

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES



UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY
LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

Effets hépato et néphroprotecteurs de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Gymnema sylvestre* (Apocynaceae) sur l'insulinorésistance induite par le sucrose et la dexaméthasone chez le rat

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Master en Biologie des Organismes Animaux

Option : Physiologie Animale

Par

TCHEUDI TCHOUANKA Balthazar

Matricule : 17Y033

Licence ès-Sciences



Sous la codirection de

NKONO YA NKONO Barnabé Lucien

et

BILANDA Danielle Claude

Maître de conférences

Maître de Conférences

Année 2023

DEDICACE

*Je dédie ce travail à mes parents Madame et
Monsieur TCHOUANKA*

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à rendre gloire au Dieu tout puissant, dont l'amour et l'esprit de discernement m'ont accompagné tout au long de ce travail. Un merci particulier s'adresse :

➤ Au Professeur **BILANDA Danielle Claude** d'avoir accepté de superviser ce travail et d'y consacrer son temps. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour sa rigueur scientifique, ses encouragements et le suivi minutieux de l'évolution de ce travail ;

➤ Au Docteur **NKONO YA NKONO Barnabé Lucien** pour avoir encadré ce travail. Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour sa disponibilité, sa rigueur au travail scientifique, ses conseils, et pour son soutien tant académique que matériel ;

➤ Au Professeur **KAMTCHOUING Pierre** pour le matériel mis à notre disposition au laboratoire de Physiologie Animale ;

➤ Au Professeur **DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré** pour l'intérêt particulier qu'il a porté à ce travail et pour ses conseils qui m'ont été d'une grande aide ;

➤ Aux enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales pour les enseignements, les conseils, les compétences et le savoir-faire qu'ils m'ont transmis tout au long de mon cursus académique ;

➤ Au Docteur **DAMOLAI** pour son expertise dans la récolte et l'identification de la plante ;

➤ A tous mes aînés du laboratoire de Physiologie Animale, en particulier Docteur **BIDINGHA Ronald**, Docteur **OWONA Pascal**, Messieurs **FIFEN Rodrigue**, **KAHOU Rivaldo**, **TCHEUTCHOUA Yannick** et madame **KENGNE Ségolène** pour leurs remarques, leurs conseils et surtout leur aide pendant les manipulations ;

➤ A tous mes camarades de promotion en l'occurrence Messieurs **ADINGA Georges**, **DJOUGUE Roussel**, **NOUKATE Junior**, **BALE Clément**, **MEKA Ivan**, **TAYO Gabriel**, **TSAFACK Loïc**, et Mesdames **NDZIE Marie**, **NGO MBOUMA Antoinette**, **PENDA Marguerite**, **ATEFACK Livana** et **KENMOE Mimosette** pour leurs encouragements et leur aide pendant les manipulations ;

➤ A mes chers parents Madame et Monsieur **TCHOUANKA** qui se sont donnés corps et âmes pour m'apporter du soutien notamment financier et moral ;

➤ A ma grande fratrie **TCHOUANKA** qui m'a toujours conseillé et montré le bon et droit chemin.

➤ A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont j'aurai omis de mentionner.

SOMMAIRE

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES FIGURES	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS	viii
RESUME	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	3
I. 1- Généralités sur l'insuline	3
I. 1. 1- Récepteur et voies de signalisation de l'insuline.....	3
I. 1. 2- Effets métaboliques de l'insuline	5
I. 2- Physiopathologie de l'insulinorésistance.....	5
I. 2. 1- Alimentation et insulinorésistance	5
I. 2. 2- Dexaméthasone et insulinorésistance.....	6
I. 3- Stress oxydant.....	7
I. 3. 1- Radicaux libres.....	7
I. 3. 2- Systèmes de défenses antioxydants.....	7
I. 4- Relations entre stress oxydant et insulinorésistance.....	8
I. 5- Stress oxydant et atteintes hépatiques et rénales.....	9
I. 6- Prise en charge de l'insulinorésistance	10
I. 6. 1- Prise en charge non pharmacologique	10
I. 6. 2- Prise en charge pharmacologique	11

I. 7- <i>Gymnema sylvestre</i>	12
I. 7. 1- Position systématique.....	12
I. 7. 2- Répartition géographique et noms vernaculaires	12
I. 7. 3- Description botanique	13
I. 7. 4- Usages ethnobotaniques et travaux scientifiques antérieurs	13
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	15
II. 1- Matériel.....	15
II. 1. 1- Matériel végétal	15
II. 1. 2- Matériel animal.....	15
II. 2- Méthodes.....	15
II. 2. 1- Extraction aqueuse des botes de <i>Gymnema sylvestre</i>	15
II. 2. 2- Détermination des doses à utiliser	15
II. 2. 3- Préparation des solutions de travail	16
II. 2. 4- Evaluation des effets de l'extrait aqueux de <i>Gymnema sylvestre</i> chez les rats insulinorésistants.....	18
II. 2. 5- Analyse histologique du pancréas, du foie et du rein.....	31
II. 2. 6- Analyse statistique	31
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	16
III. 1- Résultats	32
III. 1. 1- Evolution de la glycémie lors de l'induction de l'insulinorésistance	32
III. 1. 2- Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur la sensibilité des rats à l'insuline	33
III. 1. 3- Effet de <i>Gymnema sylvestre</i> sur la glycémie à jeun des rats insulinorésistants.....	35
III. 1. 4- Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur la variation du poids corporel.....	35
III. 1. 5- Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur le poids relatif du foie et du rein.....	36
III. 1. 6- Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur les concentrations de quelques marqueurs des fonctions rénale et hépatique.....	37
III. 1. 7- Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur quelques paramètres du profil lipidique	39

III. 1. 8- Effet de <i>Gymnema sylvestre</i> sur quelques paramètres du statut oxydant	41
III. 1. 9- Effet de <i>Gymnema sylvestre</i> sur la structure du pancréas, du foie et du rein	42
III. 2- Discussion	44
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	47
REFERENCES	48

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Séquence biologique de l'insuline	3
Figure 2 : Voies de signalisation de l'insuline	4
Figure 3 : Relations entre l'insulinorésistance et le stress oxydant	9
Figure 4 : Photographies des plants frais et des bottes sèches de <i>Gymnema sylvestre</i>	13
Figure 5 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines	28
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la Catalase	31
Figure 7 : Evolution glycémique lors du test d'insulinorésistance à la fin de l'induction de l'insulinorésistance et à la fin du traitement.....	34
Figure 8 : Evolution glycémique lors du test d'insulinorésistance à la fin de l'induction de l'insulinorésistance et à la fin du traitement.....	34
Figure 9 : Evolution glycémique lors du test d'insulinorésistance à la fin de l'induction de l'insulinorésistance et à la fin du traitement.....	34
Figure 10 : Evolution glycémique lors du test d'insulinorésistance à la fin de l'induction de l'insulinorésistance et à la fin du traitement	34
Figure 11 : évolution pondérale des animaux pendant le traitement	36
Figure 12 : évolution pondérale des animaux pendant le traitement	36
Figure 13 : Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur le taux de malondialdéhyde, l'activité de la catalase, les taux de glutathion réduit et de protéines hépatiques et rénaux	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Protocole de dosage du glucose	20
Tableau II : Protocole de dosage de la créatinine.....	21
Tableau III : Protocole de dosage de l'acide urique	22
Tableau IV : Protocole de dosage de la bilirubine directe	22
Tableau V : Protocole de dosage des transaminases.....	23
Tableau VI : Protocole de dosage du cholestérol total.....	24
Tableau VII : Protocole de dosage des triglycérides.....	25
Tableau VIII : Précipitation des VLDL-cholestérol et des LDL-cholestérol.....	26
Tableau IX : Protocole de quantification du HDL-Cholestérol.....	26
Tableau X : Protocole de dosage des protéines	28
Tableau XI : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase	30
Tableau XII : Effet de <i>Gymnema sylvestre</i> sur le poids relatif du foie et du rein.....	37
Tableau XIII : Effet de <i>Gymnema sylvestre</i> sur les concentrations sériques et urinaires de quelques marqueurs des fonctions rénale et hépatique	39
Tableau XIV : Effets de <i>Gymnema sylvestre</i> sur quelques paramètres du profil lipidique....	40

LISTE DES ABREVIATIONS

ADO :	Antidiabétiques Oraux
ALAT :	Alanine Aminotransférase
ASAT :	Aspartate Aminotransférase
ATP :	Adénosine Triphosphate
AU :	Acide Urique
Bil-D :	Bilirubine Directe
Créa :	Créatinine
FID :	Fédération Internationale de Diabète
GLUT :	“Glucose Transporter ”
GS :	<i>Gymnema sylvestre</i>
GPx :	Glutathion Peroxydase
GSH :	Glutathion réduit
GSK :	Glycogène Synthase Kinase
HDL :	“High Density Lipoprotein”
IA :	Index Athérogène
IRS :	“Insulin Receptor Substrate”
LDH :	Lactate Déshydrogénase
LDL :	“Low Density Lipoprotein”
MAP- Kinase :	“Mitogen Activated Protein - Kinase”
MDA :	Malondialdéhyde
MDH :	Malate Déshydrogénase
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PI3- Kinase :	Phosphatidylinositol 3- Kinase
SOD :	Superoxyde Dismutase
TG :	Triglycérides
TNF :	“Tumor Necrosis Factor”
VLDL :	“Very Low Density Lipoprotein”

RESUME

L'insulinorésistance désigne la réduction de la sensibilité des récepteurs à l'insuline. Elle est responsable de plusieurs pathologies pouvant affecter le foie et les reins et peut aboutir à un diabète de type 2. Sa prise en charge repose sur l'utilisation de certains antidiabétiques oraux notamment la metformine et les Thiazolidinediones qui présentent cependant des effets indésirables tels que l'acidose lactique et les problèmes cardiovasculaires d'où la nécessité de faire recours à l'utilisation des plantes médicinales. *Gymnema sylvestre* est une plante traditionnellement utilisée pour traiter de nombreuses pathologies dont les hépatites et les atteintes rénales. La présente étude a été entreprise dans le but d'évaluer les effets hépato et néphroprotecteurs de l'extrait aqueux des bottes de *Gymnema sylvestre* sur un modèle d'insulinorésistance chez le rat. Pour y parvenir, les rats mâles âgés entre 5 et 6 semaines ont été soumis à 20 semaines d'alimentation de type "high sucrose diet" supplémentée d'une solution de sucrose 20 % comme eau de boisson. Ils ont ensuite reçu quotidiennement pendant 7 jours une injection intrapéritonéale de dexaméthasone à 4 mg/kg. Après confirmation de l'insulinorésistance (l'IR), les rats ont été répartis en 6 lots (de 5 animaux chacun) dont les lots témoins normal (T NOR, n'ayant subi aucun traitement) et négatif (T NEG) recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, le lot témoin positif recevant la metformine (200 mg/kg) et 3 lots recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* (50, 100 et 200 mg/kg respectivement) pendant 14 jours. L'alimentation a été maintenue pour les animaux IR. Les glycémies à jeun et les poids ont été relevés pendant la période expérimentale. A la fin du traitement, après évaluation de la glycémie et de l'insulinorésistance, l'urine a été collectée, les rats sacrifiés, le sang et les organes prélevés pour quelques dosages biochimiques et la réalisation des coupes histologiques. L'insulinorésistance a provoqué chez le T NEG une augmentation significative de la concentration sérique de créatinine ($P < 0,001$), d'acide urique (54 %), de bilirubine directe (88 %), d'ALAT ($P < 0,05$), d'ASAT ($P < 0,05$), de protéines (38 %) et de cholestérol (35 %) et une diminution significative de la concentration urinaire de créatinine ($P < 0,001$) et d'acide urique (79 %) en comparaison au T NOR. L'IR a provoqué chez le T NEG un stress oxydant, une infiltration leucocytaire hépatique, une hypertrophie des cellules tubulaires et une hypotrophie des îlots de Langerhans. L'administration de l'extrait aqueux des bottes de *Gymnema sylvestre* a restauré ces paramètres, justifiant ainsi son usage empirique, la dose 100 mg/kg semblant être la plus efficace.

Mots clés : *Gymnema sylvestre*, "high sucrose diet", dexaméthasone, insulinorésistance, statut oxydant.

ABSTRACT

Insulin resistance is the decreased sensitivity of insulin receptors. is responsible for a number of disorders, particularly of the liver and kidneys, and can lead to type 2 diabetes. Its management by conventional medicine is based on the use of oral antidiabetics such as metformin and Thiazolidinediones which, however, present undesirable effects such as lactic acidosis and cardiovascular problems. This raises the need to resort to the use of medicinal plants. *Gymnema sylvestre* is a plant traditionally used to treat many conditions including hepatitis and kidney damage. The present study was undertaken to evaluate the hepato and nephroprotective effects of the aqueous extract of *Gymnema sylvestre* bundles on a rat model of insulin resistance. To achieve this, after weaning, male rats aged between 5 and 6 weeks were subjected to a 20-week high sucrose diet and a 20% sucrose water drink. They then received a daily intraperitoneal injection of dexamethasone at 4 mg/kg for 7 days. After confirmation of insulin resistance the rats were divided into 6 batches (5 animals per batch) including normal (T NOR which was added) and negative (T NEG) control batches receiving distilled water at 10 mL/kg, the positive control batch receiving metformin (200 mg/kg) and 3 batches receiving *Gymnema sylvestre* aqueous extract (50, 100 and 200 mg/kg respectively) during 14 days; while maintaining this diet. Fasting blood glucose levels and weights were recorded during treatment. At the end of the treatment, when blood glucose and insulin resistance were assessed, urine was collected, rats were sacrificed, the blood and organs were collected for the determination of biochemical parameters and for histological sections. The insulin resistance caused in T NEG a significant increased serum creatinine ($P < 0.001$), uric acid (54 %), direct bilirubin (88 %), ALT ($P < 0.05$), AST ($P < 0.05$), proteins (38 %), and cholesterol (35 %), and a significant decrease in urinary creatinine ($P < 0.001$) and uric acid (79 %) compared to T NOR. It caused oxidative stress, hepatic leukocyte infiltration, tubular cells hypertrophy and hypotrophy of the islets of Langerhans in T NEG. Administration of the aqueous extract of *Gymnema sylvestre* bundles restored these parameters, thus justifying its empirical use, the 100 mg/kg dose appearing to be the most effective.

Key words: *Gymnema sylvestre*, high sucrose diet, dexamethasone, insulin resistance, oxidative status.

INTRODUCTION

L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme (Hajar, 2016). Son action se fait par fixation et sensibilisation de ses récepteurs au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux (Debbab, 2021). Cependant, sous certaines conditions telles que les mauvais comportements alimentaires et les effets secondaires de certains médicaments comme la dexaméthasone, ces récepteurs peuvent devenir moins sensibles à l'action de l'insuline : on parle d'insulinorésistance (Genolet *et al.*, 2012). L'insulinorésistance est associée à une hyperglycémie permanente qui est responsable de nombreuses complications notamment au niveau du foie et des reins (Kasangana, 2018). Ces atteintes hépatiques et rénales se manifestent non seulement par des modifications structurales, mais aussi fonctionnelles de ces organes (Papatheodorou *et al.*, 2018). Si cette résistance à l'action de l'insuline n'est pas rapidement prise en charge, elle pourra aboutir à un diabète de type 2 qui représente 90 % des cas de diabète recensés dans le monde, soit 417 millions d'individus en 2019 (FID, 2019). Le diabète a causé la mort en 2017 de 4 millions d'individus dans le monde dont 7,5 % en Afrique (FID, 2019). Au Cameroun, cette pathologie est la cinquième cause de mortalité et tue 2% de la population chaque année (OMS, 2016). D'où la nécessité d'une prise en charge rapide et efficace de l'insulinorésistance. Pendant longtemps, les moyens employés ont fait recours à l'utilisation de certains antidiabétiques oraux (ADO) comme la metformine et les Thiazolidinediones (Debbab, 2021). Cependant, leur utilisation s'accompagne de nombreux effets secondaires tels que l'acidose lactique, l'insuffisance cardiaque, l'infarctus du myocarde et sans oublier leur coût élevé (Romli, 2016).

Les populations pour leurs problèmes de santé, ont recours de plus aux des plantes médicinales qui s'avèrent moins coûteuses et moins néfastes que les traitements conventionnels (OMS, 2007). Cette médecine "douce" gagne le cœur des patients en raison de sa proximité, son prix, son accessibilité et ses effets secondaires limités. Plusieurs plantes ont à cet effet prouvé leur efficacité dans la prise en charge tant de l'insulinorésistance que du diabète et de ses complications. C'est le cas de *Gymnema montanum* (Mohan *et al.*, 2009), *Myrianthus arboreus* (Kasangana, 2018), *Erythrina senegalensis* (Bilanda *et al.*, 2019) et *Garcinia kola* (Nkono Ya Nkono *et al.*, 2021).

