

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة

Université d'Aldjilali Bounaama Khemis Miliana

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de : Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Régulation endocrinienne et physiopathologie

Thème du Mémoire

L'effet de l'extrait aqueux du navet (*Brassica rapa*) sur l'histologie des reins chez les rats Wistar rendus diabétique

Présenté par :

M^{elle} BOUKRATEM Samira et M^{elle} GHAOUAT Assia

Soutenu le : 09 Juillet 2017, Devant le jury :

Président : Mme BENKHROUF A

MAA (U.D.B.K.M)

Promoteur : Mr SAHRAOUI A

MCB (U.D.B.K.M)

Examineur : Mr BOUSSOUBEL A

MAA (U.D.B.K.M)

Examineur : Mr CHAOUAD B

MAA (U.D.B.K.M)

Année universitaire : 2016/2017

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux préparés à partir des racines de *Brassica rapa* (par une dose de 100 mg / kg pendant 20 jours), sur les reins des rats wistar rendus diabétiques par un régime mixte hyper-glucidolipidique pendant 09 mois.

Pour cela 12 Rats mâles et femelles ont été répartis en trois lots:

- **Témoin** au nombre de 4 soumis à un régime standard, durant toute la période expérimentale.
- **Diabétique** au nombre de 4 soumis à un régime standard additionné d'un régime hyper-glucidolipidique.
- **Diabétique + Br** au nombre de 4 soumis à un régime standard additionné d'un régime hyper-glucidolipidique, puis traité par l'extrait aqueux de *Brassica rapa* (Br) à raison de 100 mg/Kg/j dans les derniers 20 jours de l'expérimentation.

Nous avons réalisés des techniques histologiques en utilisant plusieurs colorations, et les techniques d'histomorphométrie afin d'évaluer les résultats histologiques obtenues. Chez les rats soumis au régime mixte et les rats diabétiques, nos résultats mettent en évidence des lésions glomérulaires et tubulo-interstitielles tel que : l'accumulation tubulo-interstitielle et périglomérulaire du collagène indiquant l'installation d'une fibrose, La présence des amas des cellules inflammatoires dans l'interstitium, Augmentation de l'épaisseur de la membrane basale glomérulaire rénale.

Cependant l'administration de l'extrait aqueux de la plante a provoqué une diminution de la glycémie, Diminution au nombre des cellules inflammatoires, diminution de l'épaississement de la capsule fibreuse, la présence à une faible quantité des fibres de collagène interstitiel due à la diminution de fibrose tubulo-interstitielle et péri glomérulaire.

La présente étude montre que le traitement par l'extrait aqueux de brassica rapa diminue le poids corporel et induit un effet hypoglycémique, anti-inflammatoire et antioxydant .Ainsi, l'extrait aqueux de brassica rapa semble avoir un effet thérapeutique vis-à-vis du risque de diabète, et les troubles métaboliques induit par l'obésité.

Mot clés : Rein, *Brassica rapa*, *Rattus norvegicus*, Régime hyper-glucidolipidique, inflammation, diabète.

Abstract

Abstract

The objective of this study is to assess the hypoglycaemic effect of the aqueous extract prepared from the roots of *Brassica rapa* (by a dose of 100mg / kg for 20 days), in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) made diabetic by a mixed regime hyperglucido lipid-during 09 less.

For this study 12 male and female rats were divided into three lots:

- **witness** : the number of 4 Receive a natural regime standard for 9 months.
- **diabetic** : The number of 4, submitted during 9 months to a mixed diet hyperglucido lipid-in the form of egg yolk and sucrose.
- **diabetic+Br** : The number of 4, submitted to a treatment with the aqueous extract of *Brassica rapa* by a dose of 100mg / kg during the last 20 days of experimentation.

We have carried out the histological techniques using several colorations, and techniques for histomorphometry in order to assess the histologic findings obtained. In rats submitted to the mixed diet and treated rats, our results highlight the installation of diabetes characterized by obesity, dyslipidemia , glomerular damage and tubulo pore-such as: the accumulation tubulointerstitial périglomérulaire and of collagen indicating the installation of a fibrosis, the presence of clusters of inflammatory cells in the interstitium, increase the thickness of the glomerular basement membrane renal impairment .

However the administration of the aqueous extract of the plant has caused a decrease in blood glucose, decrease of inflammatory cells, decrease of the thickening of the fibrous capsule, the absence or the presence in a low quantity of the fibers of interstitial collagen due to the decrease in tubulointerstitial fibrosis and peri glomerular.

The present study shows that the treatment by the aqueous extract of *Brassica rapa* decreases the body weight and induces a hypoglycaemic effect anti-inflammatory and antioxidant. In addition, this excerpt has a beneficial effect on the oxidative stress. As well, the aqueous extract of *Brassica rapa* seems to have a protective effect vis-a-vis the risk of diabetes and metabolic disorders induced by obesity.

Keyword : kidney, *Brassica rapa*, *Rattus norvegicus*, mixed regime hyperglucido lipid-, diabetes.

الملخص

ان هذه الدراسة تهدف الى تقييم فعالية مستخلص جذور نبات اللفت المعروفة بخفض نسبة السكري في الدم (مقدار 100 مغ / كغ لمدة 20 يوما), عند جردان وستار اصببت بداء السكري بعد ان خضعت لحمية غنية بالسكريات و الدهون لمدة 09 اشهر .

حيث تمت هذه الدراسة النسيجية باستعمال تقنيات علم الانسجة و التي تتمثل في : استعمال تقنية التلوين النسيجي باستعمال العديد من الملونات وذلك لاطهار بنية نسيج الكلى وما طراً عليها من تغيرات عند الجردان التي خضعت الى الحمية مع المقارنة بالجرذان الغير المعالجة و الجردان المعالجة بمستخلص جذور نبات اللفت , و في الاخير تم تقييم هذه النتائج بدراسة مورفومترية و احصائية.

إن النتائج التي تحصلنا عليها اظهرت العديد من الإصابات, التي تتمثل اصابة مجموعة الفئران التي خضعت للحمية بداء السكري و السمنة مع اضطراب في شحميات الدم , فيما يتعلّق بدراسة نسيج الكلى اظهرت النتائج تلف النسيج الكلوي بوجود التليف والمتمثل في اختراق النسيج الضام الليفي مع اضمحلال الأنابيب البولية للكلىة و تمركز خلايا مناعية لمفاوية في النسيج الكلوي .

هذه الدراسة بينت ان العلاج بمستخلص جذور نبات اللفت ساهم في انقاص وزن الجردان و له دور فعال في خفض نسبة السكر في الدم وهو مضاد للالتهاب و الاكسدة يحمي من الاصابة من السكري و الاضطرابات الايضية الناتجة عن السمنة .

الكلمات المفتاحية :

الكلى, نبات اللفت, جردان, حمية غنية بالسكريات و الدهون, الالتهاب , داء السكري.

Remerciements

A dieu qui nous a toujours aidés à traverser un chemin plein de réussite et de succès et nous aidera à une bonne continuation dans notre vie, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui ont apporté Leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur *Mr Sahraoui A* pour nous avoir permis de bénéficier de son grand savoir dans la matière, pour sa pédagogie, ses compétences, sa modestie et son aide précieuse tout au long de ce projet .

Nous tenons également à remercier tous les membres de notre jury d'avoir acceptés d'évaluer notre travail. Nous remercions *Mme Benkherouf A* d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance.

Nous remercions également *Mr Boussoubel A.K* et *Mr Chaouad B* pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciement et grâces s'adressent à tous les enseignants de la spécialité biologie et physiologie animale. Ainsi que le laboratoire de zoologie de *l'université de Djilali Bounaama de Khemis-Miliana*.

Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances à tous nos amis et collègues de 2ème année Master, Régulation endocrinienne et physiopathologie (*REP*).

Promo 2016/2017.

Dédicace

À la plus belle créature que dieu a créée sur terre ,,,

À cet source de tendresse, de patience et de générosité,,,

À ma mère !

À qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui,,,

À qui a été pour moi un modèle et n'a cessé de m'encourager,,,

À mon père !

À la mémoire de ma grande mère « *Amariche Fatma* » !

À mes très merveilleuses sœurs,,,

À mes très chers frères,,,

À mon binôme Assia pour les moments inoubliables,,,

À tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université,,,

À mes amis et collègues de spécialité « Régulations Endocrinienne et Physiopathologie » *REP promo 2016-2017* ,,,

À tous ceux qui, par un mot , m'ont donné la force de continuer ,,,

Samira (Samra)



Dédicace

A les personnes les plus chères à mon cœur, à ceux qui leur amour ma donnée la volonté pour aller plus toujours en avant, Mes très chers parents, que dieu les protège.

A Ma grande -mère que dieu la garde pour nous.

A Mes chers frères Et Sœurs

A tous les membres de ma famille ghaouat et tiabín, petits et grands

A mon binôme samira pour son soutien inestimable et pour des moments inoubliables

A tous mes amies

A mes amis et collègues de ma promotion 2016-2017 spécialité de Régulation Endocrinienne et Physiopathologie.

A tous ceux qui me reconnaissent.

Je dédie ce modeste travail

Assia



Index

Index des figures

Figure 01	Le navet (<i>Brassica rapa</i> var <i>rapifera</i>).	04
Figure 02	Squelette des Flavonoïdes.	05
Figure 03	Les mécanismes liant l'obésité au diabète de type 2.	09
Figure 04	Anatomie et vascularisation des reins.	11
Figure 05	Structure macroscopique du rein.	12
Figure 06	Structure du néphron.	13
Figure 07	Schéma des deux types de néphrons.	14
Figure 08	La structure de corpuscule rénal.	14
Figure 09	Le rat « <i>Rattus norvegicus</i> ».	17
Figure 10	Sacrifice et prélèvement des organes.	20
Figure 11	La déshydratation.	21
Figure 12	L'éclaircissement.	21
Figure 13	L'imprégnation.	22
Figure 14	La mise en bloc de paraffine.	22
Figure 15	Confection et l'étalement des coupes.	23
Figure 16	Les étapes de coloration.	24
Figure 17	Montage des coupes.	25
Figure 18	Microscope optique pour l'observation des coupes.	25

Figure 19	Quantification des collagènes fibrillaires au niveau interstitiel par l'image j.	26
Figure 20	Mésure de la surface de chambre glomérulaire par l'image j.	26
Figure 21	Histogramme montrant les moyennes de la surface occupée par le tissu fibreux interstitiel.	39
Figure 22	Histogramme montrant la différence entre le pourcentage de la surface de l'espace de Bowman par rapport au glomérule.	40

Index des tableaux

Tableau I	La composition de l'aliment standard de laboratoire par 100 g.	19
Tableau II	La composition de l'alimentation standard de laboratoire en vitamines.	19
Tableau III	Valeurs moyennes de la surface occupée par le tissu fibreux interstitiel.	39
Tableau IV	Valeurs moyennes du pourcentage de la surface occupée par l'espace de Bowman.	40
Tableau V	La composition en g de jaune d'œuf.	Annexe N°1
Tableau VI	Valeurs de l'étude morphométrique sur le tissu fibreux interstitiel dans les coupes histologiques du rats wistar témoins, diabétiques et diabétiques +Br .	Annexe N°8
Tableau VII	Valeurs de l'étude morphométrique sur les surfaces des chambres glomérulaires dans les coupes histologiques du rats wistar témoins, diabétiques et diabétiques +Br .	Annexe N°9

Index des planches

Planche I	<p>Coupes histologiques du Rein de Rat Wistar Temoin.</p> <p>Figure A : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 40. Figure B : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 100. Figure C : Coloration au trichrome de Masson, GrX 400. Figure D : Coloration au trichrome de Masson, GrX 400.</p>	30
Planche II	<p>Coupes histologiques du Rein de Rat Wistar Temoin.</p> <p>Figure A : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 100. Figure B : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 400. Figure C : Coloration au trichrome de Masson, GrX 100. Figure D : Coloration au trichrome de Masson, GrX 400.</p>	31
Planche III	<p>Coupes histologiques du Rein de Rat Wistar Temoin.</p> <p>Figure A : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 100. Figure B : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 400. Figure C : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 1000. Figure D : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 1000.</p>	32
Planche IV	<p>Coupes histologiques du Rein de Rat Wistar Diabétiques.</p> <p>Figure A : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 400. Figure B : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 400. Figure C : Coloration au trichrome de Masson, GrX 1000. Figure D : Coloration au trichrome de Masson, GrX 1000.</p>	33
Planche V	<p>Coupes histologiques du Rein de Rat Wistar Diabétiques.</p> <p>Figure A : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 40. Figure B : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 40. Figure C : Coloration au trichrome de Masson, GrX 40. Figure D : Coloration au trichrome de Masson, GrX 40.</p>	34

Planche VI	Coupes histologiques du Rein de Rat Wistar Diabétiques. Figure A : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 100. Figure B : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 400. Figure C : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 400. Figure D : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 1000.	35
Planche VII	Coupes histologiques du Raine de Wistar Diabétiques et Traités. Figure A : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 400. Figure B : Coloration au trichrome de Masson, Gr X 400. Figure C : Coloration au trichrome de Masson, GrX 400. Figure D : Coloration au trichrome de Masson, GrX 1000. Figure E : Coloration au trichrome de Masson, GrX 400.	36
Planche VIII	Coupes histologiques du Raine de Wistar Diabétiques et Traite. Figure A : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 100. Figure B : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 400. Figure C : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 400. Figure D : Coloration a l'acide périodique de schiff . GrX 1000.	38

Abréviations

Br : Brassica rapa.

DT2 : Diabète de Type 2.

FTI : Fibrose Tubulo-Interstitielle.

G : Glomérule.

GAO : Glomérulopathie Associée à l'obésité.

HDL : High Density Lipoprotein .

HTA : Hypertension Artérielle.

IGT : Impaired Glucose Tolerance (Intolérance au glucose).

IL-1 β : Interleukine-1 β .

IL-6 : Interleukine-6.

LDL : Low Density Lipoprotein.

MBG : Membrane Basale Glomérulaire.

MCP1 : Monocyte Chemoattractant Protein-1

NF- κ B : Nuclear Factor kappa B.

NO: monoxyde d'azote

ROS : Reactive Oxygen Species.

SOD : Superoxide dismutase .

TCD : Tube Contourné Distal.

TCP : Tube Contourné Proximal.

TG : Triglycérides.

TNF α : Tumor Necrosis Factor α .

Sommaire

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I. <i>Brassica rapa</i>	03
I.1. Les plantes médicinales	03
I.1.1. Les plantes antidiabétiques	03
I.2. <i>Brassica Rapa</i>	03
I.2.1. Classification.....	03
I.2.2. Description et caractéristiques.....	04
I.2.3. Composition chimique.....	04
I.3. Thérapie naturelle	05
I.3.1. Vertus thérapeutiques de <i>Brassica Rapa</i>	05
I.3.2. L'efficacité de <i>Brassica Rapa</i> contre le diabète.....	06
Chapitre II. Le diabète de type 2	07
II.1. Le diabète	07
II.1.1. Le diabète de type 2.....	07
II.2. Les principaux facteurs de risques	07
II.2.1. Dyslipidémie.....	07
II.2.2. L'obésité.....	08
II.3. Physiopathologie et développement du diabète de type 2	08
II.4. Le diabète et l'atteinte rénale	09
Chapitre III. Les reins	11
III.1. Anatomie du rein	11
III.1.1. Localisation et anatomie externe.....	11
III.1.2. Anatomie interne du rein.....	12
III.1.2.1. Organisation interne	12
III.2. Le néphron	13
III.2.1. Anatomie du néphron.....	13
III.2.1.1. Le corpuscule rénal.....	14
III.2.1.2. Le tubule rénal.....	15
III.2.1.2.1. Le tubule contourné proximal.....	15
III.2.1.2.2. L'anse de Henlé.....	15
III.2.1.2.3. Le tubule contourné distal.....	15

III.3. Le tubule collecteur.....	15
III.4. Les fonctions du rein.....	16
Chapitre IV. Matériel et méthodes	17
IV.1. Matériel biologique	17
IV.1.1.Protocol expérimental.....	18
IV.1.1.1.Constitutions des lots.....	18
IV.1.1.2.Le régime alimentaire.....	19
IV.1.1.3.Le régime standard de laboratoire.....	19
IV.1.1.4. Le régime hyper-glucidolipidique.....	20
IV.1.1.5.Prélèvement des organes.....	20
IV.2. Méthodes d'études	20
IV.2.1. Techniques histologiques.....	20
IV.2.1.1. Fixation.....	20
IV.2.1.2. La circulation.....	21
A. Déshydratation.....	21
B. Eclaircissement.....	21
C. Imprégnation.....	22
IV.2.1.3. La mise en bloc de paraffine.....	22
IV.2.1.4. Réalisation des coupes et l'étalement sur des lames.....	23
IV.2.1.5. Coloration des coupes.....	23
IV.2.1.5.1.La coloration topographique au Trichrome de Masson.....	24
IV.2.1.5.2.La coloration histochimique à Acide Périodique de Schiff (APS).....	24
IV.2.1.6. Montage des coupes.....	24
IV.2.1.7. Observation Microscopique et acquisition des images.....	25
IV.3. Etude morphométrique.....	26
IV.4. Etude statistique.....	27
V. Résultats	28
V. 1. Résultats histologiques	28
V.1.1. Les coupes du rein de rat wistar témoin.....	30
V.1.2. Les coupes du rein de rat wistar diabétique.....	33
V.1.3. Les coupes du rein de rat wistar diabétique traité par <i>Brassica rapa</i>	36
V.2. Résultats de la quantification de quelques paramètres cellulaires	39
V.2.1. Quantification du tissu fibreux interstitiel.....	39

V.2.2. Mesure de la surface de l'espace de Bowman	40
VI. Discussion	41
Conclusion et perspectives	46
Références bibliographiques	
Annexes	

*« Le meilleur médecin est la nature : elle guérit
les trois quarts des maladies et ne dit jamais de
mal de ses confrères » Louis Pasteur*



Introduction

Introduction

Le diabète est une maladie grave, dont les complications peuvent être dévastatrices et qui frappe à tout âge partout dans le monde (**Vincent et al., 2008**). C'est une maladie métabolique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides entraînant une hyperglycémie (**Calop et al., 2008**). Il est associé à un déficit insulino-sécrétoire et une insulino-résistance. L'insulino-résistance est en partie d'origine génétique, mais aggravée par l'obésité, notamment abdominale. Ce diabète est souvent associé au syndrome métabolique et s'accompagne d'un risque important de complications cardiovasculaires (**Scheen et al., 2007**).

Des données expérimentales et épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation riche en graisse favorise le développement de l'obésité et qu'il existe une corrélation directe entre la ration lipidique et le degré d'obésité (**Ailhaud , 2008**). L'ensemble de ces anomalies causent des pathologies rénales chroniques comme la néphropathie et la fibrose. La néphropathie diabétique est l'une des premières causes de l'insuffisance rénale chronique (**Ben Dhia, 2012**). De plus, l'obésité est significativement associée à l'hypertension artérielle, au diabète, aux dyslipidémies, à l'insuffisance coronaire, Les maladies cardiovasculaires (**Lamas et al., 2004**).

