02

Évaluation de l'effet d'un extrait aqueux de grains de café torréfiés et moulus associé au glibenclamide sur deux marqueurs hépatiques dans un modèle de diabète expérimental

Evaluation of the effect of an aqueous extract of roasted and ground coffee beans combined with glibenclamide on two hepatic markers in an experimental model of diabetes

AKA Francis Béranger Angelo[1]*, Digbé Matogoma[1], Kunindjani Adou Koffi[1], N'GUESSAN Anon Franck-Donald[1], ZAHE kollet yao aimé sylvère[2], Kati-Coulibaly Séraphin[2]

1. Institut National de Santé Publique – Côte d'Ivoire
2. Laboratoire de Biologie santé – UFR Biosciences (Université Felix Houphouët-Boigny)

Résumé

Introduction : Le diabète peut être la conséquence d'un dysfonctionnement hépatique. Or, la consommation du café protégerait contre le diabète de type 2. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet d'un extrait aqueux de grains de café torréfiés et moulus (boisson café filtrée) associé à un anti-hyperglycémiant oral (glibenclamide) sur deux marqueurs hépatiques dans un modèle de diabète expérimental.

Méthodes : Cinq lots de six rates ont été utilisés : 1 lot normo-glycémique et 4 lots diabétiques. Les rates du lot 1 ont reçu 1 mL d'eau distillée. Les rates diabétiques des lots 2, 3, 4 et 5 ont reçu respectivement 1 mL d'eau distillée, 1 mL de glibenclamide (10 mg/kg p.c.), 1 mL de boisson café filtrée (20 mg/kg p.c) et 2 mL d'association boisson café filtrée (1 mL) + glibenclamide (1 mL) pris séparément. Le dosage des transaminases (ALAT et ASAT) a été effectué à J0, J14 et à J28. Les résultats ont été donnés sous forme de moyenne suivie de l'erreur standard sur la moyenne. La différence entre deux valeurs a été déterminée par le test de Student-Newman-Keuls.

Résultats : Les transaminases ont diminué chez les rates diabétiques des lots 3, 4 et 5 après 28 jours de traitement. Cette baisse était significative ($p<0,05$) chez les rates traitées par l'association café filtré + glibenclamide comparée à celles traitées par le glibenclamide seul, et très significative ($p<0,001$) comparée à celles traitées par le café filtré seul.

Conclusion : La boisson café filtrée aurait un effet hépato-protecteur. Cette synergie d'effet avec le glibenclamide pourrait constituer une piste thérapeutique intéressante pour une prise en charge efficace du diabète de type 2.

Principal Message de Santé Publique : Sensibiliser la population aux bienfaits de la consommation de café filtré.

Mots clés : Diabète, Boisson café filtrée, Glibenclamide, Transaminases.

Summary

Introduction : Diabetes can result from liver dysfunction. Coffee consumption is thought to protect against type 2 diabetes. The aim of this study was to evaluate the effect of filtered coffee and glibenclamide on two liver markers in an experimental model of diabetes.

Methods : Five batches of six female rats were used: one normoglycaemic batch and four diabetic batches. Female rats in batch 1 received 1 mL of distilled water. Diabetic rats in batches 2, 3, 4 and 5 received 1 mL distilled water, 1 mL glibenclamide (10 mg/kg bw), 1 mL filtered coffee (20 mg/kg bw) or 2 mL of the combination filtered coffee (1 mL) + glibenclamide (1 mL), respectively. Transaminases (ALAT and ASAT) were measured at D0, D14 and D28. Results were expressed as mean ± standard error of the mean. Differences between groups were assessed using the Student–Newman–Keuls test.

Results : Transaminase levels were reduced in diabetic rats from batches 3, 4 and 5 after 28 days of treatment. This reduction was statistically significant ($p<0.05$) in rats treated with the combination of filtered coffee + glibenclamide compared with glibenclamide alone, and highly significant ($p<0.001$) compared with filtered coffee alone.

Conclusion : Filtered coffee appears to have a hepatoprotective effect. Its synergistic effect with glibenclamide could represent an interesting therapeutic avenue for improving the management of type 2 diabetes.

Main Public Health Message : Raise public awareness of the benefits of drinking filtered coffee.

Key words : Diabetes, Filtered coffee, Glibenclamide, Transaminases, Type 2 diabetes management.

