires (Bach, 1993, Bagdade, 1976, Tish et Devitt, 1996), par exemple, la phagocytose diminuée (Bagdade 1976, Subbaiah, 1982), une altération des fonctions des granulocytes neutrophiles (Bagdade *et al.*, 1974), et modifié la transformation des lymphocytes (Plouffe *et al.*, 1978). Il a été montré que la production d'anticorps et de cellules productrices d'anticorps B et T diminuent chez les sujets diabétiques (Hadzija *et al.*, 1984, Ludwig *et al.*, 1976). L'insuline, la molécule importante impliquée dans le diabète, module différentes activités cellulaires, par exemple, le transport des molécules à travers la membrane plasmique, les niveaux de nucléotides cycliques, les activités des enzymes clés du métabolisme intermédiaire, les taux de synthèse et de dégradation des protéines, le taux de la synthèse des acides nucléiques, y compris l'expression des gènes spécifiques, la croissance et la différenciation cellulaire (Saltiel, 1990). Il a été démontré que les récepteurs à tyrosine kinase sont nécessaire

pour la plupart des actions de l'insuline (Morgan et Roth, 1987). L'insuline et l'insuline-like Growth Factor-1 (IGF-1) sont des facteurs importants impliqués dans le processus de prolifération des lymphocytes. Des concentrations nanomolaires de l'insuline ou IGF-1 peuvent améliorer les processus anabolisants ou synthèse de l'ADN via des récepteurs de surface cellulaire des lymphocytes activées par les mitogènes (Hunt et Eardley, 1986). A des concentrations élevées, l'insuline et d'IGF-1 suppriment à la fois la prolifération des lymphocytes T et la production d'anticorps produisant les cellules B (Hunt et Eardley, 1986). L'insuline améliore la capacité des lymphocytes cytotoxiques à lyser les cellules cibles. D'autre part, l'insuline inhibe la capacité des lymphocytes T à lyser des globules rouges recouvertes d'anticorps (Bar *et al.*, 1977), et la phagocytose Fc-médiation (Mushel *et al.*, 1977). Un métabolisme anormal du calcium a été rapporté chez des patients diabétiques aussi bien insulino-dépendants que non insulino-dépendants (Cooper et Platt, 1982). Les plaquettes de patients diabétiques montrent une augmentation de l'afflux de Ca^{2+} (Bergh *et al.*, 1988) et la réponse réduite des stocks de Ca^{2+} intracellulaire mettant en cause l'inositol 1, 4,5 triphosphate (Bergh *et al.*, 1988). Cooper et Platt (1982), ont montré que des concentrations élevées de Ca^{2+} dans les plaquettes de patients diabétiques hypertendus reflètent l'état de ces sujets.

Le calcium joue un rôle critique et spécifique dans de nombreuses fonctions cellulaires des lymphocytes T, dont l'activation, la prolifération et la production de cytokines (Badou *et al.*, 2005).

Toutefois, peu de choses sont connues sur le fonctionnement des cellules immunocompétentes et l'homéostasie du Ca^{2+} dans les cellules T de sujets diabétiques, même si le rôle du Ca^{2+} libre intracellulaire dans l'activation des cellules T normales a été bien établi. Par conséquent, la présente étude a été menée pour élucider si les mécanismes cellulaires impliqués dans la prolifération des cellules immunocompétentes sont modifiés au cours du diabète induit par la streptozotocine. Nous avons mesuré les concentrations intracellulaires de Ca^{2+} et évalué les effets de l'insuline, les cytokines et d'autres agents sur le fonctionnement des cellules immunitaires sur des rats diabétiques.

Il est de plus en plus admis que des perturbations des lipides se produisent tôt dans le processus du développement de la maladie diabétique. De même, on peut observer des niveaux plus élevés de cholestérol total et des lipoprotéines LDL chez les rats diabétiques que chez les animaux témoins. En outre, une suppression nette de l'immunité cellulaire a également été

trouvé chez la souris diabétique (NOD mice) congénitale (Mandell, 1976), et chez des souris rendues diabétiques par streptozotocine ou l'alloxane (Mahoud *et al.*, 1976). Dans le chapitre 2, nous avons observé que le taux de prolifération des lymphocytes activés par un mitogène est plus faible chez les rats diabétiques que dans le groupe contrôle. Une situation similaire a été trouvée dans les études cliniques où les lymphocytes de patients diabétiques n'ont pas répondu à des agents mitogènes (Merzouki *et al.*, 2000), Canal *et al.* (2000) ont montré que les lymphocytes du sang périphérique de patients atteints de diabète sucré non insulino-dépendant montrent une diminution de la réponse proliférative aux mitogènes des cellules T. En outre, une suppression nette de l'immunité cellulaire a également été trouvée dans les souris diabétiques congénitales (Natiq *et al.*, 1989) et chez des souris rendues diabétiques par la streptozotocine ou l'alloxane (Nmila *et al.*, 2000). En outre, nous avons été tentés d'enquêter sur les effets de l'insuline sur l'activation des cellules T. Par conséquent, nous avons observé que l'insuline potentialise la prolifération des lymphocytes T stimulés par les mitogènes, ce qui démontre que la carence en insuline dans le diabète pourrait être en partie responsable de l'immunosuppression. Cette observation corrobore les résultats de West *et al.* (1996) qui ont également suggéré que l'altération de la fonction immunitaire chez les diabétiques pourrait être en partie liée à une carence en insuline. Par conséquent, l'insuline va agir sur les cellules T par l'intermédiaire des récepteurs spécifiques, il a été montré que les lymphocytes activés, les macrophages et les monocytes circulants expriment des récepteurs de l'insuline (West *et al.*, 1996).

L'interaction des cellules T avec les mitogènes est caractérisée par des variations rapides dans les flux ioniques et particulièrement des variations dans le taux de calcium cytosolique [Ca^{2+}]; (Tsien *et al.*, 1982 ; Gelfand *et al.*, 1984) et du métabolisme des phospholipides (Taylor *et al.*, 1984 ; Mellors *et al.*, 1985; Imboden et Stobo, 1985). La prolifération des cellules T apparaît dépendante de la présence de calcium extracellulaire (Milner, 1979), les ionophores calciques tels que l'ionophore A23187 induisent la prolifération des lymphocytes T (Luckasen *et al.*, 1974), en revanche les chélateurs de calcium ou les bloqueurs des canaux calciques inhibent la réponse lymphoproliférative (Mills *et al.*, 1985).

La cyclosporine découverte par Borel *et al* en 1976 est un puissant inhibiteur de l'activation des lymphocytes T induits par des antigènes ou par des lectines, elle a l'avantage de ne pas être toxique aux concentrations qui bloquent totalement l'activation des T et n'intervient pas par

ailleurs dans la multiplication des autres types cellulaires. La cyclosporine agit précocement, empêchant l'activation des T helper, en se liant à la calmoduline et inhibe la stimulation de la phosphodiesterase calmoduline dépendante (Colombani *et al.*, 1985).

L'injection quotidienne de cyclosporine à faibles doses prévient ou retarde le déclenchement du diabète de type 2 (Assan *et al.*, 1985; Colman et Eisenbarth, 1987).

L'activation des lymphocytes par la PHA et la production de l'interleukine 2 reviennent à la normale après arrêt du traitement par la cyclosporine (Assan *et al.*, 1985).

La cyclosporine A, est hautement lipophile, et se lie à la membrane cellulaire par l'intermédiaire de récepteurs membranaires (Szkudelski, 2001). Elle agit à un stade précoce du cycle cellulaire pour empêcher l'activation des lymphocytes T auxiliaires, et donc inhiber l'activation de la calmoduline dépendante de la phosphodiesterase (Charonnel et Cariou, 1997). Par conséquent, l'induction du signal cellulaire T à la libération d'interleukine-2 et la génération de lymphocytes cytotoxiques sont empêchés (Jouad *et al.*, 2001). Les lymphocytes T suppresseurs sont relativement résistants à l'action de la cyclosporine contrairement aux lymphocytes T helpers.

Contrairement à d'autres agents immunosuppresseurs, la phagocytose et la libération de médiateurs inflammatoires solubles par les macrophages ou les polynucléaires ne sont pas altérées par la cyclosporine (Tiller *et al.*, 1983) cependant, l'inhibition de la libération d'insuline par les cellules T cytotoxiques a été levée après le traitement avec de la cyclosporine A (Fasce, 1982). Pour rechercher si une action est médiée par l'insuline CsA voie sensible, nous avons utilisé cet agent. Nous avons observé que la CsA réduit l'insulino-potentialisation induite par la prolifération des cellules T. Fait intéressant, la prolifération des cellules T stimulées par l'IL-1 en présence de PHA a également été réduite par cet agent. Ces observations indiquent que l'insuline et l'IL-1 activent les lymphocytes T via la voie CsA-sensibles de la calcineurine. Il convient également de noter que la CsA a échoué à diminuer l'activation des cellules IL-2-potentialisé T, et il pourrait être dû au fait que nous avons ajouté CsA simultanément avec l'IL-2 dans les tests. En outre, les cytokines (IL-1 et IL-2) n'ont pas permis de potentialiser l'activation des lymphocytes T en présence de Con A dans les deux groupes expérimentaux. La différence dans les mécanismes d'action des cytokines en présence de PHA et Con A n'est pas bien comprise. Toutefois, il a été montré que les deux mitogènes stimulent différentes populations de cellules T. PHA agit sur les

cellules T activées (sensibilité), tandis que la Con A agit, principalement, sur les lymphocytes T au repos.

L'activation des cellules T par les mitogènes est marquée par des changements rapides dans le cytosol des concentrations de calcium intracellulaire libre $[Ca^{2+}]_i$ (Giroud *et al.*, 1988) et le métabolisme des phospholipides (Harbone 1998). La prolifération cellulaire T induite par les mitogènes semble être dépendante de la présence de calcium extracellulaire (Pari et Umamaheswari, 2000), et la prolifération des cellules T peut être induite par les ionophores de calcium (Lev et Amar, 2002). Par conséquent, nous avons mesuré la concentration de $[Ca^{2+}]_i$ dans les cellules T des rats normaux et diabétiques. Nous avons observé que l'insuline provoque une augmentation des concentrations de $[Ca^{2+}]_i$ à la fois chez les rats normaux et diabétiques. Toutefois, l'augmentation induite par l'insuline de la concentration en $[Ca^{2+}]_i$ est moins prononcée dans le groupe de diabétiques que chez les rats témoins, et cette diminution de la teneur en calcium peut être due au faible nombre de récepteurs de l'insuline sur les lymphocytes T des rats diabétiques. Cette hypothèse peut être étayée par les observations de Hunt et Eardley (1986), qui ont démontré que l'altération des concentrations de l'insuline *in vivo* est accompagnée par la modulation du nombre de récepteurs de l'insuline sur les lymphocytes. En outre, Bergh *et al.* (1988) ont également rapporté qu'il y a une diminution de concentration de $[Ca^{2+}]_i$ dans les compartiments internes des plaquettes de sujets diabétiques. L'ajout de l'IL-1 et IL-2 entraîne des concentrations de $[Ca^{2+}]_i$ significativement plus élevées dans la cellule T du groupe diabétique que ceux du groupe témoin, suggérant que les cellules T diabétiques sont plus sensibles aux cytokines que les cellules T normales. La présente étude démontre et confirme que la maladie diabétique est associée à l'immunosuppression induite par les lymphocytes T, ainsi que l'altération de l'homéostasie du calcium dans ces cellules.

Chapitre 3

Quant à la 3^{ème} partie concerne la recherche d'effets antidiabétiques de quelques extraits de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) : extraits bruts aqueux, saponosides, flavonoïdes, alcaloïdes et les glycosides (extrait chloroformique) chez les rats wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine.

