

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEES

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT LMD 3^{ème}Cycle

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

THÈME

Effets protecteurs des graines de fenugrec (*Trigonelles foenum-graecum*) de Oued souf (Sud Algérien) contre les perturbations métaboliques, oxydatives et histologiques induites par le diabète expérimental chez le rat *Albinos wistar*

Présentée par : M^{lle} HACHOUF Maram

Directrice de thèse : AOUACHERI Ouassila Professeur Université Badji Mokhtar-Annaba

Membres de Jury:

Président: LADJAMA Ali Professeur Université Badji Mokhtar-Annaba

Examinatrices : BOUASLA Ihcene MC.A Université Badji Mokhtar-Annaba

LAYACHI Naima MC.A Université Mohamed Chérif

Messaadia - Souk Ahras

Année Universitaire : 2024 / 2025

Remerciements

Avant tout الحمد لله, le tout-puissant, qui m'a octroyé la vaillance, la ténacité et la persévérance pour continuer ce parcours académique.

Dans le cadre de ce travail de recherche, je tiens à témoigner toutes mes gratitudes à ma directrice de thèse, Madame **AOUACHERI Ouassila**, Professeur à l'université de Badji Mokhtar- Annaba, pour m'avoir accompagné tout le long de ce travail. Je tiens également à certifier ses qualités humaines et scientifiques que j'ai pu côtoyer pendant ces années de recherche. Je vous remercie Madame pour vos conseils techniques, pratiques et scientifiques.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements aux personnalités scientifiques qui ont approuvé de juger ce travail :

Monsieur **LADJAMA Ali**, Professeur à l'université de Badji Mokhtar- Annaba, pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de soutenance. Veuillez accepter professeur l'assurance de notre estime et notre profond respect.

Madame **BOUASLA Ihcène**, Docteur à l'université de Badji Mokhtar- Annaba, et Madame **LAYACHI Naima**, Docteur à l'université de Mohamed Chérif. Messaadia - Souk Ahras, qui ont bien voulu être examinatrices de mon travail. Merci pour votre précieux temps et vos efforts déployés.

Je remercie tous les membres de ChimNutraLab, pour leur convivialité, avec en tête Monsieur **TENORE Gian Carlo**, Professeur à l'université de Naples Frédéric 2, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe pour la réalisation des tests phytochimiques. Je vous exprime ici le témoignage de mes sincères reconnaissances.

Je tiens à souligner le soutien de Monsieur **SAKA Saad**, Professeur à l'université de Badji Mokhtar- Annaba. Je vous remercie pour m'avoir prodigué vos précieux conseils techniques avisés, ainsi pour l'intérêt et le soutien cordial dont vous avez toujours fait preuve.

Je désire exprimer ma gratitude aux membres de département de Biochimie et de la faculté de science, les membres de laboratoire de Biochimie et Microbiologie appliquées (LBMA) et laboratoire d'Ecophysiologie animale (LEPA), sans oublier à l'ensemble des enseignants qui m'ont enseigné tout le long de mon cursus universitaire

Merci également à mes collègues universitaires et mes amis de vie pour leur soutien intellectuel et moral.

Dédicaces

Ce travail est dédié aux êtres les plus chers à mon cœur

Ceux qui m'ont doté d'un amour inconditionnel, inculqué des fortes valeurs et une éthique correcte

Ceux qui m'ont soutenu financièrement, moralement et psychologiquement durant mon cursus académique

Mes précieux parents

Mes chères sœurs : Imen, Asma et Alaa

Mes chers frères : Mani et Ishak

Je leur dois beaucoup et je suis toujours reconnaissante

Que dieu les garde pour moi.

Résumé

Le dilemme du diabète provient du cercle vicieux entre l'hyperglycémie, les espèces réactives d'oxygène et les cytokines pro-inflammatoires qui constituent l'étiopathogénie des complications. L'objectif de cette étude est de prouver qu'un traitement par les graines de fenugrec locales (GFL) pourrait être une approche thérapeutique en évaluant leur profil phytochimique, leur activités antioxydante et antiglycative ainsi que leur activité antidiabétique, antioxydante et anti-inflammatoire chez des rats ayant une physiologie métaboliquement endommagée. Le diabète a été provoqué par voie intrapéritonéale par la Streptozotocine (60 mg/kg). Quarante rats ont été partagés en quatre lots : (1) lot non diabétique, (2) lot non diabétique + 10 % GFL, (3) lot diabétique, (4) lot diabétique + 10 % GFL. Subséquemment à six semaines de traitement, une évaluation des paramètres biochimiques, hématologiques, oxydatifs, physiologiques et histologiques a été accomplie. L'analyse par SAA-flamme a montré une teneur riche en microéléments dans les graines, l'analyse par HPLC-DAD-FLD a montré plusieurs composés phénoliques dont la rutine et l'acide isoférulique sont les plus dominants dans l'extrait hydro-méthanolique. Les essais spectrophotométriques ont exposé des concentrations appréciables en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, alcaloïdes totaux et saponines totaux. L'extrait a été puissant dans le piégeage des DPPH⁺ et ABTS^{•+}, la réduction des Fe³⁺ et Mo⁶⁺ et l'inhibition des AGEs. *In vivo*, le traitement par les GFL a procuré une réduction significative de l'hyperglycémie, une augmentation significative de l'insuline et une amélioration des paramètres hépatiques, rénaux, pancréatiques, lipidiques, inflammatoires ainsi que les paramètres hématologiques. Un rétablissement de la balance redox tissulaire via la diminution du taux de malondialdéhyde (MDA) et l'augmentation du taux de glutathion réduit (GSH) et des activités enzymatiques (catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPx) et glutathion-S-transférase (GST)) chez les rats traités par rapport aux rats diabétiques. Le poids corporel et relatif des organes ainsi que les rations alimentaires et hydriques ont été standardisés suite à la supplémentation par GFL, ce qui a atténué également les fluctuations histologiques touchant le foie, les reins et le pancréas. Ces résultats dévoilent que les GFL présentent un profil de molécules bioactives responsables de leur activité antioxydante, antiglycative, antidiabétique et cytoprotectrice. La supplémentation de l'alimentation par les graines de fenugrec locales semble bénéfique pour les diabétiques et efficace contre les complications du diabète.

Mots clés : Diabète, Stress oxydatif, Graines de fenugrec, Composés phénoliques, Streptozotocine, Rats.

Abstract

The dilemma of diabetes stems from the vicious cycle between hyperglycemia, reactive oxygen species and pro-inflammatory cytokines that constitute the etiopathogenesis of complications. The aim of this study is to prove that a treatment using local fenugreek seeds (GFL) could be a therapeutic approach by examining their phytochemical profile, their antioxidant and antiglycative activities as well as their antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory activities in rats with a metabolically damaged physiology. Diabetes was induced intraperitoneally by Streptozotocin (60 mg/kg). Forty rats were divided into four groups: (1) non-diabetic group, (2) non-diabetic group + 10% GFL, (3) diabetic group, (4) diabetic group+ 10% GFL. Following six weeks of treatment, an evaluation of biochemical, hematologic, oxidative, physiological and histological parameters was performed. The flame-AAS analysis showed a rich content of microelements in the seeds, the HPLC-DAD-FLD analysis has shown several phenolic compounds of which rutin and isoferulic acid are most dominant in the hydro-methanolic extract. The results of the spectrophotometric assays showed appreciable concentrations in total polyphenols, total flavonoids, total alkaloids and total saponins. The extract was potent in trapping DPPH⁺ and ABTS^{•+}, reducing Fe³⁺ and Mo⁶⁺ and inhibiting AGEs. *In vivo*, treatment by GFL has shown a significant reduction of hyperglycemia, an increase in insulin level and an improvement in hepatic, renal, pancreatic, lipid, inflammatory as well as hematologic parameters. A restoration of tissue redox balance through the decrease in malondialdehyde level (MDA), increase in reduced glutathione (GSH) and enzymatic activity of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST) in treated group in comparison to diabetic group. Body and relative organ weight as well as food and water ration were standardized following supplementation with GFL, which also mitigated histological fluctuations in the liver, kidney and pancreas. These results revealed that GFL exhibit a profile of bioactive molecules responsible for their antioxidant, antiglycative, antidiabetic and cytoprotective activities. Local fenugreek seeds supplementation in the diet seems beneficial for diabetics and effective against diabetes complications

Keywords: Diabetes, Oxidative stress, Fenugreek seeds, Phenolic compounds, Streptozotocin, Rats.

المخلص

تتبع معضلة مرض السكري من الحلقة المفرغة بين ارتفاع سكر الدم وعناصر الأوكسجين التفاعلية والسيتوكينات المحرزة للالتهاب التي تشكل سببا في المضاعفات. الهدف من هذه الدراسة هو إثبات أن العلاج ببذور الحلبة المحلية (GFL) يمكن أن يكون نهجًا علاجيًا من خلال تقييم تركيبها الكيميائية النباتية، ونشاطها المضاد للأكسدة و للغلوزة، بالإضافة إلى تقييم نشاطها المضاد للسكري، للأكسدة والمضاد للالتهاب عند جرذان ذات فسيولوجية متضررة أيضًا. تم إحداث مرض السكري عن طريق حقن الستيروبيدوتوسين (60 ملغ/كغ) داخل الصفاق. قسم أربعون جرذًا إلى أربع مجموعات: (1) مجموعة غير مصابة بالسكري، (2) مجموعة غير مصابة بالسكري + 10% GFL، (3) مجموعة مرضى السكري، (4) مجموعة مرضى السكري + 10% GFL. بعد ستة أسابيع من العلاج، تم تقييم المعايير البيوكيميائية، الدموية، المؤكسدة، الفسيولوجية والنسجية. أظهر تحليل لهب-SAA محتوى غنيًا من المغذيات الدقيقة في البذور، كما أظهر تحليل HPLC-DAD-FLD العديد من المركبات الفنولية بما في ذلك الروتين وحمض الايزوفيروليك الأكثر انتشارًا في المستخلص المائي الميتانوليكي. عرضت الاختبارات الطيفية تركيزات ملحوظة من البوليفينول الإجمالي، الفلافونويد الإجمالي، الكالويد الإجمالي و السابونين الإجمالي. كما كان المستخلص قويًا في احتجاز $DPPH^+$ و $ABTS^{\bullet+}$ ، إرجاع Fe^{3+} و Mo^{6+} وتثبيط $AGEs$ *in vivo*. أدى العلاج ببذور الحلبة المحلية إلى انخفاض كبير في تركيز سكر الدم المرتفع، وزيادة معتبرة في الأنسولين بالإضافة إلى تحسن في المعايير الكبدية، الكلوية، البنكرياسية، الدهنية والالتهابية وكذلك معايير الدم الشامل. تم استعادة توازن الأكسدة الاختزالية للأنسجة عن طريق تخفيض مستوى المالونديالديهايد (MDA) وزيادة مستويات الجلوتاثيون (GSH) وأنشطة الإنزيمات: الكاتالاز (CAT) والجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) والجلوتاثيون-S- ترانسفيراز (GST) في المجموعة التي تم علاجها مقارنة بالمجموعة المصابة بالسكري. تمت تسوية وزن الجسم ووزن الأعضاء النسبي بالإضافة إلى حصص الطعام والماء المستهلكة بعد إضافة GFL التي خففت أيضًا من الاضطرابات النسيجية التي اثرت على الكبد، الكلى والبنكرياس. تكشف هذه النتائج ان GFL تملك تركيبة من الجزيئات النشطة بيولوجيًا مسؤولة عن نشاطاتها المضادة للأكسدة، للغلوزة، للسكري والحماية الخلوية. يبدو أن تعزيز النظام الغذائي ببذور الحلبة المحلية مفيد لمرضى السكري و فعال ضد مضاعفات مرض السكري.

الكلمات المفتاحية : مرض السكري، الإجهاد التأكسدي، بذور الحلبة، المركبات الفنولية، ستربيدوتوسين، الجرذان.

Liste des abréviations

Enzymes-substances- ions

AA : Acide aminé

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazol-6-sulfonique).

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

AGEs : Advanced glycation end-product

AG : Acide gras

AGI : Acide gras insaturé

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransferase

ATP : Adénosine triphosphate

Bil-D : Bilirubine direct

Bil-T : Bilirubine totale

BSA : Bovine serum albumin

CAT : Catalase

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CDNB : 1-chloro-2,4-dinitrobenzène

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CoA : Coenzyme A

CRP : Protéine C-réactive

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

DTNB : 5,5-dithiobis-(acide 2-nitrobenzoïque)

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

G6P : Glucose 6 phosphate

G3P glycéraldéhydes : Glucose 3 phosphate glycéraldéhydes

GB : Globules blancs

GFL : Graines de fenugrec locales

GFL.M-Aq : Extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec locales

- GLUT** : Glucose transporteur
- GPx** : Glutathion peroxydase
- GR** : Globules rouges
- GSH** : Glutathion réduit
- GSSG** : Glutathione oxydé
- GST**: Glutathione-S-transférase
- H₂O₂**: Peroxyde d'hydrogène
- Hb**: Hémoglobine
- HbA1c** : Hémoglobine glyquée
- HDL** : High density lipoprotein
- H&E**: Hématoxyline-éosine
- HLA**: Human leukocyte antigen
- HPL**: hormone placentaire lactogène
- IA2** : Anticorps anti-tyrosine phosphatase
- IAA** : Anticorps anti-insuline
- ICA** : Anticorps anti-ilots de Langerhans
- IL-6** : Interleukine 6
- IRS** : Insuline receptor substrate
- LDH** : Lactate déshydrogénase
- LDL** : Low density lipoprotein
- LY** : Lymphocytes
- MDA** : Malondialdéhyde
- MO** : Monocytes
- MODY** : Maturity onset diabetes of the young
- Na₂HPO₄** : hydrogénophosphate de sodium
- NAD⁺**: Nicotinamide adenine dinucleotide oxydé
- NADPH.H⁺** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
- NaH₂PO₄** : Dihydrogénophosphate de sodium
- NF-κB** : Nuclear factor-kappa B
- NO•**: Oxyde nitrique
- O₂•-**: Anion superoxyde
- O₂** : Oxygène singulet

OH• : Radical hydroxyle
PAL : Phosphatase alcaline
PB : Polynucléaires basophiles
PBS : Tampon phosphate salin
PE : Polynucléaires éosinophiles
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase
PKC : Protéine kinase C
PLQ : Plaquettes
PN : Polynucléaires neutrophiles
PT : Protides totaux
RAGE : Receptor for advanced glycation end products
ROO• : Radical peroxyde
ROOH : Hydroperoxyde lipidique
SGLT2 : Sodium-glucose linked transporter type 2
-SH : Groupement thiole
SSA : Acide sulfosalicylique
SOD : Superoxyde dismutase
STZ : Streptozotocine
TBA : Acide thiobarbiturique
TBS : Tris-buffered saline
TCA : Trichloroacétique
TChl : Cholestérol totale
TG : Triglycérides
TNF- α : Tumor necrosis factor alpha
TPTZ : 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine
UDP-N-GlcNac : Uridine diphosphate N-acétylglucosamine
VGM : Volume globulaire moyen

Associations- organisations

ADA : Association américaine de diabète
FID : Fédération internationale du diabète
OMS : Organisation mondiale de la santé
ONAB : Office national des aliments du bétail

Unités

BID : bis in die, deux fois par jour

SEM: Standard error of the mean

UI/L : Unité internationale par litre

(') : Minute

(") : Heure

Techniques-Appareils-Méthodes

DAD : Diode array detector

FNS : Numération formule sanguine

FLD : Fluorescence detector

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

HPLC : high performance liquid chromatography

i.p : Intrapéritonéale

PPM : Phosphomolybdenum

SAA- flamme : Spectrométrie d'absorption atomique à flamme

Figure	Titre	Page
1	Tissus et voies métaboliques impliqués dans la régulation homéostatique de glucose	4
2	Mécanisme de biosynthèse et maturation intracellulaire de l'insuline	5
3	Sécrétion de l'insuline suite à une stimulation par des substrats insulino-sécréteurs	6
4	Mécanismes cellulaires de la réponse sécrétoire insulinique au glucose	7
5	Prévalence du diabète dans le monde en 2021	9
6	Mécanisme de la défaillance de l'homéostasie glycémique dans le diabète de type 1	10
7	Mécanisme cellulaire des réactions auto-immunes étiologiques de diabète de type 1	11
8	Mécanisme de la défaillance de l'homéostasie glycémique dans le diabète de type 2	12
9	Mécanisme moléculaire de la résistance d'insuline induite par les acides gras, étiologique de diabètes de type 2	13
10	Micro et macro-angiopathies diabétiques	17
11	Principaux stades de la peroxydation lipidique	23
12	Domages structuraux d'ADN induits par les attaques radicalaires	24
13	Domages structuraux des protéines induits par les attaques radicalaires	25
14	Mode d'action des enzymes antioxydants-cofacteurs métalliques et leur interaction	27
15	Régénération redox de la vitamine E et C par le glutathion	28
16	Voies métaboliques générant le stress oxydatif sous l'effet de l'hyperglycémie	29
17	Hyperactivité de diol-tautomérisation et oxydation de glucose sous l'effet de l'hyperglycémie	30
18	Mécanisme moléculaire des réactions de Maillard productrices des AGE	32
19	Aspect moléculaire de la défaillance d'insulinosécrétion (A) et de l'insulino-résistance (B) induites par les ERO	33
20	Aspects morphologiques de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	37
21	Diagramme récapitulatif du protocole expérimental de l'étude phytochimique	46

22	Structure chimique de la Streptozotocine	56
23	Diagramme récapitulatif du protocole expérimental de l'étude biologique	58
24	Etapes préparatoires des coupes histologiques	66
25	Chromatogramme HPLC-DAD-FLD de la composition en acides phénoliques et des flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec locales monitorés dans les canaux (A) ex. 272 nm, em. 312 nm ; (B) 280 nm ; (C) 360 nm	71
26	Activité inhibitrice de l'extrait GFL-M.Aq et de la rutine (%) sur la glycation de BSA	74
27	Cinétique hebdomadaire du poids corporel (g) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	75
28	Cinétique de la moyenne hebdomadaire de la consommation d'aliment (g/rat/jour) (A) et de l'eau ((mL/rat/jour) B) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	77
29	Cinétique hebdomadaire de la glycémie chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	79
30	Variation du taux de l'HbA1c (%) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	80
31	Variation du taux de l'insuline (A); des activités enzymatiques de l'amylase (B) et la lipase (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	81
32	Variation des taux de Chol-T (mg/dL) (A); TG (mg/dL) (B) ; HDL (mg/dL) (C) et LDL (mg/dL) (D) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	82
33	Variation des activités enzymatiques (UI/L) de l'ALAT (A) ; ASAT (B); ALP (C) et LDH (D) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	83
34	Variation des taux de l'albumine (g/dL) (A) ; PT (g/dL) (B) ; Bil-T (mg/dL) (C) et Bil-D (mg/dL) (D) chez les rats témoins et traités par 10 % des GFL pendant 6 semaines	84
35	Variation des taux de créatinine (mg/dL) (A) ; urée (mg/dL) (B) et acide urique (mg/dL) (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	85
36	Variation des taux de CRP (mg/dL) (A); IL-6 (pg/mL) (B) et TNF- α (pg/mL) (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	86
37	Variation des taux de MDA (nmol/mg de tissu) hépatique (A); rénale (B); pancréatique (C); cardiaque (D) et splénique (E) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	88

38	Variation des taux de GSH (nM/mg prot) hépatique (A); rénale (B); pancréatique (C); cardiaque (D) et splénique (E) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	89
39	Variation des activités enzymatiques de la GPx ($\mu\text{M GSH}/\text{min}/\text{mg prot}$) hépatique (A); rénale (B) et pancréatique (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	90
40	Variation des activités enzymatiques de la CAT ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$) hépatique (A) ; rénale (B) et pancréatique (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	91
41	Variation des activités enzymatiques de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) hépatique (A); rénale (B) et pancréatique (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	92
42	Microstructure hépatique soumise à la coloration H&E (x400) des rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	94
43	Microstructure rénale soumise à la coloration H&E (x400) des rats témoins et traité par 10% des GFL pendant 6 semaines	95
44	Microstructure pancréatique soumise à la coloration H&E (x400) des rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	97

Tableau	Titre	Page
1	Principaux radicaux libres et espèces non radicalaires	20
2	Tableau récapitulatif non exhaustif des sources endogènes et exogènes des radicaux	22
3	Structure chimique des quelques acides phénoliques communs dans les graines de fenugrec	40
4	Structure chimique des quelques flavonoïdes communs dans les graines de fenugrec	41
5	Caractéristiques géographiques du site de récolte des graines de fenugrec	45
6	Tests qualitatifs adoptés pour l'identification des composés chimiques	47
7	Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment	55
8	Composés phytochimiques mis en évidence dans l'extrait expérimentale des graines de fenugrec locales (GFL-M.Aq)	68
9	Rendement d'extraction de l'extrait GFL-M.Aq	69
10	Concentration totale des composés phytochimiques mis en évidence dans l'extrait GFL-M.Aq	69
11	Composés phénoliques identifiés et quantifiés dans l'extrait des graines de fenugrec locales par HPLC-DAD-FLD	72
12	Teneur des graines de fenugrec locales (GFL) en éléments minéraux	73
13	Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de graines de fenugrec par les tests DPPH, ABTS, FRAP et PPM	74
14	Variation du poids corporel (g) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	76
15	Variation des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins et traités par 10 % des GFL pendant 6 semaines	78
16	Variation des concentrations des paramètres érythrocytaires et leucocytaire chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines	87

Table des matières

Résumé	
Abstract	
المخلص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Le diabète

1.1. Physiologie de la glycémie.....	4
1.1.1. Homéostasie glucidique	4
1.1.2. Biosynthèse et sécrétion de l'insuline	4
1.1.3. Régulation métabolique de la glycémie.....	6
1.2. Physiopathologie du diabète	8
1.2.1. Définition du diabète.....	8
1.2.2. Epidémiologie et prévalence du diabète.....	8
1.2.3. Classification et étiopathogénie.....	9
1.2.3.1. Diabète de type 1.....	9
1.2.3.2. Diabète type 2.....	11
1.2.3.3. Diabète gestationnel	13
1.2.3.4. Diabètes secondaires.....	13
1.2.3.5. Diabète expérimental.....	14
1.3. Symptomatologie du diabète.....	14
1.4. Dépistage et diagnostic du diabète.....	15
1.5. Complications du diabète.....	15
1.5.1. Complications métaboliques.....	15

1.5.2. Complications dégénératives.....	16
1.5.2.1. Microangiopathie diabétique.....	16
1.5.2.2. Macroangiopathie diabétique.....	16
1.5.3. Complications infectieuses.....	17
1.6. Traitement et perspectives thérapeutique.....	17

Chapitre 2 : Le Stress oxydatif

2.1. Définition du stress oxydatif.....	19
2.2. Les radicaux libres.....	19
2.2.1. Origine et rôle physiologique des radicaux libres.....	20
2.2.1.1. Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$).....	20
2.2.1.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).....	20
2.2.1.3. Radical hydroxyle (OH^{\cdot}).....	21
2.2.2. Toxicité cellulaire des ERO.....	22
2.2.2.1. Peroxydation lipidique.....	22
2.2.2.2. Oxydation des acides nucléique.....	23
2.2.2.3. Oxydation protéique.....	24
2.2.2.4. Gluco-oxydation.....	25
2.3. Systèmes antioxydants.....	25
2.3.1. Antioxydants enzymatiques.....	26
2.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	26
2.3.1.2. Catalase (CAT).....	26
2.3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	26
2.3.1.4. Glutathion-S-transférase (GST).....	26
2.3.2. Antioxydants non enzymatiques.....	27
2.3.2.1. Glutathion (GSH).....	27
2.3.2.2. Vitamines E et C.....	28
2.3.2.3. Oligoéléments.....	28
2.3.2.4. Polyphénols.....	28

2.4. Diabète et stress oxydatif.....	29
2.4.1. Voies pro-oxydatives dans le diabète.....	29
2.4.1.1. Glycolyse.....	30
2.4.1.2. Auto-oxydation du glucose	30
2.4.1.3. Voie des polyols.....	31
2.4.1.4. Voie des hexosamines.....	31
2.4.1.5. Voie de la PKC.....	31
2.4.1.6. Glycation des protéines.....	31
2.4.2. Implication de stress oxydatif dans l’insulino-déficience et l’insulino-résistance.....	32
2.4.3. Implication de stress oxydatif dans les complications diabétiques.....	33

Chapitre 3 : Le Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*)

3.1. Généralités sur la phytothérapie.....	35
3.2. Mécanismes d’intervention des plantes médicinales dans le diabète.....	35
3.3. Le fenugrec (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.)	36
3.3.1. Classification et cultivation.....	36
3.3.2. Description botanique.....	37
3.3.3. Composition chimique des graines de fenugrec.....	38
3.3.3.1. Composition en substances nutraceutiques.....	38
3.3.3.2. Composition en substances bioactives.....	39
3.3.4. Aspects thérapeutiques des graines de fenugrec.....	42
3.3.4.1. Utilisation ethno-historique	42
3.3.4.2. Utilisation pharmacologique.....	42
3.3.5. Aspects toxicologiques.....	43

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

4.1. Etude phytochimique du fenugrec	45
--	----

4.1.1. Modèle végétal et extraction.....	45
4.1.2. Analyse qualitative de l'extrait hydro-méthanolique des GFL.....	47
4.1.3. Analyse quantitative de la composition métabolique totale de l'extrait GFL-M.Aq.....	48
4.1.3.1. Dosage de polyphénols totaux.....	48
4.1.3.2. Dosage de flavonoïdes totaux.....	48
4.1.3.3. Dosage des saponines totaux.....	49
4.1.3.4. Dosage des alcaloïdes totaux.....	49
4.1.4. Analyse quantitative de la composition phénolique individuelle de l'extrait GFL-M.Aq.....	50
4.1.5. Analyse quantitative de la composition minérale de GFL.....	51
4.1.6. Activité antioxydante de l'extrait GFL-M.Aq.....	51
4.1.6.1. Test de piégeage du radical DPPH•	51
4.1.6.2. Test de réduction du fer (FRAP).....	52
4.1.6.3. Test de piégeage du radical ABTS • ⁺	52
4.1.6.4. Test du phosphomolybdate (PPM).....	53
4.1.7. Activité antiglycative de l'extrait GFL-M.Aq.....	53
4.2. Expérimentation animale	54
4.2.1. Confection de l'alimentation des rats	54
4.2.2. Modèle animal et entretien.....	55
4.2.3. Induction du diabète expérimental.....	55
4.2.4. Conception expérimentale et traitement.....	56
4.2.5. Échantillonnage biologique (Sacrifice, prélèvement et dissection)	57
4.2.6. Évaluation de la cinétique glycémique.....	59
4.2.7. Évaluation des paramètres biochimiques.....	59
4.2.8. Évaluation des paramètres hématologiques.....	59
4.2.9. Évaluation des paramètres de stress oxydatif.....	60
4.2.9.1. Préparation de l'homogénat.....	60
4.2.9.2. Dosage du taux du malondialdéhyde (MDA).....	60

4.2.9.3. Dosage du taux de glutathion réduit (GSH).....	61
4.2.9.4. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx).....	62
4.2.9.5. Dosage de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST).....	63
4.2.9.6. Dosage de l'activité de la catalase (CAT).....	63
4.2.9.7. Dosage des protéines	64
4.2.10. Évaluation des paramètres histologiques	65
4.3. Analyse statistique.....	67

Chapitre 5 : Résultats

5.1. Résultats de l'étude phytochimique.....	68
5.1.1. Screening phytochimique.....	68
5.1.2. Composition phytochimique quantitative.....	68
5.1.2.1. Composition phytochimique totale.....	68
5.1.2.2. Composition phénolique individuelle	69
5.1.3. Teneur en minéraux.....	73
5.1.4. Activité antioxydante de l'extrait GFL-M.Aq.....	73
5.1.5. Activité antiglycative de l'extrait GFL-M.Aq.....	74
5.2. Résultats de l'expérimentation animale	75
5.2.1. Résultats de l'étude sémiologique pondérale	75
5.2.1.1. Répercussion du traitement par les GFL sur la cinétique pondérale.....	75
5.2.1.2. Répercussion du traitement par les GFL sur la consommation alimentaire et hydrique	76
5.2.1.3. Répercussion du traitement par les GFL sur les indices organo-somatiques.....	78
5.2.2. Résultats de l'étude biochimiques.....	78
5.2.2.1. Répercussion du traitement par les GFL sur la cinétique glycémique.....	78
5.2.2.2. Répercussion du traitement par les GFL sur le taux de l'HbA1c.....	79
5.2.2.3. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres pancréatiques.....	80
5.2.2.4. Répercussion du traitement par les GFL sur le profile lipidique.....	81

5.2.2.5. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres hépatiques.....	82
5.2.2.6. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres rénaux.....	84
5.2.2.7. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres inflammatoires.....	85
5.2.3. Résultats de l'étude hématologique	86
5.2.4. Résultats du statut redox	87
5.2.4.1. Répercussion du traitement par les GFL sur la teneur tissulaire en MDA.....	87
5.2.4.2. Répercussion du traitement par les GFL sur la teneur tissulaire en GSH.....	88
5.2.4.3. Répercussion du traitement par les GFL sur l'activité de la GPX.....	90
5.2.4.4. Répercussion du traitement par les GFL sur l'activité de la CAT.....	91
5.2.4.5. Répercussion du traitement par les GFL sur l'activité de la GST.....	92
5.2.5. Résultats de l'étude histologique.....	93
5.2.5.1. Répercussion du traitement par les GFL sur le tissu hépatique.....	93
5.2.5.2. Répercussion du traitement par les GFL sur le tissu rénal.....	94
5.2.5.3. Répercussion du traitement par les GFL sur le tissu pancréatique.....	95

Chapitre 6 : Discussion

Discussion.....	98
Conclusion et perspectives.....	113
Références bibliographiques.....	115
Annexes	

Introduction

Introduction

Malgré les recherches scientifiques considérables menées sur le diabète, il demeure un dilemme médical incontesté qui touche mondialement 11,1 % de sujets selon la fédération internationale du diabète (FID) en 2025. En outre, l'enquête nationale Baromètre-Algérie a estimé que 14,4% de la population algérienne âgés de 18 à 69 ans est atteint du diabète (Belhadj *et al.*, 2019). Cette prévalence s'est élevée à 17,5 % en 2024, soit environ 4,7 millions diabétiques en Algérie. En effet, ce qui suscite le plus d'inquiétude, c'est la progression simultanée du nombre de cas de diabète et des décès associés à l'échelle mondiale, qui témoigne le caractère pandémique et meurtrier de diabète (FID, 2025).

Le diabète est une affection endocrinienne due soit à une insulino-pénie absolue suite à un déficit de sécrétion d'insuline ou à une insulino-résistance suite à un mal fonctionnement d'insuline (Ojo *et al.*, 2023). En conséquence, le métabolisme des glucides est principalement affecté entraînant une hyperglycémie chronique, ainsi que des fluctuations dans le métabolisme des lipides et des protéines qui se manifestent dans les stades précoces par un syndrome cardinal (Aouacheri *et al.*, 2015). La gravité de cette maladie réside dans les perturbations vasculaires consécutives qui se développent en s'aggravant en complications à la longue notamment la cardiomyopathie, la rétinopathie, la neuropathie et la néphropathie (Raccach, 2004).

Une autre complication constante du diabète est la perturbation du statut redox. En effet, plusieurs mécanismes faisant partie de la pathogénie du diabète notamment la voie des hexosamines, la voie des polyols et de protéine kinase C, l'oxydation du glucose et les réactions de Maillard, ont été recensées comme processus pro-oxydants en réponse à une hyperglycémie pour consommer l'excédentaire du glucose (Ighodaro, 2018). L'activation de ces voies est accompagnée d'une production excessive des espèces réactives d'oxygène (ERO) suscitant un état pathologique connu d'idiome « stress oxydatif » (Butkowski, 2020).

Selon leur quantité intrinsèque, les ERO sont douées d'une dualité fonctionnelle vis-à-vis les constituants biochimiques de l'organisme, en raison de leur intervention dans des processus vitaux et létaux physiologiques mais également dans des mécanismes oxydatifs pathologiques (Pizzino *et al.*, 2017). Ainsi, le stress oxydant est admis d'être un facteur étiologique dans la progression des perturbations au niveau métabolique et vasculaire au cours du diabète (Bhatti *et al.*, 2022). Ceci est enrayé par un système de défense compensatoire, piloté par des antioxydants endogènes et épaulé par des antioxydants exogènes (González *et al.*, 2023). De surcroît, l'inflammation est un facteur synergétique dans le développement des complications diabétiques,

dont le mécanisme de production des cytokines pro-inflammatoires est attribué à l'accumulation des ERO (Halim et Halim, 2019).

Le management du diabète requiert des interventions médicamenteuses couteuses qui présentent des effets secondaires faisant un débat véhément dans la santé publique (Limonier, 2018). De ce fait, le recours vers les plantes médicinales dans le cadre de la phytothérapie semble être une alternative crédible dans la prévention et la gestion de nombreuses maladies, entre autres, les maladies métaboliques (Jarald *et al.*, 2008). Actuellement, l'intérêt croissant pour la médecine naturelle s'appuie sur les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des composés phytochimiques. Ces substances bioactives sont sollicitées pour concevoir des agents thérapeutiques tout en minimisant les réactions indésirables ce qui constitue l'objectif de la médication végétale (Lehmann, 2013).

Plusieurs plantes à utilisation ancestrale reçoivent des substantiations expérimentales et cliniques en continue par la communauté scientifique pour approuver leur innocuité d'emploi, qualité pharmaceutique et leur efficacité thérapeutique (Lehmann, 2013). Une de ces plantes est « le fenugrec ». Outre sa polyvalence d'usage culinaire dans les traditions chinoise, indienne et arabo-islamique grâce à ses propriétés nutritives (Saad et Said, 2011), les graines de fenugrec ont été utilisées pour des applications médicales internes comme fébrifuge, sédatif et stomatique ainsi que des applications externes comme cataplasme (Oueslati et Ghédira, 2015). Récemment, ces graines jaune brunâtre ont été documentées dans plusieurs études scientifiques comme ayant des propriétés antidiabétiques (Alsieni *et al.*, 2021), hépatoprotectrices (Joshi *et al.*, 2015), antioxydantes (Jin *et al.*, 2014), hypolipidémiques (Knott *et al.*, 2017).

Cette plante a été souvent utilisée traditionnellement par la population locale du Sud d'Algérie à des fins culinaires comme condiment ainsi qu'à des fins médicinales sous forme de suspensions (Ait Youssef, 2006 ; Rouibi, 2018). Cependant sur le plan études expérimentales, peu d'études sont menées sur des variétés algériennes de fenugrec en comparaison à celles réalisées sur les graines importées d'Inde. Bien que limitées, certaines recherches comme celles de Bouhenni *et al.*, (2021) ont mis en évidence la présence de 8 polyphénols dotés d'une activité antioxydante puissante dans l'extrait méthanolique des graines cultivées dans le Nord-Ouest de l'Algérie (Mostaganem). Chelbi *et al.*, (2025) ont identifié 15 composés phénoliques dans l'extrait méthanolique des graines de fenugrec algériennes tout en montrant leur effet anti-hyperglycémique sur des rats diabétiques. L'étude de Rahmani *et al.*, (2018), portant sur quatre cultivars de graines de fenugrec algériennes de Sidi Bel Abbès, a mis en évidence des différences significatives au niveau de la composition phytochimique ainsi que l'activité biologique. Effectivement, les facteurs biotiques et abiotiques influencent significativement la composition

minérale et phénolique des plantes, éléments déterminants dans l'évaluation de leur potentiel médicinal (Hayet *et al.*, 2020). De ce fait, il apparaît judicieux de mener une étude expérimentale sur les graines de fenugrec cultivées dans des conditions arides, susceptibles d'affaiblir ou de renforcer leurs activités biologiques.

Dans ce contexte, cette étude scientifique s'axe sur :

- Une étude phytochimique sur l'extrait hydro-méthanolique de la poudre des graines de fenugrec cultivées sur Hassi Khalifa, Oued-Souf, Algérie. Cette partie vise à explorer le contenu chimique qualitatif et quantitatif de la plante en détaillant la composition totale en principes actifs, la composition individuelle des composés phénoliques ainsi que le contenu minéral. Secondairement, elle est consacrée pour la mise en évidence des activités antioxydantes et antiglycative de l'extrait des graines locales.
- Une étude *in vivo* portant sur le diabète expérimentalement induit sur un modèle animal, des rats mâles de souche *Albinos wistar*. L'objectif de cette étude est l'évaluation des aspects métaboliques, physiologiques, oxydatives et histologiques du diabète, ainsi que l'effet d'une supplémentation diététique de 10 % de la poudre des graines de fenugrec locales sur les perturbations associés.

Ce manuscrit est devisé en deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique exposant une mise en revue sur le diabète, le stress oxydatif ainsi qu'un aperçu botanique et phytochimique sur les graines de fenugrec.
- La deuxième partie explicite les démarches et les protocoles expérimentaux qui ont été conçus ainsi que les méthodes adoptées dans la partie pratique. Cette partie comporte également l'ensemble des résultats phytochimiques et biologiques qui sont discutés et comparés avec ceux de la littérature pour la mise en évidence d'une éventuelle constatation scientifique qui pourra aider sur le plan biotechnologique et pharmaceutique.

Chapitre 1 : Le diabète

Chapitre 1 : Le diabète

1.1. Physiologie de la glycémie

1.1.1. Homéostasie glucidique

Le glucose est un substrat énergétique qui conditionne le fonctionnement et la survie cellulaire (Ferré, 2007). Ainsi, le maintien de l'homéostasie glucidique est vital en faisant appel à une régulation neuroendocrinienne qui sert à équilibrer l'entrée et la sortie de glucose du sang sous l'égide des hormones pancréatiques. L'insuline, hormone sécrétée dans les périodes postprandiales, stimule la mise en réserve de glucose sous forme de glycogène ou sous forme de triglycérides pour surmonter l'hyperglycémie (Petersen et Shulman, 2018). À l'inverse, le glucagon est une hormone sécrétée dans les périodes de jeun, active la mobilisation du glucose à partir du glycogène et des substances non glucidiques pour compenser l'hypoglycémie (Figure 1) (Nicolas, 2017).

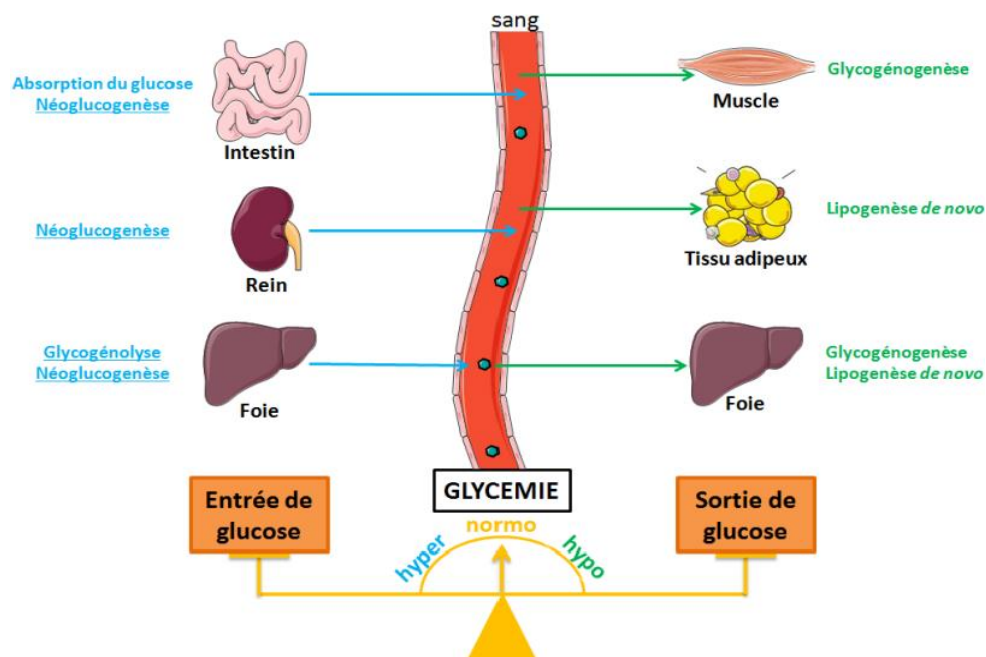


Figure 1 : Tissus et voies métaboliques impliqués dans la régulation homéostatique du glucose (Nicolas, 2017)

1.1.2. Biosynthèse et sécrétion de l'insuline

L'insuline est un polypeptide hormonal de 51 résidus, synthétisé primitivement sous forme d'un pré-proinsuline, un polypeptide de 110 acides aminés (Vasiljević *et al.*, 2020). Ce dernier est morcelé par protéolyse dans le réticulum endoplasmique rugueux en formant la proinsuline (83 acides aminés). Elle-même subit un clivage séquentiel par des protéases au niveau de l'appareil

de golgi pour former le peptide-c et l'insuline mature qui va être libéré par exocytose des vésicules sécrétoires qui le renferment (Liu *et al.*, 2018) (Figure 2).

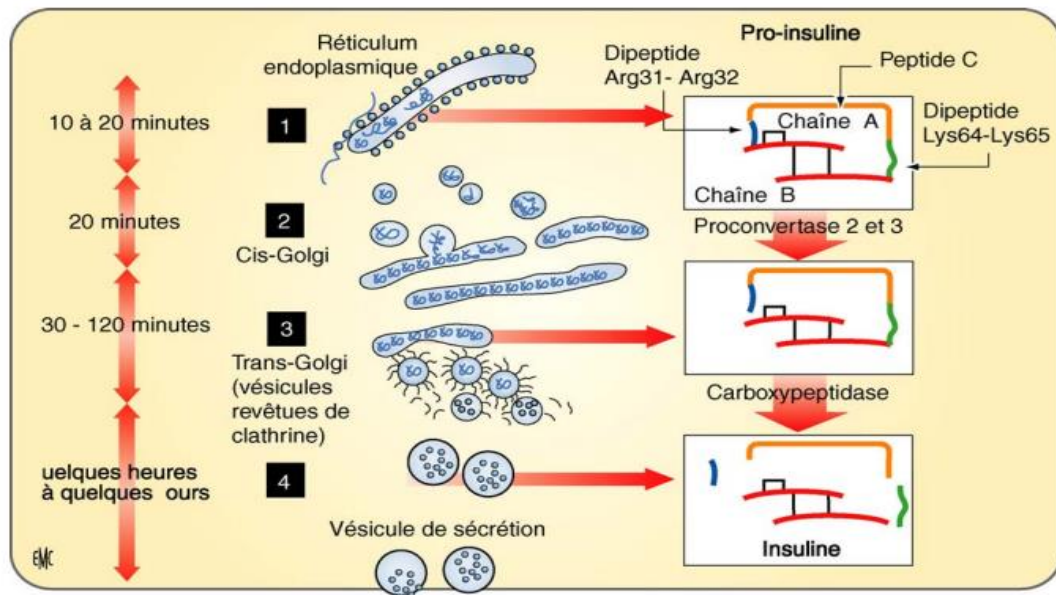


Figure 2 : Mécanisme de biosynthèse et maturation intracellulaire de l'insuline (Magnan et Ktorza, 2005)

La sécrétion de l'insuline est conditionnée par un stimulus physiologique auquel les cellules β sont sensibles, qui correspond principalement à l'élévation de taux de glucose sanguin, quoique qu'il existe d'autres éléments insulino-sécréteurs notamment les acides gras et les acides aminés (Dembele, 2006). En période postprandiale, la présence d'un signal (glycémie élevée) induit la sécrétion de l'insuline dont la machinerie cellulaire est représentée par une cascade de réactions qui finit par la libération de l'insuline (Magnan et Ktorza, 2005 ; Mosbah et Andreelli, 2012). La figure 3 illustre les étapes de la sécrétion de l'insuline suite à une stimulation par des substrats insulino-sécréteurs :

- Le glucose intracellulaire accru rentre dans les cellules β via GLUT2 en pénétrant par la diffusion facilitée.
- La phosphorylation immédiate du glucose en glucose-6-phosphate (G6P) par la glucokinase.
- La métabolisation du G6P par la glycolyse et la phosphorylation oxydative dans les cellules β ce qui augmente le ratio ATP/ADP.
- La génération d'ATP induit l'inactivation des canaux K^+ ATP-dépendant, de ce fait, une dépolarisation membranaire s'est produite suite à l'accumulation de potassium intracytosolique.

- L'ouverture de canaux Ca^{2+} voltage-dépendant consécutivement à la différence du potentiel, ce qui augmente la perméabilité et stimule le flux ionique intracellulaire.
- Le cumul calcique intracellulaire stimule le défilement des vésicules sécrétoires vers la membrane ou elles déchargent leur contenu insulinaire par exocytose (Magnan et Ktorza, 2005).

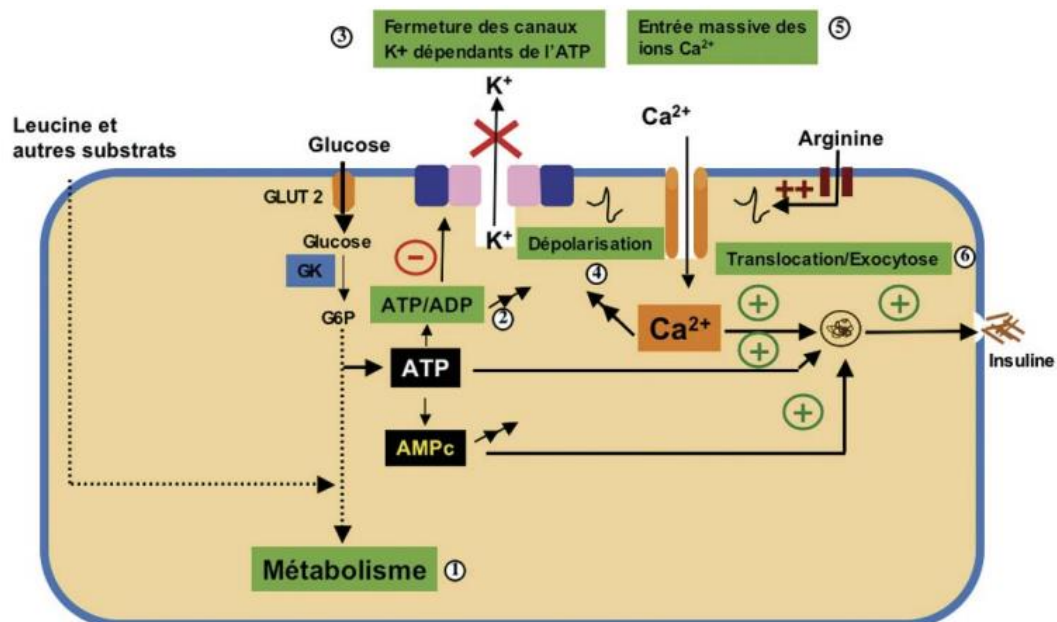


Figure 3 : Sécrétion de l'insuline suite à une stimulation par des substrats insulino-sécréteurs (Magnan et Ktorza, 2005)

1.1.3. Régulation métabolique de la glycémie

Suite à un apport, le glucose exogène subit une régulation en activant des voies métaboliques faisant intervenir le foie, le muscle et les tissus adipeux comme organe de stockage sous la coordination d'insuline et l'inhibition de l'hormone contre-régulatrice, le glucagon (Rahman *et al.*, 2021). En sollicitant les récepteurs GLUT, l'insuline favorise l'entrée de glucose à l'intérieur de la cellule. Après sa phosphorylation, le glucose est acheminé et métabolisé selon le type et l'état énergétique cellulaire (Ferré, 2007). La figure 4 montre les mécanismes cellulaires de la réponse sécrétoire insulinaire au glucose :

- Lorsque le glucose intracellulaire est inférieur au besoin énergétique, le glucose-6-phosphate (G6P) subit une oxydation pour la production d'ATP via une glycolyse cytoplasmique et un cycle de Krebs mitochondriale (Nicolas, 2017).
- Lorsque le glucose intracellulaire est supérieur au besoin énergétique, le G6P est mis en réserve dans les tissus insulino-sensibles :

- Au niveau hépatique et musculaire, le G6P est amassé en chaînes glucidiques sous forme de glycogène via la glycogénogenèse par la glycogène synthase (enzyme clef). Cette voie est réversible dans les hépatocytes, c'est à dire il y'a la possibilité de mobilisation par glycogénolyse, contrairement aux myocytes qui sont dépourvus de glucose-6-phosphatase. Ceci montre la différence d'attribution physiologique de glycogène entre le foie et le muscle (Melkonian *et al.*, 2023).
- Au niveau de tissus adipeux et/ou hépatique, le G6P est transformé en acides gras par une succession d'une glycolyse cytosolique et une lipogenèse *de novo* mitochondriale en faisant intervenir une enzyme spécifique, l'acide gras synthase. Les acides gras néosynthétisés sont déposés en tant que triglycérides dans les adipocytes, ou dans les hépatocytes dans les cas pathologiques (disposition ectopique des lipides) (Jeon *et al.*, 2023). Le G6P peut s'introduire dans la voie de pentose phosphate permettant la génération de NADPH, H⁺ et du ribulose-5-phosphate pendant la phase oxydative suivi d'une phase non oxydative qui permet la production de ribose-5-phosphate destiné pour la synthèse des nucléotides (TeSlaa *et al.*, 2023).

Chacun de ces processus métaboliques inclut une cascade de réactions enzymatiques endergoniques ou exergoniques complexes pour s'exécuter.

En cas de jeun ou des repas distancés, il va y avoir la sécrétion du glucagon à partir des cellules α de Langerhans, cette hormone hyperglycémiant sert à corriger l'hypoglycémie en favorisant la glycogénolyse et la néogluconèse (Capozzi *et al.*, 2022).

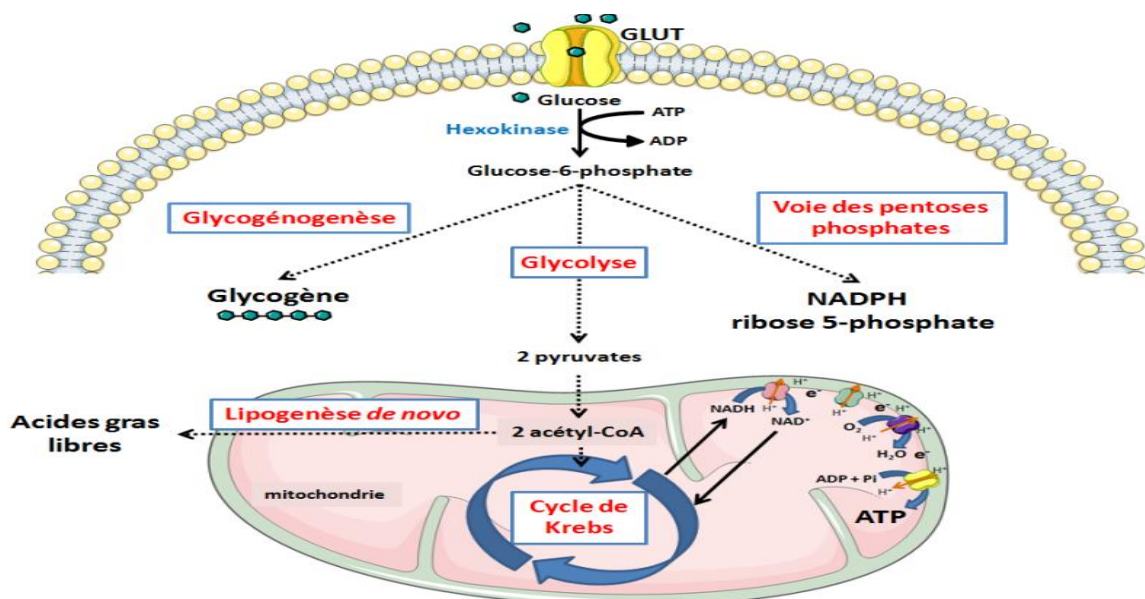


Figure 4 : Mécanismes cellulaires de la réponse sécrétoire insulinaire au glucose (Nicolas, 2017)

1.2. Physiopathologie du diabète

1.2.1. Définition du diabète

La dénomination du diabète est originaire de la locution grecque « dia-baino » signifiant passer au travers. On lui attribue le nom « millitus » en se référant à l'urine sucrée (Karamanou *et al.*, 2016). Le diabète est une maladie métabolique chronique particularisée par une concentration excessivement substantielle en glucose « hyperglycémie » suite à une défaillance de sécrétion d'insuline au niveau des cellules pancréatiques ou défaillance d'action d'insuline au niveau des cellules périphériques (Ojo *et al.*, 2023). Selon l'organisation mondiale de la santé, un état diabétique est déclaré lorsque la glycémie veineuse dépistée à jeun est supérieure à 1,26 g/L (OMS, 2016). Un tel taux élevé dans la concentration du glucose suscite des séquelles métaboliques et des complications dans les systèmes majeurs, urinaire (rein), cardiovasculaire (cœur et vaisseaux), nerveux (nerfs) et visuel (yeux) (Chawla *et al.*, 2016).

1.2.2. Epidémiologie et prévalence du diabète

Conformément aux organismes internationaux avec en tête, la FID et l'OMS, la prévalence du diabète continue à augmenter en arrivant à des limites pandémiques. En 2024, près de 11,1% de la population mondiale, l'équivalent de 589 millions personnes ont été diagnostiquées diabétiques, avec une augmentation prédictible à 13% (853 millions) en 2050. Cependant, il est estimé que 175 millions de personnes à travers le monde ne sont pas diagnostiquées.

Les estimations mondiales montrent une variabilité régionale de la prévalence du diabète (Figure 5). A titre d'exemple, la région du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord (MENA) a enregistré 85 millions diabétiques en 2024 et devrait connaître une augmentation de 87 % d'ici 2045, estimant 163 millions diabétiques (FID, 2024).

En Algérie, la prévalence nationale du diabète est estimée d'être 6,63 % de la population en 2013 (Lamri *et al.*, 2014) et a augmenté depuis en atteignant 14,4 % soit l'équivalent de 4 millions des cas diabétiques (18-69 ans) (Belhadj *et al.*, 2019). Selon les données les plus récentes, la prévalence du diabète est estimée d'être 17,5% de la population algérienne (DIF, 2024).