Communément appelé "Pa song toum diere" en langue moudang (Nord Cameroun), *Gymnema sylvestre* qui fait l'objet de notre étude est une plante utilisée de manière empirique pour ses effets bénéfiques en médecine traditionnelle. Cette plante est utilisée dans le traitement de diverses pathologies notamment des hépatites, de la glycosurie et d'autres affections urinaires. Ce qui laisse entrevoir ses effets protecteurs sur le foie et le rein. De plus aucune étude scientifique n'a encore confirmé les dits effets. Nous nous

sommes alors fixés pour objectif général dans le présent travail d'évaluer les effets hépato et néphroprotecteurs de l'extrait aqueux des bottes de *Gymnema sylvestre* sur un modèle d'insulinorésistance chez le rat. Il s'agissait plus spécifiquement après avoir induit l'insulinorésistance avec une alimentation de type "high sucrose diet" et la dexaméthasone, d'évaluer les effets de l'extrait sur :

- La sensibilité à l'insuline et la glycémie ;
- Le statut oxydant par le dosage de quelques marqueurs du stress oxydant au niveau du foie et du rein ;
- Les fonctions hépatique et rénale par le dosage de quelques marqueurs de ces fonctions ;
- La structure du pancréas, du foie et du rein par une histologie de ces organes.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I. 1- Généralités sur l'insuline

L'insuline est au sens strict, la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme (Hajar, 2016). C'est un hétéro dimère constitué de deux chaînes polypeptidiques. La chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés) sont reliées entre elles par deux ponts disulfures. Un pont disulfure intracaténaire relie les acides aminés 6 et 11 de la chaîne A (Figure 1) (Romli, 2016).

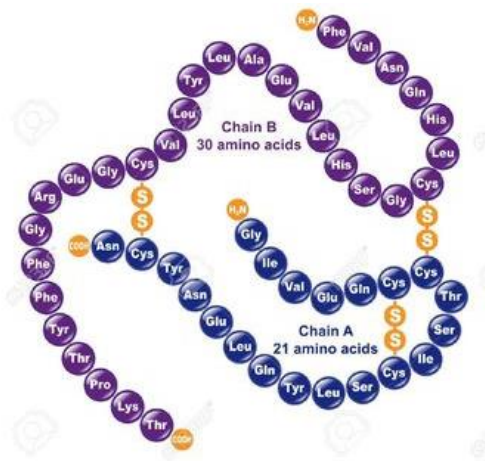


Figure 1 : Séquence biologique de l'insuline (Romli, 2016)

La production de l'insuline est d'avantage stimulée en cas d'hyperglycémie. Cependant, pour agir, l'insuline doit au préalable se fixer sur son récepteur et déclencher plusieurs voies de signalisation.

I. 1. 1- Récepteur et voies de signalisation de l'insuline

Le récepteur de l'insuline appartient à la famille des récepteurs de facteurs de croissance qui possèdent une activité tyrosine kinase. Il est constitué de deux chaînes α extracellulaires reliées par des ponts disulfures à deux chaînes β transmembranaires (Romli, 2016). La fixation de l'insuline sur la sous-unité α conduit à l'autophosphorylation de la sous unité β et ensuite à la phosphorylation des protéines substrats, particulièrement des IRS ("Insulin Receptor Substrate"). La phosphorylation des IRS engendre ensuite une cascade de signalisation intracellulaire impliquant plusieurs substrats intracellulaires et enzymes cytosoliques (Kasangana, 2018). Il existe deux principales voies de signalisation de l'insuline (Figure 2) :

– **La voie de la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3-kinase) :** elle est impliquée en priorité dans les effets métaboliques de l'insuline. En effet, lorsque le récepteur de l'insuline active les IRS, ceux-ci activent à leur tour la PI3-kinase. Une fois activée, la PI3 kinase catalyse la phosphorylation des lipides membranaires et d'autres protéines relais intracellulaires telle que la glycogène synthase (GSK) impliquées dans les effets métaboliques de l'insuline (Kasangana, 2018).

– **La voie de la “mitogen activated protein” (MAP) - kinase :** elle est impliquée en priorité dans les effets sur la croissance et la différenciation cellulaire. En effet, lorsque l'IRS est phosphorylé, il interagit avec des protéines d'adaptation, ce qui conduit à l'activation de la protéine Ras. La protéine Ras activée stimule à son tour les protéines MAPK qui activent alors la transcription de gènes codant pour la prolifération et la différenciation cellulaire (Kasangana, 2018).

En dehors de ces deux principales voies, il existe une autre voie qui favorise le métabolisme du glucose en augmentant sa capture cellulaire (Saltiel et Kahn., 2001).

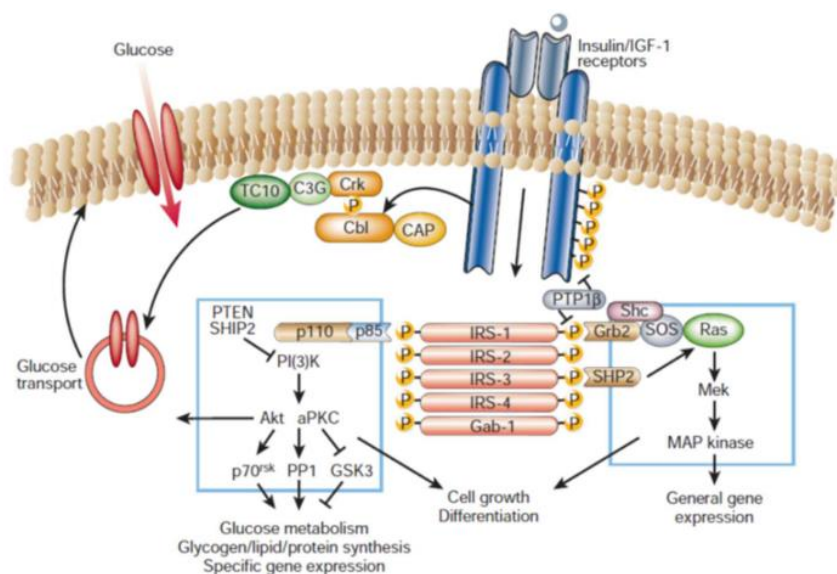


Figure 2 : Voies de signalisation de l'insuline (Saltiel et Kahn., 2001)

La fixation de l'insuline sur son récepteur engendre, au travers de ces différentes voies de signalisation, plusieurs effets dont ceux sur le métabolisme.

I. 1. 2- Effets métaboliques de l'insuline

L'action métabolique de l'insuline s'opère principalement sur trois tissus que sont le foie, les muscles et le tissu adipeux (Debbab, 2021). Au niveau musculaire, l'insuline favorise la pénétration intracellulaire du glucose et la glycolyse. Le glucose est alors soit stocké sous forme de glycogène (glycogénogénèse) soit oxydé pour produire de l'Adénosine Triphosphate (ATP) (Romli, 2016). Au niveau hépatique, elle stimule la glycogénogénèse, inhibe la glycogénolyse, la formation du glucose à partir des substrats non glucidiques (néoglucogénèse) et la synthèse des "Very Low Density Lipoprotein" (VLDL) (Barthe, 2016). Dans le tissu adipeux, la disponibilité accrue en glucose, l'induction de la glycolyse et l'augmentation du captage des acides gras, contribuent à l'enrichissement du tissu en triglycérides et à la lipogenèse (Barthe, 2016). Ces effets de l'insuline nécessitent au préalable sa fixation sur ses récepteurs afin de déclencher la transduction du signal. Cependant, sous certaines conditions, ces récepteurs peuvent devenir moins sensibles à l'action de l'insuline : on parle d'insulinorésistance (Rigalleau *et al.*, 2017).

I. 2- Physiopathologie de l'insulinorésistance

L'insulinorésistance est un état qui se caractérise par une réponse biologique diminuée des tissus périphériques à l'action de l'insuline (Genolet *et al.*, 2012). Bien que les effets de l'insuline sur ses cellules cibles soient multiples, le terme d'insulinorésistance se réfère quasi totalement à son inefficacité sur le maintien de l'homéostasie du glucose (Gounarides *et al.*, 2008). La sensibilité à l'insuline peut être réduite dans de multiples conditions physiologiques (notamment la grossesse et le vieillissement), ou sous l'influence de traitements (corticothérapie, immunosuppression chez les patients greffés...) ou en présence de pathologies (obésité, syndrome métabolique entre autres) (Genolet *et al.*, 2012).

I. 2. 1- Alimentation et insulinorésistance

L'accroissement rapide de la prévalence et de l'incidence de l'insulinorésistance et du diabète de type 2 chez les populations qui ont vécu une transition rapide vers un mode nutritionnel à l'occidentale est l'un des plus importants arguments en faveur du rôle majeur que peut jouer l'alimentation dans l'étiologie de l'insulinorésistance (Romli, 2016). L'alimentation conduisant à une insulinorésistance peut être riche en sucres ("high sucrose diet"), ou en lipides ("high fat diet") (Kasangana, 2018 ; Rigalleau *et al.*, 2017). L'alimentation de type "high sucrose diet" est associée à une hyperglycémie permanente qui est responsable d'une conversion de l'excès de glucose en acides gras, qui s'associent au

glycérol pour former des molécules de triglycérides. Celles-ci sont stockées dans le tissu adipeux sous forme de graisses et leur dépôt sur les membranes cellulaires est à l'origine d'une désensibilisation des récepteurs de l'insuline (Rigalleau *et al.*, 2017). Quant à l'alimentation de type "high fat diet", elle est à l'origine de l'augmentation de la masse grasse. Elle permet un développement important du tissu adipeux, et peut même conduire à l'obésité. le tissu adipeux abondant secrète plus d'adipokynes comme le "Tumor Necrosis Factor α " (TNF α), l'interleukine 6 et la résistine qui accentuent l'insulinorésistance (Kasangana, 2018). Par contre, il secrète moins d'adiponectine et de leptine qui sont insulinosensibilisatrices (Rigalleau *et al.*, 2017), ce qui augmente la résistance des récepteurs à l'insuline. Ainsi, l'alimentation qu'elle soit riche en sucres ou en lipides, peut conduire à une désensibilisation des récepteurs de l'insuline. Tout comme l'alimentation, la prise de certains médicaments tels les glucocorticoïdes, peut également conduire à une insulinorésistance.

I. 2. 2- Dexaméthasone et insulinorésistance

La dexaméthasone est un glucocorticoïde synthétique ayant une forte affinité (50%) avec les récepteurs du cortisol (Genolet *et al.*, 2012). Depuis leur découverte dans les années 1940, les glucocorticoïdes font partie des traitements les plus largement utilisés et les plus efficaces pour contrôler les maladies inflammatoires ou auto-immunes (Genolet *et al.*, 2012). Cependant, leurs effets secondaires métaboliques ne sont pas négligeables, particulièrement sur le métabolisme glucidique. En effet, ils sont responsables d'une augmentation de la néoglucogenèse hépatique, d'une protéolyse, d'une lipolyse, d'une atteinte de la cellule β du pancréas et d'une insulinorésistance (Genolet *et al.*, 2012; Gounarides *et al.*, 2008). Chez l'individu traité aux glucocorticoïdes, on observe une augmentation des taux d'insuline pour la même stimulation glycémique que chez l'individu non traité, évoquant ainsi une résistance tissulaire vis-à-vis de l'insuline (Gounarides *et al.*, 2008). Les mécanismes par lesquels ces glucocorticoïdes (à l'exemple de la dexaméthasone) entraînent cette insulinorésistance incluent l'inhibition des transporteurs du glucose 4 (GLUT 4) dans le muscle et le tissu adipeux (mécanisme principal), et l'augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux (Genolet *et al.*, 2012; Gounarides *et al.*, 2008). L'individu insulinorésistant est victime de plusieurs atteintes anatomiques et physiologiques mais celles-ci ne sont pas directement liées à l'insulinorésistance, mais plutôt à ses différentes complications et particulièrement au stress oxydant (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2004).

I. 3- Stress oxydant

Le stress oxydant traduit un déséquilibre entre la production des radicaux libres et l'activité des systèmes antioxydants en faveur des premiers (Zatalial et Sanusi, 2013).

I. 3. 1- Radicaux libres

Les radicaux libres sont produits par l'activité mitochondriale. Ils peuvent dériver de l'oxygène comme le radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($HO^\bullet$), ou de l'azote comme le monoxyde d'azote ($NO^\bullet$). On y associe aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les peroxonitrites ($OONO^-$) (Bonnefont-Rousselot *et al*, 2004). Ces espèces sont impliquées dans la régulation des activités cellulaires, dans la signalisation et la différenciation cellulaire, dans l'activation des voies métaboliques et du système immunitaire (Manea, 2010). Cependant, de par leur nature instable ces radicaux libres sont toxiques et interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants. Ils peuvent à cet effet causer des dénaturations de protéines, des inactivations d'enzymes, des cassures au niveau des acides nucléiques avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique (Manea, 2010). C'est donc dans l'optique de contrecarrer ces effets toxiques qu'il existe dans l'organisme des systèmes de défenses antioxydants (Zatalial et Sanusi, 2013).

I. 3. 2- Systèmes de défenses antioxydants

L'organisme possède des systèmes qui lui permettent de se protéger contre les actions néfastes des radicaux libres. Il s'agit des défenses enzymatiques et non enzymatiques (Zatalial et Sanusi, 2013).

I. 3. 2. 1- Systèmes de défenses antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques regroupent principalement la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Zatalial et Sanusi, 2013). La SOD est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Cette réaction aboutit, à partir de deux superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène (Menon et Goswani, 2007). La catalase désamorce le potentiel oxydant du peroxyde d'hydrogène en le transformant en eau et en dioxygène. La catalase est une enzyme extrêmement active car une seule molécule de cette enzyme est capable de décomposer plusieurs millions de molécules de peroxyde par minute (Menon et Goswani, 2007). La GPx réduit le peroxyde d'hydrogène en eau et les peroxydes lipidiques instables en acides gras hydroxylés (Zatalial et Sanusi, 2013).

I. 3. 2. 2- Systèmes de défenses antioxydants non enzymatiques

Parmi les antioxydants non enzymatiques, peuvent être cités le glutathion réduit (GSH), les vitamines (A, C, E) et les oligoéléments (Defraigne et Pincemail, 2008). Le GSH est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) connu pour son puissant pouvoir antioxydant. C'est l'antioxydant le plus important dans le contrôle du statut redox. Il protège non seulement contre les radicaux libres, mais aussi contre les peroxydes (Richard *et al.*, 1997).

Le déséquilibre entre la production des radicaux libres et l'activité des systèmes antioxydants en faveur des premiers (stress oxydant) est la résultante de plusieurs mécanismes, notamment ceux médiés par une insulino-résistance (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004).

I. 4- Relations entre stress oxydant et insulino-résistance

Le rôle de l'insulino-résistance dans la genèse du stress oxydant est médié par l'hyperglycémie qui lui est associée. En effet, cette hyperglycémie est responsable par différentes voies, de la production excessive des radicaux libres et de la diminution des défenses antioxydantes (Figure 3). Plusieurs mécanismes y sont impliqués (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004) :

- **La voie des polyols** : en présence d'un excès de glucose, une fraction non oxydée de ce substrat est dirigée vers la voie des polyols. En effet, sous l'action de l'aldose réductase, le glucose est réduit en sorbitol par le NADPH. Le sorbitol est ensuite oxydé en fructose en présence du NAD⁺ par la sorbitol déshydrogénase. Cette voie conduit donc à une déplétion intracellulaire en NADPH. Le déficit intracellulaire de NADPH a pour conséquence une faible régénération du glutathion réduit à partir du glutathion oxydé, et donc un déficit de défenses antioxydantes (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004).

- **La glycosylation non enzymatique des protéines (la glycation)** : La glycation des protéines est une réaction covalente qui attache sans l'intervention d'une enzyme, les résidus de glucose aux groupements amines libres des protéines, ce qui aboutit à la formation des produits avancés de la glycation. Ces derniers peuvent se lier à des récepteurs présents sur différentes cellules (cellules endothéliales, glomérulaires, les macrophages...). L'activation de ces récepteurs déclenche une production d'espèces réactives de l'oxygène, conduisant ainsi à un stress oxydant (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004).

- **La voie mitochondriale** : elle est le principal site de production de l'anion superoxyde. En effet, en cas d'hyperglycémie, l'intensification de la chaîne respiratoire

engendre une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène à l'origine du stress oxydant (Bonnefont-Rousselot *et al*, 2004).