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques (**Lahsissene et al., 2009**). Ces plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leur permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, elles ont une action hypoglycémiant (**Kimet al., 2004**).

L'une de ces plantes, *Brassica rapa* ou navet, est considérée comme une importante source naturelle d'antioxydants. De plus, en médecine traditionnelle, *Brassica rapa* est utilisé pour traiter une variété de maladies. Le navet contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que des flavonoïdes (l'isorhamnétine, le kaempférol, quercétine) (**Berdja et., al 2016**).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à analyser l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux préparés à partir des racines du *Brassica rapa* (le navet) qui est reconnue

dans la médecine traditionnelle par son thérapeutique contre le diabète, ce dernier est induit chez les rats Wistar par un régime mixte hyper-glucidolipidique.

Ce travail est organisé en deux parties :

La première partie divisée en trois chapitres, un premier chapitre abordant l'état de connaissances sur la plante *Brassica rapa* et les vertus thérapeutiques de cette plante, suivi d'un deuxième chapitre dans lequel, nous avons parlé sur le diabète de type 2 et les principaux facteurs de risques tels que la dyslipidémie et l'obésité. Le troisième chapitre, s'est consacré pour l'anatomie du rein.

La deuxième partie est consacrée à l'exploration de l'ensemble des expériences faites sur le rat Wistar regroupant le matériels et les différents procédés méthodologique, les résultats et la discussion suivie d'une conclusion et des perspectives que laissent entrevoir ce modeste travail, qui se continue par la bibliographie et les annexes.

Revue
Bibliographique

Chapitre I. *Brassica rapa*

I.1. Les plantes médicinales

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles. Actuellement, cette médication, par les plantes, connaît un regain d'intérêt notable, et c'est grâce aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales (**Lahsissene et al., 2009**).

I.1.1. Les plantes antidiabétiques

Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leur permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, elles ont une action hypoglycémisante. Parmi les constituants des plantes ayant une activité hypoglycémisante, on trouve, les phénols, les flavonoïdes, les coumarines, les triterpénoïdes, les alcaloïdes et les polysaccharides (**Edwin et al., 2008**). L'essor récent de la phytothérapie offre une opportunité pour trouver des molécules naturelles susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur la régulation du métabolisme glucidique en évitant les effets secondaires des substances synthétiques (**Eddouks et al., 2007**). Une très grande variété de mécanisme est impliquée dans la baisse du niveau du glucose du sang ceci est dû à la grande variété des classes chimiques des constituants hypoglycémisants provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémisants et pourraient avoir un potentiel thérapeutique (**Edwin et al., 2008**).

I.2. *Brassica rapa var rapifera*

I.2.1. Classification

La plante *Brassica rapa* est classée dans la :

- **Règne** : Plantae .
- **Division** : Magnoliophyta .
- **Classe** : Magnoliopsida .
- **Ordre** : Capparales .

- **Famille** : Brassicacées .
- **Sous-famille** : Brassicoideae.
- **Genre** : Brassica .
- **Espèce** : Brassica rapa var rapifera .
- **Noms communs** : navet, naveau.

I.2.2. Description et caractéristiques

Le navet (*Brassica rapa*) est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle de la famille des Brassicaceae cultivée pour ses racines comestibles et les feuilles. La plante possède des tiges dressées avec 8-12 feuilles formant une couronne. Les feuilles de navet sont d'habitude vert clair, minces. De plus, une racine globale ou effilée se développe à la base des pétioles de feuille. La racine de stockage consiste principalement en hypocotyl, la partie de la plante qui se trouve entre la vraie racine et les premières feuilles de la jeune plante (Undersander et al., 1991).



Figure 01 : Le navet (*Brassica rapa var rapifera*) (Lim, 2015).

I.2.3. Composition chimique

Le navet contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que des flavonoïdes (l'isorhamnétine, le kaempférol, la quercétine), et des glycosides dérivés de phénylpropanoïdes, des alcaloïdes indoliques (Berdja et al., 2016), les parties de *Brassica rapa* sont très riches en huiles essentielles et leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, des analyses ont démontré qu'ils contiennent plusieurs composantes, y compris les alcools, aldéhydes, cétones, esters terpéniques, et d'azote, les feuilles sont

composées essentiellement de soufre qui est parmi les principaux produits volatils dans les huiles essentielles (Saka et al., 2017).

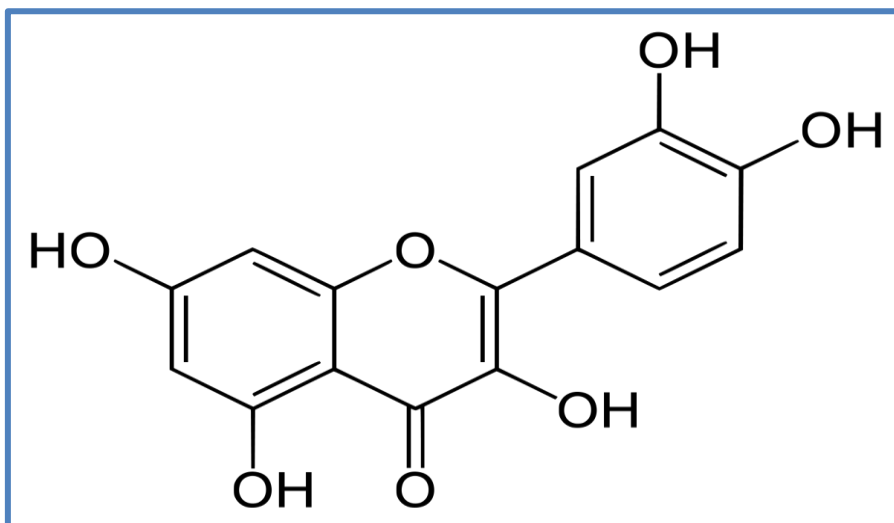


Figure 02 : Squelette de la quercétine (Van Der Werf, 2013).

I.3. Thérapie naturelle

I.3.1. Vertus thérapeutiques de *Brassica rapa*

Brassica rapa ou navet constitue une source de nourriture et peut être considérée comme une importante source naturelle d'antioxydants. De plus, en médecine traditionnelle, *Brassica rapa* est utilisé pour traiter une variété de maladies comme l'hépatite, ictère, furoncle, et les maux de gorge (Berdja et al., 2016). Plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'une consommation élevée de légumes et de fruits diminuait le risque de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques (Bazzano et al., 2003).

Le navet (*Brassica rapa*) contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que La quercétine qu'est indiquée dans toutes les situations inflammatoires parce qu'elle inhibe la formation des médiateurs de l'inflammation les prostaglandines et les leucotriènes (Boots et al., 2008).

Un grand nombre de preuves indiquent que la quercétine possède de puissantes propriétés antioxydantes. En 1994, un chercheur écrit : Il semble qu'un grand nombre des effets biologiques de la quercétine et d'autres flavonoïdes puisse être expliqué par leur activité

antioxydante et leur capacité à détruire les radicaux libres. La fonction antioxydante de la quercétine est renforcée par la vitamine C (Stavric ,1994).

Les chercheurs ont conclu que la quercétine exerçait des effets anti thrombotiques en se liant de façon sélective aux plaquettes des thrombus dans les parois des vaisseaux sanguins (Kaneider et al., 2004) .

D'importantes augmentations de la lipoprotéine de haute densité (HDL-cholestérol) et une diminution significative de l'index athérogène ((cholestérol total -LDL-cholestérol) ont été observés chez des rats nourris à un régime controlé traité avec Brassica rapa. (Igarashi et al ., 2014).

I.3.2. L'efficacité de *Brassica rapa* contre le diabète

Le navet contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que des flavonoïdes (l'isorhamnétine, le kaempférol, quercétine) (Berdja et al ., 2016). Les Flavonoïdes ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires (Reynaud et al ., 2005). Les flavonoïdes peuvent empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (Das et al ., 1994).

Certains flavonoïdes tels que : la quercétine augmentent significativement la sécrétion d'insuline à partir des îlots de Langerhans isolés de rats. L'administration intra péritonéale de la quercétine pour des rats normaux et rendus diabétiques, induit une réduction des taux de glucose sanguin des rats diabétiques. La quercétine diminue également les taux de glucose chez des rats diabétiques en réponse à un test de tolérance au glucose. Elle réduit significativement le cholestérol et les triglycérides plasmatiques, augmente l'activité des glucokinases hépatiques probablement par l'augmentation de la sécrétion d'insuline, à partir des îlots pancréatiques des rats diabétiques (Kim et al ., 2004).

Il n'y a aucun doute que le diabète et ses complications sont associés à une augmentation du stress oxydatif résultant du déséquilibre dans la production de radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène (ROS). (Berdja et al., 2016). La quercétine possède de puissantes propriétés antioxydantes. Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de piéger directement les radicaux libres (Joshi et al., 2005).

Chapitre II. Le diabète de type 2

II.1. Le diabète

II.1.1. Définition

Le diabète est une maladie grave, dont les complications peuvent être dévastatrices et qui frappe à tout âge partout dans le monde (**Vincent et al, 2008**). Il est défini par une glycémie plasmatique à jeun $>1,26$ g/L, ou > 2 g/L quel que soit l'heure du prélèvement (**Rodier, 2001**). C'est un groupe des maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique (**Drouin et al, 1999**). Il est associé au développement de lésions macro-vasculaires et micro-vasculaires responsables d'infarctus du myocarde, de néphropathie, de rétinopathie (**Defraigne, 2005**).

II.1.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie bipolaire qui associe un déficit insulino-sécrétoire et une insulino-résistance. L'insulino-résistance est en partie d'origine génétique, mais aggravée par l'obésité, notamment abdominale, Ce diabète est souvent associé au syndrome métabolique et s'accompagne d'un risque important de complications cardio-vasculaires (**Scheenet al, 2007**). La grande majorité des patients diabétiques de type 2 présentent une résistance plus ou moins sévère à l'action de l'insuline. Cette résistance s'exerce au niveau des 3 principaux tissus cibles de l'hormone : le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux (**Féry et Paquot, 2005**).

II.2. Les principaux facteurs de risques

II.2.1. Dyslipidémie

Le patient diabétique de type 2 combine souvent plusieurs pathologies, dont une obésité abdominale, une hypertension artérielle, une dyslipidémie (**Scheen et Van Gaal, 2005**), la présence d'une dyslipidémie est fréquente chez les patients diabétiques de type 2 : elle touche près de 50 % de ces patients (**Tanguy et Aboyan, 2014**). La dyslipidémie du diabétique de type 2 est caractérisée par des anomalies à la fois quantitatives et qualitatives des lipoprotéines avec, classiquement, une augmentation modérée des triglycérides (TG) plasmatiques, un abaissement variable du taux de HDL-cholestérol (HDL-c) et une accumulation de lipoprotéines (**Fariner, 2011**) ; qui correspond à une anomalie métabolique et qui a son origine l'incapacité du corps de gérer correctement le métabolisme des triglycérides (**James, 2002**).

II.2.2. L'obésité

L'obésité est généralement définie comme une accumulation excessive ou anormale de graisse dans le tissu adipeux (**Ferro Luzziet *al.*, 1995**). La cause sous-jacente est liée à une balance énergétique positive conduisant au gain de poids. C'est-à-dire lorsque les apports énergétiques sont supérieurs aux dépenses, l'excès des calories est stocké sous forme de triglycérides dans le tissu adipeux (**Ziegler et *al.*, 2000**). Les sujets obèses montrent des différences non seulement dans les excédents de graisse qu'ils accumulent, mais aussi dans la répartition anatomique de cette graisse, qui joue un rôle dans les risques associés à l'obésité et le type de maladie qui en résulte (**Deurenberg et *al.*, 2003**). L'obésité favorise l'apparition du diabète parce qu'elle augmente l'insulinorésistance (**Charpentier et *al.*, 2006**). Un travail épidémiologique réalisé en Suède a montré que c'était surtout en cas de distribution abdominale et viscérale de la graisse qu'un obèse avait un risque important de développer un diabète de type 2 (**Ohlson et *al.*, 1985**).

II.3. Physiopathologie et développement de diabète de type 2

Le diabète de type 2 associe une insulino-résistance à des troubles de l'insulino-sécrétion. Ces anomalies s'aggravent au cours du temps par le biais de l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie chroniques (concepts de glucotoxicité et lipotoxicité) (**Bihan, 2002**). Le concept de gluco-lipotoxicité se réfère à l'ensemble des effets nocifs de l'augmentation des niveaux de glucose et d'acides gras sur la fonction et la survie des cellules bêta-pancréatiques, La combinaison des niveaux excessifs d'acides gras et le glucose conduit donc à une diminution de la sécrétion d'insuline, une altération de l'expression du gène de l'insuline, et la mort des cellules par apoptose (**Poitout et *al.*, 2009**). Il a été suggéré que l'échec des cellules bêta dans DT2 implique la mort cellulaire massive. D'autres études attribuent l'échec des cellules bêta à l'épuisement des cellules, en raison d'affections chroniques ou le stress oxydatif du réticulum endoplasmique conduisant à un dysfonctionnement cellulaire (**Swisa et *al.*, 2017**).

Il n'y a aucun doute que le diabète sucré et ses complications sont associés à une augmentation du stress oxydatif résultant du déséquilibre dans la production de radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Berdja et *al.*, 2016**). Le stress oxydatif est une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, soit par production excessive de radicaux libres, soit par baisse des défenses anti-oxydantes. Les radicaux libres perturbent le fonctionnement normal des cellules, leur accumulation provoque la nécrose cellulaire.

Ainsi, le stress oxydatif serait impliqué, par effet d'apoptose sur les cellules bêta, dans la progression du diabète de type 2 (Bihan, 2002) (Figure 03).

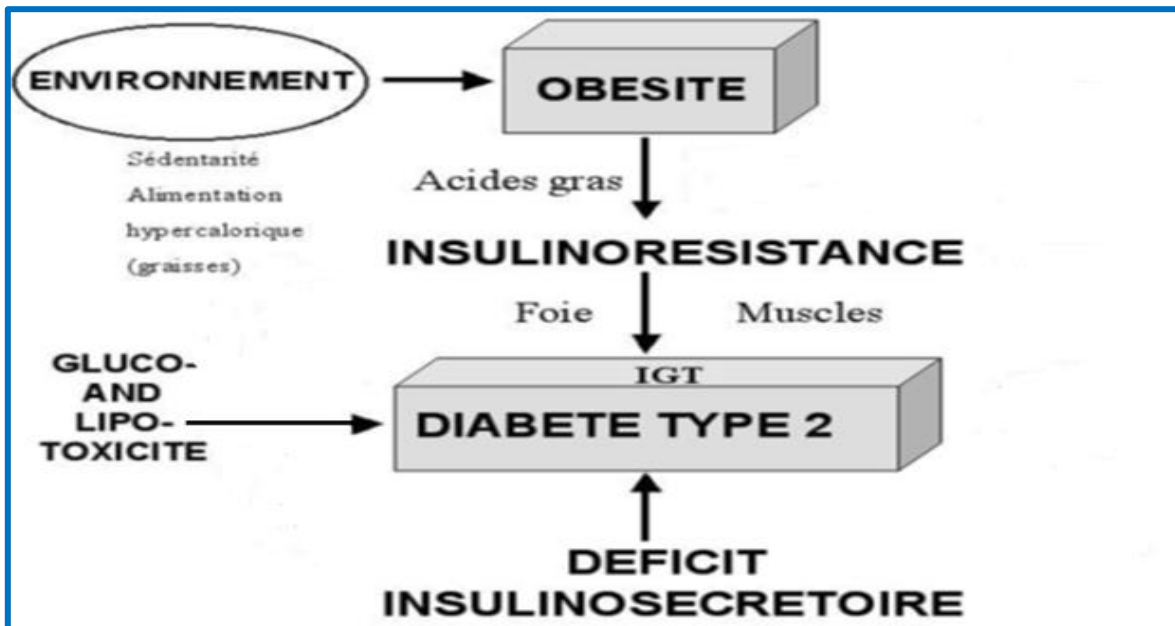


Figure 03: Les mécanismes liant l'obésité au diabète de type 2, (schéma modifié).(Rorive et al, 2005).

II.4. Diabète et l'atteintes rénale

Le diabète de type 2 (DT2) est une maladie progressive caractérisée par une hyperglycémie et s'accompagne souvent d'hyperlipidémie (Fuet *al.*, 2016). L'ensemble de ces anomalies causent des pathologies rénales chroniques comme la néphropathie et la fibrose. La néphropathie diabétique est l'une des premières causes de l'insuffisance rénale chronique. Elle est due principalement à l'élévation de la prévalence du diabétique de type 2 et à son déséquilibre à long terme (Ben Dhia, 2012). La néphropathie diabétique spécifique glomérulaire, évolue progressivement d'une phase précoce caractérisée par des anomalies fonctionnelles de la fonction rénale (hyper filtration glomérulaire, excrétion augmentée de l'albumine) (Laville, 2005).

Quelle qu'en soit l'origine, la majorité des atteintes rénales aboutissent au développement d'une fibrose tubulo-interstitielle (FTI) dont la présence signe l'évolution vers la perte de la fonction rénale (Kleinet *al.*, 2011), cette fibrose est souvent le résultat d'une transformation de la matrice extracellulaire par des cytokines et des chimiokines produites par des cellules résidentes ou infiltrée activée ou cours de phénomènes inflammatoires aigus répétés (Grenier, 2011), selon Wolf (2007), l'augmentation de l'épaisseur de la membrane

basale glomérulaire (MBG), l'hypertrophie mésangiale avec expansion matricielle et les lésions tubulo-interstitielles, notamment l'atrophie tubulaire, la perte des capillaires péricapillaires et la fibrose interstitielle, sont les manifestations classiques des changements histomorphologiques retrouvés dans la néphropathie diabétique.

Chapitre III. Les reins

III.1. Anatomie du rein

III.1.1. Localisation et Anatomie externe

Les reins humains sont deux organes rétropéritonéaux et paravertébraux pesant chacun approximativement 150 g. Leurs dimensions sont environ 11 à 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3cm d'épaisseur (Gougoux, 2005). Le rein droit se trouve sous un organe volumineux, le foie, tandis que le rein gauche est situé sous la rate, ainsi le rein droit est localisé légèrement plus bas que le rein gauche. Chaque rein est coiffé dans sa partie supérieure d'une glande endocrine portant le nom de glande surrénale (Christèle, 2008). Une capsule fibreuse est résistante entoure chaque rein. Le hile est situé à l'intérieur du rein est contient l'artère rénale, la veine rénale et le bassinet (Gougoux, 2005) (Figure 04).