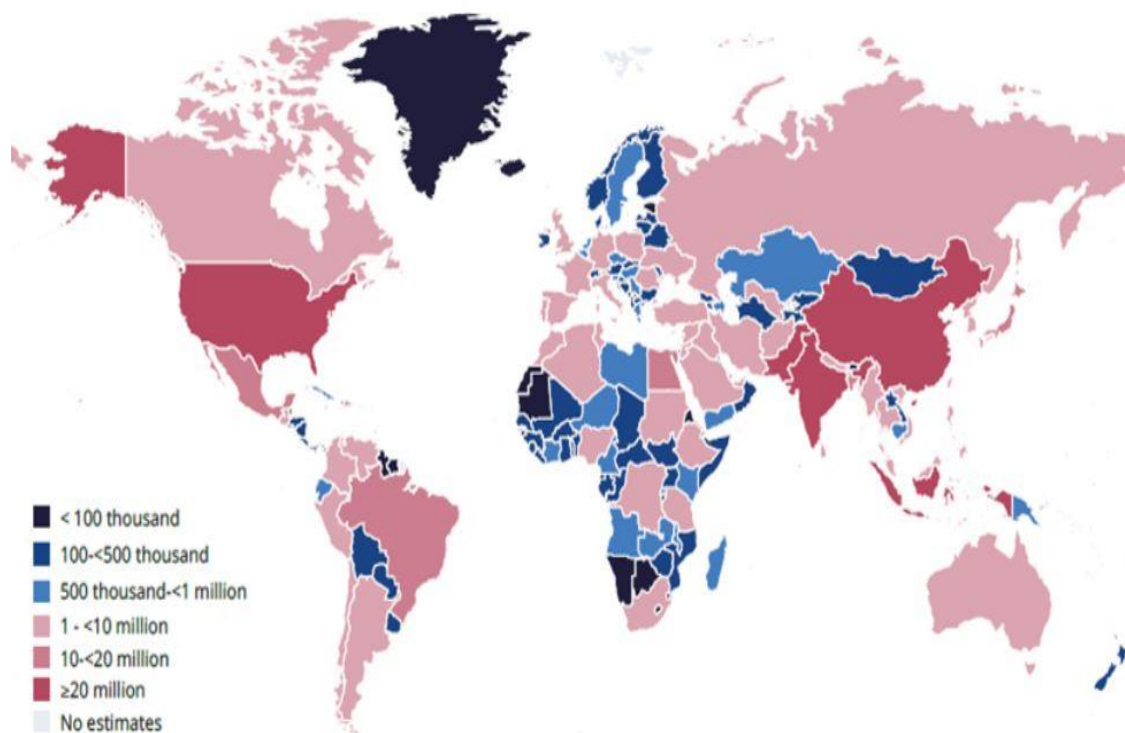


Figure 5 : Prévalence du diabète dans le monde en 2024 (FID, 2024)

1.2.3. Classification et étiopathogénie

1.2.3.1. Diabète de type 1

Communément appelé diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, il ne touche mondialement que 10 % des cas diabétiques (FID, 2021). C'est une maladie caractérisée par une insuffisance voire absence de sécrétion d'insuline suite à un anéantissement des cellules β de Langerhans productrices de cette hormone régulatrice par des auto-anticorps (Katsarou *et al.*, 2017) (Figure 6). En effet, le diabète type 1 est la manifestation clinique du dysfonctionnement de système immunitaire ou les cellules T lymphocytaires se mettent à identifier les cellules β pancréatiques comme non-soi et à les attaquer. Il s'agit d'une maladie auto-immune qui survient pendant l'enfance et l'adolescence (Ilonen *et al.*, 2019).

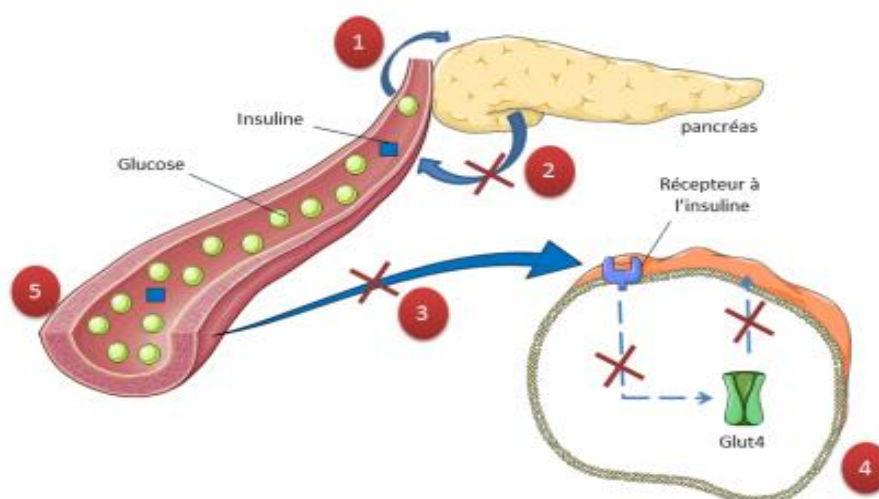


Figure 6 : Mécanisme de la défaillance de l'homéostasie glycémique dans le diabète de type 1 (Boyer, 2016). 1. Incitation des cellules β pour l'excrétion d'insuline sous l'effet du glucose (agent stimulant). 2. Absence de production d'insuline. 3. Echec d'acquisition de glucose par les tissus insulino-dépendants suite à une défaillance dans la transduction du signal insulinique. 4. Défaut dans le trafic membranaire du GLUT4 et sa translocation. 5. Accumulation sanguine du glucose aboutissant à une hyperglycémie.

Le diabète de type 1 est souvent lié étiologiquement à des facteurs héréditaires, en impliquant des prédisposants génétiques portés par les gènes du complexe antigène leucocytaire (HLA) localisé au niveau de locus 6p21,3 sur le chromosome 6. Le diabète de type 1 est également lié à des facteurs environnementaux qui peuvent être attribués à une alimentation ayant un indice glycémique élevé, ou à des infections entéro-virales, au cours desquelles les lymphocytes sont incapables de reconnaître convenablement les antigènes viraux à cause de mimétisme moléculaire (Acharjee *et al.*, 2013).

La physiopathologie du diabète de type 1 correspond à une cascade de réactions immunitaires (Figure 7) initiée par la production des auto-antigènes suite à l'apoptose des cellules β endommagées. Ceci provoque une conception de processus d'autoprotection par les lymphocytes, de ce fait, ces derniers reconnaissent les peptides présentés par les cellules dendritiques–CMH comme antigènes étrangers, par conséquent les cellules T différenciées attaquent les cellules pancréatiques (Mahaffy et Edelstein-Kheshet, 2007).

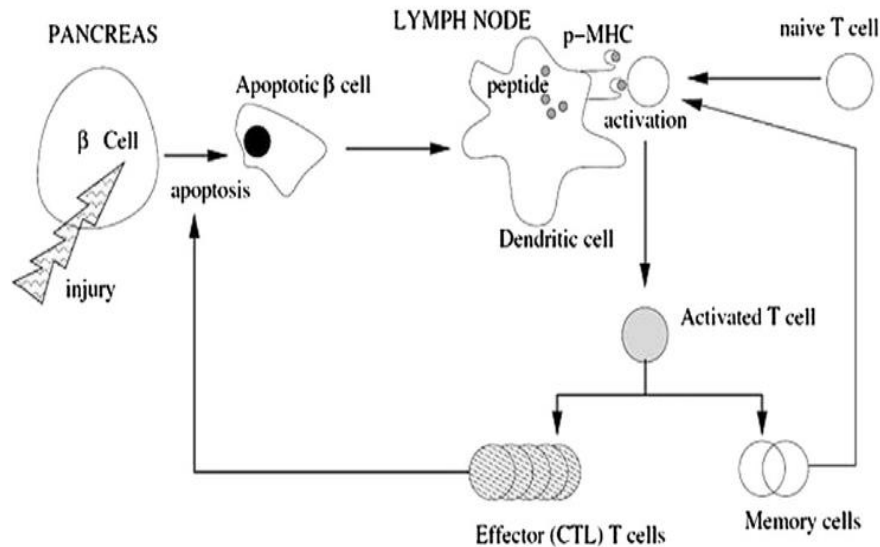


Figure 7 : Mécanisme cellulaire des réactions auto-immunes étiologiques du diabète de type 1 (Mahaffy et Edelstein-Kheshet, 2007)

1.2.3.2. Diabète de type 2

Appelé également diabète insulino-dépendant ou diabète gras, c'est le type le plus prévalent des diabètes, dont il prédomine plus de 90% des diabétiques adultes avec une survenue probable chez les adolescents (FID, 2021). Caractérisé par une défectuosité dans l'action d'insuline et l'insensibilité des récepteurs cellulaires des tissus cibles musculaires, adipeux et hépatiques à cette hormone (Figure 8). De ce fait, le glucose faiblement absorbé par apport au glucose circulant aboutit ainsi à une hyperglycémie accompagnée d'un dérèglement des voies métaboliques au niveau des tissus conditionnés par l'action d'insuline (Rigalleau *et al.*, 2007). L'insulino-résistance rencontrée peut évoluer en insulino-pénie, en étant une réponse compensatoire à la sollicitation accrue de l'insuline, où les cellules insulino-sécrétrices le produisent jusqu'à leur épuisement (Galicia-Garcia *et al.*, 2020).

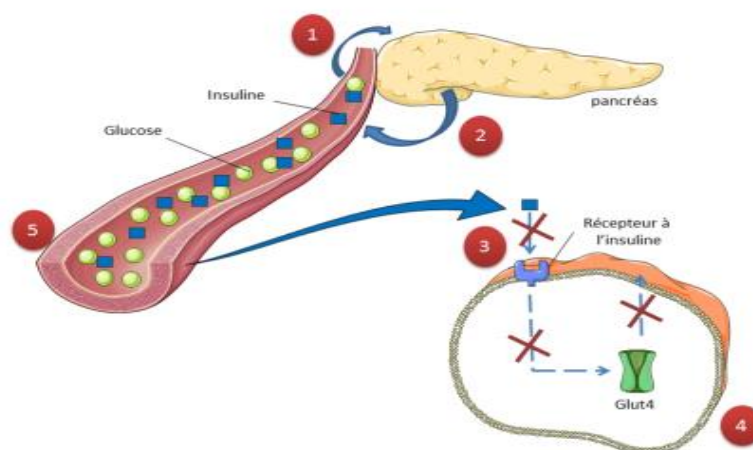


Figure 8 : Mécanisme de la défaillance de l'homéostasie glycémique dans le diabète de type 2 (Boyer, 2016). 1. Incitation de cellules β pour l'excrétion d'insuline sous l'effet du glucose (agent stimulant). 2. Production et sécrétion d'insuline. 3. Echec de la liaison insuline-récepteur avec une défaillance dans la transduction du signal insulinaire. 4. Défaut dans le trafic membranaire du GLUT4 et sa translocation. 5. Accumulation sanguine de glucose aboutissant à une hyperglycémie.

L'incidence du diabète de type 2 est le résultat de la combinaison de plusieurs facteurs causatifs notamment les antécédents familiaux, qui demeurent moins contributifs par rapport à l'obésité, l'inactivité physique, l'apport calorique et nicotinique excessif, l'alimentation non équilibrée. L'ensemble de ces facteurs environnementaux augmente l'index de la masse corporelle, qui est inversement proportionnel à la sensibilité à l'insuline (Boitard, 2020).

La résistance à l'insuline caractérisée dans le diabète de type 2 est liée à la disponibilité intracellulaire en acides gras provenant des sources endogènes ou exogènes, qui vont être activés en acyl-CoA. A des concentrations significatives, ces derniers servent des précurseurs à des médiateurs lipidiques en activant la protéine kinase C. Celle-ci, inhibe la phosphorylation des IRS (insuline receptor substrate) sur les résidus tyrosine en les phosphorylant sur résidus serine ce qui restreint la cascade de signalisation insulinaire (Ferré, 2007). D'autres facteurs diabéto-gènes notamment les facteurs de nécrose tumorale ($\text{TNF-}\alpha$) et les radicaux libres augmentent la phosphorylation sur les résidus serine des IRS, une caractéristique de l'état résistant à l'insuline (Tanti *et al.*, 2004) (Figure 9).

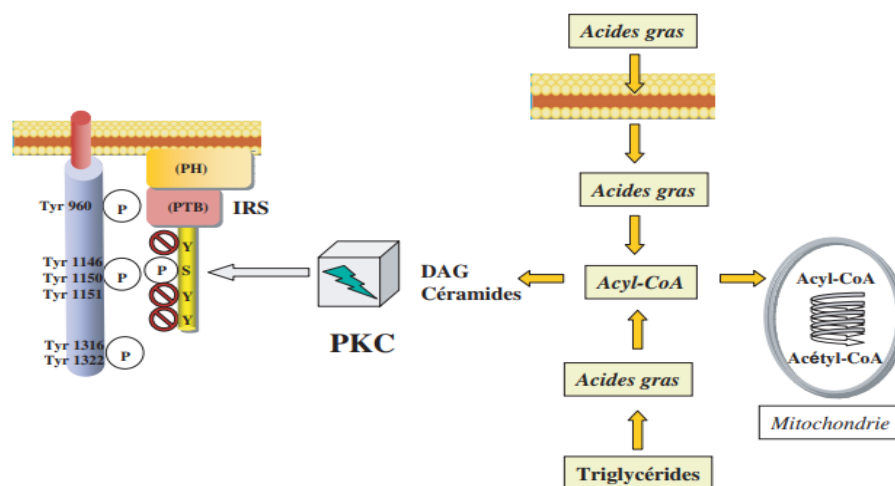


Figure 9 : Mécanisme moléculaire de la résistance d'insuline induite par les acides gras, étiologique de diabètes de type 2 (Ferré, 2007)

1.2.3.3. Diabète gestationnel

Diabète gestationnel ou diabète de grossesse, est un état d'intolérance glucidique qui survient chez 4 % des femmes enceintes au cours du 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre de gestation (Johns *et al.*, 2018). Il s'agit d'une insulino-résistance réversible après l'accouchement, due à la sécrétion de l'hormone lactogène placentaire (HPL) aboutissant à une hyperglycémie consécutive à la diminution de la sensibilité à l'insuline (Boyer, 2016). L'obésité, les facteurs génétiques et l'inactivité physique peuvent aussi intervenir dans l'occurrence du diabète gestationnel. En plus des complications maternelles et fœtales qui peuvent se rencontrer pendant la grossesse, ce type du diabète peut se développer en diabète de type 2 après la grossesse (Johns *et al.*, 2018 ; McIntyre *et al.*, 2019).

1.2.3.4. Diabètes secondaires

C'est une catégorie des diabètes plus rares qui peut toucher 1,5 à 2 % des personnes, ils se développent suite à des étiologies différentes qui peuvent être secondaires à plusieurs anomalies. Il existe plusieurs diabètes secondaires (Dembele, 2006 ; Ferré, 2007) :

- Diabète de type MODY, suite à une mutation génétique dans le chromosome 20 qui affecte l'insulinosécrétion des cellules β .
- Diabètes lipoatrophie, léprechaunisme et syndrome de Rabson Mendenhall, qui sont différentes formes d'insulino-résistance due à une défaillance génétique dans le récepteur d'insuline.

- Diabète pancréatique, lié à des atteintes du pancréas exocrine comme la pancréatite, cancer du pancréas exocrine.
- Diabète endocrinien, lié à des atteintes endocriniennes, dont l'hypersécrétion de certaines hormones s'opposent ou interfère avec l'action d'insuline notamment l'acromégalie (hormone de croissance), syndrome de cushing (cortisol).
- Diabète dits iatrogène, due à l'ingestion des médicaments notamment les corticoïdes, les antihypertenseurs, les oestroprogestatifs, qui peuvent agir comme antagoniste vis-à-vis l'insuline en affectant son action.

1.2.3.5. Diabète expérimental

C'est un diabète induit expérimentalement sur des modèles animaux pour des fins scientifiques en mimant la physiopathologie du diabète humain dans le but d'appréhender quelques aspects de la pathologie ou de tester des thérapies antidiabétiques (Bensiameur-Touati *et al.*, 2019), en adoptant soit une méthodes chirurgicale en faisant une pancréatectomie, une méthode génétique en utilisant des modèles transgéniques (rats Zucker), une méthode virale en inoculant des virus (cardiovirus A), par un régime hypercalorique, ou par une méthode chimique en injectant des analogues structuraux cytotoxiques au glucose notamment l'Alloxane et plus fréquemment la Streptozotocine (STZ) d'origine bactérienne (*Streptomyces achromogens*), qui lysent les cellules langerhansiennes d'où vient leur effet diabétogène (Etuk, 2010; Acharjee *et al.*, 2013 ; Gheibi *et al.*, 2017).

1.3. Symptomatologie du diabète

Bien qu'ils ne soient pas flagrants, une série de symptômes peut servir d'indice pour mettre en évidence un état diabétique (Maidadi *et al.*, 2023). Le diabète de type 1 se développe rapidement, dont les signes caractéristiques s'expriment au bout de quelques jours à quelques semaines après l'incidence de la maladie (symptômes aigus) sous forme d'un syndrome cardinal qui associe une polyurie (diurèse excessive), polydipsie (soif excessive), et une polyphagie (faim excessif) accompagné d'un amaigrissement. Une vision fluctuante ainsi qu'une asthénie avec une endurance physique faible peuvent être rencontrés en évoquant un diabète de type 1 (Barakavidot, 2014). Le développement du diabète de type 2 est plus insidieux vu sa progression lente (plusieurs années) et asymptomatique, dont la maladie peut être décelée au cours d'un bilan médical pour d'autre motif ou un check-up. Les symptômes du diabète de type 2 sont des signes tardifs qui correspondent à celles de diabète de type 1 avec une cicatrisation lente, sécheresse cutané, infection fréquente, des prurits cutanés et génitaux (Ramachandran, 2014).

1.4. Dépistage et diagnostic du diabète

Le diagnostic du diabète est suspecté cliniquement ainsi qu'au moyen des tests sanguins chez des personnes dites à risque qui sont souvent asymptomatiques notamment les personnes âgées, les obèses, les hypertendues et les personnes ayant des antécédents de diabète familial ou gestationnel (Géraldine, 2015). Le dépistage est réalisé sur la base des critères diagnostiques standardisés par l'association américaine de diabète (ADA, 2015) en testant :

- **La glycémie à jeun** : révélant un état diabétique si le seuil glycémique suite à 8 h de jeun est supérieur à 1,26 g/L.
- **La glycémie post prandiale** : révélant une intolérance au glucose, si la glycémie 2 heures après une charge orale en glucose est supérieure à 2 g/L.
- **L'hémoglobine glycosylée** : révélant un état diabétique si l'HbA1c est supérieure à 6,5%. A titre diagnostique, le test d'HbA1c seul est moins recommandé vu la répercussion de l'hémoglobinopathie et l'anémie sur son taux et donc sa fiabilité (OMS, 2011).

Pour diagnostiquer un diabète de type 1, ces tests sont supplémentés d'un dosage des auto-anticorps impliqués dans les réactions immunitaires vis-à-vis les cibles moléculaires pancréatiques : auto-anticorps anti-insuline (IAA), anti-cellules de ilots de Langerhans (ICA), anti-glutamate décarboxylase (GAD) ou anti-tyrosine phosphatase (IA2) (Hörber *et al.*, 2019).

1.5. Complications du diabète

1.5.1. Complications métaboliques

Il s'agit des complications aiguës qui peuvent être survenues dans les stades précoces du diabète dans lesquelles le déficit insulinaire conduit à des séquelles métaboliques (Rewers, 2017) notamment dans le cas de :

- **Acidocétose diabétique** : est une complication due à une carence en insuline qui suscite une production excessive en corps cétoniques par le biais de la lipolyse. Cette hypercétonémie survient plus fréquemment dans le diabète de type 1 et se manifeste cliniquement par un syndrome polyuro-polydipsique, des douleurs abdominales, une déshydratation et dans les cas extrêmes, un œdème cérébral pouvant amener à un coma hypotonique (Dembele, 2006).
- **Syndrome hyperosmolaire** : est une complication qui caractérise les diabétiques de type 2 par une hyperosmolarité plasmatique, une perte hydroélectrolytique suite à une diurèse osmotique provoquée par une hyperglycémie induite par une insulinopénie. Sa gravité réside sur les troubles mentaux qui peuvent se développer à un coma (Petre *et al.*, 2018).

- **Hypoglycémie** : est une complication consécutive à une insulinothérapie (insuline ou d'autre médicament hypoglycémiant : Sulfamide) pour contrôler la glycémie chez les sujets diabétiques. L'installation de cette hypoglycémie iatrogène peut être marquée par une transpiration excessive, asthénie, palpitations jusqu'au convulsions et coma (Rewers, 2017).

1.5.2. Complications dégénératives

Il s'agit des symptômes chroniques touchant l'intégralité du système vasculaire et les tissus qu'ils irriguent et qui se compliquent en angiopathie après plusieurs années (Racah, 2004) (Figure 10).

1.5.2.1. Microangiopathie diabétique

Elle correspond à des atteintes artériolaires, capillaires et veinulaires suite à une hyperglycémie chronique, dont le système nerveux, les yeux et les reins sont les sièges de ces complications microvasculaires (Racah, 2004).

Une neuropathie digestive, génito-urinaire et cardiaque sont l'ensemble des atteintes qui touche le système nerveux autonome dans le diabète. Le risque survient aussi au niveau périphérique, il s'agit d'une mono et polynévrite (Dembele, 2006). La rétinopathie affirme l'altération des capillaires réiniens qui se développe insidieusement et finit par une cécité irréversible. La néphropathie désigne une atteinte des vaisseaux des reins ainsi qu'une atteinte glomérulaire, dont la persistance d'une hyperglycémie aboutit à une insuffisance rénale (Chawla *et al.*, 2016).

1.5.2.2. Macroangiopathie diabétique

Elle correspond à des atteintes artérielles suite à une sclérose des artères ayant un calibre supérieur à 200 micromètres de diamètre (athérosclérose), souvent associée à une dyslipidémie et l'obésité (Schlienger, 2013). Cette athéromatose peut entraîner une coronaropathie où les artères coronaires sont affectés avec un risque d'infarctus de myocarde, une artériopathie des membres inférieurs où les artères des jambes sont affectées, ainsi que les artères du coup, l'origine des accidents vasculaires cérébraux (Chawla *et al.*, 2016).

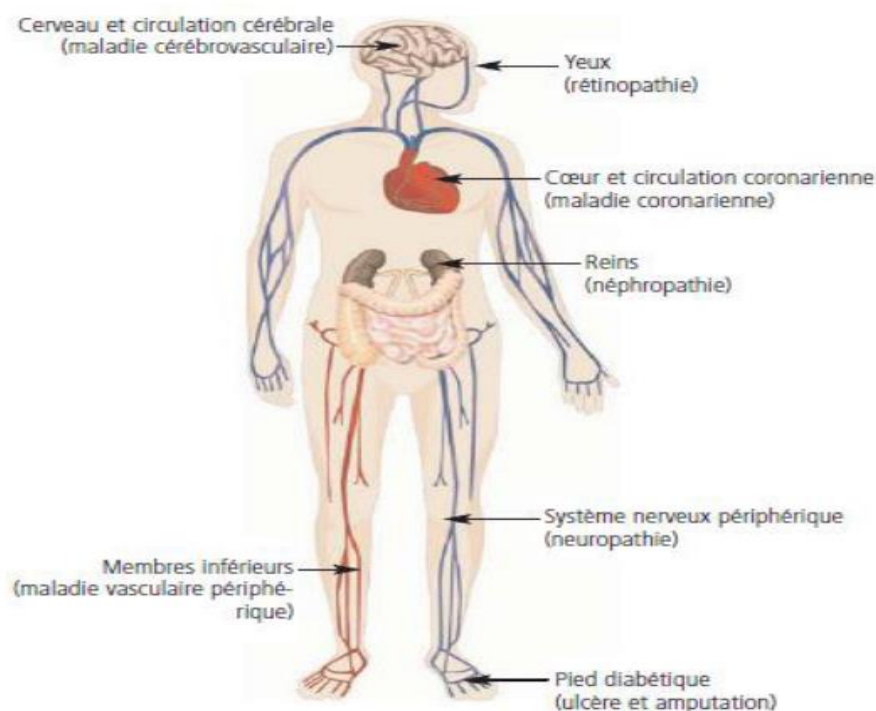


Figure 10 : Micro et macro-angiopathies diabétiques (Auberval, 2010)

1.5.3. Complications infectieuses

La population diabétique est vulnérable à des infections virales, mycosiques et surtout bactériennes dues au déficit immunitaire induit par l'hyperglycémie (Tomic *et al.*, 2022). L'insuffisance vasculaire et la neuropathie diabétique favorisent la multiplication des bactéries et ainsi l'installation des infections urinaires, respiratoires, ostéoarticulaires et plus fréquemment des complications podologiques connues du pied diabétique dont la survenue mécanique d'une plaie peut aboutir à une imputation (Calvet et Yoshikawa, 2001).

En plus des complications traditionnelles, le diabète regroupe des complications émergentes qui sont succinctement avérées notamment le cancer (gastro-intestinal, pancréatique, colorectal), les troubles d'affection (dépression, anxiété) et les problèmes de sommeil dont les mécanismes étiologiques sont en cours des élucidations scientifiques (Tomic *et al.*, 2022). Le diabète semble amplifier également l'éventualité des maladies hépatiques secondaires à l'agrégation des graisses ectopiques au niveau du foie (insulino-résistance) et à l'inflammation, qui aboutissent à des stéatoses hépatiques non alcoolique et des fibroses (Mohamed *et al.*, 2016).

1.6. Traitement et perspectives thérapeutiques

Le diabète est une maladie non guérissable mais plutôt soignable, dont le traitement consiste à normaliser le taux du glucose pour arriver à un équilibre glycémique ainsi que de freiner les

complications dans les stades précoces et prévenir leur progression. L'état pathologique de l'insuline (insulino-résistance ou insulino-déficience), l'âge et le poids des personnes atteintes et le stade de la maladie sont à prendre en compte dans le traitement (Ahluwalia, 2012). Ce dernier se fait par :

- **Mesures hygiéno-diététiques** : le traitement est initié généralement par une optimisation de la vie sédentaire via un régime hypocalorique équilibré en restreignant l'apport qualitatif et quantitatif en lipides, en particulier les acides gras saturés, et les glucides à absorption rapide en faveur des acides gras insaturés, des fibres alimentaires et des protéines avec l'adoption d'une activité physique régulière. Ceci est relativement efficace pour les prédiabétiques (Géraldine, 2015).
- **Mesures thérapeutiques** : l'échec des mesures hygiéniques requiert le recours de façon concomitante à l'intervention médicamenteuse qui consiste à utiliser des hypoglycémifiants oraux ou injectables suivant le type de diabète mis à traiter :
 - **Une insulinothérapie** : désigne le traitement primordial pour les diabétiques de type 1, qui s'appuie à administrer quotidiennement l'insuline exogène par multi-injections ou via une pompe à insuline dans le but de réhabiliter sa déficience. La dose de l'insuline est ajustée en fonction des glucides ingérés au cours des repas avec une moyenne de 0,5 UI/kg/jour (Silver *et al.*, 2018).
 - **Les antidiabétiques oraux** : adoptés principalement pour les diabétiques de type 2. Ils sont utilisés pour améliorer le contrôle glycémique, dont le protocole de traitement est diversifié en ingérant seul ou en combinaison avec une posologie progressive de 1500 mg/jour à 3000 mg/jour des sécrétagogues d'insuline (les sulfamides et les glinides) qui incitent la sécrétion de l'hormone, des sensibilisants à l'insuline (les biguanides) qui diminuent la glycogénolyse et la glycogénogenèse hépatiques, des hypoglycémifiants (les glitazones) qui agissent sur l'amélioration de l'insulino-résistance périphérique, ou des inhibiteurs d'absorption des glucides (acarbose) qui réduisent l'absorption intestinale des glucides (Tan *et al.*, 2018).

Actuellement, les axes de recherche ciblent des approches thérapeutiques substitutives ayant un profil des effets secondaires minimes par rapport aux méthodes conventionnelles (hypoglycémie, réaction allergique, acidose lactique ...etc.) notamment la phytothérapie (des agents naturels), la thérapie génique (des vecteurs viraux) et la thérapie moléculaire (des agonistes de récepteur) qui sont en cours de développement pour acquérir la validation sur le plan clinique (Scheen, 2018 ; Tan *et al.*, 2018).

Chapitre 2 : Le stress oxydatif

Chapitre 2 : Le stress oxydatif

2.1. Définition du stress oxydatif

L'oxygène est un élément crucial à la survie des organismes aérobies qui l'utilisent pour l'oxydation des substrats carbo-hydrogénés et la production d'énergie dans le cadre des processus vitaux (Nelson et Cox, 2004). Ce métabolisme est accompagné d'une faible production des dérivés réactifs oxygénés, ce qui est dûment physiologique. En revanche, la production excessive de ces molécules instables altère l'homéostasie redox aboutissant ainsi à un cas pathologique nommé le stress oxydatif (González *et al.*, 2023). Au sens strict, le stress oxydatif est l'aberration de la balance redox en faveur des molécules pro-oxydantes et au préjudice des molécules antioxydantes. Ce déséquilibre est attribué soit à la surproduction ou la surexposition à des espèces réactives d'oxygène, soit suite à un déficit du système antioxydant ou des ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments), ce qui se traduit par des dommages oxydatifs structuraux et fonctionnels (Butkowski, 2020).

2.2. Les radicaux libres

Un radical libre est un composé chimique renfermant un électron non apparié sur son orbital périphérique, dont cette conformation lui octroie une réactivité et vulnérabilité à réagir avec des composés environnants (Gardes-Albert *et al.*, 2003). Cette molécule instable fonctionne comme un réducteur en cédant un électron ou comme un oxydant qui consiste à ôter un électron en transmettant ses propriétés à une autre molécule et vice-versa d'où la nocivité des réactions en chaîne des radicaux libres (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Physiologiquement, les radicaux sont des sous-produits du métabolisme d'oxygène au cours duquel la réduction tétravalente de l'oxygène en eau suscite la génération des métabolites radicalaires dites radicaux primaires qui agissent chimiquement sur les constituants macromoléculaires de la cellule pour former les radicaux secondaires (Favier, 2003).

En effet, les entités chimiques oxydantes peuvent dériver de l'oxygène, nommés les espèces réactives de l'oxygène (ERO), rassemblant des espèces radicalaires et des espèces non radicalaires, principalement regroupés dans le tableau 1 ou à partir d'azote dites espèces réactives d'azote (ERN) notamment l'oxyde nitrique. Les ERO constituent une famille des espèces réactives les plus substantielles vues leur intervention dans plusieurs processus biologiques (Baraka-Vidot, 2014).

Tableau 1 : Principaux radicaux libres et espèces non radicalaires (Rubio et Cerón, 2021)

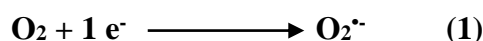
Espèces réactives de l'oxygène (ERO)			
Radicalaire		Non radicalaire	
$O_2^{\cdot-}$	Radical superoxyde	H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
OH^{\cdot}	Radical hydroxyle	$ClO^{\cdot-}$	Ion hypochlorite
RO_2^{\cdot}	Peroxyde	O_3	Ozone
RO^{\cdot}	Alkoxyde	1O_2	Oxygène singulet
HO_2^{\cdot}	hydropéroxyde	$ONOO^{\cdot-}$	Péroxinitrite

2.2.1. Origine et rôle physiologique des radicaux libres

L'énergie requise à la vie est approvisionnée par un flux perpétuel d'électrons entre des métabolites oxydables et l'oxygène diatomique. Ceci est accompagné avec la formation des intermédiaires radicalaires et non radicalaires (Durand, 2018).

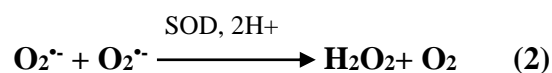
2.2.1.1. Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

L'anion superoxyde est un radical caractérisé par une réactivité mineure qui lui permet d'intervenir comme un médiateur dans plusieurs fonctions biologiques. Il en résulte d'une réduction mono-électronique de l'oxygène en regard du cofacteur NADPH ($NADPH/NADP^+$) (Réaction 1) au niveau phagocytaire et mitochondriale (Jomova *et al.*, 2023).



2.2.1.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène est un élément non radicalaire en soit, considérant l'appariement totale de ces électrons, néanmoins, il agit comme un précurseur radicalaire. Il se génère de la dismutation du radical superoxyde catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) (Réaction 2) ou de la réduction bi-électronique de l'oxygène catalysée par des oxydases (Réaction 3) (Gardes-Albert *et al.*, 2003).

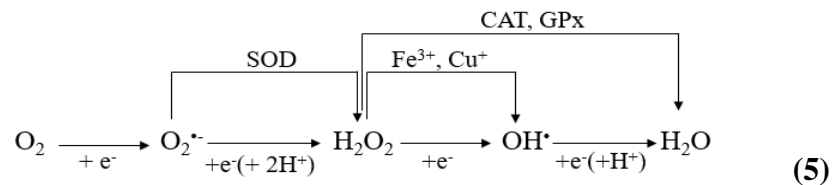


2.2.1.3. Radical hydroxyle (OH[•])

Le radical hydroxyle est un radical excessivement réactif, quoiqu'il contribue dans des mécanismes physiologiques multiples. Il se produit de la réaction de Fenton qui consiste à dismuter l'eau oxygénée en présence des cations ferreux ou cuivrique (Réaction 4) (Cloutier, 2009).



La succession de ces réactions constitue la réduction tétravalente de l'oxygène dans les conditions normales, impliquant l'addition de 4 électrons qui finit par la formation d'eau suite soit à une réduction du radical hydroxyle, soit à une dismutation de H₂O₂ par la catalase ou sa réduction par la glutathion peroxydase en oxydant le glutathion réduit (Réaction 5) (Migdal et Serres, 2011).



Toute réaction engageant l'oxygène et un système réducteur de transfert d'électrons est une source intracellulaire éventuelle de production des ERO, d'ailleurs c'est le mécanisme par lequel la synthèse d'ATP par la respiration mitochondriale libère des radicaux libres (Defraigne, 2005). D'autres processus physiologiques à potentiel radicalaire existent comme l'activité de la NADPH oxydase membranaire des cellules phagocytaires activées au cours de l'inflammation (Delbosc *et al.*, 2001), l'activité des cytochromes P450 au cours du métabolisme oxydatif des xénobiotiques et l'activité des xanthines oxydases qui catalysent l'oxydation de xanthine pendant le métabolisme des purines. Les maladies métaboliques peuvent y contribuer également ; cas de diabète (Matough *et al.*, 2012).

Outre des sources endogènes, des facteurs environnementaux chimiques, physiques et/ou comportementaux peuvent être impliqués significativement dans la génération des espèces oxygénées actives notamment les médicaments, les métaux, les radiations, le tabac et l'alcool (Saxena et Batra, 2020) (Tableau 2).

Tableau 2 : Tableau récapitulatif non exhaustif des sources endogènes et exogènes des radicaux (Haleng *et al.*, 2007)

Source exogène		Source endogène
Hygiène de vie	Environnement	Mécanismes biochimiques
Tabagisme et alcoolisme	Pollution	Inflammation et hyperglycémie
Nutrition dépourvue de légumes et fruits	Ozone	Altération de la fonction endothéliale
Médicaments	Amiante et métaux	Surcharge en fer
Pilule contraceptive	Radiations	Oxydation d'hémoglobine
Exercice intense	Cancérogènes	Chaîne respiratoire mitochondriale
Xénobiotiques	Pesticides	Biosynthèse des prostaglandines

Les radicaux libres sont connus pour leur rôle paradoxal du fait qu'ils peuvent exercer un effet bénéfique et délétère sur l'organisme. Cette duale potentialité des ERO est dose dépendante (Migdal et Serres, 2011). En effet, dans le cadre d'une faible production physiologique, les radicaux libres participent majoritairement dans l'activation des voies de signalisation. Ils interviennent dans la régulation de plusieurs mécanismes vasculaires (vasodilatation capillaire), immunitaires (élimination des bactéries) (Favier, 2003), dans la neurogenèse (prolifération des neurones), mais également dans les mécanismes létaux cellulaires (apoptose) (Barouki, 2006). En revanche, une surproduction des radicaux libres mène à un état pathologique où les biomolécules sont vulnérables à l'oxydation qui pourrait altérer l'intégrité et la fonction cellulaire (Jena *et al.*, 2023).

2.2.2. Toxicité cellulaire des ERO

2.2.2.1. Peroxydation lipidique

A des seuils accrus, les radicaux libres ciblent les lipides en privilégiant l'oxydation des acides gras insaturés (AGI). C'est un processus d'auto-oxydation des phospholipides membranaires et des lipides circulants, initié par l'abstraction d'hydrogène de la double liaison carbone-carbone des AGI et se propage par des réactions en chaîne menant à la formation des intermédiaires instables notamment le radical peroxyde, hydroperoxydes (Cillard et Cillard, 2006) (Figure 11). Parmi les aldéhydes réactifs générés ; le malondialdéhyde, c'est un produit de la décomposition

des hydroperoxydes, extrêmement toxique permettant le changement de la conformation protéique en formant des adduits sur leur groupements amines (Ayala *et al.*, 2014).

De telles altérations aboutissent à la formation des lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées incriminées dans l'athérogenèse et des phospholipides oxydés entravant la fluidité et la perméabilité membranaire ainsi que la performance des transporteurs (Nam, 2011).

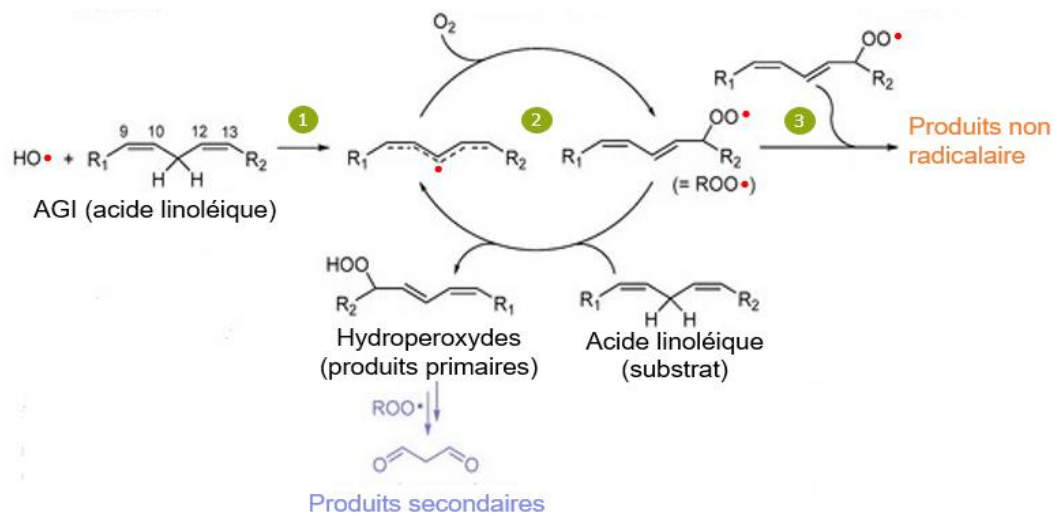


Figure 11 : Principaux stades de la peroxydation lipidique (Adapté de Valgimigli, 2023)

1. Initiation : formation d'un acide gras (AG) radicalaire suite à l'attaque d' $\text{OH}\cdot$, **2. Propagation :** interaction d'AG radicalaire avec l'oxygène pour former un radical peroxylinoléique suivi par son interaction avec un nouveau AG adjacent pour générer un hydroperoxyde en formant un cycle réactionnel en chaîne. L'instabilité d'hydroperoxyde aboutit à sa décomposition spontanée pour former des aldéhydes. **3. Terminaison :** survient lorsque deux radicaux identiques réagissent entre eux pour former des espèces non radicalaires.

2.2.2.2. Oxydation des acides nucléiques

L'acide désoxyribonucléique (ADN) n'est pas exclu des attaques radicalaires, à contrario, l'ADN est très sensible à l'oxydation suite à une défaillance ou dépassement des systèmes de réparation nucléiques face à l'accumulation des ERO (Kryston *et al.*, 2011). Des adductions protéiques ou aldéhydiques, des scissions de la chaîne polynucléotidique (brin simple ou double), des sites abasiques et principalement l'oxydation des bases hétérocycliques, sont l'ensemble des lésions oxydatives d'ADN (Cadet *et al.*, 1999) (Figure 12). En effet, étant le site privilégié par les ERO, l'oxydation de la guanine permet la formation du 8-oxoguanine, un produit ayant un effet mutationnel. C'est ainsi que les radicaux libres altèrent l'intégrité du génome nucléaire et

affectent les mécanismes de réplication, transcription et de transduction du signal physiologique aboutissant à des processus carcinogènes et apoptotiques (Loft *et al.*, 2008).

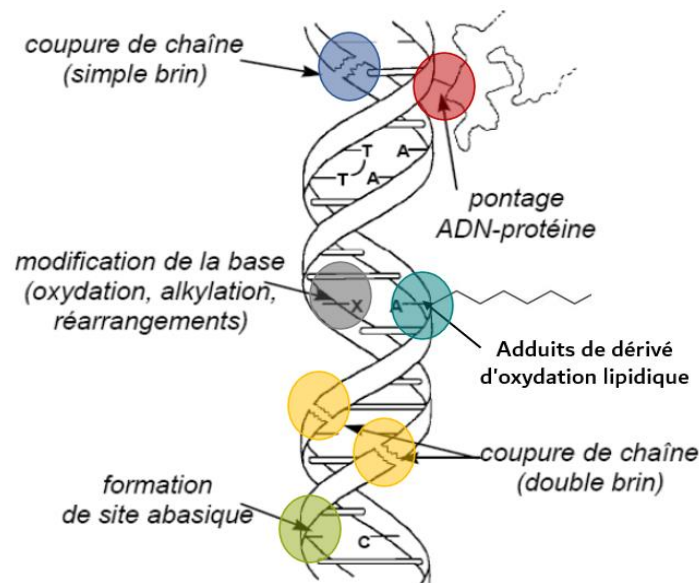


Figure 12 : Dommages structuraux d'ADN induits par les attaques radicalaires (Adapté de Favier, 2003)

2.2.2.3. Oxydation protéique

Les protéines particulièrement les acides aminés (AA) constitutifs sont confrontés à des altérations oxydatives post-traductionnelles (Ouznadji et Desmons, 2020). Ces altérations peuvent être au niveau des chaînes latérales de certains acides aminés basiques, soufrés et aromatiques qui sont vulnérables par rapport à d'autres AA, ou au niveau de la chaîne polypeptidique pouvant susciter un morcellement vraisemblable ou un cross-linking inter- ou intra-chaînes (Migdal et Serres, 2011). Au cours de la formation des produits O-oxydés protéiques, des protéines carbonylées peuvent être générés (Ouznadji et Desmons, 2020) (Figure 13).

La fonction des protéines est structuro-dépendantes, ainsi toute modification structurale oxydative des protéines altère systématiquement leurs fonctions intrinsèques correspondantes en interférant avec les mécanismes de catalyse enzymatique, de signalisation suite à une mauvaise reconnaissance substrat-transporteur/récepteur, les mécanismes de transport et de l'immunité (Haleng *et al.*, 2007).

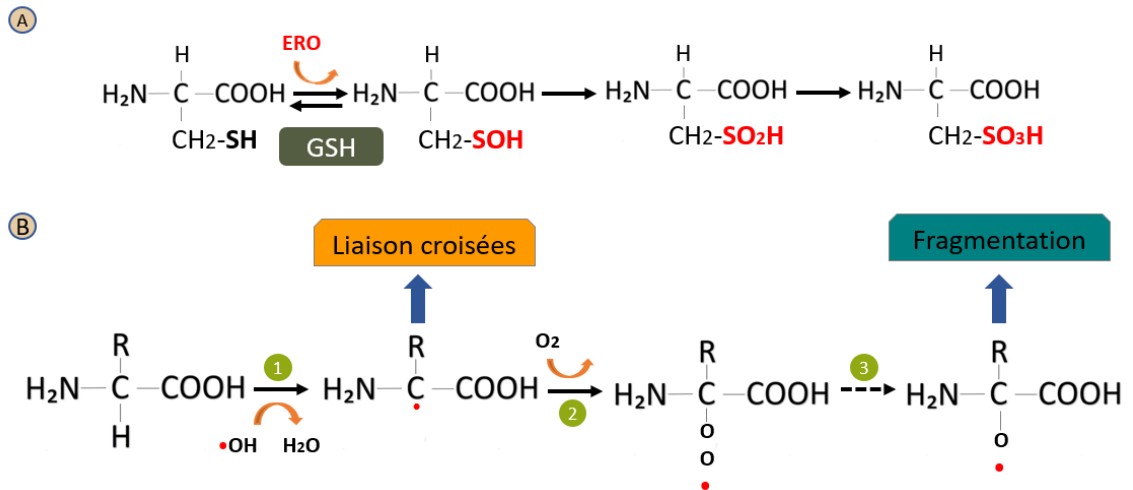


Figure 13 : Dommages structuraux des protéines induits par les attaques radicalaires (Adapté de Migdal et Serres, 2011). **A** : Oxydation du groupement thiol d'un résidu cystéine formant l'acide sulfénique (R-SOH), suivi d'acide sulfinique (R-SO₂H) et un sulfonique (R-SO₃H). **B** : Oxydation des chaînes polypeptidiques. **1** : Substruction d'hydrogène par OH• en formant un radical centré sur le carbone α. **2** : Formation d'un radical pyroxyde suite à l'adjonction de O₂. **3** : La genèse d'un radical alkoxyde, requis pour une segmentation de la chaîne.

2.2.2.4. Gluco-oxydation

A l'homéostasie glucidique, la gluco-oxydation est un processus physiologique dans le métabolisme énergétique connu par la glycolyse. Cette oxydation de glucose devient abusive et bio-radicalaire en cas d'un excès (hyperglycémie), permettant la surproduction des ERO en présence des métaux de transition (Favier, 2003).

2.3. Systèmes antioxydants

Une augmentation de flux des dérivés réactifs de l'oxygène est contrôlée par un système de défense antioxydant afin de minimiser ou prévenir les agressions radicalaires et restaurer l'homéostasie redox (Jena *et al.*, 2023). Pour ce faire, l'organisme assure d'une part une répression des systèmes et des mécanismes pro-oxydants évoqués ci-dessus, et augmente d'autre part l'expression des antioxydants endogènes (enzymes et glutathion) et bénéficie des antioxydants exogènes naturels ou synthétiques (Chaudhary *et al.*, 2023).

2.3.1. Antioxydants enzymatiques

2.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase est une métalloenzyme et une oxydoréductase qui agit en dismutant l'anion superoxyde pour former le peroxyde d'hydrogène et un oxygène selon la réaction 6 :



Cette réaction est assurée par l'intervention des cofacteurs métalliques, selon lesquels trois isoformes de la SOD coexistent dans différents compartiments cellulaires : CuZn-SOD cytosolique, CuZn-SOD extracellulaire et Mn-SOD mitochondriale (Cloutier, 2009).

2.3.1.2. Catalase (CAT)

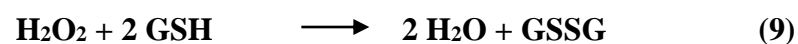
La catalase est une enzyme héminique siégeant essentiellement dans les peroxysomes des érythrocytes et hépatocytes. Elle possède une sélectivité vis-à-vis des hydroperoxydes d'hydrogène en les réduisant grâce à un cofacteur qui correspond à l'hème et son atome de fer (Réaction 7) :



Elle est caractérisée par sa rapidité catalytique (2 millions de réactions/s), ceci la rend plus puissante que la GPx et parmi les antioxydants les plus potentiels (Trachootham *et al.*, 2008).

2.3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une enzyme séléno-dépendantes qui catalyse la réduction de plusieurs hydroperoxydes (Réaction 8), dont le peroxyde d'hydrogène reste le substrat préférentiel (Réaction 9). Une sélénocystéine est indispensable pour la réalisation de cette réaction enzymatique en utilisant le glutathion réduit (GSH), transformé en glutathion oxydé (GSSG) (Jomova *et al.*, 2023).



La GPx possède cinq isoformes circonscrits dans le noyau, le cytosol et la mitochondrie. Le ratio SOD/GPx procure un aperçu sur la balance réactionnelle entre la génération de H₂O₂ par la SOD et son éradication par la GPx (Richard *et al.*, 1997).

2.3.1.4. Glutathion-S-transférase (GST)

La glutathion-S-transférase est une transférase multifonctionnelle caractérisée par une distribution ubiquitaire et multi-isoformes, avec une prépondérance dans les hépatocytes chez l'humain. Cette enzyme est impliquée dans les processus de détoxification, elle catalyse la

conjugaison du glutathion avec des peroxydes, des composés électrophiliques et des métabolites des xénobiotiques (Réaction 10) (Čolak et Žorić, 2019).



La figure 14 illustre l'interaction des enzymes antioxydantes et leurs cofacteurs métalliques contre les ERO :

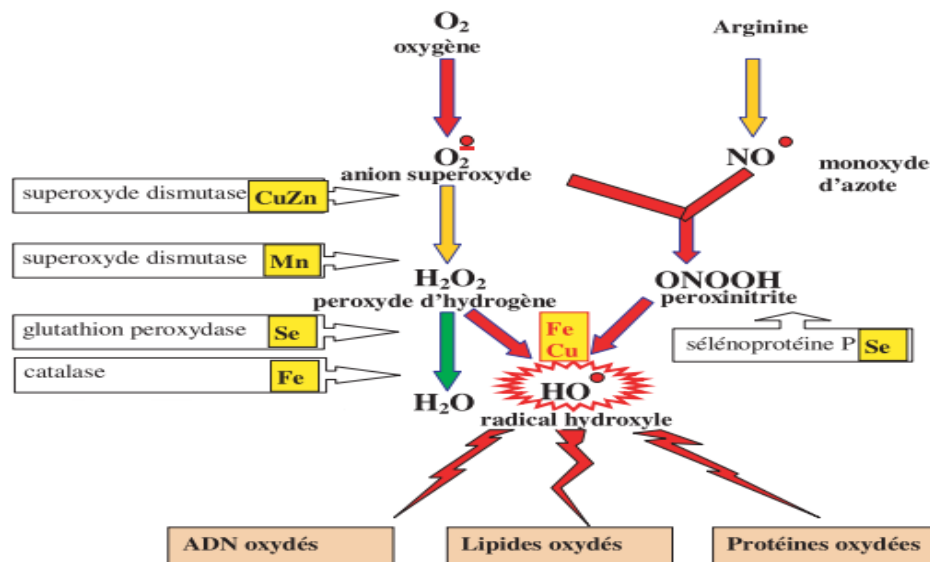


Figure 14 : Mode d'action des enzymes antioxydants-cofacteurs métalliques et leur interaction (Favier, 2003)

2.3.2. Antioxydants non enzymatiques

2.3.2.1. Glutathion (GSH)

C'est un tripeptide formé par l'association de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine, il est omniprésent sous la forme oxydée (S-S) ou réduite (SH). Son oxydo-réduction permet de pronostiquer l'équilibre redox cellulaire grâce au ratio GSH/GSSG (Zitka *et al.*, 2012). Le glutathion agit comme scavanger des radicaux libres, réducteur des hydroperoxydes d'hydrogène en étant un cofacteur pour la GPx, il intervient également dans la détoxification des xénobiotiques sous forme d'un substrat de conjugaison par la GST (Čolak et Žorić, 2019). Il agit aussi comme un recycleur des vitamines C et E, et comme un chélateur des métaux en les engageant dans une liaison soufre-métal ce qui pourrait diminuer leur toxicité (Mironczuk-Chodakowska *et al.*, 2018). Cette potentialité antioxydante du glutathion est attribuée à ces caractéristiques structurales liées avec le groupement thiol responsable de la fonction réductrice et le groupement γ glutamyl qui lui permet de former des complexes avec d'autres composés. (Locigno et Castronova, 2001).

2.3.2.2. Vitamines E et C

Ce sont des antioxydants exogènes issus d'un apport ou complément alimentaire, qui participent potentiellement comme des agents réducteurs vis-à-vis des ERO en renforçant le système de défense (Matough *et al.*, 2012). L' α -tocophérol (vitamine E) est une vitamine liposoluble, cette nature lui permet de rompre de la progression en chaîne de la peroxydation lipidique au niveau des membranes en échange de son oxydation. Le radical tocopheroxyl résultant est réduit par la vitamine C permettant la régénération de la vitamine E (Higgins *et al.*, 2020). Quant à l'acide ascorbique (vitamine C), est une molécule hydrosoluble disponible dans les fluides extracellulaires, il agit en piégeant les radicaux hydroxyle, peroxyde ainsi que les peroxydes (Ibuki *et al.*, 2020). Le recyclage constant de la forme active (réduite) des vitamines est promu par le GSH selon le système redox illustré dans la figure 15.

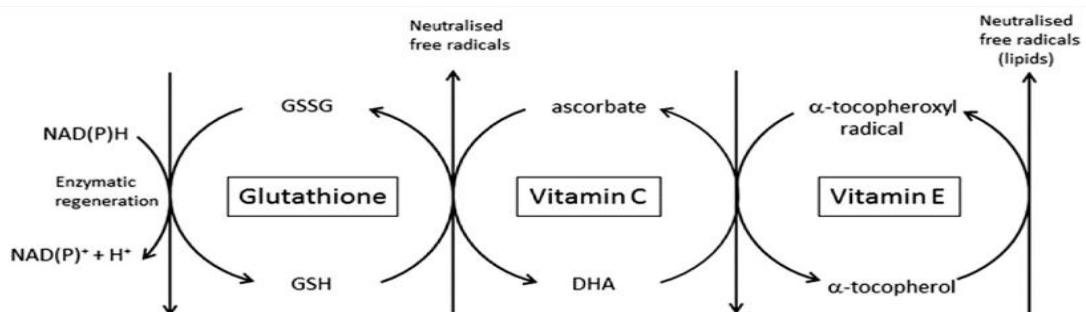


Figure 15 : Régénération redox de la vitamine E et C par le glutathion (Pullar *et al.*, 2017)

2.3.2.3. Oligoéléments

Ce sont des traces de micronutriments de nature minérale qui contribuent significativement dans l'affermissement du système antioxydant enzymatique (Jones et Hodgson, 2011). Etant des métallo-enzymes ou des enzymes métal-dépendantes qui nécessitent le métal comme cofacteurs, leur activité catalytique est conditionnée par les réserves corporelles ou l'apport diététique en métal correspondant ; cuivre (Cu) et zinc (Zn) pour la forme cytosolique de la SOD, le manganèse (Mn) pour la forme mitochondriale de la SOD, le sélénium pour la GPx et le fer comme constituant de l'hème, un groupement prosthétique pour la catalase (Wróblewski *et al.*, 2023). L'ensemble de ces cofacteurs, en séquestrant dans le site actif des enzymes, ont un rôle structural stabilisateur ou antioxydant. En cas de surcharge, leur effet devient antagoniste (pro-oxydant) (Baudin, 2021).