– **L'auto-oxydation du glucose** : en cas d'hyperglycémie, une partie du glucose s'oxyde en présence du fer pour former le glyoxal (forme aldéhyde du glucose). Cette molécule se fixe aux protéines et en présence du cuivre, elle déclenche des réactions de type Fenton qui s'accompagne d'une surproduction de radicaux libres (Bonnefont-Rousselot *et al*, 2004).

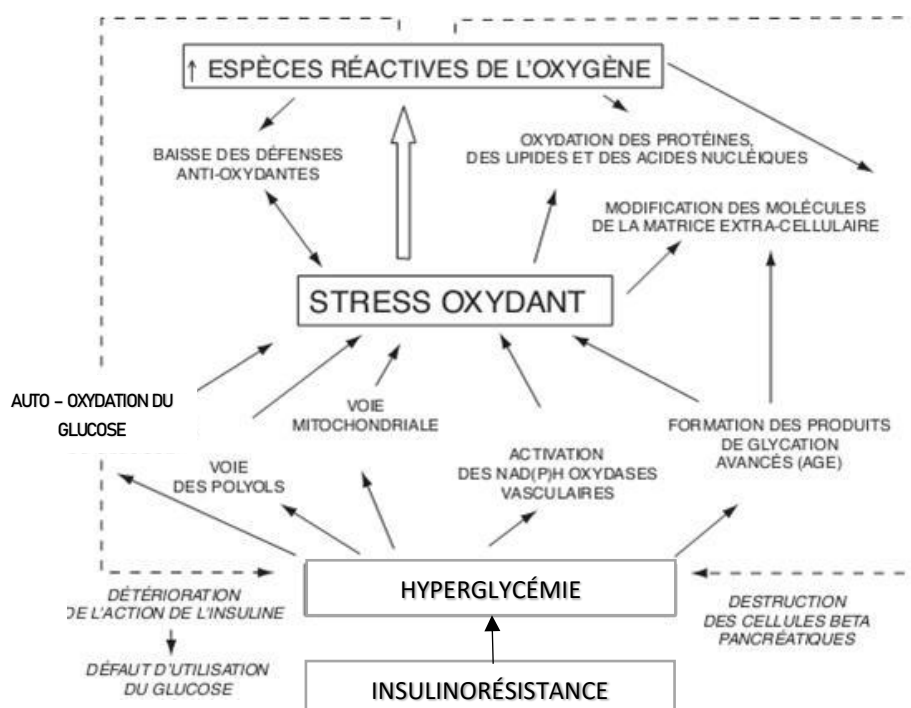


Figure 3 : Relations entre l'insulinorésistance et le stress oxydant (Bonnefont-Rousselot *et al*, 2004)

Le stress oxydant qui caractérise l'insulinorésistance a plusieurs conséquences : il est responsable non seulement de l'aggravation de l'insulinorésistance, mais aussi des atteintes structurales et fonctionnelles de plusieurs organes dont le foie et les reins (Tolman *et al.*, 2007).

I. 5- Stress oxydant et atteintes hépatiques et rénales

Le stress oxydant est caractérisé par une production importante des radicaux libres dont les actions ne peuvent pas être contrées, ceci à cause de l'insuffisance des défenses antioxydantes (Zatalial et Sanusi, 2013). Ces radicaux libres instables et très réactifs peuvent causer au niveau du foie et des reins plusieurs atteintes. Ils peuvent notamment provoquer

des dénaturations des protéines, des inactivations d'enzymes, des cassures au niveau des acides nucléiques avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique (Pincemail *et al.*, 2000). Ces oxydations cellulaires vont aboutir à des lésions des membranes plasmiques des hépatocytes et des cellules rénales, et au relargage des enzymes cellulaires dans la circulation sanguine, notamment l'alanine aminotransférase (l'ALAT) et l'aspartate aminotransférase (l'ASAT). En effet, les lésions hépatiques consécutives à une hyperglycémie ont été corrélées à une augmentation sérique de l'activité de l'ALAT et de l'ASAT (Jothivel *et al.*, 2007; Tolman *et al.*, 2007) et à une augmentation de la concentration sérique de la bilirubine (Tolman *et al.*, 2007). Au niveau rénal, la modification diffère selon la zone affectée : des lésions du tube rénal proximal sont à l'origine de l'augmentation de l'activité sérique et urinaire de l'ALAT alors que des lésions du tube distal quant à elles entraînent une augmentation de l'activité sérique et urinaire de l'ASAT (Babu et Srinivasan, 1998). Ainsi, une augmentation simultanée des activités de l'ALAT et de l'ASAT témoignerait d'une atteinte générale du tube rénal.

En outre, les lésions rénales qui accompagnent l'hyperglycémie ont pour conséquence une altération des fonctions rénales. Parmi ces fonctions, figure l'élimination de certaines substances de l'organisme par l'urine notamment la créatinine, l'acide urique et l'urée. En effet, ces atteintes rénales sont corrélées à la diminution de la filtration glomérulaire de ces substances. Leurs concentrations se retrouvent ainsi élevées dans le sang et faibles dans les urines (Romli, 2016). Pour éviter ou pour amoindrir ces effets néfastes du stress oxydant, il est plus que nécessaire de prendre en charge aussitôt que possible, cette résistance des tissus vis-à-vis de l'insuline.

I. 6- Prise en charge de l'insulinorésistance

Plusieurs moyens permettent au sujet insulinorésistant d'améliorer son statut et nécessitent ou non l'utilisation des solutions pharmacologiques.

I. 6. 1- Prise en charge non pharmacologique

La prise en charge non pharmacologique de l'insulinorésistance réside essentiellement dans la pratique d'une activité physique (Barthe, 2016). En effet parmi les facteurs de risque de l'insulinorésistance, la sédentarité occupe une place importante : la réduction de l'activité physique est responsable d'une diminution du captage du glucose par les muscles et du renforcement du phénomène de l'insulinorésistance (Romli, 2016). L'exercice physique régulier associé à une alimentation équilibrée est considéré depuis

longtemps comme la pierre angulaire dans la prévention et le traitement de l'insulinorésistance (Romli, 2016). La pratique de l'exercice physique permet entre autres (Barthe, 2016):

- D'augmenter la dépense calorique, de diminuer la masse grasse et d'augmenter la masse musculaire ;
- D'améliorer la sensibilité des cellules à l'insuline endogène ;
- De prévenir et/ou de retarder la survenue du diabète insulinorésistant chez le sujet prédiabétique ;
- De prévenir et/ou de retarder l'apparition des complications chez le sujet insulinorésistant.

I. 6. 2- Prise en charge pharmacologique

S'il est vrai que l'exercice physique permet d'améliorer la sensibilité des tissus à l'insuline, il est dans certains cas insuffisant. Les traitements pharmacologiques de l'insulinorésistance font recours à l'utilisation des médicaments conventionnels et des plantes médicinales.

I. 6. 2. 1- Médicaments pharmaceutiques

Les traitements médicamenteux de l'insulinorésistance sont certains antidiabétiques oraux (ADO). Les plus utilisés ici sont de la classe des biguanides, à l'exemple de la metformine (Debbab, 2021). Ceux-ci agissent en augmentant la sensibilité des cellules à l'insuline. Ils augmentent ainsi l'absorption et l'utilisation cellulaires du glucose. En outre, ils inhibent la glycogénolyse et la néoglucogenèse hépatiques, ce qui permet d'abaisser la glycémie mais ils sont souvent responsables d'une acidose lactique (Romli, 2016). Une autre classe d'ADO utilisée est celle des Thiazolidinediones (avandia, actos...) qui permettent d'augmenter la sensibilité à l'insuline au niveau du foie, du tissu adipeux, et du muscle squelettique. Cependant, leur utilisation n'est pas conseillée à cause de leur coût élevé et de leurs nombreux effets secondaires cardiovasculaires. (Debbab, 2021; Romli, 2016)

I. 6. 2. 2- Phytothérapie

En raison des nombreux effets secondaires associés à l'utilisation des médicaments dans la prise en charge de l'insulinorésistance, les regards sont de nos jours, de plus en plus tournés vers les plantes médicinales. Celles-ci présentent les avantages d'être plus accessibles et d'avoir moins d'effets secondaires (OMS, 2007). A cet effet, plusieurs plantes

ont prouvé leur efficacité dans l'amélioration de l'insulinorésistance chez le rat diabétique de type 2. C'est le cas de *Myrianthus arboreus* (Kasangana, 2018) et de *Gymnema montanum* (Mohan *et al.*, 2009). Si l'insulinorésistance n'est pas rapidement prise en charge elle pourra aboutir au diabète de type 2 et il est donc indispensable de réguler la glycémie pour éviter les complications du diabète qui peuvent être délétères. Au laboratoire de Biologie et Physiologie Animales de l'université de Yaoundé I, plusieurs plantes ont démontré leurs propriétés pharmacologiques dans la régulation de la glycémie. C'est notamment le cas de *Sclerocarya birrea* (Dimo *et al.*, 2007), de *Annona muricata* (Ngueguim *et al.*, 2014), d'un mélange de *Persea americana*, de *Cymbopogon citratus* et de *Citrus medical* (Dzeufiet *et al.*, 2014), de *Pterocarpus soyauxii* (Tchamadeu *et al.*, 2017), de *Erythrina senegalensis* (Bilanda *et al.*, 2019) et de *Garcinia kola* (Nkono Ya Nkono *et al.*, 2021). Parmi ces nombreuses plantes utilisées dans le monde pour leurs actions dans la régulation de la glycémie, figure *Gymnema sylvestre* (Laha et Paul, 2019).

I. 7- *Gymnema sylvestre*

I. 7. 1- Position systématique

La systématique de *G. sylvestre* est la suivante (Kirtikar et Basu, 1987) :

Domaine :	Eucaryotes
Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous – embranchement :	Magnoliophytes
Classe :	Magnoliopsidae
Ordre :	Gentianales
Famille :	Apocynaceae
Genre :	<i>Gymnema</i>
Espèce :	<i>Gymnema sylvestre</i>

I. 7. 2- Répartition géographique et noms vernaculaires

G. sylvestre est une plante pérenne caractéristique des régions tropicales et subtropicales. Elle est originaire de l'Inde, elle est retrouvée en Malaisie, en Chine, au Sri Lanka et en Afrique tropicale (Tiwari *et al.*, 2014). Au Cameroun, elle est rencontrée essentiellement dans la région Septentrionale. En Inde, elle est communément appelée "ram's horn" (ou fruit miracle) et "Gurmar" (Khan *et al.*, 2019). Dans la région

septentrionale du Cameroun, cette plante est appelée “Pa song toum diere” qui signifie mangeuse de sucre (langue moundang).

I. 7. 3- Description botanique

G. sylvestre est une herbe ligneuse à croissance lente qui le plus souvent a besoin d'un support pour croître et qui peut atteindre 3 mètres en taille (Figure 4) (Tiwari *et al.*, 2014). Ses feuilles elliptiques ou ovales de 2,5 à 6 cm de long sont agencées suivant une phyllotaxie opposée et son inflorescence est de type cimeuse en ombelle, avec des fleurs petites de couleur jaune (Khan *et al.*, 2019). Il s'agit des fleurs de type pentamère et dont le calice est lié à la corole (Laha et Paul, 2019). Sa tige est cylindrique, avec un diamètre variant de 2 à 10 mm (Khan *et al.*, 2019). La partie terminale contient 3 à 4 nœuds qui sont utilisés pour la dissémination (Tiwari *et al.*, 2014).



Figure 4 : Photographies des plants frais (A) et des bottes sèches (B) de *Gymnema sylvestre* (Photos prises par le Dr Damolaï (A) à Mokolo et par Tcheudi (B) à l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé en Février 2021).

I. 7. 4- Usages ethnobotaniques et travaux scientifiques antérieurs

I. 7. 4. 1- Usages ethnobotaniques

G. sylvestre est associé à plusieurs utilisations en médecine traditionnelle. En effet, ses racines, sa tige et ses feuilles sont utilisées comme palliatif aux problèmes digestifs, au

mal gastrique, à la constipation, aux hémorroïdes, aux hépatites, à l'asthme, comme un antipoison et contre le venin du serpent (Khan *et al.*, 2019). Cette plante est également utilisée non seulement pour ses propriétés antiinflammatoires et antipyrétiques mais aussi pour remédier à la glycosurie et à d'autres affections urinaires. (Laha et Paul, 2019).

I. 7. 4. 2- Travaux scientifiques antérieurs

L'extrait éthanolique de *G. sylvestre* s'est avéré neuroprotecteur contre une neuropathie induite par injection de la streptozotocine (Fatani *et al.*, 2015). L'extrait méthanolique des feuilles de *G. sylvestre* s'est avéré efficace in vitro, dans l'amélioration de l'insulinorésistance chez les rats (Kumar et al., 2016). Une autre étude a montré que la consommation de *Gymnema sylvestre* par des patients aboutit à une réduction de l'ingestion ultérieure de sucres prévenant ainsi les risques d'hyperglycémie liée à une alimentation riche en sucrose (Turner *et al.*, 2020). Les dérivés de l'acide gymnémique sont impliqués in vitro dans l'amélioration de l'insulinorésistance d'une part (Khan *et al.*, 2019), et dans la prévention et la restauration des fibroses vasculaires chez le rat diabétique d'autre part (Sandeck *et al.*, 2021). l'extrait aqueux des feuilles de *G. sylvestre* s'est révélé efficace dans la régulation des taux sanguins de glucose et d'hémoglobine glyquée chez les patients souffrant du diabète "mellitus" insulinorésistant (Devangan *et al.*, 2021). Ces nombreuses propriétés thérapeutiques seraient liées aux nombreux groupes de métabolites contenus dans la plante. Différentes analyses phytochimiques ont révélé la présence dans la plante des oléanines (acide gymnémique), des saponines, des anthraquinones, des flavones, des flavonoïdes, des alcaloïdes, de la résine, des acides formique, folique, ascorbique et butyrique (Laha et Paul, 2019 ; Tiwari *et al.*, 2014).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II. 1- Matériel

II. 1. 1- Matériel végétal

Les bottes de *Gymnema sylvestre* ont été récoltées en Janvier 2021 à Mokolo (région de l'Extrême-Nord, Cameroun), sous la conduite du botaniste et phytothérapeute Dr Damolaï. L'identification des échantillons a été confirmée à l'herbier national du Cameroun par M. NGANSOP Eric à travers le numéro d'identification 36306/HNC.

II. 1. 2- Matériel animal

Les animaux utilisés dans ce travail étaient des rats mâles albinos de souche wistar âgés de 5 à 6 semaines et pesant entre 70 et 90 g au début de la manipulation. Ces animaux ont été logés dans des cages en plastique à raison de 5 animaux par cage et maintenus à température ambiante sous un cycle diurne/nocturne naturel. Pendant que les animaux d'induction recevaient l'alimentation d'induction, ceux normoglycémiques étaient nourris avec une alimentation standard. La composition de cette alimentation standard était de 60 % de maïs, 10 % de poisson, 10 % de soja, 3 % de blé, 7 % d'arachides, 7 % de palmistes, 2% de farine d'os et 1 % de complexe vitaminique.

II. 2- Méthodes

II. 2. 1- Extraction aqueuse des bottes de *Gymnema sylvestre*

Après la récolte, les bottes de *G. sylvestre* ont été séchées à l'ombre puis broyées à l'aide d'un mixeur électrique. La poudre obtenue (250 g) a été mélangé à 2 L d'eau distillée puis porté à ébullition pendant 20 minutes. Le mélange a ensuite été laissé au repos jusqu'au refroidissement complet, puis filtré à l'aide d'un papier filtre Wattman N° 4. Le filtrat obtenu a été épuisé à l'étuve à 45°C et une masse d'extrait de 26,60 g a été obtenue, correspondant à un rendement de 10,64 %.

II. 2. 2- Détermination des doses à utiliser

Pour déterminer les doses à utiliser dans ce travail, un test préliminaire aigu de surcharge orale au glucose a été réalisé dans l'optique de déterminer les doses les plus efficaces. Les différentes doses qui ont été testées sont 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg et 300 mg/kg. Pour le test, des rats mâles albinos de souche wistar âgés de 8 à 10 semaines et pesant entre 130 et 160 g ont été répartis en 6 lots de 5 animaux chacun et placés à jeun non hydrique pendant 12 h. Le premier lot a reçu de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, le second du glibenclamide à la dose de 5 mg/kg et les 4 autres lots ont reçu chacun une dose de l'extrait aqueux de *G. sylvestre*. Trente minutes après l'administration des différentes

substances, une solution de D-glucose a été administrée par gavage aux animaux à la dose de 3 g/kg. Les bandelettes de marque BIOLABO et un glucomètre de marque Acu-Answer® ont permis de prendre les glycémies des animaux juste avant le test et à 30, 60 et 120 minutes après administration du glucose. Pour chaque prise de glycémie, la comparaison des glycémies moyennes de chaque lot à celle du lot ayant reçu de l'eau distillée et à celle du lot ayant reçu le glibenclamide a permis de retenir les 3 doses les plus efficaces à savoir 50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg.