Le diabète sucré est une véritable épidémie silencieuse, ayant de graves conséquences en terme de morbidité, de mortalité et de prise en charge mondiale très coûteuse. Cette épidémie serait à l'origine de 3.4 millions de décès chaque année dans le monde (OMS et FID, 2011).

Cette affection touche environ 5 à 7% de la population mondiale dont 90% sont des diabétiques de type 2 (Barcelo, 1996 ; Waeber, 2000 ; Zimmet *et al.*, 2001).

Le traitement du diabète de type 2 repose sur la diététique, mesure visant à réduire l'insulinorésistance. En cas d'échec, il faut alors opter pour un traitement médicamenteux. Actuellement, nous disposons de médicaments antidiabétiques oraux parmi lesquels on distingue les médicaments stimulants l'insulinosécrétion représentés essentiellement par les sulfamides hypoglycémiantes (SH), ceux potentialisant l'effet de l'insuline comme la metformine, et ceux réduisant la vitesse d'absorption des glucides alimentaires, en particulier l'acarbose et la le miglitol. En cas d'échecs, l'insulinothérapie esst nécessaire (Grimaldi, 2004).

L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels surtout dans le cas des maladies chroniques, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les pays en voie de développement, font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle, complémentaire ou parallèle pour se soigner (Wang et Ng, 1999 ; Eddouks *et al.*, 2007).

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, le retour à la phytothérapie demeure comme médecine alternative seule ou en complément, pour diminuer la dose de médicaments synthétiques (Dey *et al.*, 2002), et ceci grâce à la richesse des végétaux en métabolites secondaires ayant une action thérapeutique marquante (Marles et Bormanb, 1994).

Plus de 1200 espèces de plantes, recensées par les ethnopharmacologues, ont été expérimentées contre le diabète de type 2 (Marles et Farnsworth, 1996).

La recherche des objectifs suivants ont poussé notre laboratoire à rechercher de nouvelles plantes médicinales :

- La disponibilité des plantes médicinales,

- Moins ou pas de toxicité des plantes médicinales par rapport au traitement médicamenteux
- Moins ou pas d'effets secondaires de ces plantes,
- Faibles coûts,
- Richesse en métabolites secondaires utilisables en thérapie antidiabétique.

Détermination de la dose létale

D'après les résultats obtenus, la DL₅₀ de l'extrait brut aqueux est de 12.5 g/kg de l'extrait des alcaloïdes totaux, et de 800mg/kg de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines, de 200 mg/kg de l'extrait des saponosides, de 200 mg/kg et de l'extrait des flavonoïdes est de 112 mg/kg.

Tandis que, la dose létale DL₁₀₀ de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines est de 300mg/kg.

Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte

Les résultats de l'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques et normaux suivis chaque semaine (durant 9 semaines) par un prélèvement sanguin au niveau du sinus rétro orbital en vue de l'analyse de la glycémie sont présentés dans les figures 12, 13, 14, 15 et 16 :

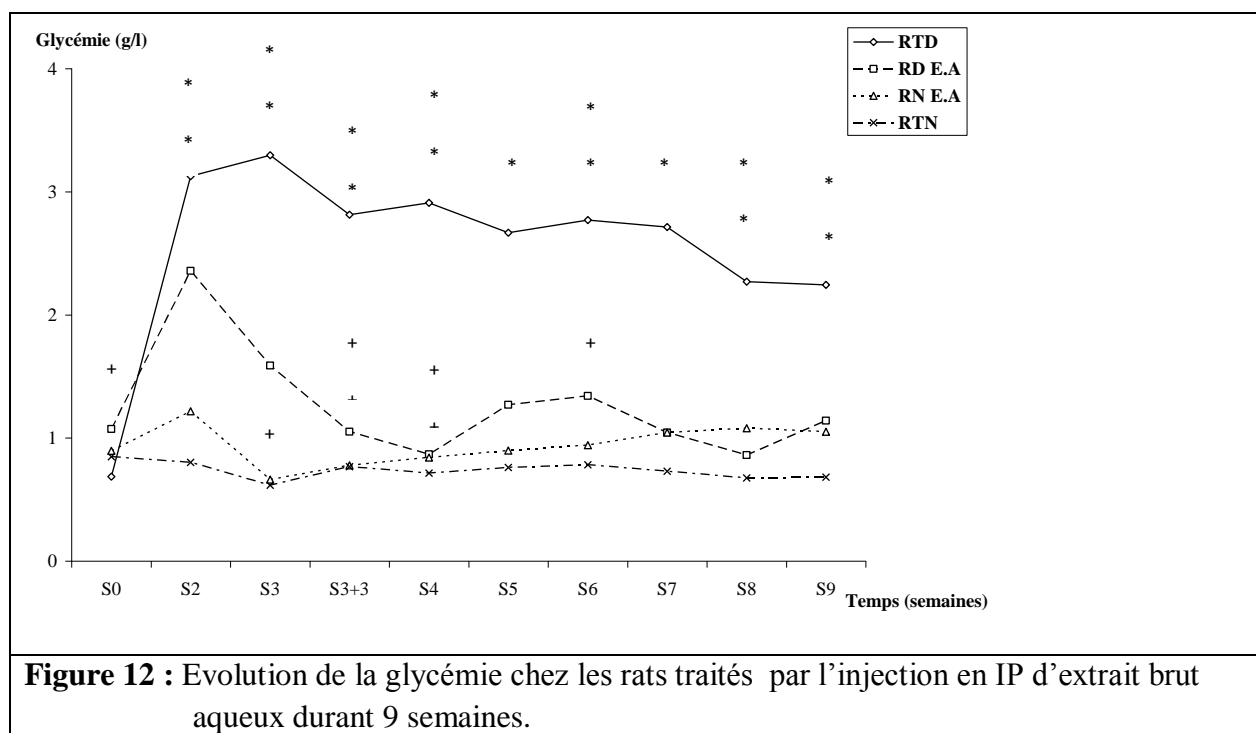


Figure 12 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP d'extrait brut aqueux durant 9 semaines.

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

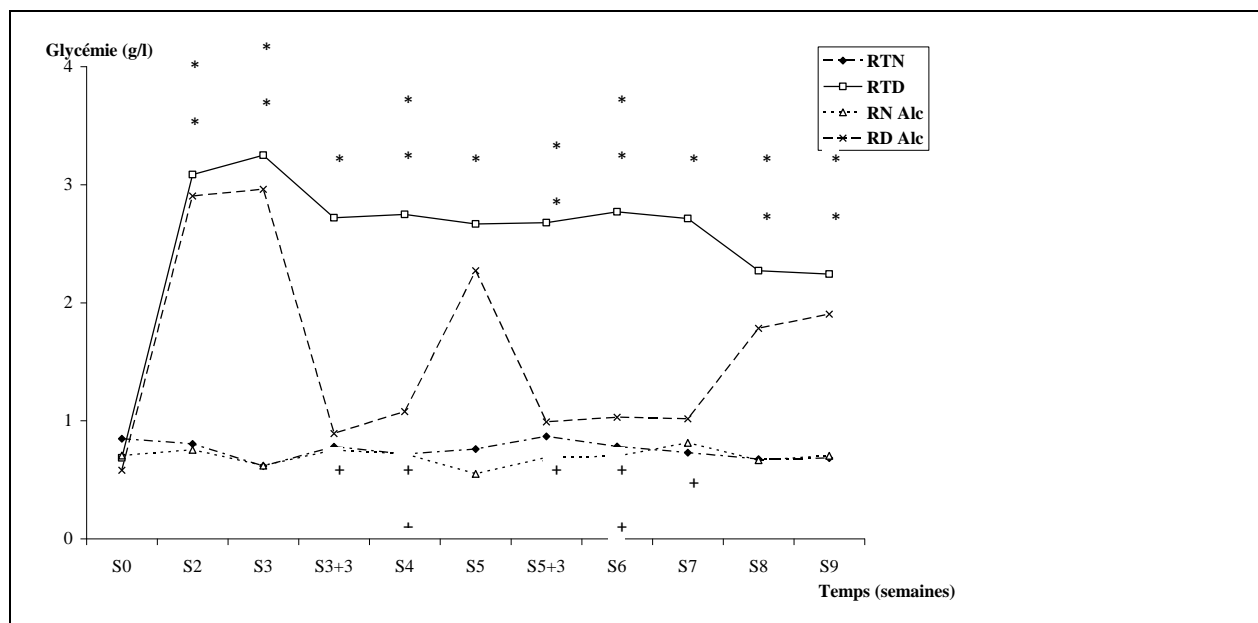


Figure 13 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP d'alcaloïdes totaux durant 9 semaines.

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

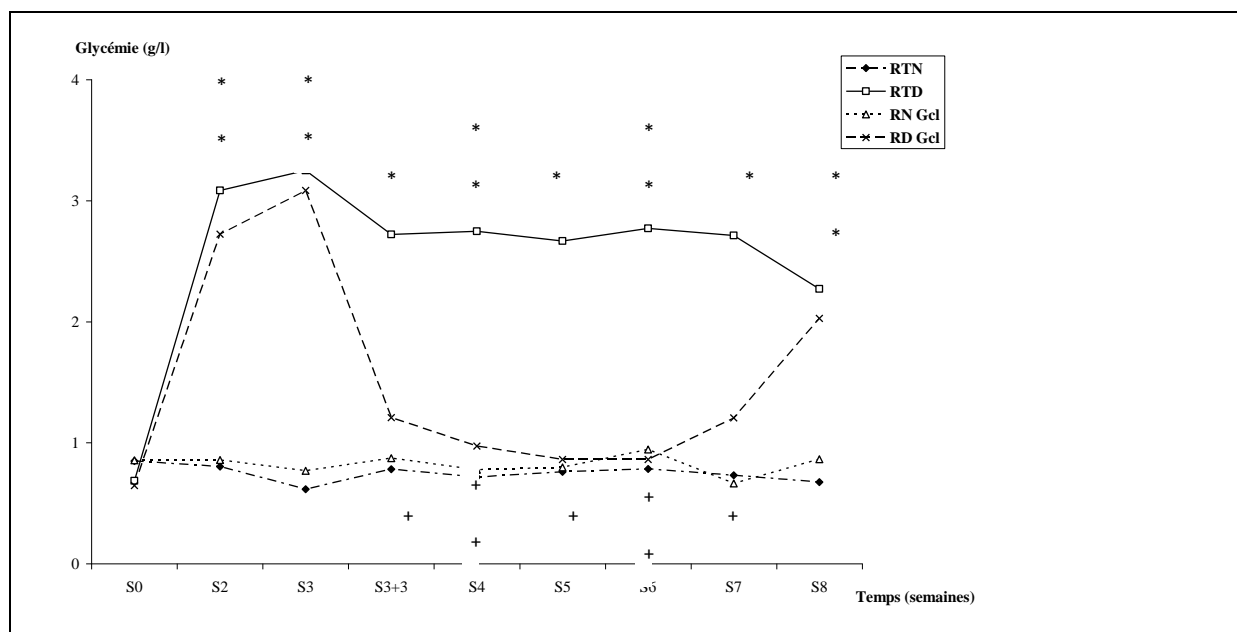


Figure 14 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines durant 8 semaines