2.3.2.4. Polyphénols

C'est une classe de molécules végétales couramment consommées dans les fruits et les légumes. Les polyphénols sont caractérisés par une large diversité structurale qui leur confère une

multitude de bio-activités puissantes, principalement leur activité antioxydante face à des agressions radicalaires (Oyedeki *et al.*, 2011 ; Tsao, 2010). Ces composés sont aptes à piéger les radicaux libres, à inhiber la lipo-péroxydation, et à chélater les métaux pro-oxydants (Marfella *et al.*, 2014).

En dehors des antioxydants primaires, il existe un système de défense dit secondaire, qui correspond à des systèmes de réparation des substrats oxydés. L'ADN polymérase, les ligases et les endonucléases sont chargées pour réparer les dommages oxydatifs réversibles au niveau de l'ADN (Baraka-Vidot, 2014). Concernant les protéines, des oxydoréductases permettent la réduction des acides aminés ayant subi une oxydation, notamment la sulféridoxine, qui réduit les protéines ayant des cystéines oxydées (Biteau *et al.*, 2003). Néanmoins, quand la réparation s'échoue face à des réactions irréversibles, l'organisme fait appel à des systèmes d'élimination protéolytique « le protéasome » qui s'en charge pour dégrader les protéines oxydées et altérées (Davies, 2001).

2.4. Diabète et stress oxydatif

2.4.1. Voies pro-oxydatives dans le diabète

Ce sont des voies métaboliques impliquées dans la genèse des ERO, qui sont soit activées ou suractivées dans les conditions hyperglycémiques (Ighodaro, 2018) (Figure 16) :

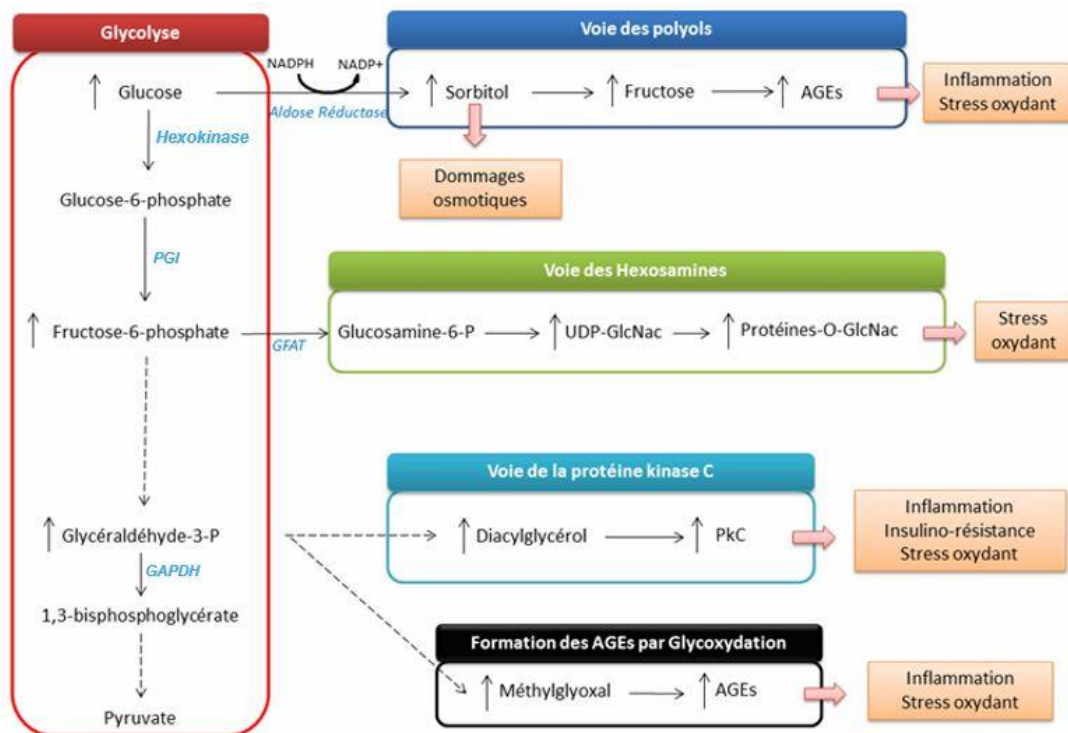


Figure 16 : Voies métaboliques générant le stress oxydatif sous l'effet de l'hyperglycémie (Boyer, 2016)

2.4.1.1. Glycolyse

Cette voie permet de cataboliser le glucose en pyruvate par une série de réactions d'oxydo-réduction en générant de l'ATP. Ceci est accompli suite à un transfert de flux électronique à travers la chaîne respiratoire permettant la production de l'anion superoxyde (Nicolas, 2017). Cette production est exacerbée suite à une suractivation mitochondriale en réponse à des niveaux accrus en glucose, conduisant à une accumulation de superoxyde qui pourrait inhiber partiellement certaines enzymes impliquées dans la glycolyse (Defraigne, 2005). De la sorte, le glucose ainsi que les métabolites intermédiaires de la voie sont acheminés à d'autres voies qui sont physiologiquement inactives ou qui s'effectuent à un rythme faible (Ighodaro, 2018).

2.4.1.2. Auto-oxydation du glucose

Pour récupérer l'équilibre avec son énediol, le glucose plasmatique libre en excès subit une diol-tautomérisation excessive qui consiste à la conversion d'aldéhyde du glucose en énediol, un composé réactif qui s'auto-oxyde en présence des ions métalliques en radical énediol (Ahmed, 2005). La fragmentation de la chaîne carbonée du radical formé est productrice des superoxydes et des cétoaldéhydes, ces derniers servent de précurseurs pour les produits de glycation avancés (AGE) (González *et al.*, 2023) (Figure 17).

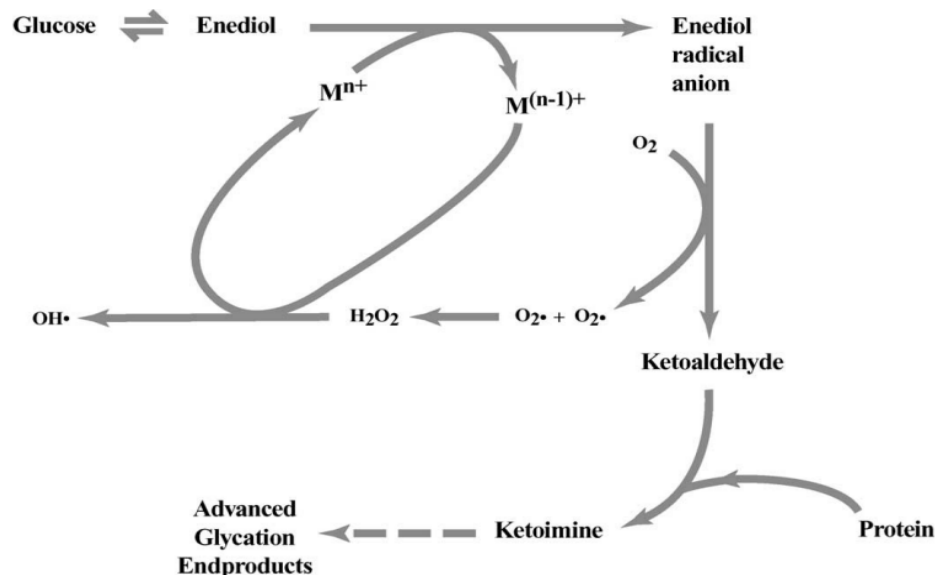


Figure 17 : Hyperactivité de diol-tautomérisation et oxydation du glucose sous l'effet de l'hyperglycémie (Ahmed, 2005)

2.4.1.3. Voie des polyols

Physiologiquement, cette voie est inactive en vertu de la faible affinité de l'aldose réductase pour le glucose, or dans les conditions hyperglycémiques, cette enzyme assure la réduction du glucose non phosphorylé (saturation des hexokinases) en sorbitol en utilisant NADPH comme cofacteur. Ce polyol est subséquentment oxydé en fructose par la sorbitol déshydrogénase en réduisant le NAD en NADH (Srikanth et Orrick, 2022). Ceci entraîne l'accumulation du sorbitol qui provoque des dommages osmotiques, et l'accumulation du fructose qui constitue un des substrats originaires pour la formation des AGE (Ighodaro, 2018). Simultanément, la consommation excessive de NADPH entraîne sa déplétion ce qui altère le processus de régénération de glutathion qui repose sur son oxydation et contribue drastiquement dans la fragilisation du réseau de défense (Bhatti *et al.*, 2022).

2.4.1.4. Voie des hexosamines

Suite à un flux glucidique accru, le fructose-6-phosphate est dévié de la glycolyse vers la voie des hexosamines, pour servir comme substrat pour la formation de l'uridine diphosphate-N-acétylglucosamine (UDP-N-GlcNac) par l'intermédiaire de glucosamine 6-phosphate (Paneque *et al.*, 2023). Le produit final (UDP-N-GlcNac) est un donateur de N-acétyl-glucosamine impliqué dans des mécanismes d'O-glycosylation (protéines et glycoprotéines membranaires) et d'O-GlcNAcylation (protéines nucléaires, cytosoliques et mitochondriales). Ces mécanismes semblent être pro-oxydants (Issad, 2010).

2.4.1.5. Voie de la PKC

Dans les conditions hyperglycémiques, le glycéraldéhydes-3-phosphate (G3P) échappé de la glycolyse (saturation du glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) intervient dans l'activation de la voie de la PKC. En effet, le G3P est un précurseur de diacylglycérol suite à une succession de réactions d'isomérisation, de réduction et d'addition d'un AG (Giacco et Brownlee, 2010) (Figure 20). Une activation de cette voie entraîne la survenue du stress oxydatif, en activant des enzymes génératrices des radicaux libres notamment la NADPH oxydase, ainsi qu'une inflammation suite à l'activation des cytokines pro-inflammatoires (Boyer, 2016).

2.4.1.6. Glycation des protéines

C'est un processus non enzymatique qui s'effectue suite à un contact entre un sucre réducteur (groupement carbonyle) et une protéine (groupement amine) avec une liaison covalente, ce qui

conduit à la génération des bases de Schiff qui vont endurer un réarrangement intramoléculaire en formant des produits d'Amadori (Zawada *et al.*, 2022). Ces derniers, soit en s'auto-oxydant donnent naissance à des AGE, soit ils subissent des réactions de fragmentation pour donner un élément dicarbonylé, le 3-deoxyglucosone (Uceda *et al.*, 2024). Autres précurseurs des AGE sont le glyoxal, issue de l'auto-oxydation de glucose, ainsi que le méthylglyoxal issue de la déphosphorylation du G3P et son isomère. Ces intermédiaires réagissent avec d'autres protéines pour générer des AGE (Ighodaro, 2018) (Figure 18). L'interaction des AGE avec leur récepteur (RAGE) déclenche des voies de signalisation en cascade aboutissant à la formation des ERO et l'expression des gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires : l'interleukine 6 (IL-6) et TNF- α (Moldogayieva *et al.*, 2019).

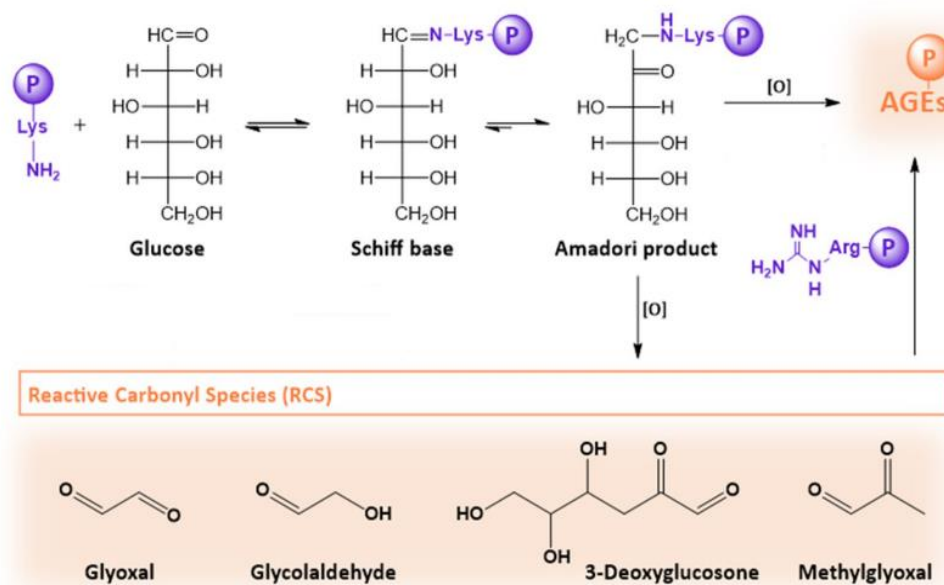


Figure 18 : Mécanisme moléculaire des réactions de Maillard productrices des AGE (Uceda *et al.*, 2024)

2.4.2. Implication du stress oxydatif dans l'insulino-déficience et l'insulino-résistance

Les dommages oxydatifs sont ubiquitaires dans l'organisme, or, les tissus ayant un stock réduit en antioxydants sont plus précaires par rapport à d'autres, particulièrement les cellules β pancréatiques (Bhatti *et al.*, 2022). Les radicaux libres produits consécutivement à la glucotoxicité affectent la gestion métabolique de l'hyperglycémie, assurée physiologiquement par l'insuline en altérant les mécanismes de base : la sécrétion et/ou l'action de cette hormone (Ighodaro, 2018). En ciblant l'ADN mitochondriale, les ERO altèrent la chaîne respiratoire productrice d'ATP. La diminution subséquente du ratio ATP/ADP intra-cytosolique aboutit à

l'activation des canaux potassique sensibles à l'ATP, ce qui amène à une hyperpolarisation membranaire interférant avec la migration et l'exocytose des granules sécrétoires insuliniques par manque du Ca^{2+} intracellulaire (Auberval, 2010) (Figure 19 A).

En outre, les ERO contribuent également dans l'insulino-résistance en stimulant une autophosphorylation des résidus tyrosine ou thréonine qui font partie de récepteur d'insuline. Une telle phosphorylation pourrait obstruer la transduction du signal insulinique responsable de la translocation du GLUT4 et ainsi entrave l'accès de glucose dans les cellules cibles (Capeau, 2003) (Figure 19 B).

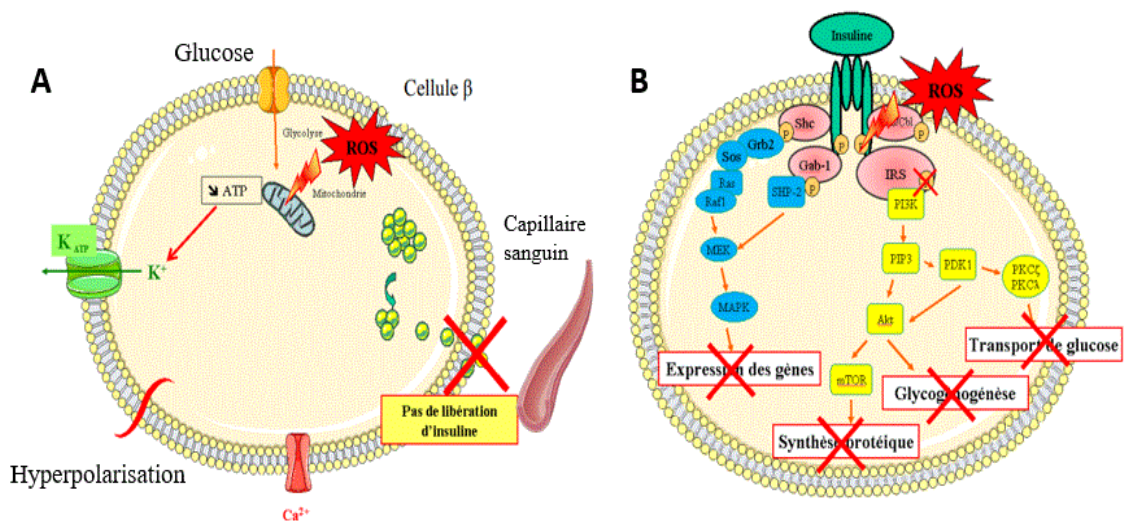


Figure 19 : Aspect moléculaire de la défaillance de l'insulinosécrétion (A) et de l'insulino-résistance (B) induites par les ERO (Auberval, 2010)

Ces deux mécanismes étiologiques du diabète peuvent aussi survenir suite à une inflammation provoquée par les radicaux libres. En effet, les ERO sont des initiateurs inflammatoires, impliqués dans des réactions d'inflammation en suscitant l'activation de la voie du facteur nucléaire kappa B (NF-KB) responsable de la sécrétion des molécules pro-inflammatoires notamment IL-6 et TNF- α (González *et al.*, 2023). La sécrétion excessive de ces cytokines a des effets autocrines et paracrines nocifs en intervenant dans la lésion ainsi que l'apoptose des cellules β et augmente la phosphorylation des sites serine des récepteurs insuliniques, l'origine de la résistance à l'insuline (Tan *et al.*, 2018).

2.4.3. Implication du stress oxydatif dans les complications diabétiques

Le diabète et le stress oxydatif exhibent une relation bidirectionnelle qui se traduit pernicieusement au niveau moléculaire, cellulaire, et tissulaire. Au cours du diabète, les

phénomènes de la gluco-oxydation génèrent des ERO qui promeuvent eux même l'apparition et l'exacerbation des perturbations métaboliques et dégénératives (King et Loeken, 2004 ; Del Rio *et al.*, 2005). La survenue de ces complications diabétiques est attribuée à la défaillance du système antioxydant enzymatique dans les tissus correspondants. Cela explicite pourquoi les personnes atteintes du diabète ont tendance à avoir des environnements cellulaires plus oxydatifs que les personnes saines (Ighodaro, 2018). Ainsi, l'intervention du stress oxydatif dans les complications du diabète est pléiotrope, en provoquant l'oxydation des macromolécules et des composants de la matrice extracellulaire, l'inflammation, la peroxydation lipidique, dont l'occurrence dans les tissus pancréatiques, hépatiques, rénales et cardiaques (Del Rio *et al.*, 2005 ; Matough *et al.*, 2012).

Chapitre 3 : Le fenugrec
(Trigonella foenum-graecum)

Chapitre 3 : Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*)

3.1. Généralités sur la phytothérapie

L'exploitation des produits à base de plantes n'est pas limitée pour des utilisations diététiques, mais également pour des utilisations médicales, dans les traitements curatifs ou préventifs de certaines maladies, c'est ce qui est connu communément sous le nom de phytothérapie. Cette approche a reçu beaucoup d'attention durant cette ère moderne comme alternative potentielle de la médecine conventionnelle caractérisée par un large éventail d'effets secondaires malgré son efficacité (Sani *et al.*, 2022). D'ailleurs, l'OMS a signalé que la phytothérapie couvre 65% des besoins en soins de la santé à travers le monde (Farnsworth *et al.*, 1985). Partant de la source, les plantes secrètent au cours du cycle végétatif des molécules allélopathiques synthétisées par des voies métaboliques secondaires pour s'adapter aux facteurs biotiques et abiotiques, classées en alcaloïdes, coumarine, terpénoïdes et composés phénoliques (Twaij et Hasan, 2022). Ces molécules phyto-chimiques ont un large spectre de propriétés pharmacologiques et thérapeutiques qui font l'objet des études phytothérapeutiques dans le cadre de la pharmacopée (Ashraf *et al.*, 2018 ; Twaij et Hasan, 2022). Il est estimé qu'un quart des médicaments prescrits dans le monde sont dérivés des plantes médicinales grâce à leur contenance en molécules pharmacologiquement actives qui trouvent continuellement leur indication thérapeutique dans le traitement de plusieurs maladies notamment le diabète (Choudhury *et al.*, 2017). Selon les recherches quantitatives menées sur les plantes hypoglycémiantes utilisées dans le nord-est de l'Algérie, 39 plantes médicinales appartenant à 21 familles ont été exploités dans le traitement de diabète notamment la famille des Fabaceae (Bouzabata et Mahomoodally, 2019).

3.2. Mécanismes d'intervention des plantes médicinales dans le diabète

Sur le plan physiologique, l'activité antidiabétique des plantes médicinales peut s'actionner en faisant intervenir différents mécanismes moléculaires, cellulaires ou métaboliques qui agissent sur les processus de base liés étiologiquement à la physiopathologie du diabète (Choudhury *et al.*, 2017) :

- **Sur le glucose :**
 - Réduction du taux plasmatique postprandiale du glucose par l'inhibition des enzymes digestives (α -amylase et α -glucosidase) en diminuant son absorption et assimilation intestinale (Patel *et al.*, 2012).

- Limitation de la réabsorption tubulaire du glucose en inhibant l'expression du co-transporteur SGLT2, ce qui favorise l'excrétion du glucose dans les urines.
- Stimulation de la glycogénogenèse dans les tissus adipeux, hépatiques et musculaires (De Paulo Farias *et al.*, 2021 ; Sun *et al.*, 2021)
- **Sur l'insuline :**
 - Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β (action insulino-tropique).
 - Inhibition de la dégradation de l'insuline en allongeant sa survie.
 - Atténuation de l'insulinorésistance en améliorant son action sur les tissus cibles (action insulino-sensibilisante) (Patel *et al.*, 2012).
- **Sur les processus étiologiques/autres :**
 - Restitution et régénération des cellules pancréatique β .
 - Restauration de la balance redox par le biais des antioxydants naturels qui luttent contre les ERO.
 - Renforcement de l'intégrité des cellules β et du système de défense antioxydant endogène suite à l'apport exogène en oligo-éléments et vitamines.
 - Atténuation de l'inflammation en interférant avec la synthèse ou l'action des cytokines pro-inflammatoires (De Paulo Farias *et al.*, 2020 ; Sun *et al.*, 2021)
 - Atténuation des processus de glycation en inhibant à différents stades les produits de glycation avancés (AGE) (Khan *et al.*, 2020).

3.3. Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.)

3.3.1. Classification et cultivation

Appartenant à la famille de Fabaceae, le genre *Trigonella* inclut plus de 60 espèces. Parmi ces espèces, *foenum-graecum* est l'espèce la plus cultivée et la plus réputée. Etymologiquement, *Trigonella foenum-graecum* provient de « Trigonum » en se référant à la forme triangulaire des fleurs « petit triangle » et à son utilisation comme fourrage « foin grec » (Kakani et Anwer, 2012), et vernaculairement connu sous le nom de Fenugrec, Halba en arabe et Fenugreek en anglais. C'est une plante annuelle classée parmi les protéagineux (Ahmad *et al.*, 2016).

La hiérarchie taxonomique suivante, explicite en détail la classification de fenugrec (USDA plantes, 2018) :

Royaume : Plantes

Sous-royaume : Trachebionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidés

Famille : Fabacées Lindl.

Genre : *Trigonella* L.

Espèces : *Trigonella foenum-graecum* L.

Bien qu'il soit originaire de la région méditerranéenne et l'Asie centrale, avec des aires de répartition entre l'Europe du Sud-Est, l'Afrique du Nord et l'Asie de l'Ouest (Petropoulos, 2002), le fenugrec est largement cultivé en étant une plante agricole à travers le monde, essentiellement en Inde à des fins commerciales, mais aussi en Tunisie, Algérie, Maroc, en Chine et Japon. La culture des graines s'est élargie récemment aux Etats-Unis et à l'Europe centrale (Habtemariam, 2019), avec un grand potentiel d'introduction dans les régions semi-arides d'Afrique et d'Amérique latine (Zandi *et al.*, 2014).

De point de vue phénologique, cette flexibilité écologique est due à son adaptation à la diversité des conditions édaphiques et climatiques. Cette plante peut se développer dans des zones à pluviométrie faible ou modérée, quoique, une saison tempérée, sans températures extrêmes est propice pour le meilleur développement de fenugrec (Oueslati et Ghédira, 2015).

3.3.2. Description botanique

Trigonella foenum-graecum est une plante herbacée, diploïde ($2n=16$), poilue ou glabre conformément aux variétés, de taille moyenne allant jusqu'à 60 cm de haut avec une croissance droite (Habtemariam, 2019) (Figure 20).

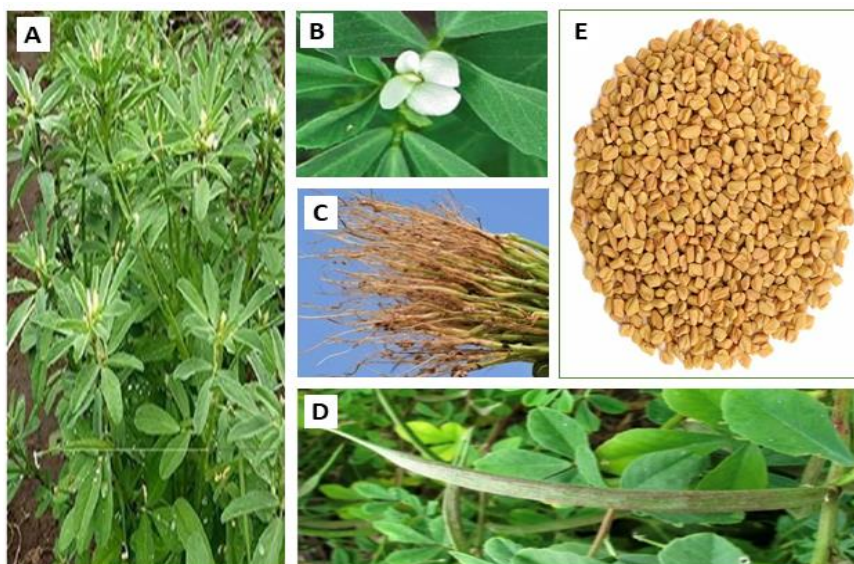


Figure 20 : Aspects morphologiques de *Trigonella foenum-graecum* L.

A : tige et feuilles. **B :** fleur. **C :** racine (Shamsi, 2018), **D :** gousses, **E :** graines (Oueslati et Ghédira, 2015)

Les principales caractéristiques morphologiques sont décrites selon Habtemariam (2019) :

Tige : dressée, ramifiée, peu pubescente, de couleur vert-rosée, témoignant la déposition des anthocyanines au niveau de la tige (Figure 20 A).

Feuilles : sont alternes, longuement pétiolées de 1 à 4 cm du long. La forme de folioles disposés en triplet varie d'ovale orbiculaire à oblongue lancéolée (Figure 20 A).

Fleurs : sont papilionacées de couleur jaune qui vire au blanc à la maturité (Figure 20 B).

Racines : bien développées (Figure 20 C).

Fruit/graines : le fruit correspond à des gousses glabres de 8 cm de long (Figure 20 D) renfermant à peu près 10-20 graines jaune brunâtre, ces derniers sont très durs et ont une forme rhomboïdale marquée en deux parties par un sillon (Figure 20 E).

Les graines constituent la partie la plus importante sur le plan médicale (Akhtari *et al.*, 2024).

3.3.3. Composition chimique des graines de fenugrec

La valeur nutritionnelle et bioactive des graines de fenugrec dépend des facteurs abiotiques, facteurs liés à l'échantillonnage, l'état initiale des graines et les facteurs expérimentaux (Hayat *et al.*, 2020 ; Rébufa *et al.*, 2021).

3.3.3.1. Composition en substances nutraceutiques

Les graines de fenugrec sont connues pour leur teneur copieuse en protéines (20-30 %), consisté du globine, prolamine, glutelins et d'albumine, avec une teneur importante en nucléoprotéines. Les graines ont une forte proportion en acides aminés mono et dicarboxyliques (Oueslati et Ghédira, 2015). La composition lipidique est moins abondante dans les graines (7-10 %), qui correspond à des lipides neutres, phospholipides et des glycolipides. Quant pour les acides gras, les graines sont riches en acides gras insaturés, majoritairement en acide oléique, linoléique et linoléinique (Ahmad *et al.*, 2016).

Les glucides représentent 40 à 58 % du contenu des graines, cette teneur est riche en fibres mucilagineuses (galactomannanes) formées principalement de mannose et galactose qui donnent l'aspect visqueux dans les solutions aqueuses (Habtemariam, 2019). Les graines de fenugrec sont riches en oligo-éléments y compris les macronutriments (potassium, phosphore, calcium ...etc.), ainsi que les micronutriments (zinc, cuivre, manganèse...etc.) (Syed *et al.*, 2020). Le profil vitaminiq ue des graines de fenugrec est riche en vitamine A, B1, B2, B3, C, et choline (Ahmad *et al.*, 2016).

3.3.3.2. Composition en substances bioactives

Les graines constituent également une source potentielle en composés biologiquement actifs de nature chimique différente notamment :

- a. Trigonelline** : un des alcaloïdes (gentianine, choline) le plus répandu dans les graines, réputé par ses propriétés antidiabétiques (Yoshinari et Igarashi, 2010).
- b. Diosgénine** : une saponine stéroïdienne, souvent rapporté pour son effet protecteur dans les maladies métaboliques hépatiques (Uemura *et al.*, 2011).
- c. 4-hydroxyisoleucine** : un acide aminé particulier de fenugrec, ayant des propriétés insulino-tropiques (Avalos-Soriano *et al.*, 2016).
- d. Polyphénols** : le potentiel antioxydant souvent visé par les études phytochimiques est généralement fourni par les polyphénols (Tsao, 2010). Les composés phénoliques des graines de fenugrec sont des antioxydants naturels, expérimentés dans la lutte contre l'inflammation, les cancers, les maladies métaboliques, cardiovasculaires et dégénératives (Oyedeki *et al.*, 2011 ; De Paulo Farias *et al.*, 2021). Leur classification s'appuie fondamentalement sur la structure de base, l'effectif des noyaux aromatiques et les substituants structuraux qui les relient :

■ Les acides phénoliques

Ce sont des composés organiques contenant au moins une fonction carboxyle et une fonction hydroxyle. Ils peuvent dériver de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique, formant deux sous classes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques, respectivement. La composition individuelle est dépendante du nombre des substituants hydroxylés et méthoxylés et leur arrangement sur le noyau (Bondia-Pons *et al.*, 2009 ; Tsao, 2010) (Tableau 3).

■ Les flavonoïdes

Ce sont des substances pigmentaires, plus abondantes dans les plantes, constituées de deux noyaux aromatiques centrés par un hétérocycle oxygéné, dont le degré de saturation, d'oxydation et d'hydroxylation de ce dernier constitue l'origine des différentes classes des flavonoïdes. Les composés individuels diffèrent selon les substitutions méthoxylés, hydroxylés et glycosylés des noyaux aromatiques (Tsao, 2010 ; Emeraux, 2019) (Tableau 4)

Tableau 3 : Structure chimique de quelques acides phénoliques communs dans les graines de fenugrec

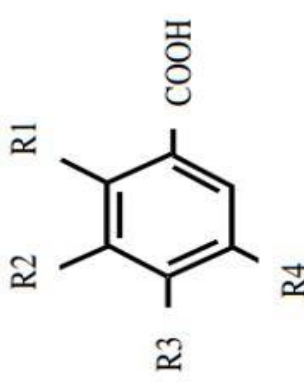
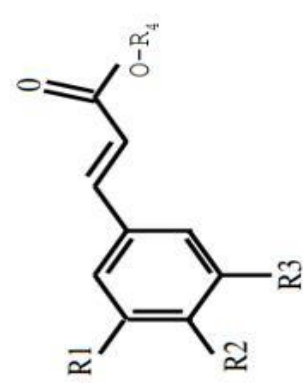
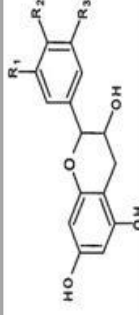
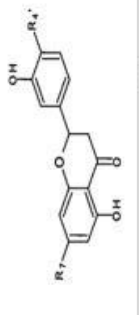
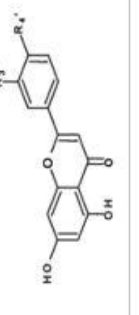
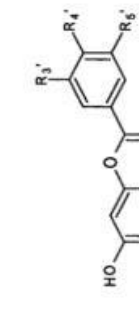
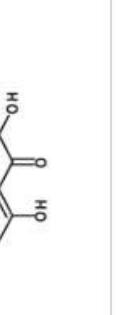
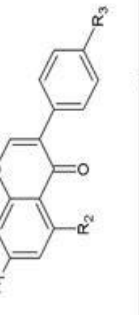
Classes	Squelettes de base	Acide phénoliques fréquents dans les graines	Substituants	Référence
Acide hydroxybenzoïque		Acide gallique	R ₁ =H, R ₂ , R ₃ , R ₄ =OH	Valenciene <i>et al.</i> , 2020
		Acide salicylique	R ₁ =OH, R ₂ , R ₃ , R ₄ =H	
		Acide syringique	R ₁ =H, R ₂ , R ₄ =OCH ₃ , R ₃ =OH	Tsao, 2010 ; Liu <i>et al.</i> , 2020
		Acide vanillique	R ₁ =OH, R ₂ =OCH ₃ , R ₃ , R ₄ =H	
		Acide Protocatéchique	R ₁ , R ₄ =H, R ₂ , R ₃ =OH	
		Acide hydroxy-benzoïque	R ₁ , R ₂ , R ₄ =H, R ₃ =OH	
Acide hydroxycinnamique		Acide chlorogénique	R ₁ , R ₂ =OH, R ₃ =H, R ₄ = acide quinique	Tsao, 2010
		Acide p-coumarique	R ₁ , R ₃ =H, R ₂ =OH	Tsao, 2010 Liu <i>et al.</i> , 2020
		Acide caféique	R ₁ , R ₂ =OH, R ₃ =H	Valenciene <i>et al.</i> , 2020
		Acide férulique	R ₁ =H, R ₂ =OCH ₃ , R ₃ =OH,	
Acide Sinapique	R ₁ , R ₃ =OCH ₃ ,			

Tableau 4 : Structure chimique de quelques flavonoïdes communs dans les graines de fenugrec

Classes	Squelette de base	Flavonoïdes fréquents dans les graines	Substituants	Référence
Flavan-3-ols		Catéchine	R ₁ , R ₂ =OH, R ₃ =H	Tsao, 2010
		Epicatéchine	R ₁ , R ₃ =H, R ₂ =OH	
Flavanones		Hespéritine	R ₄ '=OCH ₃ , R ₇ '=OH	Liga <i>et al.</i> , 2023
		Hespéridine	R ₄ '=OCH ₃ , R ₇ '= glucose-Rhamnose	
Flavones		Apigénine	R ₃ '=H, R ₄ '=OH	Kumar et Pandey, 2013
		Lutéoline	R ₃ ' , R ₄ '=OH	
Flavanols		Quercétine	R ₃ ' , R ₄ '=OH, R ₅ '=H	Liga <i>et al.</i> , 2023
		Kaempférol	R ₃ ' ,R ₅ '=H, R ₄ '=OH	
		Myricétine	R ₃ ' ,R ₅ ' , R ₄ '=OH	
		Rutine	R ₃ ' ,R ₄ '=OH, R ₅ '=H, 3-glucose-Rhamnose	
		Daidzéine	R ₁ , R ₃ =OH, R ₂ =H	
Isoflavones		Génistéine	R ₁ , R ₂ , R ₃ =OH	Dias <i>et al.</i> , 2021
		Génistine	R ₁ =O-Glucose, R ₂ , R ₃ =OH	
Anthocyanidines		Cyanidine	R ₃ '=OH, R ₅ '=H	Tsao, 2010

3.3.4. Aspects thérapeutiques des graines de fenugrec

3.3.4.1. Utilisation ethno-historique

En s'appuyant sur les pratiques ancestrales, les graines de fenugrec ont été signalées d'être à usage polyvalent selon les traditions indiennes, chinoises et arabo-islamiques (Saad et Said, 2011) :

- En chine, le graines de fenugrec ont été utilisées comme tonique pour le traitement d'asthénies et comme dégonfleur dans les cas d'œdème (Yoshikawa *et al.*, 2000).
- A utilisation culinaire, le fenugrec a été utilisé par les indiens comme saveur et épice. Promouvant la santé féminine, il est utilisé comme stimulateur de lactation et d'appétit, ainsi que comme fortifiant après l'accouchement et pendant l'allaitement (Ahmed *et al.*, 2016 ; Akhtari *et al.*, 2024).
- En Algérie, les suspensions des graines (infusées ou décoctées) ont été employées en étant fébrifuge, fortifiant, analeptique, stomatique, sédatifs des douleurs d'accouchement et contre l'anémie en les ingérant sous forme de poudre (Ait Youssef, 2006 ; Rouibi, 2018 ; Rahmani *et al.*, 2018).
- Les graines ont été préconisées également contre la fièvre, la bronchite, la dyspepsie, l'indigestion et les troubles gastroduodénaux.
- A usage externe, les graines ont été utilisées comme substance émolliente, également sous forme d'un cataplasme sur les furoncles, les abcès et les brûlures (Oueslati et Ghédira, 2015).

3.3.4.2. Utilisation pharmacologique

Douées d'un profil nutritif et bioactif impressionnant, les graines de fenugrec reçoivent constamment des évidences pharmacologiques afin d'affirmer leur application folklorique et approuver leur application biotechnologique. Selon les essais expérimentaux et précliniques, il s'est avéré que les graines de fenugrec ont plusieurs effets pharmacologiques :

- **Effet antidiabétique** : les graines de fenugrec ont une activité hypoglycémiant, grâce à ses composants insulino-tropiques et insulino-sensibilisants qui agissent de façon synergique pour contrôler la glycémie (Knott *et al.*, 2017 ; Alsieni *et al.*, 2021).
- **Effet antioxydant** : il intervient majoritairement dans la restauration de la balance redox, les composés phénoliques des graines leur confèrent une activité anti-radicalaire puissante qui a été démontrée dans des études *in vivo* (Jin *et al.*, 2014) et *in vitro* (Salam *et al.*, 2023).
- **Effet hypolipidémiant** : dans des conditions hyperlipidémiques, la supplémentation en graines de fenugrec a montré un effet hypocholestérolémiant, hypotriglycéridémiant chez

des rats diabétiques (Hosseini *et al.*, 2020) et chez des rats hypercholestérolémiques (Mukthamba et Srinivasan, 2015).

- **Effet hépato-protecteur** : testées dans un aspect toxique, les graines ont montré une protection du foie contre les nécroses induites par le tétrachlorure de carbone (Mbarki *et al.*, 2017), et aussi contre les perturbations hépatiques secondaires au diabète (Alsieni *et al.*, 2021).
- **Effet antiglycatif** : il a été démontré par Anwar *et al.*, (2023) que les graines de fenugrec sont doué des propriété antiglycatifs et anti-âge chez des rats ayant développé un vieillissement accéléré suite à l'administration des fortes doses de fructose.
- **Effet néphro-protecteur** : plusieurs études ont démontré l'activité réno-protectrice de la poudre de fenugrec, d'ailleurs, Pradeep *et al.*, (2019) ont dévoilé l'atténuation de la néphropathie diabétique, alors que Belaïd-Nouira *et al.*, (2013) ont exposé son efficacité contre la néphro-toxicité induite par le chlorure d'aluminium.
- **Effet cardio-protecteur** : une protection contre l'infarctus du myocarde induit par l'isoprénalline a été évoquée par la poudre des graines de fenugrec, dont l'effet cardioprotecteur a été manifesté par l'amélioration du profil lipidique et histologique des perturbations cardiaques (Mukthamba et Srinivasan, 2015).
- **Effet gastro-protecteur** : Pandian *et al.*, 2002 ont montré l'effet bénéfique de l'extrait aqueux des graines de fenugrec sur l'ulcère gastrique provoqué par l'éthanol en allégeant les lésions muqueuses grâce à son activité anti-sécrétoire et aux flavonoïdes.
- **Effet neuroprotecteur** : une étude menée sur des souris intoxiquées par la pyridoxine a montré l'effet anti-neuropathique de l'extrait hydro-alcoolique des graines en restaurant la fonctionnalité des nerfs sciatiques (Moghadam *et al.*, 2013).
- **Effet antibactérien** : l'extrait éthanolique des graines a présenté une activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries gram positifs (*Bacillus subtilisé* et *Staphylococcus aureus*) ainsi que les bactéries gram négatif (*Vibrio cholerae* et *Escherichia coli*) (Oueslati et Ghédira, 2015).

3.3.5. Aspects toxicologiques

Bien que le fenugrec soit traditionnellement et expérimentalement considéré comme efficace et bien toléré de point de vue métabolique, la consommation des graines doit être contrôlée en prenant en compte la posologie, leur interaction avec d'autres médicaments, l'allergie et leur foetotoxicité. A cause de sa teneur en coumarine, le fenugrec accroît le risque de saignement sanguin et c'est la raison pour laquelle sa consommation par des patients recevant des anticoagulants est déconseillée (Oueslati et Ghédira, 2015). Des réactions d'hypersensibilité

peuvent apparaître, que ce soit respiratoire sous forme de rhinorrhée, évanouissement en cas d'inhalation de la poudre des graines, ou cutanée provoquant un angioœdème suite à des applications cosmétiques (Petropoulos, 2002). En plus, il a été reporté à plusieurs reprises que les graines de fenugrec sont contre indiquées durant les phases précoces de la grossesse, à cause de leur effet foetotoxique et tératogène. Une consommation excessive en graines de fenugrec (50 g BID) peut induire des symptômes gastro-intestinaux notamment une flatuosité et diarrhée (Al-Asadi, 2014).

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

L'étude expérimentale a été opérée au sein de plusieurs laboratoires spécialisés. Les expérimentations phytochimiques sur les graines de fenugrec locales ont été réalisées au laboratoire ChimNutra, Université de Naples Frédéric II, Italie. Le dosage des paramètres biochimiques et hématologiques a été réalisé au laboratoire de biochimie et d'hématologie de l'hôpital Dorban (Annaba). Le dosage des paramètres du stress oxydatif a été mené en alternance au sein du laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées du département de Biochimie, et au laboratoire d'Ecophysiologie Animale du département de Biologie, Université Badji Mokhtar, Annaba (UBMA). La préparation et l'observation des coupes histologiques ont été faites au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique NIHA, Annaba.

Cette étude constitue une enquête expérimentale visant à évaluer le contenu phytochimique des graines de fenugrec locales (*Trigonella foenum graecum*) ainsi que leur potentiel hypoglycémiant, antioxydant et cytoprotecteur contre les perturbations physiopathologiques du diabète induit chez des rats wistar en utilisant un diabétogène le STZ.

NB : Tous les produits et réactifs chimiques utilisés dans la partie pratique (phytochimique et biologique) sont mentionnés dans l'annexe 1.

4.1. Étude phytochimique du fenugrec

4.1.1. Modèle végétal et extraction

Les graines de fenugrec locales (GFL) ont été recueillies des habitats naturels de Hassi Khalifa, Oued souf, Algérie, au mois d'avril 2019 (Tableau 5) et authentifiées en étant *Trigonella foenum graecum* Linn. suivant les idiosyncratiques du genre *Trigonella* (Petropoulos, 2002) par Dr. Hamel Tarek, département de biologie végétale et environnement (UBMA, Algérie). Les semences ont été épurées par vannage, lavées, égouttées, séchées et finalement moulues en poudre.

Tableau 5 : Caractéristiques géographiques du site de récolte des graines de fenugrec (Web)

Site	Coordonnées	Altitude (mm)	Bioclimat	Précipitation (mm/an)	Température (°C)	Humidité (%)
Hassi Khalifa	33°33'44" N 6°59'25" E	51	Aride	67.63	30	27

Avant de procéder aux analyses phytochimique, nous avons d’abord préparé l’extrait hydro-méthanolique des GFL (GFL-M.Aq). Pour ceci, nous avons opté pour une extraction par macération de l’ordre de 1:10 sous une agitation continue pendant 24 heures, suivant la méthode de Hayat *et al.*, (2020) et Buttner *et al.*, (2021). En effet, la poudre des graines de fenugrec locale a été macérée dans une solution aqueuse de méthanol (GFL-M.Aq) de l’ordre de MeOH/H₂O (80:20). Subséquemment, le macérât a été mis sous ultrasons (5°C, 15 min). Après centrifugation à 9000 rpm pendant 10 min, le surnageant a été aliquoté, cependant le culot a subi une réextraction identique pour maximiser l’extraction des métabolites. Ensuite, le surnageant a été rassemblé, concentré sous vide à 40 °C à l’aide d’un évaporateur rotatif (Buchir-210), puis congelé pendant 24 h et lyophilisé pendant 72 h avant d’être stocké à l’obscurité à 4 °C pour être exploité dans l’étude phytochimique (Figure 21). Le rendement des extraits lyophilisés a été estimé selon la formule suivante :

$$Rd (\%) = (M_{ext}/M_{éch}) \times 100$$

- **Rd** : Rendement exprimé en pourcentage (%) ;
- **M_{ext}** : Masse de l’extrait sec issu (g) ;
- **M_{éch}** : Masse de l’échantillon initial (g).

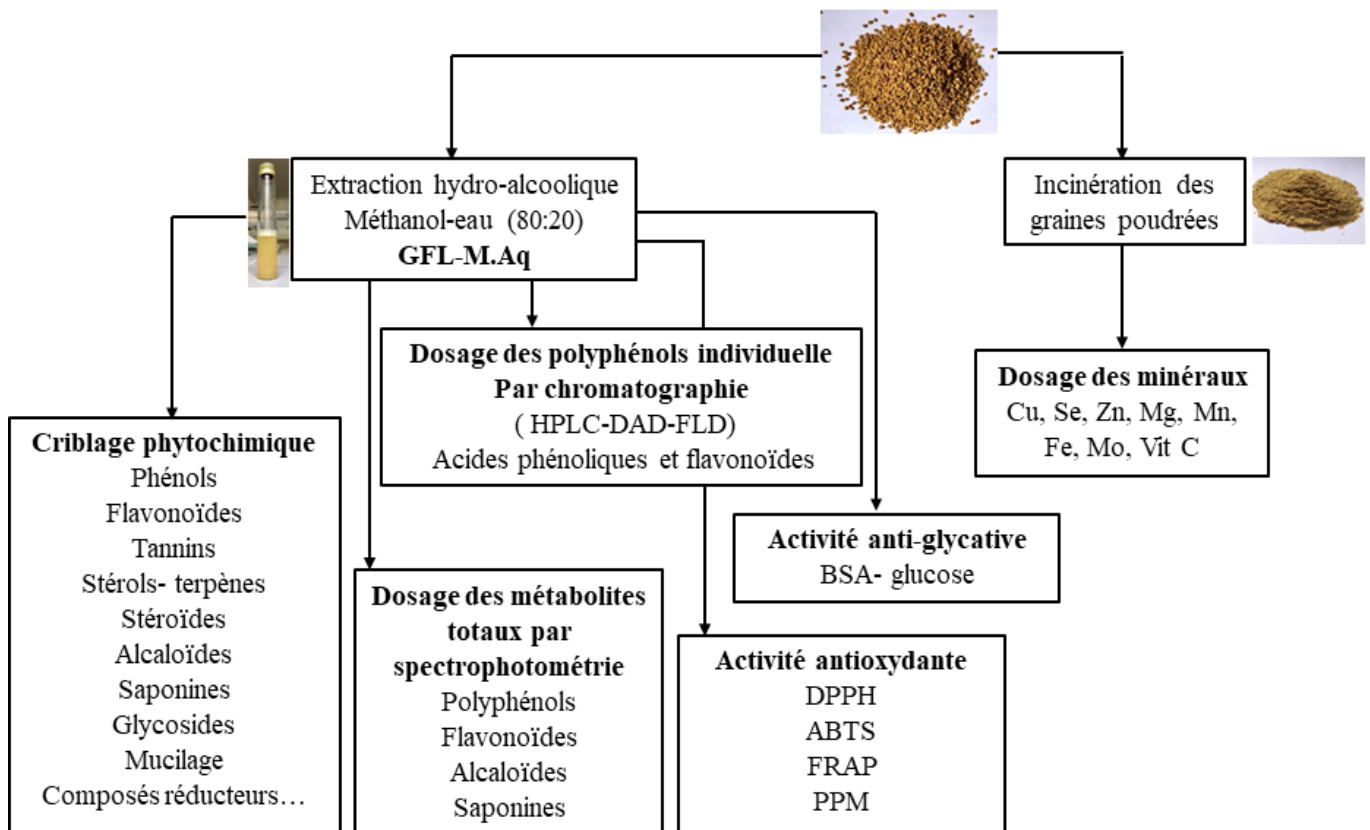


Figure 21 : Diagramme récapitulant le protocole expérimental de l’étude phytochimique

4.1.2. Analyse qualitative de l'extrait hydro-méthanolique des GFL

L'extrait hydro-méthanolique des GFL (GFL-M.Aq) a été soumis à un criblage phytochimique préliminaire en se référant aux méthodes standards rapportées par Shaikh et Patil (2020). L'ensemble des tests colorimétriques, les tests basés sur la précipitation ainsi que l'approche adoptée sont récapitulés dans le tableau 6.

Tableau 6: Tests qualitatifs adoptés pour l'identification des composés chimiques (Shaikh et Patil, 2020)

Composés chimiques	Tests qualitatifs	Réactifs	Révélation (coloration /précipitation)
Polyphénols	Test de chlorure de fer	Chlorure de fer	Noir bleuté
Flavonoïdes	Test de Shinoda	HCL Copeaux de magnésium	Rose foncé voire rouge
Stéroïdes	-	Anhydride acétique	Violet virant au bleu puis au vert
Tannins condensés	Test de chlorure de fer	Chlorure de fer	Vert foncé
Terpènes	Test Salkowski	Chloroforme Acide sulfurique concentré	Rouge-brun
Alcaloïdes	Test de Dragendorff	Réactif de Dragendorff	Rouge-brun
Saponines	Test de moussage	-	Formation d'une mousse
Composés réducteurs	Test de Fehling	Liqueur de Fehling	Rouge brique
Glycosides	Test de Keller Killiani	Chlorure de fer Acide sulfurique	Bleu foncé
Anthocyanes	-	Acide sulfurique Ammoniaque	Virage de coloration
Mucilage	-	Ethanol absolu	Précipité floconneux

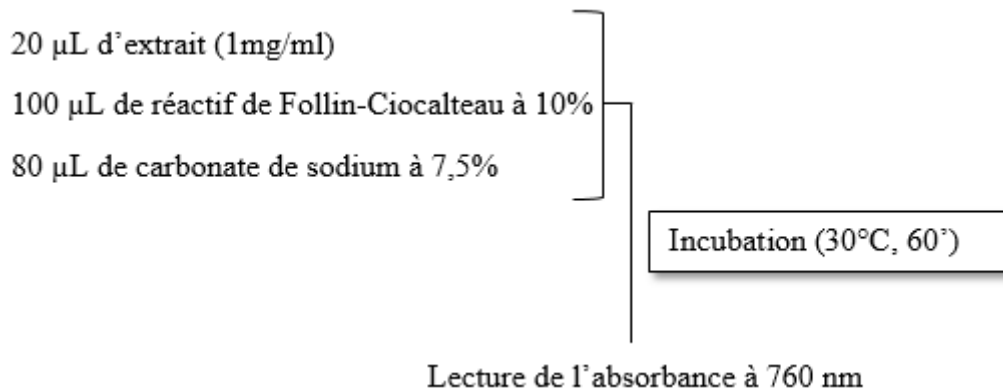
4.1.3. Analyse quantitative de la composition métabolique totale de l'extrait GFL-M.Aq

4.1.3.1. Dosage des polyphénols totaux

▪ **Principe :** la teneur phénolique totale a été examinée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999).

▪ **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser les polyphénols totaux, nous avons suivi le protocole suivant :



▪ **Expression des résultats :** la concentration des polyphénols a été inférée à partir d'une gamme d'étalonnage élaborée avec de l'acide gallique (0 – 0,6 mg/mL) dans les mêmes conditions que l'extrait expérimental. Les résultats ont été exprimés en mg équivalents d'acide gallique/ g d'extrait (mg EAG/g E) (Figure A, Annexe 3).

4.1.3.2. Dosage de flavonoïdes totaux

▪ **Principe :** la détermination de la teneur en flavonoïdes a été effectuée en appliquant l'essai colorimétrique du chlorure d'aluminium initialement proposé par Christ et Müller (1960).

▪ **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser les flavonoïdes totaux, nous avons suivi le protocole suivant :



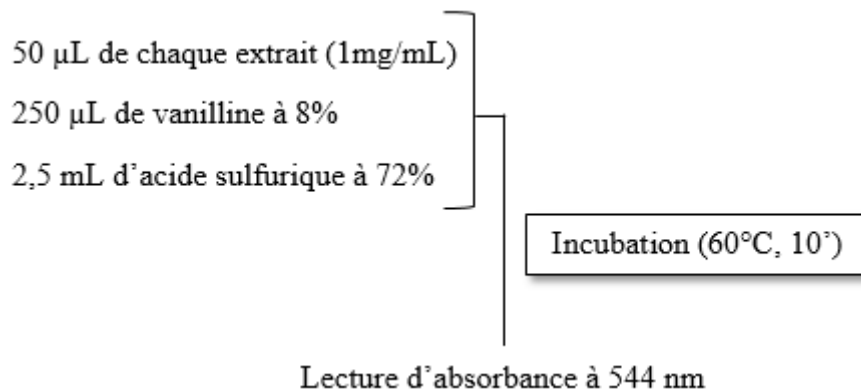
- **Expression des résultats :** pour estimer la concentration des flavonoïdes totaux, une courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant de la quercétine (0.45 mg/mL), en tenant compte que les conditions de manipulation de ce standard sont identiques à ceux de l'extrait expérimental. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine/g d'extrait (mg EQ/g E) (Figure B, Annexe 3).