II. 2. 3- Préparation des solutions de travail

Plusieurs solutions ont été utilisées dans cette manipulation. Ces solutions et leurs méthodes de préparation respectives sont les suivantes :

Solutions de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre*

Pour obtenir les 3 solutions d'extrait à administrer aux rats, 50 mg, 100 mg et 200 mg d'extrait aqueux ont été pesés quotidiennement et chacune des masses a été solubilisée dans 10 mL d'eau distillée permettant d'obtenir des solutions de concentrations respectives 5 mg/mL, 10 mg/mL et 20 mg/mL.

Solution de glucose 0,3 g/mL

Pour préparer la solution de glucose à 0,3 g/mL, 3 g de glucose ont été pesés et dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 10 mL.

Solution de Sucrose 20 %

Pour obtenir une solution de sucrose à 20 %, 20 g de poudre de sucre roux de marque SOSUCAM (Société Sucrière du Cameroun) ont été dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 100 mL.

Solution de metformine 20 mg/mL

Pour obtenir la solution de metformine à 20 mg/mL, un comprimé contenant 500 mg de principe actif a été dissout dans 25 mL d'eau distillée.

Solution d'insuline 0,2 UI/mL

Pour obtenir cette solution d'insuline, 20 µL d'insuline à action rapide ont été mélangés à une solution de chlorure de sodium 0,9 % pour un volume total de 10 mL.

Tampon Tris-HCl 50 mM (pH 7,4)

Le tampon Tris-HCl a été obtenu en dissolvant 1,21 g de Tris base et 2,79 g de chlorure de potassium dans 250 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté avec du HCl 11,8 N et le volume complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

Solution de Sérum Albumine Bovin

La solution de sérum albumine bovin (SAB) (3 mg/mL) a été préparée en dissolvant 150 mg de SAB dans de l'eau distillée pour un volume final de 50 mL.

Réactif de Biuret

Le réactif de Biuret a été préparé en dissolvant 0,75 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium dans 100 mL d'eau distillée (solution A). Ensuite, 15 g d'hydroxyde de sodium ont été dissouts dans 100 mL d'eau distillée (solution B). Les solutions A et B ainsi obtenues ont été mélangées et le volume final a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

Solution de dichromate de potassium 5 % et acide acétique glacial

La solution de dichromate de potassium 5 % a été préparée par dissolution de 2,5 g de dichromate de potassium dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL. La solution de dichromate/acide acétique a été obtenue en mélangeant 50 mL de solution de dichromate de potassium 5 % et 150 mL d'acide acétique glacial pour faire un volume final de 200 mL.

Réactif d'Ellman

Le réactif d'Ellman a été obtenu en faisant dissoudre 5 mg d'acide 2,2-dithio-5,5'- dinitrobenzoïque (DTNB) dans du tampon phosphate 0,1 M; pH 6,5 pour un volume final de 250 mL.

Solution d'acide trichloro-acétique 20 %

Pour préparer la solution d'acide trichloro-acétique (TCA) 20 %, 20 g de TCA ont été introduits dans un erlenmeyer de 100 mL contenant 50 mL d'eau distillée. Après agitation, l'eau distillée a été ajoutée jusqu'au trait de jauge.

Solution d'acide thiobarbiturique 0,67 %

La solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % a été obtenue en dissolvant 0,67 g de TBA dans de l'eau distillée pour un volume final de 100 mL.

II. 2. 4- Evaluation des effets de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* chez les rats insulino-résistants

II. 2. 4. 1- Induction de l'insulino-résistance

L'insulino-résistance a été induite chez les animaux en deux phases. Dès le sevrage des animaux (âgés de 5 à 6 semaines), ceux-ci ont été soumis pendant 20 semaines à une alimentation de type "high sucrose diet". Cette alimentation était constituée de 40 % de maïs, 34 % de sucrose roux, 6 % de poisson, 4 % de soja, 4 % de blé, 5 % d'arachides, 4 % de palmistes, 2% de farine d'os et 1 % de complexe vitaminique. Pendant cette phase, ils ont reçu une supplémentation d'eau sucrée à 20 % de sucrose. Après ces 20 semaines d'alimentation, les animaux ont reçu par voie intrapéritonéale une injection quotidienne de dexaméthasone à 4 mg/kg pendant 7 jours. La glycémie des animaux après 12h de jeun non hydrique a été prise avant l'induction, puis les semaines 14, 20 et 21 d'induction. A la fin de l'induction, le test d'insulino-résistance a été réalisé par injection d'insuline à 0,2 UI/kg et les glycémies ont été prises avant, puis 10, 20, 30 et 60 minutes après injection d'insuline. La comparaison des variations glycémiques des animaux d'induction avec celles des animaux normaux a permis de sélectionner parmi les animaux d'induction, ceux qui étaient véritablement insulino-résistants pour la poursuite des manipulations.

II. 2. 4. 2- Repartition des lots et traitement

Les animaux insulino-résistants ont été répartis en 5 groupes de 5 animaux chacun puis randomisés en fonction de leur glycémie en :

- Un groupe d'animaux insulino-résistants recevant par voie orale de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg et constituant le lot témoin négatif (T NEG) ;
- Un groupe d'animaux insulino-résistants recevant par voie orale de la metformine à la dose 200 mg/kg et constituant le lot témoin positif (T POS) ;
- Un groupe d'animaux insulino-résistants recevant par voie orale l'extrait aqueux de *G. sylvestre* à la dose 50 mg/kg (GS 50) ;
- Un groupe d'animaux insulino-résistants recevant par voie orale l'extrait aqueux de *G. sylvestre* à la dose 100 mg/kg (GS 100) ;
- Un groupe d'animaux insulino-résistants recevant par voie orale l'extrait aqueux de *G. sylvestre* à la dose 200 mg/kg (GS 200).
- Un groupe de 5 animaux normoglycémiques recevant par voie orale de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg et constituant le lot témoin normal (T NOR) a été associé à ceux-ci ;

Les différents groupes ont été traités pendant 14 jours. Les glycémies à jeun ont été prises au début (jour 1), à la moitié (jour 8) et à la fin du traitement (jour 15). Le test d'insulinorésistance a été réalisé avant le début du traitement et à la fin de celui-ci. Lors de ce test, les pourcentages de variation glycémique (à chaque prise) par rapport à la glycémie initiale étaient calculés suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Pourcentage de variation glycémique} = \frac{100 \times (G_t - G_i)}{G_i}$$

G_t = glycémie au temps t (mg/dL); **G_i** = glycémie initiale (mg/dL)

Les bandelettes de marque BIOLABO et un glucomètre de marque Acu-Answer[®] ont été utilisés pour la prise des glycémies.

Le poids des animaux a été relevé tous les 5 jours pendant le traitement. Les poids obtenus ont permis de calculer le pourcentage de variation pondérale par rapport à leurs poids initiaux (poids au premier jour de traitement) suivant la formule ci-dessous.

$$\text{Pourcentage de variation pondérale} = \frac{100 \times (m_j - m_i)}{m_i}$$

m_j = masse au jour j (g); **m_i** = masse initiale (g)

II. 2. 4. 3- Evaluation des effets de *Gymnema sylvestre* sur quelques paramètres biochimiques des rats insulinorésistants

II. 2. 4. 3. 1- Préparation des échantillons

Après le test d'insulinorésistance réalisé à la fin du traitement, les animaux ont été placés dans des cages métaboliques et les urines de 24 heures ont été recueillies dans des tubes secs et laissées au repos pendant 30 minutes. Ces tubes ont été centrifugés à 3000 tr/minute pendant 15 minutes à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse de marque Eppendorf 5804 R. Le surnageant a été recueilli dans des tubes eppendorfs préalablement étiquetés et conservé à -20 °C pour le dosage du glucose, de la créatinine et de l'acide urique.

Après 12 heures de jeun non hydrique, les animaux ont été anesthésiés à l'éther et après section de la carotide, le sang artério-veineux a été recueilli dans des tubes secs et laissé au repos pendant 30 minutes. Ces tubes ont été centrifugés à 3000 tr/minute pendant 15 minutes à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse de marque Eppendorf 5804 R. Le sérum a été recueilli dans des tubes eppendorfs préalablement étiquetés et conservé à -20 °C pour le dosage du glucose, de la créatinine, de l'acide urique, de la bilirubine directe, des protéines et des transaminases.

Le pancréas, le foie et les reins ont été prélevés. Le pancréas a été fixé directement dans du liquide de Bouin tandis que le foie et les reins ont été pesés. Une partie (0,4g du foie et des reins) a été homogénéisée dans 2 mL de tampon Tris et les homogénats obtenus ont été centrifugés dans des tubes secs à 3000 tr/minute pendant 25 minutes à 4 °C à l'aide d'une centrifugeuse de marque Eppendorf 5804 R. Le surnageant recueilli a été introduit dans des tubes eppendorfs préalablement étiquetés puis conservé à -20 °C pour le dosage des protéines tissulaires et de quelques marqueurs du stress oxydant. L'autre partie a été fixée dans du liquide de Bouin pour les analyses histologiques.

II. 2. 4. 3. 2- Dosage du glucose

- **Principe**

Le β -D-glucose est oxydé en peroxyde d'hydrogène par la glucose oxydase. En présence de la peroxydase, le peroxyde d'hydrogène oxyde des substrats chromogènes et forme un complexe coloré. L'absorbance mesurée à 510 nm est proportionnelle à la concentration de glucose dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Pour le dosage du glucose, les tubes ont été remplis et traités suivant le protocole de dosage du Kit Inmesco comme présenté dans le Tableau I.

Tableau I : Protocole de dosage du glucose

	Echantillon	Standard	Blanc
Echantillon (μL)	10	-	-
Standard (μL)	-	10	-
Eau distillée (μL)	-	-	10
Réactif de travail (μL)	1000	1000	1000

Les tubes ont été agités et laissés à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc à une longueur d'onde de 510 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre de marque URIT 810.

La concentration de glucose dans chaque échantillon a été calculée suivant la formule :

$$[\text{Glucose}] = \frac{\text{A. Ech}}{\text{A. Std}} \times \text{C}$$

[Glucose]= Concentration de glucose (mg/dL); **A. Ech**= Absorbance de l'échantillon ;
A. Std = Absorbance du standard; **C**= Concentration du standard (100 mg/dL).

II. 2. 4. 3. 2- Dosage de la créatinine

- **Principe**

La créatinine réagit en milieu alcalin avec le picrate pour donner un composé coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Le dosage de la créatinine a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie LABKIT. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le protocole du Tableau II.

Tableau II : Protocole de dosage de la créatinine

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	100	-	-
Standard (µL)	-	100	-
Echantillon (µL)	-	-	100
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Le mélange a été agité et incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont ensuite été lues à 510 nm contre le blanc eau distillée, immédiatement après incubation (A_0) et 120 secondes après la première lecture (A_{120}).

La concentration de créatinine dans chaque échantillon a été calculée comme suit :

$$[\text{Créatinine}] = \frac{\Delta A \text{ échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\Delta A \text{ Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

[Créatinine] = Concentration de créatinine (mg/dL) ; Abs = Absorbance ; C = Concentration du standard (2 mg/dL) ; ΔA = Variation de l'absorbance ; $\Delta A = A_{120} - A_0$.

II. 2. 4. 3. 3- Dosage de l'acide urique

- **Principe**

En présence de l'uricase, l'acide urique subit une oxydation pour donner l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène qui est transformé en quinoneéine et en eau en présence d'une peroxydase.

- **Mode opératoire**

Le dosage de l'acide urique a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie LABKIT. Les différents tubes ont été remplis et traités comme indiqué dans le Tableau III.

Tableau III : Protocole de dosage de l'acide urique

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard (µL)	-	25	-
Echantillon (µL)	-	-	25
Eau distillée (µL)	25	-	-
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000
Le mélange a été agité et incubé à 25 °C pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont ensuite été lues à 510 nm contre le blanc.			

La concentration de l'acide urique dans chaque échantillon a été calculée comme suit :

$$[\text{Acide urique}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

[Acide urique] = Concentration de l'acide urique (mg/dL) ; Abs = Absorbance ;
C = Concentration du standard (6 mg/dL).

II. 2. 4. 3. 4- Dosage de la bilirubine

- **Principe**

En présence de l'acide sulfanilique diazoté, la bilirubine est convertie en azobilirubine coloré. L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration en bilirubine présente dans l'échantillon. L'absorbance de l'azobilirubine ainsi produite est lue au spectrophotomètre à 546 nm.

- **Mode opératoire**

Le dosage de la bilirubine a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie LABKIT. Les différents tubes ont été remplis et traités comme présenté dans le Tableau IV.

Tableau IV : Protocole de dosage de la bilirubine directe

	Blanc	Echantillon
Réactif 1 (mL)	1,5	1,5
Réactif 2 (mL)	-	50
Standard / échantillon	100	100

Le mélange a été agité à l'aide du vortex puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. L'absorbance des tubes échantillons a été lue contre le blanc à 546 nm.

La concentration de la bilirubine directe dans les échantillons a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{Bilirubine}] = [\text{Abs Echantillon} - \text{Abs blanc}] \times F$$

[Bilirubine] = Concentration de bilirubine (mg/dL) ; F = Facteur fourni par le kit: 9 mg/dL ; Abs = absorbance.

II. 2. 4. 3. 5- Dosage des Transaminases

• Principe

L'Alanine Aminotransférase (ALAT) et l'Aspartate Aminotransférase (ASAT) catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine vers l' α -cétooglutarate pour former le pyruvate et le glutamate, et de l'Aspartate vers l' α -cétooglutarate pour former l'Oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate et l'oxaloacétate réagissent avec le NADH respectivement en présence de la LDH (Lactate Déshydrogénase) et de la MDH (Malate Déshydrogénase) pour former respectivement le lactate et le malate.



• Mode opératoire

Le dosage des transaminases a été réalisé à l'aide du kit *LABKIT* et les tubes ont été remplis et traités comme l'indique le Tableau V.

Tableau V : Protocole de dosage des transaminases

Echantillon (µL)	100
Réactif de travail (µL)	1000
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé à température ambiante pendant 10 minute. Les absorbances des échantillons ont ensuite été lues contre l'eau distillée à 0, 1, 2 et 3 minutes avec un spectrophotomètre de marque URIT 810 à 340 nm.	

L'activité de l'ALAT et de l'ASAT a été déterminée par la formule suivante :

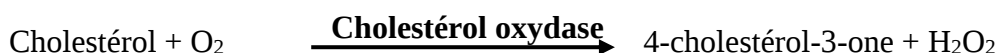
$$\text{Act. ALAT ou ASAT} = \Delta A \times 1750$$

Act. ALAT ou ASAT=Activité de l'ALAT ou de l'ASAT (UI/L) ; **1750** = Coefficient donné par le kit ; ΔA = Variation de l'absorbance ; $\Delta A = [(A1-A0) + (A2-A1) + (A3-A2)]/3$.

II. 2. 4. 3. 6- Dosage du cholestérol total

- **Principe**

En présence du cholestérol estérase, l'ester de cholestérol est hydrolysé en cholestérol et en acides gras. Le Cholestérol résultant est oxydé en présence du cholestérol oxydase pour former le peroxyde d'hydrogène qui réagit avec le phénol et le 4-aminoantipyrine formant ainsi la quinonéimine. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle au taux de cholestérol présent dans l'échantillon.



- **Mode opératoire**

Le protocole de dosage a été fourni par le kit *LABKIT*. Les tubes ont été remplis et traités comme indiqué dans le Tableau VI.

Tableau VI : Protocole de dosage du cholestérol total

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)		-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Après agitation, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à 500 nm.

Le taux sérique de cholestérol total dans chaque échantillon a été calculé suivant la formule :

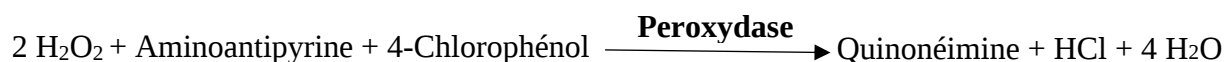
$$[\text{Chol} - \text{T}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

[Chol-T] = Concentration de cholestérol total (mg/dL) ; Abs = Absorbance;
C = Concentration du standard (200 mg/dL).