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

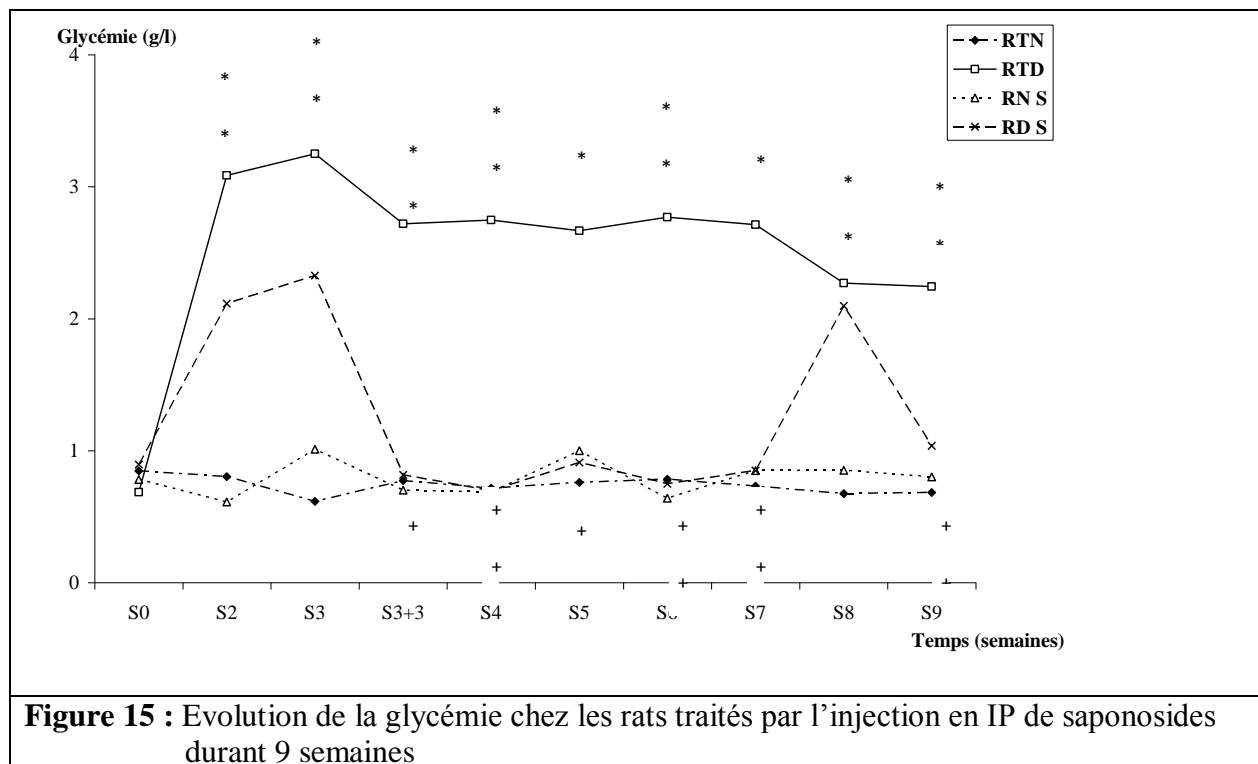


Figure 15 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP de saponosides durant 9 semaines

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

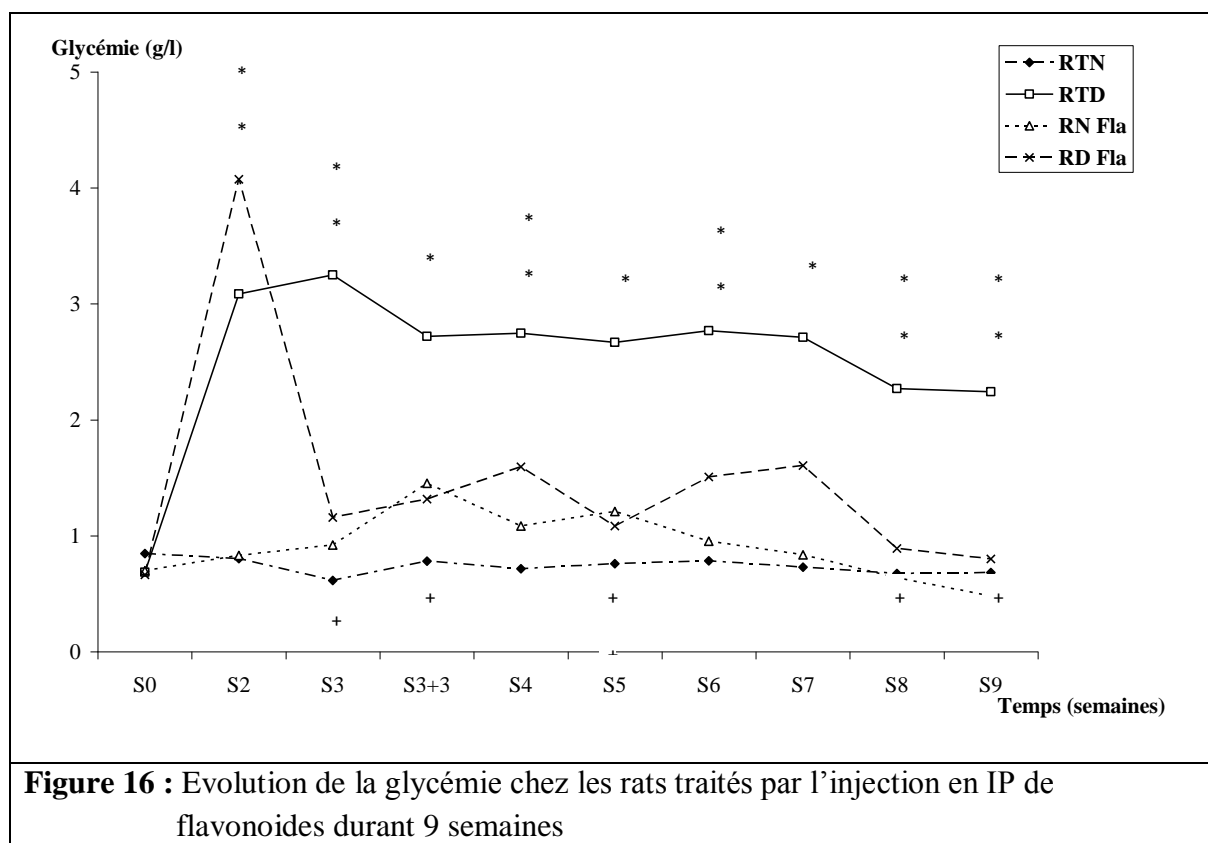


Figure 16 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP de flavonoïdes durant 9 semaines

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

A la lumière des résultats obtenus, il a été constaté que les différents extraits de la coloquinte ont un effet anti-hyperglycémiant. Cet effet persiste longtemps (7 semaines) chez les rats diabétiques traités par les flavonoïdes et 5 semaines chez les rats diabétiques traités par l'extrait des glycosides cucurbitacines et des saponosides, en comparaison avec l'action des alcaloïdes totaux qui ne persiste que 3 semaines avant que l'hyperglycémie réapparaisse ainsi que la glycosurie.

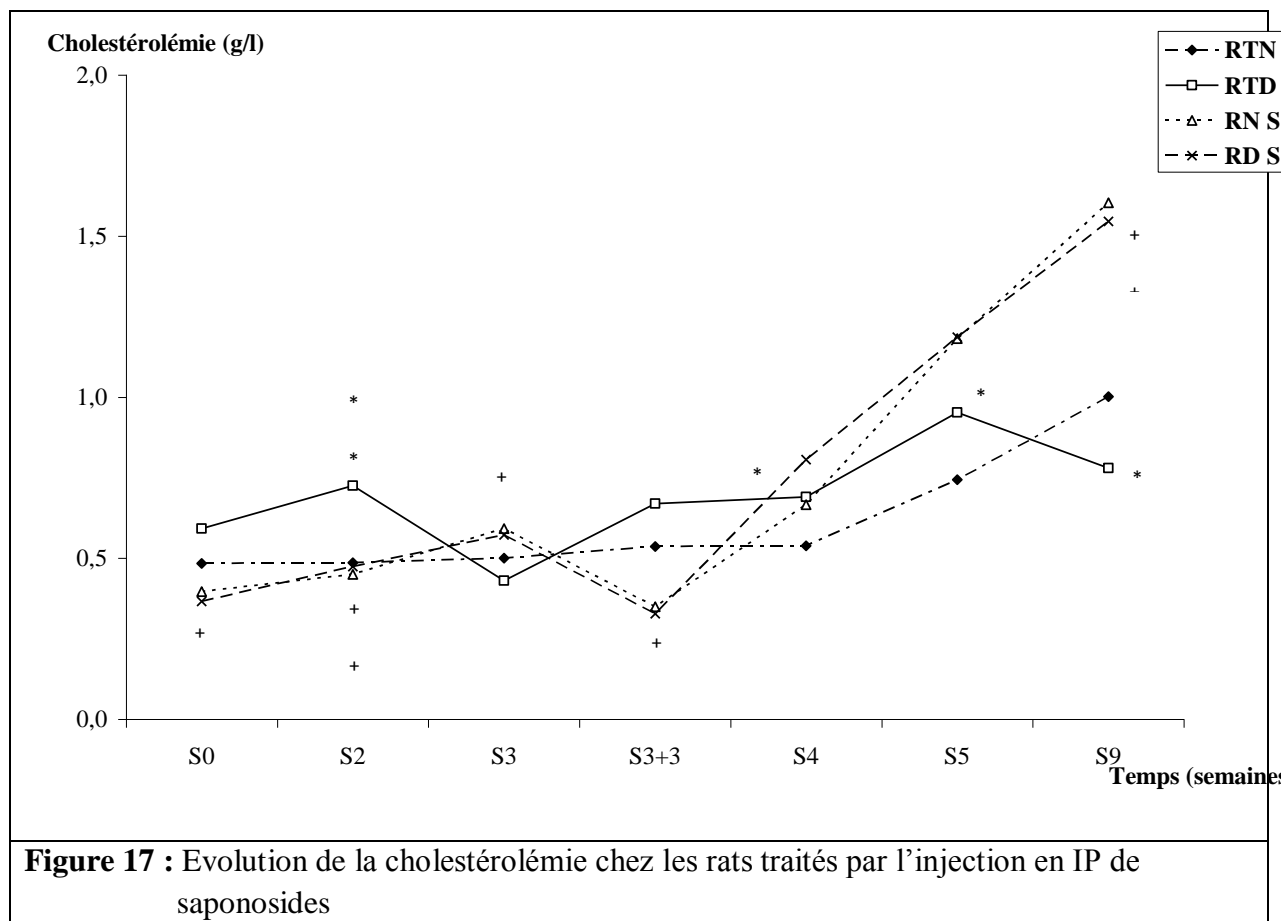
Après l'injection de l'extrait brut aqueux aux rats diabétiques, une diminution très significative de la glycémie est observée par rapport aux témoins diabétiques et se poursuit jusqu'à la cinquième semaine.

Après l'arrêt de l'injection de l'extrait à la deuxième semaine, la glycémie augmente immédiatement et après rétablissement des injections de l'extrait brut aqueux, la glycémie diminue à nouveau.

Par ailleurs, aucun effet hypoglycémiant n'a été observé chez les rats normaux traités par les extraits étudiés.

Concernant les paramètres lipidiques, les saponosides augmentent significativement le taux du cholestérol chez les rats diabétiques traités par rapport aux rats diabétiques témoins (Fig.17).

L'injection des flavonoïdes entraîne une diminution de la cholestérolémie chez les rats diabétiques (Fig.18).