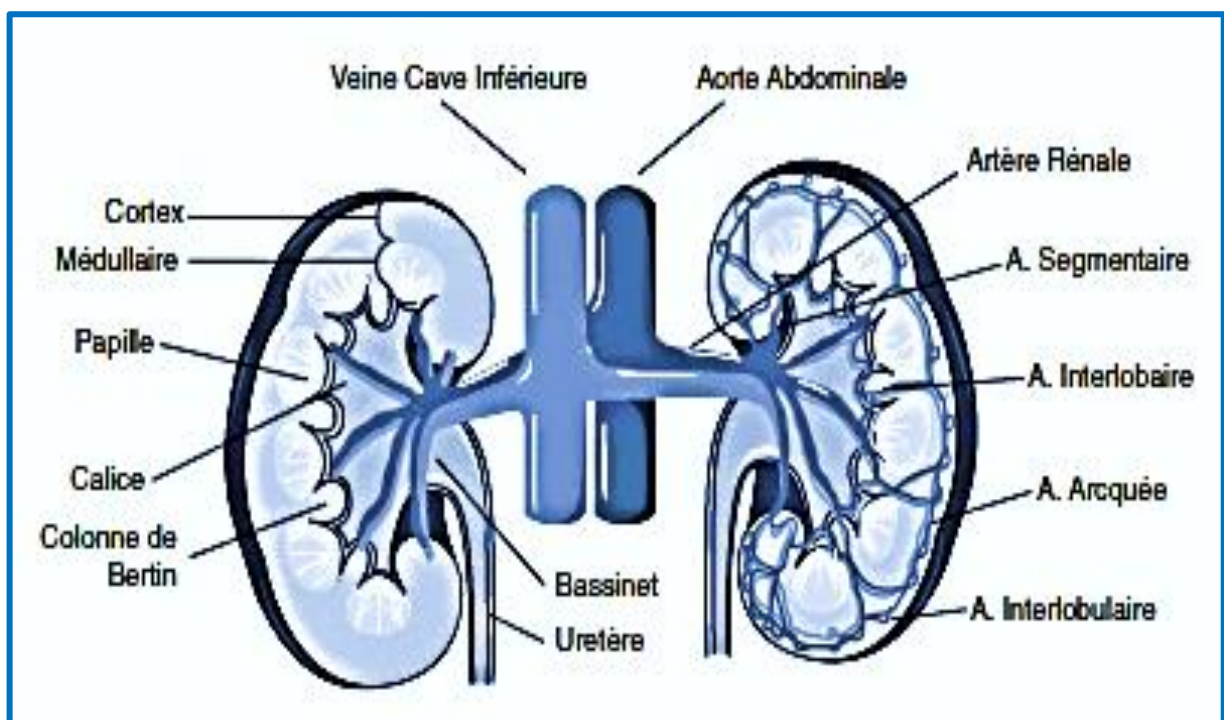


Figure 04 : Anatomie et vascularisation des reins (Victor *et al*, 2011).

III.1.2. Anatomie interne du rein

III.1.2.1. Organisation interne (vue macroscopique)

Sur une coupe longitudinal de rein, on observe de l'extérieur vers l'intérieur, la capsule rénale puis la zone cortical rouge sombre et d'aspect granuleux et enfin la zone médullaire plus pale (**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

La médullaire se divise en une médullaire externe et une médullaire interne, et la médullaire externe, en bandes externe et interne. Environ 12 pyramides composent la médullaire de chaque rein humain. La base de ces structures coniques est située à la jonction cortico-médullaire et le sommet forme une papille se projetant dans le bassinnet (**Gougoux 2005**) (**Figure 05**).

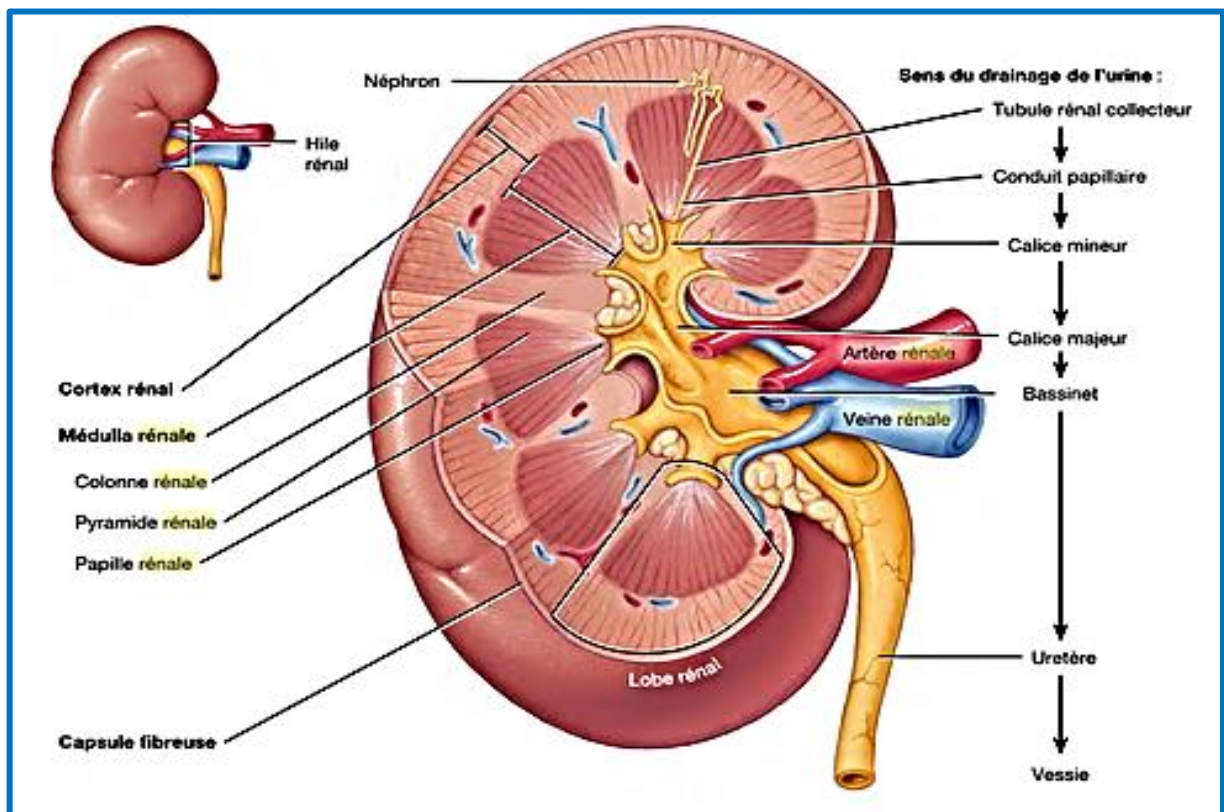


Figure 05: Structure macroscopique du rein (Tortora et Derrickson, 2016).

III.2. Le néphron

III.2.1. Anatomie du néphron

Chaque rein contient environ un million de néphrons, qui sont les unités fonctionnelles de cet organe (Tortora et Derrickson, 2016). Le néphron est un tube fermé à une extrémité, l'autre extrémité s'ouvrant dans un tube collecteur. L'extrémité fermée, ou aveugle, est indentée afin de former la capsule glomérulaire (capsule de Bowman) en forme de coupe, qui entoure presque complètement un réseau de capillaires artériels, le glomérule (Rabiller, 2013) (figure 06).

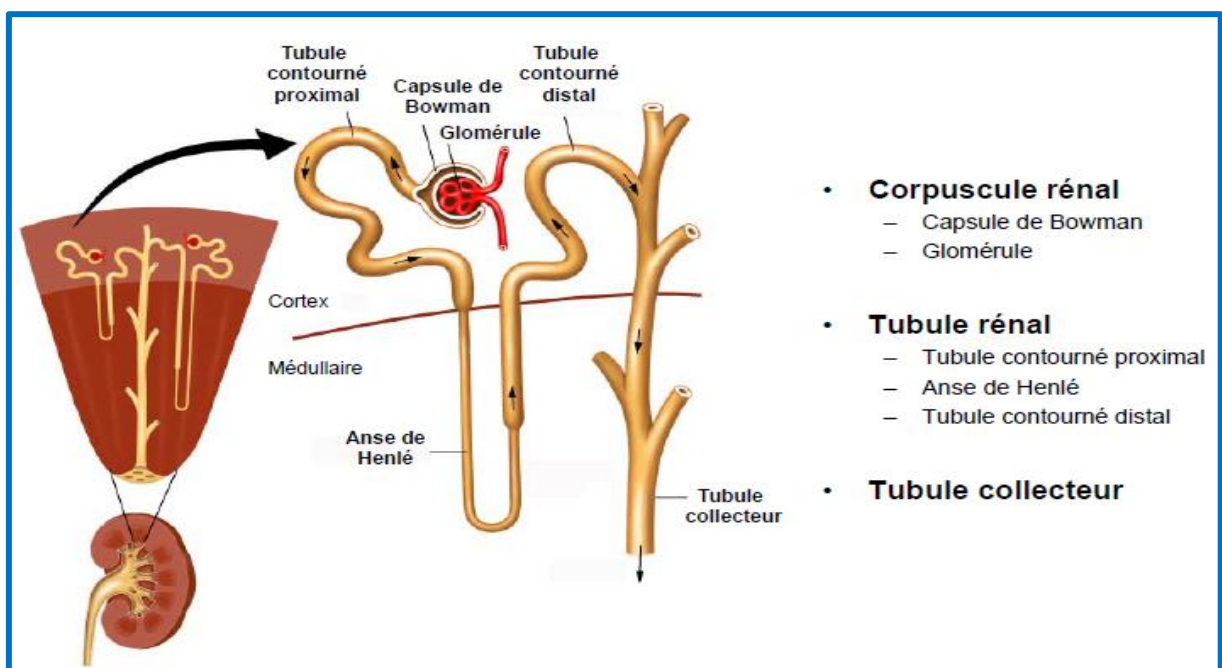


Figure 06 : Structure du néphron (Godin-Ribout , 2012).

Les néphrons sont classés en deux catégories :

A) Les néphrons corticaux : le glomérule situé tout près de la surface du rein (dans les parties superficielle ou moyenne du cortex), Ces néphrons ont des anses de Henle courte qui traverse seulement la zone extérieure de la médulla.

B) Les néphron juxta médullaire : L'anse de Henle est longue et traverse profondément l'intérieure de la zone médullaire, jusqu'à la papille rénale (David et Anderson, 2009) (Figure 07).

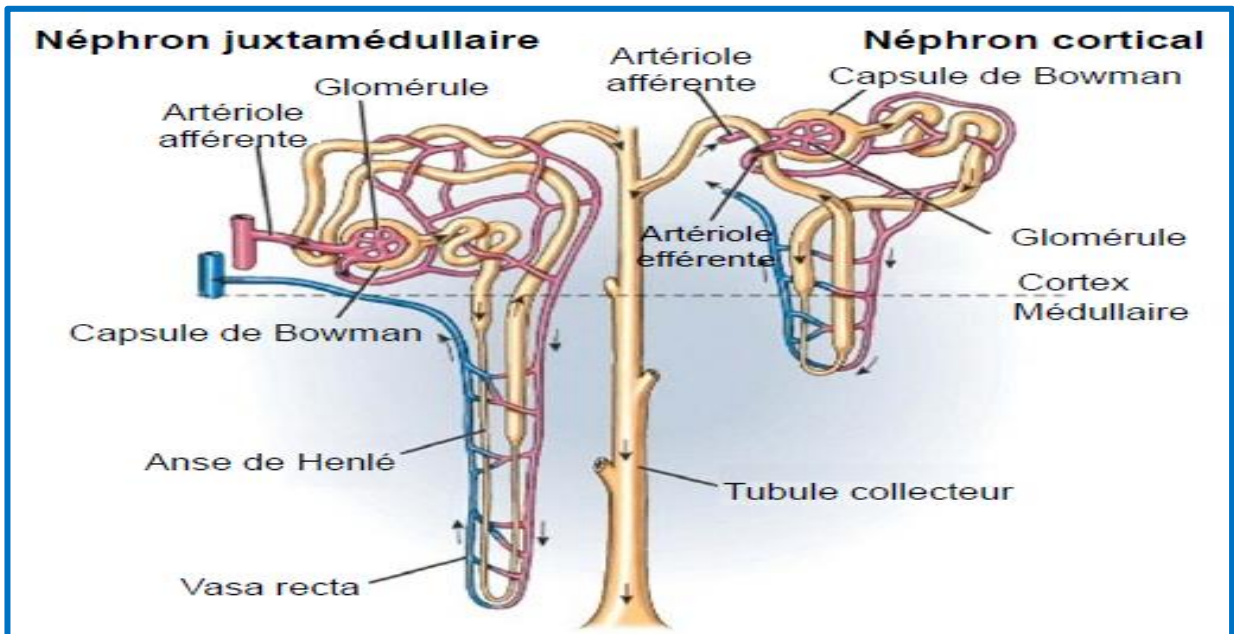


Figure 07 : Schéma des deux types de néphrons (Godin-Ribout 2012).

III.2.1.1. le corpuscule rénal

Le corpuscule rénal comprend deux parties : le glomérule et la capsule glomérulaire ou capsule de Bowman (Tortora et Derrickson, 2016). Le glomérule est un réseau de capillaires situés dans une extrémité dilatée du tubule rénal et toujours placé dans le cortex rénal. Ce réseau de capillaires glomérulaires est situé entre l'artériole afférente et l'artériole efférente. Le mésangium est la structure qui relie et qui supporte les capillaires et l'extrémité du tubule (Gougoux, 2005) (Figure 08).

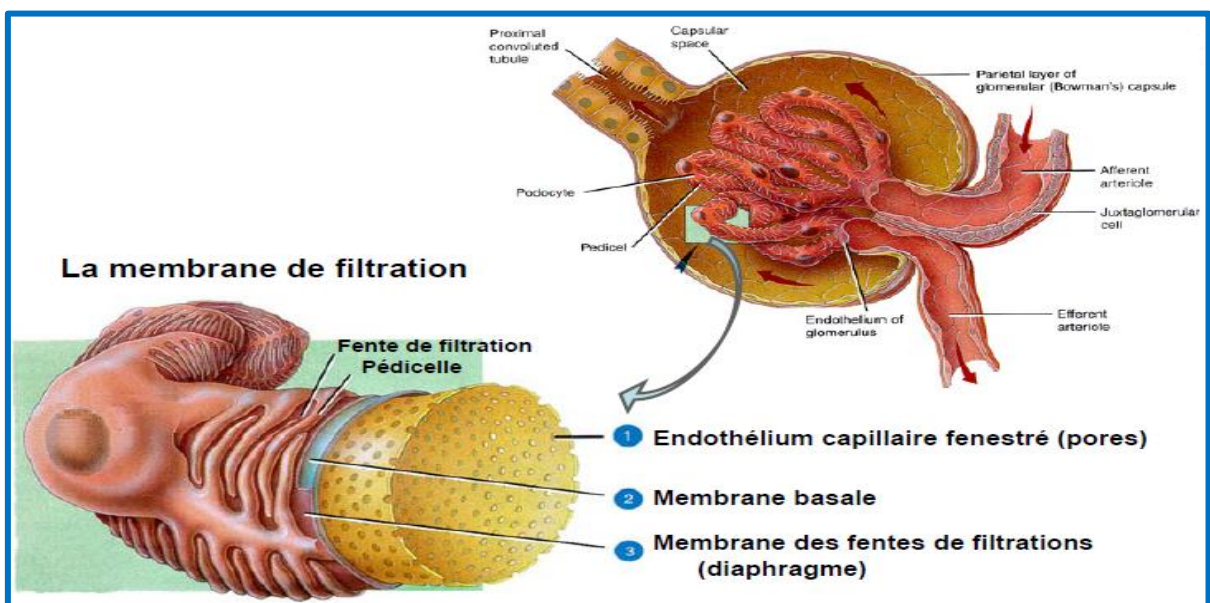


Figure 08 : La structure de corpuscule rénal (Godin Ribout, 2012).

III.2.1.2. le tubule rénal

Le tubule rénal est tapissé d'une couche unique de cellules épithéliales qui servent de barrière entre l'intérieur de l'organisme et l'environnement extérieur que représente la lumière tubulaire. Deux membranes distinctes entourent chaque cellule tubulaire, la membrane apicale, ou luminale, bordant la lumière tubulaire, et la membrane baso-latérale longeant les espaces latéraux intercellulaires et le liquide interstitiel pérítubulaire (**Gougoux, 2005**).

III.2.1.2.1. le tubule contourné proximal

C'est la première partie du tubule. Le tube proximal est subdivisé en un segment alambiqué et un segment droit proximal, La section alambiquée est nommée parce que les tubules sont mis en boucle (**David et Anderson ,2009**). La membrane luminale des cellules du tubule contourné proximal a de très nombreuses microvillosités, responsables de l'apparence de bordure en brosse (**Gougoux, 2005**).

III.2.1.2.2. l'anse de Henlé

L'anse de Henlé possède toujours un segment grêle descendant et un segment large ascendant qui remonte dans le cortex (**Ichai et Giunti, 2005**). La branche descendante fine qui descend dans la médullaire et, seulement dans les néphrons avec de longues anses de Henle (**Gougoux, 2005**).

III.2.1.2.3. le tubule contourné distal

Le tube contourné distal est situé dans le cortex et se jette dans le système des canaux collecteurs pour confluer vers la papille (**Ichai et Giunti, 2005**).

III.3.le tubule collecteur

Le tubule collecteur qui vient de la fusion d'une dizaine de néphrons et dans lequel se jettent les tubules distaux, renferme le tubule collecteur, le tubule collecteur cortical, le tubule collecteur médullaire externe et le tubule collecteur médullaire interne, dont la dernière partie est le tubule collecteur papillaire. L'épithélium du tubule collecteur contient deux sortes de cellules :

D'abord, les cellules claires ou principales réabsorbent l'eau et le sodium et sécrètent le potassium. D'autre part, les cellules foncées (à cause de la grande densité de leur réticulum

endoplasmique) ou intercalaires sont responsables de l'acidification urinaire (**Gougoux, 2005**).

III.4. Les Fonction du rein

D'après **Olmer, (2007)**. Les reins ont plusieurs fonctions :

- 1- La formation de l'urine : elle dépend de deux facteurs, la filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire.
- 2- Le maintien de l'équilibre hydro électrique et acido-basique.
- 3- La régulation de la tension artérielle.
- 4- Le rein régule les quantités d'eau dans l'organisme.
- 5- Le rein régule les quantités de sel, potassium et autres électrolytes.
- 6- Le rein élimine les produits toxiques de l'organisme.
- 7- Le rein intervient dans la production et la sécrétion d'hormones.
- 8- Le rein régule le milieu intérieur.

Matériel & méthodes

Chapitre IV. Matériel et méthodes

La partie pratique de notre étude a été réalisée au sein de laboratoire de Zoologie de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

IV.1. Matériel biologique

A-Modèle animal

Nous avons choisi comme modèle expérimental le rat « *Rattus norvegicus* » est une espèce génétiquement sélectionnée, issue par croisement de la race albinos appartient à la famille des Muridés. Ces animaux provenant de l'institut Pasteur à Alger.

- **Classification**

- Règne : Animal.
- Sous embranchement : Vertèbres.
- Classe : Mammifères.
- Ordre : Rongeurs.
- Famille : Muridés.
- Sous famille : Murines.
- Genre : *Rattus*.
- Espèce : *Rattus norvegicus*.