Introduction

Un dysfonctionnement hépatique peut entraîner le développement d'une résistance à l'insuline et conduire au diabète hépatogène [**1**]. Une prise en charge adéquate de ce problème permettrait d'améliorer la santé des diabétiques. En effet, cette prise en charge en plus des médicaments, passe par le respect de mesures hygiéno-diététiques. Aussi, d'autres mesures alternatives comme la consommation de produits alimentaires d'origine naturelle pourraient être envisagées. Ainsi, une consommation régulière et modérée de la boisson café filtré diminuerait le risque d'apparition de diabète [**2**].

Toutefois, malgré les bienfaits de la consommation de la boisson café filtré, peu de recherches ont évalué son impact sur la santé des diabétiques. Il serait donc utile d'en mener sur les marqueurs hépatiques que sont l'Alamine aminotransférase (ALAT) et l'Aspartate aminotransférase (ASAT). L'objectif de l'étude était d'évaluer l'effet de la boisson café filtrée associée au glibenclamide sur deux marqueurs hépatiques dans un modèle de diabète expérimental

Méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé était des cerises mûres de *Coffea canephora* robusta récoltées à Agboville, en Côte d'Ivoire, et conservées au réfrigérateur à 8°C.

Matériel animal

Des rates albinos de l'Institut Pasteur d'Adiopodoumé de Côte d'Ivoire ont été utilisées au cours de l'expérimentation. Elles avaient accès libre à l'eau et à la nourriture. Ces protocoles expérimentaux ont été approuvés par le comité éthique de l'université Félix Houphouët-Boigny de Côte d'Ivoire. Les expérimentations ont été conduites conformément aux directives nationales sur l'utilisation des animaux de laboratoire.

Préparation de l'extrait aqueux de grains torréfiés et moulus de *Coffea canephora* robusta (EAGTCc)

Les grains de *Coffea canephora* robusta ont été torréfiés, puis moulus. Trente grammes (30 g) de cette poudre ont été infusés dans de l'eau chaude à l'aide d'une caféière. Le filtrat obtenu a ensuite été séché à l'étuve à 60°C.

La poudre obtenue (trois grammes : 3 g) représentant l'extrait aqueux de grains torréfiés a été conservée dans des bocaux stériles. Le rendement était de 10 %.

Produits chimiques et pharmaceutiques

L'Alloxane monohydrate (98 %) a été utilisé pour induire le diabète expérimental et le glibenclamide, comme substance antihyperglycémiante [**3**].

Protocole expérimental

Cette étude a duré 4 semaines. Trente rates réparties en 5 lots de 6 ont été utilisées pour l'expérimentation. Le lot 1 était constitué de rates normo-glycémiques et les lots 2, 3, 4 et 5 de rates diabétiques. Le diabète expérimental a été induit par la poudre de l'alloxane diluée dans du NaCl 9‰ puis injectée par voie intrapéritonéale à la dose de 150 mg/kg p.c. Les différentes substances ont été administrées à raison de 1 mL de solution par animal.

Lot 1 : les rates de ce groupe ont reçu de l'eau distillée. Ce groupe a servi de témoin (RTN) ;

Lot 2 : les rates diabétiques de ce groupe sont traitées avec de l'eau distillée (RDNT);

Lot 3 : les rates diabétiques de ce groupe sont traitées avec 10 mg/kg p.c de glibenclamide (RDTG) ;

Lot 4 : les rates diabétiques de ce groupe sont traitées avec 20 mg/kg p.c d'EAGT*Cc* (RDTC) ;

Lot 5 : les rates diabétiques de ce groupe sont traitées simultanément avec 20 mg/kg

p.c d'EAGT*Cc* + 10 mg/kg p.c de glibenclamide (RDTC+G).

Les groupes ont été notés comme suit : RTN (rates témoins normoglycémiques), RDNT (rates diabétiques non traitées), RDTG (rates diabétiques traitées par glibenclamide), RDTC (rates diabétiques traitées par EAGTCc), RDTC+G (rates diabétiques traitées par EAGTCc + glibenclamide).

Dosage des transaminases (ALAT et ASAT)

Les transaminases (ALAT et ASAT) ont été dosés par la méthode cinétique selon la fiche technique *Spinreact*.