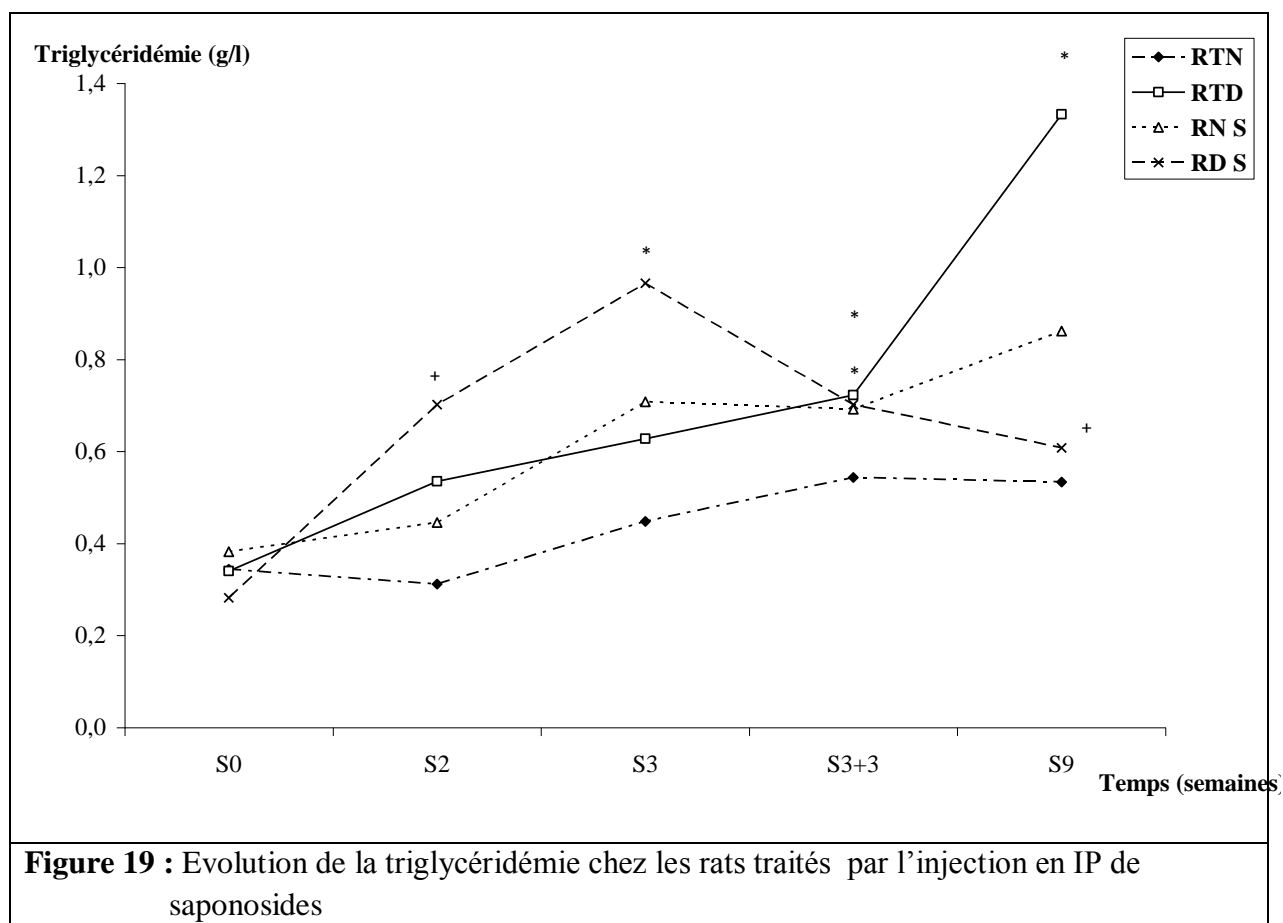
* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques



Figure 18 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'injection en IP de flavonoïdes

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

Pour la variation de la triglycéridémie, l'injection des saponosides entraîne une diminution du taux des triglycérides (Fig.19).



* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$
 + $p < 0.05$; ++ $p < 0.01$; +++ $p < 0.001$; ++++ $p < 0.0001$
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

Les rats diabétiques traités par l'extrait des flavonoïdes présentent une hypotriglycéridémie pendant les semaines d'expérimentation (Fig.20).

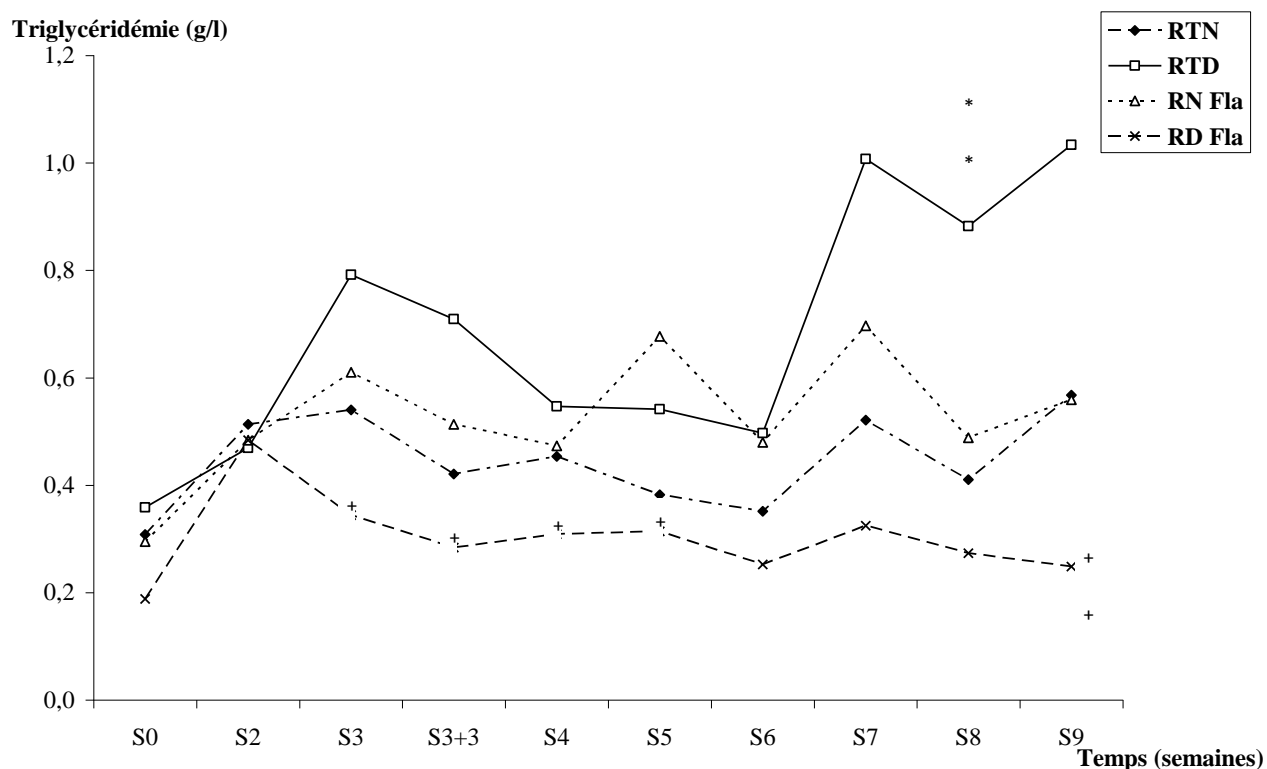


Figure 20 : Evolution de la triglycéridémie chez les rats traités par l'injection en IP de flavonoïdes

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001
 + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001; ++++ p<0.0001
 * : signification par rapport aux témoins normaux
 + : signification par rapport aux témoins diabétiques

Dans le 3^{ème} chapitre, la recherche de l'effet antidiabétique des extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), nous a conduit à des résultats montrant un effet anti-hyperglycémiant net. Le taux de réduction de la glycémie chez les rats diabétiques observé est variable en intensité et dans le temps, selon la nature de l'extrait ou le mode d'extraction, sa composition et la concentration relative de chacun de ses composants. Leur mécanisme d'action en dépendra en conséquence.

L'injection de 65 mg/kg de streptozotocine (STZ) provoque la destruction sélective partielle des cellules β des îlots de langerhans entraînant une hyperglycémie chronique et une altération

du métabolisme lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion d'insuline (Giroud *et al.*, 1988 ; West *et al.*, 1996 et Szkudelski, 2001).

L'injection intra-péritonéale de l'extrait brut aqueux aux rats diabétiques induit une diminution de l'hyperglycémie de l'ordre de 57.6% après 4 heures et se maintient jusqu'à la cinquième semaine.

Les travaux réalisés chez les lapins normaux indiquent que l'administration orale de l'extrait aqueux (300 mg/kg) de *Citrullus colocynthis* induit une réduction de la glycémie après 1 heure et elle est hautement significative après 2, 3 et 6 h (Abdel-Hassan *et al.*, 2000).

De même, l'effet de l'extrait butanolique de *Ziziphus spina christi* testé sur des rats normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine enregistre une réduction de la concentration du glucose plasmatique et une augmentation du contenu hépatique en pyruvate après 4 semaines du traitement (Glombitza *et al.*, 1994).

L'extrait aqueux des feuilles de *Cocculus hirsutus* (250, 500 et 1000 mg/kg) réduit la glycémie significativement chez les souris rendus diabétiques par l'alloxane (Badole *et al.*, 2006).

Chez les rats diabétiques traités par les saponosides, une amélioration de l'homéostasie glucidique est observée par rapport aux rats témoins diabétiques mise en évidence par la diminution significative de la glycémie jusqu'à des valeurs quasi-normales avec disparition de la glycosurie 48 h après l'injection.

Cette correction de la glycémie persiste pendant 5 semaines après une injection unique de l'extrait.

Ces résultats sont confirmés par l'effet hypoglycémiant des saponosides extraits de l'épicarpe de *Citrullus colocynthis* testés sur des lapins rendus diabétiques par l'alloxane, après l'administration par voie orale des différentes doses de saponosides (5, 10, 15 et 20 mg/kg) à court terme (0, 1, 2, 3, 6,8 et 24h). Les résultats obtenus montrent l'efficacité des saponosides à 20 mg/kg à partir de la première heure (Abdel-Hassan *et al.*, 2000).

Pour l'extrait des flavonoïdes, après deux injections à une semaine d'intervalle à une dose de 11.2 mg/kg, une amélioration significative du métabolisme glucidique est observée.

L'administration orale des flavonoïdes extraits de *Cuminum nigrum* à une dose de 0.5 à 1.5 g/l à des lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane, permet d'enregistrer une réduction de la glycémie. Ceci peut être dû à une stimulation de l'insuline et/ou une propriété insuline-like (Ahmed *et al.*, 2000).

Une mixture de biflavonoïdes obtenus à partir de *Garcinia kola*, produit un effet hypoglycémiant lorsqu'elle est administrée par voie intra-péritonéale à des lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane à une dose de 100 mg/kg (Iwu *et al.*, 1990).

Les résultats des analyses biologiques *in vivo* (à court et à long terme et même après une hyperglycémie provoquée par voie orale) obtenus dans notre étude montrent bien les effets antihyperglycémiant des extraits d'alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis*.

La détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) des alcaloïdes totaux administrée par voie intra-péritonéale chez les rats Wistar nous a permis de confirmer la toxicité relative de cet extrait, qui a été de 800mg/kg, et d'estimer la dose efficace non toxique à injecter aux rats, qui a été 60 mg/kg .

Cette dose est proche de celles injectées par Abdel-Hassan *et al.* (2000) : 50mg/kg d'alcaloïdes de l'épicarpe de *citrullus colocynthis* administré aux lapins normaux par voie orale, et celles injectées par Costantino *et al.* (2003) : 50mg/kg et 63.4 mg/kg des différents extraits d'alcaloïdes isolés de *Tecoma stans* administrés par voie orale chez des souris *db/db* et celles de Marles et Fransworth (1996) : 100 mg/kg p.c. de leurosine sulfate et vindoline hydrochloride, deux alcaloïdes isolés de *Catharanthus roseus* L., administrés par voie orale (Marles et Fransworth 1996 ; Abdel-Hassan *et al.*, 2000 ; Costantino *et al.*, 2003).