4.1.3.3. Dosage de saponines totales

- **Principe :** la quantification des saponines a été conçue selon la méthode de l'acide sulfurique-vanilline, fondée par Hiai *et al.*, (1976).

- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser les saponines totaux, nous avons suivi le protocole suivant :



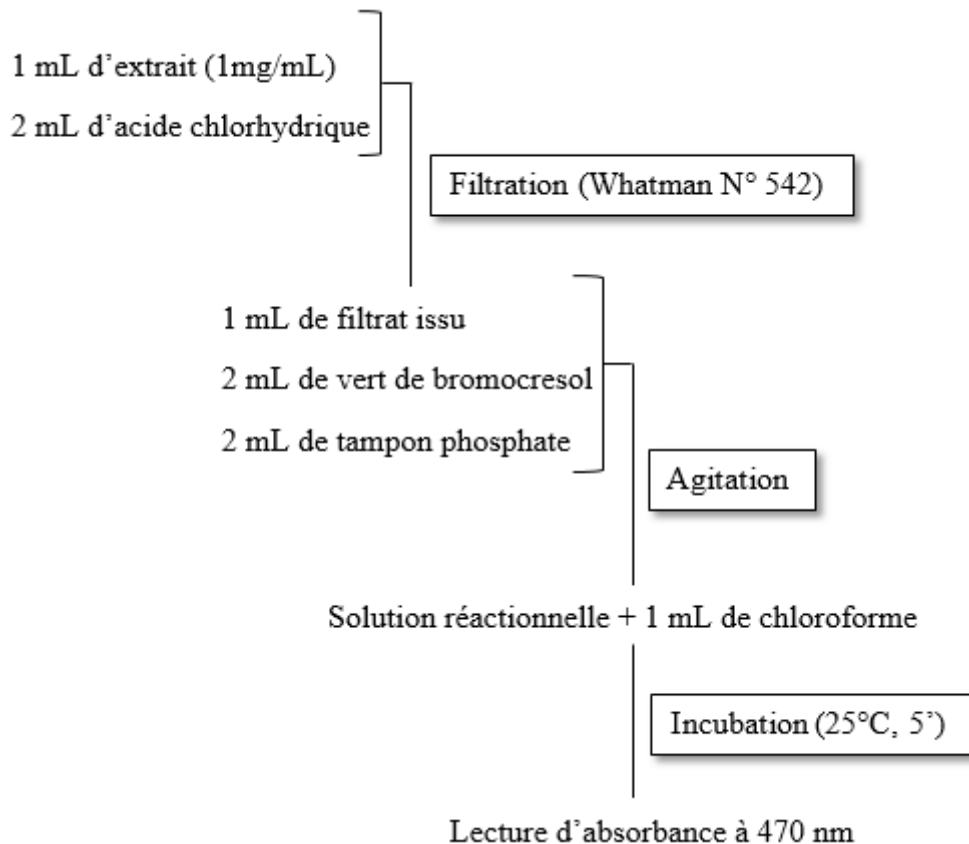
- **Expression des résultats :** la diosgénine, en étant un standard, a subi le même protocole de dosage pour former une gamme d'étalonnage (0 - 0,3 mg/mL) afin de quantifier les saponines totales. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de diosgénine/g d'extrait (mg ED/g E). (Figure C, Annexe 3).

4.1.3.4. Dosage des alcaloïdes totaux

- **Principe :** les alcaloïdes ont été quantifiés suivant la méthode de vert de bromocresol estimé par Shamsa *et al.*, (2008).

- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser les alcaloïdes totaux, nous avons suivi le protocole suivant :



- **Expression des résultats :** pour déterminer la concentration des alcaloïdes totaux, une courbe d'étalon a été réalisée avec d'atropine à partir d'une gamme allant de 0 à 0,25 mg/mL. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'atropine/g d'extrait (mg EA/g E) (Figure D, Annexe 3).

4.1.4. Analyse quantitative de la composition phénolique individuelle de l'extrait GFL-M.Aq

Le profilage de la composition phénolique a été réalisé selon la méthode chromatographique, préalablement validée par Maisto *et al.*, (2023), à l'aide d'un système Jasco Extrema LC-4000 équipé d'un détecteur à réseau de photodiodes (DAD) et d'un détecteur de fluorescence, couplé à un échantillonneur automatique et à une pompe à solvant binaire. Les analyses chromatographiques ont été effectuées en phase inverse à un débit de 1 mL/min, en utilisant le solvant A (acide formique à 2%) et le solvant B (acide formique à 0,5 % dans l'acétonitrile et l'eau à 50 :50, v/v). L'élution a été réalisée comme suit, 5 min d'élution isocratique à 10 % du solvant B, puis de 10 % (B) à 55 % (B) pendant 50 min et à 95 % (B) pendant 10 min, suivie de

5 min d'entretien. Un volume de 20 μL a été injecté dans une colonne Kinetex®C18 (250 mm 4,6 mm, $\varnothing = 5 \mu\text{m}$), avec une température réglée à 30 °C. Les flavonols, les dihydrochalcones et les acides hydroxycinnamiques ont été détectés à 280 nm, tandis que les flavanes 3-ols à 360 nm. Les procyanidines ont été surveillées par un détecteur de fluorescence, utilisant une longueur d'onde d'excitation de 272 nm et une longueur d'onde d'émission de 312 nm. L'identification des polyphénols a été réalisée par comparaison de leurs temps de rétention (T_r) avec ceux des standards purs alors que la quantification a été réalisée en utilisant les surfaces des pics et les courbes d'étalonnage des étalons analytiques.

4.1.5. Analyse quantitative de la composition minérale de GFL

Les graines de fenugrec locales préalablement moulues (granulométrie $\leq 250 \mu\text{m}$), ont été incinérées dans un four à moufle furane à 500 °C. Les cendres résultantes ont été ensuite soumises à une minéralisation qui consiste à une digestion acido-thermique successive en utilisant de l'acide nitrique sur un bloc chauffant (95 °C). Une fois que le mélange soit homogène, le minéralisât a été filtré à travers un papier filtre plissé Grade 0790. Le filtrat a été ajusté à un volume de 25 mL avec du l'eau bi-distillée (Ranganna, 1986).

L'évaluation de la composition mono-élémentaire en fer (Fe), manganèse (Mn), cuivre (Cu), zinc (Zn), magnésium (Mg), sélénium (Se), molybdène (MO) et vitamine C dans les GFL a été assurée par une spectrométrie d'absorption atomique de flamme (Perkin Elmer, AAnalyst 400) avec un système à double faisceau et un détecteur à semiconducteur à 189-900 nm, dans des conditions air- acétylène, en utilisant une source de lumière EDL et boîte à gaz automatique. Les échantillons et les solutions standards ont été nébulisés dans un compartiment de 25cmx25cm.

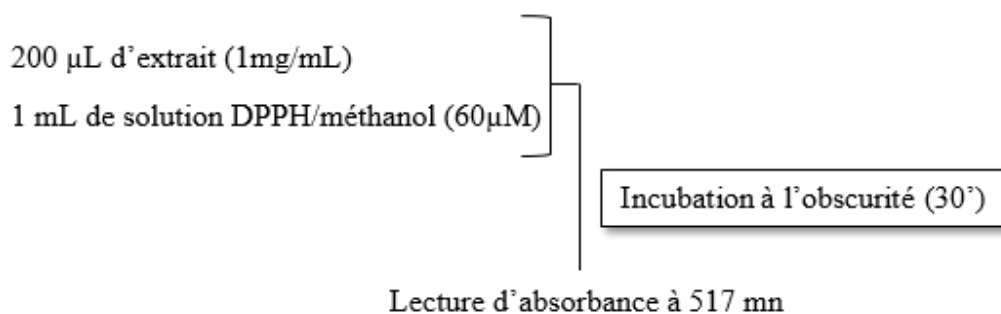
4.1.6. Activité antioxydante de l'extrait GFL-M.Aq

4.1.6.1. Test de piégeage du radical DPPH•

- **Principe :** la réduction du diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été mesuré conformément au protocole de Dixit *et al.*, (2005).

- **Mise en œuvre du dosage :**

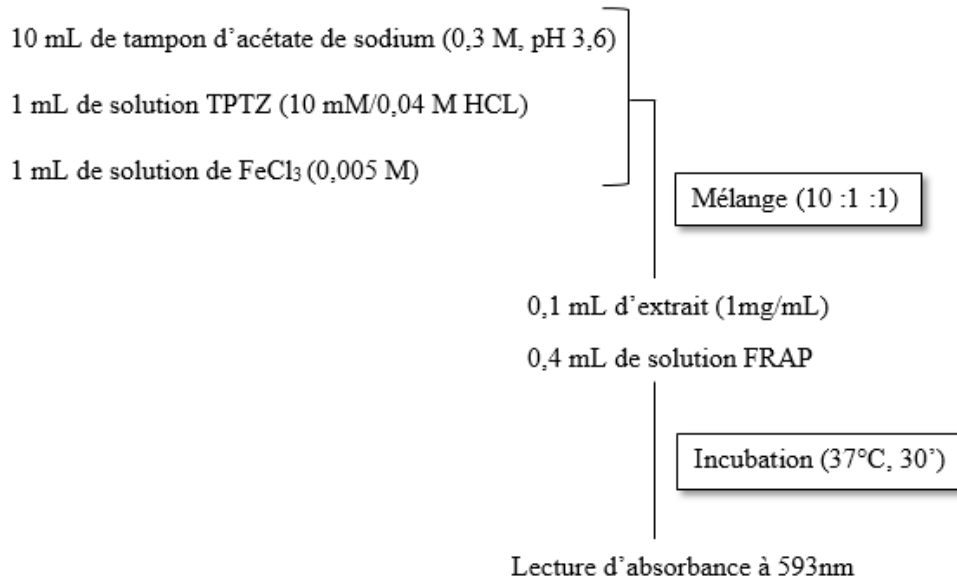
Pour évaluer l'activité radicalaire de GFL-M.Aq, nous avons suivi le protocole suivant :



4.1.6.2. Test de réduction de fer (FRAP)

- **Principe :** la réduction du fer a été évaluée selon la méthode de Benzie et Strain (1999).
- **Mise en œuvre du dosage :**

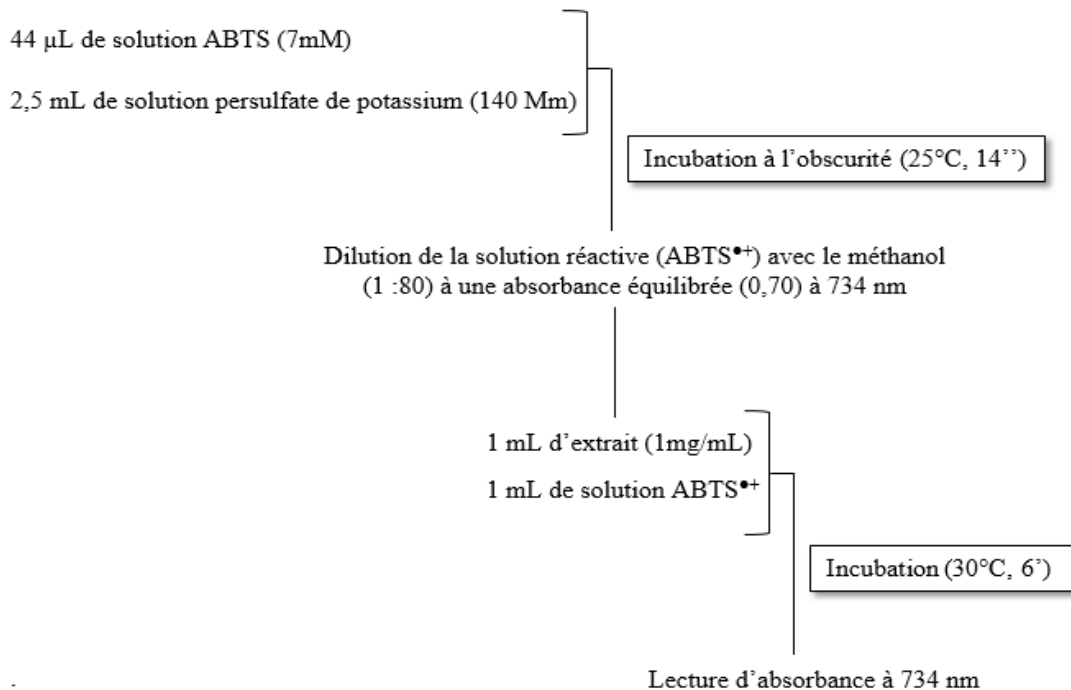
Pour évaluer l'activité réductrice de GFL-M.Aq, nous avons suivi le protocole suivant :



4.1.6.3. Test de piégeage du radical ABTS^{•+}

- **Principe :** le piégeage de la forme cationique d'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS^{•+}) a été évalué en se basant sur le principe de Re *et al.*, (1999).
- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour évaluer l'activité radicalaire de GFL-M.Aq, nous avons suivi le protocole suivant :



- **L'expression des résultats :** la capacité de l'extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec locales à piéger les radicaux, DPPH• et ABTS•⁺ et à réduire l'ion Fe³⁺, a été déduite comparativement à un antioxydant de référence ; le trolox, en utilisant les équations de régression : $Y = 0,2556x + 0,1498$, $R^2 = 0,996$ (DPPH), $Y = 0,3967x - 3,2119$, $R^2 = 0,990$ (ABTS) et $Y = 0,00258x - 0,0219$, $R^2 = 0,996$ (FRAP), ainsi les résultats sont exprimés en mg équivalent de trolox/g d'extrait (mg ET/g E).

4.1.6.4. Test du phosphomolybdate (PPM)

- **Principe :** l'évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT) a été évalué en se référant à la méthode du phosphomolybdate décrite par Prieto *et al.*, (1999).

- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour évaluer l'activité radicalaire de GFL-M.Aq, nous avons suivi le protocole suivant :

0,5 mL d'extrait (1mg/mL)

1 mL de solution réactive : Acide sulfurique (0,6 M)

Phosphate de sodium (28 mM)

Molybdate d'ammonium (4 mM)

Incubation (70°C, 90')

Lecture d'absorbance à 695 nm

- **L'expression des résultats :** en l'utilisant comme un antioxydant de référence, l'acide ascorbique a été incubé dans les mêmes conditions, aboutissant à la constatation d'une équation de régression ; $Y = 1,6003x + 0,0049$, $R^2 = 0,995$. La capacité antioxydante a été donc exprimée en mg équivalent acide ascorbique/g d'extrait (mg EAA/g E).

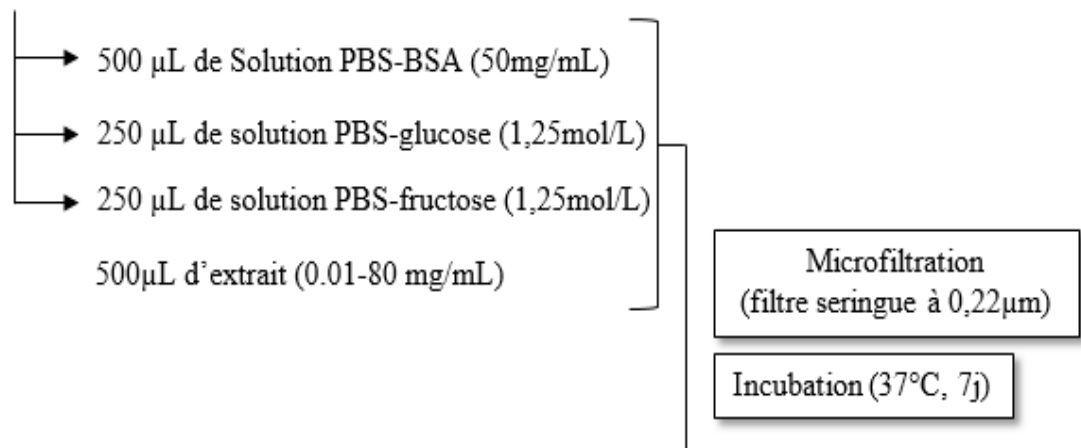
4.1.7. Activité antiglycative de l'extrait GFL-M.Aq

- **Principe :** l'activité antiglycative de l'extrait GFL-M.Aq a été évaluée selon Sharma *et al.*, (2002), en utilisant le modèle albumine sérum bovine (BSA) - monosaccharide.

- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour évaluer l'activité antiglycative de GFL-M.Aq, nous avons suivi le protocole suivant:

Solution tampon phosphate (PBS) (200 mmol/L, pH 7,4 + azide de sodium (0,02%))



Lecture de fluorescence à λ_{ex} 355nm, λ_{em} 460nm

- **Expression des résultats :** comparativement à la rutine (standard), l'activité antiglycative de l'extrait GFL-M.Aq a été exprimée en :

- ✓ **Pourcentage d'inhibition de glycation (GI)**, calculé selon la formule suivante :

$$GI (\%) = \frac{(F_s - F_{sb})}{(F_c - F_{cb})} \times 100$$

F_s : Intensité de la fluorescence en présence de l'échantillon

F_{sb} : Intensité de la fluorescence en l'absence du glucose et du fructose

F_c : Intensité de la fluorescence en l'absence de l'échantillon

F_{cb} : Intensité de la fluorescence en l'absence de l'échantillon, fructose et glucose

- ✓ **IC₅₀** : concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % du BSA-AGEs, l'IC₅₀ est calculée graphiquement en utilisant la régression linéaire des courbes tracées.

4.2. Expérimentation animale

4.2.1. Confection de l'alimentation des rats

L'expérimentation animale a porté sur des rats *Albinos wistar* nourris par un régime alimentaire standard ou supplémenté par 10% de la poudre de fenugrec. Les GFL ont été nettoyées, finement moulues en poudre à l'aide d'un moulin électrique. Parallèlement, la nourriture standard des rats en bâtonnets, a été broyée dans les mêmes conditions pour être mélangée à la poudre des GFL. Le régime standard a été obtenu de l'office national des aliments de bétail (ONAB) (Oued Fragha, Guelma). La composition de l'alimentation est détaillée dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment (ONAB)

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcium	9	0.9
Cellulose	10	1
Minéraux	10	1
Vitamines	10	1

4.2.2. Modèle animal et entretien

Le protocole expérimental réalisé sur les rats (*in vivo*) a été approuvé par le comité d'éthique animale de l'université d'Annaba (UBMA, Algérie) (N°. 387: 31/07/2006). Le traitement des rats a été réalisé conformément aux directives de la déclaration d'Helsinki (1964). Nous avons concrétisé l'expérimentation sur 40 rats mâles de race Albinos et de souche wistar. Ce sont des mammifères appartenant à l'ordre des rodentiens, obtenues auprès de l'Institut Pasteur d'Alger (Algérie), âgées de 9-10 semaines et pesant $174 \text{ g} \pm 15 \text{ g}$. Au cours de la période d'acclimatation d'environ un mois, les rats ont été accommodés dans des cages translucides en polyéthylène tapissées d'une litière de copeaux de bois interchangeable quotidiennement. Les conditions de l'animalerie sont optimisées à une température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, un degré hygrométrique de $70 \pm 4 \%$, sous une photopériode de 12 heures lumière/obscurité. Les rats ont été autorisés à accéder librement à l'eau (*ad libitum*) et au régime standard en bâtonnets tout au long de la période de l'étude.

4.2.3. Induction du diabète expérimental

Pour l'induction du diabète, nous avons privilégié l'utilisation de la STZ ($\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_7$) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en tant qu'un diabétogène grâce à sa structure chimique (Figure 22) qui lui confère la cytotoxicité. En effet, la STZ agit par sa portion désoxyglucose (**A**) responsable du transport membranaire de la molécule via le transporteur GLUT 2 et par sa fraction nitrosourée (**B**), qui provoque des dommages des cellules β via l'alkylation de leur ADN (Szkudelski, 2012).

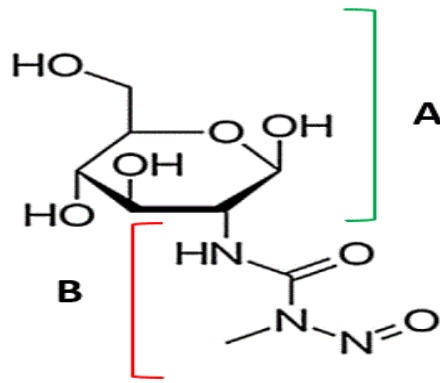


Figure 22 : Structure chimique de la Streptozotocine (Hasan *et al.*, 2018)

Suivant le guide d'induction de diabète proposé par Gheibi *et al.*, (2017), la STZ a été extemporanément préparée dans une solution de tampon citrate (0,1 M) dans des conditions acides (pH=4,5) et immédiatement injectée par voie intrapéritonéale à une dose de 60 mg/kg de poids corporel des rats mis en jeûne nocturne. En parallèle, les rats servant pour témoins ont subi le même protocole en injectant intrapéritonéalement le tampon citrate (0,1 M ; pH=4,5). Après l'injection, une solution de glucose à 10 % a été fournie aux rats correspondants pour surmonter l'hypoglycémie induite par la STZ dans les premières 24 heures (Deeds *et al.*, 2011). Une semaine post-injection, l'état diabétique a été confirmé en estimant le taux de glucose sanguin de la veine de la queue à l'aide d'un glucomètre ACCU-CHEK (Performa, France). Les animaux qui ont développé une hyperglycémie relativement stable avec un taux de glucose supérieur à 200 mg/dL ont été sélectionnés comme un modèle diabétique.

4.2.4. Conception expérimentale et traitement

La poudre des graines de fenugrec locale (GFL) a été incorporée dans la nourriture standard préparée préalablement à raison de 10 % (w/w): 10 g de graines de fenugrec locale dans 100 g d'aliment standard (Mukthamba et Srinivasan, 2017). Après l'induction du diabète, les rats ont été repartis aléatoirement et équitablement en quatre groupes (n=10), le traitement des rats a été poursuivi pendant six semaines (Pradeep et Srinivasan, 2017).

- ✓ **Groupe (ND-0):** Rats non diabétiques nourris par un régime alimentaire standard.
- ✓ **Groupe (ND-GFL):** Rats non diabétiques nourris par régime alimentaire supplémenté en graines de fenugrec locales à 10 %.
- ✓ **Groupe (D-0):** Rats diabétiques nourris par un régime alimentaire standard.
- ✓ **Groupe (D-GFL):** Rats diabétiques nourris par un régime alimentaire supplémenté en graines de fenugrec locales à 10 %.

4.2.5. Échantillonnage biologique (Sacrifice, prélèvement et dissection)

Parmi les paramètres qui ont été suivis pendant l'expérimentation animale, le poids corporel, la glycémie, la consommation alimentaire et hydrique. En effet, l'évolution corporelle et la glycémie ont été surveillées hebdomadairement, alors que les rations alimentaires et hydriques ont été contrôlées quotidiennement. Nous avons également suivi la fréquence mictionnelle des rats durant cette période.

Après les six semaines du traitement, nous avons procédé au sacrifice des rats à jeun par décapitation. Les échantillons sanguins ont été récoltés dans des tubes adéquats pour le bilan sollicité ; une fraction du sang a été prélevée dans des tubes EDTA pour FNS. Par ailleurs, le sang recueilli dans les tubes secs et héparinés, a été centrifugé à 3000 rpm/15min, le sérum ainsi que le plasma ont été aliquotés pour servir aux analyses biochimiques sérique (paramètres hépatique, rénale, lipidique) et plasmatique (paramètres biochimique inflammatoire).

Le foie, les reins, le pancréas, la rate et le cœur ont été immédiatement disséqués et lavés avec une solution saline isotonique (NaCl à 0,9 %), puis égouttés, séchés et pesés. Tous ces organes ont servi pour l'évaluation des paramètres physiologiques en calculant le poids relatif de ces organes selon l'équation suivante :

$$\text{Rapport organo-somatique} = \left[\frac{\text{Poids de l'organe (g)}}{\text{Poids total du corps (g)}} \right] \times 100$$

Subséquentement, une portion des organes excisés (foie, rein et pancréas) a été fixée dans le formol tamponné à 10 % pour l'examen histopathologique. Tandis que l'autre portion de ces mêmes organes a été préservée à -20 °C jusqu'au moment des investigations des paramètres du stress oxydatif. Le protocole expérimental *in vivo* est circonscrit schématiquement au niveau de la figure 23.

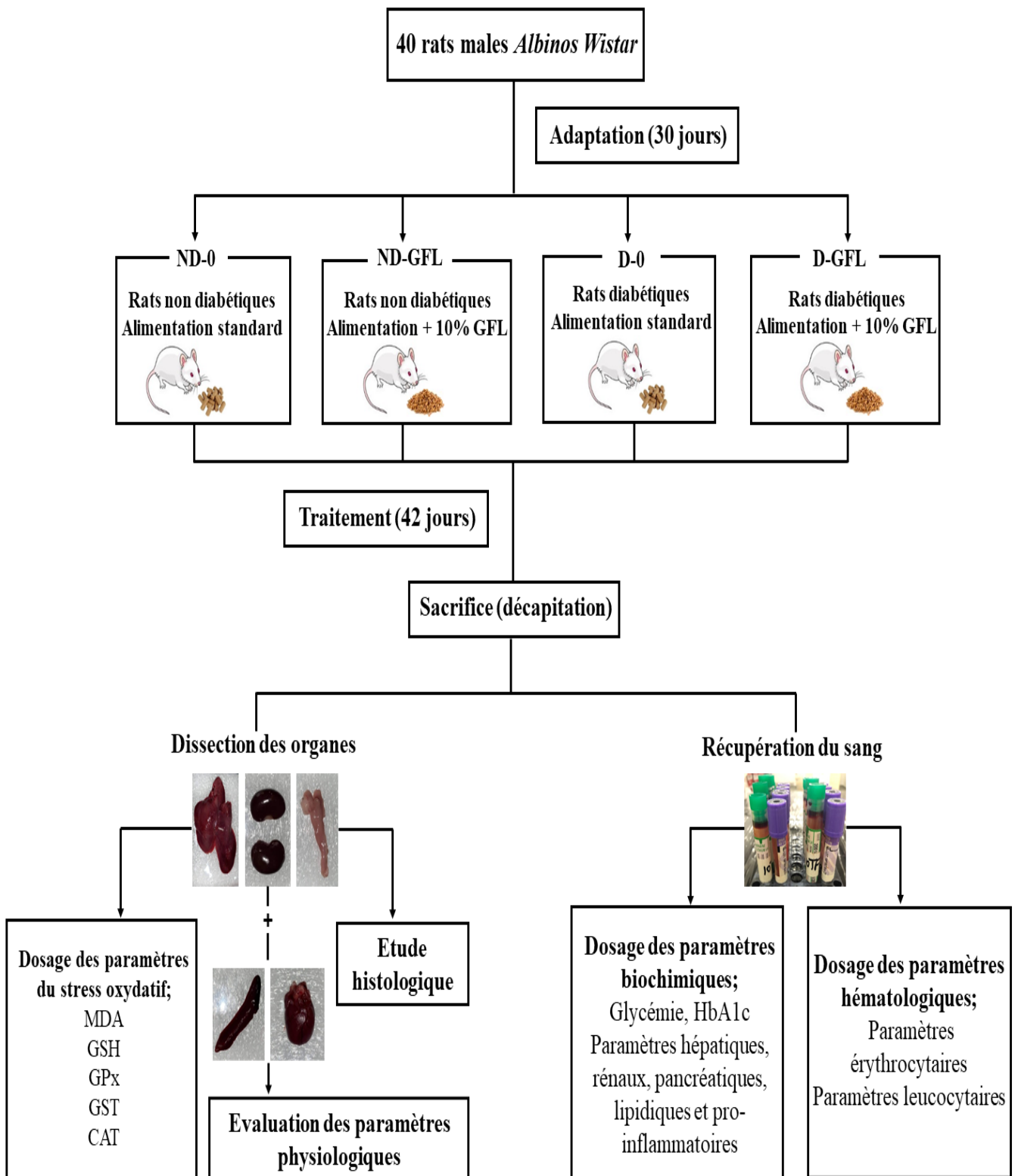


Figure 23 : Diagramme récapitulant le protocole expérimental de l'étude biologique

4.2.6. Évaluation de la cinétique glycémique

La glycémie est caractérisée par une stabilité relative qui varie en fonction de repas, stress, maladie, médicaments (Geibi *et al.*, 2017). Cela impose au moins une surveillance cinétique hebdomadaire (0 j, 7 j, 14 j, 21 j, 28 j, 35 j, 42 j) afin de mettre en évidence l'effet des graines de fenugrec locales, en utilisant un appareillage standard (glucomètre ACCU-CHEK performa, France et ses bandelettes appropriées). Le principe repose sur une réaction enzymatique (la réaction entre le glucose et la glucose oxydase immobilisée sur les bandelettes), suivi d'une réaction électrochimique (le courant électrique issu et passant à travers l'électrode est proportionnelle au taux de glucose) (Mério, 2008). La modalité et les instructions d'utilisation d'un lecteur de glycémie sont conventionnelles quoique dans le cas des rats, nous avons effectué une petite incision dans la partie distale de la queue massée et stérilisée préalablement. Le taux de la glycémie affiché sur l'écran est exprimé en g/L.

4.2.7. Évaluation des paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques, y compris l'hémoglobine glyquée (HbA1c), l'albumine, les transaminases (ALAT et ASAT), la bilirubine totale et directe (BIL-T, BIL-D), la lactate déshydrogénase (LDH), la phosphatase alcaline (PAL), les protéines totaux (PT), l'amylase, la lipase, le cholestérol total (Chol-T), les triglycérides (TG), les lipoprotéines de haute densité (HDL), les lipoprotéines de basse densité (LDL) et la protéine C-réactive (CRP); ont été mesurés sur la base des méthodes conventionnelles utilisant des kits biochimiques Spinreact correspondants (Espagne) sur un analyseur automatisé (COBAS Integra 400-ROCHE). La concentration plasmatique d'insuline a été estimée à l'aide de l'immuno-essai par électrochimiluminescence sur l'analyseur ROCHE COBAS E411. Cependant, les concentrations plasmatiques de l'interleukine 6 (IL-6) et du facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) ont été estimés à l'aide d'un kit d'immunoessai ELISA sandwich quantitatif (Quantikine, États-Unis) (analyseur ROCHE COBAS E411).

4.2.8. Évaluation des paramètres hématologiques

L'hémogramme a été réalisé par un analyseur d'hématologie automatique (Shenzhen Prokan, PE-6100). Les échantillons sanguins pris sur EDTA ont été testés hématologiquement pour la comptabilisation des globules rouge (GB), globules blanc (GB), monocytes (MO), lymphocytes (LY), polynucléaires neutrophiles (PN), polynucléaires éosinophiles (PE), et polynucléaires basophiles (PB), les plaquettes (PLQ) ainsi que les paramètres qualitatifs des hématies

(hémoglobine (Hb), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)).

4.2.9. Évaluation des paramètres du stress oxydatif

4.2.9.1. Préparation de l'homogénat

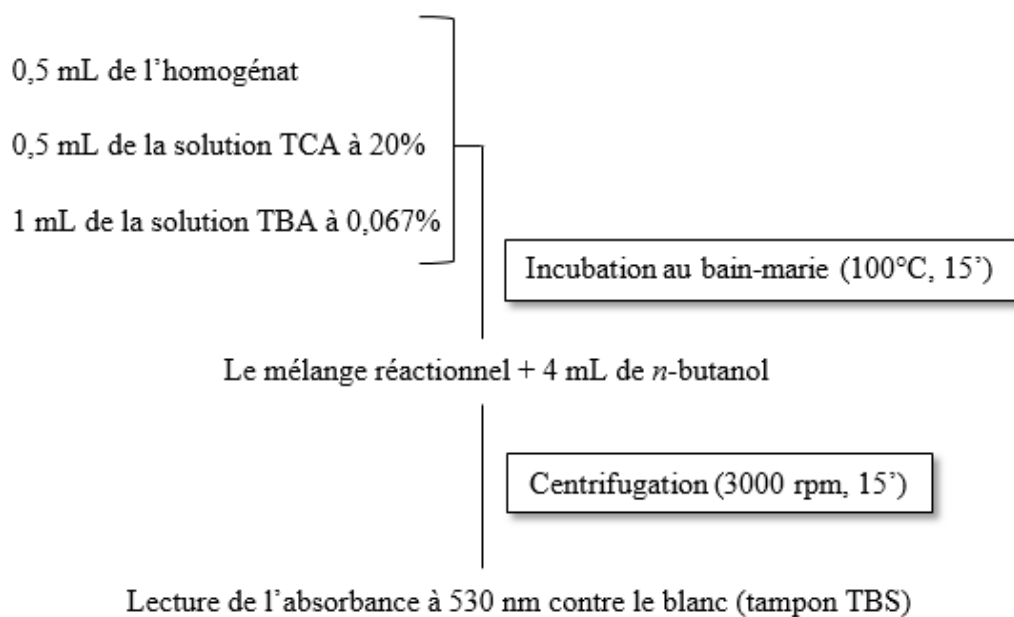
Nous avons initié le protocole par une étape préliminaire qui consiste à l'homogénéisation glaciale des échantillons de foie, reins, pancréas, cœur et rate, en suivant le protocole de Auouacheri et Saka (2021).

4.2.9.2. Dosage du taux du malondialdéhyde (MDA)

- **Principe :** l'estimation quantitative de la peroxydation lipidique s'appuie sur la quantification du malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Ohkawa *et al.*, (1979).

- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser le MDA tissulaire, nous avons adopté le protocole suivant :



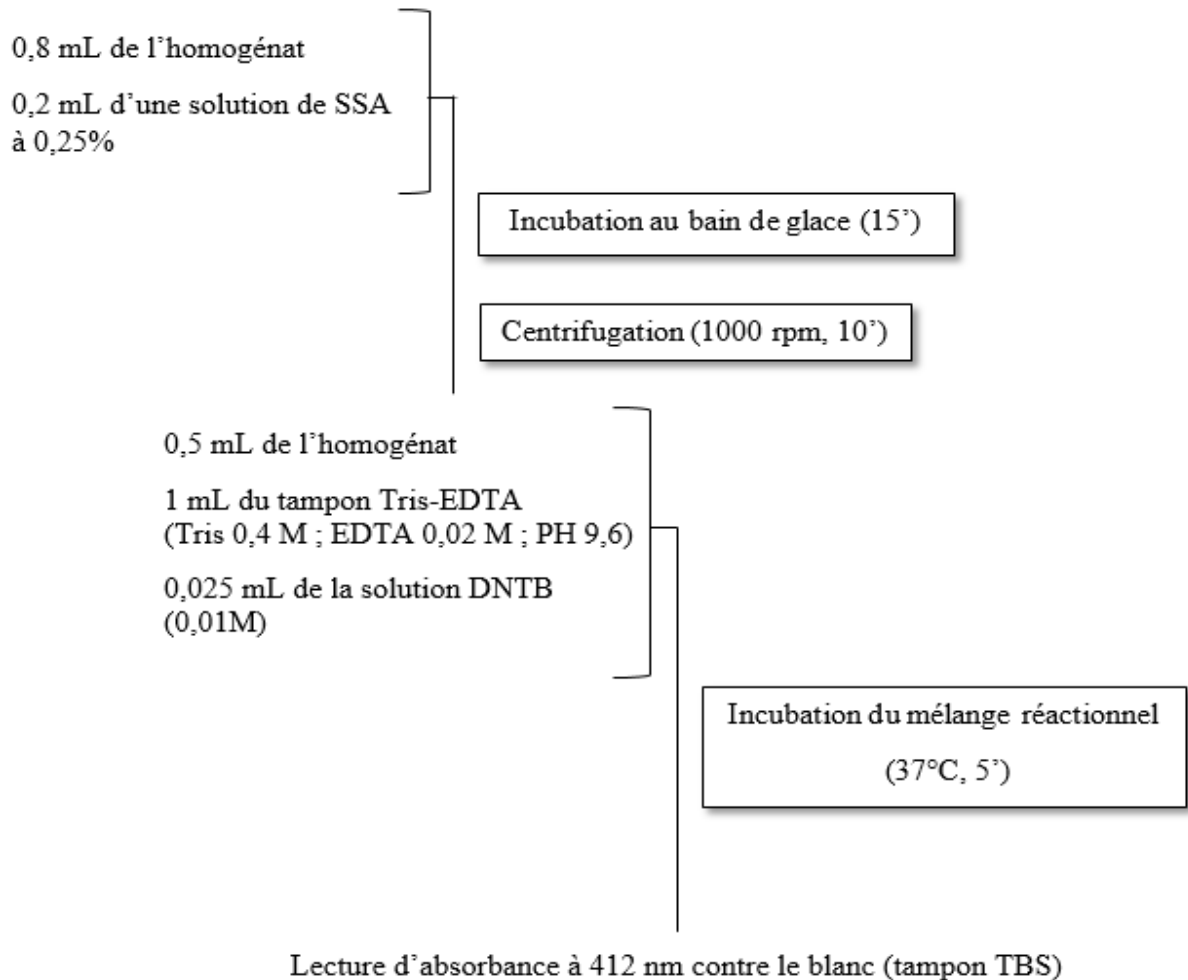
- **Estimation de la concentration :** pour calculer la concentration du MDA, nous avons utilisé une gamme étalon réalisée avec du 1,1',3,3'-tétraéthoxypropane préparé dans les mêmes conditions. Les densités optiques obtenues sont insérées dans l'équation correspondante à la courbe d'étalonnage (Figure E, Annexe 3) et la concentration du MDA est exprimée en nM/mg de protéines.

4.2.9.3. Dosage du taux de glutathion réduit (GSH)

▪ **Principe :** La quantification du glutathion réduit (GSH) a été réalisée suivant la méthode de Weckbecker et Cory (1988).

▪ **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser le GSH tissulaire, nous avons adopté le protocole suivant :



▪ **Estimation de la concentration :** pour calculer la concentration du GSH, nous avons appliqué la formule suivante :

$$[\text{GSH}] \text{ (nmol/mg de protéines)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéines}}$$

- ✓ DO : Densité optique
- ✓ 1 : Volume total de (0,8 mL homogénat + 0,2 mL acide salicylique), solution utilisée pour la déprotéinisation
- ✓ 1,525 : Volume total du mélange réactionnel utilisé dans le dosage de GSH au niveau du surnageant (0,5 mL surnageant + 1 mL Tris + 0,025 mL DTNB)

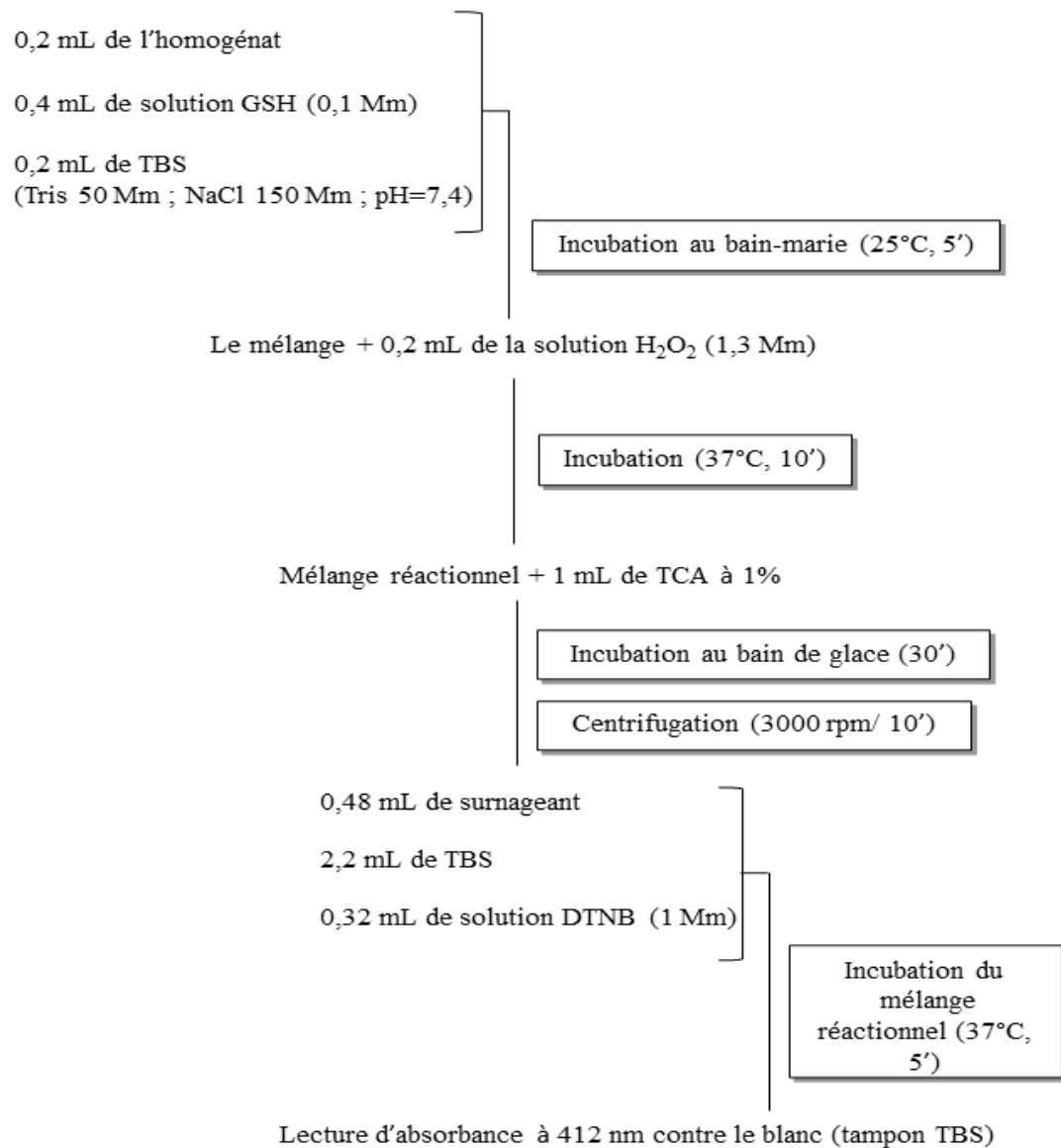
- ✓ 13,1 : Coefficient d'absorbance du groupement sulfhydryle (-SH) à 412 nm
- ✓ 0,8 : Volume de l'homogénat
- ✓ 0,5 : Volume du surnageant

4.2.9.4. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

▪ **Principe :** l'activité de la glutathion peroxydase a été estimée par la méthode de Flohé et Günzler (1984).

▪ **Mise en œuvre du dosage :**

Pour évaluer l'activité de la GPx, nous avons adopté le protocole suivant :



▪ **Estimation de l'activité enzymatique :** pour calculer l'activité enzymatique de la GPx, nous avons appliqué les formules suivantes :

$$Q = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0,04}{\text{DO étalon}}$$

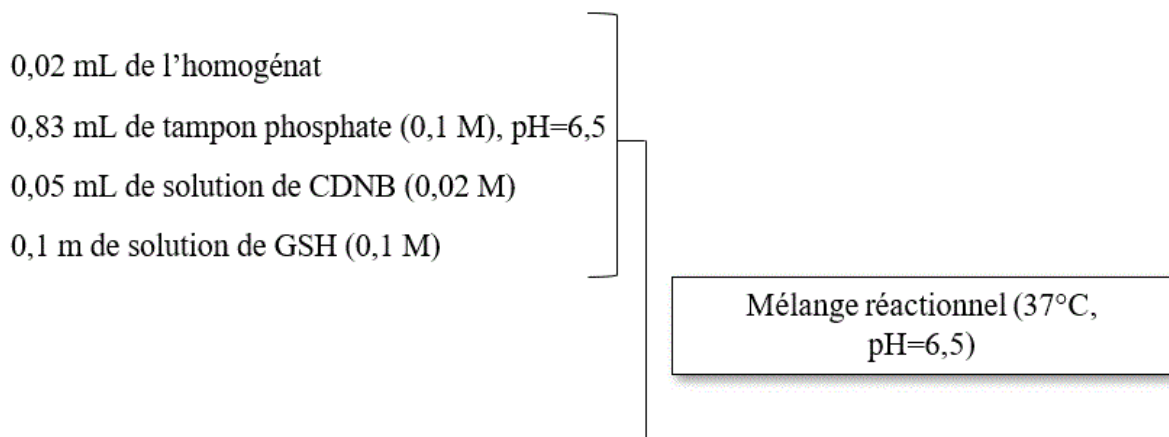
$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH /min/mg de protéines}) = \frac{\text{Q x 5}}{\text{mg de protéines}}$$

- ✓ Q : Quantité du GSH oxydé
- ✓ 0,04 : Concentration de GSH
- ✓ 5 : Volume total des solutions

4.2.9.5. Dosage de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST)

- **Principe :** l'évaluation de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST) a été conçue selon la procédure de Habig *et al.*, (1974).
- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour évaluer l'activité de la GST, nous avons adopté le protocole suivant :



Lecture d'absorbance à 340 nm contre le blanc (tampon phosphate)

- **Estimation de l'activité enzymatique :** pour calculer l'activité enzymatique de la GST, nous avons appliqué la formule suivante :

$$\text{GST (nmol GSH-CDNB/min/mg de protéines)} = \frac{\text{DO}_e / \text{min} - \text{DO}_b / \text{min}}{9,6 \times \text{mg de protéines}}$$

- ✓ DO_e : Densité optique de l'échantillon par minute
- ✓ DO_b : Densité optique du blanc par minute
- ✓ 9,6 : Coefficient d'extinction de GSH-CDNB exprimé en $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

4.2.9.6. Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

- **Principe :** la mesure de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) est réalisée selon la méthode d'Aebi (1984).

- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour évaluer l'activité de la CAT, nous avons adopté le protocole suivant :

0,02 mL de l'homogénat

0,78 mL de tampon phosphate (0,1 M), pH=7,5

0,02 mL de solution de H₂O₂ (0,5 M)

Mélange réactionnel à 25°C

Lecture d'absorbance à 240 nm contre le blanc (tampon phosphate)

- **Estimation de l'activité enzymatique :** pour calculer l'activité catalytique de la CAT, nous avons utilisé la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg de protéine}) = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times L \times \text{mg de protéine}}$$

- ✓ ΔDO : Variation de la densité optique par minute
- ✓ ϵ : Coefficient d'extinction du H₂O₂ = 0.04 Mm⁻¹.Cm⁻¹
- ✓ L : Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm)

4.2.9.7. Dosage des protéines

- **Principe :** la quantification de la concentration des protéines a été réalisée conformément à la méthode de Bradford (1976).
- **Mise en œuvre du dosage :**

Pour doser les protéines, nous avons adopté le protocole suivant:

0,1 mL de l'homogénat

5 mL de réactif de Bradford

Mélange réactionnel (5')

Lecture d'absorbance à 595 nm contre le blanc (tampon TBS)

- **Estimation de la concentration :** pour calculer la concentration des protéines, nous avons utilisé une gamme étalon réalisée avec l'albumine bovine sérique élaborée dans les mêmes conditions. Les densités optiques obtenues sont substituées dans l'équation correspondante à la courbe d'étalonnage (Figure F, Annexe 3) et la concentration des protéines est déterminée en mg/mL.

4.2.10. Évaluation des paramètres histologiques

Pour l'observation au microscope photonique, les tissus ont été transformés en coupes histologiques conformément à la technique conventionnelle d'Houlot (1984), qui requiert plusieurs démarches successives :

- **Fixation :** les portions du foie, rein et pancréas ont été détrempés dans une solution de formaldéhyde à 10% dans l'ordre de les fixer chimiquement par réticulation pour assurer la préservation cellulaire et tissulaire. Les prélèvements ont été ôtés du formol et placés dans des cassettes particulières perforées permettant le passage des solvants (Figure 24 A).
- **Déshydratation et clarification :** constitue une étape préliminaire pour substituer l'eau tissulaire par la paraffine. Pour ce faire, les prélèvements doivent être déshydratés par une succession de bains d'éthanol de concentrations ascendantes. Les échantillons déshydratés ont été par la suite clarifiés en utilisant du xylène. L'ensemble de traitement des tissus a été assuré par un circulateur (Leica TP1020) (Figure 24 B).
- **Inclusion :** les prélèvements issus ont été imprégnés dans des bains de paraffine fondue (57 °C), puis orientés à l'enrobage (Leica EG1150 H), qui consiste à ranger les tissus dans des moules spécifiques (Barres de Leuckart) avec de la paraffine liquide, qui en rigidifiant à -8 °C sur une plaque métallique (J.P SELECTA, Spain) forme des blocs de paraffine renfermant les tissus (Figure 24 C, D).
- **Microtomie :** les tissus enrobés dans des blocs de paraffine ont été placés dans un microtome rotatif (Leica RM 2125 RTS) permettant d'obtenir des coupes de 5 µm d'épaisseur. Les rubans issus ont été dépliés en les plaçant dans un bain-marie (48°C) puis ont été recueillis sur des lames en verre et mises à sécher (Figure 24 E, F).
- **Coloration :** pour distinguer les différents tissus, nous avons adopté la coloration d'Hématoxyline- Eosine. Cette étape a été faite manuellement en immergeant les lames à travers une sélection successive de solvant-colorants en suivant l'ordre ; dans un bain de xylène pour le déparaffinage, dans un bain d'éthanol pour réhydratation, dans un bain d'hématoxyline (10 min) suivi d'un rinçage à l'eau, puis dans un bain d'éosine (3 min) suivi d'un rinçage. Les coupes colorées obtenues sont égouttées, séchées et finalement montées entre lame et lamelle avec une

goutte de Eukitt, une résine de montage (Figure 24 G, H). L'observation a été réalisée par le biais d'un microscope optique (Leica DM750) (Figure 24 I).

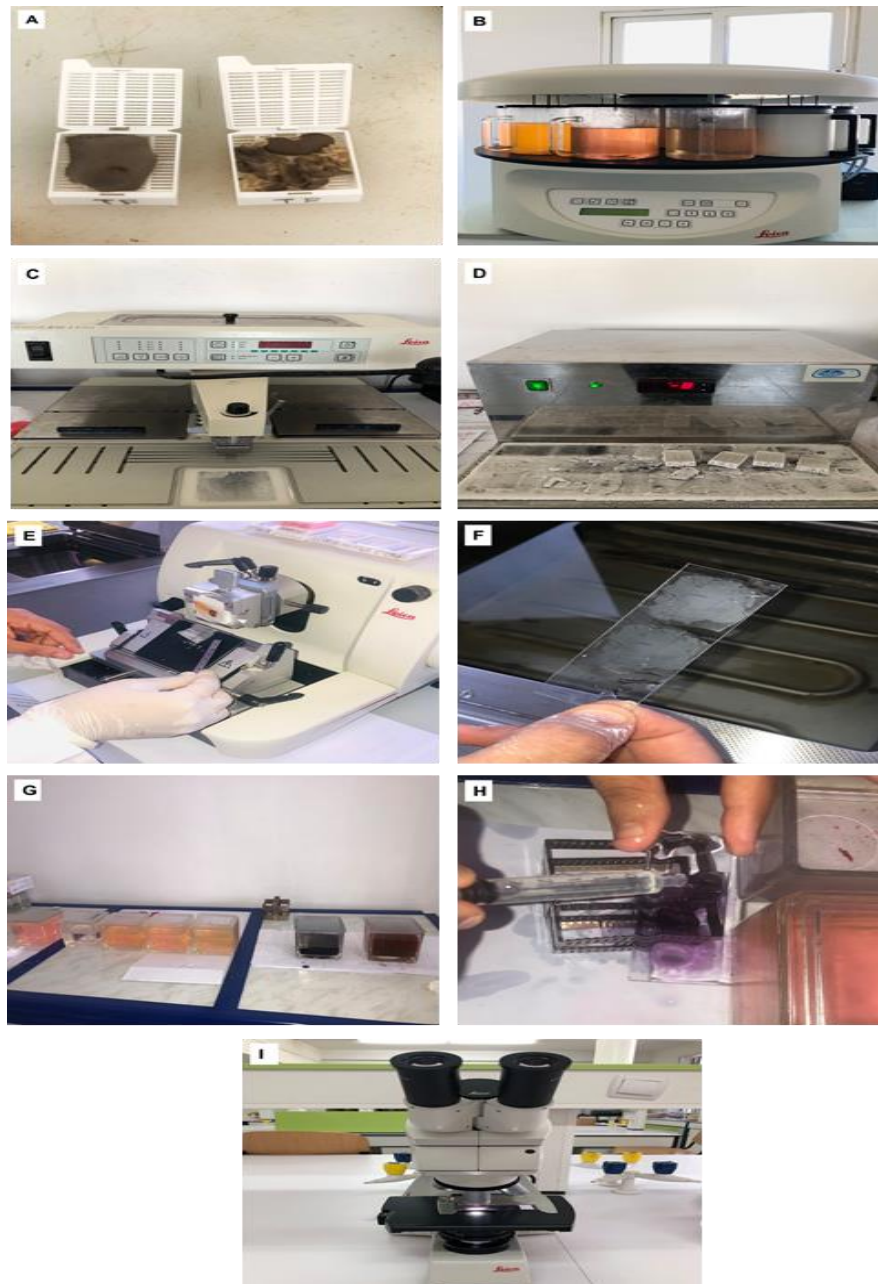


Figure 24 : Etapes préparatoires des coupes histologiques

A : La mise en place des prélèvements fixés dans les cassettes. **B :** La déshydratation et la clarification au niveau de circulateur. **C :** L'impregnation des prélèvements dans la paraffine au niveau de la station à inclusion. **D :** La solidification des blocs au niveau de la plaque froide. **E :** La confection des coupes au niveau de microtome. **F :** La récupération des coupes sur des lames. **G :** La coloration des coupes à la méthode d'hématoxyline-éosine. **H :** Le montage des coupes avec une goutte de Eukitt. **I :** La microscopie optique.