II. 2. 4. 3. 7- Dosage des triglycérides

- **Principe**

En présence de la lipoprotéine lipase, l'ester de cholestérol est hydrolysé en glycérol qui est phosphorylé en glycérol-3-phosphate en présence de la glycérolkinase. Le glycérol-3-phosphate est oxydé par la glycérol-3-phosphate oxydase pour former le peroxyde d'hydrogène qui réagit avec l'Aminoantipyrine et le parachlorophénol pour former la quinonéimine. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle au taux de triglycérides dans l'échantillon.



- **Mode opératoire**

Le protocole qui a été utilisé pour le dosage est celui proposé par le kit *LABKIT*. Les tubes ont été préparés comme indiqué dans le Tableau VII.

Tableau VII : Protocole de dosage des triglycérides

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Les tubes ont été homogénéisés et incubés à température ambiante pendant 10 minutes puis les densités optiques ont été lues contre le blanc à 546 nm.

La concentration en triglycérides a été déterminée par la formule ci-dessous.

$$[\text{TG}] = \frac{\text{Abs } \textit{echantillon} - \text{Abs } \textit{Blanc}}{\text{Abs } \textit{Standard} - \text{Abs } \textit{Blanc}} \times C$$

[TG]= Concentration de triglycérides (mg/dL) ; **Abs** = Absorbance ; **C** = Concentration du standard (200 mg/dL).

II. 2. 4. 3. 8- Dosage du HDL-cholestérol

- **Principe**

Les chylomicrons, les VLDL-C et les LDL-C sériques sont précipités par l'acide phosphotungstique, en présence des ions magnésium. Après centrifugation, les HDL-C présents dans le surnageant sont quantifiés suivant le même protocole que celui du cholestérol total.

- **Mode opératoire**

Le dosage du HDL-Cholestérol a été effectué selon le protocole fourni par le kit *LABKIT* et s'est déroulé en deux étapes : une phase de précipitation et une phase de quantification. La phase de précipitation a été faite comme décrit dans le Tableau VIII.

Tableau VIII : Précipitation des VLDL-cholestérol et des LDL-cholestérol

	Echantillon
Echantillon (µL)	1000
Précipitant dilué (µL)	100
Le mélange a été agité et laissé à température ambiante pendant 10 minutes. Après incubation, les échantillons ont été centrifugés à 4000 tours/minutes pendant 20 minutes à 37 °C. Le surnageant (échantillon) a été pipeté pour le dosage du HDL-Cholestérol.	

Après la précipitation, la quantification du HDL-Cholestérol s'est faite selon le protocole du Tableau IX.

Tableau IX : Protocole de quantification du HDL-Cholestérol

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Après agitation, le mélange a été incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc réactif au spectrophotomètre à la longueur d'onde 500 nm.

La concentration de HDL-Cholestérol a été déterminée suivant la formule :

$$[\text{HDL} - \text{Chol}] = \frac{\text{Abs } \textit{echantillon} - \text{Abs } \textit{Blanc}}{\text{Abs } \textit{Standard} - \text{Abs } \textit{Blanc}} \times C$$

[HDL-Chol] = Concentration de HDL-Cholestérol (mg/dL) ; Abs = Absorbance ; C = Concentration du standard (50 mg/dL).

II. 2. 4. 3. 9- Détermination du LDL-Cholestérol

Les concentrations de LDL-Cholestérol ont été déterminées par calcul suivant la formule de Friedewald *et al.*, (1972) :

$$[\text{LDL} - \text{chol}] = [\text{CT}] - \frac{[\text{TG}]}{5} - [\text{HDL}]$$

[LDL-chol]= Concentration de LDL-Cholestérol (mg/dL); [CT]= Concentration de cholestérol total (mg/dL) ; [TG]= Concentration de triglycérides (mg/dL); [HDL]= Concentration de HDL-Cholestérol (mg/dL).

II. 2. 4. 3. 10- Détermination de l'index athérogène

L'index athérogène (IA) a été déterminé par calcul suivant la formule de Youmbissi *et al.*, (2001) :

$$\text{IA} = \frac{[\text{Cholestérol total}]}{[\text{HDL} - \text{Cholestérol}]}$$

IA = Index athérogène ; [Cholestérol total]= Concentration de Cholestérol total (mg/dL); [HDL-Cholestérol]= Concentration du HDL-Cholestérol (mg/dL).

II. 2. 4. 3. 11- Dosage des protéines

- **Principe**

En milieu basique, le tartrate de sodium et le tartrate de potassium forment avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre lié au tartrate pour former un complexe cuivro-protéique de couleur violette. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans la solution (Gornall *et al.*, 1949).

- **Mode opératoire**

La quantification des protéines a été réalisée suivant la méthode de Biuret. Les tubes ont été remplis et traités comme indiqués dans le Tableau X.

Tableau X : Protocole de dosage des protéines

	Blanc		Etalons					Echantillons	
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	X1.....Xn	
SAB (µL)	0	50	100	150	200	250	300	-	-
Eau distillée (µL)	600	550	500	450	400	350	300	590	590
Réactif de Biuret (µL)	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons (µL)	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,15	0,30	0,45	0,6	0,75	0,90	-	-
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc à 540 nm.									
Absorbances obtenues (nm)	0	0,02	0,05	0,07	0,10	0,12	0,14	-	-

SAB= Sérum Albumin Bovin; **0**= Tube blanc; **1-6**= Tubes étalons; **X1-Xn**= Tubes échantillons.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la quantité de protéines. La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée à partir de l'équation de droite $y = 0,1599x$ (Figure 6).

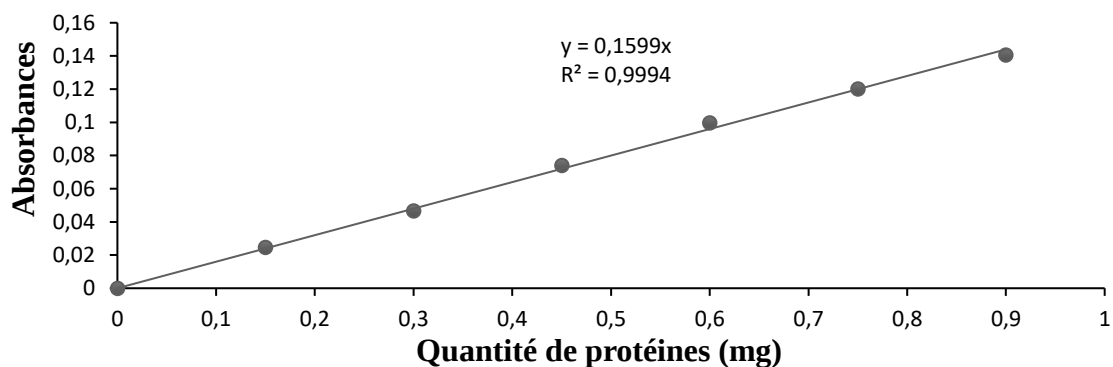


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines

II. 2. 4. 3. 12- Dosage du Malondialdéhyde

- **Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) formé au cours de la peroxydation lipidique réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et à chaud pour former un complexe rose qui peut être quantifié au spectrophotomètre à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949).

- **Mode opératoire**

Dans des tubes contenant 250 µL d'homogénat (tubes échantillons) ou 250 µL de tampon Tris-HCl 50 mM ; pH = 7,4 (tube blanc) ont été introduits, 125 µL d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % et 250 µL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre, chauffés à 90°C au bain-marie pendant 10 minutes. Ils ont ensuite été refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 tours/minute à température ambiante pendant 15 minutes. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue à 530 nm contre le blanc.

La concentration en MDA a été déterminée par la formule ci-dessous :

$$[\text{MDA}] = \frac{\Delta \text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

[MDA]= Concentration de MDA (mol/g d'organes) ; ΔDO = DO essai-DO blanc ;

L= Trajet optique (1 cm) ; ϵ = Coefficient d'extinction molaire (15600 mol⁻¹. cm⁻¹) ;

m= Masse de l'organe (g).

II. 2. 4. 3. 13- Dosage du glutathion réduit

- **Principe**

L'acide 2,2'-dinitro-5,5'- dithiodibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion et forme un complexe de coloration jaune dont l'absorption est maximale à 412 nm (Ellman, 1959).

- **Mode opératoire**

Dans les tubes à essai ont été introduits au préalable 100 µL d'homogénats (tubes échantillons) ou 100 µL de tampon Tris-HCl 50 mM ; pH = 7,4 (tube témoin). Ensuite ont été ajoutés 1500 µL de réactif d'Ellman. Les tubes ont été agités et incubés pendant 60 minutes à température ambiante et les absorbances ont été lues contre le blanc à 412 nm. La concentration de glutathion réduit (GSH) a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{GSH}] = \frac{\Delta \text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

[GSH]= Concentration de GSH (mol/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai-DO blanc ;
L = Trajet optique (1 cm) ; **ε**= Coefficient d'extinction molaire (13600 mol⁻¹. cm⁻¹);
m = Masse de l'organe (g).

II. 2. 4. 3. 14- Dosage de l'activité de la catalase

- **Principe**

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Le résidu se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert (Sinha, 1972).

- **Mode opératoire**

Les tubes ont été remplis et traités selon le protocole décrit dans le Tableau XI afin de tracer la courbe d'étalonnage de la catalase.

Tableau XI : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

	Blanc			Etalon			Echantillons	
Tubes	0	1	2	3	4	5	X1...Xn	
Eau distillée (μL)	50	-	-	-	-	-	-	-
-Echantillons (μL)	-	-	-	-	-	-	50	50
Tampon phosphate (0,1 mM; pH 7,5) (μL)	750	-	-	-	-	-	750	750
Volume de H₂O₂ (50 mM) (μL)	200	0	20	40	80	160	200	200
Les tubes ont été incubés à 25 °C pendant 1 minute.								
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100 °C pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante.								
Eau distillée (μL)	-	1000	980	960	920	840	-	-
Concentration de H₂O₂ (mM)	-	0	2	4	8	16	-	-
Absorbances obtenues	-	0	0,007	0,014	0,025	0,052	-	-

La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H₂O₂ comme l'indique la Figure 7.

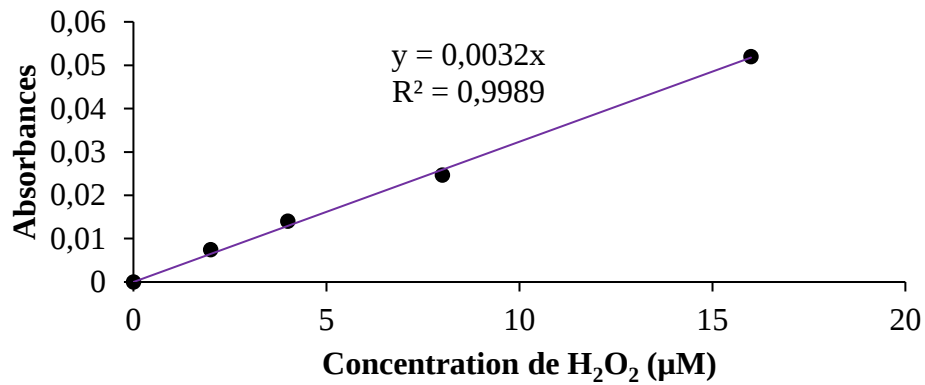


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la Catalase

L'activité spécifique de la catalase a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{Act CAT} = \frac{\Delta\text{DO}}{a \times t \times m}$$

Act CAT = Activité de la catalase (mM de H₂O₂/min/g d'organes); **ΔDO** = DO essai-DO blanc; **a** = Pente de la courbe d'étalonnage (0,0032); **t**= durée de la réaction (1 minute); **m**= Masse de l'organe (g).

II. 2. 5- Analyse histologique du pancréas, du foie et du rein

Après le prélèvement des organes, l'analyse histologique s'est déroulée en plusieurs étapes à savoir la fixation, la recoupe ou «trimming», la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

II. 2. 6- Analyse statistique

Les analyses statistiques des valeurs obtenues ont été réalisées à l'aide du logiciel Graphpad Prism version 8.0.1. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard associée à la moyenne (ESM) et les différentes valeurs ont été comparées à l'aide du test d'analyse des variances "one-way ANOVA", suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. Les différences étaient considérées comme significatives à partir de la probabilité $P < 0,05$.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1- Résultats

III. 1. 1- Evolution de la glycémie lors de l'induction de l'insulinorésistance

La Figure 8 présente l'évolution de la glycémie à jeun des rats lors de l'induction de l'insulinorésistance. Il ressort que comparativement à leur glycémie en début d'induction, la glycémie des animaux d'induction a significativement augmenté de 20,72 %, de 37,25 % et de 63,58%. Ces augmentations ont été observées lors de la prise de glycémie respectivement après 14 semaines ($p < 0,05$), 20 semaines ($p < 0,001$) d'alimentation de type "high sucrose diet" et après 7 jours ($p < 0,001$) d'injection de dexaméthasone.

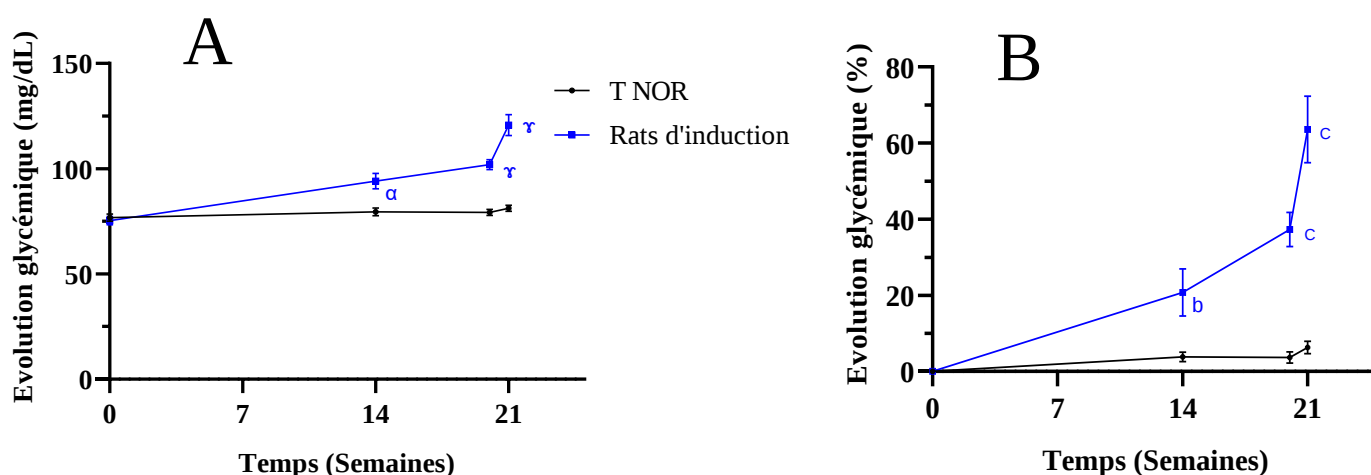


Figure 7 : Evolution de la glycémie des rats en mg/dL (A) et en % (B) pendant l'induction de l'insulinorésistance

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM. ^α $p < 0,05$ ^γ $p < 0,001$ = différence significative par rapport à la glycémie à jeun avant induction de l'insulinorésistance. ^b $p < 0,01$ ^c $p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin normal. **T NOR**= rats témoins Normaux.

III. 1. 2- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur la sensibilité des rats à l'insuline

La figure 9 présente les résultats du test d'insulinorésistance réalisé à la fin de l'induction (figure 9 AA') et à la fin du traitement (figures 9 BB', CC', DD'). Ils révèlent qu'à la fin de l'induction les rats ont développé une insulinorésistance marquée par une réduction significative du pourcentage de baisse de la glycémie à partir de la 10^e minute (20,50 % contre 34,65 %) par rapport aux rats normaux jusqu'à la fin du test à la 60^e minute (40,19 % contre 67,50 %). Le traitement des animaux insulinorésistants avec l'extrait aux différentes doses les a rendu moins insulinorésistants. Cette insulinosensibilité induite par l'extrait a été plus marquée à la dose 50 mg/kg. En effet, comme le montre la figure 9 B', le pourcentage de baisse de la glycémie avec la dose 50 mg/kg était à la 30^e minute de 48,21 % contre 28,31 % et à la 60^e minute de 61,02 % contre 38,92 % en comparaison avec les rats insulinorésistants ayant reçu de l'eau distillée. Ces doses de l'extrait ont été efficaces dans l'amélioration de l'insulinorésistance si bien que pendant tout le test, le pourcentage de baisse de la glycémie des lots traités n'était pas significativement différent de celui des rats normaux.