D'après les différentes analyses biologiques *in vivo* que nous avons réalisées sur les effets antidiabétiques d'extraits d'alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis*, il a été constaté que cet extrait a un effet antihyperglycémiant : il provoque une diminution de l'hyperglycémie de l'ordre de 49.5%, 4 heures après une injection intra-péritonéale de 80 mg/kg du poids corporel des rats diabétiques. Cette diminution persiste 3 semaines avant le retour de l'état d'hyperglycémie.

Par contre, il n'a pas été noté de changements significatifs de la glycémie entre les rats diabétiques traités par une injection intra-péritonéale de 60mg/kg p.c d'alcaloïdes totaux et les rats témoins diabétiques après une hyperglycémie provoquée par un gavage intra gastrique de 2.5g/kg.

L'effet anti-hyperglycémiant des alcaloïdes des différentes plantes antidiabétiques est confirmé dans la littérature, notamment les travaux suivants :

- Des alcaloïdes isolés à partir des fruits de *Momordica charantia* L., famille des cucurbitacées ont un effet antihyperglycémiant sur des souris rendues diabétiques par la STZ (Day *et al.*, 1990).

- De même, l'administration intra-péritonéale d'un alcaloïde pyrimidine nucléoside (Vicine) extrait des fruits de *Momordica charantia* L. cause un effet hypoglycémiant chez des rats normaux à jeun (Raman et Lau, 1996).

L'administration d'un extrait des feuilles de figue (*Ficus carica* L.) famille des Moracées, préparé par décoction des feuilles avec du HCl, traité par du NaOH et extrait par du chloroforme (mode d'extraction des alcaloïdes) provoque une diminution de l'hyperglycémie chez des rats diabétiques (Canal *et al.*, 2000).

L'administration de tecomine et tecostanine, deux alcaloïdes isolés des feuilles de *Tecoma stans* famille des bignoniacées, provoquent une diminution de la glycémie chez des lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane (Hammouda et Amers, 1966). De même, des recherches *in vitro* sur la tecomine montrent qu'elle stimule la captation du glucose au niveau des adipocytes à $6.76 \cdot 10^{-9}$ M chez des rats normaux (Costantino *et al.*, 2003).

La dose létale DL_{100} de l'extrait des glycosides cucurbitacines chloroformiques est de 300mg/kg p.c, et la dose médiane DL_{50} est de 200mg/kg p.c. La dose injectée dans les tests biologiques est estimée à 20mg/kg p.c.

Les résultats des analyses *in vivo* obtenus montrent un effet antihyperglycémiant de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis*.

Il a été constaté que l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines provoque une diminution de l'hyperglycémie de l'ordre de 40% chez les rats diabétiques 4 heures après une injection de 20mg/kg p.c. Cette diminution persiste à long terme pendant 5 semaines. De même il n'a pas été noté de changements significatifs chez les rats normaux traités par l'extrait par rapport aux rats témoins normaux.

Il a été noté aussi une diminution régulière de l'hyperglycémie provoquée par voie orale chez les rats diabétiques traités par injection intra péritonéale de 20mg/kg p.c de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines qui atteint 36.2% après 4 heures. La diminution provoquée par l'extrait chloroformique est comparable avec celle du Glibenclamide (antidiabétique oral commercialisé, famille des sulfamides). Il semble donc que cette fraction assure une meilleure utilisation périphérique du glucose (une amélioration de la tolérance au glucose).

Plusieurs recherches confirment l'effet antidiabétique de l'extrait chloroformique des glycosides citant :

- L'administration par voie orale de 50 mg/kg des glycosides extraits de l'épicarpe de *Citrullus colocynthis* (la coloquinte) provoque une diminution significative de la

glycémie après 2h et 3h et très significative après 6h chez des lapins normaux (Abdelhassan *et al.*, 2000),

- L'administration intra-péritonéale de 300mg/kg d'extrait chloroformique de *Parmentiera edulis* DC famille des Bignoniacée provoque une diminution de la glycémie de 43.75% chez des souris diabétiques et 29.61% chez des souris normales.
- De même, l'administration intra-péritonéale de 300 mg/kg d'extrait chloroformique de *Bouvardia ternifolia* Schlecht, Famille des Rubiacée provoque une diminution de la glycémie de 58.6% chez les souris diabétiques et de 33.4% chez les souris normales (Perez-Gutierrez *et al.*, 1998).
- L'extrait chloroformique des fleurs de *Musa sapientum* (Banane) famille des Musacée a un effet antihyperglycémiant et antioxydant chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane (Pari et Umamaheswari, 2000).

La dose unique (150mg/kg p.c) d'extrait éthanolique de *Gynura procumbens* Merr. famille des Astéracée, administrée par voie orale, provoque une diminution significative de la glycémie chez les rats rendus diabétiques par la STZ. De même, ils n'a pas été noté d'effet hypoglycémiant chez les rats normaux (Zhang et Tan, 2000).

CONCLUSION

En conclusion, le régime standard équilibré administré au rat des sables provoque des perturbations:

- Hyperglycémie, hyperinsulinémie et hyperlipémie,
- Diminution de la prolifération des lymphocytes spléniques B et T en présence de différents mitogènes.

Ces perturbations, dans les processus immunologiques, seraient la conséquence des mécanismes primaires qui apparaissent dans le diabète insulino-dépendant.

Les résultats obtenus dans la 2^{ème} partie suggèrent que l'homéostasie du calcium intracellulaire libre $[Ca^{2+}]_i$ des lymphocytes T et leur fonctionnement altérés chez les rats diabétiques, pourraient contribuer à une immunosuppression dans cette maladie.

A la lumière des résultats obtenus dans la 3^{ème} partie, nous pouvons conclure que les doses de 60mg/kg p.c. d'alcaloïdes totaux et 20 mg/kg d'extraits chloroformiques des glycosides cucurbitacines, extraites des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*); administrées par voie intra-péritonéale aux rats wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine (65mg/kg), ont un effet antihyperglycémiant (à court et à long terme), corrigeraient les désordres métaboliques glucidiques (hyperglycémie) et même probablement les autres perturbations métaboliques.

Ainsi, les résultats obtenus pour l'extrait brut aqueux, les saponosides et les flavonoïdes administrés par voie intra-péritonéale à des doses de 2.5 g/kg, 20 mg/kg et 11.2 mg/kg respectivement montrent des effets antihyperglycémiant remarquables.

Ces travaux ouvrent la voie de la recherche de nouvelles molécules antidiabétiques à effets probablement périphériques et qui seraient de bons candidats pour remplacer et améliorer les effets des biguanides. Il serait intéressant :

- D'élargir l'enquête ethnobotanique à d'autres régions de l'Algérie,
- De Rechercher les effets toxiques aigus et chroniques de ces extraits,
- D'utiliser d'autres modèles animaux expérimentaux pour confirmer les résultats obtenus,
- De doser d'autres paramètres biochimiques plasmatiques : insulinoémie, glucagonémie, hémoglobine glycosylé...,
- D'effectuer une étude *in vitro* de l'action de ces fractions d'extraits de coloquinte sur les cellules β pancréatiques isolées et sur les tissus périphériques insulinosensibles isolés (foie, muscle et tissu adipeux).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdel-Hassan I, Abdel-Barry JA, Mohammeda ST (2000).The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol.*, **7**, 325-330.

Absolonne J. (1994). Alimentation des diabétiques. Dans Assal J P H, Ekoe J H, Lefebvre P et Slama G Reconnaître, comprendre, traiter : le diabète sucré. 2^{ème} édit Maloine. Chap 9: 79-85.

Ahmed M, Akhtar MS, Malik T, Gilani AH (2000).Hypoglycaemic action of the flavonoid fraction of *Cuminum nigrum* seeds. *Phytother Res* **14**(2), 545-548.

Ahrén B et Corrigan C B; (1984). Intermittent need for insulin in a sub group of diabetic patients in Tanzania.*Diabetes Med* ; **2**: 262–64.

ANAES (l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé) , (2000). Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. Service des Recommandations et Références Professionnelles. Paris ; I.S.B.N : 2-910653-73-0

Anderson G H; 1996. Les glucides dans la régulation du bilan énergétique. GLUCIDES-INFO.2.

Aouichat - Bouguerra S., Bourdillon MC, Bekkhoucha F. et Y. Dahmani, (2001) - Cholesterol activity and production of type I and III collagen by cultured smooth muscle cells of non insulino dependent diabetic *Psammomys obesus*. 69^{ième} Congrès de la Société de Physiologie, Montpellier, 5 – 7 septembre 2001.

Ar'Rajab A et Ahren B. (1993) .Long-term diabetogenic effect of streptozotocin.*Pancreas*; **8**.1,50-7.

Assan R, Larger E et Bertin E ; (1994). Le diabète des polyendocrinopathies autoimmunes : aspects pratiques. *Diabète métab* ; **20**: 64-70.

Assan R, Perronne C, Assan D, Chotard L, Mayaud C, Matheron S et al.; (1995). Pentamidine–induced derangements of glucose homeostasis. *Diabetes Care.*, **18**: 47-55.

Azzi R, Djaziri R, Lahfa F, Sekkal FZ, Benmahdi H and Belkacem N. (2012). Ethnopharmacological Survey Of Medicinal Plants Used In The traditional Treatment Of Diabetes Mellitus In The North Western And South Western Algeria. *J. Med. Plants Res.* **6**(10), 2041-2050..

Bach JF (1993) le traitement immunosuppresseur des maladies auto-immunes. Aujourd'hui *Immunol.*, **14**,322 326.

Badole S, Patel N, Bodhankar S, Jain B, Bhardwaj S (2006). Antihyperglycemic activity of aqueous extract of *cocculus hirsutus* Diels (L.) in alloxan-induced diabetic mice. *Indian J. Pharmacology.*, 49-53,

Bagdade JD (1976) phagocytaires et la fonction microbicide dans le diabète sucré. *Endocrinol Acta* (kbh) **83** (Suppl 205), 27-33.

Bagdade, J. D., Roor, R. K., and Bulger, R. J. (1974). *Diabetes* **23**, 9.

Bagdade JD, Roo RK, Bulger RJ (1971) Altération de la fonction des leucocytes chez Les patients atteints de diabète mal contrôlé. *Diabète* **23**, 9-15

Bagri P., Ali M., Aeri V., Bhowmik M., Sultana S. (2008). Antidiabetic effect of *Punicagranatum* flowers: effect on hyperlipidemia pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology*.S0278-6915 (08) 00555-3.

Bailey C J et Day C, (1989). Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Car.*, **12** (8): 553-564.

Banarjee S P et Dandiya P.C; 1967. *J.pharm.Sci*; **56**: 1665.

Bar RS, Kahn CR, Koren HS, (1977) l'inhibition de l'insuline de la cytotoxicité dépendante des anticorps et des récepteurs de l'insuline dans les macrophages. *Nature*. **265**, 632-635.

Barcelo A ; 1996. Série de monographies sur les maladies liées au vieillissement : diabète sucré non insulino-dépendant (DNID). vol17 ; n°1.

Bastard.Jp, Vigouroux C et Capeau J; 2001. Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance. *Encycl Méd Chir, Endocrinologie-Nutrition* ; **10**-363-A-10.

Barrett-Connor E; 1980.The prevalence of diabetes mellitus in an adult community as determined by history or fasting hyperglycemia.*Am J Epidemiol*; **111**: 705-12.

Baudin G; 2001. biologie du diabète: Imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire.*, **25**.2: 55-60.