4.3. Analyse statistique

Les données phytochimiques ont été exprimées en moyenne plus au moins erreur standard de la moyenne ($\bar{X} \pm \text{ESM}$, $n=3$), les valeurs d'IC50 ont été comparé par le test-t de Student. Les données biologiques exprimés en $\bar{X} \pm \text{ESM}$, $n=10$ ont été examinées statistiquement en appliquant une analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA), suivie du test post-hoc de Tukey pour l'analyse de comparaisons multiples en utilisant GraphPad PRISM version 8.0.2. Le seuil de significativité a été marqué par des astérisques et des dièses suivant les différences estimées, en étant :

- ✓ Significative lorsque $p \leq 0,05$ (*) (#)
- ✓ Hautement significative lorsque $p \leq 0,01$ (**) (##)
- ✓ Très hautement significative lorsque $p \leq 0,001$ (***) (###)

Chapitre 5 : Résultats

Chapitre 5 : Résultats

5.1. Résultats de l'étude phytochimique

5.1.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique réalisé sur l'extrait expérimentale des graines de fenugrec locales a permis de déterminer la présence de certains groupes (+) et l'absence d'autres (-) (Tableau 8). En effet, ces tests qualitatifs ont permis de déceler dix grands groupes de composés chimiques, il s'agit de polyphénols, flavonoïdes, tannins, sucres réducteurs, saponines, alcaloïdes, terpènes, mucilages et des anthocyanes avec une disparité d'inférence qui correspond à une disparité de teneur dans les graines. Alors qu'aucun stéroïde n'a été détecté dans l'extrait GFL-M.Aq.

Tableau 8 : Composés phytochimiques mis en évidence dans l'extrait expérimentale des graines de fenugrec locales (GFL-M.Aq)

Phytoconstituants	Inférence
Polyphénols	+++
Flavonoïdes	++
Stéroïdes	-
Tannins condensés	+
Terpènes	+
Alcaloïdes	++
Saponines	++
Sucres réducteurs	++
Glycosides	+
Anthocyanes	+
Mucilages	++

(-) : Absence de métabolite ; (+) : Teneur faible en métabolite ; (++) : Teneur moyenne en métabolite ; (+++) : Forte teneur en métabolite.

5.1.2. Composition phytochimique quantitative

5.1.2.1. Composition phytochimique totale

Il ressort de l'analyse des données quantitatives de la composition totale phytochimique dans l'extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec locales, les résultats récapitulés dans le tableau 9 et 10. Les polyphénols totaux étaient les métabolites les plus abondants avec une teneur

substantielle de l'ordre de $98,14 \pm 0,89$ mg EAG/g. L'extrait contient également des teneurs appréciables de flavonoïdes totaux ($53,04 \pm 1,21$ mg QE/g), d'alcaloïdes totaux ($33,16 \pm 2,11$ mg AE/g), de saponines totaux ($31,45 \pm 1,14$ mg DE/g). Nous avons estimé un rendement de 5,49 %.

Tableau 9 : Rendement d'extraction de l'extrait GFL-M.Aq

Extrait	Rendement (%)
GFL-M.Aq	5,49

Tableau 10: Concentration des composés phytochimiques totaux mis en évidence dans l'extrait GFL-M.Aq.

Phytoconstituants	Concentration
Polyphénols totaux (mg EAG/g)	$98,14 \pm 0,89$
Flavonoïdes totaux (mg EQ/g)	$53,04 \pm 1,21$
Alcaloïdes totaux (mg ED/g)	$33,16 \pm 2,11$
Saponines totaux (mg EA/g)	$31,45 \pm 1,14$

Les concentrations sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=3). EAG : équivalent d'acide gallique; QE : équivalent de quercétine; ED : équivalent de diosgénine; EA : équivalent d'atropine.

5.1.2.2. Composition phénolique individuelle

Le chromatogramme HPLC-DAD-FLD illustré dans la figure 25 nous a permis d'identifier 20 composés phénoliques par comparaison de leurs spectres et temps de rétention avec ceux des standards phénoliques purs. Les concentrations correspondantes (Tableau 11) ont été quantifiées à l'aide de la surface des pics et des courbes d'étalonnage. De point de vue qualitatif et quantitatif, l'extrait GFL-M.Aq a montré la présence de dix acides phénoliques, principalement des dérivés de l'acide hydroxycinnamique, dont l'acide isoférulique chimiquement connu de 3-hydroxy-4-méthoxycinnamique, était l'acide dominant avec une teneur de $3453,12 \pm 1,04$ µg/g. L'extrait GFL-M.Aq a également montré respectivement des quantités modérées à mineures d'acide cinnamique ($2451,71 \pm 0,03$ µg/g), acide p-coumarique ($1316 \pm 1,15$ µg/g), acide sinapique ($199,73 \pm 0,03$ µg/g), acide chlorogénique ($13,74 \pm 0,04$ µg/g) et d'acide caféique ($8,97 \pm 0,04$ µg/g). Seulement deux dérivés de l'acide hydroxybenzoïque ont été identifiés dans l'extrait notamment l'acide vanillique et l'acide syringique avec respectivement des concentrations de l'ordre de $292,54 \pm 0,06$ µg/g et $84,39 \pm 0,01$ µg/g. Comparativement à la teneur des autres composés, l'acide ellagique a été trouvé en quantité infime ($0,05 \pm 0,02$ µg/g). L'acide gallique

était absent dans l'extrait des GFL-M.Aq mais nous avons pu identifier et quantifier un composant ayant une structure approximativement semblable : 1,2,3-trihydroxybenzène, communément connu du pyrogallol ($0,69 \pm 0,128 \mu\text{g/g}$). Avec une gamme de teneurs individuelles plus élevées [$0,86-7668,71 \mu\text{g/g}$], l'extrait GFL-M.Aq a dévoilé la présence de dix flavonoïdes appartenant majoritairement aux flavanols. Parmi eux, kaempférol-3-O-coumarylglycoside représente une teneur élevée de $1431,55 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$ suivi de quercétine ($1214,51 \pm 0,15 \mu\text{g/g}$), myricétine ($37,23 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$), kaempférol ($12,39 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$), fisétine ($3,08 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$) et de quercétrine ($0,95 \pm 0,82 \mu\text{g/g}$), respectivement. Pour les flavanones, l'extrait GFL-M.Aq a montré une teneur en hespéridine estimée à $0,86 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$ alors que ni naringine, ni naringénine n'a été mise en évidence. Apigénine a été également absent dans l'extrait. La catéchine et l'épicatéchine ont été détectées à λ_{ex} 272 nm et λ_{em} 312 nm dont la concentration a été estimée à $199,73 \pm 0,18 \mu\text{g/g}$ et $288,01 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$ respectivement. La rutine, un flavanol-glycoside, était le principal flavonoïde prédominant dans GFL-M.Aq ($7668,71 \pm 1,42 \mu\text{g/g}$). Les pics notés par les alphabets (a, b, c) correspondent aux composants non identifiés.

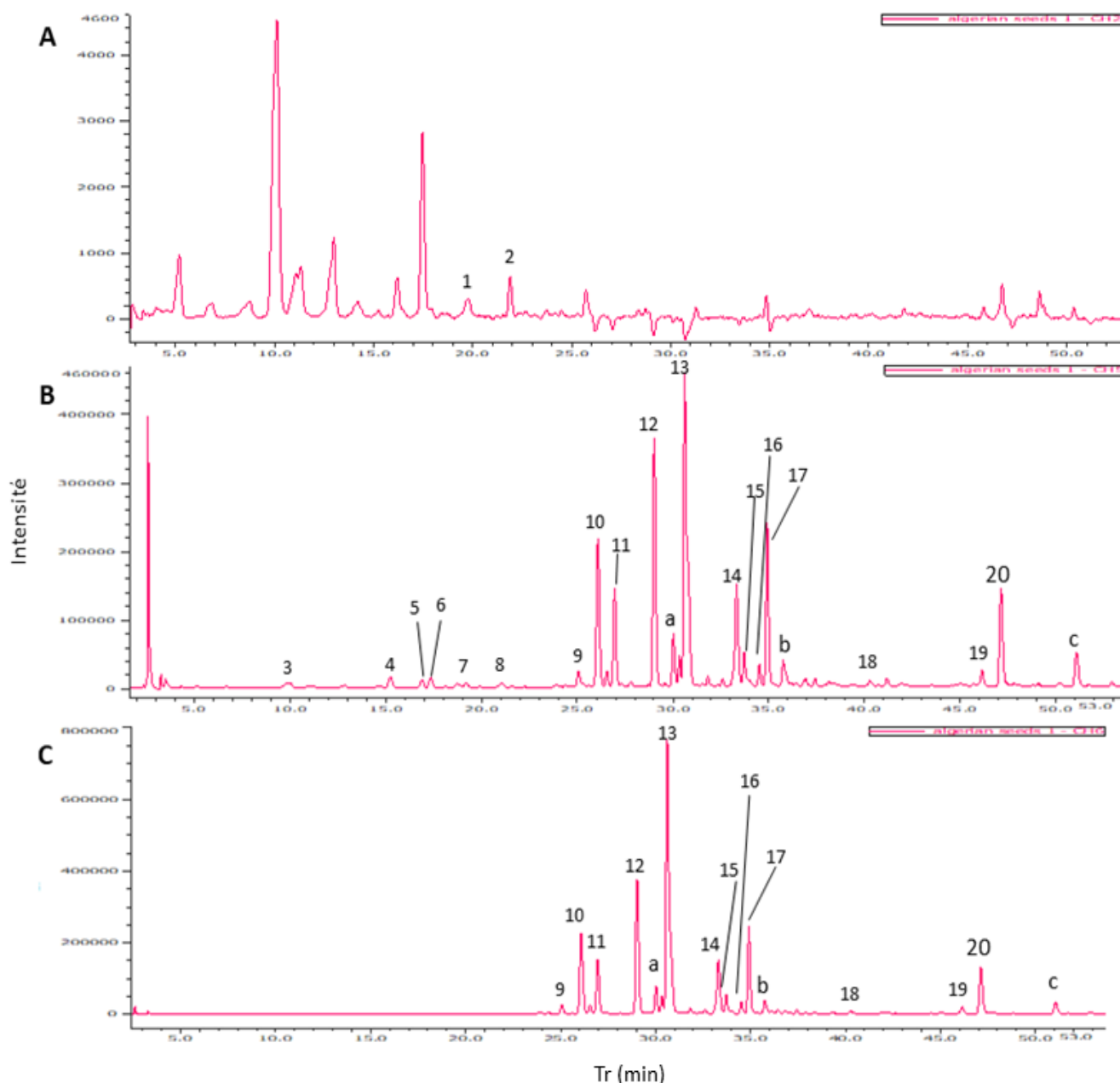


Figure 25 : Chromatogramme HPLC-DAD-FLD de la composition en acides phénoliques et flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec locales détectés dans les canaux (A) ex. 272 nm, em. 312 nm ; (B) 280 nm ; (C) 360 nm.

1 : catéchine, 2 : épicatechine, 3 : acide ellagique, 4 : acide sinapique, 5 : acide syringique, 6 : acide vanillique, 7 : acide caféique, 8 : acide chlorogénique, 9 : 1,2,3-trihydroxybène, 10 : acide cinnamique, 11 : acide p-coumarique, 12 : 3-hydroxy 4-méthoxycinnamic, 13 : rutine, 14 : myricétine, 15 : fisétine, 16 : kaempférol, 17 : kaempférol-3-O-coumarylglycoside, 18 : hespéridine, 19 : quercétrine, 20 : quercétine.

Tableau 11 : Composés phénoliques identifiés et quantifiés dans l' extrait des graines de fenugrec locales par HPLC-DAD-FLD.

Pic	TR (min)	Nom de composé	Formule moléculaire	Concentration (µg/g)	Courbe de calibration des standards
1	20	Catéchine	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	199,73±0,18	Y=1E+07x+9571, R ² =0,999
2	22	Épicatéchine	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	288,01±0,02	Y=9E+06x+1458, R ² = 0,998
Acides phénoliques					
3	10	Acide ellagique	C ₁₄ H ₆ O ₈	0,05±0,02	Y= 1E+07x-1267, R ² =0,999
4	15,2	Acide sinapique	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	199,73±0,03	Y=1E+07x-6155, R ² =0,999
5	17	Acide syringique	C ₉ H ₁₀ O ₅	84,39±0,01	Y=6E+07x-3575, R ² =0,999
6	17,2	Acide vanillique	C ₈ H ₈ O ₄	292,54±0,06	Y=6E+06x-1281, R ² =0,999
7	19	Acide caféique	C ₉ H ₈ O ₆	8,97±0,04	Y=5E+07x-1740, R ² =0,999
8	21	Acide chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	13,74±0,04	Y=2E+07x+2506, R ² =0,999
9	25	1,2,3-trihydroxybenzène	C ₆ H ₆ O ₃	0,69±0,128	Y= 3E+07x-6339, R ² =0,998
10	26	Acide cinnamique	C ₉ H ₈ O ₂	2451,71±0,03	Y=1E+07x-6155, R ² =0,999
11	27	Acide p-coumarique	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	1316±1,15	Y=1E+08x-5438, R ² =0,999
12	29	3-hydroxy 4-méthoxycinnamique	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	3453,12±1,04	Y=6E+07x-3419, R ² =0,999
Flavonoïdes					
13	30,7	Rutine	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	7668,71±1,42	Y=3E+07x+4518, R ² = 0,999
14	33,5	Myricétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	37,23±0,03	Y=2E+07x+1306, R ² =0,999
15	33,9	Fisétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	3,08±0,02	Y=4E+07x-9499, R ² =0,999
16	34,6	Kaempférol	C ₁₅ H ₁₀ O	12,39±0,077	Y=4E+07x-1696, R ² = 0,999
17	35	Kaempférol-3-O-coumarylglycoside	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	1431,55±0,08	Y=5E+07x-1051, R ² = 0,999
18	40,2	Hespéridine	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	0,86±0,09	Y=1E+07x+1738, R ² =1
19	46	Quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	0,95±0,82	Y=3E+07x-2933, R ² = 0,999
20	47	Quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	1214,51±0,15	Y=4E+07x+4728, R ² = 0,999

Les concentrations sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=3).

5.1.3. Teneur en minéraux

Selon le statut minéral consigné dans le tableau 12 ci-dessous, les graines de fenugrec locales semblaient être riches en oligo-éléments avec des quantités considérables. Le manganèse présente la teneur la plus élevée en micronutriments avec $358 \pm 3,22$ mg/kg, suivi de molybdène ($285,6 \pm 5,97$ mg/kg), puis le sélénium ($65,6 \pm 4,97$ mg/kg), le cuivre ($58,61 \pm 1,86$ mg/kg), le zinc ($42 \pm 1,28$ mg/kg) et enfin le fer ($32,40 \pm 2,45$ mg/kg). Le magnésium représente le macronutriment principal avec une concentration significative de $777 \pm 3,69$ mg/kg. La quantité en vitamine C est estimée à $9,45 \pm 0,09$ mg/g.

Tableau 12: Teneur des graines de fenugrec locales (GFL) en éléments minéraux.

Macro-micronutriments	Concentration (mg/kg)
Fer (Fe)	$32,40 \pm 2,45$
Zinc (Zn)	$42 \pm 1,28$
Manganèse (Mn)	$358 \pm 3,22$
Magnésium (Mg)	$777 \pm 3,69$
Cuivre (Cu)	$58,61 \pm 1,86$
Molybdène (Mo)	$285,6 \pm 5,97$
Sélénium (Se)	$65,6 \pm 4,97$
Vitamine C (mg/g)	$9,45 \pm 0,09$

Les concentrations sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=3).

5.1.4. Activité antioxydante de l'extrait des GFL-M.Aq

L'estimation du pouvoir antioxydant de l'extrait des GFL-M.Aq a été évaluée par quatre tests : le piégeage des radicaux DPPH et ABTS, le pouvoir réducteur de fer (FRAP) et le test de phosphomolybdate (PPM) et les résultats sont répertoriés dans le tableau 13. Le potentiel antioxydant du fenugrec le plus puissant a été dévoilé par le test de DPPH avec un pouvoir de piégeage du radical estimé à $55,84 \pm 4,14$ mg ET/g. L'extrait a montré également une aptitude à piéger le radical ABTS estimé à $42,06 \pm 2,14$ mg ET/g. Selon les résultats du test de phosphomolybdate (PPM), l'extrait GFL-M.Aq a présenté un potentiel réducteur total de l'ordre de $23,12 \pm 2,45$ mg de EAA/g, ce qui indique son efficacité à réduire le Mo^{6+} en Mo^{5+} . L'extrait GFL-M.Aq a également montré une capacité de réduction du Fe^{3+} estimée à $40,89 \pm 3,12$ mg de ET/g. En résumé, les graines possèdent un pouvoir piégeur plus potentiel que leur pouvoir réducteur.

Tableau 13 : Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec par les tests DPPH, ABTS, FRAP et PPM.

GFL-M.Aq	DPPH (mg ET/g)	ABTS (mg ET/g)	FRAP (mg ET/g)	PPM (mg EAA/g)
	55,84±4,14	42,06±2,14	40,89±3,12	23,12±2,45

Les activités sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=3). ET : équivalent de trolox, EAA : équivalent d'acide ascorbique

5.1.5. Activité antiglycative de l'extrait GFL-M.Aq

Dans le cadre de la mise en évidence du pouvoir antiglycatif, l'extrait GFL-M.Aq a été investigué par l'inhibition de la glycation de l'albumine de sérum bovin (BSA) induite par le glucose. D'après les résultats illustrés dans la figure 26, nous avons remarqué que l'activité antiglycative de l'extrait ainsi que celle de la rutine est dose dépendante, avec une inhibition maximale de l'ordre de 80% et 96%, respectivement. Pour déterminer l'activité inhibitrice de l'extrait vis-à-vis les produits BSA-AGEs, nous avons utilisé une mesure quantitative (IC50), sachant qu'une valeur faible d'IC50 correspond à une activité inhibitrice élevée de l'extrait. Sur ce, nos résultats ont montré une activité antiglycative modérée de l'extrait GFL-M.Aq avec une IC50 = 1,03±0,02 mg/ml (une telle concentration est capable d'inhiber 50% de BSA-AGEs) par rapport à l'activité de la rutine (0,24±0,01 mg/ml) (p ≤ 0,01).

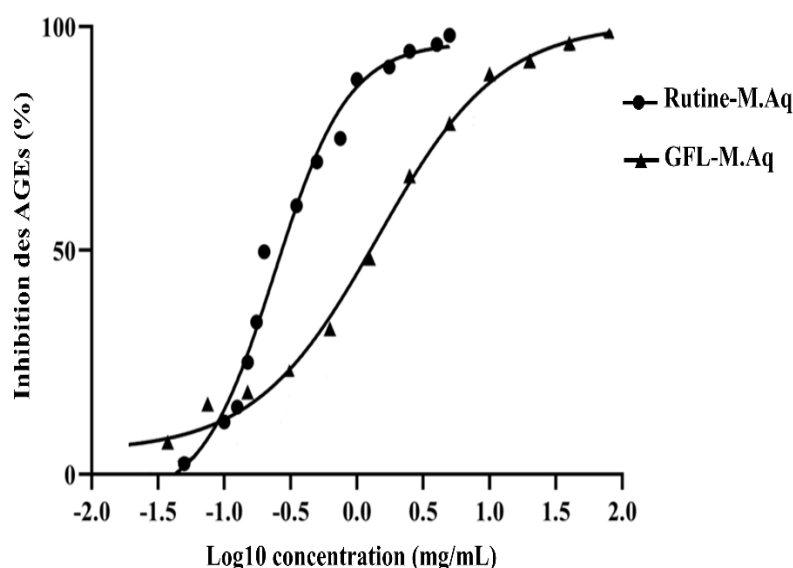


Figure 26 : Activité inhibitrice de l'extrait GFL-M.Aq et de la rutine (%) sur la glycation de BSA. Les activités sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=3).

5.2. Résultats de l'expérimentation animale

5.2.1. Résultats de l'étude sémiologique pondérale

5.2.1.1. Répercussion du traitement par les GFL sur la cinétique pondérale

D'après la figure 27 et le tableau 14, illustrant la variation du poids corporel des rats expérimentaux, aucune différence significative du poids initial n'a été détectée au cours de la 1^{ère} semaine chez les rats diabétiques comparativement aux rats témoins. De même, aucun signe de toxicité voire mortalité liée au phyto-traitement n'a été signalé. Une perte significative du poids a été observée dès la 2^{ème} semaine du traitement ($p \leq 0,01$) chez les rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats témoins (ND-0). Cette baisse du poids estimée de 33 % a survenue significativement ($p \leq 0,001$) au fur et à mesure de la période expérimentale. L'effet de fenugrec sur la prise de poids n'a été pas observé qu'après 2 semaines de diète. En effet, les rats traités (D-GFL) ont montré progressivement une amélioration corporelle significative par rapport aux rats diabétique (D-0) avec une prise de poids constaté de 13 %. En l'occurrence, les rats témoins (ND-0) et (ND-GFL) ont montré respectivement une amélioration corporelle de 25% et 28% au cours de l'expérimentation en faveur des rats (ND-GFL).

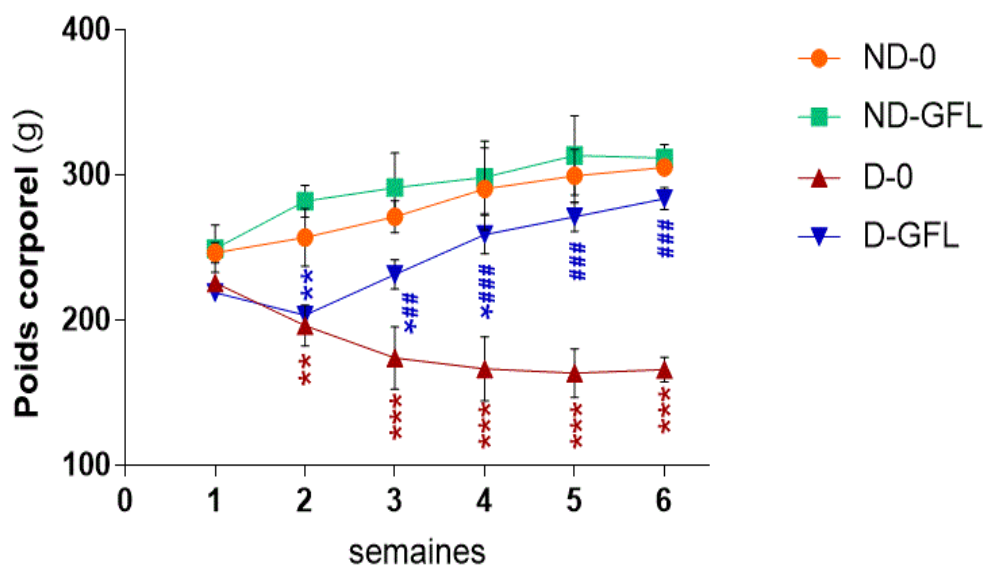


Figure 27 : Cinétique hebdomadaire du poids corporel (g) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les masses corporelles sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

Tableau 14 : Variation du poids corporel (g) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	ND-0	ND-GFL	D-0	D-GFL
Poids corporel initial (g)	246,00±7,00	247,88±16,27	230,22±14,58	241,44±11,70
Poids corporel final (g)	314,33 ±9,37	311,33±9,38	165,67±8,47 ***	283,44±7,57 ###
Gain/perte de poids (%)	+25	+28	-33	+13

Les masses corporelles sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,01$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.1.2. Répercussion du traitement par les GFL sur la consommation alimentaire et hydrique

Après l'installation du diabète, nous avons observé un syndrome cardinal (polyphagie, polydipsie et polyurie) chez les rats diabétiques comme symptômes caractéristiques du diabète. Les résultats du suivi de la consommation alimentaire et hydrique pendant 6 semaines chez les rats expérimentaux sont illustrés au niveau de la figure 28 (A et B). En effet, les rats témoins (ND-0) et (ND-GFL) ont montré un apport alimentaire et hydrique normal et relativement constant tout le long de l'expérimentation. Cependant, les rats diabétiques (D-0) ont montré une variation significative ($p \leq 0,01$) avec une consommation progressive d'eau et d'aliment à partir de la 2^{ème} semaine, et une variation très hautement significative ($p \leq 0,001$), avec une consommation d'eau et d'aliment excessive et croissante à partir de la 3^{ème} semaine par rapport aux rats témoin (ND-0). La consommation hydrique a atteint 137 ml/rat/jour et la consommation alimentaire 63 g/rat/jour. Au-delà de la 3^{ème} semaine, nous avons noté chez les rats traités (D-GFL), une diminution significative ($p \leq 0,01$) d'eau consommée. Cette diminution s'est poursuivie après 28 jours, 35 jours et après 42 jours et est devenue très hautement significative ($p \leq 0,001$), avec une diminution significative ($p \leq 0,01$) de la consommation alimentaire. Néanmoins, cette dernière a demeuré croissante jusqu'à la fin de la période du traitement. La polyurie a été observée à travers la diurèse élevée et mictions excessives des rats (D-0) au cours de l'expérimentation.

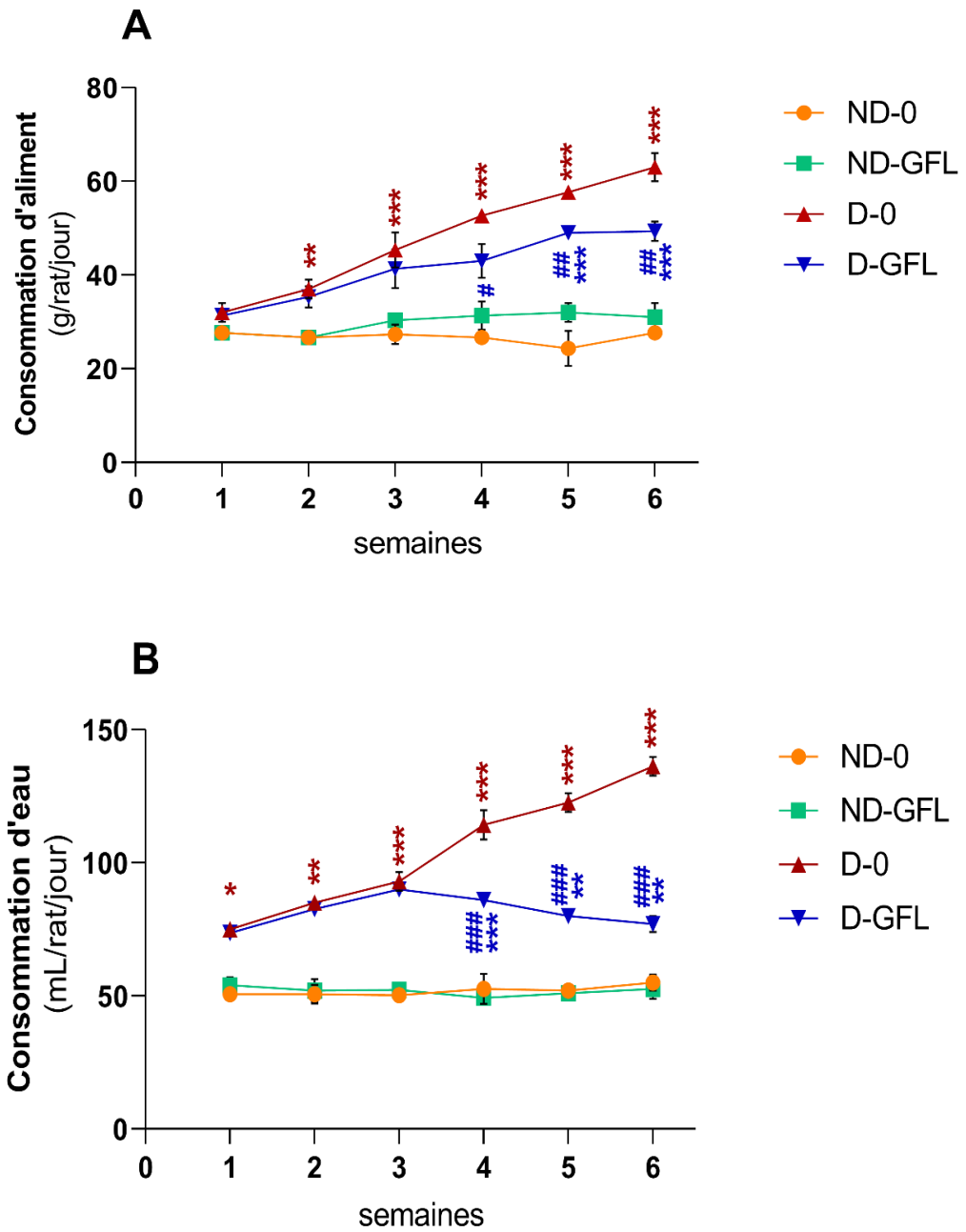


Figure 28 : Cinétique de la moyenne hebdomadaire de la consommation d'aliment (g/rat/jour) (A) et de l'eau (mL/rat/jour) (B) chez les rats témoins et traités par 10% des

GFL pendant 6 semaines. Les rations sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.1.3. Répercussion du traitement par les GFL sur les indices organo-somatiques

Afin de mettre en évidence les changements morphométriques que les organes peuvent subir au cours du diabète, nous avons estimé les indices organo-somatiques et les résultats sont saisis dans le tableau 15 qui montre concrètement une variation de ces rapports.

Par opposition aux groupes témoins (ND-0) et (ND-GFL), les rats diabétiques (D-0) ont montré une augmentation significative des indices hépato-somatiques ($p \leq 0,001$) et réno-somatiques ($p \leq 0,01$), accompagnée d'une diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) de l'indice pancréato-somatique. La consommation des graines de fenugrec locales par les rats diabétiques (D-GFL) a permis de restaurer significativement ces paramètres par rapport aux rats non traités (D-0). Quant aux rapports cardio et spléno-somatiques, nous n'avons enregistré aucune différence significative chez tous les groupes par rapport au groupe témoin. Après leur dissection, l'aspect rétrécis du pancréas et gonflé du foie et des reins appartenant aux rats diabétiques (D-0) a été observé à l'œil nu tout en comparant avec l'aspect normal de ces organes appartenant aux rats témoins.

Tableau 15 : Variation des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins et traités par 10 % des GFL après 6 semaines.

	Indices organo-somatiques (%)			
	ND-0	ND-GFL	D-0	D-GFL
Hépto-somatique	3,16±0,32	2,98±0,40	5,99±0,40***	3,48±0,25* ###
Réno-somatique	0,56±0,05	0,53±0,03	0,75±0,20**	0,58±0,03#
Pancréato-somatique	0,30±0,03	0,29±0,04	0,20±0,02***	0,29±0,03###
Cardio-somatique	0,33±0,03	0,32±0,05	0,28±0,03	0,29±0,04
Spléno-somatique	0,33±0,04	0,32±0,04	0,30±0,05	0,31±0,05

Les rapports sont exprimés en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.2. Résultats de l'étude biochimique

5.2.2.1. Répercussion du traitement par les GFL sur la cinétique glycémique

La cinétique de la glycémie hebdomadaire illustrée dans la figure 29 a évoqué une augmentation significative du taux de glucose dans le sang ($p \leq 0,001$) relativement constante allant jusqu'à 6 g/L chez les rats diabétiques (D-0). De même, une glycémie physiologique stable chez les rats

non diabétiques (ND-0) et (ND-GFL) a été observée sans différence significative consignée. En revanche, l'administration des graines de fenugrec chez les rats diabétiques (D-GFL) a induit une diminution significative ($p \leq 0,01$) de la glycémie après 21 jours, par rapport aux rats diabétiques. Cette baisse significative s'est poursuivie progressivement chaque semaine jusqu'au 42^{ème} jour ($p \leq 0,001$), au cours duquel les rats traités (D-GFL) ont présenté une glycémie approximativement semblable à celle des rats normoglycémiques (ND-0).

5.2.2.2. Répercussion du traitement par les GFL sur le taux de l'HbA1c

La glycation de l'hémoglobine a été estimée à travers le taux d'HbA1c (Figure 30). En effet, une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) de l'Hb1Ac a été observé chez les rats diabétiques (D-0) comparativement aux rats témoins (ND-0) et (ND-GFL). Néanmoins, le traitement chez les rats diabétiques (D-GFL) a pu alléger significativement ($p \leq 0,01$) cette hausse observée chez le groupe (D-0).

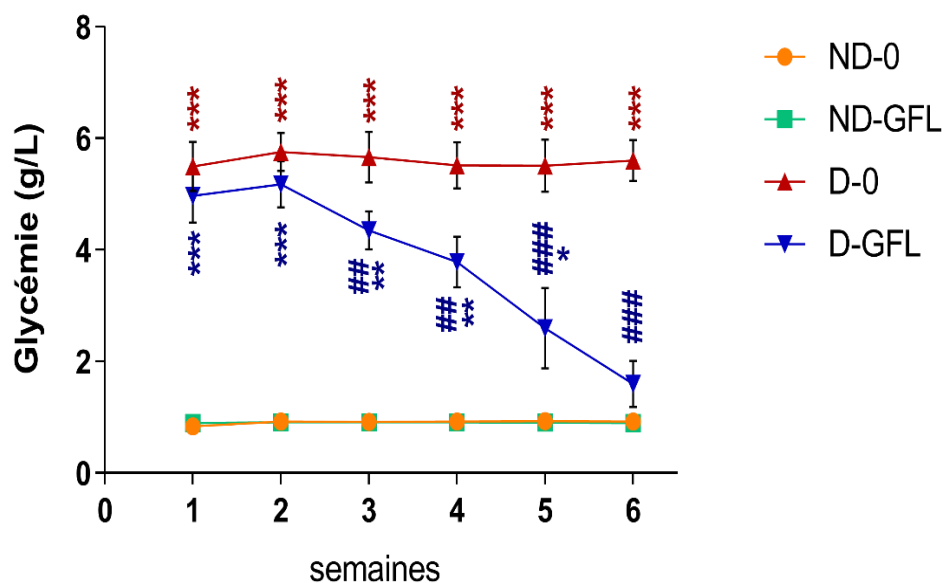


Figure 29 : Cinétique hebdomadaire de la glycémie chez les rats témoins et traités par 10% des GFL pendant 6 semaines. Les concentrations sanguines sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$

(n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

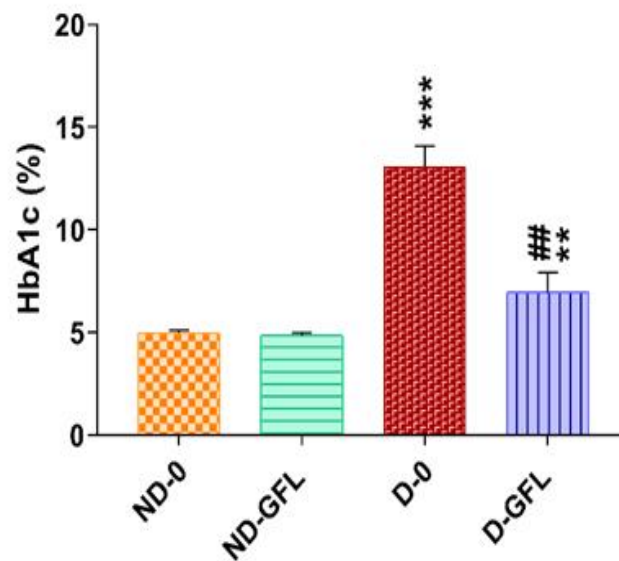


Figure 30 : Variation du taux sanguin de l'HbA1c (%) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations sanguines sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,01$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.2.3. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres pancréatiques

A partir de la figure 31 illustrant l'ensemble des changements des paramètres pancréatiques, nous avons constaté que l'hyperglycémie enregistrée chez le groupe diabétique (D-0) a été accompagnée simultanément avec une diminution significative ($p \leq 0,001$) d'insulinémie (Figure 31 A) comparativement au groupe témoin (ND-0). De plus, il s'est avéré que la fonction exocrine pancréatique n'est pas exclue de cette perturbation, avec une diminution significative ($p \leq 0,001$) du taux de l'amylase (Figure 31 B) et de la lipase (Figure 31 C) chez le même groupe (D-0). En retour, le régime enrichi en fenugrec du groupe (D-GFL) a pu restaurer significativement ($p \leq 0,01$) le taux d'insuline, ainsi que les concentrations plasmatiques en amylase ($p \leq 0,05$) et en lipase ($p \leq 0,001$) par apport au groupe diabétique.

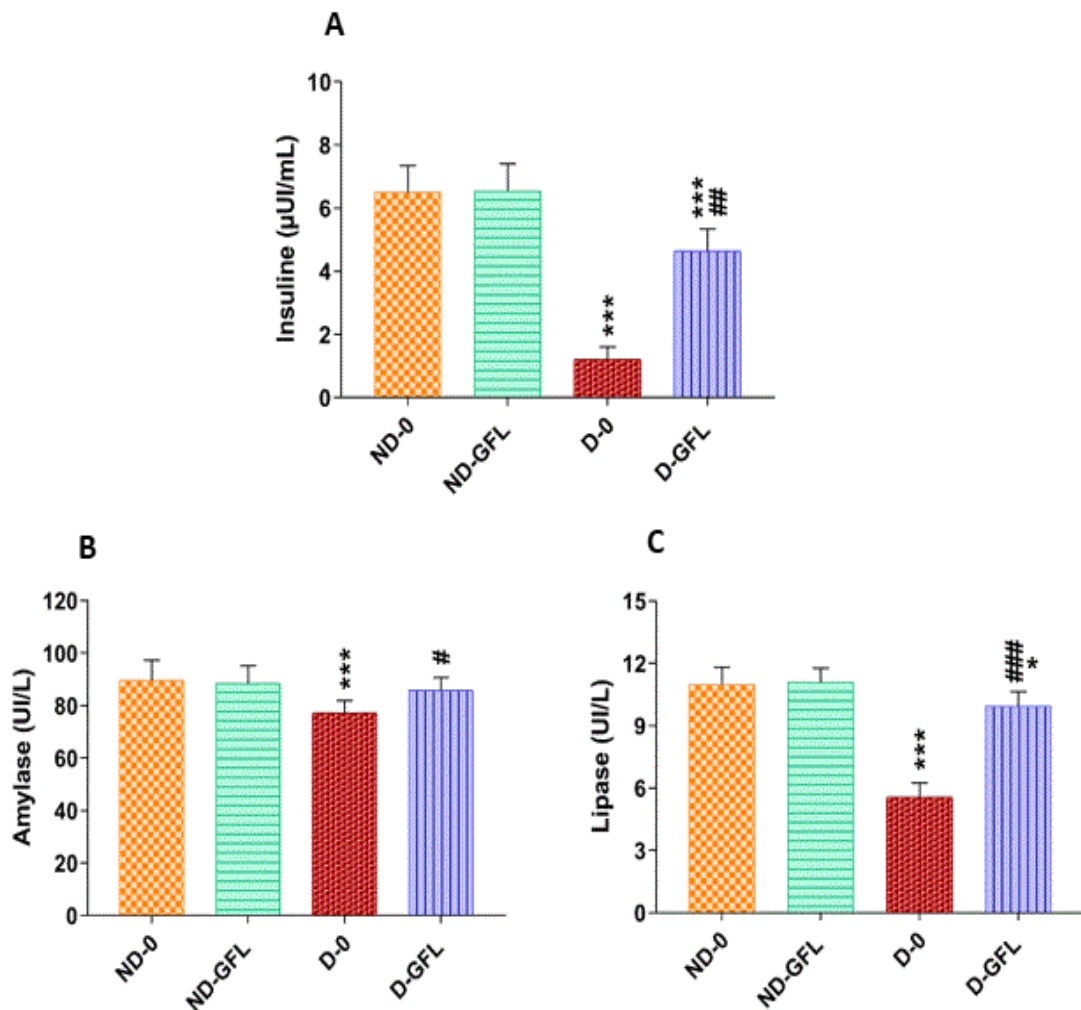


Figure 31 : Variation du taux sérique de l'insuline (A) ; de l'activité enzymatique de l'amylase (B) et de la lipase (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations sériques sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.2.4. Répercussion du traitement par les GFL sur le profil lipidique

Il ressort de la figure 32 une augmentation significative de la concentration du Chol-T et TG ($p \leq 0,001$) (Figure 32 A, B), LDL ($p \leq 0,01$) (Figure 32 C) avec une baisse significative du HDL ($p \leq 0,01$) (Figure 32 D) chez les rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats témoins (ND-0). Les données du profil lipidique des rats traités (D-GFL) indiquent une réduction significative du Chol-T et LDL ($p \leq 0,05$), du TG ($p \leq 0,001$) avec une augmentation du HDL ($p \leq 0,01$) par rapport aux rats diabétiques (D-0).

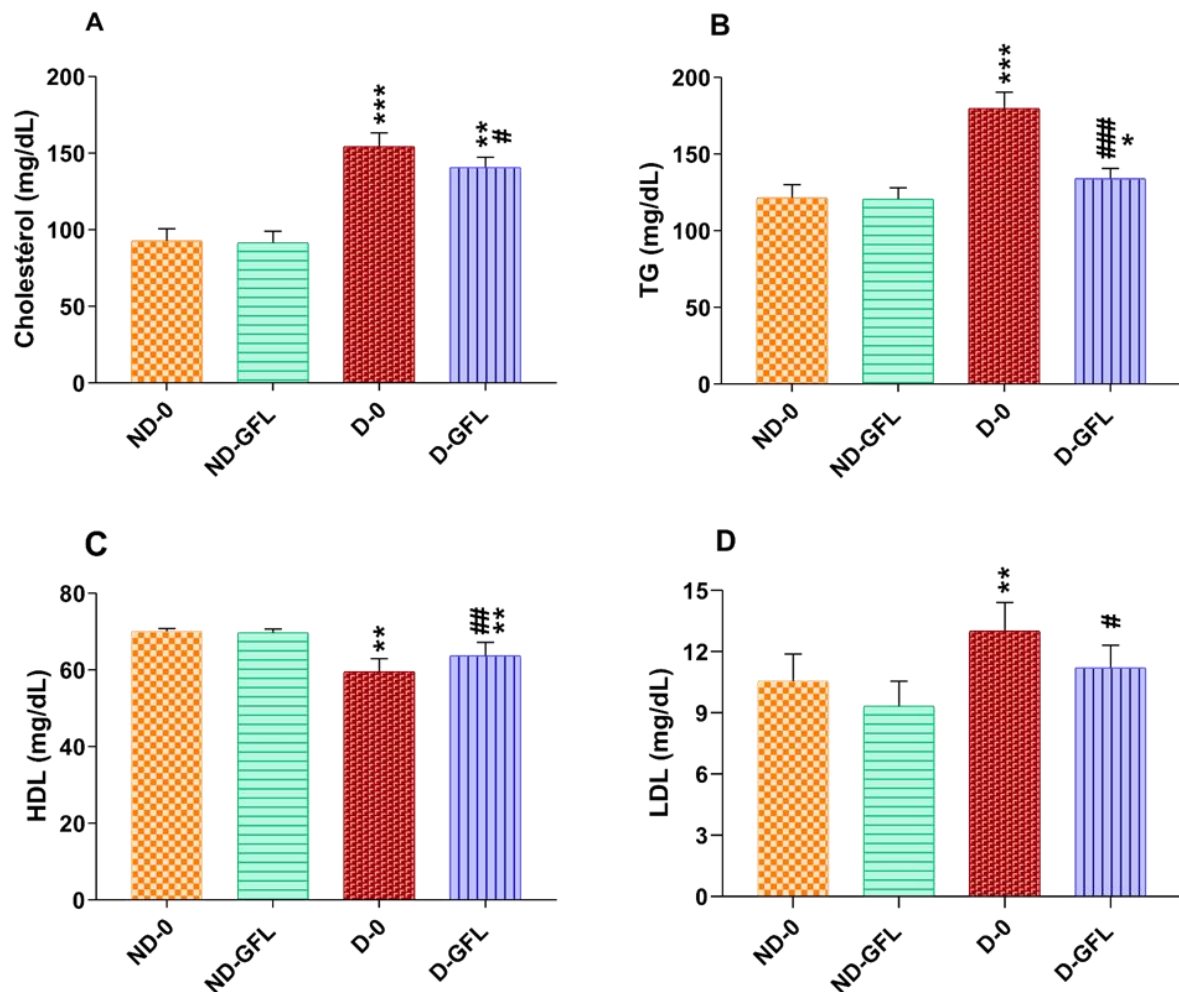


Figure 32 : Variation des taux de Chol-T (mg/dL) (A) ; TG (mg/dL) (B) ; HDL (mg/dL) (C) et LDL (mg/dL) (D) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations sériques sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.2.5. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres hépatiques

L'analyse du profil hépatique chez le groupe diabétique (D-0) expose une augmentation significative ($p \leq 0,001$) de l'activité des transaminases (Figure 33 A, B), de LDH et PAL (Figure C, D) par rapport aux rats témoins (ND-0). Nous avons également noté chez le même groupe, une diminution significative du taux d'albumine ($p \leq 0,001$) (Figure 34 A) et des PT ($p \leq 0,05$) (Figure 34 B) avec une augmentation significative des concentrations de la Bil-D ($p \leq 0,01$) (Figure 34 C) et de la Bil-T ($p \leq 0,001$) (Figure 34 D) comparativement au groupe témoin. Par ailleurs, le profil hépatique a été ajusté suite à l'ingestion des graines de fenugrec aux rats (D-GFL) par rapport aux rats diabétiques (D-0), que ce soit par l'augmentation des activités

enzymatiques de PAL ($p \leq 0,05$), ALAT, ASAT ($p \leq 0,01$) et LDH ($p \leq 0,001$) ou par l'amélioration des taux des paramètres non enzymatiques ; PT, Bil-D, Bil-T ($p \leq 0,05$) et albumine ($p \leq 0,001$).

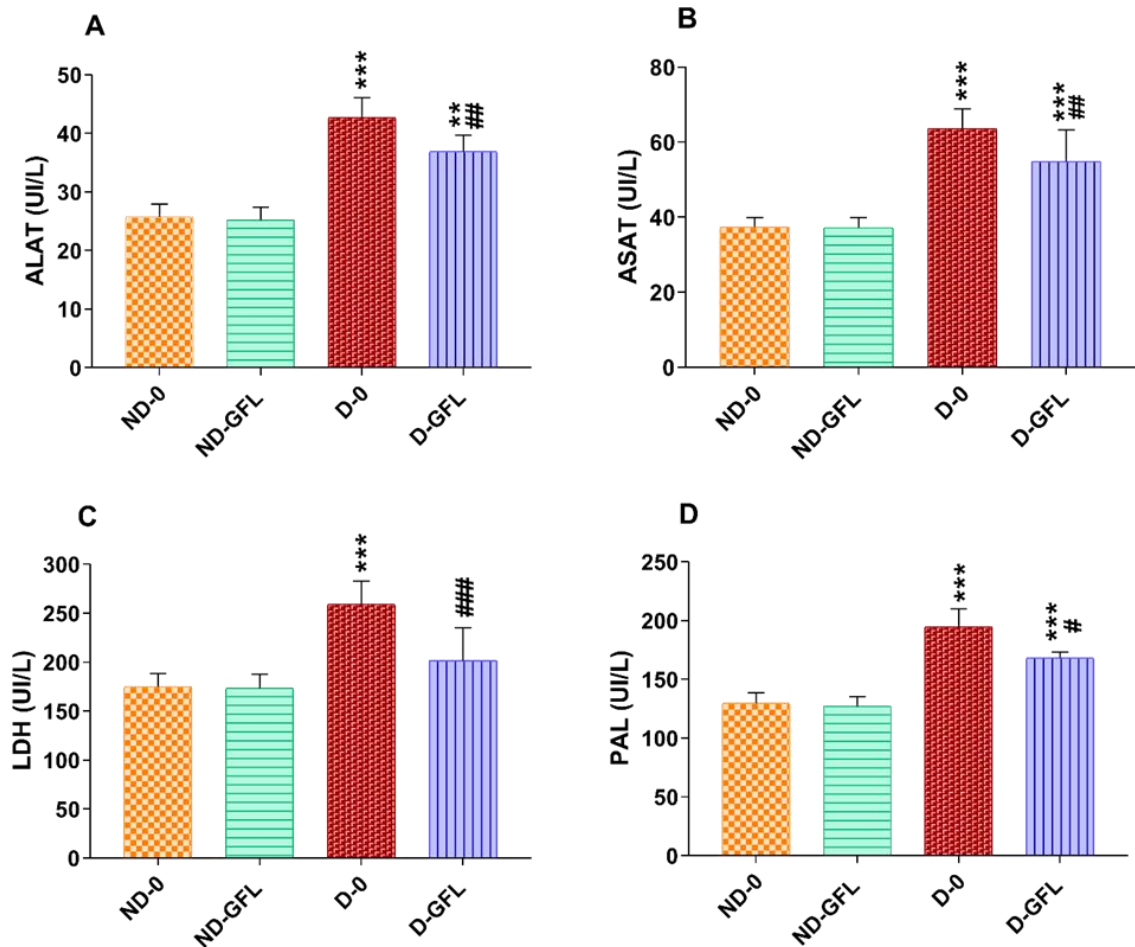


Figure 33 : Variation des activités enzymatiques (UI/L) de l'ALAT (A) ; ASAT (B); ALP (C) et LDH (D), chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations sériques sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0)

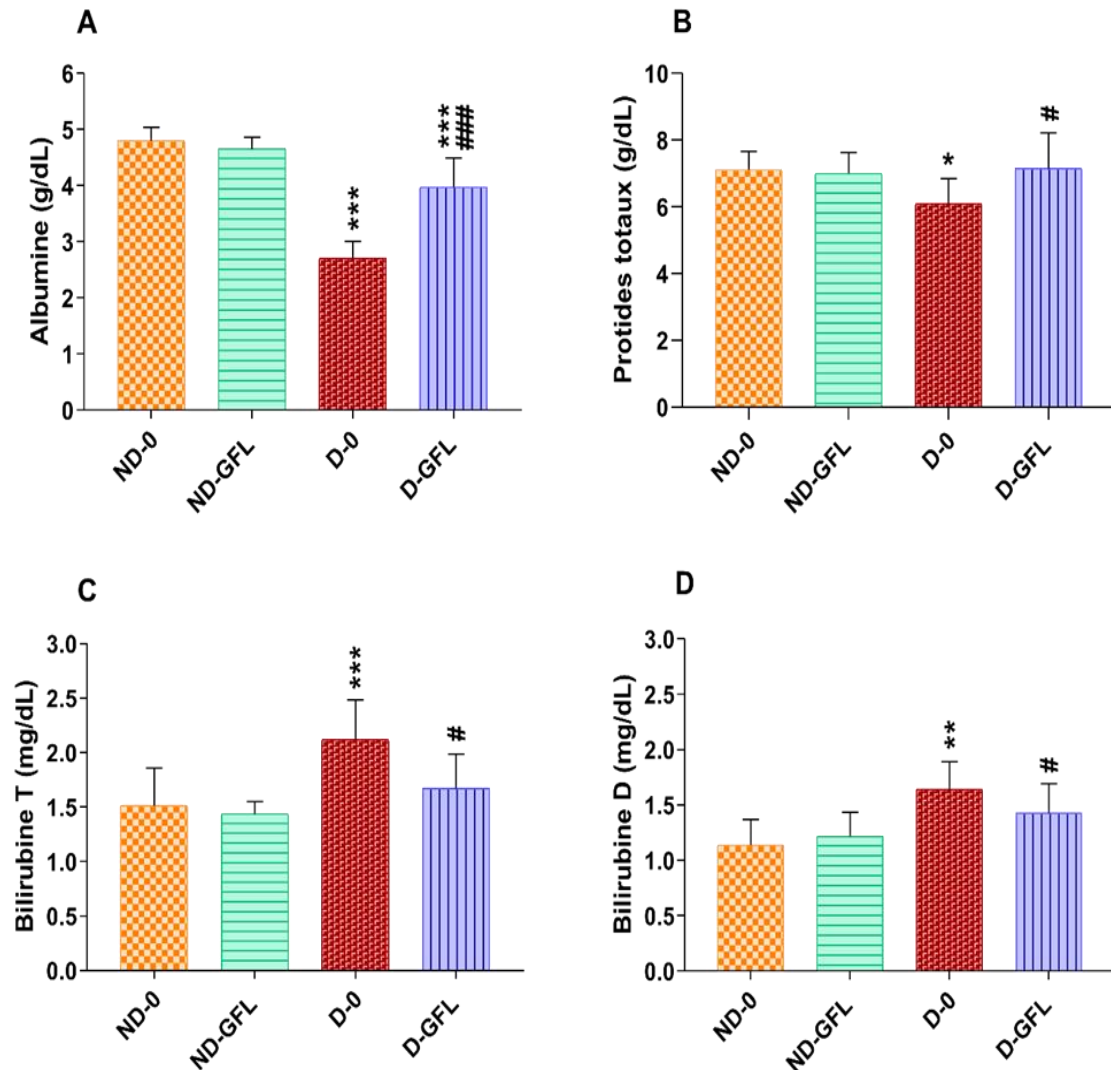


Figure 34 : Variation des taux de l'albumine (g/dL) (A) ; PT (g/dL) (B) ; Bil-T (mg/dL) (C) et Bil-D (mg/dL) (D) chez les rats témoins et traités par 10 % des GFL après 6 semaines.

Les concentrations sériques sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.2.6. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres rénaux

Nous avons signalé une augmentation de la concentration sérique des paramètres du bilan rénal, manifestée par une hypercréatinémie ($p \leq 0,01$) (Figure 35 A), hyperurémie et hyperuricémie ($p \leq 0,05$) (Figure 35 B, C) chez les rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats sains (ND-0). L'incorporation de 10% de la poudre des graines de fenugrec locales dans le régime alimentaire a induit une diminution significative des taux de créatinine ($p \leq 0,01$), urée ainsi que l'acide urique ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe diabétique (D-0).