Figure 09 : Le rat « *Rattus norvegicus* »

B-L'extrait aqueux de *Brassica rapa*

Les racines fraîches de *Brassica rapa* var *rapifera* (le navet) ont été séparées des feuilles, coupées en petites tranches, séchées à l'ombre jusqu'au séchage complet puis pulvérisées en poudre. A partir de cette dernière, l'extrait a été stocké dans des flacons en verre scellés à ± 4 °C. Le traitement est basé sur l'extrait aqueux de *Brassica rapa* à raison de 100g/ kg de poids corporel des rats et cela par gavage pendant les 20 derniers jours de l'expérimentation.

IV.1.1. Protocole expérimental

IV.1.1.1. Constitutions des lots

Après une période d'adaptation (10 à 20 jours), 12 Rats mâles et femelles de poids corporel moyen de 94.83 ± 2.99 g, sont répartis en deux lots, durant 9 mois d'expérimentation.

- **Témoin** (n = 4 animaux) soumis à un régime standard, durant toute la période expérimentale.
- **Diabétique** (n = 8 animaux) soumis à un régime standard additionné d'un régime hyper-glucido-lipidique au but de provoquer le diabète.

Au cours des 20 derniers jours de l'expérimentation, les animaux du groupe **diabétique** sont subdivisés en 2 sous-groupes donnant lieu à une nouvelle répartition de 3 lots :

- **Témoin** (n = 4 animaux)
- **Diabétique** (n = 4 animaux)
- **Diabétique +Br** (n = 4 animaux) soumis à un régime standard additionné d'un régime hyper-glucidolipidique puis traité par l'extrait aqueux de *Brassica rapa* (Br) à raison de 100 mg/Kg/ par jour.

IV.1.1.2.Le régime alimentaire

IV.1.1.3.L'aliment standard de laboratoire

Tableau I : La composition de l'aliment standard de laboratoire par 100 g .

Composition	Pourcentage
Protéines brutes	22
Matières grasses	03
Matières minérales	06
Cellulose	03(max)
Lysine	1.1
Calcium	01
Phosphore	0.5
Extractif non azoté	44

Tableau II : La composition de l'alimentation standard de laboratoire en vitamines

Vitamines	Composition en mg
Vitamine A	10180 UI
Vitamine D3	2000 UI
Vitamine E	15mg
Vitamine K3	1.5 mg
Vitamine B3	8.9mg
Vitamine B6	0.9 mg
Vitamine B12	0.02 mg
Vitamine B1	2 mg
Vitamine B2	4 mg
Vitamine PP	25 g

IV.1.1.4. Le régime hyper-glucidolipidique

Le régime hyper-glucido-lipidique est à base de saccharose et de jaune d'œuf cuit. Chaque animal reçoit quotidiennement $\frac{1}{2}$ de jaune d'œuf et 9 g de saccharose par jour.

La composition en g pour 100 g de jaune d'œuf est indiquée dans (l'annexe 01). Un demi de jaune d'œuf pèse en moyenne 10 g (1g de jaune d'œuf correspond à 9 Cal) représentant une ration de 90 Cal et 9 g de saccharose représentent une ration de 36 Cal (1 g de saccharose correspond à 4 Cal), ce régime constitue une ration alimentaire totale de 126 Cal .

IV.1.1.5. Prélèvement des organes

Les animaux sont anesthésiés par le chloroforme, ensuite les reins sont rapidement prélevés (Figure 10) .

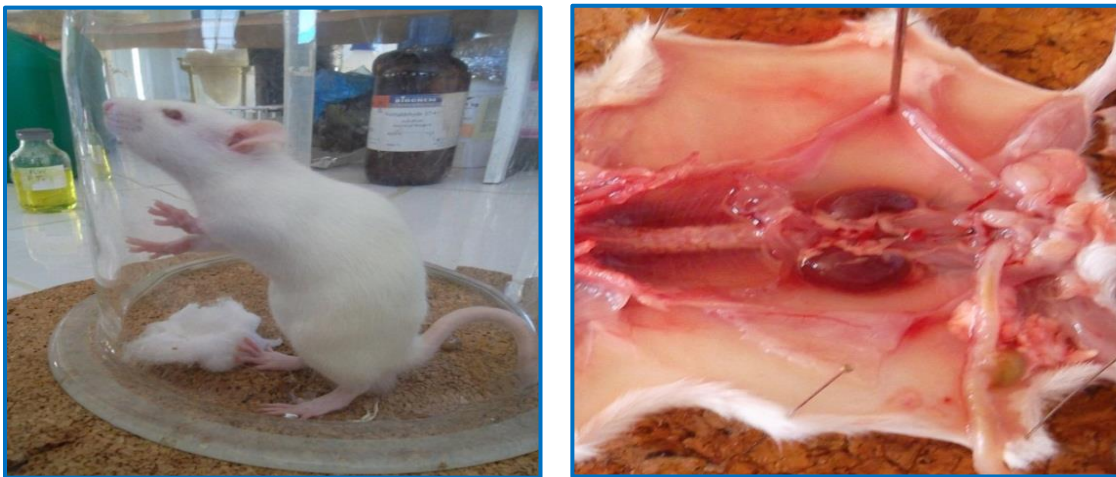


Figure 10 : Sacrifice et prélèvement des organes.

IV.2. Méthodes d'études

IV.2.1. Techniques histologiques

IV.2.1.1. Fixation

Dans notre étude, nous avons réalisé une fixation chimique par le formol dilué à 10 %. La fixation a pour but la conservation des structures de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenus dans les lysosomes. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion des organes dans un grand volume de liquide fixat après la fixation pendant 24h, les organes sont lavés pendant 6h à l'eau courante pour éliminer l'excès de fixateur.

IV.2.1.2. La circulation : elle s'effectue en trois étapes :

A-Déshydratation : Cette étape permet l'élimination de l'eau des tissus afin de les préparer à une inclusion dans un milieu hydrophobe (la paraffine). Elle s'effectue par le passage d'échantillon dans l'éthanol (Alcool) à teneur croissante (70 °, 80°, 90°, 100°)

(Figure 11).



Figure 11: La déshydratation.

B-Eclaircissement : l'éclaircissement permet l'élimination totale de traces d'alcool par le passage des échantillons dans 3 bains de xylène ou de toluène de 1h pour chacun.

(Figure12).



Figure 12 : L'éclaircissement.

C-Imprégnation : cette étape s'effectue par le passage des échantillons dans 2 bains de paraffine fondue à 60°C dans l'étuve, chaque bain prend 2 heures, pour but d'assurer l'entrée progressif de la paraffine dans les organes (Figure 13) .



A- Paraffine solide.



B- Paraffine fondue à 60°C.



C- Le passage des organes.

Figure 13 : L'imprégnation.

IV.2.1.3. La mise en bloc de paraffine

L'organe est prélevé à l'aide d'une pince chauffée puis émergé dans la paraffine liquide contenue dans des moules spéciaux (barres de Leuckart) placé sur une plaque en verre. Ensuite, avant le durcissement de paraffine on place une étiquette du côté opposé. Après refroidissement le bloc est démoulé et facile à couper (**Figure 14**).

**Figure 14 : La mise en bloc de la paraffine.**

IV.2.1.4. Réalisation des coupes et l'étalement sur des lames

La réalisation des coupes se fait à l'aide d'un microtome de type Lab-Kite, les coupes du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 5 μm d'épaisseur. Le ruban de coupe est étalé dans un bain marie à 37°C, et sont recueillies sur des lames de verre, et on le colle avec l'eau gélatinée, puis mis dans un étuve à 37°C pour sécher et faire adhérer la paraffine à la lame (**Figure 15**).



Figure 15 : Confection et l'étalement des coupes.

IV.2.1.5. Colorations des coupes

La coloration permet de différencier les différents constituants tissulaires, les cellules, les noyaux, les cytoplasmes et des constituants extracellulaires. Les coupes ne seront pas prêtes à recevoir les colorants qu'après les deux étapes suivantes : Le déparaffinage et l'hydratation. On procède au déparaffinage des coupes, qui consiste à passer les lames dans 02 bains de toluène pendant 15 minutes afin pour la fusion de paraffine. On effectue ensuite une hydratation, on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (100°, 90°, 70°, 50° puis rincées à l'eau distillée). Les colorations entreprises dans le cadre de notre travail sont :

- La coloration topographique au Trichrome de Masson (TM).
- La coloration histochimique à Acide Périodique de Schiff (APS).

IV.2.1.5.1. La coloration topographique au Trichrome de Masson

Coloration histologique associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline, une coloration cytoplasmique par le Fuschine Ponceau et une coloration par le vert lumière ou le bleu d'aniline (**Annexe 06**). Cette coloration permet de colorer en bleu ou vert le collagène et en rouge-clair ou rose les cytoplasmes, et en noir ou bleu foncé les noyaux de cellules. Elle est très utile dans l'étude de la pathologie du cœur (infarctus), foie (cirrhose), rein (fibrose glomérulaire).

IV.2.1.5.2. La coloration histochimique à Acide Périodique de Schiff (APS)

Elle permet de mettre en évidence les polysaccharides, les glycoprotéines et glycolipides qui se colorent en rose par l'acide périodique de Schiff (**Annexe 07**). L'acide périodique permet la libération des différents groupements à fonction aldéhyde et le réactif de Schiff permet la révélation de ces groupements (**Figure 16**).



Figure 16 : Les étapes de coloration.

III.2.1.6. Montage des coupes

Le montage entre la lame et lamelle à l'aide de l'Eukit permet d'observer les lames sous microscope et de les conserver (**Figure 17**).



Figure 17 : Montage des coupes.

III.2.1.7. Observation des coupes et acquisition des images

Les lames sont observées grâce au microscope optique de type Optica, Motic et Primo Start, et la prise des photos par un appareil photo numérique de type SAMSUNG ST 65.

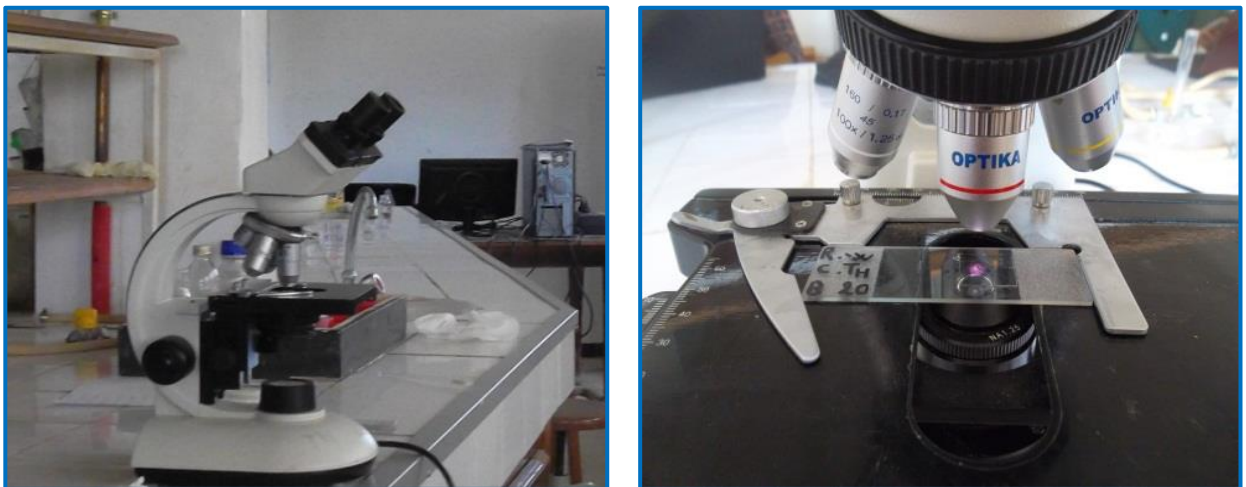


Figure 18 : Microscope optique pour l'observation des coupes.

III.3. Etude morphométrique

Nous avons mesuré le tissu fibreux interstitiel, la chambre glomérulaire ainsi que la lumière de tubule contourné proximal TCP et distal TCD en utilisant le logiciel Imagej. le calcul du pourcentage de chaque paramètre a été fait sur des images dont le grossissement est le même. Ci-dessous la plateforme du logiciel Image *j* et les étapes du calcul (**Figure 19. 20**)

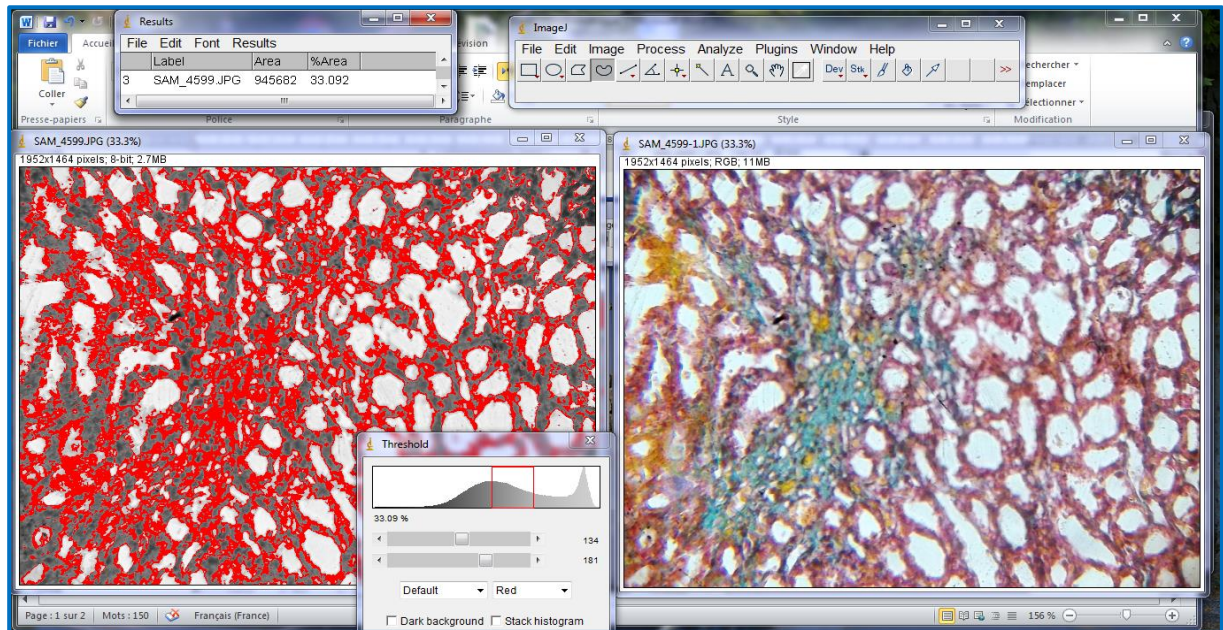


Figure 19 : Quantification des collagènes fibrillaires au niveau interstitiel par l'imagej.

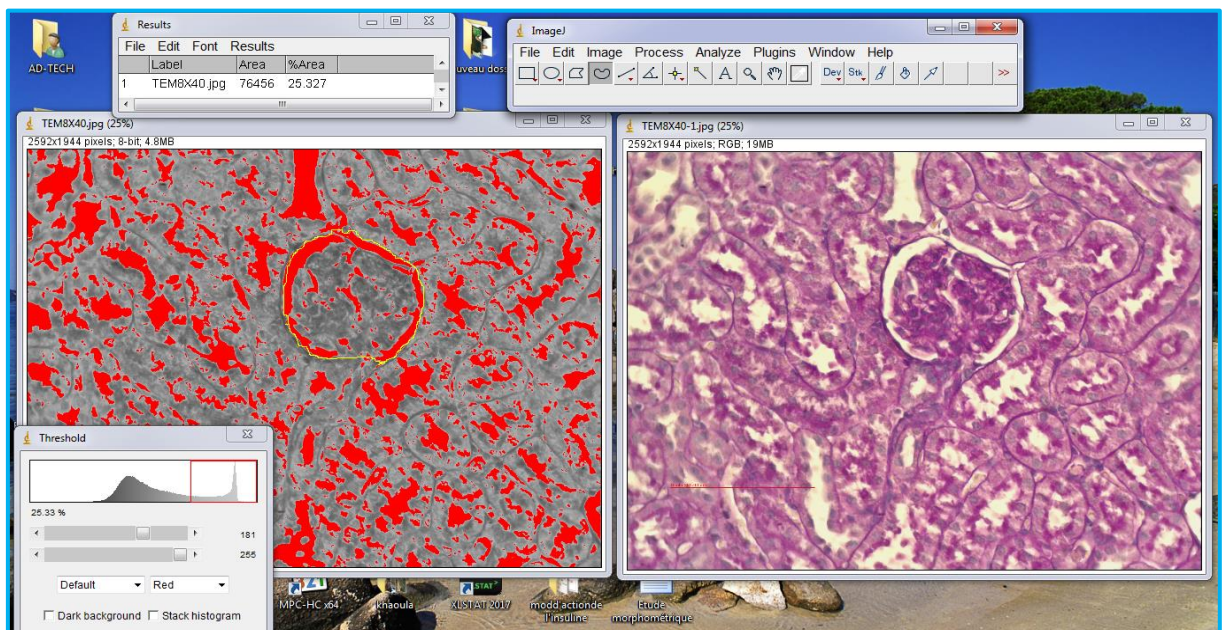


Figure 20 : Mésure de la surface de chambre glomérulaire par l'imagej.

III.4. Etude statistique

L'analyse statistique a été réalisée avec XLSTAT. Le test statistique utilisé est le test non-paramétrique de Mann-Whitney. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Mann-Whitney avec un niveau de signification statistique fixé à $p < 0,05$

- Si $P \geq 0.05$: la différence est non significative.
- Si $P \leq 0.05$: la différence est peu significative *.
- Si $P \leq 0.01$: la différence est significative **.
- Si $P \leq 0.001$: la différence est très significative ***.
- Si $P \leq 0.0001$: la différence est hautement significative ****.

Résultats

V.1. Résultats histologiques

V.1.1. Les coupes du tissu rénale chez les animaux témoins

L'analyse des coupes histologiques du tissu rénal chez le rat Wistar (*Rattus norvegicus*) témoin à différents grossissement permet de comparer la structure de rein .

Le rein est délimité par une **capsule conjonctive**, leur architecture se compose de deux parties: une zone périphérique ou **corticale** plus foncée qui entoure une zone central ou **médullaire** moins colorée (**Planche I figure A**)

- **Le cortex rénal**

Contient des **glomérules rénaux**, ou **corpuscules de Malpighi**. Au grossissement moyen, les glomérules se montrent comme des structures denses et arrondie entourés par une zone claire, c'est la **chambre glomérulaire** ou **l'espace de Bowman** (**Planche I figure C et D**)

Le fort grossissement permet de visualiser bien les détails de la structure d'un **glomérule rénal**. Il renferme une touffe de petits capillaires sanguins, délimité par la **capsule de Bowman** formée de deux feuillets : **le feuillet pariétal**, est un épithélium pavimenteux simple et **le feuillet viscéral**. Entre ces deux feuillets, subsiste une petite cavité qui est **la chambre glomérulaire**. (**Planche III figure C**) L'épithélium de TCP est cubiques et contient des bordures en brosse et la lumière de ce tube est moins large que le TCD qui a un épithélium cylindrique avec l'absence de bordures en brosse. (**Planche VI Figure D**).