Belarbi CD. (1990) – "Effets de la thérapeutique aux sulfamides hypoglycémisants sur les troubles lipidiques et les complications vasculaires entraînées chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) rendu diabétique. Stade du diabète de la maturité par un régime atherogène". *These de Magister*, ISN, USTHB, Alger.

Benariba, N., R Djaziri, B. Tabti, F. Lahfa, M C. Kaltenbacher, M. Pinget et C. Damgé.(2004). Effet antidiabétique des extraits de graine de *Citrullus colocynthis* chez le rat diabétique. E2MED, Nice France, 23-27 mars 2004.

Benmehdi H, Azzi R, Djaziri R, Lahfa F, Benariba N and Tabti B. (2011) Effect of Saponosides Crude Extract Isolated From *Citrullus Colocynthis* (L.) Seeds On Blood Glucose Level In Normal And Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *J. Med. Plants Res.*, 5(31), 6864-6868.

Benmehdi, H., B. Tabti, H. Allali, J.Kajima Mulengi, F. Lahfa and R. Djaziri, (2008),Hypo and antihyperglycaemic effect of *Citrullus Colocynthis* L. seeds in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian J. Chem.*, **20**, No. 4 2711-2718.

Bergh CH, Hjalmarson A, G Holm, Angluald E, B Jacobsson (1988) Etudes sur l'échange de calcium dans les plaquettes dans le diabète humain. *Eur J Clin Invest* **18**, 92-97.

Bhuyan, B. K. (1970). *Cancer. Res.* **30**, 2017.

Blickle. J.F; 1999. traitement oraux du diabetes; Encycl Med Chir (E.M.C) ; Elsevier, Paris ; Endocrinologie- Nutrition 10-366-R-20.

Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco.*Int J Diab Metab.*, **10**, 33-50.

Bouatia-Naji. N (2009). La génétique de la glycémie à jeun pour comprendre le diabète de type 2.*Génomique et physiologie moléculaire des maladies métaboliques*, CNRS UMR8090, 320, 1085-8.

Bouderba S. (1985) -"Effets de regimes hypocaloriques sur le syndrome diabetique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) et les complications vasculaires". *These de Magister*, ISN, USTHB, Alger, 1985.

Boudiba. A; (2000). Nouvelles approches thérapeutiques. Cahier de santé n°8 spécial. Diabetologie: 29-33.

Bruneton J; 1999. Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 3^{ème} édition.

Burkill H M; 1985.The useful plants of west tropical Africa.Families A-D.Royal Botanic Garden; Voll. Kew, UK.

Byrne M, Sturis J, Menzel S, Yamagata K, Fajans S, Dronsfield M J et al.; (1996). Altered insulin secretory response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects with mutations in the diabetes susceptibility gene MODY 3 on chromosome 20. *Diabetes*; **45**: 1503-10.

Canal JR, Torres MD, Romero A, Perez C (2000). A chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiol Hung* **87**, 71-76.

Carter SK, Broder LetFriedman M; 1971. Streptozotocin and metastatic insulinoma. *Ann Intern Med.*, **74**: 445-446.

Charbonnel B et Cariou B ; 1997. Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique* ; **3** : 103-11.

Chicouri M J; 1983. Diabète : Les conseils du Dr Chicouri. édition M.A. Paris : 11-13, 61-67.

Colman, P. G. and Eisenbarth, G. S. (1987). *Postgrad. Med.* **81**, 146.

Colombani, P. M., Robb, A. and Hess, A. D. (1985). *Science.* **228**, 337.

Cooper G, Platt R (1982) des bactéries *Staphylococcus aureus* chez les patients diabétiques, l'endocardite et de la mortalité. *Am J Med* , **73** 658-662.

Costantino I, Raimondi I, Pirisino R, brunette T, Pessotto P, Giannessi F, Lins AP, Barlocco D, Antolini L, EL-Abady (2003). Isolation and pharmacological activities of the *Tecoma stans* alkaloids. *IL Farmaco* **58**, 781-785.

Crété P; 1965. Précis de Botanique. Systematique des Angiospermes 2^{ème} édit Masson; Tome II: 380.

Dafni, A., Z. Yaniv, and D. Palevitch ; 1984. Ethnobotanical survey of medicinal plants in Northern Israel. *J. Ethnopharmacol.* **10**: 295-310.

Dahmani Y (1981). Approches biologiques d'un modèle expérimental pour l'étude du diabète : Le rat des sables (*psammomys obesus*), morphologie du pancréas endocrine et métabolisme de l'adipocyte après régimes hypo et hyper calorique. *Thèse de doctorat d'état*.

De Broucker H; (1986) .problemes Quotidiens du diabete ; Si l'obese devient diabetique ; N200.

Derot M; 1977. précis de diabétologie. édition Masson: 1-2.

Djakoure Charlotte et Didier Gouet, Jean-Claude Babin, Richard Marechaud, Catherine Chubilleau, Melanie Pubert et Nathalie Texier, Martine Vivier-Darrigol ; (2010). Agence régionale de sante Poitou-Charentes dans le cadre de la convention d'objectifs et de moyens (COM 2010-2011).Poitou-Charentes bulletin d'observation de la santé.

Dey-Anoja S., Chun-Su Y., (2002). Thérapies alternatives pour le diabète de type2. *Altern Med.*, **7** (1): 45-58.

Domart A et Bourneuf J; 1986. Nouveau Larousse Médical. Paris ; n°13515 : 320-22

Dornan T; 1994. Diabetes in the elderly: epidemiology. *J R Soc Med*; **87**: 609-12.

Dresse I. Hagon-Traub,M. P. Hirsiger, P. Bovet, J. Ruiz, Dresse I. Peytreman- Bridevaux,C. Noth, Hauschild ; (2010). Programme Cantonal Diabète. Présentation du programme Rapport technique. Service de la santé publique.

Duke J A; 1978. The quest for tolerant germplasm.. In: ASA Special Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. *Am. Soc. Agron. Madison, WI*: 1-61

Eddouks M. Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri A., (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, **5**: 194-203.

Esquinas-Alcazar J T et Gulick P; (1983). Genetic resources of Cucurbitaceae.Int. Board for Plant Genet.Resources, Rome.

Everhart J, Knowler WCetBennett PH; (1985).Incidence and risk factor for non-insulin-dependent diabetes mellitus. Dans: National Diabetes Data Group, réd. Diabetes in America. Diabetes data compiled 1985. US Department of Health and Human Services. Chap IV: 1-35.

Fasce CF (1982). Serum cholesterol determined colorimetrically with enzyme. *Clin Chem* ; **8**, 901.

Faure P,(2001). Stress oxydant et diabète, Oligothérapie, Grenoble. In NUTRANEWS " Science, Nutrition, Prévention et Santé " ; Avril 2001: 2.

Feskens E J, Bowles C H et Kromhout D;(1991). Carbohydrate intake and body mass index in relation to the risk of glucose intolerance in an elderly population. *Am J Clin Nutr*; **54**: 136-40.

Fisch A, Pichard E, Prazuck T, Leblanc H, Sidibe Y et Brucker G; (1987). Prevalence and risk factors of diabetes mellitus in the rural region of Mali (West Africa): a practical approach. *Diabetologia*; **30**: 859-62.

Fossati P, Prencipe L; 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*; **28**:2077-2080.

Fosse, Assogba, C. Couchoud, S. Benedicte, C. Roudier, I. Romon Et A. Fagot-Campagna; (2010). Les complications rénales du diabète : dépistage, prise en charge médicale et tendances 2001–2007, selon les études Entred. Résumés des communications de la réunion scientifique de la SFD et de la SFD Paramédicale. *Diabète et Métabolisme*, Volume 36, Supplément 1, March 2010, Pages A40-A41.

Fouché J G, Marquet A et Hambuckers A; (2000). Observation du monde des plantes. Les plantes médicinales de la plante au médicament. Liège.

Garcia, B. Bauduceau, L. Bordier, O. Dupuy, and H. Mayaudon ; (2010). La prise en charge du diabète de type 2 : l'HbA1c reste-t-elle le seul objectif ? *Médecine Nucléaire*, Volume 34, Issue 10, October 2010, Pages 560-563
Golay A; (1994). étiologie du diabète de type 2. dans Assal J P H, Ekoe J H, Lefebvre P et Slama G; Reconnaître, comprendre, traiter : le diabète sucré. 2^{ème} édit Maloine ;chap11: 105-108.

Gerald Karp; (1996). Cell and Molecular Biology: concepts and experiment. Edit. DeBoek University US: 669-71

Gelfand, E. W., Cheung, R. K. and Grinstein, S. (1984). *J. Cell. Physiol.* **121**,533.

Ghouali, M., Hamrat A.K, Meharhera, S., Zemerline, S., Bekkar, Y. Bellahsene, Z.; (2009). L'hémoglobine glyquée (HbA1c), âge du diabète et ses complications. Société Algérienne de Biologie Clinique. Association des Laboratoires d'Analyses Médicales. Page ; 18-19.

Giroud JP, Tchobrotsky J, Slama G, Chast F (1988). Pharmacologie clinique: base de la thérapeutique. Expansion Scientifique Française 2^{ème} éd. 1921 : 2311-12.

Glombitza KW, Mahran GH, Mirhom YW, Michel KG, Matawi TK (1994). Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Ziziphus spina christi* in rats. *Planta Med*, **60**, no. 3, pp 244-7.

Grimaldi A; (1999). Diabétologie. Questions d'internat. CHU-PS; N° 330-331: 10-127

Grimaldi A et Timsit J; (1996). Physiopathologie du diabète de type 1. Les diabètes : Comprendre pour traiter ; 4: 54-70.

Groop, L. C., Bottazzo, G. F. and Doniach, D. (1986) Islet cell antibodies identify latent type 1 diabetes in patients aged 35-75 years at diagnosis. *Diabetes*. **35**, 237-241.

Gryniewicz G, M Poenie, Tsien RY (1985) Une nouvelle génération de Ca²⁺ + indicateurs avec des propriétés de fluorescence grandement améliorée. *J Biol Chem* **260**: 3440-3450.

Guignard J.L, Cosson L et Henry M, 1985. Abrégé de phytochimie. Ed Masson. P: 175-203

Haddar O. (1995). " Effets des cytokines (IL-1 α , IL-2 et IFN- γ) sur l'insulino-secretion in vitro chez le rat des sables (normal, obese et diabetique) et le rat wistar. Influence du jeune". *These de Magister*.

Hadzija M, M Slijepcevic, Sverko V, T Marotti, Poljak Blazi M (1984) .de récupération du système immunitaire chez les souris diabétiques après une transplantation d'îlots de Langerhans isolés. *Diabetologia* **27**, 93- 95.

Halimi S et coll.; (1999). traitement médicamenteux du diabète de type 2 . Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

Halimi S, Benhamou PY ; (1997). Critères diagnostiques du diabète non insulino-dépendant et dépistage dans la population générale. Diagnostic et traitement. In médecine thérapeutique ; Vol 3, hs.

Halimi S; (1994). Complications. In Tournaire J. Endocrinologie. Diabète Nutrition: 323-41

Halimi S et P Y Benhamou. (1992). La mise a l'insuline du diabétique non-insulinodépendant. Grenoble. ; 2.

Hammouda Yet Amers M S; (1966). Antidiabetic effect of tecomine and tecostanine. *J Phar Sci*; **55**: 1452-54.

Harborne J B; (1998). Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman & Hall Thomson Science (UK); 3ème ed.: 203-234.

Harris M I; (1984). Prevalence of non-insulin-dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. In: National Diabetes Data Group, red. Diabetes in America. Diabetes data compiled; 1985. US Department of Health and Human Services. Chap VI: 1-31.