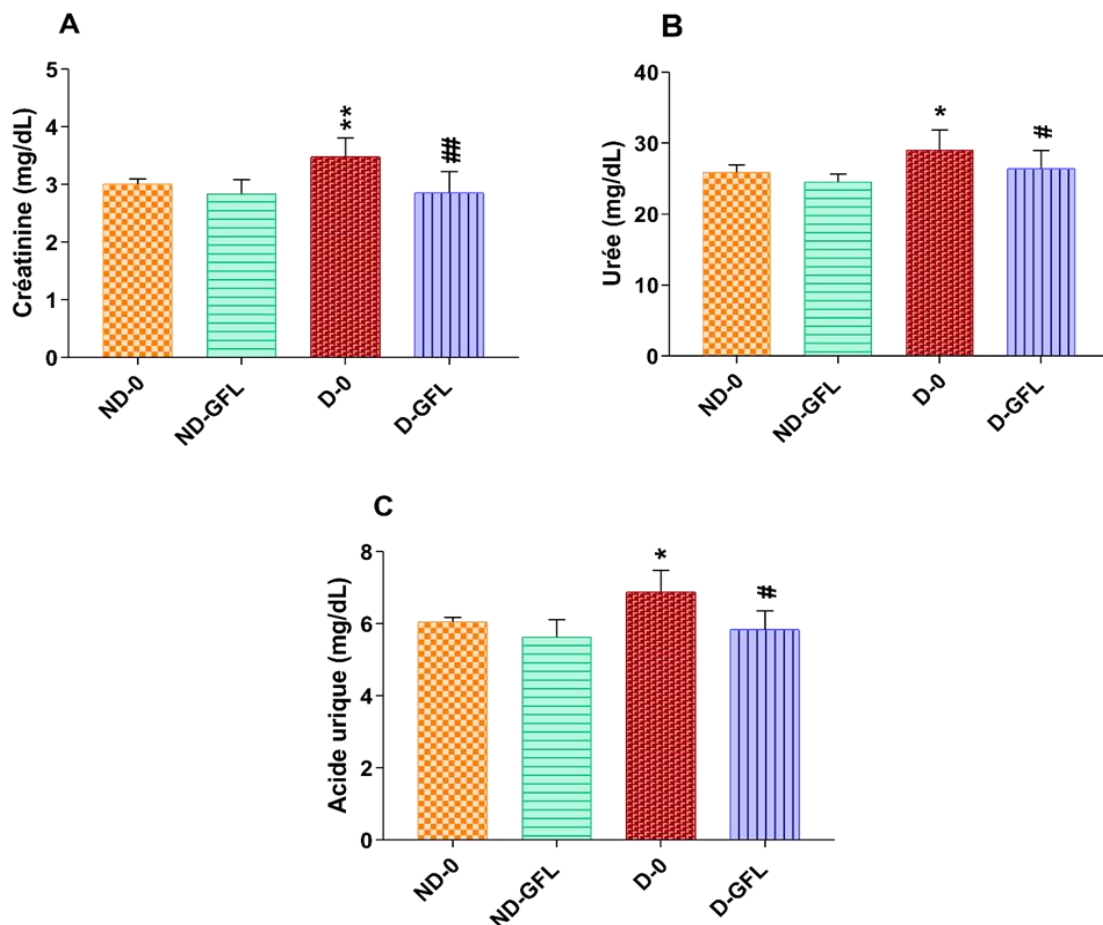


Figure 35 : Variation des taux de créatinine (mg/dL) (A) ; urée (mg/dL) (B) et acide urique (mg/dL) (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations sériques sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.2.7. Répercussion du traitement par les GFL sur les paramètres inflammatoires

L'administration (i.p) de la STZ chez les rats devenus diabétiques (D-0) a induit un état inflammatoire exprimé par une concentration significativement élevée de CRP, IL-6 ($p \leq 0,001$) (Figure 36 A, B) et TNF- α ($p \leq 0,01$) (Figure 36 C) par rapport au groupe témoin (ND-0). Après 6 semaines de traitement en supplémentant les GFL dans la diète, nous avons noté une réduction significative dans le taux plasmatique de CRP et IL-6 ($p \leq 0,01$) et TNF α ($p \leq 0,05$) chez les rats (D-GFL) par rapport au rats témoins (ND-0).

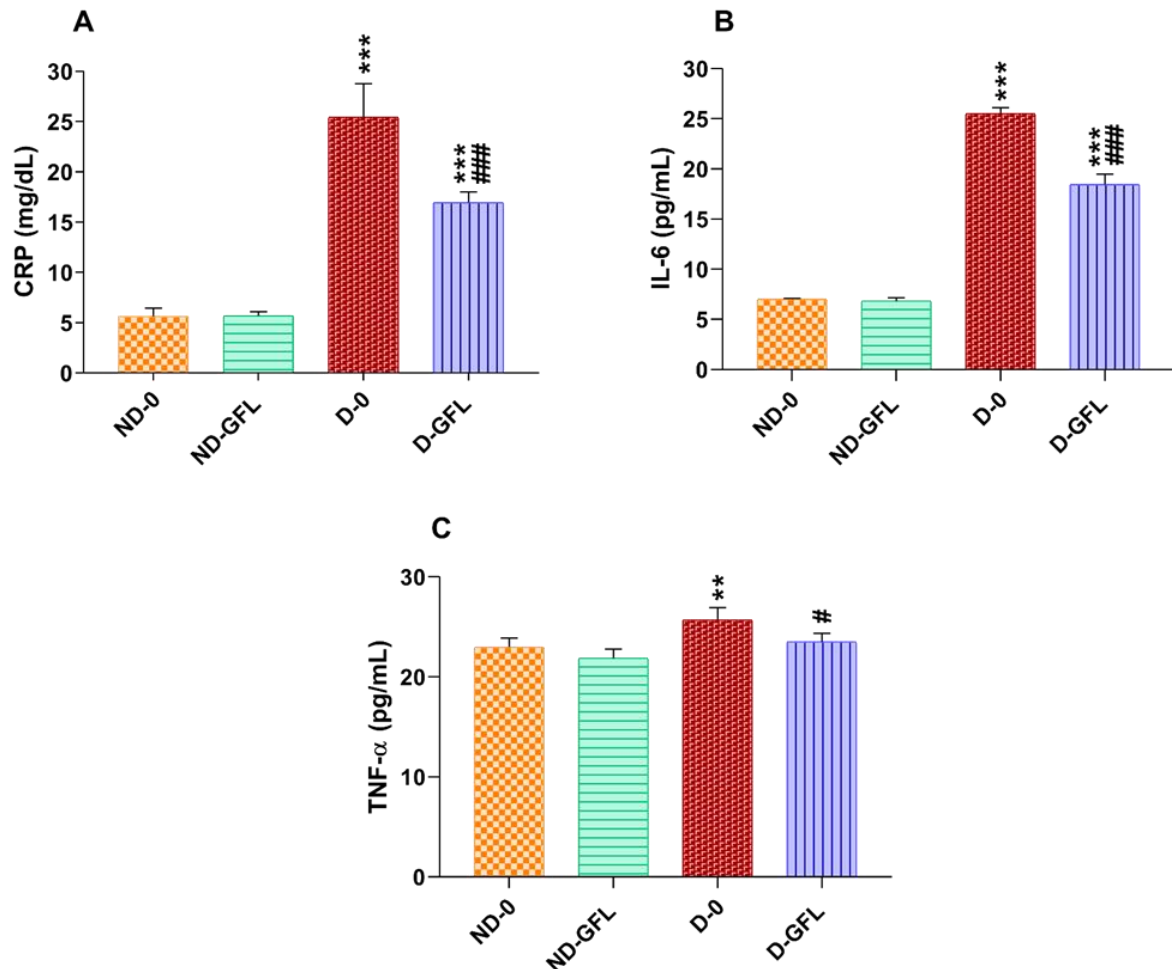


Figure 36 : Variation des taux de CRP (mg/dL) (A) ; IL-6 (pg/mL) (B) et TNF- α (pg/mL) (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations plasmatiques sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.3. Résultats de l'étude hématologique

Les résultats de l'analyse quantitative et qualitative des hématies affirment une diminution significative des concentrations des GR, Hb, CCMH ($p \leq 0,05$), sans aucune variation significative des concentrations des PLT et VGM chez les rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats témoins (ND-0). De plus, chez le même lot (D-0), nous avons recensé une numération accrue des leucocytes, exprimée par une augmentation significative des GB, PN ($p \leq 0,01$), MO et LY ($p \leq 0,001$) en comparaison avec les mêmes paramètres des rats témoins (ND-0). Le traitement avec de la poudre des GFL chez le groupe (D-GFL) a pu ajuster l'homéostasie de l'hémogramme en restaurant significativement la concentration des LY ($p \leq 0,01$), ainsi que le

reste de la formule leucocytaire et les paramètres érythrocytaires ($p \leq 0,05$) par rapport au témoin (ND-0). Aucune différence significative des concentrations des PE et PB n'a été signalée chez les groupes expérimentaux (Tableau 16).

Tableau 16 : Variation des concentrations des paramètres érythrocytaires et leucocytaires chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines.

Paramètres	ND-0	ND-GFL	D-0	D-GFL	
Paramètres érythrocytaires	GR ($10^6/\mu\text{L}$)	7,65±1,02	7,80±0,78	6,22±0,42*	7,72±1,60 [#]
	Hb (g/dL)	13,82±0,91	13,94±1,19	12,36±1,03*	13,37±1,14 [#]
	PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	301,0±16,90	297,2±24,20	271,8±20,10	280,6±21,40
	CCMH (g/dL)	31,27±2,01	31,02±2,28	34,20±1,67*	31,52±2,07 [#]
	VGM (fL)	56,65±3,34	55,82±3,41	53,02±1,79	55,72±2,77
Paramètres leucocytaires	GB ($10^3/\mu\text{L}$)	8,36±0,72	8,60±0,98	9,78±1,40**	8,69±0,95 [#]
	LY ($10^3/\mu\text{L}$)	5,21±0,56	5,51±0,70	7,34±0,70***	6,09±0,67* ^{##}
	MO ($10^3/\mu\text{L}$)	1,96±0,27	1,14±0,17	1,94±0,1***	1,69±0,19 [#]
	PN ($10^3/\mu\text{L}$)	1,48±0,36	1,40±0,34	2,37±0,83**	1,68±0,26 [#]
	PE ($10^3/\mu\text{L}$)	0,29±0,01	0,30±0,02	0,31±0,18	0,28±0,05
	PB ($10^3/\mu\text{L}$)	0,09±0,01	0,08±0,02	0,1±0,05	0,09±0,09

Les concentrations sanguines sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

[#] $p \leq 0,05$; ^{##} $p \leq 0,01$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.4. Résultats du statut redox

5.2.4.1. Répercussion du traitement par les GFL sur la teneur tissulaire en MDA

En se basant sur les résultats illustrés dans la figure 37, les rats (D-0) ont présenté une augmentation significative du taux de MDA hépatique, pancréatique ($p \leq 0,001$) (Figure 37 A, C), rénale et splénique ($p \leq 0,01$) (Figure 37 B, D) comparativement aux rats témoins (ND-0). Néanmoins, les rats mis sous le phyto-traitement (D-GFL) ont montré une réduction significative dans la concentration du MDA dans le foie, le pancréas ($p \leq 0,001$), la rate ($p \leq 0,01$) et le rein ($p \leq 0,05$) en comparant aux rats diabétiques. Aucune différence significative n'a été signalée du taux du MDA cardiaque.

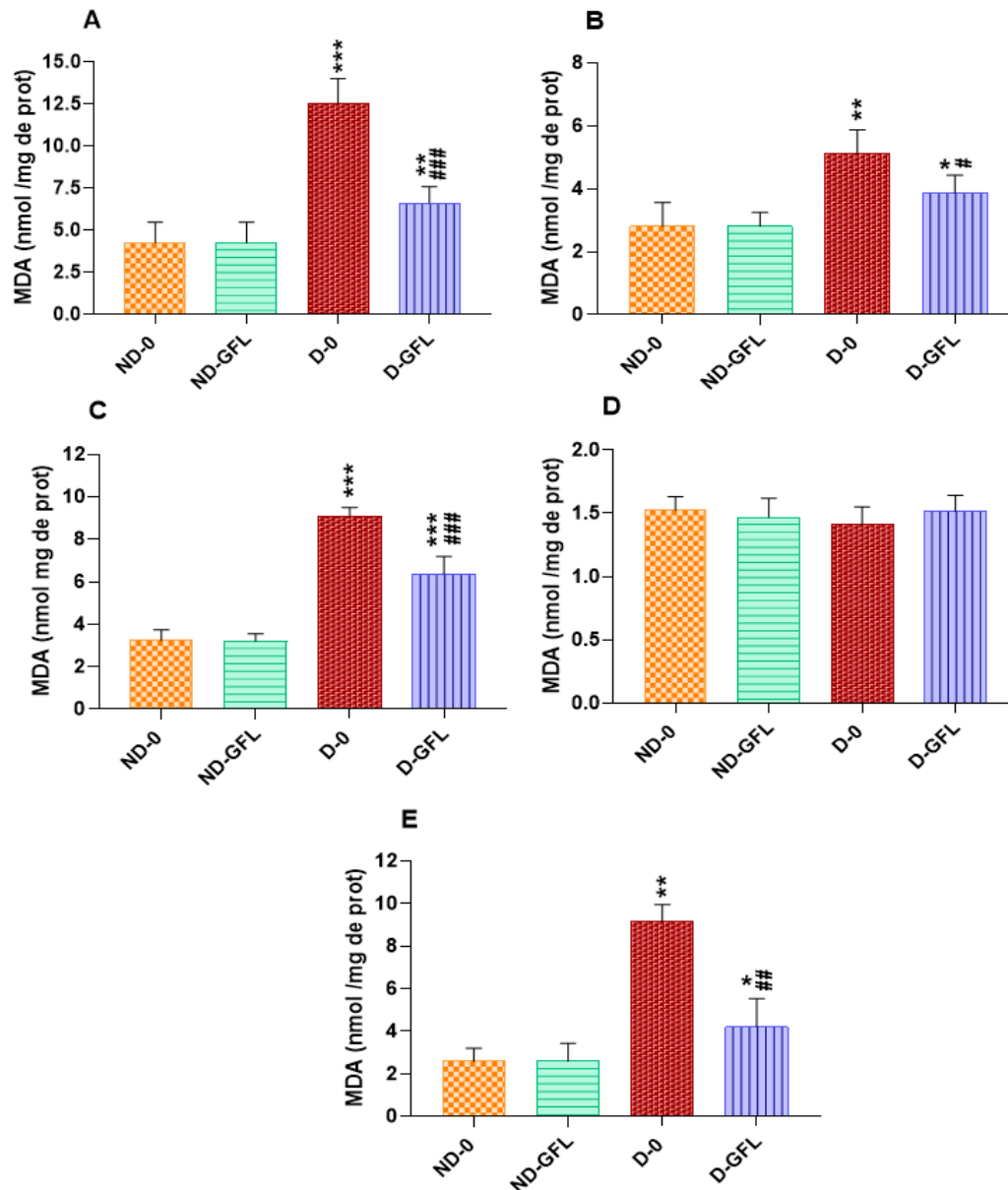


Figure 37 : Variation des taux de MDA (nmol/mg de protéines) hépatique (A); rénale (B); pancréatique (C); cardiaque (D) et splénique (E) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations tissulaires sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.4.2. Répercussion du traitement par les GFL sur la teneur tissulaire en GSH

L'analyse au sein du groupe diabétique (D-0) a montré une diminution significative du taux de glutathion au niveau du foie et pancréas ($p \leq 0,001$) (Figure 38 A, C), des reins ($p \leq 0,01$) (Figure 38 B), du cœur et rate ($p \leq 0,05$) (Figure 38 D, E) par rapport aux témoins. Par ailleurs, chez les rats (D-GFL), la dose de 10% des graines de fenugrec locales semble être efficace pour ajuster la

teneur du glutathion hépatique, pancréatique ($p \leq 0,001$) ainsi que le GSH rénale ($p \leq 0,05$) approximativement à la normale. Le taux du GSH cardiaque et splénique n'a pas été influencé par le traitement par GFL.

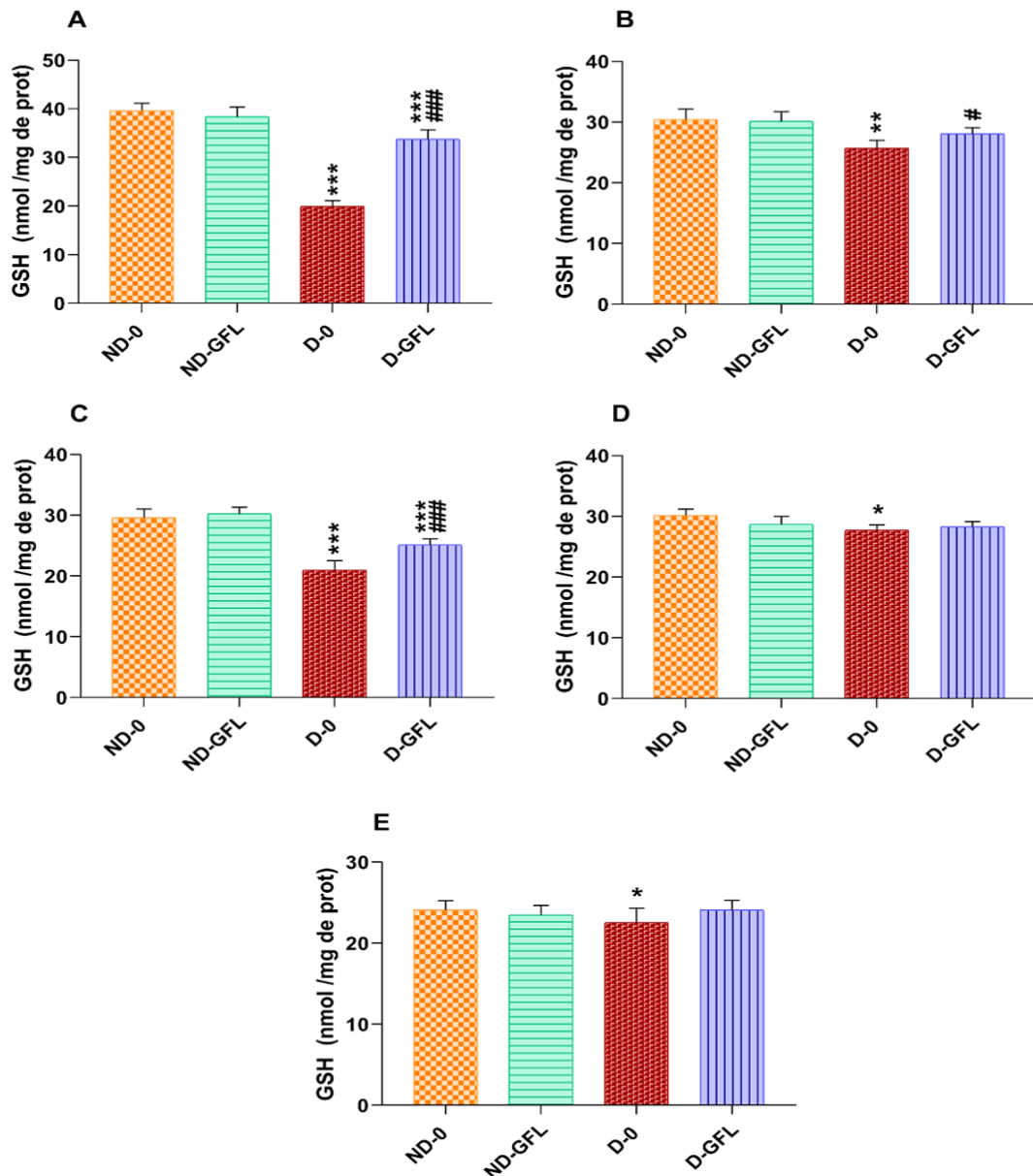


Figure 38 : Variation des taux de GSH (nmol/mg de protéines) hépatique (A); rénale (B); pancréatique (C); cardiaque (D) et splénique (E) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les concentrations tissulaires sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.4.3. Répercussion du traitement par les GFL sur l'activité de la GPx

Le dosage spectrophotométrique de la GPx tissulaire a dévoilé les résultats illustrés dans la figure 39. Chez les rats diabétique (D-0), il y a eu une réduction très hautement significative de l'activité de la GPx dans le foie (Figure 39 A) , les reins (Figure 39 B) et le pancréas (Figure 39 C) en comparaison avec les rats témoins (ND-0). Suite à la consommation des graines de fenugrec locales, l'activité de la GPx a connu une amélioration exprimée par une hausse significative dans le foie, le pancréas ($p \leq 0,001$) ainsi que dans les reins ($p \leq 0,05$) tout en comparant au témoin diabétique.

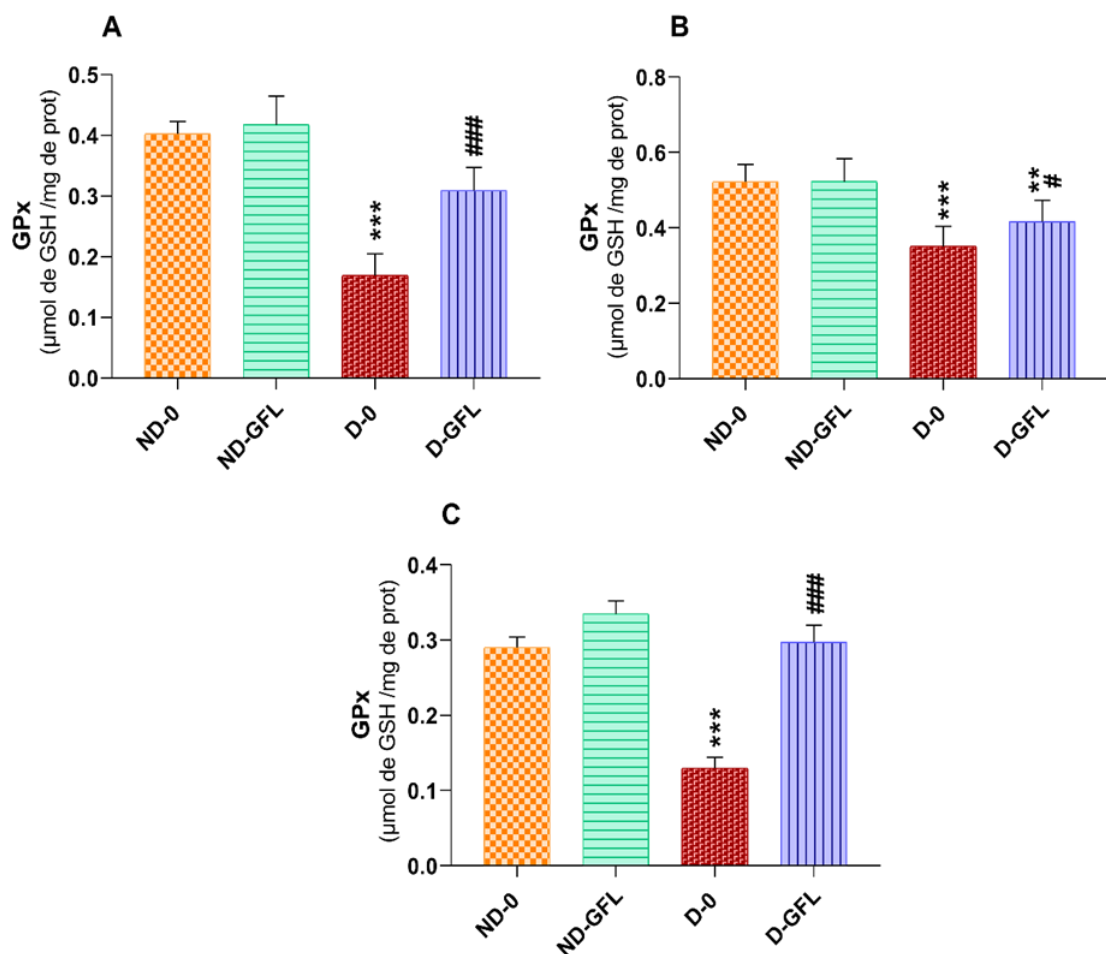


Figure 39: Variation des activités enzymatiques de la GPx ($\mu\text{mol GSH}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) hépatique (A); rénale (B) et pancréatique (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les activités sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.4.4. Répercussion du traitement par les GFL sur l'activité de la CAT

D'après les résultats illustrés dans la figure 40, nous avons enregistré une diminution significative ($p \leq 0,001$) de l'activité de la catalase dans les trois tissus ciblés (foie, reins et pancréas) des rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats témoins. En outre, le traitement par les graines de fenugrec locales a rehaussé l'activité de la CAT de façon significative au niveau hépatique ($p \leq 0,01$) (Figure 40 A), rénale et pancréatique ($p \leq 0,001$) (Figure 40 B, C) en comparant aux rats diabétiques.

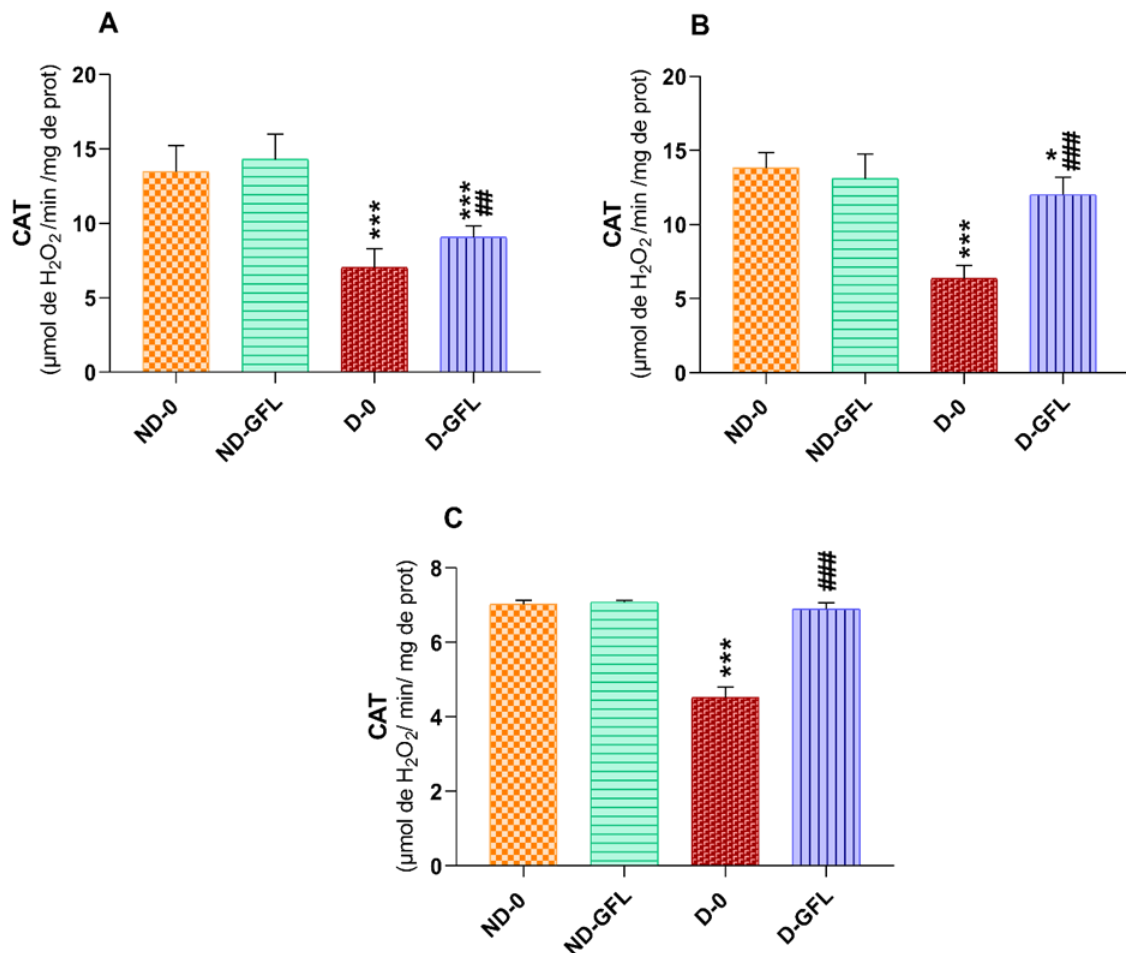


Figure 40 : Variation des activités enzymatiques de la CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) hépatique (A) ; rénale (B) et pancréatique (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les activités sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

* $p \leq 0,05$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.4.5. Répercussion du traitement par les GFL sur l'activité de la GST

Conformément aux données fournies par la figure 41, une réduction très hautement significative de l'activité de la GST hépatique (Figure 41 A), rénale (Figure 41 B) et pancréatique (Figure 41 C) a été mise en évidence chez les rats diabétiques (D-0) comparativement aux rats témoins (ND-0). Par ailleurs, nous avons détecté une augmentation de l'activité de la GST dans le foie ($p \leq 0,001$), les reins et le pancréas ($p \leq 0,01$) des rats traités par les graines de fenugrec locales (D-GFL) par rapport au témoin.

Selon les données des résultats biochimiques, hématologique et oxydatifs, aucune différence significative n'a été décelé entre le groupe recevant une diète normale (ND-0) et le groupe recevant une diète supplémentée en GFL (ND-GFL).

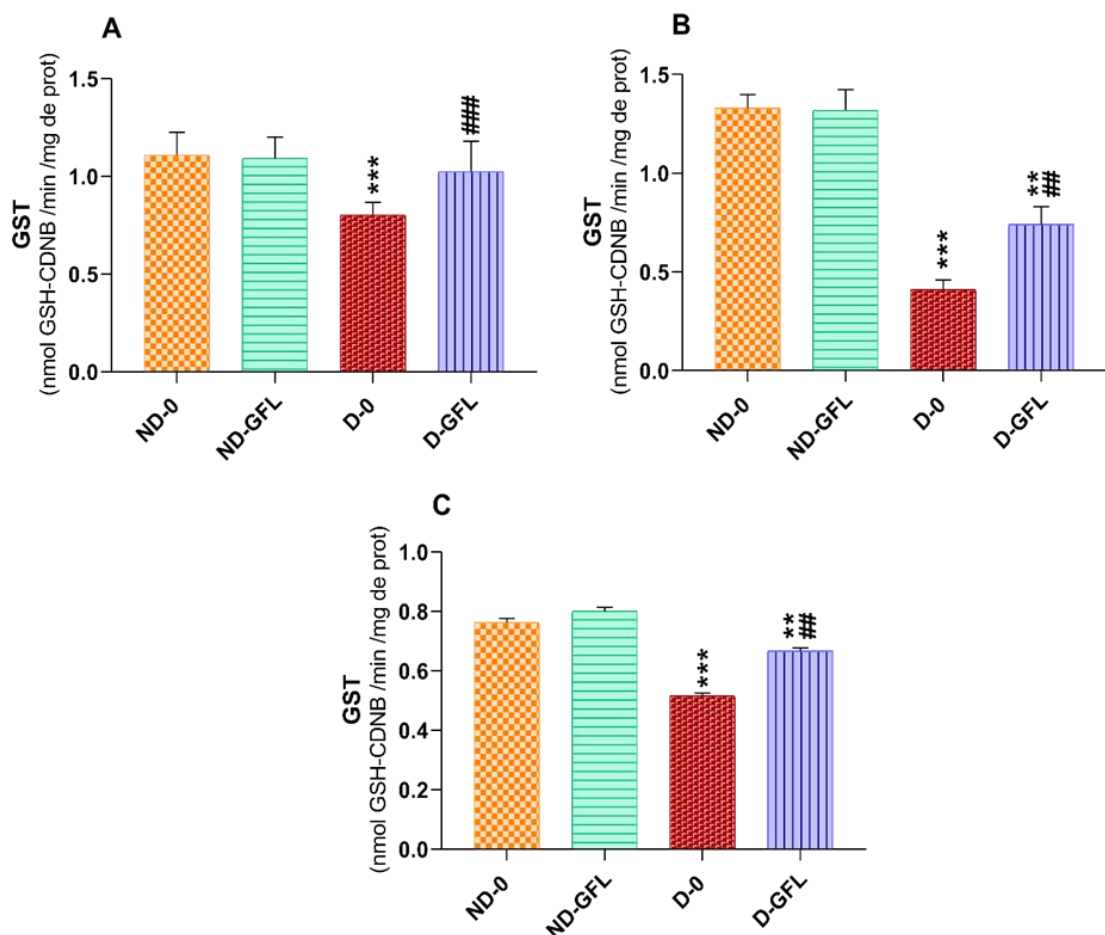


Figure 41 : Variation des activités enzymatiques de la GST (nmol GSH-CDNB/min/mg de protéines) hépatique (A); rénale (B); pancréatique (C) chez les rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. Les activités sont exprimées en $\bar{X} \pm \text{ESM}$ (n=10).

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement au lot témoin (ND-0).

$p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement au lot diabétique (D-0).

5.2.5. Résultats de l'étude histologique

Macroscopiquement, seuls les organes prélevés des rats diabétiques (D-0) ont montré des changements morphologiques externes par rapport aux autres groupes morphologiquement intacts. Ces changements sont présentés par des zones blanches jaunâtres ainsi que des petits kystes au niveau du foie, couleur pale des reins et un aspect rétractif du pancréas. Un examen microscopique est requis pour renforcer histologiquement les résultats de l'expérimentation animale.

5.2.5.1. Répercussion du traitement par les GFL sur le tissu hépatique

L'examen histologique mené sur le parenchyme hépatique des groupes (ND-0) et (ND-GFL) a révélé une disposition concentrique des hépatocytes arrangés radialement autour de la veine centro-lobulaire avec des noyaux euchromatiques ronds (Figure 42 A, B). Contrairement aux groupes témoins, les coupes hépatiques du groupe diabétique (D-0) (Figure 42 C) ont montré un élargissement sinusoïdal, entraînant un désordre de l'arrangement concentrique typique, ainsi qu'une fragmentation nucléaire connue de la caryorrhéxie, avec des vacuolations intracytoplasmiques. Le foie des rats diabétiques alimentés par les graines de fenugrec locales (D-GFL) a révélé une amélioration hépatocellulaire régénérative du lobule hépatique comme le montre la figure 42 D.

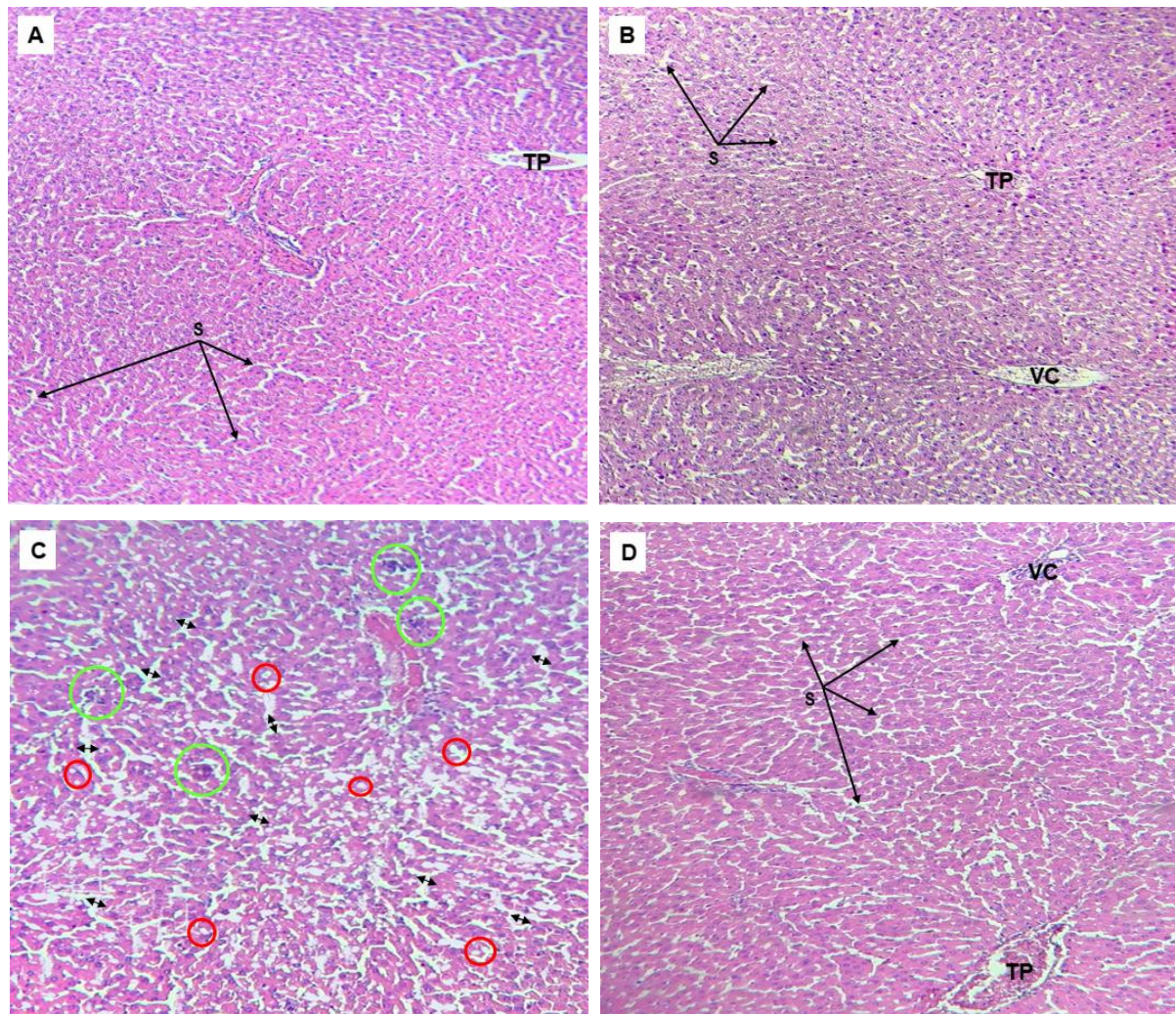


Figure 42 : Microstructure hépatique soumise à la coloration H&E (x400) des rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. A et B : groupes non diabétiques présentant des caractéristiques typiques du foie et des hépatocytes, **C :** contrôle diabétique montrant une architecture cellulaire dérangée suite à une dilatation sinusoidale (\leftrightarrow), des hépatocytes vacuolisés (\circ) et une caryorrhéxie (\circ). **D :** groupe traité par les GFL montrant une amélioration marquée de l'histo-architecture hépatique. TP : triade portale, S : sinusoides, VC : veine centrale.

5.2.5.2. Répercussion du traitement par les GFL sur le tissu rénal

La photomicrographie réalisée sur les coupes rénales du groupe témoin (ND-0) (Figure 43 A) a illustré le cortex rénal avec une structure compacte des éléments du néphron (glomérule, tubes contournés proximal et distale) à l'état normal. Des caractéristiques histologiques identiques ont été démontrées dans le groupe (ND-GFL) (Figure 43 B). En revanche, des altérations rénales modérées ont été mises en évidence chez les rats diabétique (D-0) manifestées par quelques

lésions glomérulaires et une atrophie des glomérules ainsi que des lobulations glomérulaires (Figure 43 C). L'administration de graines de fenugrec locales chez les rats traités (D-GFL) a induit un réajustement de l'aspect et l'intégrité corticale des reins (Figure 43 D).

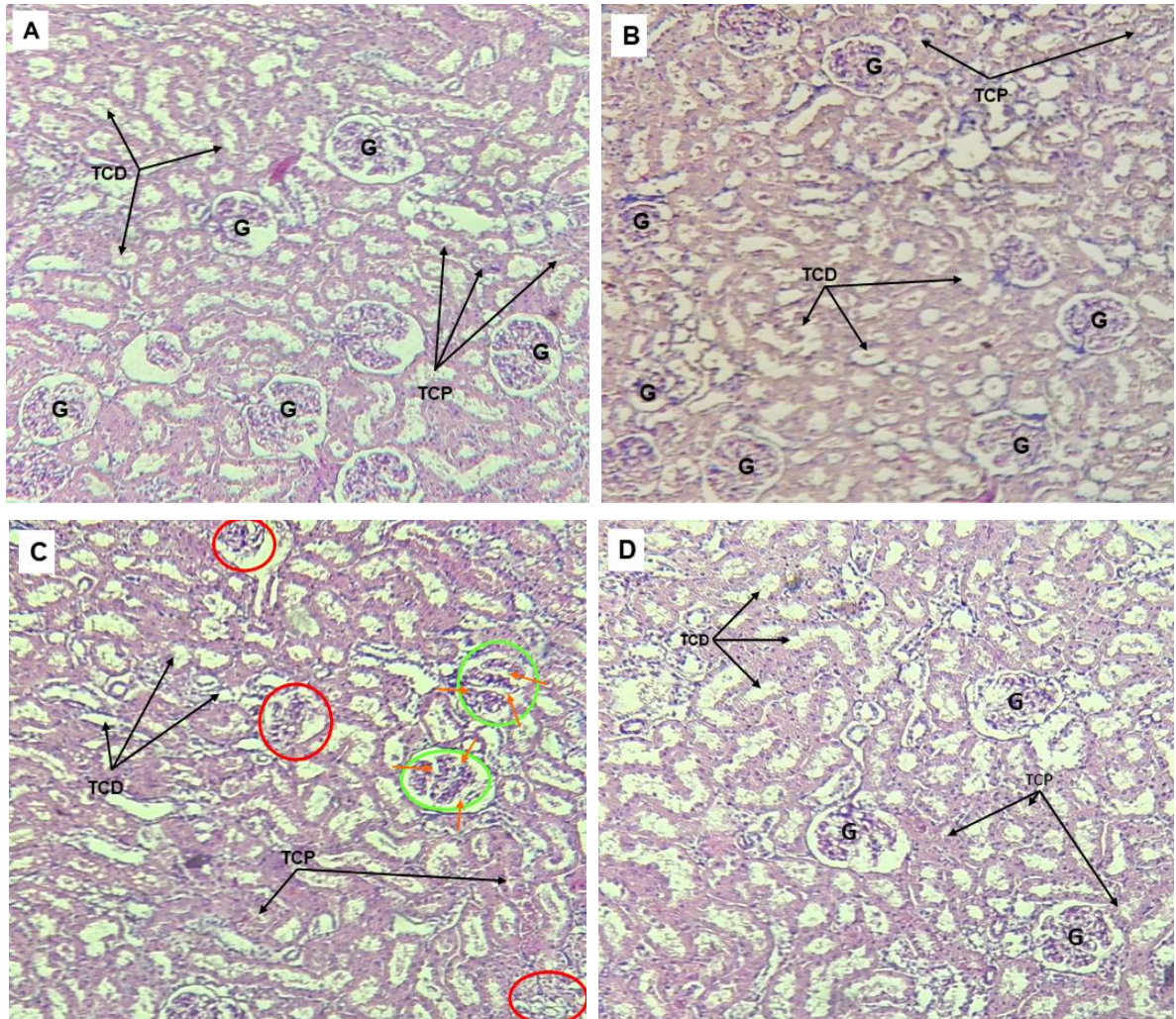


Figure 43 : Microstructure rénale soumise à la coloration H&E (x400) des rats témoins et traité par 10% des GFL après 6 semaines. A et B : groupes non diabétiques présentant une architecture normale de glomérules et tubules, C : groupe diabétique illustrant une nécrose médiocre (○) ainsi qu'une atrophie (○) et lobulation glomérulaire (→). D : groupe traité par les GFL montrant une régénération histologique du cortex rénal. G : glomérule, TCD : tube contourné distal, TCP : tube contourné proximal.

5.2.5.3. Répercussion du traitement par les GFL sur le tissu pancréatique

Une disposition et intégrité cellulaire typique des îlots centraux de Langerhans disséminés dans des acini périphériques ont été observées au niveau du pancréas des rats témoins (ND-0) (Figure

44 A). De même, aucune différence structurale n'a été observée chez les rats (ND-GFL) (Figure 44 B). En revanche, les rats diabétiques (D-0) ont présenté des lésions nécrotiques des cellules bêta ainsi qu'une inflammation caractérisée par des infiltrations lympho-plasmocytaires mononucléaires (Figure 44 C). D'après la microstructure pancréatique du groupe traité (Figure 44 D), les graines de fenugrec locales ont pu atténuer ces altérations histopathologiques, en engendrant une régénération partielle de l'architecture typique du parenchyme pancréatique.

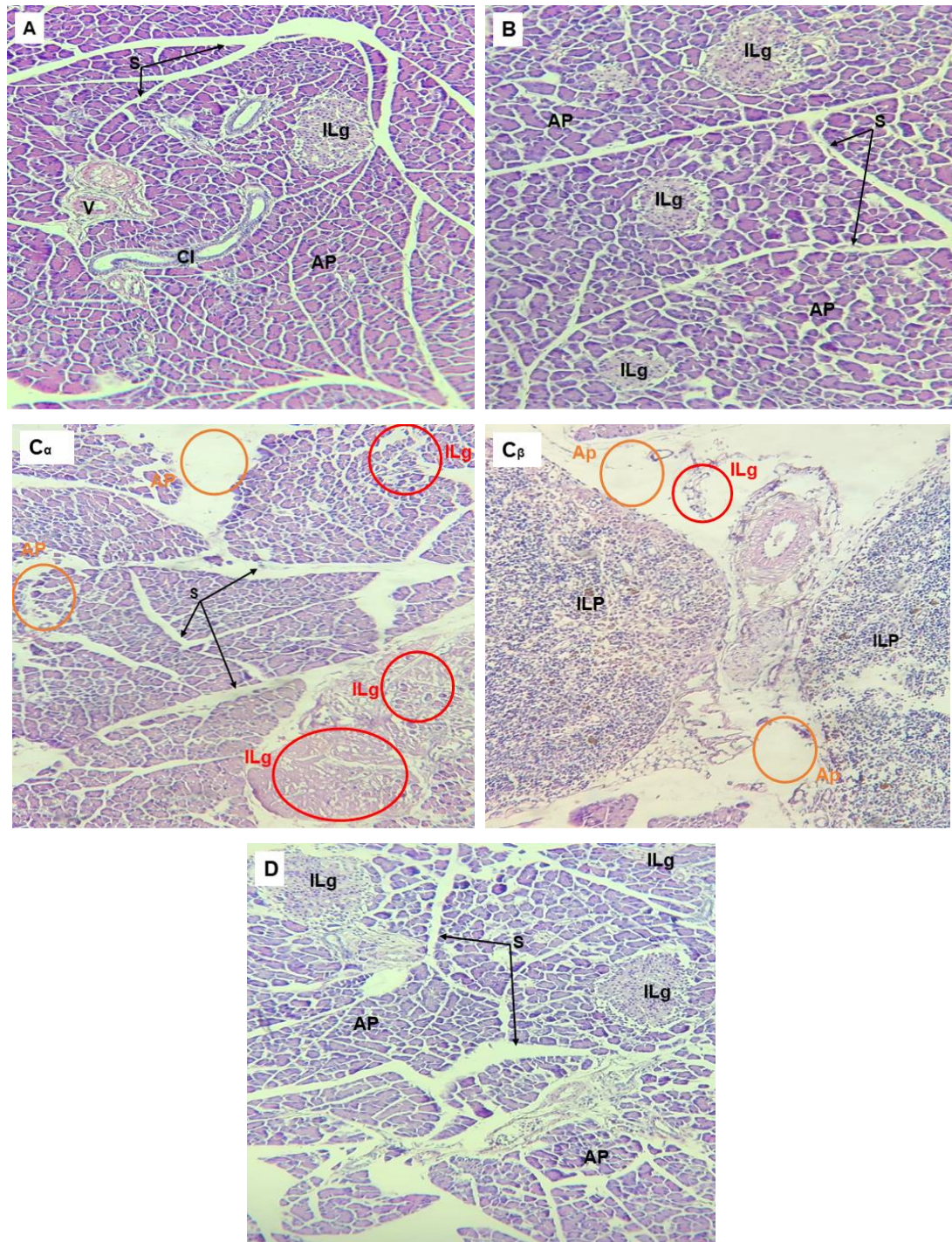


Figure 44 : Microstructure pancréatique soumise à la coloration H&E (x400) des rats témoins et traités par 10% des GFL après 6 semaines. A et B : groupes non diabétiques illustrant la disposition préservée des acini pancréatiques avec des îlots intacts de Langerhans. C : rats diabétiques présentant une nécrose massive des cellules bêta (○) et les cellules acinaires (○) (C α), ainsi que des infiltrations lympho-plasmocytaires (C β), D : rats soumis aux GFL montrant une régénération partielle de l'architecture typique du pancréas. V : vaisseau, IL : îlots de Langerhans, AP : acini pancréatique, S : septa, CI : canal intercalé, ILP : infiltration lymphoplasmocytique.

Chapitre 6 : Discussion

Chapitre 6 : Discussion

L'hyperglycémie est une caractéristique particulière du diabète millitus (DM), néanmoins, plusieurs autres mécanismes pathogènes souvent assemblés caractérisent également le DM à savoir, l'inflammation, le stress oxydatif avec une causalité réciproque ce qui exacerbe les complications diabétiques (Ojo *et al.*, 2023). A cet égard, une approche thérapeutique semble empiriquement intéressante en utilisant un antioxydant, anti-inflammatoire naturel doué de biomolécules à vertus pharmaceutiques et thérapeutiques tout en évitant les effets secondaires et les accoutumances des médicaments allopathiques (Limonier, 2018). Dans un tel contexte, nous avons accompli une investigation phytochimique sur les graines de fenugrec locales qui ont servi par la suite au traitement des rats rendus diabétiques par la STZ, afin d'évaluer leur potentiel thérapeutique contre les perturbations physiologiques, métaboliques, oxydatives et histologiques causées par le diabète.

Les graines de fenugrec renferment plein de composés bioactifs de nature chimiquement divergente et avec des propriétés physico-chimiques différentes (Nagulapalli Venkata *et al.*, 2017). Partant de cette base, le choix du solvant hydro-méthanolique (ratio 80 : 20) a été conçu pour s'adapter particulièrement au degré de polarité des composés phénoliques, ce qui est confirmé par Lohvina *et al.*, (2022). Ces derniers ont constaté que les solvants hydroalcooliques sont mieux que les solvants absolus en termes de polarité et efficacité d'extraction des polyphénols. Mohammedi et Atik (2011) ont rapporté que parmi une sélection d'extraction par plusieurs solvants hydro-alcooliques, la combinaison méthanol-eau donne le meilleur rendement et la meilleure teneur en composés phénoliques. Cependant, il est difficile de comparer nos données avec celles de la littérature, puisque le rendement n'est qu'une grandeur relative qui s'avère tributaire à la variété et aux conditions d'expérimentation (Belhattab *et al.*, 2014).

Le screening phytochimique qualitatif a permis la mise en présence des polyphénols, flavonoïdes, tannins, terpènes, saponines, alcaloïdes, glycosides, sucres réducteurs et anthocyanes dans l'extrait sec des graines de fenugrec locales. Les mêmes classes de métabolites ont été identifiées par Soni et Sosa (2013) avec une disparité d'inférence colorimétrique. Toutefois, ces résultats demeurent préliminaires et doivent être suivi d'une analyse quantitative, en effet, cette investigation a montré que les graines de fenugrec locales ont une quantité assez appréciable en composés phénoliques totaux dans l'extrait étudié. Une teneur plus faible en composés phénoliques a été évaluée dans des graines de fenugrec d'origine indienne (Mbarki *et al.*, 2017 ; Salam *et al.*, 2023). Le fait que la composition phytochimique des plantes dépend des

facteurs édaphiques, climatiques et géographiques (Hayat *et al.*, 2020), pourrait expliquer la différence enregistrée dans la teneur en polyphénols et flavonoïdes doués de vertus thérapeutiques et connus pour leur pouvoir antioxydants (Oyededeji *et al.*, 2011). Le dosage des saponines a révélé une concentration notable dans l'extrait des GFL-M.Aq, toutefois, ça reste inférieure à celle trouvée par Akbari *et al.*, (2020) dans des graines de fenugrec extraites par extraction assistée par micro-ondes. Une teneur remarquable en alcaloïdes a été exprimée en mg/g DE dans l'extrait GFL-M.Aq contrairement à Soni et Sosa (2013) et Benziane *et al.*, (2019) qui ont dosé, en utilisant un autre protocole, les alcaloïdes en % dans l'extrait aqueux et organique.

En outre, la distribution des métabolites secondaires, le contenu organique et minéral des plantes varient durant le cycle végétatif en s'adaptant aux conditions environnementaux (Rébuba *et al.*, 2021). La différence constatée en métabolites peut être également attribué aux conditions expérimentales en particulier le type de solvant et la méthode d'extraction adoptée (Venkatesan *et al.*, 2019). Tous ces métabolites, qu'ils soient phénoliques ou non phénoliques, sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes par excellence, ainsi que pour leurs effets anti-inflammatoires, antidiabétiques et hypolipidémiques (Ahmad *et al.*, 2016 ; Pal et Mukherjee, 2020). D'ailleurs, plusieurs recherches ont exploité biologiquement des métabolites extraits à partir de graines de fenugrec (à l'état pur) notamment ; les flavonoïdes (Jiang *et al.*, 2018), les alcaloïdes; Trigonelline (Yoshinari et Igarashi, 2010), les saponines stéroïdiennes ; Diosgénine (Uemura *et al.*, 2011).

À des fins d'exploitation biotechnologique et pharmaceutique, l'identification ainsi que la quantification des composés est cruciale pour déterminer si une plante est qualifiée pour être une source potentielle de composants bioactifs. Dans ce sens, nous avons réalisé un profilage des composés phénoliques par HPLC-DAD-LFD et les résultats ont montré un total de vingt composés appartenant à différentes sous-classes : des acides hydroxycinnamiques, acides hydroxybenzoïques, flavanols, flavanones qui sont repartis quantitativement de façon hétérogène. Outre l'influence des facteurs liés aux sites d'échantillonnage, les caractéristiques de l'extraction et l'approche adoptée peuvent également avoir une incidence sur la distribution des composés phénoliques. Ce qui est conforme en comparant les résultats actuels avec ceux de Salam *et al.*, (2023) qui ont identifié dans un extrait éthanolique des graines de fenugrec commercialisé, un ensemble de métabolites qui sont similaires aux notre mais avec des proportions différentes, avec la présence du naringine, naringénine, apigénine et d'autres composés et l'absence du l'acide p-coumarique. À l'inverse, ce dernier composé constitue l'un de nos principaux acides. La caractérisation HPLC-DAD ESI/MS élaboré par Lovinha *et al.*,

(2021) sur un extrait éthanolique a montré un mélange totalement différent des flavonoïdes riches en apigénine et lutéoline, avec une absence quasiment totale des acides hydroxycinnamiques notamment la rutine et la quercétine, qui sont majoritaires dans notre extrait, néanmoins, l'absence d'acide gallique est commune avec notre étude. De même, une étude consacrée à la caractérisation des flavonoïdes dans les graines de fenugrec a montré que l'extrait hydrométhanolique est riche en dérivés de flavones, or, une présence majoritaire en dérivés d'acide hydroxycinnamique a été décelée (Benayad *et al.*, 2014). Nos résultats sont partiellement en accord avec ceux de Kenny *et al.*, (2013) qui ont recensé un profil phénolique de treize composés dans l'extrait acétate d'éthyle, parmi eux cinq acides phénoliques (acide férulique, syringique, chlorogénique, caféique et p-coumarique) et cinq flavonoïdes (rutine, catéchine, myricétine, kaempférol et quercétine) sont conjointement détectés en teneur plus concentrée dans notre extrait. Selon Dhull *et al.*, (2020), la quantification du profil phénolique de l'extrait hydro-éthanolique de plusieurs cultivars de graines de fenugrec a montré des concentrations maximales en acide gallique ($7,24 \pm 0,20$ mg/g), acide benzoïque ($5,56 \pm 0,14$ mg/g), acide cinnamique ($0,98 \pm 0,03$ mg/g), acide p-coumarique ($9,20 \pm 0,06$ mg/g) et catéchol ($3,97 \pm 0,06$ mg/g).