- **La médulla rénale**

Au moyen grossissement, nous observons la médulla rénale formée par les **pyramides de Malpighi**. Leurs base se localisent dans le cortex, et on peut voir **le petit calice**, **le grand calice** et **le baissent** dans la médulla. (**II Figure C**)

Au fort grossissement, nous observons les différents segments des **tubules rénaux**, les trois parties de **l'anse de Henlé**, les **tubules collecteurs** et les **canaux papillaires**.

V.1.2. Les coupes du rein de rat Wistar diabétique

L'utilisation de plusieurs colorations nous a permis de révéler la présence de nombreuses altérations structurales et cellulaires. L'analyse des coupes histologiques du rein par le microscope photonique à différents grossissements sont comme suit :

- Une augmentation de l'accumulation des fibres de collagène interstitiel constituant majeur de la matrice extracellulaire avec **37.05%** , conduisant à la formation d'une fibrose péri-glomérulaire et interstitielle.
- Un épaissement de la capsule fibreuse.

- Atrophie tubulaires (destruction des cellules épithéliales).
- Des lésions glomérulaires et tubulo-interstitielles.
- La présence des amas des cellules inflammatoires dans l'interstitium.

V.1.3. Les coupes du rein de rat Wistar diabétique et traité par Brassica

Les coupes histologiques des reins de rat Wistar (*Rattus norvegicus*) diabétique et traité par *Brassica rapa*, représentent des modifications structurales qui sont comme suit :

- Diminution aux foyers des cellules inflammatoires.
- Diminution de l'épaississement de la capsule fibreuse.
- Diminution de fibrose interstitielle avec **11.53%** et péri glomérulaire.

PLANCHE I

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR TEMOIN

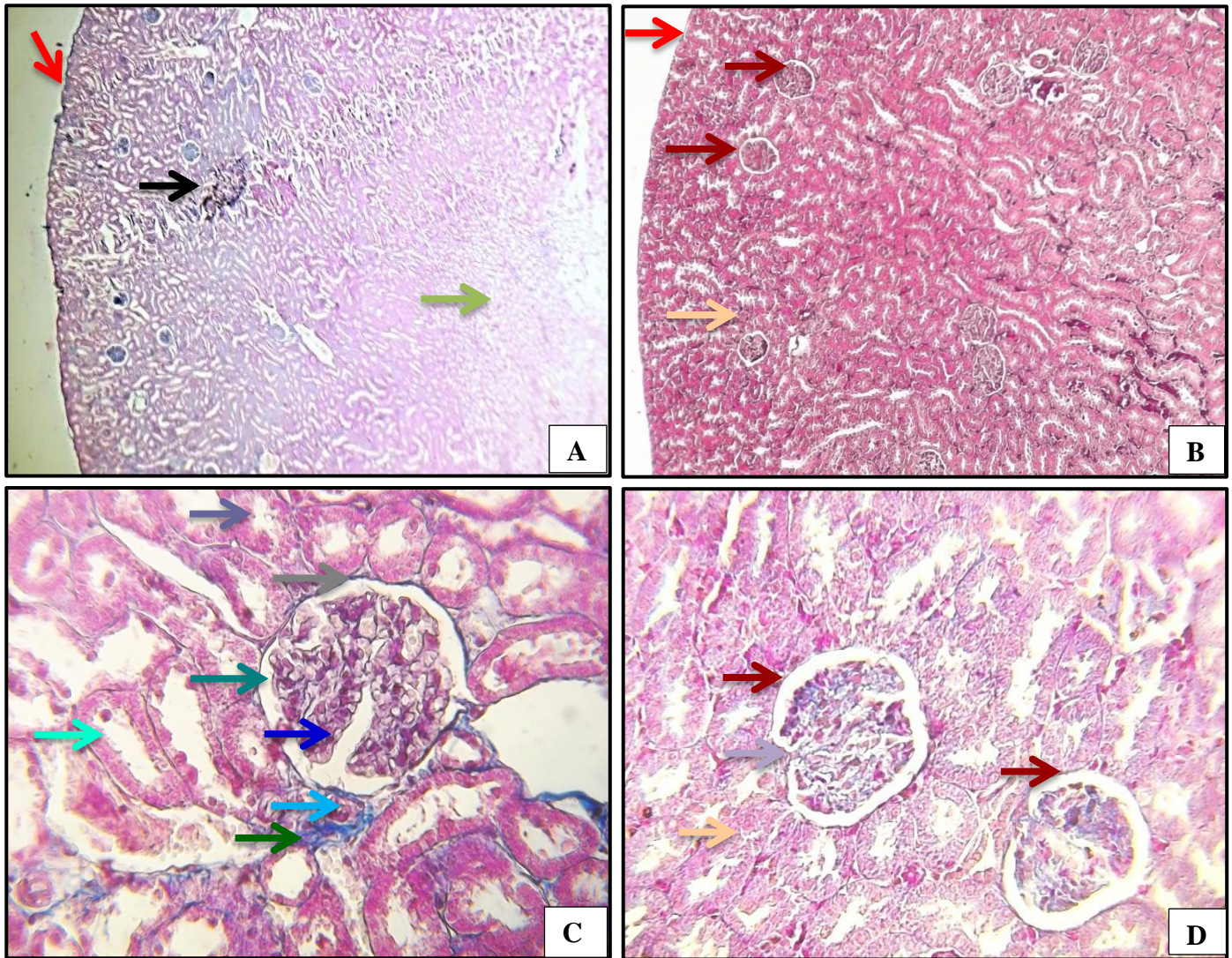


Figure A : coupe histologique du rein de rat Wistar témoin coloré au Trichrome de Masson. GrX40
Cette coupe représente une vue d'ensemble du rein. Nous observons de l'extérieure ver l'intérieure la capsule fibreuse (→), une zone périphérique foncée, le cortex rénal (→), entourant une zone centrale et la médulla vers l'intérieur (→).

Figure B: coupe histologique du rein de rat Wistar témoin coloré au Trichrome de Masson .GrX100
Sur cette coupe, nous observons vers l'extérieur la capsule fibreuse (→), ensuite le cortex rénale qui referme les corpuscules rénaux (→) entourés par les tubules rénaux (→).

Figure C : coupe histologique du rein de rat Wistar témoin. Coloration au Trichrome de Masson. GrX400 : cette coupe montre la structure d'un glomérule, qui contient de l'extérieure ver l'intérieure, la capsule de Bowman (→), la chambre glomérulaire (→), et la touffe des capillaires glomérulaire (→). Nous observons aussi une capillaire (→), entouré par un faible tissu conjonctif (→), le TCP (→), et le TCD (→)

Figure D : Coupe histologique du rein de rat Wistar témoin. Coloration au Trichrome de Masson. GrX400 : nous observons des corpuscules rénaux (→), le pole vasculaire de glomérule (→), des tubules rénaux (→).

PLANCHE II

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR TEMOIN

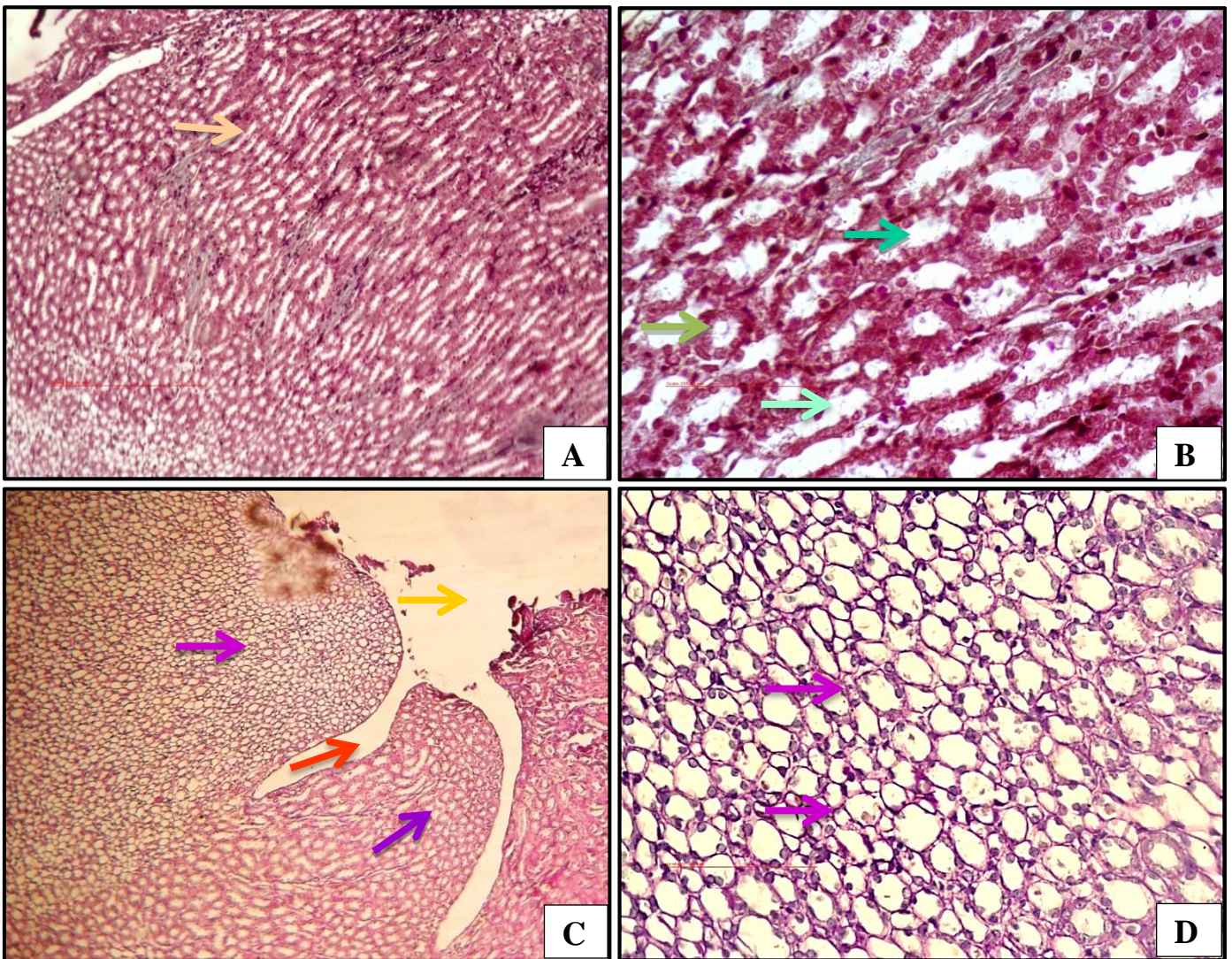


Figure A : coupe histologique du rein de rat Wistar témoin. Coloration au Trichrome de Masson.

GrX100 : cette coupe vue au faible grossissement est prise au niveau médullaire, montre des sections (structures tubuleuses) allongées ou circulaires (→), bordées d'une paroi relativement fine délimitant une lumière centrale

Figure B : coupe histologique du rein de rat Wistar témoin. Coloration au Trichrome de Masson.

GrX400 : cette coupe vue au moyen grossissement montre les mêmes sections tubuleuses allongées (→) Ou circulaires (→), bordées d'une paroi relativement fine délimitant une lumière centrale (→).

Figure C : coupe histologique du rein de rat Wistar témoin. Coloration au Trichrome de Masson.

GrX100 : cette coupe vue au faible grossissement est prise au niveau du médullaire, montrant les sections tubuleuse ; Anse de Henlé (→), et les tubes collecteur (→), Le filtrat achemine d'abord dans le canal papillaire (→), avant d'être débouché dans d la lumière du calice (→).

Figure D : coupe histologique du rein de rat wistar témoin. Coloration au Trichrome de Masson.

GrX400 : cette coupe vue au moyen grossissement au niveau de la partie médullaire montrant l'Anse de Henlé entouré par un épithélium très fine (→)

PLANCHE III

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR TEMOIN

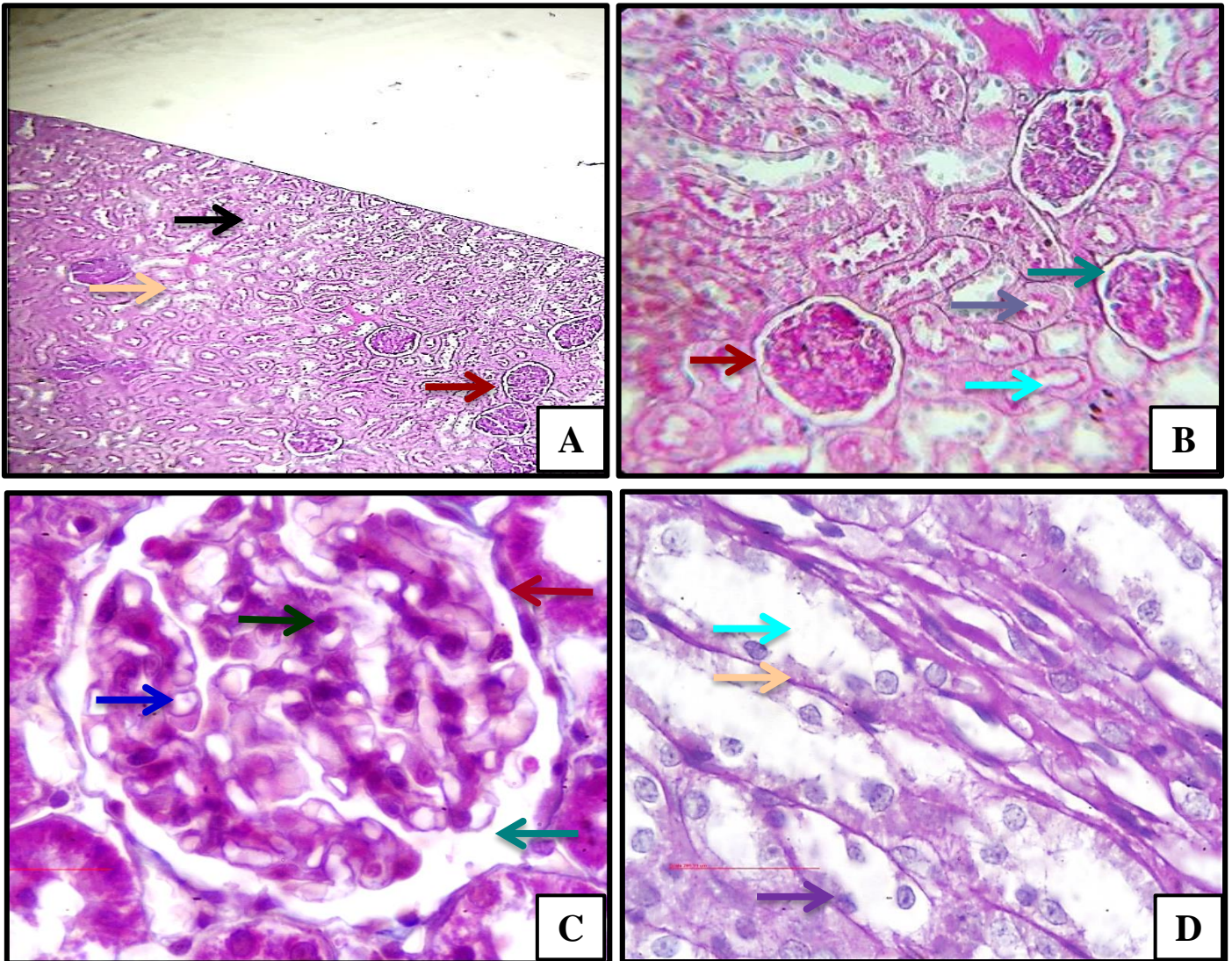


Figure A : Coloration a l'acide périodique de schiff APS. GrX 100.

Cette coupe montre l'histologie d'un rein wistar témoin, nous observons le cortex rénal (→), le corpuscule de malpighie (→), aussi nous observons des tubules rénaux (→).

Figure B : Coloration a l'acide périodique de schiff APS. GrX 400.

Dans cette coupe, nous observons Le tubule contourné proximale TCP (→) et distaux (→). Le corpuscule de malpighie (→). L'espace de Bowman (→).

Figure C : Coloration a l'acide périodique de schiff APS. GrX 1000. Au fort grossissement, nous observons l'espace de Bowman (→). Le feuillet pariétal de la capsule de Bowman (→). Les cellules mésangiales (→). Capillaire glomérulaire (→).

Figure D : Coloration a l'acide périodique de schiff APS. GrX 1000. Nous observons les tubules rénaux distaux au fort grossissement (→), les noyaux des cellules épithéliales (→), la lumière de TCD (→).

PLANCHE IV

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR DIABETIQUE

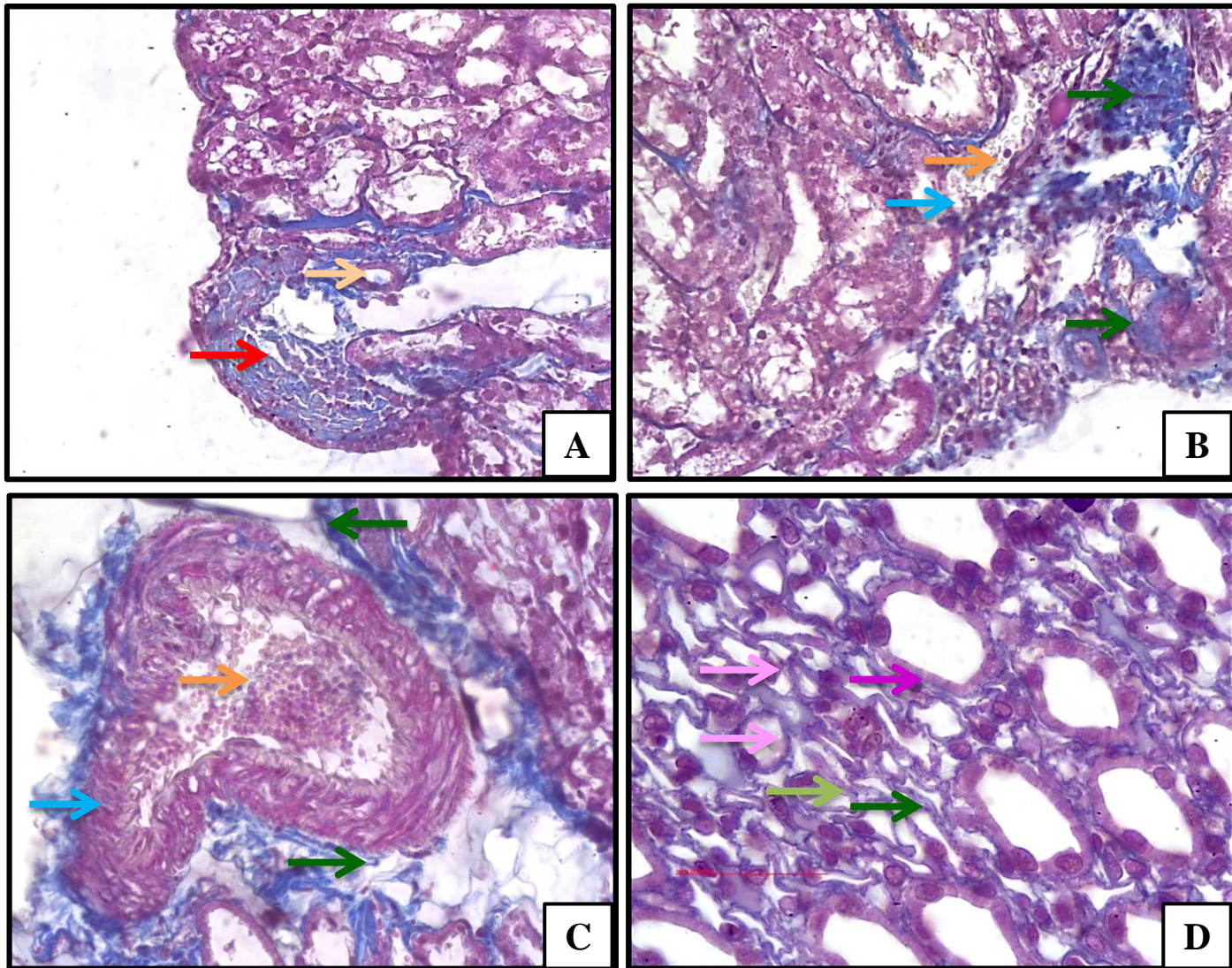


Figure A : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrome de Masson. GrX400. Nous observons dans cette zone, la capsule rénale épaisse (→), due à l'infiltration des cellules inflammatoires. Aussi une dégénérescence des tubules rénaux (→).