Méthodes d'analyse statistique et de traitement des données

Les données ont été présentées sous forme de moyenne suivie de l'erreur sur la moyenne. La différence entre deux valeurs a été déterminée par le test de Student- Newman-Keuls.

Différents types comparaison :

*p < 0,05 (significatif), **p < 0,01 (très significatif) et ***p < 0,001 (hautement significatif) par rapport aux rates témoins et à la même période ;

$^{\neq}$ p < 0,05 (significatif), ≠ $^{\neq}$p < 0,01 (très significatif), ≠ $^{\neq}$p<0,001 (hautement significatif) par rapport aux rates diabétiques et à la même période ;

$^{\phi}$ p < 0,05 (significatif), $^{\phi\phi}$ p < 0,01 (très significatif), $^{\phi\phi\phi}$ p<0,001 (hautement significatif) par rapport aux rates diabétiques traitées avec le glibenclamide et à la même période.

Résultats

Étude des effets de l'extrait aqueux de grains de café torréfié et moulus associé au glibenclamide sur les marqueurs hépatiques chez le rat diabétique.

La mesure du taux d'Alamine Amino-Transférase est présentée dans le tableau I.

Tableau I : Taux d'ALAT à différentes périodes J0, J14 et J28 chez les différents lots d'animaux expérimentaux.

Paramètres	Lots de rates	Période		
		J0	J14	J28
Taux en ALAT (UI/L)	RTN	32±2,00	31±4,00	32±3,00
	RDNT	76±4,00***	77±2,00***	76±4,00***
	RDTG	78±3,00***	60±2,00 ≠≠≠	37±0,02≠≠≠
	RDTC	75±5,00***	73±3,00 ≠,ΦΦ	71±2,00 ≠,ΦΦΦ
	RDTC+G	77±4,00***	57±2,00 ≠≠≠,Φ	33±3,00 ≠≠≠,Φ

RTN *: rates témoins normoglycémiques ;* RDNT : *rates diabétiques non traitées ;* RDTG : *rates diabétiques traitées par glibenclamide ;* RDTC : *rates diabétiques traitées par EAGTCc ;* RDTC+G : *rates diabétiques traitées par EAGTCc + glibenclamide.*

* *comparaison par rapport aux rates témoins et à la même période,*

≠ *comparaison par rapport aux rates diabétiques et à la même période,*

Φ *comparaison par rapport aux rates diabétiques traitées avec le glibenclamide et à la même période.*

Après 28 jours, le taux d'ALAT des rates diabétiques traitées par l'association EAGTCc+ glibenclamide (RDTC+G) se rapprochait des valeurs des rates témoins normoglycémiques (RTN), suggérant une amélioration plus marquée de la fonction hépatique dans ce groupe.

La mesure du taux d'Aspartame Amino-Transférase est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Taux d'ASAT à différentes périodes J0, J14 et J28 chez les différents lots d'animaux expérimentaux.

Paramètres	Lots de rates	Période		
		J0	J14	J28
Taux en ASAT (UI/L)	RTN	85±4,00	74±4,00	76±4,00
	RDNT	138±10,00***	139±9,00***	140±8,00***
	RDTG	140±6,00***	100±8,00 ≠≠≠	76±5,00 ≠≠≠
	RDTC	137±9,00***	133±8,00 ΦΦΦ	128±7,00 ≠,ΦΦΦ
	RDTC+G	141±4,00***	99±9,00 ≠≠≠	70±6,00 ≠≠≠,Φ

RTN *: rates témoins normoglycémiques ;* RDNT *: rates diabétiques non traitées ;* RDTG *: rates diabétiques traitées par glibenclamide ;* RDTC *: rates diabétiques traitées par EAGTCc ;* RDTC+G *: rates diabétiques traitées par EAGTCc + glibenclamide.*

* *comparaison par rapport aux rates témoins et à la même période,*

≠ *comparaison par rapport aux rates diabétiques et à la même période,*

Φ *comparaison par rapport aux rates diabétiques traitées avec le glibenclamide et à la même période.*

De façon similaire, les taux d'ASAT diminuaient davantage dans le groupe RDTC+G que dans les groupes RDTG et RDTC à J28, indiquant un effet protecteur potentialisé de l'association café filtré + glibenclamide sur l'intégrité hépatique.