Dans des études exclusivement qualitatives, l'extrait aqueux des graines de fenugrec a permis d'identifier cinq composés phénoliques y compris des acides hydroxycinnamiques et un flavanol glycoside, qui sont également présents dans l'extrait de GFL-M.Aq à l'exception de l'acide gallique (Dixit *et al.*, 2005). Selon Mbarki *et al.*, (2017), le profil d'élution HPLC des composés phénoliques de l'extrait éthanolique, a montré la présence du catéchine, epicatéchine, acide coumarique, caféique, vanillique, cinnamique et gallique avec treize flavonoïdes, parmi eux le kaempférol et la quercétine sont majoritaires. La différence entre ces métabolites peut s'occure au sein de la même variété en utilisant plusieurs solvants. Ceci a été montré par l'étude de Aylanc *et al.*, (2020) qui ont trouvé, tout en gardant les conditions expérimentales identiques, une variation dans le contenu de 12 composés bioactifs dans l'extrait méthanolique, éthanolique, acétate d'éthyle et aqueux des feuilles de fenugrec (*Trigonella spruneriana*).

Parmi les caractérisations ci-dessus, aucune étude n'a enregistré des quantités comparables en rutine, acide isoférulique et acide cinnamique dans les graines soulignant la richesse des graines de fenugrec locale qui pourrait être une source décente en composés bioactifs dotés d'un large spectre de propriétés thérapeutiques.

En résumé, la différence qualitative et quantitative dans la composition phénolique détectée d'après ces données peut être liée avec les distinctions au niveau de l'extrait, de la technique, des variétés des graines et des facteurs abiotiques. Ceci montre l'importance de

l'évaluation du contenu phénolique et de ne pas compter seulement sur la littérature. Chacune de ces molécules possède une large gamme des activités biologiques, que ce soit les acides phénoliques ou les flavonoïdes, qui ont été investigués en étant des molécules de signalisation, des agents antioxydants, antimicrobiens, antidiabétiques, anti-inflammatoires (Tsao, 2010 ; Kumar et Goel, 2019 ; De Paulo Farias *et al.*, 2021), ce qui confirme la valeur médicale des graines.

Le dosage élémentaire des graines de fenugrec locales a révélé une composition chimique riche en cuivre, zinc, sélénium, fer, magnésium, manganèse, molybdène. Une différence quantitative de statut mono-élémentaire a été constatée par Pathak et Agrawal (2014) et Mbarki *et al.*, (2017) par rapport à nos résultats du contenu minéral. Ceci a été expliqué par Rébufa *et al.*, (2021) en évoquant que les conditions édaphiques notamment le pH du sol peut influencer la disponibilité et l'assimilation des éléments minéraux par les plantes de la même espèce qui se traduit alors par une différence dans la concentration des éléments traces dosés. Nous avons visé le dosage des micronutriments suite à leur contribution dans les mécanismes biologiques y compris, leur intervention dans les processus de neutralisation en tant que cofacteur (Jones et Hodgson, 2011), dans les processus cellulaires tels que la signalisation, la division cellulaire et l'apoptose (Dubey *et al.*, 2020). En effet, leur déficience provoque un dérèglement dans les mécanismes cellulaires, fragilise la résilience défensive contre le stress oxydatif avec la progression de certaines maladies (Kazi *et al.*, 2008), donc une diète de fenugrec riche en minéraux semble être efficace ce qui renforce sa valeur médicale.

A l'égard des vitamines, nous avons pu doser seulement l'acide ascorbique dont sa concentration a été supérieure à celle trouvée par Srinivasan (2006) et Buba *et al.*, (2015). Il est certain que la vitamine C est un antioxydant exogène potentiel capable de neutraliser les formes réactives de l'oxygène grâce à sa fonction réductrice. D'ailleurs, l'acide ascorbique est couramment utilisé comme étant un standard pour tracer les courbes d'étalonnage nécessaires dans les tests antioxydants des plantes (Gegotek et Skrzydlewska, 2022).

De nombreuses études ont indiqué que les composés phénoliques sont les principaux contributeurs au potentiel antioxydant des plantes (Tsao, 2010 ; De Paulo Farias *et al.*, 2021 ; Feng *et al.*, 2023). De ce fait, nous avons évalué l'activité antioxydante des graines de fenugrec en testant leur activité anti-radicalaire et réductrice. Nos résultats ont montré que l'extrait expose un pouvoir piègeur vis-à-vis les radicaux DPPH[•] et ABTS^{•+}. Cette activité semble plus puissante que celle rapporté par Abeysekera *et al.*, (2018) via le piégeage des radicaux DPPH[•] (28,13±0,76 mg TE/g) et ABTS^{•+} (35,45±0,32 mg TE/g) dans l'extrait hydro-éthanolique des graines de fenugrec et celle rapporté par Kenny *et al.*, (2013) dans plusieurs extraits évalués par le test de

DPPH. De plus, l'extrait des GFL-M.Aq a révélé également une activité réductrice confirmée par la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} et de Mo^{6+} en Mo^{5+} , qui reste modérée par rapport à celles de plusieurs extraits organiques de graines de fenugrec investigués par Aylanc *et al.*, (2020) (FRAP : 75,64-78,95 mg TE/g, CAT : 47-65 mg TE/g) et plus puissante que l'activité de leur extrait aqueux. Dhull *et al.*, (2020) ont référé que l'extrait d'acétate d'éthyle de six cultivars de graines de fenugrec ont présenté un potentiel de réduction ferrique variant entre 36 et 44 mg QE/g et une activité antioxydante totale avec une moyenne de 19 mg AAE/g en termes de quercétine et d'acide ascorbique équivalent respectivement.

Plusieurs recherches ont admis que l'activité antioxydante est due aux composés phénoliques (Aylanc *et al.*, 2020 ; Dhull *et al.*, 2020 ; Lohvina *et al.*, 2022). Chimiquement parlant, ces composés ont la capacité de libérer un atome d'hydrogène de leurs groupes hydroxyles tout en réduisant les radicaux libres, en chélatant les métaux. De plus, ils interfèrent avec les réactions en chaînes des radicaux libres en formant des phenoxy-radicaux, composés intermédiaires relativement stables (Venkatesan *et al.*, 2019).

Le mécanisme possible de la neutralisation des radicaux DPPH \bullet et ABTS \bullet^{+} peut être corrélé aux groupes hydroxyles disponibles dans les acides phénoliques rapportés. Certaines études ont démontré que l'activité de piégeage des radicaux des composés phénoliques est largement influencée par le nombre de groupes hydroxyles sur le cycle aromatique (Lazarova *et al.*, 2014). D'autres ont attribué l'activité anti-radicalaire et réductrice du fenugrec à leurs flavonoïdes, en fonction de la disposition des groupes fonctionnels (Lohvina *et al.*, 2022). Selon Aylanc *et al.*, 2020, les atomes d'hydrogène des groupes hydroxyles adjacents (o-diphénol) au niveau des différentes positions des anneaux dans le composé, les doubles liaisons du cycle benzène et la double liaison du groupe fonctionnel oxo ($-\text{C} = \text{O}$) de certains flavonoïdes, leur confèrent une activité antioxydante élevée et cette constatation peut être clairement observée dans la quercétine et la catéchine. Cependant, comme Khole *et al.*, (2014) l'ont déclaré, nous estimons que l'activité antioxydante détectée du fenugrec est le résultat de l'interaction synergique entre les flavonoïdes et les acides phénoliques, étant donné qu'il est compliqué d'attribuer l'activité antioxydante de l'extrait à un seul ou plusieurs métabolites.

Tout comme les ERO, les AGEs formés par la réaction de Maillard sont des molécules extrêmement réactives qui favorisent la dérégulation de la physiologie cellulaire et les voies de signalisation. Les plantes ayant un potentiel antiglycatif sont un outil prometteur pour faire face à la progression des complications du diabète. Dans cette optique, l'extrait des GFL-M.Aq a été testé pour l'inhibition des produits finaux avancés de glycation dérivés de l'albumine. Nos

résultats sont compatibles avec ceux de Abeysekera *et al.*, (2018) ainsi que Anwar *et al.*, (2023), qui ont trouvé une forte activité antiglycative dans l'extrait éthanolique des graines de fenugrec.

L'action antiglycative du fenugrec pourrait être attribuée à l'acide isoféruleique et à l'acide cinnamique qui se trouvent majoritairement dans les graines. D'ailleurs, Khan *et al.*, (2020) ont affirmé que les dérivés de l'acide cinnamique y compris l'acide vanillique, chlorogénique, caféique, et isoféruleique sont des puissants inhibiteurs des AGEs en interférant avec la formation et le développement de carboxyméthyllysine (CML), un des produits de glycation des protéines induit par les monosaccharides. Étant un processus multi-réactionnel, l'inhibition de la glycation peut se produire à différents stades, que ce soit par la diminution de la formation des bases de Schiff, les produits d'Amadori ou par la diminution des intermédiaires dicarbonylés (Khan *et al.*, 2020 ; De Paulo Farias *et al.*, 2021). Par ailleurs, Anwar *et al.*, (2023) ont attribué l'inhibition des AGEs par l'extrait éthanolique des graines de fenugrec au blocage de résidu lysine de BSA, connu pour être le résidu initial impliqué dans ce processus, à la diminution des adduits de fructosamine, et à la réduction du taux de CML. Considérant son application dans les modèles de glycation BSA-glucose comme standard, la rutine et son abondance dans les graines de fenugrec pourrait être le principal actionnaire de son activité antiglycative à travers son groupe vicinyl dihydroxyle qui fournit un effet inhibiteur à tous les stades de la génération des AGEs. Ce flavanol-glycoside est considéré plus efficace que l'aminoguanidine (inhibiteur des AGEs) (Khan *et al.*, 2023). Prises ensemble, nos données suggèrent vigoureusement les graines de fenugrec locales comme une source prometteuse de composés antioxydants et antiglycant, formant ainsi une référence pour l'évaluation *in vivo* de leur efficacité.

Pour mettre en valeur les résultats de l'étude phytochimique des graines de fenugrec locales, nous avons procédé à une investigation *in vivo* de l'effet de ces graines chez des rats rendus diabétiques par la STZ. D'après les résultats de tous les paramètres dosés, aucune différence significative n'a été décelée entre les groupes non diabétiques (ND-0) et (ND-F), ceci divulgue que la poudre des graines de fenugrec locales supplémentée au régime alimentaire n'a aucun effet néfaste sur l'homéostasie métabolique, redox et tissulaire des rats. La dose des graines de fenugrec désignée (10 %) n'est donc pas toxique. Dans ce sens, Muralidhara *et al.*, (1999) ont confirmé dans une étude de toxicité sur les graines de fenugrec, qu'une dose de 10 % n'a causé ni de toxicité aigüe ni de toxicité subchronique chez des rats et des souris sains.

Nos résultats ont dévoilé une perte de masse corporelle malgré la polyphagie observée chez les rats diabétiques au cours de l'expérimentation, cette controverse est argumentée par le catabolisme compensatoire de la masse adipeuse et protéique structurelles comme un alternatif

de source énergétique en réponse à la carence d'insuline (Maidadi *et al.*, 2023). Pour la même raison, le glucose non métabolisé par les cellules empêche la régulation neuro-hormonale de la satiété en stimulant la prise alimentaire (polyphagie) comme une réponse comportementale au déficit énergétique au niveau cellulaire (Okon *et al.*, 2012). De plus, un syndrome polyuro-polydipsique a été constaté chez les rats diabétiques (D-0). En présence d'une hyperglycémie, les reins s'en chargent pour excréter le glucose non réabsorbé dans les urines, ce dernier étant un soluté osmotiquement actif il entraîne une diurèse osmotique (polyurie). Parallèlement, une soif intense (polydipsie) se manifeste suite à la perte excessive d'eau pour compenser la déshydratation (Petitclerc, 2003). Tous ces symptômes se sont manifestés chez nos rats diabétiques comme la consommation excessive en eau et en aliments pendant l'expérimentation. Nos résultats sont en accord avec ceux de Aouacheri *et al.*, (2015) et Maidadi *et al.*, (2023).

Toutefois, l'intervention diététique par la supplémentation de la poudre des graines de fenugrec chez les rats diabétiques (D-GFL) a pu atténuer ces symptômes du syndrome cardinal par la diminution de la prise hydrique et alimentaire. Ceci témoigne d'un contrôle glycémique exercé par les graines de fenugrec grâce à leur effet hypoglycémiant (Alsieni *et al.*, 2021). Ainsi, avoir une glycémie dans les limites physiologiques permet de rétablir l'homéostasie de la régulation neuroendocrinienne du comportement alimentaire et dipsique (Disse, 2017 ; Nigro *et al.*, 2018). Par ailleurs, le traitement avec le fenugrec a pu favoriser un gain de poids chez le groupe (D-GFL). Nos résultats corroborent avec ceux de Pradeep et Srinivasan (2017) en utilisant la même dose et la même période expérimentales. L'amélioration pondérale des rats traités (D-GFL) est attribuée à l'effet hypoglycémiant de graines de fenugrec, qui constitue un traitement étiologique avec leur effet orexigène, d'où utilisation traditionnelle de fenugrec comme un stimulateur potentiel d'appétit (Singh *et al.*, 2022). En effet, Elmnan *et al.*, (2012) ont confirmé expérimentalement la contribution de la poudre des graines de fenugrec à la prise corporelle chez des rats sains grâce à leur effet apéritif, sa valeur énergétique (350Kcal/100g) et leur profil nutritionnel riche en glucides et protéines qui pourrait ensemble contribuer au gain du poids (Habtemariam, 2019).

L'augmentation simultanée de la glycémie et l'Hb1Ac ainsi que l'hypo-insulinémie, observés chez nos rats diabétiques et ceux de l'étude de Hosseini *et al.*, (2020) sont en fait une réponse biochimique à la nécrose des cellule β provoquée par l'action de la STZ (diabète expérimental) et à la réaction auto-immune (diabète de type 1). Par conséquent, seules les cellules non endommagées sont fonctionnelles d'où la diminution de la sécrétion d'insuline responsable du contrôle de la glycémie (Gheibi *et al.*, 2017). Pour mettre en évidence un état diabétique, le dosage de la glycémie est généralement complétement par le dosage de

l'hémoglobine glyquée, dont le taux élevé enregistré chez les rats diabétiques (D-0) reflète la glycation non enzymatique de la chaîne β de l'Hb A par le glucose excédentaire dans le sang (OMS, 2011). D'après les résultats de Aughsteen et Mohammed (2002) et nos données concernant les concentrations sériques des enzymes pancréatiques, il semble que cette nécrose a touché également les acini périphériques ce qui explique concrètement la baisse significative de l'activité d'amylase et de la lipase chez les rats diabétiques. En effet, Lv *et al.*, (2021) ont éclairci que le diabète est certes une maladie endocrino-exocrine dans laquelle la perte de la masse bêta-cellulaire est cliniquement la plus perceptible.

Néanmoins, six semaines de consommation des graines de fenugrec locales ont permis d'ajuster le taux de l'insuline, de la glycémie ainsi que l'Hb1Ac. L'effet hypoglycémiant de graines de fenugrec constaté d'après nos résultats a été bien documenté que ce soit dans des études expérimentales (Knott *et al.*, 2017 ; Hosseini *et al.*, 2020) ou cliniques (Geberemeskel *et al.*, 2019 ; Najdi *et al.*, 2019). En fait, le 4-Hydroxy-isoleucine agit en stimulant la libération d'insuline d'une part et l'amélioration de son action en activant l'IRS-1, PI3K et la translocation de GLUT4 dans les organes insulino-dépendants de l'autre part (Avalos-Soriano *et al.*, 2016). D'après Subramanian et Prasath (2014), la trigonelline est douée d'un effet insulino-sensibilisant, dont son administration a pu réguler la glycémie et le taux de l'insuline. La diminution du taux d'Hb1Ac chez le groupe (D-GFL) est due à la diminution du taux de glucose dans le sang et à l'effet anti-glycatif du fenugrec, suggérant l'effet d'acide cinnamique, isoférule et de la rutine dans l'inhibition de la glycation de l'hémoglobine. De plus, les composés phénoliques peuvent exercer un effet antidiabétique et contribuer à l'homéostasie glycémique (De Paulo Farias *et al.*, 2021). D'ailleurs, cette dernière a été régulée suite à l'administration des flavonoïdes purifiés à partir des graines de fenugrec chez des rats diabétiques via l'amélioration de la sécrétion de l'insuline et la glycogénogenèse au niveau du foie (Jiang *et al.*, 2018).

Mohamed *et al.*, (2016) ont dévoilé que la panoplie des perturbations biochimiques qui se produisent typiquement dans le diabète, est apparente avec les perturbations observées dans les maladies hépatiques. En effet, nos résultats ainsi que ceux de Adeyemi *et al.*, (2014) affirment cette constatation par l'augmentation des activités d'ALAT, ASAT, ALP et LDH chez les rats diabétiques, une telle augmentation dans l'activité enzymatique au niveau du sang signifie une lésion hépatocytaire due probablement à une inflammation (Fagbohun *et al.*, 2020). Cette dernière est également à l'origine de la toxicité pancréatique induite par la STZ. Ces hypothèses émises ont été confirmées par l'augmentation parallèle :

- ✓ D'une part, de CRP, IL-6 et TNF α plasmatiques chez les rats diabétique (D-0), pareillement démontré par Heidari *et al.*, (2019). Il est admis que l'augmentation en CRP est succinctement un indicateur clinique d'inflammation (Tavakoly *et al.*, 2018). En sus, dans les conditions hyperglycémiques, le foie secrète la feutin A, une hépatotoxine qui provoque une surproduction du TNF- α et de l'IL-6, favorisant la signalisation inflammatoire et exacerbe la résistance à l'insuline en inhibant directement la translocation de GLUT4 (Iroz *et al.*, 2015). En plus du rôle pro-inflammatoire de l'hyperglycémie dans la libération en cascade de nombreux médiateurs et cytokines, l'accumulation des ERO provoque l'apoptose des hépatocytes et des cellules β qui finissent par un dysfonctionnement du foie et du pancréas (Mohamed *et al.*, 2016).
- ✓ Et d'autre part du bilan leucocytaire, une hyperleucocytose partielle décelée chez les rats diabétiques révèle une réponse inflammatoire comme il est démontré dans l'étude clinique de Menart-Houtermans *et al.*, (2014). A l'avenant avec nos résultats, Sun *et al.*, (2014) et Kheradmand *et al.*, (2021) ont affirmé la corrélation entre l'augmentation du nombre des leucocytes et l'augmentation des marqueurs inflammatoires dans le diabète.

Dans le même bilan, l'augmentation de la concentration des bilirubines chez les rats diabétiques est attribuée soit à la surproduction de la bilirubine indirecte comme produit de catabolisme d'hémoglobine (EL-Demerdash *et al.*, 2005), repérée par une diminution de l'Hb ; soit à un défaut de transport attribué à la carence en albumine, son transporteur ; soit à une altération au niveau du foie qui interfère avec le processus d'excrétion hépatique-biliaire de la bilirubine (Vitek, 2012). L'effet hépato-protecteur du fenugrec a été constaté suite à la restauration de presque tous les paramètres chez le groupe traité (D-GFL) (rehaussement des taux d'ALAT, ASAT, ALP, LDH, BIL-D, BIL-T et réduction des taux de CRP, TNF α et IL-6). Nos résultats sont en concordance avec ceux de Joshi *et al.*, (2015) et Alsieni *et al.*, (2021). Cet effet est dû à la composition chimique des graines de fenugrec en biomolécules à propriétés hépato-protectrices et anti-inflammatoires notamment la rutine et la quercétine. Ces composés ont été considérés efficaces contre les dommages hépatocellulaires, que ce soit en conditions diabétiques ou toxicologiques, via la diminution de l'accumulation des ERO et l'obstruction de la translocation des pro-cytokines inflammatoires dans le foie (Domitrovic *et al.*, 2012). De plus, le potentiel anti-inflammatoire des graines de fenugrec semble avoir augmenté l'immunocompétence des rats diabétiques présentée par la diminution des concentrations de GB, PN, MO et LY à un seuil physiologique. Ceci est un signe d'atténuation de la réponse immunitaire et rétablissement de l'intégrité structurale et fonctionnelle du lobule hépatique et du parenchyme pancréatique (Karami-Mohajeri *et al.*, 2022). Sun *et al.*, (2014) ont admet que

l'hyperglycémie est un facteur pro-inflammatoire alors que l'insuline est anti-inflammatoire. À cet égard, le fenugrec en étant hypoglycémiant avec des propriétés insulino-tropiques (Avalos-Soriano *et al.*, 2016) et insulino-sensibilisantes (Subramanian et Prasath, 2014), sa supplémentation semble être efficace pour atténuer les signaux inflammatoires stimulés par la glucotoxicité.

En plus de son rôle gluco-modulateur, l'insuline assure l'équilibre entre l'état anabolique et catabolique des lipides et des protéines, donc toute perturbation dans sa concentration détourne les voies métaboliques dans les tissus périphériques (Bolli *et al.*, 2021). Effectivement, nous avons repéré une augmentation des taux TG, CT et LDL ainsi qu'une diminution du HDL chez les rats diabétiques. Ces résultats sont soutenus par ceux de Adeyemi *et al.*, (2014) et Knott *et al.*, (2017). Cette dyslipidémie est due principalement à une hypo-insulinémie, ce qui stimule l'activité hydrolytique de lipase hormonosensible en favorisant la mobilisation des acides gras libre de tissu adipeux. En parallèle, le mal fonctionnement de la lipoprotéine lipase en absence de l'insuline entraîne l'accumulation des triglycérides et des LDL dans le sang. (Bolli *et al.*, 2021). Etant la lipoprotéine chargée pour le transport du cholestérol excédentaire vers le foie pour l'excrétion ou la réutilisation, un taux faible en HDL, favorise davantage l'accumulation du cholestérol circulatoire (Tomkin et Owens, 2017).

En accord avec nos résultats, l'effet hypolipidémiant du fenugrec a été démontré par l'étude de Kumar *et al.*, (2015) ainsi que celle de Mukthamba et Srinivasan (2015) chez des rats hypercholestérolémiques. Heshmat-Ghahdarjani *et al.*, (2020) ont estimé que la diminution du bilan lipidique est subséquente à l'effet anti-lithogène des saponines dérivées de fenugrec qui favorisent l'adipogenèse en stimulant le flux des TG vers le tissu adipeux et l'excrétion du cholestérol. De plus, le galactomannane est une fibre soluble qui empêche l'absorption des acides gras servant de substrat pour la synthèse des TG en inhibant les enzymes hydrolysantes (Fuller et Stephens, 2015 ; Rashid *et al.*, 2019).

L'hyperurémie, l'hyperuricémie et l'hypercréatininémie enregistrés chez les rats diabétiques évoquent un dysfonctionnement rénal se manifestant dans les conditions hyperglycémiques (Fagbohun *et al.*, 2020 ; Rodrigues *et al.*, 2020). Alors que dans les conditions physiologiques, la créatinine, l'urée et l'acide urique, issues du catabolisme protéo-musculaire et nucléaire, sont destinés pour l'élimination par voie rénale. De ce fait, leur augmentation reflète une sclérose glomérulaire potentielle (Sagoo et Gnudi, 2020). En outre, la diminution des concentrations sériques en albumine et protéines chez les rats diabétiques (D-0) peut s'observer dans le cadre du syndrome néphrotique discerné par une microalbuminurie et microprotéinurie (Sreekutty et Mini, 2016).

Plusieurs études, dont la nôtre, sont en consensus sur l'effet néphroprotecteur du fenugrec quelque soit l'approche adoptée (Mbarki *et al.*, 2017 ; Pradeep *et al.*, 2019 ; Hadi *et al.*, 2020). En effet, l'ajustement des paramètres rénaux suite à la supplémentation en fenugrec reflète une amélioration dans le débit de filtration glomérulaire à la faveur de l'effet hypoglycémiant des graines (Pradeep et Srinivasan, 2017 ; Hadi *et al.*, 2020). De plus, Jin *et al.*, (2014) ont estimé que l'atténuation des altérations glomérulaires est l'origine de l'amélioration du statut biochimique et redox des reins supportant l'effet antioxydant et néphroprotecteur des graines.

Bien que l'accent soit mis sur les perturbations biochimiques, il est également important de mettre en évidence, s'il y a des perturbations hématologiques chez les rats diabétiques. Concrètement, ces derniers ont présenté des altérations au niveau sanguin qui demeurent modiques. En effet, une diminution quantitative des hématies et qualitative par le biais de la diminution en Hb et CCMH soulignent une perte de la fonction oxyphorique des érythrocytes physiologiquement assurée par l'hémoglobine (Wang *et al.*, 2021). Subséquemment, aucune différence significative dans la numération plaquettaire et le taux de VGM n'a été décelée, estimant un taux des thrombocytes circulants et une taille des érythrocytes préservés. Il s'agit alors d'une anémie normocytaire potentielle médiée soit par une apoptose des cellules endommagées consécutive à la peroxydation lipidique membranaire des globules rouges (Fagbohun *et al.*, 2020), soit par un déficit en sécrétion d'érythropoïétine dans le cas d'un dysfonctionnement rénal, ce qui interfère avec l'érythropoïèse (Koyama *et al.*, 2023).

Les résultats de Pradeep et Srinivasan (2018) semblent être plus pertinents concernant l'effet hémato-modulateur des graines de fenugrec suite à la restauration du taux des hématies et des indices érythrocytaires grâce à leur potentiel antioxydant capable d'atténuer voire abolir la peroxydation lipidique (Kaviarasan *et al.*, 2004). Ceci pourrait s'opérer dans l'amélioration structurale, conformationnelle et fonctionnelle des globules rouges.

Le stress oxydatif a été lié à l'étiopathogénie des complications du diabète et sa progression (Del Rio *et al.*, 2005). En fait, nombreux processus moléculaires à savoir la O- et N-glycosylation, la voie des polyols, la voie des hexosamines, des AGEs et l'activation de la protéine kinase C, ont été décrites comme étant des mécanismes pro-oxydatifs qui sont souvent actifs dans les conditions hyperglycémiques (Ighodaro, 2018). Une surproduction des radicaux libres induit des modifications oxydatives au niveau des biomolécules notamment l'ADN, les protéines et les lipides, ce qui se reflète nuisiblement sur l'intégrité et la fonction des tissus, y compris le foie, les reins et le pancréas (Pizzino *et al.*, 2017). Dans un tel contexte, il est important d'investiguer le statut redox endogène chez les rats diabétiques, qui ont montré expérimentalement une diminution du taux de GSH avec une augmentation du taux de MDA

dans la totalité des tissus étudiés. Des résultats approximatifs ont été enregistrés par Aydın *et al.*, (2019) ; Rodrigues *et al.*, (2020) et Sani *et al.*, (2022).

Le MDA est un produit de l'oxydation des acides gras polyinsaturés (Yaribeygi *et al.*, 2019). De ce fait, avoir un taux élevé en MDA est un indice reflétant l'ampleur de stress oxydatif dans le foie, le rein et le pancréas des rats diabétiques. En plus de la dégradation oxydative des acides gras par les ERO, l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme acyl-CoA oxydase, qui initie la β -oxydation (Sivajothi *et al.*, 2008). En conséquence, la peroxydation lipidique induit une défaillance cellulaire en altérant la perméabilité et la fluidité membranaire ainsi que le dynamisme et le fonctionnement des récepteurs et des enzymes membranaires (Alachaher, 2018). Del Rio *et al.*, (2005) ont estimé que le MDA est une molécule hautement toxique qui doit être envisagée comme plus qu'un simple marqueur de peroxydation lipidique. Cet aldéhyde formé est potentiellement mutagène et athérogène vis-à-vis de sa réaction avec l'ADN et les protéines.

Le GSH est un antioxydant non enzymatique qui neutralise les dérivés actifs de l'oxygène (Aouacheri *et al.*, 2015), en agissant comme un cofacteur ou substrat qui peut s'oxyder et se réduire en constance (Tangvarasittichai, 2015). La surproduction des radicaux libres active davantage le cycle redox GSH, comme un processus naturel de détoxification qui s'achève par l'oxydation et la conjugaison de GSH avec les ERO en échange de leur élimination (Espinosa-Diez *et al.*, 2015). De plus, le maintien du rapport GSH/GSSG à son taux physiologique requiert le NADPH comme cofacteur (Zitka *et al.*, 2012). En contrepartie, une diminution en NADPH suite à sa consommation dans la conversion excessive du glucose en sorbitol (voie des polyols), abaisse la régénération du GSH, ce qui explique sa diminution dans les conditions hyperglycémiques (Bhatti *et al.*, 2022).

Un changement homéostatique dans le taux réduit du GSH et le taux élevé du MDA a été constaté suite au traitement aux graines chez les rats (D-GFL). En concordance avec nos résultats, l'effet antioxydant des graines de fenugrec a été évoqué expérimentalement que ce soit sous la forme de poudre (Mukthamba et Srinivasan, 2017), d'extrait (Joshi *et al.*, 2015), ou d'huile (Parveen *et al.*, 2019). La diminution du MDA suggère une inhibition de la peroxydation lipidique qui peut être attribué à l'action des polyphénols totaux et individuels présents en quantité appréciable d'après les résultats des analyses spectrophotométriques et chromatographiques. Ces composés phénoliques sont des antioxydants naturels aptes de neutraliser les espèces radicalaires par piégeage ou chélation des ions métalliques responsables de leur génération, ce qui pourrait limiter la propagation de la lipoperoxydation (Tewari *et al.*, 2020). L'isolat protéique des graines de fenugrec s'est avéré riche en cystéine, glycine et

glutamate (Feyzi *et al.*, 2015), des acides aminés précurseurs du glutathion permettant sa synthèse. En outre, les données du profil minéral des graines indiquent la présence du sélénium, un minéral qui renforce l'activité de la GPx séléno-dépendantes permettant ainsi la régénération du GSH et la correction du ratio GSH/GSSG (Habtemariam, 2019 ; Lee et Park, 2021).

En plus, la diminution de l'activité des enzymes antioxydantes dans le foie, les reins et le pancréas des rats diabétiques pourrait pencher sur l'incidence d'un stress oxydatif hépatique, rénale et pancréatique. Ces résultats concordent avec ceux de Adeyemi *et al.*, (2014) et Sani *et al.*, (2022). Les peroxydes notamment le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques sont enzymatiquement réduits par la catalase, aussi par la GPx et la GST en conjuguant le GSH (Lee et Park, 2021). La baisse de l'activité de ces enzymes est due à la génération excessive des ERO, comme sous-produits ou produits finaux, par les voies pro-oxydatifs promues par l'hyperglycémie (Ighodaro, 2018) et l'activation des réactions de Fenton (Tangvarasittichai, 2015). Etant un cofacteur, la déplétion du GSH intracellulaire pourrait aussi concourir à la diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (Adeyemi *et al.*, 2014). Ainsi, un cycle vicieux est installé à l'état hyperglycémique, entre les ERO et le déficit en antioxydants endogènes qui, de sa part engendre plus des ERO, ce qui explique les conséquences pathologiques dans le diabète.

L'administration de 10 % GFL a amélioré substantiellement l'activité des enzymes antioxydantes. Ces résultats sont cohérents avec ceux des études de Jin *et al.*, (2014) ; Sharma *et al.*, (2015) ; Mukthamba et Srinivasan (2017) et Alsieni *et al.*, (2021), réalisées sur les feuilles et les graines de fenugrec. Plusieurs études ont attribué le potentiel antioxydant des graines en particulier aux flavonoïdes, suite à leur pouvoir chélateur et piègeur (Xue *et al.*, 2011 ; Luan *et al.*, 2018 ; Tewari *et al.*, 2020). Considérant les résultats de HPLC-DAD-LFD, les composés majoritaires y compris la rutine, quercétine, kaempférol, acide cinnamique, isoférulique et p-coumarique ont été rapportés d'avoir une activité redox qui leur permet d'agir comme des agents réducteurs et donneurs d'hydrogène (Khloe *et al.*, 2014 ; Tsao, 2010 ; Aylanc *et al.*, 2020). D'ailleurs, c'est les composés phénoliques qui qualifient majoritairement mais pas exclusivement le potentiel antioxydant de fenugrec (Syed *et al.*, 2020), les minéraux observés dans les graines (Cu, Zn, Se, Mg) interviennent également dans les processus de détoxification, dont la présence ainsi que l'apport de ces oligo-éléments conditionnent l'activité des enzymes antioxydantes en agissant comme des cofacteurs (Jones et Hodgson, 2011 ; Mbarki *et al.*, 2017). De même, l'augmentation du taux de GSH intracellulaire chez les rats traités (D-GFL), pourrait booster l'activité des enzymes notamment la GPx qui s'appuie sur sa réduction (Lee et Park, 2021). En plus, l'acide ascorbique est un antioxydant non enzymatique apte de contrer les attaques

radicalaires (Matough *et al.*, 2012). Ainsi, une supplémentation riche en vit C, comme évoqué ci-dessus pourrait épauler les antioxydants enzymatiques et potentialiser le système de défense.

Après avoir mis en exergue les séquelles physiopathologiques de l'hyperglycémie chez les rats diabétiques, nous pouvons donc dévoiler que l'effet cytotoxique de la STZ et des ERO (Gheibi *et al.*, 2017), l'hyperlipidémie (Doycheva *et al.*, 2020), l'hyperglycémie et l'accumulation tissulaire des AGE (Pradeep et Srinivasan, 2018) expliquent respectivement, l'atrophie du pancréas, l'hypertrophie hépatique et la néphromégalie chez les rats diabétiques (D-0). En effet, l'action nécrotique de la STZ se manifeste par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans, ce qui induit la perte partielle de la masse constitutive du pancréas (Szkudelski, 2012). Dans les conditions hypo-insulinémiques, les acides gras en excès s'affluent vers le foie, où ils s'accumulent sous forme de triglycérides, ce cumul dans les hépatocytes, pourrait être l'origine de l'augmentation du poids relatif hépatique (Eleazu *et al.*, 2013). Selon Habib, (2018), le gain de la masse rénale peut-être attribué à un déséquilibre entre l'accumulation des protéines synthétisées et la dégradation des protéines disponibles. Ceci aboutit à l'expansion des cellules épithéliales tubulaires proximales du rein. L'amélioration du poids relatifs hépatique, rénale et pancréatique est attribuée donc au traitement étiologique suite à l'ingestion de la poudre des GFL grâce à leur effet hypoglycémiant, antioxydant, hypolipidémiant, comme nous l'avons débattu précédemment.

Ces troubles physiopathologiques ont été investigués histologiquement dans le foie, les reins et le pancréas. L'altération des caractéristiques micro-anatomiques survenues, explique de façon concomitante, l'impact cytotoxique de la STZ en tant qu'agent diabétique et les troubles biochimiques et physiologiques du diabète (Gheibi *et al.*, 2017). D'après la photomicrographie réalisée sur les coupes, nous avons constaté que la toxicité de la STZ chez les rats diabétiques a connu les divergences suivantes :

- ✓ Sévèrement toxique pour le pancréas, vu que les cellules β pancréatiques sont plus vulnérables aux dommages radicalaires, suite à leur faible réserve en antioxydants (Bhatti *et al.*, 2022). Cette toxicité a été exprimée par une insulite, autrement dit, l'inflammation des cellules bêta de Langerhans et leur infiltration par les cellules lymphocytaires (Deeds *et al.*, 2011), qui a entraîné la nécrose des cellules β ainsi que les acini (Campbell-Thompson *et al.*, 2013), ce qui explique étiologiquement l'insuffisance sécrétoire endocrine (déficit en insuline) et exocrine (déficit en amylase et lipase).
- ✓ Médiocrement toxique pour le foie, illustré par l'apparition de caryorrhexie, qui en résulte de la fragmentation nucléaire des hépatocytes ensuite leur nécrose (Mendes-Braz et Martins,

2018). En plus, l'action alkylantes de la STZ (Gheibi *et al.*, 2017) et le rôle délétère des radicaux libres expliquent la défaillance du profil hépatique (Mohamed *et al.*, 2016).

- ✓ Moyennement toxique pour les reins, compromettant l'intégrité du glomérule par l'intermédiaire de l'hyperglycémie et la production excessive des ERO (Pradeep et Srinivasan, 2017), justifiant la pénurie de la filtration glomérulaire qui se traduit par l'augmentation du profil rénale.

Nos résultats étayent bien un lien corrélatif entre les anomalies histopathologiques et les altérations biochimiques dépistées ci-dessus. Notant, la divergence de toxicité est basée sur l'affinité de la STZ, un homologue structural du glucose, pour le transporteur de glucose GLUT2 présenté sur la membrane du pancréas, foie, reins et intestins, dont les cellules β de Langerhans les expriment en concentration élevée par rapport aux autres organes (Deeds *et al.*, 2011). Parallèlement en physiologie, l'altération pancréatique liée à une insulinopénie ou insulino-résistance engendre des changements métaboliques altérant les fonctions homéostatiques hépatiques et rénales (Alsieni *et al.*, 2021). Des observations histopathologiques similaires ont été illustrées par Arya *et al.*, (2014) et Sani *et al.*, (2022) avec un écart de lésion, qui pourrait être attribué aux conditions du diabète expérimental. En effet, les altérations structurelles examinées chez les rats diabétiques montrent les séquelles de la coopération entre hyperglycémie, ERO et les marqueurs pro-inflammatoires qui fonctionnent en synergie sur les tissus (Halim et Halim, 2019 ; Heidari *et al.*, 2019).

Néanmoins, l'administration de fenugrec chez les rats (D-GFL) a induit une amélioration de l'intégrité architecturale. En outre, l'effet cyto-protecteur des graines de fenugrec a été histologiquement démontré par une régénération tissulaire du parenchyme hépatique aboutissant à l'amélioration de la fonction métabolique du foie. De même, une reconstitution partielle du parenchyme pancréatique menant à la redynamisation de la fonction amphotérique du pancréas et une amélioration tissulaire du cortex rénal, l'origine de l'amélioration de la fonction de filtration du néphron. D'ailleurs, les observations de la microscopie optique et électronique réalisées par Thakran *et al.*, (2004) et Jin *et al.*, (2014) s'appuient sur notre étude. L'effet cytoprotecteur de fenugrec est attribué conjointement à la diminution voire l'abolition des attaques radicalaires et inflammatoires grâce au profil phytochimique et multi-minérale des graines de fenugrec riches en antioxydants naturels capables de freiner les ERO et les cytokines (Tavakoly *et al.*, 2018). Ces composés bioactifs agissent synergiquement afin de compenser les altérations biochimiques, tout en atténuant, réparant la perte tissulaire et optimisant la restauration de l'intégrité tissulaire et fonctionnelle des organes.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude a été conçue dans l'objectif d'évaluer le potentiel des graines de fenugrec cultivées dans des conditions sahariennes contre le diabète et ses complications. Ceci s'intègre dans le cadre de la mise en œuvre des nouvelles approches antidiabétiques naturelles qui pourraient faciliter leur inclusion dans le système de soin et de la santé.

À l'issue des résultats de l'étude phytochimique, il s'est conclu que :

- L'extrait hydro-méthanolique des graines de fenugrec locales exhibe des teneurs substantielles en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes et saponines totaux ainsi qu'un profil riche en composés phénoliques y compris des dérivés d'acide hydroxycinnamique, hydroxybenzoïque et majoritairement des flavanols.
- L'extrait est doué d'une activité antioxydante montrant le potentiel antiradicalaire contre DPPH⁺ et ABTS^{•+} et réducteur des Fe³⁺ et Mo⁶⁺.
- L'extrait est caractérisé par une activité inhibitrice face à la glycation des AGEs formés à partir du BSA.
- Les graines de fenugrec locales possèdent un profil copieux en oligo-éléments.

Ces constatations expérimentales ont été potentialisées par une étude biologique, d'après laquelle il est déduit que :

La STZ a réussi à mimer la physiopathologie du diabète en accélérant la survenue des complications manifestées par des perturbations biochimiques, hématologiques, physiologiques, oxydatifs et histologiques.

En l'occurrence, le traitement avec 10 % du fenugrec a pu atténuer les fluctuations métaboliques et oxydatives chez des rats diabétiques, ceci est attribué à la synergie de :

- Effet hypoglycémiant des graines : restitution d'une glycémie physiologique par l'augmentation d'insuline et l'amélioration de l'Hb1Ac.
- Effet hépato-protecteur des graines : amélioration de la fonction hépatique par réduction des biomarqueurs sériques d'atteinte hépatocellulaire
- Effet néphroprotecteur des graines : amélioration de la fonction rénale par réduction des biomarqueurs sériques d'atteinte rénale
- Effet hémato-modulateur des graines en améliorant les paramètres hématologiques
- Effet hypolipidémiant des graines : atténuation de la dyslipidémie par diminution du bilan lipidique sérique.

- Effet anti-inflammatoire des graines : atténuation d'inflammation par diminution des marqueurs pro-inflammatoires plasmatiques.
- Effet antioxydant des graines : rétablissement du statut redox cellulaire par augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes et la diminution de la peroxydation lipidique.
- Effet physio-modulateur des graines : amélioration des paramètres pondéraux (corporel et relatif) ainsi que l'atténuation du syndrome métabolique.
- Effet cytoprotecteur des graines : atténuation et amélioration des altérations histologiques hépatique, rénale et pancréatique.

Dans l'ensemble, les graines de fenugrec peuvent être une source potentielle en rutine et acide férulique grâce à leurs concentrations significatives, ainsi que d'autres composés biologiquement actifs qui seront avantageux dans la conception et l'innovation des agents préventifs et thérapeutiques à partir des antioxydants naturels, dont les propriétés susmentionnées qualifient les graines de fenugrec comme un outil décent contre le diabète et ces complications.

Ceci étant constaté, il serait judicieux de compléter cette étude par :

- Isolement et purification des molécules significatives dans cette variété locale qui feront l'objet dans la pharmacognosie.
- Etude phytochimique comparative entre les graines de fenugrec locales et les graines d'origine indienne.
- Etude moléculaire qui sert à explorer les mécanismes d'action responsable des activités biologiques des graines.
- Etude clinique observationnelle ou randomisée en testant les graines sur des humains volontaire pour évaluer l'innocuité et efficacité des graines.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abeysekera, W. K. M., Abayarathna, U. P. T. C., Premakumara, G. A. S., Jayasooriya, M. C. N., & Abeysekera, W. P. K. M. (2018). Anti-Glycation and Glycation Reversing Potential of Fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum*) Seed Extract. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 3(1), 3138-3140.
- Acharjee, S., Ghosh, B., Al-Dhubiab, B. E., & Nair, A. B. (2013). Understanding Type 1 Diabetes: Etiology and Models. *Canadian Journal of Diabetes*, 37(4), 269–276.
- Adeyemi, D. O., Ukwenya, V. O., Obuotor, E. M., & Adewole, S.O. (2014). Anti-hepatotoxic activities of *Hibiscus sabdariffa* L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 277.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
- Ahluwalia, R. (2012). Management strategies for diabetes. In J. Vora, & M. Evans (Eds.), *Managing Diabetes* (pp. 19-31). Springer HealthCare.
- Ahmad, A., Alghamdi, S. S., Mahmood, K., & Afzal, M. (2016). Fenugreek a multipurpose crop: Potentialities and improvements. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(2), 300–310.
- Ahmed, N. (2005). Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 67(1), 3–21.
- Ait Youssef, M. (2006). *Plantes médicinales de kabylie* (p. 347). Ibis Press.
- Akbari, S., Nour, A. H., & Yunus, R. M. (2020). Determination of phenolics and saponins in fenugreek seed extracted via microwave-assisted extraction method at the optimal condition. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736(2), 022024
- Akhtari, E., Ram, M., Zaidi, S. M. A., Marques, A. M., Rahimi, R., & Bahramsoltani, R. (2024). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in Women's Health: A Review of Clinical Evidence and Traditional Use. *Journal of Herbal Medicine*, 43, 100816.
- Alachaher, F. Z. (2018). *Effet de la supplémentation des graines brunes de lin sur le profil lipidique et des statuts redox et inflammatoire chez les rats rendus diabétique par la*

- streptozotocine* [Thèse de doctorat, Université d'Oran Ahmed Ben Bella]. <https://theses-algerie.com/4865130807885294>
- Al-Asadi, J. N. (2014). Therapeutic Uses of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Fenugreek Special Issue. *American Journal of Social Issues and Humanities*, 3-4, 21-36.
- Alsieni, M. A., El Rabey, H. A., Al-Sieni, A. I., & Al-Seeni, M. N. (2021). Comparison between the Antioxidant and Antidiabetic Activity of Fenugreek and Buckthorn in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Hindawi BioMed Research International*, 2021(10), 1-12.
- American Diabetes Association (ADA). (2015). Standards of Medical Care in Diabetes: Summary of Revisions. *Diabetes Care*, 38(Supplement 1).
- Anwar, L., Ali, S. A., Khan, S., Uzairullah, M. M., Mustafa, N., Ali, U. A., Siddiqui, F., Bhatti, H. A., Rehmani, S. J., & Abbas, G. (2023). Fenugreek seed ethanolic extract inhibited formation of advanced glycation end products via scavenging reactive carbonyl intermediates. *Heliyon*, 9(6), e16866.
- Aouacheri, O., Saka, S. (2021). Cytoprotective Effects of *Zingiber officinale* Against the Oxidative Stress Induced by Lead Acetate Toxicity in Rats. *Phytotherapie*, 19(5-6), 297-305.
- Aouacheri, O., Saka, S., Krim, M., Messaadia, A., & Maida, I. (2015). The investigation of the oxidative stress-related parameters in type 2 diabetes mellitus. *Canadian journal of diabetes*, 39(1), 44-49.
- Arya, A., Al-Obaidi, M. M. J., Shahid, N., Bin Noordin, M. I., Looi, C. Y., Wong, W. F., Khaing, S. L., & Mustafa, M. R. (2014). Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: A mechanistic study. *Food and Chemical Toxicology*, 71, 183–196.
- Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018). Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants. *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*, 153–167.
- Auberval, N. (2010). *Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle* [Thèse de doctorat, Université de Strasbourg]. <https://theses.fr/2010STRA6147>

- Aughsteen, A. A., & Mohammed, F. I. (2002). Insulin enhances amylase and lipase activity in the pancreas of streptozotocin-diabetic rats: An in vivo study. *Saudi Medical Journal*, 23(7), 838–844.
- Avalos-Soriano, A., De La Cruz-Cordero, R., Rosado, J. L., & Garcia-Gasca, T. (2016). 4-Hydroxyisoleucine from Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): Effects on Insulin Resistance Associated with Obesity. *Molecules*, 21(11), 1596.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–31.
- Aydın, S., Bacanlı, M., Anlar, H. G., Çal, T., Arı, N., Bucurgat, Ü. Ü., & Başaran, N. (2019). Preventive role of Pycnogenol against the hyperglycemia-induced oxidative stress and DNA damage in diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 124, 54-63
- Aylanc, V., Eskin, B., Zengin, G., Dursun, M., & Cakmak, Y. S. (2020). In vitro studies on different extracts of fenugreek (*Trigonella spruneriana* BOISS.): Phytochemical profile, antioxidant activity, and enzyme inhibition potential. *Journal of Food Biochemistry*, 44(11). e13463.
- B**
-
- Baraka-Vidot, J. (2014). *Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion - Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée* [Thèse de doctorat, Université de la Réunion]. <https://theses.hal.science/tel-01155664>
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266–272.
- Baudin, B. (2021). Oligoéléments cofacteurs enzymatiques. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2021(533), 18–24.
- Belaïd-Nouira, Y., Bakhta, H., Haouas, Z., Flehi-Slim, I., & Ben Cheikh, H. (2013). Fenugreek seeds reduce aluminum toxicity associated with renal failure in rats. *Nutrition Research and Practice*, 7(6), 466-474.
- Belhadj, M., Arbouche, Z., Brouri, M., Malek, R., Semrouni, M., Zekri, S., Nadir, S., & Abrouk, S. (2019). BAROMÈTRE Algérie : enquête nationale sur la prise en charge des personnes diabétiques. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 13(2), 188–194.

- Belhattab, R., Amor, L., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Figueiredo, A. C. (2014). Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(2), 243–251.
- Benayad, Z., Gómez-Cordovés, C., & Es-Safi, N. E. (2014). Characterization of Flavonoid Glycosides from Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Crude Seeds by HPLC–DAD–ESI/MS Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20668–20685.
- Bensiamour-Touati, K., Kacimi, G., Haffaf, E., & Aouichat-Bouguerra, S. (2019). Effet antioxydant d'un extrait aqueux de *Nigella sativa* sur le diabète alloxanique induit chez le rat wistar et sur l'histologie du pancréas. *Nutrition & Santé*, 8(2), 61-71.
- Benziane, M. N. A., Acem, K., Aggad, H., & Abdali, M. (2019). Phytochemistry, HPLC profile and antioxidant activity of aqueous extracts of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) seeds grown in arid zones of Algeria. *Acta Scientifica Naturalis*, 6(2), 71–87.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15–27.
- Bhatti, J. S., Sehrawat, A., Mishra, J., Sidhu, I. S., Navik, U., Khullar, N., Kumar, S., Bhatti, G. K., & Reddy, P. H. (2022). Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radical Biology and Medicine*, 184, 114-134.
- Biteau, B., Labarre, J., & Toledano, M. B. (2003). ATP-dependent reduction of cysteine–sulphinic acid by *S. cerevisiae* sulphiredoxin. *Nature*, 425(6961), 980–984.
- Boitard, C. (2020). Les diabètes : de la génétique à l'environnement. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 204(5), 493-499.
- Bolli, G. B., Porcellati, F., Lucidi, P., & Fanelli, C. G. (2021). The physiological basis of insulin therapy in people with diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 175, 108839.
- Bondia-Pons, I., Aura, A. M., Vuorela, S., Kolehmainen, M., Mykkanen, H., & Poutanen, K. (2009). Rye phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereals Science*, 49(3), 323- 336.

- Bouhenni, H., Doukani, K., Hanganu, D., Olah, N., Şekeroğlu, N., Gezici, S., Spinu, M., & Niculae, M. (2021). Comparative analysis on bioactive compounds and antioxidant activity of Algerian fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and Syrian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds (in press). *Herba Polonica*, 67(1), 1-17.
- Bouzabata, A., & Mahomoodally, M. F. (2020). A quantitative documentation of traditionally-used medicinal plants from Northeastern Algeria: Interactions of beliefs among healers and diabetic patients. *Journal of Herbal Medicine*, 22, 100318.
- Boyer, F. (2016). *Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses* [Thèse de doctorat, Université de la Réunion, France]. <https://theses.hal.science/tel-01379536>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Buba, F., Ngura, U., & Abdulrahman, A. A. (2015). Studies on the physicochemical properties of fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum* L.) seeds. *Der Pharmacia Lettre*, 7(3), 104-107.
- Butkowski, E. (2020). Oxidative stress markers in diabetes. In V. R. Preedy (Ed.), *Diabetes: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants* (2nd ed., pp. 3–11). Academic Press.
- Buttner, D. H., Reddy, S., Koekemoer, T., & Van De Venter, M. (2021). An in vitro assessment of the potential antidiabetic activity and cytotoxic effects of ethanolic and aqueous extracts from three invasive Australian acacias. *South African Journal of Botany*, 141, 1–11.

C

- Cadet, J., Delatour, T., Douki, T., Gasparutto, D., Pouget, J. P., Ravanat, J. L., & Sauvaigo, S. (1999). Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1-2), 9–21.
- Calvet, H. M., & Yoshikawa, T. T. (2001). INFECTIONS IN DIABETES. *Infectious Disease Clinics of North America*, 15(2), 407–421.
- Campbell-Thompson, M., Rodriguez-Calvo, T., & Battaglia, M. (2015). Abnormalities of the Exocrine Pancreas in Type 1 Diabetes. *Current Diabetes Reports*, 15(10), 79

- Capeau, J. (2003). Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance. *Médecine/Sciences*, 19(8-9), 834-839.
- Capozzi, M. E., D'Alessio, D. A., & Campbell, J. E. (2022). The past, present, and future physiology and pharmacology of glucagon. *Cell metabolism*, 34(11), 1654-1674.
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1158198.
- Chawla, A., Chawla, R., & Jaggi, S. (2016). Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum? *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 20(4), 546-51.
- Chelbi, L., Ferhati, H., Rizi, A., Chelbi, N., & Bairi, A. (2025). Anti-hyperglycemic Potential of Algerian *Trigonella foenum-graecum* L. Seed Extract in Type 1 Diabetic Rats: Combined In Vivo Studies and In Silico Docking Analysis of Bioactive Phenolic Compounds. *Chemistry & Biodeversity*, 22(6), e202402836.
- Choudhury, H., Pandey, M., Hua, C. K., Mun, C. S., Jing, J. K., Kong, L., Ern, L. Y., Ashraf, N. A., Kit, S. W., Yee, T. S., Pichika, M. R., Gorain, B., & Kesharwani, P. (2017). An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8(3), 361–376.
- Christ, B., & Müller, K. H. (1960). Zur serienmäßigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonol-Derivaten in Drogen. *Archiv Der Pharmazie*, 293(12), 1033–1042.
- Cillard, J., & Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 13(1), 24–29.
- Cloutier, A. (2009). *Effet neuroprotecteur et modulation du système antioxydant dans le cerveau par l'acide linoléique conjugué* [Thèse de doctorat, Université de Québec]. <https://espace.inrs.ca/id/eprint/168/>
- Čolak, E., & Žorić, L. (2019). Antioxidants and Age-Related Macular Degeneration. In V. R. Preedy, & R. R. Watson (Eds.), *Handbook of Nutrition, Diet, and the Eye* (2nd ed., pp. 85–106). Academic Press.