Figure B : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Dans cette coupe nous observons un dépôt important de fibres de collagènes autour les tubules rénaux qui indique l'apparition d'une fibrose interstitiel (→). Nous observons un vaisson sanguin en coupe longitudinale (→) et des erythrocytes (→).

Figure C : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 1000. Dans cette coupe la fibrose interstitielle diffuse, nous observons une artère (→), entouré par des fibres de collagènes (→), aussi nous observons des érythrocytes (→).

Figure D : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 1000. Dans cette coupe transversale nous observons des anses de Henlé du néphron (→), des cellules épithéliales (→), des capillaires sanguins (vasa recta) (→), nous observons une fibrose péri tubulaire (→).

PLANCHE V

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR DIABETIQUE

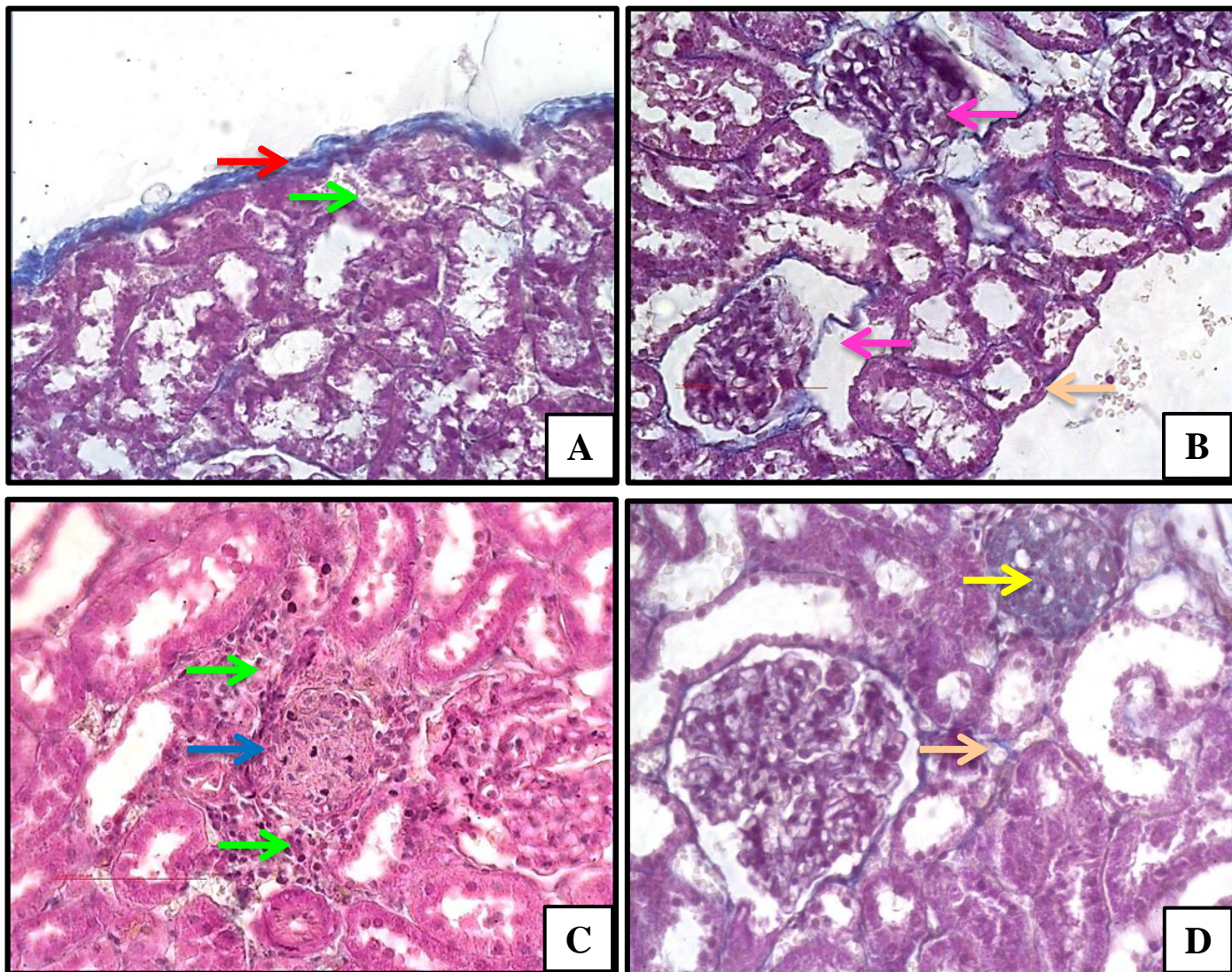


Figure A : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Dans cette coupe nous observons la capsule rénale épaisse (→). La présence des cellules inflammatoire sous la capsule (→).

Figure B : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Dans cette coupe nous observons des lésions glomérulaires et (→). Aussi des tubules atrophies (→).

Figure C : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Dans cette coupe nous observons un amas des cellules inflammatoires (→) autour d'un glomérule (→), c'est une inflammation péri-glomérulaire.

Figure D : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Dans cette coupe nous observons un glomérule compacté infiltré par des cellules grasses (→). Une atrophie tubulaire (→).

PLANCHE VI

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR DIABETIQUE

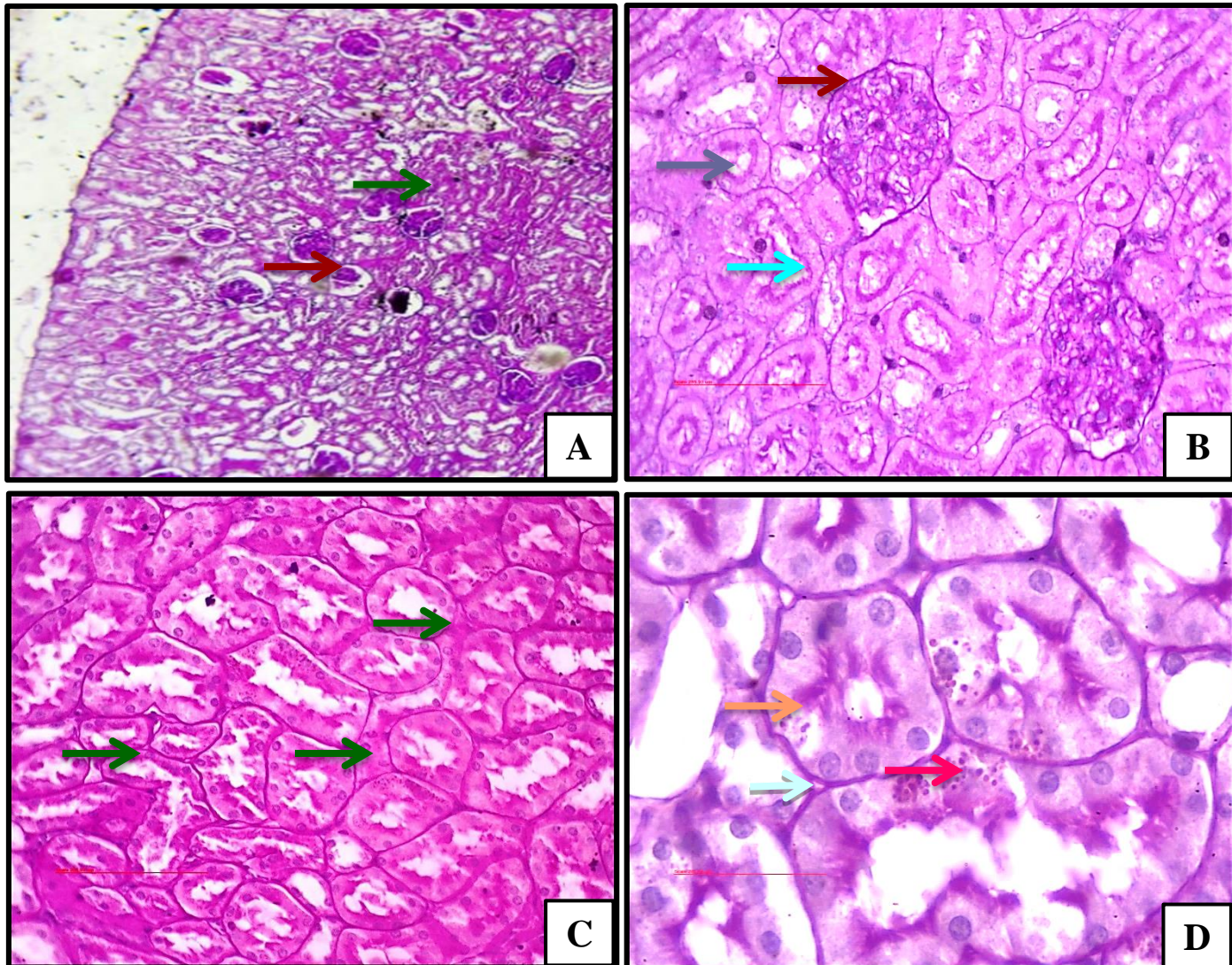


Figure A : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique .Coloration a APS. GrX 100.
Dans cette coupe nous observons l'accumulation du matériel APS positive (glycoprotéines matricielles) entre les tubules rénaux (→). Des corpuscules de Malpighi (→).

Figure B : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration a APS. GrX 400.
Dans cette coupe nous observons le TCP (→), aussi le TCD (→), le corpuscule de malpighi (→).

Figure C : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique .Coloration a APS. GrX 400.
Dans cette coupe nous observons l'accumulation du matériel APS positive entre les tubules rénaux (→)

Figure D : Coupe histologique du rein de rat wistar diabétique. Coloration a APS. GrX 1000.
Au fort grossissement, les noyaux des cellules des TCP et TCD sont bien visibles (→), aussi nous observons l'accumulation des grains de polysaccharides dans les tubules (→). APS positive dans la membrane basale qui entoure l'épithélium des tubes rénaux (→)

PLANCHE VII

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE WISTAR DIABETIQUE ET TRAITÉ

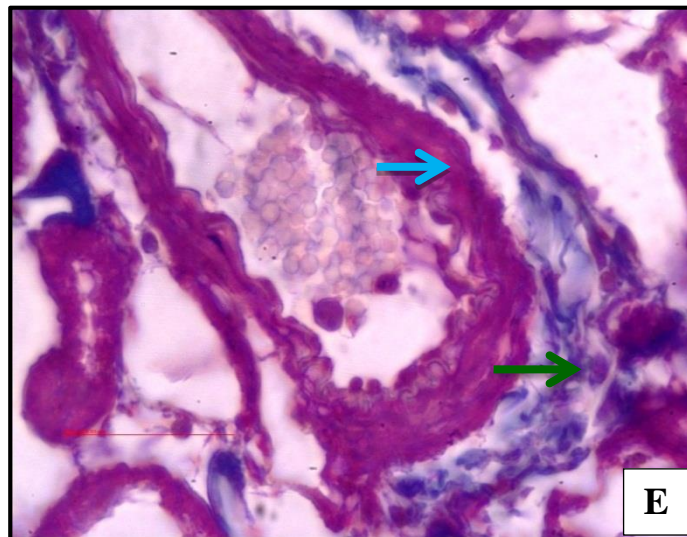
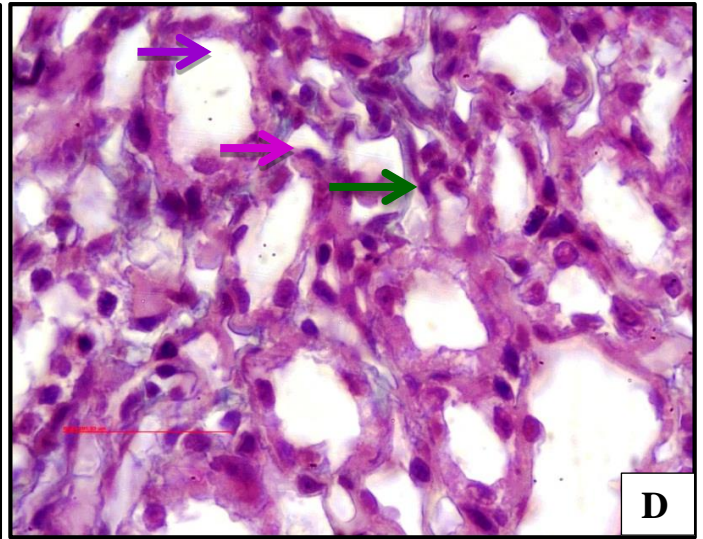
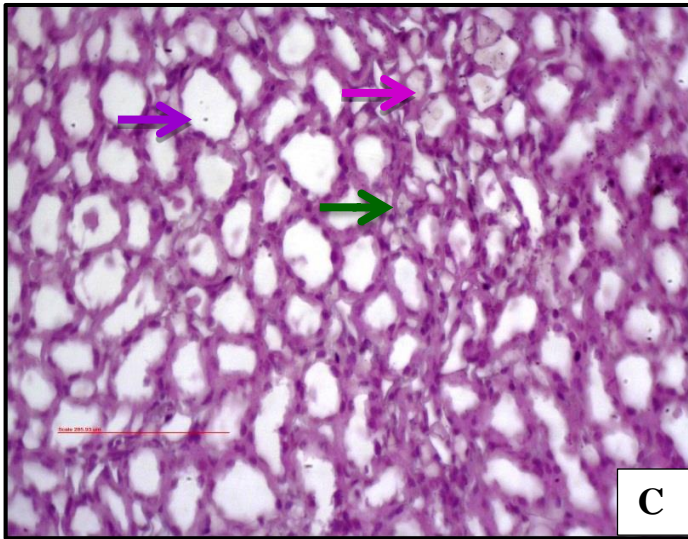
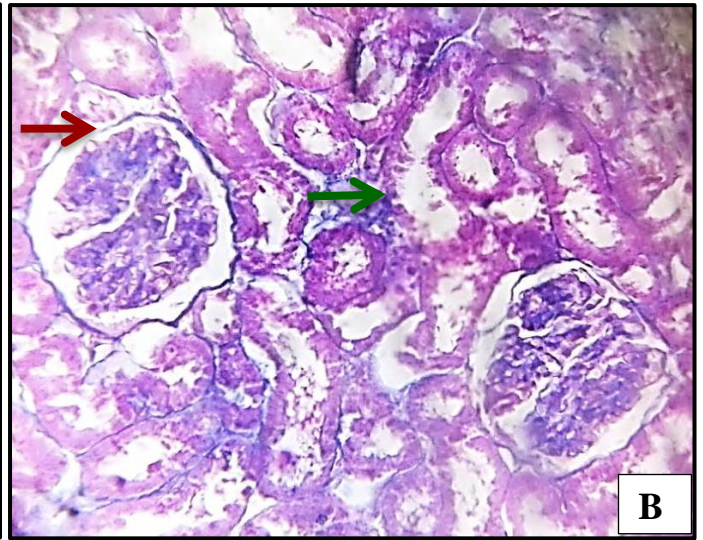
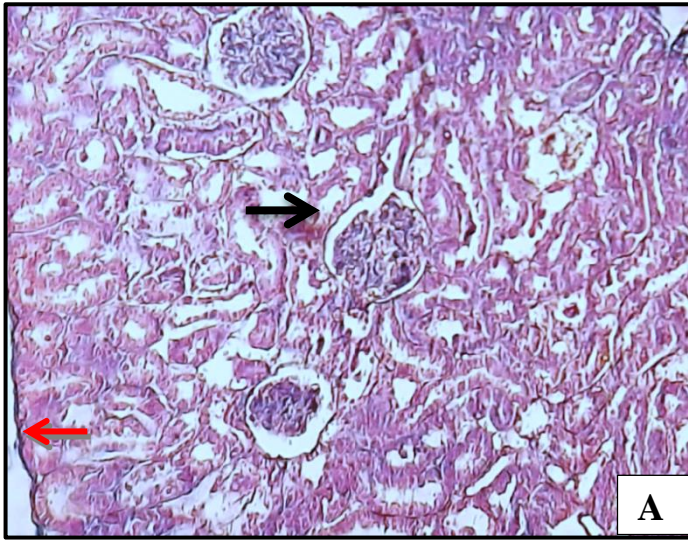




Figure A : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique+Br. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Dans cette coupe vue au moyen grossissement, nous observons une diminution dans l'épaissement de la capsule conjonctive délimitant le cortex rénale et qui apparait sous la forme d'une fine ligne (), sous cette couche, il y a le cortex qui apparait plus sombre et qui occupe la partie supérieur de cette photographie ().



Figure B : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique+Br. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 400. Cette coupe histologique montre surtout le cortex rénal avec la présence des corpuscules rénaux ayant un aspect normale (), et auxquels on peut distinguer facilement les structures dont la capsule de Bowman et le glomérule. De plus, sur cette coupe, nous observons aussi une diminution du dépôt de collagène entre les tubules (), et autour du glomérule par rapport aux diabétiques.




Figure C : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique +Br. Coloration au Trichrom de Masson. GrX400. Cette coupe histologique est vue au moyen grossissement et est prise au niveau du médullaire dans laquelle nous observons des tubes collecteurs (), et des Anses de Henlé () entourés du tissu conjonctif moins abondant (), par rapport aux rats diabétiques.




Figure D : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique+Br. Coloration au Trichrom de Masson. GrX 1000. Cette coupe histologique est vue au plus fort grossissement et prise au niveau du médullaire. Elle montre les mêmes structures que la coupe précédente qui sont les sections tubulaires ; l'Anse de Henlé (), et les tubes collecteur (), entourés toujours par un tissu conjonctif moins abondant ().



Figure E : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique +Br. Coloration au Trichrom de Masson. GrX1000. Cette coupe histologique montre la vascularisation au niveau du rein, en comparativement avec les rats diabétique, nous observons moins du tissu conjonctif (), autour des artères et une architecture normale de la paroi de cette artère ().