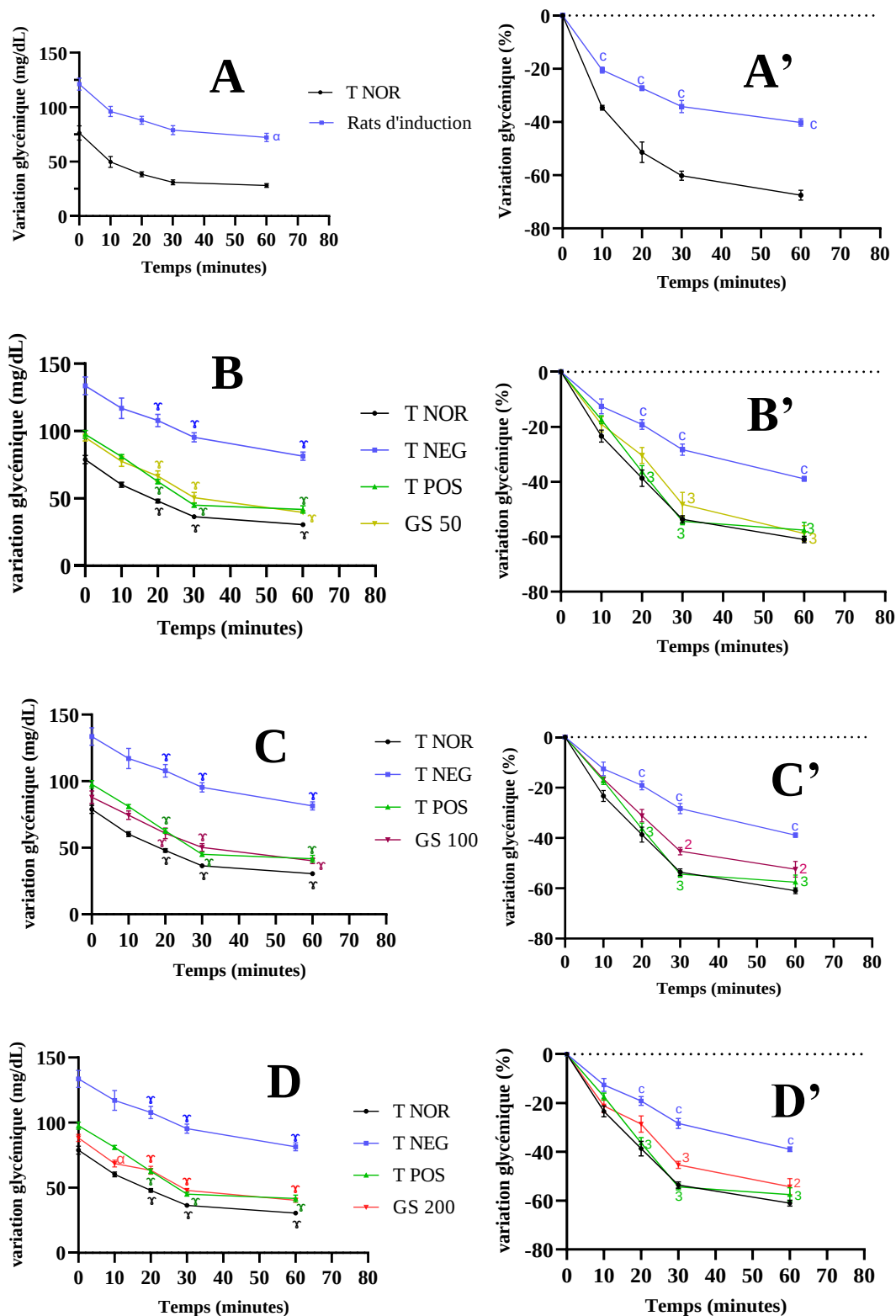


Figure 8 : Evolution glycémique lors du test d'insulinorésistance à la fin de l'induction (AA') et à la fin du traitement (BB', CC', DD')

Chaque point représente la moyenne $\pm$ ESM, avec $n = 5$. $^{\alpha}p < 0,05$ $^{\gamma}p < 0,001$ = différence significative par rapport à la glycémie avant injection d'insuline. $^{\epsilon}p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin normal. $^2p < 0,01$ $^3p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin négatif. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulinorésistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulinorésistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulinorésistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulinorésistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulinorésistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg.

III. 1. 3- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur la glycémie à jeun des rats insulino-résistants

La Figure 10 présente l'effet de *G. sylvestre* sur la glycémie à jeun lors du traitement. Les résultats montrent tout au long du traitement, une augmentation significative ($p < 0,001$) de la glycémie chez les animaux du groupe témoin négatif comparativement à celle des animaux du groupe témoin normal. L'administration de l'extrait aqueux de *G. sylvestre* aux différentes doses a permis tout comme la metformine de baisser significativement ($p < 0,001$) la glycémie après 7 jours et 14 jours de traitement, comparativement à celle des animaux du lot témoin négatif.

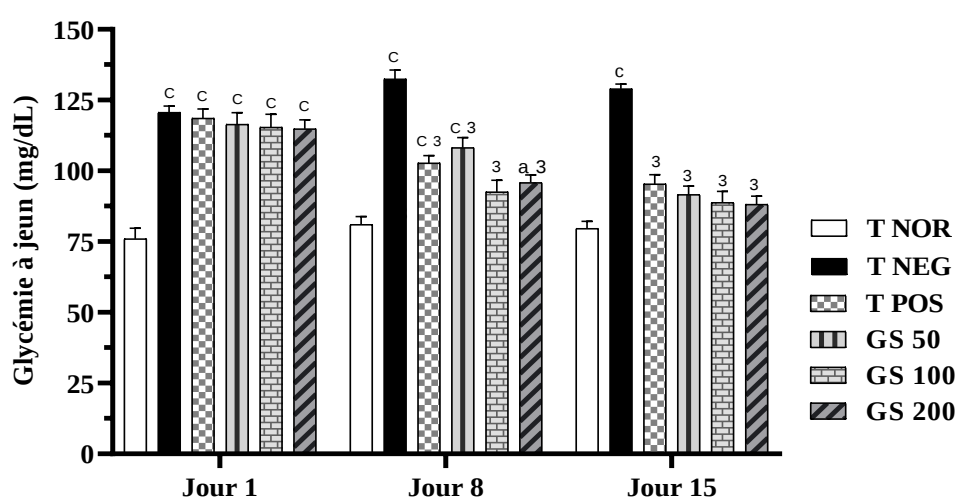


Figure 9 : Effet de *Gymnema sylvestre* sur la glycémie à jeun des rats

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, avec $n = 5$. ^a $p < 0,05$, ^c $p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin normal. ³ $p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin négatif. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulino-résistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg.

III. 1. 4- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur la variation du poids corporel

La figure 11 illustre la variation du poids corporel des animaux pendant le traitement. Chez les rats insulino-résistants, il est noté une perte pondérale tout au long de la période de traitement. Par rapport aux rats normaux, cette perte est significative ($p < 0,001$) dès le 5^e jour de traitement. Le traitement avec l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* aux doses 50 et 200 mg/kg a prévenu cette perte pondérale observée chez les rats

insulinorésistants. Un gain pondéral a même été observé chez ces animaux à la fin du traitement, respectivement de 6,63 % et de 10,36 % bien que toujours significativement ($p < 0,001$) bas par rapport à celui des normaux. La metformine quant à elle, n'a permis que le maintien du poids corporel du début à la fin du traitement.

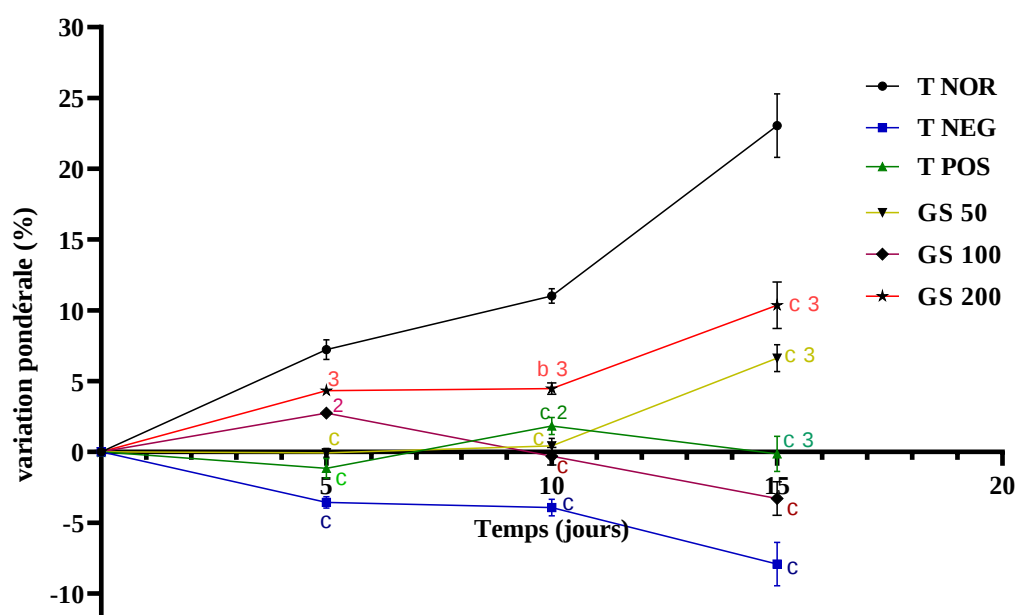


Figure 10 : Evolution pondérale des animaux pendant le traitement

Chaque point représente la moyenne $\pm$ ESM, avec $n = 5$. ^a $p < 0,05$ ^b $p < 0,01$ ^c $p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin normal. ² $p < 0,01$ ³ $p < 0,001$ = différence significative par rapport au lot témoin négatif. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulinorésistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulinorésistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulinorésistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulinorésistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulinorésistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg.

III. 1. 5- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur le poids relatif du foie et du rein

Les effets de *G. sylvestre* sur les poids relatifs du foie et du rein sont consignés dans le tableau XIV. Les résultats ne révèlent aucune différence significative du poids relatif du foie entre les différents lots. Ils révèlent par contre une augmentation significative ($p < 0,05$) de 29,63 % du poids relatif du rein chez les rats du lot témoin négatif en comparaison aux rats normaux. L'administration de l'extrait aqueux de *G. sylvestre* à la dose de 50 mg/kg et de la metformine a entraîné une diminution significative du poids

relatif du rein, par rapport à celui des rats du lot témoin négatif de 20,00 % et de 25,71 % respectivement.

Tableau XII : Effet de *Gymnema sylvestre* sur le poids relatif du foie et du rein

Poids relatif (%)	T NOR	T NEG	T POS	GS 50	GS 100	GS 200
Foie	3,22 ± 0,07	3,62 ± 0,05	3,32 ± 0,15	3,26 ± 0,15	3,32 ± 0,05	3,35 ± 0,05
Rein	0,27 ± 0,01	0,35 ± 0,02 ^a	0,26 ± 0,01 ²	0,28 ± 0,02 ¹	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,01

Les résultats sont exprimés en moyenne ± ESM, avec n = 5. ^ap < 0,05 = différence significative par rapport aux rats témoins normaux. ¹p < 0,05 ²p < 0,01 = différence significative par rapport aux rats témoins négatifs. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulino-résistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg.

III. 1. 6- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur les concentrations sériques et urinaires de quelques marqueurs des fonctions rénale et hépatique

Le tableau XV présente les concentrations sériques et/ou urinaires de quelques marqueurs de la fonction hépatique et de la fonction rénale. Les résultats montrent une augmentation significative des concentrations sériques du glucose (p < 0,001), de créatinine (p < 0,001), d'acide urique (p < 0,001), de bilirubine directe (p < 0,001), de protéines totales (p < 0,001), d'ALAT (p < 0,05) et d'ASAT (p < 0,05) chez le groupe témoin négatif comparativement aux animaux normaux. Quant aux urines, ils révèlent une augmentation significative du glucose (p < 0,001) et une diminution significative des concentrations de créatinine (p < 0,001) et d'acide urique (p < 0,001) chez le groupe témoin négatif comparativement aux animaux normaux.

Le traitement des rats insulino-résistants avec l'extrait aux différentes doses (50, 100 et 200 mg/kg) a entraîné une baisse significative (p < 0,001) du glucose sérique de 40,88 %, de 43,41 % et de 39,28 % respectivement par rapport aux rats insulino-résistants non traités, ramenant la glycémie à la normale. Les mêmes traitements ont baissé le taux de glucose urinaire par rapport aux rats insulino-résistants non traités bien que les valeurs restent significativement élevées par rapport aux normaux chez lesquels aucune trace de

sucres n'ont été décelées dans les urines. Le traitement avec la metformine a eu les mêmes effets.

L'administration de l'extrait aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) de la concentration sérique de créatinine de 82,34 %, de 80,78 % et de 80,52 % respectivement par rapport à celle des rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée, la ramenant à la normale. Les mêmes traitements ont augmenté la concentration urinaire de créatinine par rapport à celle des rats insulino-résistants non traités. L'administration de la metformine a eu le même effet que l'extrait.

Le traitement des rats insulino-résistants avec l'extrait aux différentes doses (50, 100 et 200 mg/kg) a entraîné une baisse significative de la concentration sérique d'acide urique de 44,80 %, de 35,71 % et de 25,32 % respectivement par rapport à celle des rats du groupe témoin négatif, la ramenant à la normale. Les doses 50 et 100 mg/kg ont en outre entraîné une augmentation significative de la concentration urinaire d'acide urique d'environ 5 fois et 3 fois respectivement, en comparaison à celle des rats du groupe témoin négatif.

Tout comme la metformine, l'extrait administré aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) de la concentration sérique de bilirubine de 43,75 %, de 59,38 % et de 43,75 % respectivement par rapport à celle des rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée, la ramenant à la normale.

L'administration de l'extrait aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) du taux sérique de protéines de 25,67 %, de 19,25 % et de 23,53 % respectivement par rapport à celui des rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée. Ce taux de protéines est d'ailleurs significativement supérieur à celui des rats normaux avec la dose 100 mg/kg et la metformine de 11,03 % et de 8,82 % respectivement.

Le traitement des rats insulino-résistants avec l'extrait aux différentes doses (50, 100 et 200 mg/kg) a entraîné une baisse significative de l'activité sérique de l'ALAT de 32,30 %, de 52,80 % et de 29,85 % respectivement par rapport à celle des rats insulino-résistants non traités, la ramenant à l'activité normale. Le même effet a été observé avec la metformine. L'extrait aux doses 100 et 200 mg/kg a en outre entraîné une baisse significative de l'activité sérique de l'ASAT de 29,56 % et de 22,38 % respectivement par rapport à celle des rats insulino-résistants non traités, la ramenant elle aussi à l'activité normale.

Tableau XIII : Effet de *Gymnema sylvestre* sur les concentrations sériques et urinaires de quelques marqueurs des fonctions rénale et hépatique

Paramètre	T NOR	T NEG	T POS	GS 50	GS 100	GS 200
Sérum						
Gluc (mg/dL)	72,62 ± 3,31	125,00 ± 5,61 ^c	82,12 ± 2,32 ³	73,90 ± 3,48 ³	70,74 ± 1,96 ³	75,90 ± 1,80 ³
Créa (mg/dL)	0,73 ± 0,05	3,85 ± 0,19 ^c	0,84 ± 0,09 ³	0,68 ± 0,06 ³	0,74 ± 0,06 ³	0,75 ± 0,05 ³
AU (mg/dL)	1,00 ± 0,06	1,54 ± 0,12 ^b	1,03 ± 0,08 ²	0,85 ± 0,04 ³	0,99 ± 0,05 ³	1,15 ± 0,10 ¹
Bil-D (mg/dL)	0,17 ± 0,01	0,32 ± 0,02 ^c	0,19 ± 0,01 ²	0,18 ± 0,03 ³	0,13 ± 0,02 ³	0,18 ± 0,06 ³
PT(mg/dL)	1,36 ± 0,02	1,87 ± 0,02 ^c	1,48 ± 0,01 ^{a3}	1,39 ± 0,04 ³	1,51 ± 0,01 ^{b3}	1,43 ± 0,02 ³
ALAT (UI/L)	10,94 ± 0,96	15,51 ± 1,96 ^a	10,07 ± 0,25 ²	10,50 ± 0,59 ¹	7,32 ± 0,35 ³	10,88 ± 0,20 ¹
ASAT (UI/L)	60,51 ± 3,98	74,03 ± 3,43 ^a	65,96 ± 1,07	64,84 ± 0,67	52,15 ± 2,37 ³	57,46 ± 3,44 ²
Urine						
Gluc (mg/dL)	0,00 ± 0,00	15,95 ± 0,56 ^c	6,81 ± 0,44 ^{c3}	6,36 ± 0,41 ^{c3}	4,61 ± 0,78 ^{c3}	4,43 ± 0,88 ^{c3}
Créa (mg/dL)	102,20 ± 4,50	11,11 ± 1,50 ^c	104,80 ± 3,80 ³	142,20 ± 10,40 ^{c3}	170,20 ± 4,30 ^{c3}	72,30 ± 3,90 ^{b3}
AU (mg/dL)	15,39 ± 1,47	3,26 ± 0,16 ^c	12,88 ± 0,91 ³	15,21 ± 2,05 ³	8,77 ± 0,72 ^{b1}	7,99 ± 0,56 ^b

Les résultats sont exprimés en moyenne ± ESM, avec n = 5. ^ap < 0,05 ; ^bp < 0,01 ; ^cp < 0,001 = différence significative par rapport aux rats témoins normaux. ¹p < 0,05 ²p < 0,01 ³p < 0,001 = différence significative par rapport aux rats témoins négatifs. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulino-résistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg, **Gluc** = glucose, **Créa** = créatinine, **AU** = acide urique, **Bil-D** = Bilirubine directe, **PT** = protéines totales, **ALAT** = Alanine aminotransférase, **ASAT** = Aspartate aminotransférase.