D

- Davies, K. J. (2001). Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie*, 83(3-4), 301–10.
- Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., Eberhardt, N. L., & Kudva, Y. C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory Animals*, 45(3), 131-140
- Defraigne, J. O. (2005). Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète. *Revue Médicale de Liège*, 60, 472-478.
- Delbosc, S., Cristol, J. P., Descomps, B., Chénard, J., & Sirois, P. (2001). De l'oxygène à l'anion superoxyde. Peut-on moduler la NADPH oxydase ? *Journal de La Société de Biologie*, 195(4), 401–411.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316–328.
- Dembele, K. M. (2006). *Les diabètes secondaires dans le service de médecine interne de l'hôpital du point «g»* [Thèse de doctorat de médecine, Université de Bamako]. <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/7926>
- De Paulo Farias, D., De Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021). Antidiabetic potential of dietary polyphenols: A mechanistic review. *Food Research International*, 145, 110383.
- Déclaration d'Helsinki de l'AMM – Principes éthiques applicables à la recherche médicale impliquant des participants humains. (1964). 18e assemblée générale de l'Association Médicale Mondiale, Helsinki, Finlande. https://www.wma.net/wp-content/uploads/2024/05/DoH-Jun-1964_F.pdf
- Dhull, S. B., Kaur, M., & Sandhu, K. S. (2020). Antioxidant characterization and in vitro DNA damage protection potential of some Indian fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) cultivars: effect of solvents. *Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 3457-3466.
- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(17), 5377.

- Disse, E. (2017). Régulation neuro-hormonale de la prise alimentaire. *Annales d'Endocrinologie*, 78(4), 202–205.
- Dixit, P., Ghaskadbi, S., Mohan, H., & Devasagayam, T. P. A. (2005). Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytotherapy Research*, 19(11), 977–983.
- Domitrović, R., Jakovac, H., Vasiljev Marchesi, V., Vladimir-Knežević, S., Cvijanović, O., Tadić, Ž., Romić, Ž., & Rahelić, D. (2012). Differential hepatoprotective mechanisms of rutin and quercetin in CCl₄-intoxicated BALB/cN mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33(10), 1260–1270.
- Doycheva, I., Zhang, T., Amjad, W., & Thuluvath, P. J. (2020). Diabetes and Hepatocellular Carcinoma: Incidence Trends and Impact of Liver Disease Etiology. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 10(4), 296–303.
- Dubey, P., Thakur, V., & Chattopadhyay, M. (2020). Role of Minerals and Trace Elements in Diabetes and Insulin Resistance. *Nutrients*, 12(6), 1864.
- Durand, K. (2018). *Diabètes et stress oxydant* [Thèse de doctorat, Université de Aix Marseille]. <https://theses.hal.science/tel-01379536>

E

- El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., & El-Naga, N. I. (2005). Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and chemical toxicology*, 43(1), 57-63.
- Eleazu, C. O., Iroaganachi, M., Okafor, P. N., Ijeh, I. I., & Eleazu, K. C. (2013). Ameliorative Potentials of Ginger (*Z. officinale* Roscoe) on Relative Organ Weights in Streptozotocin induced Diabetic Rats. *International Journal of Biomedical Sciences*, 9(2), 82-90.
- Elmnan, A., Balgees, A., & Mangara, J. L. (2012). Effect of Fenugreek (*Trigonella foenmgreacum*) seed dietary levels on lipid profile and body weight gain of rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(11), 1004-1008.
- Emeraux, E. (2019). *Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante* [Thèse de doctorat, Université de Lorraine]. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297878>

- Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biology*, 6, 183-197.
- Etuk, E. U. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(2), 130-134.
- F**
-
- Fagbohun, O. F., Awoniran, P. O., Babalola, O. O., Agboola, F. K., & Msagati, T. A. M. (2020). Changes in the biochemical, hematological and histopathological parameters in STZ-Induced diabetic rats and the ameliorative effect of *Kigelia africana* fruit extract. *Heliyon*, 6(5), e03989.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*, 63(6), 965-81.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Fédération internationale de diabètes (FID). (2025). IDF Diabetes Atlas, (11th ed). Brussels, Belgium. <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>
- Feng, Y., Jin, C., Lv, S., Zhang, H., Ren, F., Wang, J. (2023). Molecular Mechanisms and Applications of Polyphenol-Protein Complexes with Antioxidant Properties: A Review. *Antioxidants*. 12, 1577.
- Ferré, P. (2007). Signalisation insulínique et résistance à l'insuline. *Thérapie*, 62(4), 277–284.
- Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F., & Varidi, M. J. (2015). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed protein isolate: extraction optimization, amino acid composition, thermo and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(15), 3165–3176.
- Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in enzymology*, 105, 114-120.
- Fuller, S., & Stephens, J. M. (2015). Diosgenin, 4-hydroxyisoleucine, and fiber from fenugreek: mechanisms of actions and potential effects on metabolic syndrome. *Advances in Nutrition*, 6(2), 189-197.

G

- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6275.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*, 91-95.
- Geberemeskel, G. A., Debebe, Y. G., & Nguse, N. A. (2019). Antidiabetic Effect of Fenugreek Seed Powder Solution (*Trigonella foenum-graecum* L.) on Hyperlipidemia in Diabetic Patients. *Journal of Diabetes Research*, 2019, 1-8.
- Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants*, 11(10), 1993.
- Géraldine, R. (2015). *Présentation d'une classe thérapeutique innovante dans le traitement du diabète de type 2 : les inhibiteurs de la dpp-4*. Université Paul Sabatier.
- Gheibi, S., Kashfi, K., & Ghasemi, A. (2017). A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: Incorporating a high-fat diet and streptozotocin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 605–613.
- Giacco, F., & Brownlee, M. (2010). Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research*, 107(9), 1058–1070.
- González, P., Lozano, P., Ros, G., & Solano, F. (2023). Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9352.

H

- Habib, S. L. (2018). Kidney atrophy vs hypertrophy in diabetes: which cells are involved? *Cell Cycle*, 17(14), 1683-1687.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.

- Habtermariam, S. (2019). The chemical and pharmacological basis of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as potential therapy for type 2 diabetes and associated diseases. In S. Habtermariam (Ed.), *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases* (pp. 579–637). Academic Press.
- Hadi, A., Arab, A., Hajianfar, H., Talaei, B., Miraghajani, M., Babajafari, S., Marx, W., & Tavakoly, R. (2020). The effect of fenugreek seed supplementation on serum irisin levels, blood pressure, and liver and kidney function in patients with type 2 diabetes mellitus: A parallel randomized clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 49, 102315.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Halim, M., & Halim, A. (2019). The effects of inflammation, aging and oxidative stress on the pathogenesis of diabetes mellitus (type 2 diabetes). *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 13(2), 1165-1172.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- Hasan, M. M., Ahmed, Q. U., Mat Soad, S. Z., & Tunna, T. S. (2018). Animal models and natural products to investigate in vivo and in vitro antidiabetic activity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 833–841.
- Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11), e05609.
- Heidari, F., Rabizadeh, S., Ali Mansournia, M.A., Mirmiranpoor, H., Salehi, S. S., Akhavan, S., Esteghamati, A., & Nakhjavani, M. (2019). Inflammatory, oxidative stress and anti-oxidative markers in patients with endometrial carcinoma and diabetes. *Cytokine*, 120, 186–190.
- Heshmat-Ghahdarjani, K., Mashayekhiasl, N., Amerizadeh, A., Teimouri Jervekani, Z., & Sadeghi, M. (2020). Effect of fenugreek consumption on serum lipid profile : A systematic review and meta-analysis. *Phytotherapy Research*, 34(9), 2230-2245.

- Hiai, S., Oura, H., & Nakajima, T. (1976). COLOR REACTION OF SOME SAPOGENINS AND SAPONINS WITH VANILLIN AND SULFURIC ACID. *Planta Medica*, 29(2), 116–122.
- Higgins, M. R., Izadi, A., & Kaviani, M. (2020). Antioxidants and Exercise Performance: With a Focus on Vitamin E and C Supplementation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(22), 8452.
- Hörber, S., Achenbach, P., Schleicher, E., & Peter, A. (2019). Harmonization of immunoassays for biomarkers in diabetes mellitus. *Biotechnology Advances*, 39, 107359.
- Hosseini, S. A., Hamzavi, K., Safarzadeh, H., & Salehi, O. (2020). Interactive effect of swimming training and fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) extract on glycemic indices and lipid profile in diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 129(2), 349-353.
- Houlot, R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Ed Maloine.

I

- Ibuki, F. K., Bergamaschi, C. T., Da Silva Pedrosa, M., & Nogueira, F. N. (2020). Effect of vitamin C and E on oxidative stress and antioxidant system in the salivary glands of STZ-induced diabetic rats. *Archives of Oral Biology*, 116, 104765.
- Ighodaro, O. M. (2018). Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 656–662.
- Ilonen, J., Lempainen, J., & Veijola, R. (2019). The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(11), 635–650.
- Iroz, A., Couty, J. P., & Postic, C. (2015). Hepatokines: unlocking the multi-organ network in metabolic diseases. *Diabetologia*, 58(8), 1699–1703.
- Issad, T. (2010). O-GlcNAc glycosylation et régulation de la signalisation cellulaire. *Médecine/sciences*, 26(8-9), 753–759.

J

- Jarald, E., Joshi, S. B., & Jain, D. C. (2008). Diabetes and herbal medicines. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 7(1), 97-106.

- Jena, A. B., Samal, R. R., Bhol, N. K., & Duttaroy, A. K. (2023). Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162, 114606.
- Jeon, Y. G., Kim, Y. Y., Lee, G., & Kim, J. B. (2023). Physiological and pathological roles of lipogenesis. *Nature Metabolism*, 5(5), 735–759.
- Jiang, W., Si, L., Li, P., Bai, B., Qu, J., Hou, B., Zou, H., Fan, X., Liu, Z., Liu, Z., & Gao, L. (2018). Serum metabolomics study on antidiabetic effects of fenugreek flavonoids in streptozotocin-induced rats. *Journal of Chromatography B*, 1092, 466–472.
- Jin, Y., Shi, Y., Zou, Y., Miao, C., Sun, B., & Li, C. (2014). Fenugreek Prevents the Development of STZ-Induced Diabetic Nephropathy in a Rat Model of Diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014(1), 1–11.
- Johns, E. C., Denison, F. C., Norman, J. E., & Reynolds, R. M. (2018). Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 29(11), 743-754.
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, 97(10), 2499–2574.
- Jones, G. P., & Hodgson, J. M. (2011). Minerals. In M. L. Wahlqvist (Ed.), *Food and Nutrition: Food and health systems in Australia and New Zealand* (3rd ed., p. 13). Routledge.
- Joshi, D. V., Patil, R. R., & Naik, S. R. (2015). Hydroalcohol extract of *Trigonella foenum-graecum* seed attenuates markers of inflammation and oxidative stress while improving exocrine function in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 53(2), 201-211.

K

- Kakani, R. K., Anwer, M. M. (2012). Fenugreek. In K. V. Peter (Ed.), *Handbook of herbs and species* (pp. 286-295). Woodhead Publishing Limited.
- Karamanou, M., Protogerou, A., Tsoucalas, G., Androustos, G., & Poulakou-Rebelakou, E. (2016). Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World J Diabetes*, 7(1), 1-7.

- Karami-Mohajeri, S., Mohammadinejad, R., Ashrafizadeh, M., Mohamadi, N., Mohajeri, M., & Sharififar, F. (2022). Diosgenin: Mechanistic Insights on its Anti-inflammatory Effects. *Anti-inflammatory & Antiallergy Agents in Medicinal Chemistry*, 21(1), 2-9.
- Katsarou, A., Gudbjörnsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17016.
- Kaviarasan, S., Vijayalakshmi, K., & Anuradha, C. V. (2004). Polyphenol-rich extract of fenugreek seeds protect erythrocytes from oxidative damage. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(4), 143-147.
- Kazi, T. G., Afridi, H. I., Kazi, N., Jamali, M. K., Arain, M. B., Jalbani, N., & Kandhro, G. A. (2008). Copper, Chromium, Manganese, Iron, Nickel, and Zinc Levels in Biological Samples of Diabetes Mellitus Patients. *Biological Trace Element Research*, 122(1), 1–18.
- Kenny, O., Smyth, T. J., Hewage, C. M., & Brunton, N. P. (2013). Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and bitter melon (*Momordica charantia*) fruit. *Food Chemistry*, 141(4), 4295–4302.
- Khan, M., Liu, H., Wang, J., & Sun, B. (2020). Inhibitory effect of phenolic compounds and plant extracts on the formation of advance glycation end products: A comprehensive review. *Food Research International*, 130, 108933.
- Kheradmand, M., Ranjbaran, H., Alizadeh-Navaei, R., Yakhkeshi, R., & Moosazadeh, M. (2021). Association between White Blood Cells Count and Diabetes Mellitus in Tabari Cohort Study: A Case-Control Study. *International Journal of Preventive Medicine*, 12, 121.
- Khole, S., Chatterjee, S., Variyar, P., Sharma, A., Devasagayam, T. P. A., & Ghaskadbi, S. (2014). Bioactive constituents of germinated fenugreek seeds with strong antioxidant potential. *Journal of Functional Foods*, 6, 270–279.
- King, G. L., & Loeken, M. R. (2004). Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochemistry and Cell Biology*, 122(4), 333–338.

- Knott, E. J., Richard, A. J., Mynatt, R. L., Ribnicky, D., Stephens, J. M., & Bruce-Keller, A. (2017). Fenugreek supplementation during high-fat feeding improves specific markers of metabolic health. *Scientific Reports*, 7(1), 12770.
- Koyama, A. K., Lundeen, E., Bullard, K. M., & Pavkov, M. E. (2023). Prevalence of anemia and associated All-Cause mortality among adults with Diabetes: The role of chronic kidney disease. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 200, 110695.
- Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P., & Georgakilas, A. G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2), 193–201.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–16.
- L**

- Lamri, L., Gripiotis, E., & Ferrario, A. (2014). Diabetes in Algeria and challenges for health policy: a literature review of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications. *Global Health*, 10(1), 11.
- Lee, S. E., & Park, Y. S. (2021). The Emerging Roles of Antioxidant Enzymes by Dietary Phytochemicals in Vascular Diseases. *Life (Basel)*, 11(3), 199.
- Lehmann, H. (2013). *Le médicament à base de plantes en Europe : statut, enregistrement, contrôles* [Thèse de doctorat, Université de Strasbourg]. <https://theses.hal.science/tel-00936734>
- Liga, S., Paul, C., & Péter, F. (2023). Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. *Plants*, 12(14), 2732.
- Limonier, A. S. (2018). *La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie* [Thèse de doctorat. Université Aix Marseille]. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01840619>

- Liu, J., Du, C., Beaman, H. T., & Monroe, M. B. B. (2020). Characterization of Phenolic Acid Antimicrobial and Antioxidant Structure–Property Relationships. *Pharmaceutics*, 12(5), 419.
- Liu, M., Weiss, M. A., Arunagiri, A., Yong, J., Rege, N., Sun, J., Haataja, L., Kaufman, R. J., & Arvan, P. (2018). Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20(S2), 28–50.
- Locigno, R., & Castronovo, V. (2001). Reduced glutathione system: Role in cancer development, prevention and treatment (Review). *International Journal of Oncology*, 19(2), 221-36.
- Loft, S., Høgh Danielsen, P., Mikkelsen, L., Risom, L., Forchhammer, L., & Møller, P. (2008). Biomarkers of oxidative damage to DNA and repair. *Biochemical Society Transactions*, 36(5), 1071–1076.
- Lohvina, H., Sándor, M., & Wink, M. (2022). Effect of Ethanol Solvents on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Seed Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Varieties and Determination of Phenolic Composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity*, 14(1), 7.
- Lazarova, I., Zengin, G., Aktumsek, A., Gevrenova, R., Ceylan, R., & Uysal, S. (2014). HPLC–DAD analysis of phenolic compounds and antioxidant properties of *Asphodeline lutea* roots from Bulgaria and Turkey. *Industrial Crops and Products*. 61, 438-441.
- Luan, G., Wang, Y., Wang, Z., Zhou, W., Hu, N., Li, G., & Wang, H. (2018). Flavonoid Glycosides from Fenugreek Seeds Regulate Glycolipid Metabolism by Improving Mitochondrial Function in 3T3-L1 Adipocytes in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(12), 3169–3178
- Lv, Y., Wei, Q., Yuan, X., Sun, J., Zhang, J., Qi, L., Bao, J., Su, X., & Li, L. (2021). Two sides of the pancreas: Exocrine insufficiency is correlated with endocrine dysfunction in type 2 diabetes. *Clinica Chimica Acta*, 523, 81-86.

M

- Magnan, C., & Ktorza, A. (2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC - Endocrinologie*, 2(4), 241–264.

- Mahaffy, J. M., & Edelstein-Keshet, L. (2007). Modeling Cyclic Waves of Circulating T Cells in Autoimmune Diabetes. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 67(4), 915–937.
- Maidadi, B., Ntchapda, F., Miaffo, D., & Mahamad, A. T. (2023). Diabetes mellitus: Preventive and curative therapies with aqueous extract of *Rytigynia senegalensis* Blume (Rubiaceae) in Wistar rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 13(4), 358-367.
- Maisto, M., Piccolo, V., Novellino, E., Schiano, E., Iannuzzo, F., Ciampaglia, R., Summa, V., & Tenore, G. C. (2023). Optimization of Ursolic Acid Extraction in Oil from Annurca Apple to Obtain Oleolytes with Potential Cosmeceutical Application. *Antioxidants*, 12(2), 224.
- Marfella, R., D’Onofrio, N., Sirangelo, I., Rizzo, M. R., Capoluongo, M. C., Servillo, L., & Balestrieri, M. (2014). Polyphenols, Oxidative Stress, and Vascular Damage in Diabetes. In V. R. Preedy (Ed.), *Diabetes: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants* (pp. 145–156). Academic Press.
- Matough, F. A., Budin, S. B., Hamid, Z. A., Alwahaibi, N., & Mohamed, J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidantts in diabetic complications. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 12(1), 5-18.
- Mbarki, S., Alimi, H., Bouzenna, H., Elfeki, A., & Hfaiedh, N. (2017). Phytochemical study and protective effect of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek seeds) against carbon tetrachloride-induced toxicity in liver and kidney of male rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 19–26
- McIntyre, H. D., Catalano, P., Zhang, C., Desoye, G., Mathiesen, E. R., & Damm, P. (2019). Gestational diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 47.
- Melkonian, E. A., Asuka, E., & Schury, M. P. (2023). *Physiology, Gluconeogenesis*. In StatPearlsV. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541119/>
- Menart-Houtermans, B., Rütter, R., Nowotny, B., Rosenbauer, J., Koliaki, C., Kahl, S., Simon, M. C., Szendroedi, J., Schloot, N., & Roden, M. (2014). Leukocyte Profiles Differ Between Type 1 and Type 2 Diabetes and Are Associated With Metabolic Phenotypes: Results From the German Diabetes Study (GDS). *Diabetes Care*, 37(8), 2326–2333.
- Mendes-Braz, M., & Martins, J. O. (2018). Diabetes Mellitus and Liver Surgery: The Effect of Diabetes on Oxidative Stress and Inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2018, 1-11

- Mério, C. (2008). L'autocontrôle glycémique en pratique. *Actualités Pharmaceutiques*, 47 (478), 6-26.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405–412.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68–78.
- Moghadam, F. H., Vakili-Zarch, B., Shafiee, M., Mirjalili, A. (2013). Fenugreek seed extract treats peripheral neuropathy in pyridoxine induced neuropathic mice. *EXCLI Journal*, 12, 282-290.
- Mohamed, J., Nazratun Nafizah, A. H., Zariyantey, A. H., & Budin, S. B. (2016). Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 16(2), e132-41.
- Mohammedi, Z., & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 609-615.
- Moldogazieva, N. T., Mokhosoev, I. M., Mel'nikova, T. I., Porozov, Y. B., & Terentiev, A. A. (2019). Oxidative Stress and Advanced Lipoxidation and Glycation End Products (ALEs and AGEs) in Aging and Age-Related Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–14.
- Mosbah, H., & Andreelli, F. (2012). Physiologie de la sécrétion d'insuline. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 6(3), 215–219.
- Mukthamba, P., & Srinivasan, K. (2015). Hypolipidemic influence of dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and garlic (*Allium sativum*) in experimental myocardial infarction. *Food & Function*, 6(9), 3117–3125.
- Mukthamba, P., & Srinivasan, K. (2017). Dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and garlic (*Allium sativum*) alleviates oxidative stress in experimental myocardial infarction. *Food Science and Human Wellness*, 6(2), 77–87.
- Muralidhara, N., Narasimhamurthy, K., Viswanatha, S., & Ramesh, B. S. (1999). Acute and subchronic toxicity assessment of debitterized fenugreek powder in the mouse and rat. *Food Chem Toxicol*, 37(8), 831-838.

N

- Nagulapalli Venkata, K. C., Swaroop, A., Bagchi, D., & Bishayee, A. (2017). A small plant with big benefits: Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) for disease prevention and health promotion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(6), 1600950.
- Najdi, R. A., Hagraas, M. M., Kamel, F. O., & Magadmi, R. M. (2019). A randomized controlled clinical trial evaluating the effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) versus glibenclamide in patients with diabetes. *African Health Sciences*, 19(1), 1594-1601.
- Nam, T. G. (2011). Lipid Peroxidation and Its Toxicological Implications. *Toxicological Research*, 27(1), 1–6.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2004). *Lehninger. Principles of Biochemistry* (5th ed.). W. H. Freeman & Co.
- Nicolas, S. (2017). *Modulation de l'homéostasie glucidique par transfert de microbiote intestinal chez la souris conventionnelle. Endocrinologie et métabolisme* [Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier - Toulouse III]. <https://theses.hal.science/tel-01589668>
- Nigro, N., Grossmann, M., Chiang, C., & Inder, W. J. (2018). Polyuria-polydipsia syndrome: a diagnostic challenge. *Internal Medicine Journal*, 48(3), 244–253.

O

- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Ojo, O. A., Ibrahim, H. S., Rotimi, D. E., Ogunlakin, A. D., & Ojo, A. B. (2023). Diabetes mellitus: From molecular mechanism to pathophysiology and pharmacology. *Medicine in Novel Technology and Devices*, 19, 100247.
- Okon, U. A., Owo, D. U., Udokang, N. E., Udobang, J. A., & Ekpenyong, C. E. (2012). Oral administration of aqueous leaf extract of *Ocimum gratissimum* ameliorates polyphagia, polydipsia and weight loss in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3), 45-49.
- Organisation mondiale de la santé (OMS) (World Health Organization WHO). (2011). Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated

Report of a WHO Consultation. Geneva, Switzerland.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26158184/>

Organisation mondiale de la santé (OMS). (2016). Rapport mondiale sur le diabète. Critères de diagnostic du diabète et de l'hyperglycémie intermédiaire actuellement recommandés par L'OMS (Annexe A). Genève, Suisse. <https://iris.who.int/>

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

Ouznadji, A., & Desmons, A. (2020). Les réactions d'oxydation des protéines et leurs biomarqueurs. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020(522), 31–38.

Oyediji, O., Oziegbe, M., & Taiwo, F. O. (2011). Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(7), 1192-1199.

P

Pal, D., & Mukherjee, S. (2020). Fenugreek (*Trigonella foenum*) Seeds in Health and Nutrition. In V. R. Preedy, & R. R. Watson (Eds.). *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, (2nd ed., pp. 161–170). Academic Press.

Pandian, R. S., Anuradha, C. V., & Viswanathan, P. (2002). Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(3), 393–397.

Paneque, A., Fortus, H., Zheng, J., Werlen, G., & Jacinto, E. (2023). The Hexosamine Biosynthesis Pathway: Regulation and Function. *Genes (Basel)*, 14(4), 933.

Parveen, K., Siddiqui, W. A., Arif, J. M., Kuddus, M., Shahid, S. M. A., & Kausar, M. A. (2019). Evaluation of vegetables and fish oils for the attenuation of diabetes complications. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand)*, 65(7), 38-45.

Patel, D. K., Prasad, S. K., Kumar, R., & Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4), 320–330.

Pathak, N., & Agrawal, S. (2014). Atomic Absorption Spectrophotometer Analysis For Determination Of Variation In Mineral Content In Fenugreek Genotypes Cultivated At

- Three Different Locations. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3(2), 40-45.
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223.
- Petitclerc, T. (2003). Syndrome polyuropolydipsique. *EMC Néphrologie*, 4-6.
- Petre, V., Thomas, J. L., & Bouillanne, O. (2018). Traitement et prévention du syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire du sujet âgé hospitalisé ou en institution. *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie*. 18(108), 343-347.
- Petropoulos, G. A. (2002). *Fenugreek: The genus Trigonella*. CRC Press.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(1), 8416763.
- Pradeep, S. R., Barman, S., & Srinivasan, K. (2019). Attenuation of diabetic nephropathy by dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and onion (*Allium cepa*) via suppression of glucose transporters and renin-angiotensin system. *Nutrition*, 67-68, 110543.
- Pradeep, S. R., & Srinivasan, K. (2017). Amelioration of hyperglycemia and associated metabolic abnormalities by a combination of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and onion (*Allium cepa*) in experimental diabetes. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28(5), 493-505.
- Pradeep, S. R., & Srinivasan, K. (2018). Haemato-protective influence of dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds is potentiated by onion (*Allium cepa* L.) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 98, 372–381.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337–341.
- Pullar, J., Carr, A., & Vissers, M. (2017). The Roles of Vitamin C in Skin Health. *Nutrients*, 9(8), 866.

R

- Raccach, D. (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*, 1(1), 29-42.
- Rahman, M. S., Hossain, K. S., Das, S., Kundu, S., Adegoke, E. O., Rahman, M. A., Hannan, M, A., Uddin, M, J., & Pang, M. G. (2021). Role of Insulin in Health and Disease: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6403.
- Rahmani, M., Hamel, L., Toumi-Benali, F., Dif, M. M., Moumen, F., & Rahmani, H. (2018). Determination of antioxidant activity, phenolic quantification of four varieties of fenugreek *Trigonella foenum graecum* L. seed extract cultured in west Algeria. *J. Mater. Environ. Sci*, 9(6), 1656-1661.
- Ramachandran, A. (2014). Know the signs and symptoms of diabetes. *Indian Journal of Medical Research*, 140(5), 579-81.
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruits and Vegetable Products* (2nd ed.). Tata McGraw-Hill.
- Rashid, R., Ahmad, H., Ahmed, Z., Rashid, F., & Khalid, N. (2019). Clinical investigation to modulate the effect of fenugreek polysaccharides on type-2 diabetes. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 19(8), 100194.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231–1237.
- Rébufa, C., Dupuy, N., & Bombarda, I. (2021). AComDim, a multivariate tool to highlighting impact of agroclimatic factors on *Moringa oleifera* Lam. leaf's composition from their FTIR-ATR profiles. *Vibrational Spectroscopy*, 116, 103297.
- Rewers, A. (2018). Acute Metabolic Complications in Diabetes. In C.C. Cowie, S. S Casagrande, A. Menke, M. A. Cissell, M. S. Eberhardt, J. B. Meigs, E. W. Gregg, W. C. Knowler, E. Barrett-Connor, D. J. Becker, F. L. Brancati, E. J. Boyko, W. H. Herman, B. V. Howard, K. M. V. Narayan, M. Rewers, & J. E. Fradkin (Eds.), *Diabetes in America* (3rd ed., pp. 1-19). National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.

- Richard, M. J., Belleville, F., Chalas, J., Ceballos-Picot, I., Vitoux, D., Boyer, M. J., Chaudière, J., & Favier, A. (1997). Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Annales de Biologie Clinique*, 55(3), 195- 208.
- Rigalleau, V., Lang, J., & Gin, H. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *EMC - Endocrinologie - Nutrition*, 4(3), 1–12.
- Rodrigues, W. J., Bhagya, N., & Chandrashekar, K. R. (2020). Antidiabetic activity of *Naregamia alata* in streptozotocin induced diabetic rats and associated mechanism of action. *Synergy*, 11(3), 100064.
- Rouibi, A. (2018). Propriétés Pharmacologiques De L'extrait Aqueux Et Des Huiles Essentielles Des Graines De Fenugrec (*trigonella Foenum-graecum. L.*). *Agrobiologia*, 8(1), 913-919.
- Rubio, C. P., & Cerón, J. J. (2021). Spectrophotometric assays for evaluation of Reactive Oxygen Species (ROS) in serum: general concepts and applications in dogs and humans. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 226.
- S**
-
- Saad, B., & Said, O. (2011) *Greco-Arab and Islamic herbal medicine: traditional system, ethics, safety, efficacy, and regulatory issues*. John Wiley & Sons, Inc.
- Sagoo, M. K., & Gnudi, L. (2020). Diabetic Nephropathy: An Overview. *Methods in molecular biology*, 2067, 3-7.
- Salam, S. G. A., Rashed, M. M., Ibrahim, N. A., Rahim, E. A. A., Aly, T. A. A., & Al-Farga, A. (2023). Phytochemical screening and in-vitro biological properties of unprocessed and household processed fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) seeds and leaves. *Scientific Reports*, 13(1), 7032.
- Sani, S., Lawal, B., Ejeje, J. N., Aliu, T. B., Onikanni, A. S., Uchewa O. O., Ovoh, J. C., Ekpa, F. U., Ozoagu, C. D., Akuma, T. S., Onyeji, S. C., Obialor, A., Alotaibi, S. S., Albogami, S. M., De Waard, M., Batiha, G. S., Huang, T. H., & Wu, A. T. H. (2022). Biochemical and tissue physiopathological evaluation of the preclinical efficacy of *Solanum torvum* Swartz leaves for treating oxidative impairment in rats administered a β -cell-toxicant (STZ). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113605.

- Saxena, R., & Batra, J. (2020). Arthritis as a disease of aging and changes in antioxidant status. In V. R. Preedy, & V. B. Patel (Eds.), *AGING: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants* (2nd ed., pp. 83-94). Academic Press.
- Scheen, A. J. (2018). Perspectives dans le traitement pharmacologique du diabète de type 2 pour les 10 prochaines années. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 12(2), 174–181.
- Schlienger, J. L. (2013). Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42(5), 839–848.
- Shaikh, J. R., & Patil, M. K. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603-608.
- Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., & Verdian-rizi, M. (2008). Spectrophotometric Determination of Total Alkaloids in Some Iranian Medicinal Plant. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32, 17-20.
- Shamsi, S. (2018). *Basic encyclopedia and basic pharmacology of Tib e Nabawi* (2nd ed., pp. 104-108). www.tib-e-nabi-for-vou.com
- Sharma, S., Mishra, V., Jayant, S. K., & Srivastava, N. (2015). Effect of *Trigonella foenum graecum* L on the Activities of Antioxidant Enzyme and Their Expression in Tissues of Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 20(3), 203–211.
- Sharma, S. D., Pandey, B. N., Mishra, K. P., & Sivakami, S. (2002). Amadori product and age formation during nonenzymatic glycosylation of bovine serum albumin in vitro. *Journal of Biochemistry Molecular Biology and Biophysics*, 6(4), 233-242.
- Silver, B., Ramaiya, K., Andrew, S. B., Fredrick, O., Bajaj, S., Kalra, S., Charlotte, B. M., Claudine, K., & Makhoba, A. (2018). EADSG Guidelines: Insulin Therapy in Diabetes. *Diabetes Therapy*, 9(2), 449–492.
- Singh, N., Yadav, S. S., Kumar, S., & Narashiman, B. (2022). Ethnopharmacological, phytochemical and clinical studies on Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Food Bioscience*, 46, 101546.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.

- Sivajothi, V., Dey, A., Jayakar, B., & Raj Kapoor, B. (2008). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effect of *phyllanthus rheedii* on streptozotocin induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1), 53-59.
- Soni, A., & Sosa, S. (2013). Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Potential of Herbal and Medicinal Plant Extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4), 22-29.
- Sreekutty, M. S., & Mini, S. (2016). *Ensete superbum* ameliorates renal dysfunction in experimental diabetes mellitus. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(1), 111-118.
- Srikanth, K. K., & Orrick, J. A. (2022). *Biochemistry, Polyol Or Sorbitol Pathways*. In StatPearls. StatPearls Publishing. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576381/>
- Srinivasan, K. (2006). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A Review of Health Beneficial Physiological Effects. *Food Reviews International*, 22(2), 203–224.
- Subramanian, S. P., & Prasath, G. S. (2014). Antidiabetic and antidyslipidemic nature of trigonelline, a major alkaloid of fenugreek seeds studied in high-fat-fed and low-dose streptozotocin-induced experimental diabetic rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(4), 475–480.
- Sun, J., Ren, J., Hu, X., Hou, Y., & Yang, Y. (2021). Therapeutic effects of Chinese herbal medicines and their extracts on diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 111977.
- Sun, Q., Li, J., & Gao, F. (2014). New insights into insulin: The anti-inflammatory effect and its clinical relevance. *World Journal of Diabetes*, 5(2), 89-96.
- Syed, Q. A., Rashid, Z., Ahmad, M. H., Shukat, R., Ishaq, A., Muhammad, N., & Rahman, H. U. (2020). Nutritional and therapeutic properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): a review. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1777–1791.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*, 237(5), 481–490.

T

- Tan, S. Y., Wong, J. L. M., Sim, Y. J., Wong, S. S., Elhassan, S. M., Tan, S. H., Lim, G. P. L., Tay, N. W. R., Annan, N. C., Bhattamisra, S. K., & Candasamy, M. (2018). Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential

- intervention. *Diabetes & Metabolic Syndrome Clinical Research & Reviews*, 13(1), 364–372.
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456-480.
- Tanti, J. F., Gual, P., Grémeaux, T., Gonzalez, T., Barrès, R., & Le Marchand-Brustel, Y. (2004). Alteration in insulin action: role of IRS-1 serine phosphorylation in the retroregulation of insulin signalling. *Annales d'Endocrinologie*, 65(1), 43–48.
- Tavakoly, R., Maracy, M. R., Karimifar, M., & Entezari, M. H. (2018). Does fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed improve inflammation, and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus? A parallel group randomized clinical trial. *European Journal of Integrative Medicine*, 18, 13–17.
- TeSlaa, T., Ralser, M., Fan, J., & Rabinowitz, J. D. (2023). The pentose phosphate pathway in health and disease. *Nature Metabolism*, 5(8), 1275–1289.
- Tewari, D., Jóźwik, A., Łysek-Gładysińska, M., Grzybek, W., Adamus-Białek, W., Bicki, J., Strzałkowska, N., Kamińska, A., Horbańczuk, O. K., & Atanasov, A. G. (2020) Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Seeds Dietary Supplementation Regulates Liver Antioxidant Defense Systems in Aging Mice. *Nutrients*, 12(9), 2552.
- Thakran, S., Siddiqui, & Baquer, N. Z. (2004). *Trigonella foenum graecum* seed powder protects against histopathological abnormalities in tissues of diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1-2), 151–159
- Tomic, D., Shaw, J. E., & Magliano, D. J. (2022). The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 18, 525–539.
- Tomkin, G., & Owens, D. (2017). Diabetes and dyslipidemia: characterizing lipoprotein metabolism. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 10, 333–343.
- Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M. A., Nilsa, R. D., & Huang, P. (2008). Redox Regulation of Cell Survival. *Antioxidants & Redox Signaling*, 10(8), 1343–1374.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.

Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13, 4-14.

U

Uceda, A. B., Mariño, L., Casasnovas, R., & Adrover, M. (2024). An overview on glycation: molecular mechanisms, impact on proteins, pathogenesis, and inhibition. *Biophysical Reviews*, 16, 189–218.

Uemura, T., Goto, T., Kang, M. S., Mizoguchi, N., Hirai, S., Lee, J., Nakano, Y., Shono, J., Hoshino, S., Taketani, K., Tsuge, N., Narukami, T., Makishima, M., Takahachi, N., & Kawada, T. (2011). Diosgenin, the main aglycon of fenugreek, inhibits LXR $\hat{\pm}$ activity in HepG2 cells and decreases plasma and hepatic triglycerides in obese diabetic mice. *Journal of Nutrition*, 141, 17-23.

USDA Plants, (2018). Classification for kingdom Plantae down to species *Trigonella foenum-graecum* L. <https://plants.usda.gov/> (Consulté 27/05/2024).

V

Valanciene, E., Jonuskiene, I., Syrpas, M., Augustiniene, E., Matulis, P., Simonavicius, A., & Malys, N. (2020). Advances and Prospects of Phenolic Acids Production, Biorefinery and Analysis. *Biomolecules*, 10(6), 874.

Valgimigli, L. (2023). Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection. *Biomolecules*, 13(9), 1291.

Vasiljević, J., Torkko, J. M., Knoch, K. P., & Solimena, M. (2020). The making of insulin in health and disease. *Diabetologia*, 63(10), 1981–1989.

Venkatesan, T., Choi, Y. W., & Kim, Y. K. (2019). Impact of Different Extraction Solvents on Phenolic Content and Antioxidant Potential of *Pinus densiflora* Bark Extract. *BioMed Research International*, 2019, 1–14.

Vítek, L. (2012). The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases. *Frontiers in pharmacology*, 3, 55.

W

Wang, Y., Yang, P., Yan, Z., Liu, Z., Ma, Q., Zhang, Z., Wang, Y., & Su, Y. (2021). The Relationship between Erythrocytes and Diabetes Mellitus", *Journal of Diabetes Research*, 2021, 6656062.

Web : https://fr.wikipedia.org/wiki/Hassi_Khalifa (Consulté le 02/06/2024).

Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40(3), 257-264.

Wróblewski, M., Wróblewska, J., Nuskiewicz, J., Pawłowska, M., Wesołowski, R., & Woźniak, A. (2023). The Role of Selected Trace Elements in Oxidoreductive Homeostasis in Patients with Thyroid Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4840.

X

Xue, W., Lei, J., Li, X., & Zhang, R. (2011). Trigonella foenum- graecum seed extract protects kidney function and mor- phology in diabetic rats via its antioxidant activity. *Nutrition Research*, 31, 555–562.

Y

Yaribeygi, H., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2019). A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. *Journal of Cellular Physiology*, 234(2), 1300-1312.

Yoshikawa, T., Toyokuni, S., Yamamoto, Y., & Naito, Y. (2000). *Free radicals in chemistry biology and medicine*, OICA International.

Yoshinari, O., & Igarashi, K., (2010). Anti-diabetic effect of trigonelline and nicotinic acid, on KKAY mice. *Current Medicinal Chemistry*, 17(20), 2196-2202.

Z

Zandi, P., Basu, S. K., Khatibani, L. B., Balogun, M. O., Aremu, M. O., Sharma, M., Kumar, A., Sengupta, R., Li, X., Li, Y., Tashi, S., Hedi, A., & Cetzal-Ix, W. (2014). Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) seed: a review of physiological and biochemical properties and their genetic improvement. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(1). 1714.

- Zawada, A., Machowiak, A., Rychter, A. M., Ratajczak, A. E., Szymczak-Tomczak, A., Dobrowolska, A., & Krela-Kaźmierczak, I. (2022). Accumulation of Advanced Glycation End-Products in the Body and Dietary Habits. *Nutrients*, 14(19), 3982.
- Zitka, O., Skalickova, S., Gumulec, J., Masarik, M., Adam, V., Hubalek, J., Trnkova, L., Kruseova, J., Eckschlager, T., & Kizek, R. (2012). Redox status expressed as GSH:GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncology Letters*, 4(6), 1247-1253.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Réactifs chimiques spécifiques

Réactifs	Nom chimique	Firme
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl	Calbiochem
TPTZ	2,4,6- tri(2-pyridyl) -s-triazine	MERCK
ABTS	2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)	MERCK
Vert de bromocresol	----	SUPELCO
Standards phénoliques	-----	Signa Aldrich
BSA	Bovine serum albumine lyophilisé	FLUKA
STZ	Streptozotocine	Sigma Aldrich
CDNB	1-chloro,2,4-dinitrobenzène	Sigma Aldrich
DTNB	Acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque	Sigma Aldrich
GSH	Glutathion	Sigma Aldrich
TBA	Acide thiobarbiturique	Sigma Aldrich
TCA	Acide trichloracétique	Sigma Aldrich
Bleu de coomasie	----	Sigma Aldrich

Annexe 2 : Préparation des solutions pour les dosages

1. Solution du tampon TBS

Solution	Composition	Quantité
TBS (pH =7,4)	Tris 50 mM	6,057 g
	NaCl (150mM)	8,775 g
	Eau distillé	1000 mL

2. Solution de dosage des protéines

Solution	Composition	Quantité
Solution de Bradford (Conservation à l'obscurité à 4°C)	Bleu de Coomassie G	100 mg
	Ethanol 95%	50 mL
	Acide phosphorique 85%	100 mL
	Eau distillé	850 mL
Solution de BSA	BSA	5 mg
	Eau distillé	5 mL

3. Solutions de dosage de GSH

Solution	Composition	Quantité
EDTA 0,02 M	EDTA	7,444 g
	Eau distillé	1000 mL
Tampon tris-EDTA	Tris 0,4 M	48,456 g
	EDTA 0,02	7,444 g
	Eau distillé	1000 mL
SSA 0,25%	SSA	250 mg
	Eau distillé	100 mL
DTNB 0,01 M (Préparation fraîche)	DTNB	200 mg
	Méthanol absolu	50 mL

4. Solutions de dosage de MDA

Solution	Composition	Quantité
TCA 20%	TCA	20 g
	Eau distillé	100 mL
Tris 25 mM	Tris	0,30 g
	Eau distillé	100 mL
TBA 0,67% (Agitation requise avant l'utilisation)	TBA	0,67 g
	Tris 25 mM	100 mL

5. Solutions de dosage de l'activité de la GPx

Solution	Composition	Quantité
GSH 0,1 mM	GSH	3,073 mg
	Eau distillé	100 mL
TCA 1%	TCA	1 g
	Eau distillé	100 mL
DNTB 1 Mm (Préparation fraîche)	DTNB	100 mg
	Méthanol absolu	25 mL
H₂O₂ 1,3 Mm (Préparation fraîche)	H ₂ O ₂ (30V)	13 µL
	Eau distillé	100 mL

6. Solution de dosage de l'activité de la GST

Solution	Composition	Quantité
Tampon phosphate 0,1 M (pH= 6,5)	Na ₂ HPO ₄	17,79 g
	Eau distillé	1000 mL
	NaH ₂ PO ₄	15,60 g
	Eau distillé	1000 mL
CDNB 0,02 M (Préparation fraîche)	CDNB	202,55 mg
	Ethanol absolu	50 mL
GSH 1 M (Préparation fraîche)	GSH	153,65 g
	Eau distillé	50 mL

7. Solution de dosage de l'activité de la CAT

Solution	Composition	Quantité
Tampon phosphate 0,1 M (pH=6,5)	Na ₂ HPO ₄	17,79 g
	Eau distillé	1000 mL
	NaH ₂ PO ₄	15,60 g
	Eau distillé	1000 mL
H₂O₂ 0,5 M (Préparation fraîche)	H ₂ O ₂	10 mL
	Eau distillé	10 mL

8. Solutions de dosage des AGEs

Solution	Composition	Quantité
Solution de tampon PBS (pH=7,4)	Phosphate de sodium monobasique	16,79g
	Eau distillé	700 mL
	Sodium d'azide	140 mg
Solution BSA	BSA	7,5 g
	Solution de PBS	150 mL
Solution glucose	Glucose	33,77 g
	Solution de PBS	150 mL
Solution de fructose	Fructose	33,78 g
	Solution de PBS	150 mL

Annexe 3 : Courbes d'étalonnage

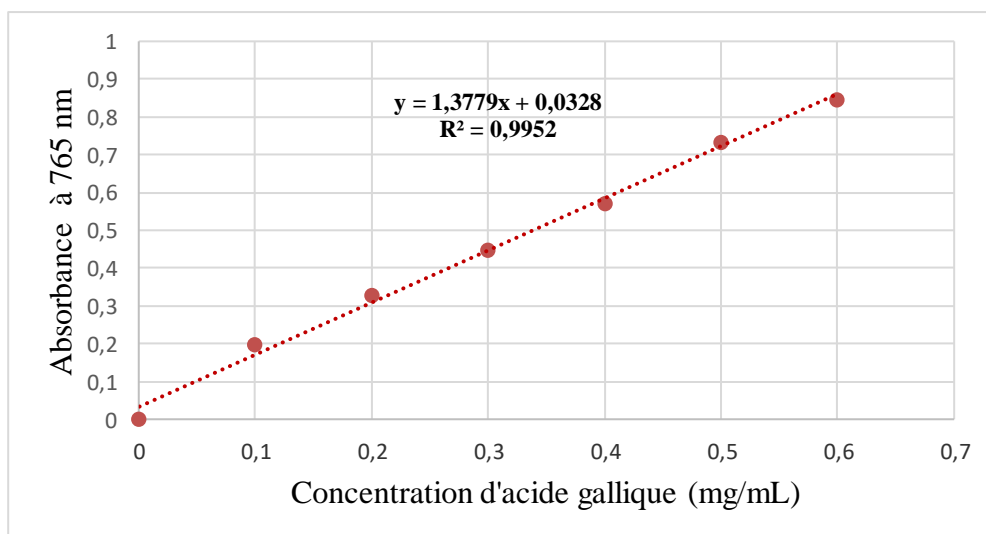


Figure A : Courbe d'étalonnage d'acide gallique (mg/mL)

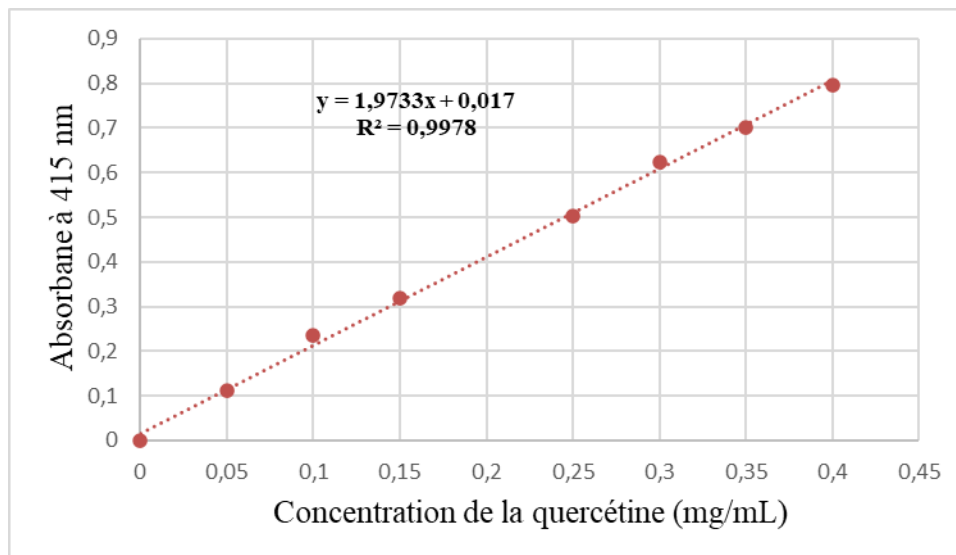


Figure B : Courbe d'étalonnage de la quercétine (mg/mL)

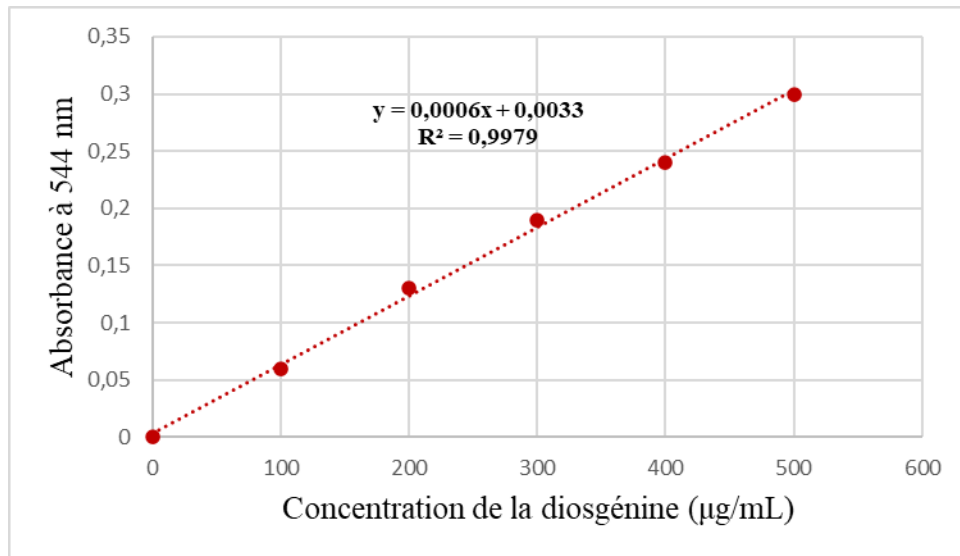


Figure C : Courbe d'étalonnage de la diosgénine(µg/mL)

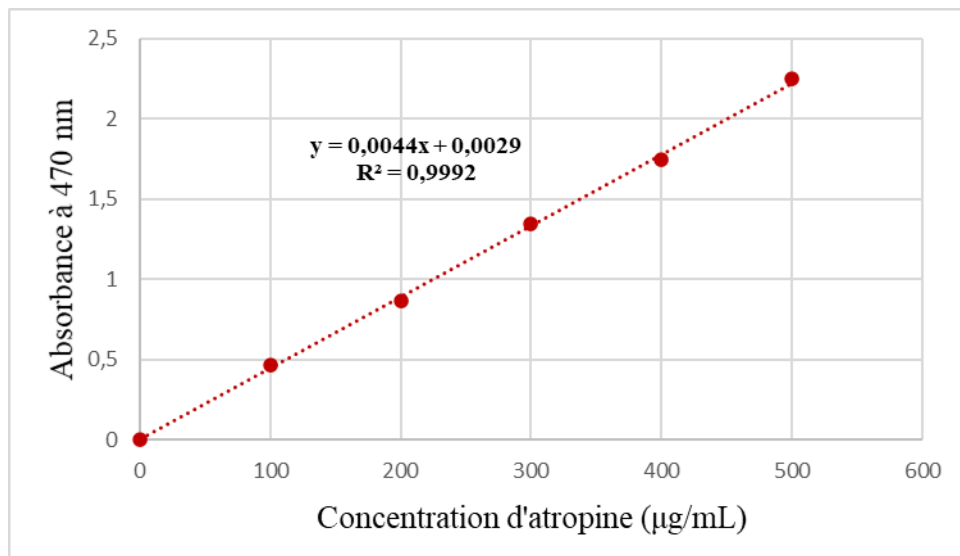


Figure D : Courbe d'étalonnage d'atropine (µg/mL)

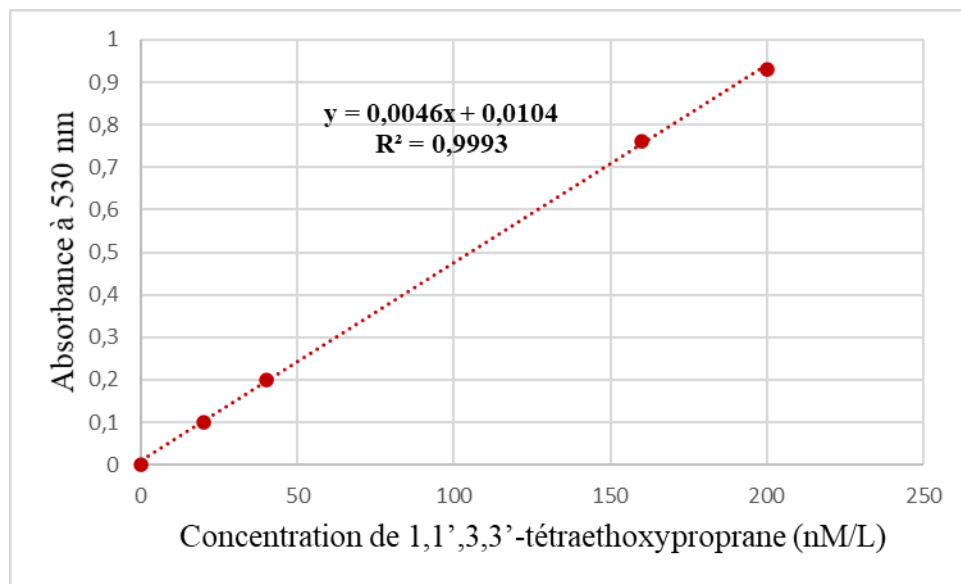


Figure E : Courbe d'étalonnage de 1,1',3,3'-tétraéthoxypropane (nM/L)

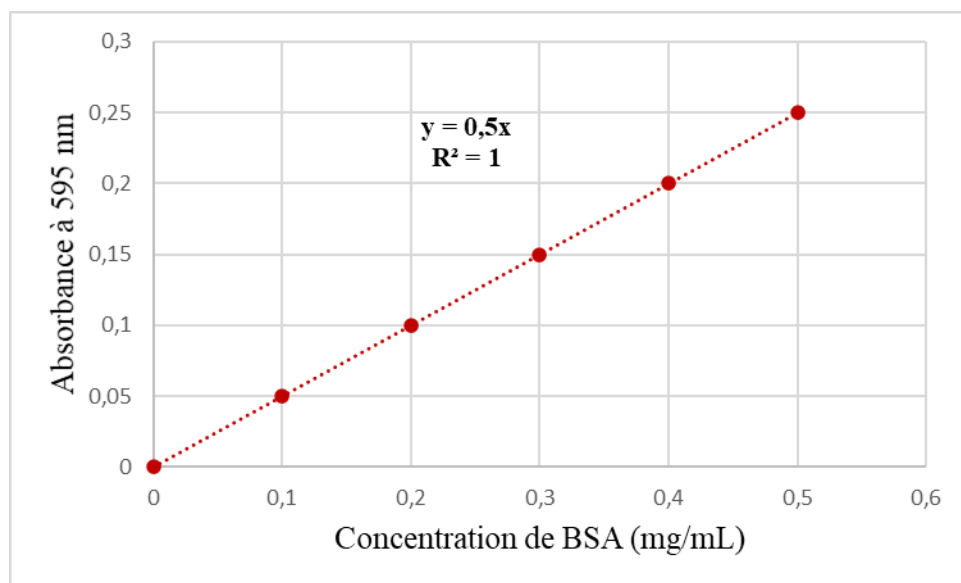


Figure F : Courbe d'étalonnage de BSA (mg/mL)