PLANCHE VIII

COUPES HISTOLOGIQUES DU REIN DE RAT WISTAR TRAITE

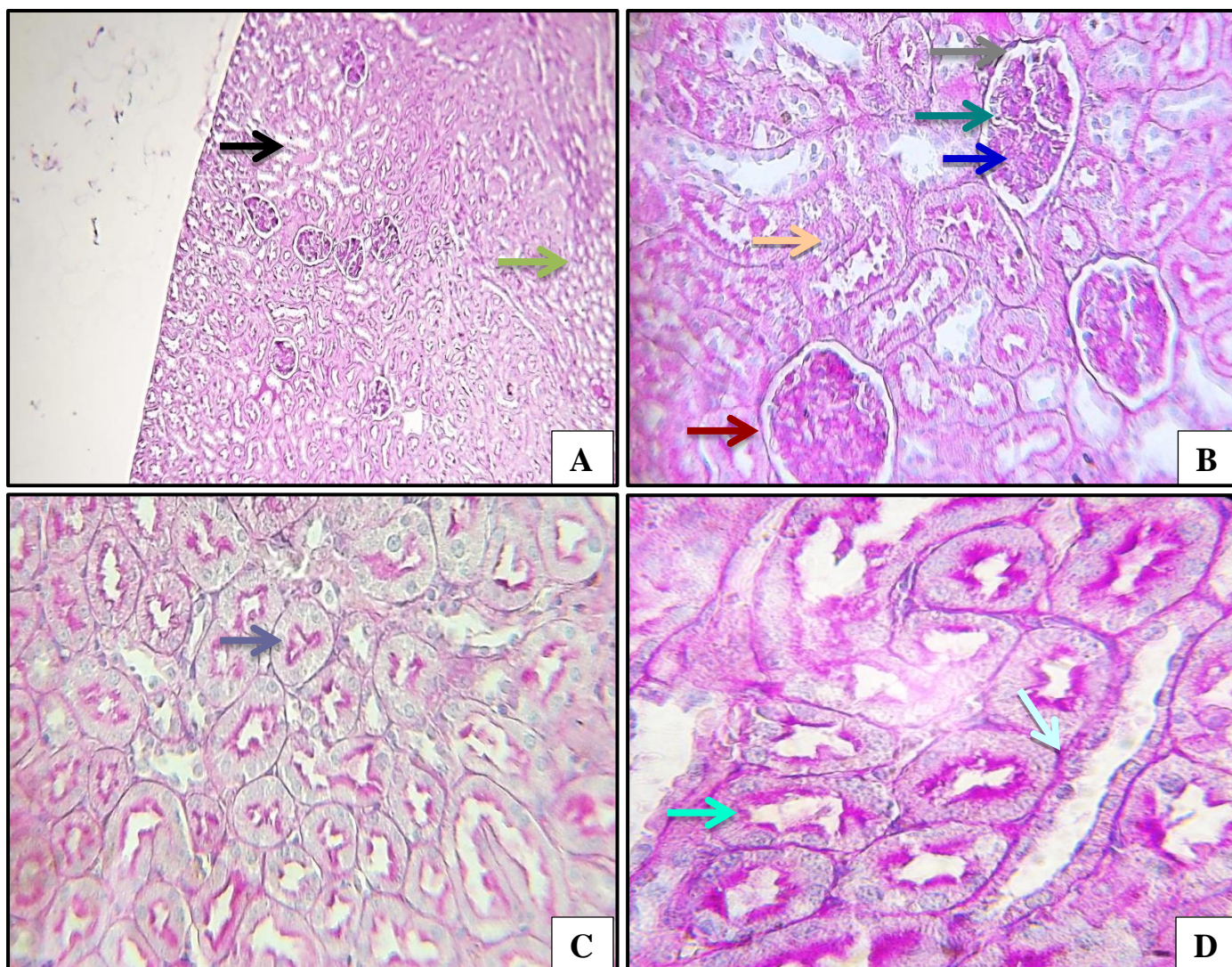


Figure A : Coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique et traité par Brassica .Coloration a APS GrX100. Cette coupe représente une vue d'ensemble du rein. Nous observons, une zone périphérique foncée, le cortex rénal entourant la zone centrale, la médulla. Les glomérules de Malpighi dans le cortex

(→), et les tubules rénaux dans la médulla (→).

Figure B : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique et traité par Brassica .Coloration a APS GrX400.Cette coupe montre le parenchyme rénal cortical. Nous observons les glomérules de Malpighi (→), leur structure contient de l'extérieur vers l'intérieur la capsule de Bowman (→), la chambre glomérulaire (→), capillaires glomérulaires (→), nous observons aussi les tubules rénaux

(→).

Figure C et D : coupe histologique du rein de rat Wistar diabétique et traité par Brassica .Coloration a APS GrX400 et 1000. Nous observons des tubules rénaux en coupe transversale des TCP (→) et des TCD (→), la lame basale (→).APS négative pas d'accumulation des polysaccharides dans les membranes cellulaires.

V.2. Résultats de la quantification de quelques paramètres cellulaires

Les résultats de la quantification de quelques paramètres réalisés sur les coupes histologiques de rats Wistar témoins, diabétiques et traités par *Brassica rapa* (diabétique + Br) sont représentés sous forme d'histogrammes.

V.2.1. Quantification du tissu fibreux interstitiel

Tableau III: Valeurs moyennes de la surface occupée par le tissu fibreux interstitiel

	Témoin	Diabétique	Diabétiques +Br
Valeurs moyenne (%)	9.053	12.408	10.977
Ecartype	2.019	3.769	2.752

La quantification de collagène montre que la surface (%) occupée par le tissu fibreux interstitiel est augmentée dans le groupe diabétique par rapport au groupe témoin par **37.05%**. Cette augmentation est peu significative ($*P=0.023$), Cependant les rats diabétique et traités par *Brassica rapa* montrent une diminution non significative (**11.53%**) de cette surface par rapport aux rats diabétiques ($P=0.599$) de

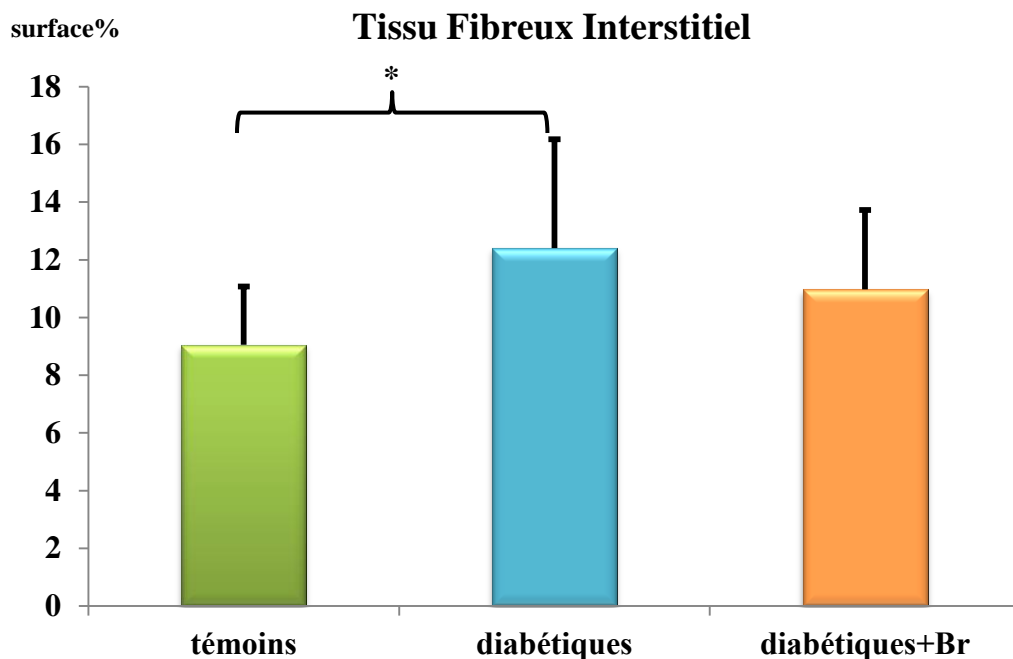


Figure 20 : Histogramme montrant les valeurs moyennes de la surface occupée par le tissu fibreux interstitiel dans le groupe témoin, diabétique et diabétique traité

V.2.2.Mesure de la surface de l'espace de Bowman

Tableau IV: Les valeurs moyennes (%) de la surface de l'espace de Bowman par rapport à la surface du corpuscule rénal chez le rat témoin, diabétique et traités.

	Témoins	Diabétiques	Diabétiques +Br
Valeurs moyennes (%)	27.270	20.644	25.792
Ecartype	5.956	4.883	5.656

Nos résultats montrent d'une part, une diminution de la surface de l'espace de Bowman (24.29%). chez les rats diabétiques par rapport aux témoins. Cette augmentation est significative (**P=0.008), aussi une augmentation peu significative (24.93%) de la surface de l'espace de Bowman chez les rats diabétiques traités par rapport aux diabétiques non traité (*P=0.034).

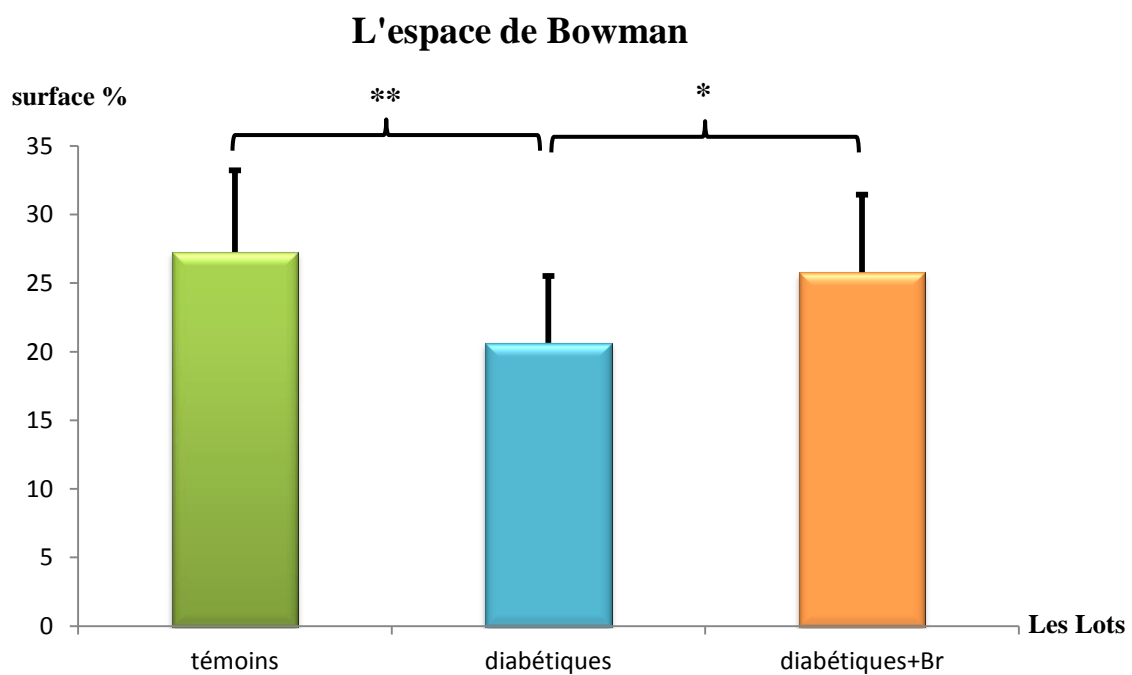


Figure 21 : Histogramme montrant le pourcentage de la surface de l'espace de Bowman chez le témoin, diabétique et diabétique traité.

Discussion

VI. Discussion

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de *Brassica rapa* (le navet) par une dose de 100 mg/Kg, pendant 20 jours, sur les reins des rats Wistar rendus diabétiques par un régime mixte hyper-glucidolipidique pendant 09 mois.

Des données expérimentales et épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation riche en graisse favorise le développement de l'obésité et qu'il existe une corrélation directe entre la ration lipidique et le degré d'obésité (**Ailhaud, 2008**). Elle constitue un facteur de risque pour le développement des maladies rénales. Des données récentes ont montré l'effet de la dyslipidémie dans le développement et la progression de maladies rénales, des études expérimentales ont démontrées que la dyslipidémie peut induire plusieurs lésions glomérulaires et tubulo-interstitielle, et que le traitement hypolipémiant améliore ces lésions rénales (**Aleix et Elisabet, 2005**) ce qui confirme nos résultats obtenus.

Nous avons utilisé comme modèle expérimental des rats Wistar nourris au régime hyper-glucidolipidique pendant 09 mois, pour le but de générer une importante prise de poids et provoquer le diabète.

Le régime hyper-glucidolipidique trop riche en glucides et lipides est à base de saccharose et de jaune d'œuf cuit. Chaque animal reçoit quotidiennement ½ de jaune d'œuf et 9 g de saccharose par jour. Un demi de jaune d'œuf pèse en moyenne 10 g (1g de jaune d'œuf correspond à 9 Cal) représentant une ration de 90 Cal, et 9 g de saccharose représente une ration de 36 Cal (1 g de saccharose correspond à 4 Cal), donc, ce régime constitue une ration alimentaire journalière totale de 126 Cal.

D'après notre travail, le régime mixte conduit à l'installation de l'obésité, associée à des anomalies métaboliques comme l'hyperlipidémie, l'hyperglycémie et induit par la suite un stress oxydatif et le développement du diabète de type 2.

Le diabète de type 2 est caractérisé par une hyperglycémie chronique causée par une résistance à l'insuline et une détérioration de la fonction et de la survie des cellules bêta pancréatiques. Les effets délétères causés à la fois par l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie, connus sous le nom de gluco-lipotoxicité, conduisent notamment à l'augmentation de l'apoptose des cellules bêta (**Coant et al., 2011**).

L'obésité augmente la prévalence des maladies rénales chroniques. De nombreuses données épidémiologiques montrent que l'augmentation de l'indice de masse corporelle est

principalement associée à l'apparition de glomérulopathies (GAO: Glomérulopathies Associées à l'Obésité). Les GAO peuvent résulter soit de l'action délétère directe de facteurs sécrétés par le tissu adipeux comme la leptine, soit des mécanismes indirects liés aux pathologies associées à l'obésité (hypertension, diabète de type 2 ou dyslipidémies) (**Pradère, 2007**).

Le but de cette étude était d'évaluer l'effet d'un régime hyper-glucidolipidique, sur le développement des lésions rénales chez les rats Wistar, et l'effet thérapeutique de *Brassica rapa* sur ces altération, pour cela, nous avons administré un régime mixte pendant 9 mois puis un traitement à l'extrait aqueux de *Brassica rapa* à raison de 100mg / kg pendant les 20 derniers jours d'expérimentation.

La néphropathie diabétique est un problème majeur chez les patients diabétiques. Elle se définit par une atteinte glomérulaire spécifique du diabète. L'atteinte glomérulaire se caractérise par une destruction progressive de celle-ci, par sclérose sous les effets combinés de la macro et de la micro-angiopathie, de l'ischémie et de l'hypertension (**Collart F, 2003**). Nos résultats obtenus montrent une augmentation de l'accumulation des fibres de collagène interstitiel constituant majeur de la matrice extracellulaire conduisant à la formation d'une fibrose péri-glomérulaire et tubulo-interstitielle. D'après (**Liliane et al.,1994**) et (**Klein et al.,2011**) quelle qu'en soit l'origine, la majorité des atteintes rénales aboutissent au développement d'une fibrose tubulo-interstitielle (FTI) dont la présence signe l'évolution vers la perte de la fonction rénale. La glomérulosclérose progressive et la fibrose interstitielle accompagnent la plupart des affections rénales chroniques, aboutissant à l'insuffisance rénale terminale.

Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Redouane. 2011**) qui montre que la glomérulosclérose caractérisé par une augmentation de l'épaisseur de la membrane basale glomérulaire (MBG), l'hypertrophie mésangiale avec expansion matricielle et accumulation de protéines de la matrice extracellulaire (collagène de type I et IV, laminine et fibronectine) ,La glomérulosclérose et les lésions tubulo-interstitielle, notamment l'atrophie tubulaire, la perte des capillaires péri-tubulaires et la fibrose interstitielle, sont les manifestations classiques des changements histo-morphologiques retrouvés dans la néphropathie diabétique .

De nombreuses maladies rénales chroniques évoluent vers l'insuffisance rénale terminale du fait du développement progressif d'une fibrose tissulaire qui siège dans l'interstitium ou au sein de glomérules. Cette fibrose est souvent le résultat d'une transformation de la matrice extracellulaire par des cytokines et des chimiokines produites par

des cellules résidentes ou infiltrées activées au cours de phénomènes inflammatoires aigus répétés (**Grenier, 2011**)

la réaction inflammatoire intra rénal est caractérisée par l'activation de nombreuses cellules et on premier lieu des macrophages (**Ricardo et al., 2008**), ces macrophages une fois activés sont susceptibles de synthétiser des cytokines et des chymiokines qui vont avoir des actions à la fois cytotoxiques, anti-angiogéniques et profibrosantes (**Ko et al., 2008**). Les principales cytokines impliquées dans la pathogenèse de DT2 sont l'interleukine-1 β (IL-1 β), avec une action semblable à celle présente dans le diabète de type 1, le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et de l'IL-6 (**Alexandrakiet al., 2006**), ces différentes molécules vont agir sur la matrice extra cellulaire intra glomérulaire ou interstitielle et favorise l'activation des cellules comme les cellules mesangiales dans le glomérule et les myofibroblastes dans l'interstitium (**Ko et al., 2008**). En cas d'atteinte glomérulaire, ces cellules mésangiales activées vont devenir capables de proliférer, de se transformer en cellules musculaires lisses, d'altérer les péricytes et les podocytes et favoriser la production de la matrice extracellulaire en particulier de collagène non fibrillaire de type IV. Dans les atteintes tubulo-interstitielles, les processus fibrosant résulte également de la synthèse de chimiokines qui associée à la protéinurie, vont favoriser d'une part, des lésions des cellules tubulaires et d'autre part une transition épithéliale-mesenchymateuse avec formation de fibroblastes et production d'un collagène fibrillaire de type I (**Grenier, 2011**). L'inflammation, fibrose, et trouble des lipides sont essentiels des promoteurs dans la pathogenèse de l'insuffisance rénale diabétique dans le diabète sucré de type 2 (**Sun et al., 2015**).

Nous avons observé dans les coupes histologiques de lot diabétique traité avec *Brassica rapa* une diminution surtout de dépôt des fibres de collagène interstitiel due à la diminution de fibrose tubulo-interstitielle et périglomérulaire provoqué par l'inflammation.

Brassica rapa (le navet) corrige les états inflammatoires, ces résultats sont confirmés par les travaux de **Stavric, (1994)** et **Boots et al., (2008)** et qui ont montré que le navet contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que La quercétine qu'est indiquée dans toutes les situations inflammatoires parce qu'elle inhibe la formation des médiateurs de l'inflammation. Il semble qu'un grand nombre des effets biologiques de la quercétine et d'autres flavonoïdes puisse être expliqué par leur activité antioxydante et leur capacité à détruire les radicaux libres.