Herklots G A C; (1972). Vegetables in south-east Asia. George Allen & Unwin, London

Hunt P, Eardley DD (1986) .Des effets supprimeurs de l'insuline et l'insuline comme facteur de croissance I (IGF-I) sur les réponses immunitaires. *J Immunol*, **136**, 3994-3999.

Imboden, J. B. et Stobo, J. D. (1985). *J. Exp. Med.* 161,446.

Irvine, W. J. (1977). *Lancet* i, 638.

Jacoby R.M, Nesto R.W. 1992 Acute myocardial infraction in the diabetic patient: path physiology, clinical course and prognosis. *Jam Call Cardinal.*; **20**: 736-744.

Jacks T H, Hensarling T P et Yatsu L Y; (1972). Cucurbit seeds: I. Characterizations and uses of oils and proteins, a review. *Econ. Bot.* **26**:135-41.

Khalkhal, A., Haddar A., Semiane N.; Mallek A, Abdelmalek A, Castex F, Gross R, Dahmani Y., (2012). Obesity, insulin resistance and diabetes in the sand rat exposed to a hypercaloric diet; possible protective effect for IL1-b. *C. R. Biologies* **335** 271–278

Khalkhal A. (1990) -"Influence du regime restrictif sur les troubles lipidiques et les complications vasculaires entrainees chez rat des sables (*Psammomys obesus*) rendu diabetique (stade du diabete de la maturite) par un regime hypercalorique enrichi en cholesterol". *These de Magister*. ISN-USTHB, Alger.

Kammoun, M. Hachicha, H. Aloulou, L. Sfaihi, L. Trabelsi, I. Chabchoub ; (2010). Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et évolutives du diabète de type 1 chez les enfants de moins de 5 ans. Résumés des communications de la réunion scientifique de la SFD et de la SFD Paramédical. *Diabète et Métabolisme*, Volume 36, Supplément 1, March 2010, Pages A63-A64

Khemic D. (1985) -" Effets d'un sulfamide (le gliclazide) sur le syndrome diabetique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) et les complications vasculaires" *These de Magister*, ISN, USTHB, Alger.

Klein R, Klein BE, Moss SE, DeMets DL, Kaufman I et Voss PS; (1984). Prevalence of diabetes mellitus in southern Wisconsin. *Am J Epidemiol*; **119**: 54-61.

Koceir E A, Y. Dahmani and X. Leverage. (2003). Low rate of glucose 6 phosphate hydrolysis in liver cells is a physiological feature of non diabetic wild *Psammomys obesus*. *Diabetes Metabolism*, **29**, 112.

Koceir EHA. (1985) -" Diabete sucre chez le rat des sables (*Psammomys obesus*). Etude in vitro du metabolisme du foie. Donnees histochimiques et histoenzymologiques. Influence de la therapeutique antidiabetique ". *These de Magister*. 1985. ISN-USTHB, Alger.

Kohnert, K. -D., Odeselius, R., Falt, K., Ziegler, B., Ziegler, M. et Falkmer, S. (1987). *Diabetes Res.* **5**, 1.

Kuusisto J, Mykkänen L, Pyörälä K, Laakso M; (1994). Non-insulin-dependent diabetes and its metabolic control are important predictors of stroke in elderly subjects. *Stroke*; **25**: 1157-64.

Lahfa. B.F, Dahmani Y , Troutaud. D et P. Deschaux (1995) Nutritional Influences on In Vitro Splenic Lymphocyte Proliferation In *Psammomys obesus* (Rodentia Gerbillidae). *Cell.Mol. Biol Res*, **41**(5). 387-390

Laakso M;(1997). Dyslipidemia, morbidity and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Diab Compl.*, *11*: 137-141, 155.

Larger.E; (1997). Mécanisme d'adition des antidiabétiques oraux. Médecine thérapeutique. Paris; vol3: 97-102.

Lefebvre PJ, Paolisso G, Meludu S, Castillo MJ et Scheen AJ; (1994). Magnésium et diabète. In NUTRANEWS « Science, Nutrition, Prévention et Santé »; Avril 2001: 2-3

Lev E, Amar Z (2002).Ethnopharmacology survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *J. Ethnopharmacol.*, **82**, 131-145.

Lewis C, Barbiers AR; (1960).Streptozotocin, a new antibiotic In vitro and in vivo evaluation.*Antibiot Ann.* **22**:247-254.

Luckasen, J. R., White, J. G. and Kersey, J. H. (1974). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **71**,5088

Ludwig H, M Eibl, Schernthaner G, Erd WR (1976) immunodéficiationce humorale aux antigens bactériens chez les patients avec diabète sucré juvénile. *Diabetologia* **12**, 259 262.

Maccuish, A.C., Urbaniak, S. J., Campbell, C.J. Duncan, L. J. P. and Irvine, W. J. (1974).Phytohemagglutinin transformation and circulating lymphocyte subpopulations in insuline-dépendent diabétique patients. *Diabètes.* **23**: 708-712.

Mahtout S. (1981) -" Approche biologique d'un modele experimental pour l'étude du diabete: le rat des sables. Morphologie, histoenzymologie et ultrastructure de l'aorte et du foie apres regimes hypo et hypercaloriques". *These de 3e cycle*, IB, USTA, Alger.

Massin P, Pâques M et GaudricA; (1999). rétinopathie diabétique, Encyc Mèd Chir. (Elsevier, Paris), Endocrinologie –nutrition, 10-366-K-10, 11P.

Marino, L. et Stadelmann, R. (2010) Quelques nouveautés présentées. 46th Annual

Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)» 1 Forum Med Suisse; 10(46):810–811

Marles RJ, Farnsworth N (1996). Antidiabetic plants and their active constituent.*Prot. J Bot Med* **1** (3), 85-135.

Marles R.J. et N Bormanb R.F. Plants as sources of antidiabetic agents, economic and medicinal plants research. BVol 6.H Wagner and N. R. Farsworth. Ed. Academic Press. London. 1994. Chap.4.

Marquie G., Petkov P., Donev S., Dahmani Y., and Duhault J. (1980).biochemical and ultrastructural studies of pancreatic islets in a desert rodent, the sand rat. (*Psammomys obesus*). *Proc Intern.Union. Physiol. Sci.*, **14**, 2348A.

Marquie, G., Dufour, P., Semmar, S., Michoudet, C., Koceir, HA, Ahmed Bey, D, Bouguerra, S.,Messaoudi, S. (1982). Diabète sucré chez le rat des sables, *Psammomys obesus*. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord. Alger.* **70**, 65-78

Masiello et al., 1981).] Masiello P, Karunayake EH, Bergamini E, G Mellows (1981) 14C streptozotocine: sa distribution et son interaction avec les acides nucléiques et des protéines. *Biochem Pharmacol* **30**: 1907 1913.

Meyre. D, J. Delplanque; (2009).Genome-wide association study for early-onsetand morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet* **41**(2): 157-9.

Merzouki A, Ed-Derfoufi F, Molero Mesa J (2000). Contribution to knowledge of Rifian traditional medicine.II: Folk medicine in Ksar Lakbir (NW Morocco). *Fitoterapia* **71**, 278-307.

Middaugh J, Talbot J et Roche J; (1991). Diabetes prevalence in Alaska, 1984–1986. *Arctic Med Res*; **50**: 107-19.

Mills, G. B., Cheung, R. K., Grinstein, S. and Gelfand, E. W. (1985).*J. Immunol.* **16**, 907.

Milner, S. (1979).*Cell.Biol. Int. Rep.* 3, 35.

Mingrone.G and L. Castagneto-Gissey; (2010).Mécanismes de l'amélioration précoce et/ou de la disparition du diabète de type 2 après chirurgie bariatrique. Department of Internal Medicine, Catholic University, Rome, Italy.*Diabète et Métabolisme*, Volume 35, Issue 6, December 2009, Pages 518-523

Monnier L et Avignon A; 1997. Nutrition et diététique du diabète non insulino-dépendant. *Médecine thérapeutique*; **3**: 87-96.

Morgan NE, Roth RA (1978) action de l'insuline aiguë exige récepteur de l'insuline activité de la kinase, introduction d'un anticorps monoclonal inhibiteur dans des blocs de la cellules de mammifères les effets de l'insuline rapide. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**, 41 45.

Moussa S. (1990). Diabete plethorique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) en etat

d'hypercholesterolemie experimental. Effets des traitements antidiabetiques sur l'aspect morphologique et ultrastructural du pancreas endocrine. *These de Magister*. ISN-USTHB, Alger.

Muschel RJ, Rosen OM, Bloom BR (1977) Modulation de la phagocytose médiée par Fc'AMP cyclique et de l'insuline dans les macrophages comme lignée cellulaire. *Immunol J* **119** 1813-1820.

Nadkarni K M; (1998). Indian Plants and Drugs with their Medical Properties and Uses. In TRAFFIC India. Asiatic Publishing House, Delhi, India.

Natiq A.R.H., Donald A.W., Nahia J.Y (1989). Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry* **28** (4), 1268-1271.

NDDG. National Diabetes Data Group; (1979). Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes*; **28**: 1039-57.

Neela Drs et Amitava Mukherjee; (1997) September. Rural women and food insecurity, in *footsteps England*; **32**: 09.

Nmila R, Gross R, Rachid H, Roye M, Manteghetti M, Petit P, Tijane M, Ribes G, Sauvaire Y (2000). Insulinotropic Effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Medica* **66**, 418-423.

Nuttal F Q et Gannom M C; (1981). Sucrose and disease. *Diabetes Care*; **4**: 305-10.

Omari N. (1990) -" Etude morphologie et ultrastructure du pancreas endocrine chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) normal, diabetique et traite. Comparaison avec la gerbille (*Gerbillus gerbillus*) normale et obese" *These de Magister*. ISN-USTHB, Alger.

OMS Journée mondiale du diabète. (2011). Journée mondiale du diabète. Aide mémoire N°312. Sept 2011. www.who.int/entity/mediacentre/events/annual/world_diabetes_day/fr/ - 26k

OMS ; (1985). Organisation mondiale de la santé. Le diabète sucré : rapport d'un groupe d'étude de l'OMS. Genève: OMS Série de Rapports techniques n°727.

Othmani K. (1989) -" Etude morphologie, histochimique et histoenzymologie du rein de *Psammomys obesus* normal, diabetique et soumis aux traitements antidiabetiques " *These de Magister*. ISN-USTHB, Alger.

Pari L, Umamaheswari J (2000). Antihyperglycaemic activity of *Musa sapientum* flowers: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Phytother Res* **14**, 136-138.

Perlemuter L; 1999. Endocrinologie Nutrition. Impact internat: 36-48

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

Perez-Gutierrez RM, Perez-Gonzalez C, Zavala- Sanchez MA, Perez-Gutierrez S (1998).

Plouffe JF, Silva J, Feket R, Allen JL (1978) Immunité à médiation cellulaire dans le diabète sucré. *Infect 21 immunologie* ; 425 429.

Poutignat et coll., (2007) Poutignat N et coll , 2007. Diabète de type 2. Guide - Affection de longue durée. H AS (Haute Autorité de santé).

Pulido C E et Ospina G A;(2000). Diabetes Mellitus: Fisiopatología, revista de la Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Del Cauca. Carrera N°6, Colombia ; Vol 2 - Sup 1: 5-41.

Radermacker Régis ; (2010). Les antidiabétiques à l'aube du XXIe siècle.*La Revue de la Médecine Générale* n° **270** .février 2010.Page:67-68.

Rakieten N, Rakieten M L et Nadkarni M V; (1963). Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep*; **29**: 91-98.

Raman A, Lau C (1996). anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Phytomedicine* **2**, 349-362.