III. 1. 7- Effets de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur quelques paramètres du profil lipidique

Le tableau XVI présente les effets de *G. sylvestre* sur quelques paramètres du profil lipidique. Les résultats montrent une augmentation significative (p < 0,001) du taux de cholestérol total, de LDL-cholestérol et de l'index athérogène chez les rats du lot témoin négatif, en comparaison aux rats normaux de 35,25 %, de 86,32 % et de 59,23 % respectivement. L'administration de l'extrait aqueux de *G. sylvestre* aux différentes doses

(50, 100 et 200 mg/kg), a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de cholestérol de 40,69 %, de 52,99 % et de 31,10 % respectivement, par rapport à celui des rats du groupe témoin négatif. Les doses 50 et 100 mg/kg ont diminué ce taux de cholestérol si bien qu'il soit significativement ($p < 0,001$) bas de 19,77 % et de 36,41 % respectivement, par rapport à celui des normaux. Le traitement avec les trois doses de l'extrait (50, 100 et 200 mg/kg) a en outre entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de LDL-cholestérol de 90,13 %, de 93,44 % et de 68,94 % respectivement, par rapport à celui des rats insulino-résistants non traités. Les mêmes traitements ont entraîné également une diminution significative ($p < 0,001$) de l'index athérogène de 65,85 %, de 64,75 % et de 55,74 % respectivement, par rapport à celui des rats insulino-résistants non traités. La metformine a provoqué chez les rats insulino-résistants, les mêmes effets (sur ces 3 paramètres) que l'extrait. Ces résultats montrent également que les 3 doses de l'extrait (50, 100 et 200 mg/kg) ont augmenté significativement le taux de HDL-cholestérol de 73,32 %, de 33,27 % et de 55,28 % respectivement, par rapport à celui des rats du groupe témoin négatif. La dose 50 mg/kg a de plus entraîné une diminution significative ($p < 0,01$) du taux de triglycérides de 33,51 % par rapport à celui des rats insulino-résistants non traités.

Tableau XIV : Effets de *Gymnema sylvestre* sur quelques paramètres du profil lipidique

Paramètre	T NOR	T NEG	T POS	GS 50	GS 100	GS 200
CT (mg/dL)	111,22 ± 1,20	150,44 ± 2,79 ^c	105,28 ± 3,74 ³	89,23 ± 3,43 ^{c3}	70,72 ± 2,66 ^{c3}	103,65 ± 3,63 ³
HDLc (mg/dL)	48,13 ± 2,19	41,12 ± 2,10	41,30 ± 3,13	71,27 ± 2,59 ^{c3}	54,80 ± 3,40 ¹	63,85 ± 3,29 ^{b3}
TG (mg/dL)	56,20 ± 4,93	63,35 ± 1,67	43,55 ± 3,32 ¹	42,12 ± 2,90 ²	47,93 ± 4,21	48,90 ± 4,41
LDLc (mg/dL)	51,85 ± 2,33	96,65 ± 4,82 ^c	55,27 ± 2,09 ³	9,54 ± 3,04 ^{c3}	6,34 ± 2,15 ^{c3}	30,02 ± 3,16 ^{c3}
IA	2,31 ± 0,10	3,66 ± 0,27 ^c	2,55 ± 0,13 ³	1,25 ± 0,21 ^{c3}	1,29 ± 0,18 ^{c3}	1,62 ± 0,15 ^{b3}

Les résultats sont exprimés en moyenne ± ESM, avec $n = 5$. ^b $p < 0,01$; ^c $p < 0,001$ = différence significative par rapport aux rats témoins normaux. ¹ $p < 0,05$ ² $p < 0,01$ ³ $p < 0,001$ = différence significative par rapport aux rats témoins négatifs. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulino-résistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg, **CT** = Cholestérol total, **HDLc** = HDL cholestérol, **TG** = triglycérides, **LDLc** = LDL cholestérol, **IA** = index athérogène.

III. 1. 8- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur quelques paramètres du statut oxydant

La figure 12 présente les effets de *G. sylvestre* sur quelques paramètres du statut oxydant dans le foie et le rein. Les résultats montrent une hausse significative du taux de MDA rénal ($p < 0,001$), une diminution significative de l'activité rénale de la catalase ($p < 0,01$), des taux hépatique ($p < 0,001$) et rénal ($p < 0,001$) du glutathion et du taux rénal de protéines ($p < 0,01$) chez les animaux du groupe témoin négatif en comparaison aux animaux normaux.

Le traitement des rats insulino-résistants avec l'extrait aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux rénal de MDA de 26,93 %, de 26,68 % et de 48,08 % respectivement par rapport à celui des animaux du groupe témoin négatif. La dose 100 mg/kg a d'ailleurs ramené le taux rénal de MDA à la valeur normale. Ces 3 doses d'extrait ont entraîné par rapport au groupe témoin négatif, une diminution significative du taux hépatique de MDA de 17,10 %, de 48,01 % et de 35,52 % respectivement. La metformine a eu le même effet que l'extrait sur le taux rénal de MDA.

L'administration de l'extrait aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité rénale de la catalase d'environ 4 fois, 4 fois et 6 fois respectivement, par rapport à celle des animaux insulino-résistants recevant de l'eau distillée. Par contre dans le foie, seules les doses 50 et 100 mg/kg ont entraîné une augmentation significative de l'activité de la catalase (d'environ 3 fois et 4 fois respectivement) en comparaison aux animaux insulino-résistants recevant de l'eau distillée.

L'extrait administré aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux rénal de glutathion d'environ 3 fois, 4 fois et 3 fois respectivement, par rapport à celui des animaux insulino-résistants non traités. Le même effet a été observé (pour les 3 doses) sur le taux hépatique de glutathion avec une augmentation d'environ 3 fois, 2 fois et 2 fois respectivement, la dose 50 mg/kg ramenant ce taux à la valeur normale. Aussi bien sur le rein que sur le foie, la metformine a eu de façon générale le même effet que l'extrait.

Le traitement des rats insulino-résistants avec l'extrait aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux rénal de protéines d'environ 2 fois chez les groupes traités en comparaison au groupe témoin négatif. Le même effet a été observé dans le foie pour les 3 doses et avec le traitement par la metformine.

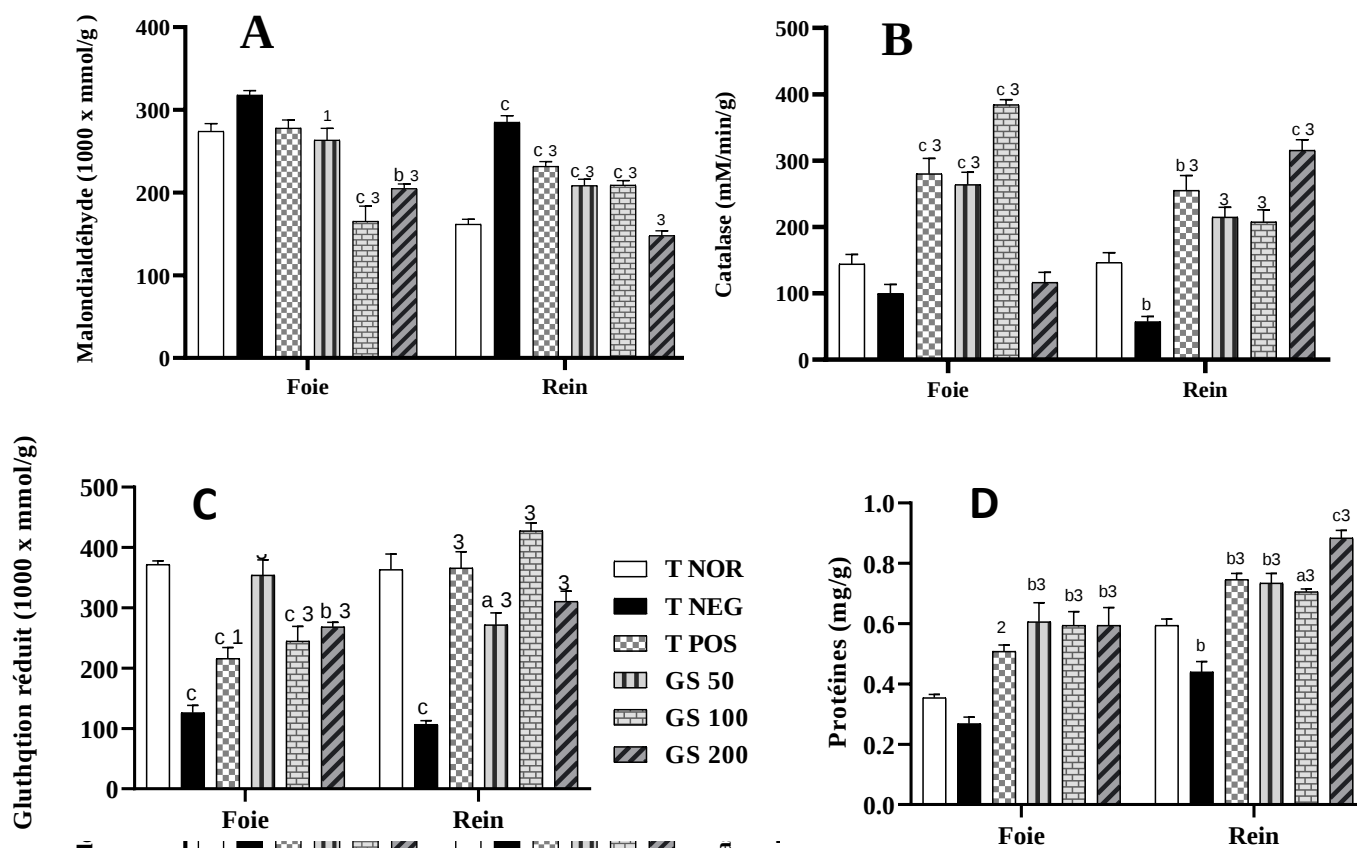


Figure 11 : Effets de *Gymnema sylvestre* sur le taux de malondialdéhyde (A), l'activité de la catalase (B), les taux de glutathion réduit (C) et de protéines (D) hépatiques et rénaux.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, avec $n = 5$. ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$; ^c $p < 0,001$ = différence significative par rapport aux rats témoins normaux. ¹ $p < 0,05$; ² $p < 0,01$; ³ $p < 0,001$ = différence significative par rapport aux rats témoins négatifs. **T NOR** = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulino-résistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg.

III. 1. 9- Effet de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* sur la structure du pancréas, du foie et du rein

L'analyse histologique a montré chez le témoin normal, une structuration normale des parenchymes hépatique, rénal, et pancréatique (Figure 13). Comparativement aux normaux, les animaux du lot témoin négatif ont présenté plusieurs altérations histopathologiques hépatiques (Infiltration leucocytaire), rénales (Hypertrophie des cellules tubulaires et expansion mésangiale) et pancréatique (Hypotrophie des îlots de Langerhans). Chez les lots traités à l'extrait aqueux de *G. sylvestre* aux différentes doses, tout comme chez celui traité à la metformine, il a été observé une restructuration de ces organes, proche de celle du témoin normal.

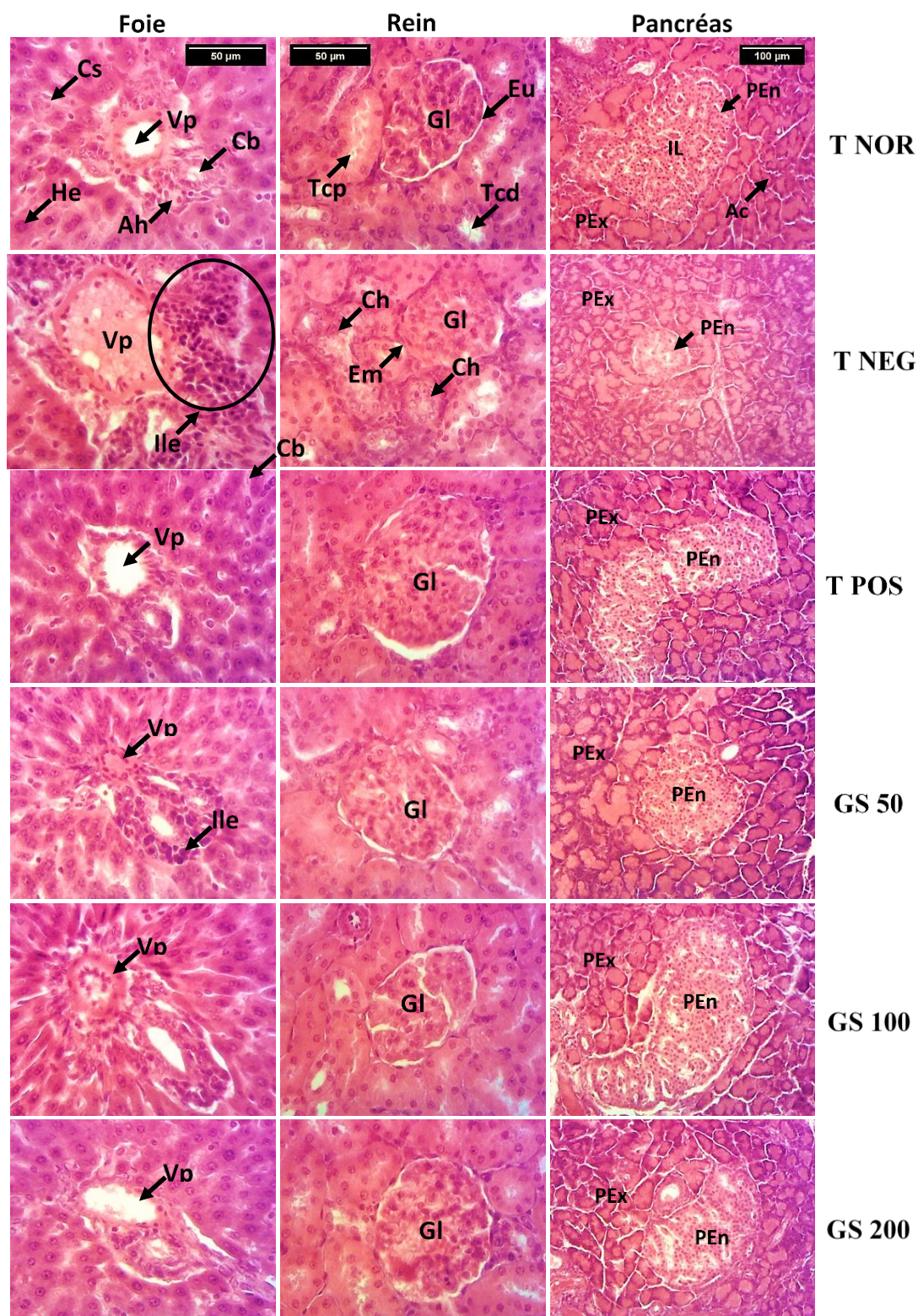


Figure 13 : Microphotographies du foie, du rein (X250) et du pancréas(X100) ; Coloration à l'hématoxyline-éosine.

T NOR = rats témoins normaux recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T NEG** = rats insulino-résistants recevant de l'eau distillée à raison de 10 mL/kg, **T POS** = rats insulino-résistants recevant la metformine à la dose de 200 mg/kg, **GS 50** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 50 mg/kg, **GS 100** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 100 mg/kg, **GS 200** = rats insulino-résistants recevant l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* à la dose de 200 mg/kg; **Foie** ; **Vp** = Veine porte hépatique ; **He** = Hépatocyte ; **Cs** = Capillaire sinusoïde ; **Cb** = Canalicule biliaire ; **Ile** = Infiltration leucocytaire ; **Rein** ; **Gl** = Glomérule ; **Eu** = Espace urinaire ; **Tcd** = Tubule contourné distal ; **Tcp** = Tubule contourné proximal ; **Ch** = Cellules tubulaires hypertrophiées ; **Em** = Expansion mésangiale ; **Pancréas** ; **IL** = Îlot de Langerhans ; **Ac** = Acini ; **PEn** = Pancréas endocrine ; **PEx** = Pancréas exocrine.