NF-kB (Nuclear Factor kappa B) est une protéine considérée comme un marqueur de l'inflammation. Dans les reins, l'activité de cette protéine augmente avec l'âge et conduit à une augmentation du stress oxydant. Des chercheurs ont testé les effets de la quercétine sur l'activation de NF-kB sur des cultures de cellules de reins de rats. Ils ont observé que la quercétine inhibait puissamment l'activation de NF-kB (**Kim et al., 2002**). De nombreuses maladies rénales chroniques évoluent vers l'insuffisance rénale terminale du fait du développement progressif d'une fibrose tissulaire qui siège dans l'interstitium ou au sein de glomérules. Cette fibrose est souvent le résultat d'une transformation de la matrice extracellulaire par des cytokines et des chimiokines (**Grenier, 2011**). La quercétine est indiquée dans toutes les situations inflammatoires parce qu'elle inhibe la formation des médiateurs de l'inflammation (**Boots et al., 2008**).

Il n'y a aucun doute que le diabète sucré et ses complications sont associés à une augmentation du stress oxydatif résultant d'un déséquilibre dans la production de radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Berdja et al., 2016**). Un stress oxydant a été mis en évidence dans le diabète expérimental chez l'animal et chez les patients diabétiques de type 1 et de type 2 (**Delattre et al., 1999**). Les ROS ont un rôle important dans l'étiologie du diabète et de ses complications. Il existe de nombreuses cibles de dommages oxydatifs dans le système vasculaire diabétique, avec des modifications de protéines, lipides et acides nucléiques, qui se produisent dans les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses. Conditions pathogènes : micro- (neuropathie, rétinopathie, néphropathie et) et les complications macrovasculaires (**Berdja et al., 2016**). Ce stress est une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, soit par production excessive de radicaux libres, soit par baisse des défenses anti-oxydantes. Les radicaux libres perturbent le fonctionnement normal des cellules, leur accumulation provoque la nécrose cellulaire. Ainsi, le stress oxydatif serait impliqué, par effet d'apoptose sur les cellules bêta, dans la progression du diabète de type 2 (**Bihan, 2002**). La quercétine possède de puissantes propriétés antioxydantes. Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de piéger directement les radicaux libres (**Joshi et al., 2005**).

La quercétine augmente significativement la sécrétion d'insuline à partir des îlots de Langerhans isolés de rats. L'administration intra péritonéale de la quercétine pour des rats normaux et rendus diabétiques, induit une réduction des taux de glucose sanguin des rats diabétiques. La quercétine diminue également les taux de glucose chez des rats diabétiques en

réponse à un test de tolérance au glucose. Elle réduit significativement le cholestérol et les triglycérides plasmatiques, augmente l'activité des glucokinases hépatiques probablement par l'augmentation de la sécrétion d'insuline, à partir des îlots pancréatiques des rats diabétiques (**Kim et al ., 2004**).

Conclusion
&
Perspectives

Conclusion

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies métaboliques. Ces maladies sont dues à une alimentation trop riche en lipides et glucides et parmi ces maladies, on a le diabète, spécifiquement le diabète de type 2.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à analyser l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux préparés à partir des racines de *Brassica rapa* par une dose de 100mg / kg pendant 20 jours, sur les reins des rats Wistar (*Rattus norvegicus*) rendus diabétiques par un régime mixte hyper-glucidolipidique pendant 09 mois.

D'après notre étude on peut conclure que le régime hyper-glucidolipidique à provoquer le diabète de type 2 qui a engendré plusieurs altérations au niveau du rein :

- Une augmentation de l'accumulation des fibres de collagène interstitiel constituant majeur de la matrice extracellulaire conduisant à la formation d'une fibrose périglomérulaire et interstitielle.
- Un épaississement de la capsule fibreuse rénale.
- Atrophie tubulaires (destruction des cellules épithéliales).
- Des lésions glomérulaires et tubulo-interstitielles.
- Augmentation de l'épaisseur de la membrane basale
- La présence des amas des cellules inflammatoires dans l'interstitium.

L'étude histologique des coupes du rein chez les rats traités par *Brassica rapa* montrent les modifications suivantes par rapport au rats diabétiques non traités:

- Une diminution de l'épaississement de la capsule rénale .
- Une diminution de la fibrose tubulo-interstitielle et péri glomérulaire.
- Une diminution des amas des cellules inflammatoires.

L'ensemble des résultats de cette étude indiquent que le traitement avec l'extrait aqueux de *Brassica rapa* peut réduire les risques de diabète de type 2 sur les reins avec le temps (néphropathie diabétique et la glomérulosclérose et l'insuffisance rénale). *Brassica rapa* exerce un effet antidiabétique, anti-inflammatoire et antioxydant et pourrait prévenir et ou atténuer les complications liées au diabète.

Cependant pour confirmer nos résultats, il serait nécessaire de :

- Prolonger la durée de traitement.
- Confirmer les altérations tissulaires par l'immunohistochimie en utilisant des marqueurs de l'inflammation comme (NO, MCP1, TNF α , et NF-kB) et de stress oxydatif (protéines carbonylées, protéines à oxydation avancée et d'antioxydants, SOD).

Références Bibliographiques

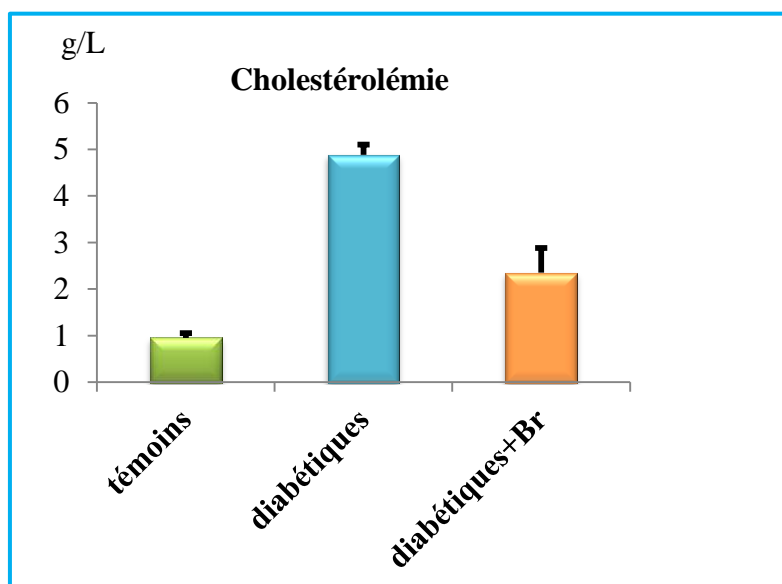
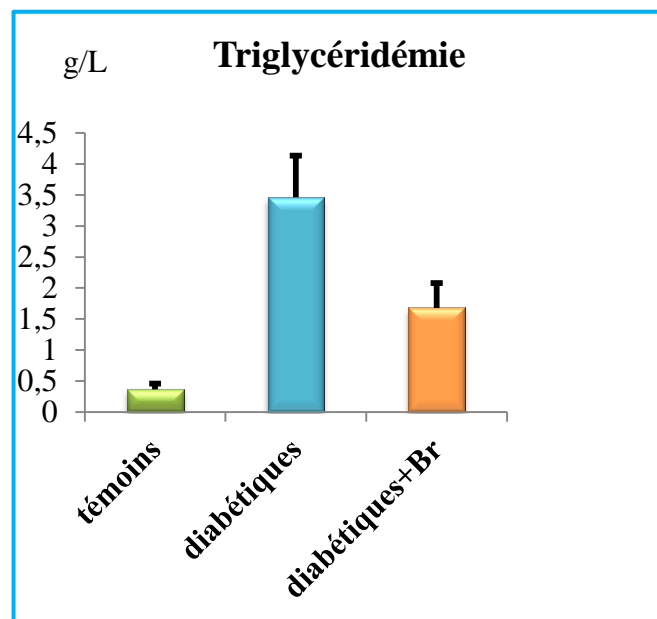
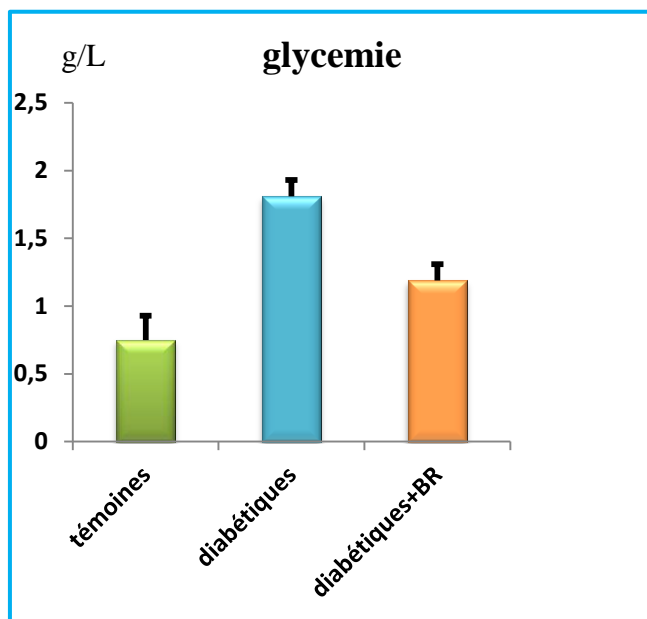
Annexes

ANNEXE N°1**La composition en (g) de jaune d'œuf.**

Eau	40-46
Protéines	13.5-17.5
Lipides	30-34
• Saturés	10.5-12
• Monosaturés	16.5-19
• Polyinsaturés variable	
• Cholestérol	1.2-1.35
Glucides	0.18-0.25
Cendres	1-1.5
Calories	370-400
La composition en vitamines et sels minéraux (µg /100g)	
• Vitamine A	1000
• Vitamine D	5
• Vitamine E	5000
• Vitamine K	100
Phosphore	540
Fer	6.5

ANNEXE N°2

Figure des histogrammes des différents paramètres biochimiques plasmatiques « glycémie, triglyceridémie et cholestérolémie » en (g/l) chez les rats wistar dans le 9^{ème} mois.



ANNEXE N°3

MATERIEL NON BIOLOGIQUE

1. Equipement et instruments

- Agitateur.
- Bain marie.
- Balance de précision.
- Bec benzène.
- Béchers.
- Les moules on ferre.
- Eprouvette graduée.
- Etuve réglée à 60°C.
- Lames et lamelles.
- Microscope photonique OPTIKA.
- Microtome de type Lab-Kite.
- Papier filtre.
- Pipette pasteur.
- Plaque chauffante.
- Thermomètre.
- Trousse de dissection.

2. Produits et solution histologique

- Acide acétique.
- Acide Chlorhydrique.
- Acide périodique.
- Acide phosphomolybdique.
- Acide picrique.
- Alcools (isopropanol).
- Résine.
- Butanol.
- Charbon actif.
- Méta bisulfite de sodium.
- Paraffine.
- Toluène et cyclohexane.

ANNEXE N°4**PROTOCOLE EXPERIMENTALE****1. Fixation :**

Par formol dilué a 10% environ 24h.

2. Rinçage :

6h à l'eau courante.

3. Conservation :

Par Isopropanol 70 %.

4. Inclusion : Pour un cycle standard de 18H :

4.1. Isopropanol 70%..... (2X1h30)

4.2. Isopropanol 90%..... (2x1h30)

4.3. Isopropanol 100%..... (3x1h)

4.4. Toluène..... (3x1h)

4.5. Paraffine+Butanol a 60°C..... (2h)

4.6. Paraffine à 60°C..... (4x1h30)

5. Enrobage :

Par des moules spéciaux (barres de Leuckart).

Remarque :

Eviter de laisser trop longtemps les organes dans la paraffine à 60°C afin d'éviter toute détérioration des tissus.

6. Confection des coupes :

Un Microtome de type « American optical » composé d'un support objet, un support de rasoir, et système d'avance mécanique, nous a permis de réaliser des coupes de 5µ d'épaisseur. Le bloc est d'abord taillé au scalpel de manière à former un trapèze, présentant une surface aux cotés parallèles puis fixé par sa grande surface sur le porte objet du microtome.

Les coupes réalisées sont récupérées en longs rubans perpendiculaires au rasoir du microtome, ces derniers sont recueillis à l'aide d'un pinceau et déposées dans une boîte.

7. Etalement des coupes :

L'étalement se fait sur des lames en verres. Le collage se fait avec un liquide « L'eau gélatinée » à l'aide d'une seringue, puis laisser pour sécher quelques jours.

8. Coloration des coupes : nous avons utilisé la coloration de trichrome de Masson et l'acide périodique de schiff APS.

9. Déparaffinage et l'hydrations des coupes :

Le déparaffinage consiste à passer les lames dans 02 bains de toluène pendant 15 minutes afin de dissoudre la paraffine. On effectue ensuite une hydratation, on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (100°, 90°, 70°, 50° puis rincées à distillée).

10. Coloration des coupes :

Les colorations entreprises dans le cadre de notre travail sont d'ordre topographique.

10.1. Trichrome de Masson.**10.2. Acide périodique de schiff (APS).****11. Déshydratation des coupes :**

Elle s'effectue par le passage successif dans des alcools de concentrations croissants : (70°, 90°, 100°), et qui se termine par un passage dans deux bains de Toluène.

13. Montage :

Celui-ci se fait en déposant de la résine sur la lame qui sera ensuite couverte par une lamelle.

14. Observation des coupes :

Ce fait par microscope photonique de type (Optika) sous un grossissement 10 40 et 100

ANNEXE N°5**PREPARATION DES ALCOOLS ET SOLUTIONS****1. Dilution des alcools**

- Alcool 70° : 100 ml de l'isopropanol 100°) +47.75ml de l'eau distillée.
- Alcool 90° : 100 ml de l'isopropanol 100°) +13.25ml de l'eau distillée.

2. l'eau gélatinée 0.4%

- gélatine..... (0.4g)
- eau distillée..... (100ml)

Agiter jusqu'à la diffusion totale de la gélatine avant l'utilisation

3. Formol 10%

- Formol (37-40%)..... (100ml)
- Eau distillée..... (900ml)
- NaCl..... (9g)
- Na₂HPO₄ (dibasique/anhydrous)..... (12g)

4. Alcool chlorhydrique

- Alcool 70 °..... (100ml)
- Acide chlorhydrique 37 °..... (0.75ml)

ANNEXE N°6**COLORATION DE TRICHOME DE MASSON****1. Réactifs**

- Hématoxyline de Mayer.
- Fuchsine de Ponceau.
- Acide phosphomolybdique.
- Vert lumière ou Bleu d'aniline.
- Solution aqueuse à 1% d'acide acétique.

2. Les constituants

2.1. Hématoxyline de Mayer (solution préparée) : filtrer avant l'utilisation.

2.2. Fuchsine Ponceau

- Ponceau 2%..... (2vol)
- Fuchsine acide 2%..... (1vol)

2.3. Orangé G molybdique

- Orangé G..... (2g)
- Eau distillée..... (100ml)
- Acide phosphomolybdique..... (1g)

2.4. Vert lumière (solution acétique)

- Vert lumière..... (1g)
- Eau distillée..... (100ml)
- Acide acétique..... (1 ml)

2.5. Bleu d'aniline**Solution mère**

- bleu d'aniline..... (0.5g)
- l'eau distillée..... (100ml)

Porter à l'ébullition, laisser refroidir et filtrer.

Solution de travail

- Solution mère..... (1vol)
- l'eau distillée..... (2vol)

2.5. Eau acétifiée 1%

- Acide acétique..... (10ml)
- Eau distillée..... (990ml)

2.6. Acide Phosphotungstique

- Phosphotungstique..... (3g)
- L'eau distillée..... (100ml)

MODE OPERATOIRE

- Déparaffiner par deux bains de toluène..... (15mn)
- Hydrater par des bains de l'alcool à concentration décroissante (100,90,70)..... (2mn)
- Laver à l'eau distillée..... (10mn)
- Colorer par l'Héματοxyline de Mayer..... (12mn)
- Laver à l'eau courante..... (5à10mn)
- Colorer par Fuchsine de Ponceau..... (30s)
- Laver à l'eau distillée.
- Colorer par l'acide phosphomolybdique.... (3mn) ou phosphotungstique..... (7mn)
- Colorer par vert lumière ou le bleu d'aniline (8mn)
- Laver à l'eau acétique de 1%..... (2mn)
- Déshydrater, éclaircir puis monter.

Résultats

Les noyaux sont colorés en bleu nuit, et le cytoplasme en rose à rouge. Les hématies en rouge vifs. Les fibres de collagènes en vert ou en bleu (bleu d'aniline) .

ANNEXE N°7

COLORATION DE L'ACIDE PERIDIQUE DE SCHIFF

Les réactifs :

- Acide périodique.
- Réactif de schiff.
- Héματοxyline de Mayer

MODE OPERATOIRE

- Déparaffiner par doux bain de cyclohexane..... (15mn)
- Hydrater par des bains de l'alcool à concentration décroissant (100, 90,70)..... (2mn)
- Oxydation par APS de 1%.....(10mn)
- Rinçage à l'eau courant..... (10mn)

- Traitement par réactif de schiff en barrel fermé et à l'obscurité..... (18mn)
- Rinçage à l'eau distillée..... (3mn)
- Coloration par hématoxyline de Mayer..... (30sc)
- Rinçage à l'eau courante..... (30s)
- Déshydratation et montage.

Résultats

Les noyaux sont colorés en bleu nuit, le cytoplasme en rose et les résidus Polysaccharidiques en rose fuchsien à rouge vifs.

ANNEXE N°8

Résultats de la quantification du tissu fibreux interstitiel au niveau des coupes histologiques des rats wistar témoins, diabétiques et diabétiques traités par *Brassica*

Témoins	Diabétiques	Diabétiques et traite par <i>Brasica</i>
7,426	13,136	10,415
8,324	12,617	11,667
6,949	10,003	14,12
5,449	20,39	20,617
5,105	33,005	9,008
8,75	13,17	10,011
11,996	12,001	6,001
6,586	11,501	15,014
9,486	10,01	6,99
7,212	9,008	15,99
7,31	7,609	8,607
11,968	10,011	9,62
13,598	11,013	13,12
10,487	8,993	6,998
12,009	7,513	8,901
8,246	6,718	7,889
9,997	8,72	11,121
10,005	13,156	10,161
11,12	17,181	12,313

ANNEXE N°9

Valeurs de quantification des surfaces des chambres glomérulaires dans les coupes histologiques du rats wistar témoins, diabétiques et diabétiques traités par *Brassica* .

Témoins	Diabétiques	Diabétiques traités par <i>Brassica</i>
24.196	15.870	33.45
21.320	31.011	34.812
20.591	29.41	26.650
23.965	24.357	28.757
19.56	20.195	31.275
18.142	26.856	32.234
27.016	17.677	25.701
21.505	18.480	43.980
20.04	17.757	19.201
31.5	25.102	23.102
24.210	18.190	30.4
20.210	22.907	18.2
43.967	12.898	21.505
27.708	24.012	27.016
39.234	22.939	16.43
33.325	18.633	13.982
28.757	23.124	23.965
26.650	8.633	18.320
36.281	23.564	20.961
36.960	19.345	25.961