Riveline Jean-Pierre ; (2009) .Le Diabète de type 2 : Les nouveautés Diabétologue - Centre hospitalier Sud Francilien Corbeil Essonne. Compte rendu de la séance de formation du 17 octobre 2009.EPU-95 Montmorency. Formation Médicale Continue du Val d'Oise Agréée 100-039

Robin J M et Rouchy A; (2001). Le traitement phytonutritionnel du diabète sucré. In *Nutranews*“ Science, Nutrition, Prévention et Santé ”; Avril: 1-11.

Rodier M; 2001. Le diabète de type 1: Imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire.*, **25.2**: 95-101

Romon I, Rey G, Weill A, Jouglu E, Eschwege E,Fagot-Campagna A; (2010). Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France-Synthèse épidémiologique, Institut de veille sanitaire. *Maladies chroniques et traumatismes, Diabète et Métabolisme* ; **36**:A19.

Saltiel AR (1990).les seconds messagers de l'insuline. *Diabetes Care* **13**,244 478.

Sawaya W N, Dagher N J et Khalil J K; (1986). Citrullus colocynthis seeds as a potential source of protein for food and feed in *Journal-of Agricultural and Food Chemistry*; **34**: 2, 285-88.

Schauenberg P, Paris F et Delachaux & niestlé; (1977). Guide des plantes médicinales, Paris: 202.

Simmons D, Williams D R et Powell M J; (1991). The Coventry Diabetes Study: prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in Euripides and Asians. *Q J Med*; **81**: 1021-30.

Slama G;(2010). Diabète de type 2: Principes de traitement par les antidiabétiques oraux, première partie. Synthèse de la téléconférence du 14 janvier 2010 issue du programme diabète, mis en œuvre par l'Université Numérique Francophone Mondiale (UNFM) France, en collaboration avec le Réseau RAFT et Sanofi-Aventis.

Sobngwi E; (2010). Adaptation des protocoles et outils thérapeutiques pour la prise en charge du diabète en milieux défavorisés. Synthèse de la téléconférence du 8 avril 2010 issue du programme e-diabète, mis en œuvre par l'Université Numérique Francophone Mondiale (UNFM), en collaboration avec le Réseau RAFT et Sanofi-Aventis.

Soliman M A, El Sawy A A, Fadel H M, Osman F et Gad A M, (1985). Volatile components of roasted Citrullus colocynthis var. colocynthoides. *Agr. Biol. Chem. Tokyo*; **49**:269-75.

Spurgeon David; (1995). À chacun son rythme. Dans Vents du Sud: La contribution du monde en développement à la science. CRDI: 154. ISBN 0-88936-737-X

Strohm T, Bear RA, Carpenter CB (1975). d'insuline induite pas l'augmentation des cytotoxicité médiation des lymphocytes. *Science* **187**, 1206 1208

Subbaiah, P. V. and Bagdade, J. D. (1982). Host defense in diabetes mellitus: Défective membrane Synthèse during phagocytosis , *Horm, Metabol Res*,**14**, 445-448

Surwit RS, Schneider MS et Feinglos MN; (1992). Stress and diabetes mellitus. *Diabetes Care*; **15**, 10: 1413-22.

Taylor R, Bennett P, Uili R et al.; (1985). Diabetes in Wallis Polynesians: a comparison of residents of Wallis Island and first generation migrants to Noumea, New Caledonia. *Diabetes Res Clin Pract*; **1**: 169-78.

Teuscher T, Baillod P, Rosman J B et al.; (1987). Absence of diabetes in a rural west African population with a high carbohydrate/ cassava diet. *Lancet*; **1**: 765

Tiller CR, Laupacis A, Keown PA, Gardell C, J Dupre, Thibert P, W Wall (1983). Cyclosporine: action, la pharmacocinétique et l'effet dans le modèle de rat BB. *Métabolisme* **32** (suppl 1), 69-72.

Timothy J N G; (1993). New opportunities in the Cucurbitaceae. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), new crops. Wiley, New York: 538-46

Tisch, R. and H Devitt Mc (1996). diabète insulino-dépendant. *Cell* **85**, 291-297.

Tsien, R. Y., Pozzan, T. and Rink, T. J. (1982). *Nature*. 295, 68.

Vaisman S, Reach G, Froguel P, Timsit J et Gallina P; (1997). Le diabète. Fondation pour la recherche médicale (FRM).

Vantyghem M. C, Kerr-Conte J, Arnalsteen L, Defrance F, Gmyr V, Declerck N, Raverdy V, Vandewalle B, Pigny P, Noel C et Pattou F, (2009). Primary Graft Function, Metabolic Control, and Graft Survival After Islet Transplantation. *Diabetes Care*; **32**(8): 1473-1478

Velho G, Froguel P, Médecine thérapeutique vol 3, hors série, octobre (1997)

Verges B L; 1999. Dyslipidemia in diabetes Mellitus. *Diabetes et metabolism*. Paris; Vol 25. sup 3: 32-40.

Verrillo A, De Teresa A, La Rocca S et Giarrusso P C; (1985). Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in a rural area of Italy. *Diabetes Res*; **2**: 301-06.

Whitaker T W et Davis G N; (1962). Cucurbits. Interscience Publishers, Inc., New York.

Wellhausen, S. R. (1986). *Diabetes*. 35, 1404

Weiss R B; (1982). Streptozotocin: a review of its pharmacology, efficacy and toxicity. *Cancer Treat Rep*. 66: 427-438.

White F R; (1963). Streptozotocin. *Cancer Chemother*; **30**: 49-53

Wasfi I A ; (1994). Some pharmacological Studies on *Citrullus colocynthis*. *Journal of Herbs, spices and Medicinal plants*; **2** (2): 65-79.

Wang H.X., Ng T.B., (1999). Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemi, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sci.*, **65** (25): 2663-77.

Wens J, Sunaert P, Nobels F, Feyen L, Van Crombruggen P, Bastiaens H et Van Royen P, (2007).Diabète sucré de type 2. Recommandations de Bonne Pratique : SSMG (Société Scientifique de Médecine Générale) ; N° 2005/12 : 1-70.

West K M et Kalbfleisch J M ;(1970). Diabetes in Central America.Diabetes; 19: 656-63.

Wichtl M et Anton R; (1999). Plantes thérapeutiques, Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec&Doc. In Nutranews " Science, Nutrition, Prévention et Santé "; Avril 2001: 2.

Wolfson D; (2000). Lipoic Acide : Antioxydant Universel, Nutrition's new questions. In Nutranews " Science, Nutrition, Prévention et Santé "; Avril 2001: 2.

Yamaguchi M; (1983). World vegetables. AVI, Westport.

Yukawa, M., Imamura, S., Nagasaki, H. and Mochizuki, K. (1991).Further studies on experimental leptospirosis in mongolian gerbils. *Bull. Col. Arg. Vet. Med. Nihon Univ*, **45**, 294-299.

Zhang XF, Tan BK (2000). Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats.*Singapore Med J*. **41**, 9-13.

Zelmat A. (1990) -" Effets de la thérapeutique aux biguanides antidiabétiques sur les troubles lipidiques et les complications vasculaires entraînées chez rat des sables (*Psammomys obesus*) rendu diabétique (stade du diabète de la maturité) par un régime hypercalorique enrichi en cholestérol".*These de Magister*. ISN-USTHB, Alger.

Zerguini S M; (2000). L'insulinothérapie. Cahier de santé N° 8 spécial. *Diabétologie*: 14-19.

Zimmet P; (1992). Challenges in diabetes epidemiology—from west to rest. *Diabetes Care*; **15**: 232-52.

Zimmet P ;(1982). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes: an epidemiological overview. *Diabetologia*; 22: 399-411.

Zimmet P, Alberti K,Show J, (2001).Global and social implications of the diabetes epidemic. *Nature*, **414**: 782-787.

Zimmet P et King H; (1986). World trend in diabetes epidemiology. Dans: Krall LP, réd. World book of diabetes in practice.Amsterdam: Elsevier: 38-44.

Ziv Eet Shafrir E; (1997). Comment on the review by E. Cerasi and D.J. Gross... - *Diabetes Metabolism*; **23**: 331-332.

Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli, Serhrouchni M, Benjelloun W (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J. Ethnopharmacol.*, **58**, 45-54.

INDEX DES TABLEAUX

Figure	Titre
1	Critères diagnostiques pour le diabète de type 2 [Wens, 2007].
2	Classification prenant à la fois en compte l'étiologie (entrée verticale) et le degré de l'hyperglycémie (entrée horizontale) selon l'OMS [OMS, 1999 ; Gavin et al.,2002].
3	Principaux médicaments hyperglycémisants et leurs sites possibles d'action [Forrest et al, 1971].
4	Chronologie des actions de l'insuline
5	Complications du diabète
6	Escalade thérapeutique dans le diabète de type 2 [Halimi et coll., 2006].
7	valeurs de l'indice glycémique [Les résultats sont des moyennes calculées à partir des sources publiées (indice glycémique du pain blanc = 100)] [Anderson, 1996]
8	Principaux médicaments antidiabétiques oraux [Avignon, 2001].
9	Caractéristiques des classes thérapeutiques.
10	Agents hypoglycémisants des plantes traditionnellement antidiabétiques
11	Composition chimique de <i>Citrullus colocynthis</i> [Duke, 2001]
12	Composition centésimale du régime naturel
13	Composition centésimale du régime Standard
14	Composition de l'aliment « EL ALF » en pourcentage
15	Répartition des lots expérimentaux et injection des extraits des graines de la coloquinte pour les tests antidiabétiques à long terme.
16	Poids et Paramètres biochimique plasmatiques chez le rat des sables <i>Psammomys obesus</i> soumis à deux régimes alimentaires différents.
17	Taux de Thymidine ³ H incorporée par les lymphocytes spléniques en présence de différents mitogènes.
18	Paramètres biochimiques plasmatiques chez le rat de laboratoire normal et rendu diabétique par la streptozotocine
19	Concentrations de calcium intracellulaire libre [Ca ²⁺] i dans les lymphocytes T de rats wistar normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine.

INDEX DES FIGURES

Figure

Titre

- 1 Schéma de la structure de l'insuline.
- 2 Structure moléculaire du récepteur de l'insuline [Gerald, 1996]
- 3 Structure générale des Sulfamides Hypoglycémiant [Blicklé, 1999].
- 4 Structure générale de la metformine [Blicklé, 1999].
- 5 Structure de la streptozotocine.
- 6 Représentation schématique de la voie calcique
- 7 Evaluation de la prolifération des lymphocytes de rats wistar rendus diabétiques par la streptozotocine et les rats témoins.
- 8 Effets de l'insuline et de la cyclosporine A sur la prolifération des cellules T stimulées par un mitogène (PHA) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine
- 9 Effets de l'insuline et de la cyclosporine A sur la prolifération des cellules T stimulées par le mitogène (Con A) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.
- 10 Effets des cytokines sur la prolifération des cellules T stimulées par le mitogène (Con A) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine.
- 11 Effets des cytokines et de la cyclosporine A sur la prolifération des lymphocytes T stimulés par un mitogène (PHA) chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine
- 12 Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP d'extrait brut aqueux durant 9 semaines.
- 13 Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP d'alcaloïdes totaux durant 9 semaines.
- 14 Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines durant 8 semaines
- 15 Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP de saponosides durant 9 semaines.
- 16 Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection en IP de flavonoïdes durant 9 semaines.
- 17 Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'injection en IP de saponosides.
- 18 Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'injection en IP de flavonoïdes.
- 19 Evolution de la triglycéridémie chez les rats traités par l'injection en IP de saponosides.
- 20 Evolution de la triglycéridémie chez les rats traités par l'injection en IP de flavonoïdes.