Globalement, les traitements par glibenclamide seul, EAGTCc seul et l'association EAGTCc + glibenclamide réduisaient les taux d'ALAT et d'ASAT chez les rats diabétiques, mais l'association a montré l'effet le plus marqué à J28, ce qui suggère une potentialisation de l'action hépatoprotectrice.

Discussion

Les enzymes hépatiques étaient élevées chez les rats diabétiques [**4**]. Elles l'étaient moins chez celles ayant reçu la boisson café filtré, mais restaient néanmoins élevées. Les traitements avec le glibenclamide et l'association boisson café filtré + glibenclamide amélioraient la fonction des foies chez les rats diabétiques. Cependant, l'association boisson café filtré + glibenclamide était plus efficace que le glibenclamide.

Cette élévation des enzymes hépatiques proviendrait de la destruction des cellules hépatiques (cytolyse hépatique) due à l'action de l'alloxane et à l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et l'acide glutamique provenant de la dégradation des protéines du corps [**4**]. Par ailleurs, la boisson café filtré améliorerait les fonctions hépatiques chez le rat diabétique au bout de 28 jours de traitement dans notre modèle expérimental. En effet, la consommation de la boisson café diminuerait le risque d'élévation des transaminases [**5**].

L'injection d'agents diabétogènes a entraîné une augmentation des marqueurs hépatiques (ASAT et ALAT). Toutefois, la consommation de café protègerait contre l'élévation de ces derniers. Cette protection était plus importante en cas d'association à l'alcool ou au tabac [**6**]. Par ailleurs, la boisson café réduisait le risque de fibrose hépatique et de mortalité par maladie chronique du foie [**7**].

L'acide chlorogénique du café inhiberait la métalloprotéinase-9 de la matrice, impliquée dans la genèse et la métastase des tumeurs hépatiques [**8**].

Conclusion

Cette étude a révélé que l'extrait aqueux de grains de café torréfiés et moulus (boisson café filtré) possèderait un effet hépato-protecteur et potentialiserait l'effet du glibenclamide sur les deux marqueurs hépatiques (ALAT et ASAT) étudiés. Cette synergie d'effet avec le glibenclamide pourrait constituer une piste thérapeutique intéressante dans la prise en charge du diabète de type 2.

Cette étude présente néanmoins certaines limites, notamment la durée relativement courte du suivi (28 jours), l'utilisation d'une seule dose d'EAGTCc et de glibenclamide et l'absence d'analyse histologique hépatique, qui auraient permis de confirmer les observations biochimiques.

Remerciements

Nous remercions les responsables de l'institut Pasteur d'Adiopodoumé et le personnel du Laboratoire de Biochimie de l'UFR des Sciences médicales d'Abidjan pour leur contribution à la réalisation de l'étude.

Références

1. **Kumar, R.** Hepatogenous Diabetes : An Underestimated Problem of Liver Cirrhosis. Indian J. Endocrinol. Metab, 2018, 22, 552–559.
2. **Natella F, Scaccini C.** Role of coffee in modulation of diabetes risk. *Nutrition Reviews*, 2012, 70 : 207-217.
3. **Shetti AA. Sanakal RD, Kaliwal BB.** Antidiabetic effect of ethanolic leaf extract of Phyllantus amarus in alloxan induced diabetic mice. Asian Journal of Plant Science and Research, 2012, 2(1) : 11-15.
3. **Barbosa NBV, Rocha JBT, Wandracek DC.** Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia: possible relationship with oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions,* 2006 ; 163 : 230-238.
4. **Birerdinc A., Stepanova M. & Pawloski L.** - Caffeine is protective in patients with non- alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2012, 35 : 76-82.
5. **Tanaka K., Hara M. & Sakamoto T.** Inverse association between coffee drinking and the risk of hepatocellular carcinoma : a case-control study in Japan. Cancer Science 2007, 98 : 214-218.
6. **Anty R., Tran A., & Pariente A.** Café et foie : de bons camarades ? Hepatologie Gastrologie, 2013, 20 : 123-131.
7. **Jin UH, Lee LY, Kang SK et *al*.** A phenolic compound, 5-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), is a new type and strong matrix metalloproteinase-9- inhibitor : isolation and identification from methanol extract of *Euonymus alatus*. *Life Sciences,* 2005, 77 : 2760-2769.