III. 2- Discussion

La présente étude avait pour objectif d'évaluer les effets hépato et néphroprotecteurs de l'extrait aqueux des bottes de *Gymnema sylvestre*, sur un modèle d'insulinorésistance combinant une alimentation de type "high sucrose diet" (HSD) et la dexaméthasone (4 mg/kg). L'insulinorésistance constatée dans ce travail serait due aux actions combinées des deux traitements. En effet, L'alimentation de type HSD est associée à une hyperglycémie permanente qui est responsable d'une conversion de l'excès de glucose en acides gras, qui s'associent au glycérol pour former des molécules de triglycérides (Rigalleau *et al.*, 2017). Celles-ci sont stockées dans le tissu adipeux sous forme de graisses et leur dépôt sur les membranes cellulaires est à l'origine d'une résistance à l'insuline (Rigalleau *et al.*, 2017). La dexaméthasone quant à elle est liée à plusieurs effets secondaires dont une néoglucogenèse hépatique, une insulinorésistance par inhibition des transporteurs GLUT 4 et une insulino-pénie (Gounarides *et al.*, 2008; Genolet *et al.*, 2012). L'administration de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* aux différentes doses a amélioré la sensibilité des rats à l'insuline. Ceci pourrait s'expliquer par la présence dans cet extrait, de certains métabolites bioactifs tel que l'acide gymnémique qui augmente l'expression des transporteurs GLUT 4 et améliore de ce fait la sensibilité à l'insuline (Kumar *et al.*, 2016).

L'hyperglycémie observée chez les rats serait une conséquence de l'insulinorésistance. En effet, une diminution de la sensibilité des récepteurs à l'insuline s'accompagne d'une diminution de l'entrée du glucose dans les tissus périphériques, conduisant à une hyperglycémie (Kasangana, 2018 ; Kumar *et al.*, 2016). L'IR est en outre responsable d'une diminution de la synthèse protéique, ce qui explique la perte de poids corporel observée chez le groupe témoin négatif. Cette perte pondérale pourrait également s'expliquer par les effets directs de la dexaméthasone sur le métabolisme via une protéolyse et une anorexie tels qu'expliqués par les travaux de Shalam *et al* (2006). Le traitement des rats avec l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* a régulé la glycémie chez les rats traités. Cette régulation pourrait s'expliquer par la présence des oléanines qui augmentent l'expression des transporteurs GLUT 4 (Kumar *et al.*, 2016). Les oléanines sont aussi connus pour augmenter l'utilisation du glucose par les cellules et diminuer l'absorption intestinale de ce dernier (Khan *et al.*, 2019). En améliorant la sensibilité des rats à l'insuline et en régulant de ce fait la glycémie, cet extrait favoriserait la synthèse protéique, justifiant ainsi l'augmentation du taux de protéines tissulaires et du poids corporel chez les animaux traités tel que prédit par les travaux de El Shafey *et al* (2013).

L'insulinorésistance et l'hyperglycémie sont associées à une dyslipidémie caractérisée dans cette étude par une augmentation du taux de cholestérol total, de LDL-cholestérol et de l'index athérogène chez les rats du groupe témoin négatif. Ces résultats corroborent ainsi ceux de Chen *et al* qui ont prouvé l'association entre l'insulinorésistance, l'hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie (Chen *et al.*, 2017). En effet, la diminution de la sensibilité à l'insuline serait responsable d'une lipolyse dans le tissu adipeux et d'une synthèse hépatique des VLDL et leur transformation en LDL fortement athérogène d'où les dyslipidémies observées (Barthe, 2016). L'extrait aqueux de *G. sylvestre* aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a amélioré le profil lipidique. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'en améliorant la sensibilité des rats à l'insuline et en régulant de ce fait la glycémie, cet extrait empêcherait non seulement la lipolyse, mais aussi la synthèse hépatique des VLDL. En effet, Jothivel *et al* (2007) ont montré que la régulation de la glycémie permet d'améliorer le profil lipidique. Cette amélioration du profil lipidique pourrait également s'expliquer par la présence dans cet extrait, des flavonoïdes qui diminuent les concentrations de LDL-cholestérol et augmentent celles des HDL-cholestérol chez les animaux hypercholestérolémiés (Daniel *et al.*, 2003).

L'hyperglycémie et la dyslipidémie qui caractérisent l'insulinorésistance contribuent à la genèse d'un stress oxydant (Tolman *et al.*, 2007). Le stress oxydant observé dans la présente étude serait donc une conséquence de l'insulinorésistance. En effet, l'hyperglycémie caractéristique de l'insulinorésistance entraîne entre autres une hyperactivité mitochondriale, une glycosylation non enzymatique des protéines et une déplétion intracellulaire en NADPH qui aboutissent à un déséquilibre entre la production des radicaux libres et l'activité des systèmes antioxydants en faveur des premiers (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004). Ces radicaux libres provoquent des altérations cellulaires en l'occurrence les peroxydations des acides gras membranaires polyinsaturés responsables de l'augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA) (Pincemail *et al.*, 2000) tel qu'observé dans cette étude dans le rein. La diminution du taux de glutathion réduit (GSH) dans le foie et le rein et de l'activité de la catalase dans le rein serait également due à l'hyperproduction des radicaux libres et la déplétion intracellulaire en NADPH. Dans cette étude, ce stress oxydant est beaucoup plus marqué dans le rein. Ces résultats sont identiques à ceux obtenus par Mohan *et al* qui ont montré l'association entre l'hyperglycémie et le stress oxydant (Mohan *et al.*, 2009). L'extrait aqueux de *G. sylvestre* tout comme la metformine a amélioré le statut oxydant chez les animaux traités avec des meilleurs effets à la dose 100 mg/kg. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'en régulant la glycémie par

l'amélioration de la sensibilité des récepteurs de l'insuline, et en améliorant le profil lipidique, l'extrait empêcherait ainsi la formation excessive des radicaux libres et ainsi, la chute des défenses antioxydantes. L'extrait, grâce aux flavonoïdes et aux saponines, permettrait également de chélater les radicaux libres et de renforcer le système antioxydant (Tiwari *et al.*, 2014).

Le stress oxydant est responsable de plusieurs dommages au niveau du foie et du rein. En effet, les radicaux libres sont responsables des peroxydations lipidiques qui concourent aux lésions membranaires responsables d'une fuite du contenu cellulaire (Manea, 2010). Les lésions des hépatocytes aboutissent donc à un relargage dans le sang des transaminases d'où l'augmentation de leurs concentrations sanguines telle qu'observée dans cette étude. Les mêmes résultats ont été obtenus par Tolman *et al* (2007). Ces lésions entraînent au niveau du tubule rénal, une diminution du débit de filtration glomérulaire et de la clairance de certaines substances (Fatani *et al.*, 2015). Cela explique l'augmentation des concentrations sériques de créatinine, d'acide urique et la diminution de leur élimination dans l'urine chez les rats du groupe témoin négatif. La fonction rénale est la plus affectée et ceci pourrait s'expliquer par le fait que le stress oxydant ait été plus prononcé dans les reins. Cette observation explique donc l'idée selon laquelle c'est le stress oxydant qui engendre des dommages au niveau du foie et du rein. Les effets de ces radicaux libres sur les fonctions hépatique et rénale sont confirmés par les atteintes structurales de ces organes. En effet, il a été observé chez les rats du groupe témoin négatif, une infiltration leucocytaire hépatique, une hypertrophie des cellules tubulaires rénales et une hypotrophie des îlots de Langerhans. L'extrait aqueux de *G. sylvestre* aux doses 50, 100 et 200 mg/kg a restauré l'intégrité structurale et fonctionnelle de ces organes. En améliorant la sensibilité des rats à l'insuline, l'extrait empêcherait ainsi la formation excessive des radicaux libres et ainsi la chute des défenses antioxydantes. Ceci pourrait également être lié à la présence dans cet extrait, des flavonoïdes et des saponines qui de par leurs propriétés antioxydantes, empêcheraient la peroxydation lipidique et protégeraient ainsi les membranes cellulaires des lésions. Ces résultats sont ainsi conformes à ceux de Bilanda *et al* (2010) et de Nkono Ya Nkono *et al* (2021) qui ont montré que l'amélioration du statut oxydant permet de préserver l'intégrité structurale et fonctionnelle de certains organes.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude avait pour objectif d'évaluer les effets hépato et néphroprotecteurs de l'extrait aqueux des bottes de *Gymnema sylvestre* sur un modèle de rat rendu insulino-résistant par association d'une alimentation de type "high sucrose diet" et l'injection de la dexaméthasone. Il en ressort que l'installation de l'insulino-résistance a entraîné un désordre métabolique caractérisé par une hyperglycémie permanente, une dyslipidémie et un stress oxydant. Tous ces effets ont entraîné des atteintes hépatiques et rénales. L'administration de l'extrait aqueux de *Gymnema sylvestre* aux doses 50, 100 et 200 mg/kg s'est révélée bénéfique dans l'amélioration de la sensibilité des animaux à l'insuline, le contrôle glycémique, dans l'amélioration du profil lipidique et du statut oxydant. Ceci explique donc les effets néphro et hépatoprotecteurs de l'extrait concourant ainsi à l'amélioration des fonctions hépatique et rénale, ces effets étant plus prononcés à la dose 100 mg/kg. Ces activités justifient donc l'utilisation empirique de cette plante contre les atteintes hépatiques et rénales.

Dans nos études ultérieures, nous nous proposons :

- D'étudier sur le même modèle d'insulino-résistance, les effets protecteurs de l'extrait aqueux de *G. sylvestre* sur l'appareil cardiovasculaire ;
- D'étudier sur le même modèle d'insulino-résistance, les effets protecteurs de cet extrait sur la fonction de reproduction ;
- De réaliser une étude phytochimique quantitative des composés bioactifs contenus dans cet extrait ;
- De réaliser une étude de toxicité de cet extrait.

REFERENCES

- Babu P., Srinivasan K. (1998).** Amelioration of renal lesions associated with diabetes by dietary curcumin in streptozotocin diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 181 : 87 - 96.
- Barthe S. (2016).** Les règles hygiéno-diététiques du patient diabétique de type 2. *Thèse de pharmacie, Université de Rouen, Faculté de Médecine et de Pharmacie, France*. 75 P. 20 - 24.
- Bilanda D., Dimo T., Dzeufiet P., Bella N., Aboubakar O., Ngeulefack T., Tan P., Kamtchouing P. (2010).** Antihypertensive and antioxydant effets of *Allablanckia floribunda* Oliv. (Clusiaceae) aqueous extract in alcohol and sucrose-induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 128: 634 - 640.
- Chen S., Tsai S., Jhao J., Jiang W., Tsao C. (2017).** Liver Fat , Hepatic Enzymes , Alkaline Phosphatase and the Risk of Incident Type 2 Diabetes : A Prospective Study. *Scientific Reports*. 10 : 1 - 9.
- Debbab L. (2021).** Le diabète de type 2 à l'île de la réunion: un enjeu majeur de santé publique. *Thèse de pharmacie, Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie, France*. 178 P. 18 - 54.
- Dimo T., Rakotonirina S., Tan P., Azay J., Dongo E., Kamtchouing P., Cros G. (2007).** Effect of *Sclerocarya birrea* stem bark methylene chloride/methanol extract on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 110 : 434 - 438.
- Dzeufiet P., Mogueo A., Bilanda D., Aboubakar B., Tédong L., Dimo T., Kamtchouing P. (2014).** Antihypertensive potential of the aqueous extract which combine leaf of *Persea americana* mill, stems and leaf of *Cymbopogon citratus*, Stapf, fruits of *Citrus medical*, as well as honey in ethanol and sucrose experimental model. *Complementary and Alternative Medicine*. 14 : 1 - 12.
- Ellman G. (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82 : 70 - 77.
- FID-Fédération Internationale de Diabète. (2019).** Atlas du diabète, 9^e édition. 13 - 34.
- Friedewald W., Levy R., Fredrickson D. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*. 18 : 499 - 502.
- Genolet P., Petite C., Petignat P. (2012).** Diabète cortico-induit , une entité fréquente sans prise

- en charge standardisée. *Revue Médicale Suisse*. 8 : 800 - 805.
- Gornall A., Bardawill C., David M. (1949).** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*. 177 : 751 - 766.
- Jothivel N., Ponnusamy P., Appachi M. (2007).** Anti-diabetic Activity of Methanol Leaf Extract of *Costus pictus* D . DON in Alloxan-induced Diabetic Rats. *Journal of Health Science*. 53 : 655 - 663.
- Kasangana P. (2018).** Recherche des molécules bioactives antidiabétiques dans les extraits d'écorces de racines de *Myrianthus arboreus*. *Thèse de doctorat Ph.D, Université Laval, Faculté des Sciences du Bois, Quebec, Canada*. 216 P : 18 - 25.
- Kirtikar K., Basu B. (1987).** India Medecinal Plants. *Jayyed press*. 3 : 1 - 4.
- Laha S., Paul S. (2019).** *Gymnema sylvestre* (Gurmar): A potent herb with anti-diabetic and antioxidant potential. *Pharmacognosy Journal*. 11 : 201 - 206.
- Manea A. (2010).** NADPH oxidase-derived reactive oxygen species: involvement in vascular physiology and pathology. *Cell and Tissue Research*. 39 : 325 – 332.
- Menon S., Goswami P. (2007).** A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene*. 26 : 1101 - 1109.
- Ngueguim F., Massa B., Kouamouo J., Tchuidjan A., Dzeufiet P., Kamtchouing P., Dimo T. (2014).** Antidiabetic and antioxydant effects of *Annona muricata* aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 151 : 784 - 790.
- Nkono Ya Nkono B., Rouamba A., Kinyock M., Omokolo J., Tcheudi B., Tigui B., Dzeufiet P., Dongmo S., Kamtchouing P. (2021).** Antidiabetic and anti-radical effects of *Garcinia kola* seeds in dexamethasone-induced- hyperglycemic rat. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*. 12 : 203 - 210.
- OMS-Organisation Mondiale de la Santé (2007).** 57^e Session du comité régional de l'Afrique. prevention et controle du diabète: une stratégie pour la région Africaine de l'OMS. 27 - 31.
- OMS-Organisation Mondiale de la Santé (2016).** Rapport Mondial sur le diabète. 23 - 37.
- Papatheodorou K., Banach M., Bekiari E., Rizzo M., Edmonds M. (2018).** Complications of Diabetes. *Journal of Diabetes Research*. 18 : 1 - 4.

- Pincemail J., Siquet J., Chapelle J., Cheramy-bien J., Paulissen G. (2000).** Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Annales de Biologie Clinique*. 58 : 177 - 262.
- Rigalleau V., Lang J., Gin H. (2017).** Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition*. 1941 : 1 – 12.
- Romli H. (2016).** Prise en charge et traitement du diabète de type 2. *Thèse de Pharmacie, Université Mohammed V Rabat. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Maroc*. 228 P : 74 – 80.
- Saltiel A., Kahn C. (2001).** Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Journal of the Nature*. 414 : 799 - 806.
- Shalam M., Harish M., Farhana S. (2006).** Prevention of dexamethasone- and fructose-induced insulin resistance in rats by SH-01D, a herbal preparation. *Indian Journal of Pharmacology*. 38 : 419 - 422.
- Sinha A. (1972).** Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*. 47 : 389 - 394.
- Tchamadeu M., Dzeufiet P., Blaes N., Girolami J., Kamtchouing P., Dimo T. (2017).** Antidiabetic effects of aqueous and dichloromethane/methanol stem bark extracts of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Papilionaceae) on Streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacognosy*. 9 : 80 – 86.
- Tiwari P., Mishra B., Sangwan N. (2014).** Phytochemical and pharmacological properties of *Gymnema sylvestre*: An important medicinal plant. *BioMed Research International*. 2014 : 1 - 18.
- Tolman M., Vivian F., Tan Meng H. (2007).** Spectrum of Liver Disease in Type 2 Diabetes and Management of Patients With Diabetes and Liver Disease. *Diabetes Care*. 30 : 6 - 15.
- Wilbur K., Bernheim F., Shapiro O. (1949).** The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 24 : 305 - 313.
- Zatalial S., Sanusi H. (2013).** The role of antioxydants in the physiopathology, complications and management of diabetes mellitus. *Acta Medica Indonesia*. 45 : 141 - 147.