الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR. YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master II

En Biologie et pathologies cellulaires

THEME

Etude de l'effet préventif et thérapeutique du NADH sur un modèle de diabète expérimental

Réalisé et présenté par,

Mlle. Abdellatif Amina

Mlle. Slimani Soumia

Soutenu publiquement le 19/06/2018 devant le jury composé de :

Mr. Bachene M.S	MAB à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Président
Pr. Benachour Karine	Professeur à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Encadreur
Mr. Benaferi Nadir	MAB à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Examinateur
Mme.Kadi Amina	MAA à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Examinatrice

Année universitaire 2017-2018

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH de nous avoir donné la patience et le courage pour arriver à ce jour de triomphe.

Nous exprimons nos sincères gratitude et remerciements à notre encadreur de Master ***Prof. Benachour Karine,*** *pour son orientation, son aide, sa patience et sa gentillesse. Ses très nombreuses connaissances et sa modestie nous ont permis de réaliser ce travail de mémoire. Travailler sous votre aimable direction fut une découverte tant agréable qu'enrichissante à la fois grâce à votre très grande écoute et votre disponibilité.*

À Monsieur le Professeur ***Oumouna Mustapha****, Doyen honoraire de la Faculté des Sciences,*

Nous avons été profondément touchés par votre simplicité, votre abord facile, votre rigueur scientifique, Vos qualités professionnelles et humaines, votre gentillesse et votre lucide compréhension sont pour nous un exemple à suivre, Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude.

Nous remercions sincèrement Mr. ***Otmanine Khaled,*** *pour sa disponibilité et son grand soutien dans l'élaboration de ce travail.*

Nous remercions les membres du jury

A Monsieur ***Bachene Mohamed,*** *MAB Université Dr Yahia Fares Médéa, de nous faire l'honneur de présider notre jury de thèse. Ce fut un honneur et un plaisir d'échanger avec vous, dans une discussion aussi constructive.*

A Monsieur ***Benaferi Nadir,*** *MAB Université Dr Yahia Fares Médéa, d'avoir accepté avec tant d'enthousiasme de faire partie de notre jury de thèse, et qui a sacrifie de son temps afin d'évaluer ce travail.*

A Madame ***Kadi Amina*** *MAA Université Dr Yahia Fares Médéa, Qui nous 'a fait l'honneur d'examiné notre mémoire. Toute notre gratitude.*

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, ***DJellal Merouane****,* ***Karima Bahria*** *et* ***Mohamed Daoudi****. Sans votre soutien ce travail n'aurait jamais pu être réalisé.*

À Monsieur ***MAZARI Noureddine****, ex-Ingénieur de l'animalerie du complexe SAIDAL, rien de ces travaux n'aurait pu être possible sans votre contribution. Nous vous remercions pour votre gargantuesque contribution technique.*

Nos remerciements s'étendent également à Pr. ***George Birkmayer*** *qui a sponsorisé ce travail, Toute notre gratitude.*

Dédicace

A mes chers parents, *merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui, et de m'avoir offert la chance de suivre ces longues études.* ***A ma petite maman****, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.* ***Papa****, merci pour la joie de vivre que tu m'as transmise ; grâce à toi je sais profiter de chaque petit bonheur de la vie.*

A ma très chère sœur Hafsa, *en souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.*

A ma petite Rofaida *anssi que* ***mes deux adorables frères Othmane et Anes,*** *pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré, pour toute la spontanéité et vos élan chaleureux, Je vous dédie ce travail.*

A mon fiancé Aimad eddine*, ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance. Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué et ta tendresse, pour donner du goût et du sens à ma vie.*

A celles de toujours, Amina, Wissem et Imene, *dire que ça fait bientôt 18 ans qu'on se connait. Je sais que je pourrai toujours compter sur vous, quoi qu'il arrive, Merci pour tout ce qu'on a partagé, chaque moment passé avec vous est si fort de simplicité et de sincérité que je ne pourrai plus m'en passer. Je tiens énormément à vous.*

A tous mes amis/amies*, qui ont partagé avec mois les 5 années d'études, particulièrement les périodes de révision et les moments de détente qui ont suivi les examens. Et* ***à toute la promotion de biologie et physiologie cellulaire 2017/2018*** *en leur souhaitant une bonne continuation dans leurs travaux.*

A toute ma famille, *grands et petits ; on dit que « les enfants aimés deviennent des adultes qui savent aimer », alors merci à tous pour votre amour.*

Soumia

Dédicace

A l'astre qui s'est éteint et qui continue toujours de m'éclaircir sur la voie de la clairvoyance, de la sagesse et du savoir. A celle qui m'a appris le sens sacré de l'amour, la compassion, l'humanisme ainsi que les plus belles valeurs humaines. A celle qui a fait en sorte que je voie le jour. A celle qui a essuyé mes larmes .A celle qui m'a donné le courage d'avancer. A celle qui n'a pas vécu pour assister à ce jour de triomphe. ***A ma chère mère*** *que je dédie cette réussite. Que Dieu, le tout puissant, l'accueille en son vaste paradis.*

A mon père, *tant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

A mes chères sœurs, les fleurs de ma vie, ***Nadia*** *au cœur si grand,* ***Karima*** *la douce et l'aimable* ***Rania****. Aucune dédicace aussi expressive qu'elle soit, ne saurait exprimer la profondeur de mes sentiments et l'estime que j'ai pour vous. Je vous remercie pour votre soutien quotidien et vos prières.*

A mon cher petit frère ***Adel*** *que j'aime profondément, pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès. Puisse Dieu le tout puissant exhausser tous tes vœux.*

A mes meilleures amies ***Wissem****,* ***Soumia*** *et* ***Imene****. En souvenir de notre sincère et profonde amitié et les moments agréables que nous avons passés ensemble, vous êtes pour moi des sœurs qui portent la même âme et sur qui je peux compter. Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.*

AMINA Abdellatif

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES
LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES ABRÉVIATIONS
RÉSUMÉ

INTRODUCTION 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I : Généralité sur le diabète 3

I.1 Définition du diabète 3

I.2 Epidémiologie de diabète 3

I.2.1 Le fardeau mondial 3

I.2.2 En Algérie 4

I.3 Organisation anatomique et histologique du pancréas 5

I.3.1 Anatomie macroscopique de la glande pancréatique 5

I.3.2 Histologie de la glande pancréatique 6

I.3.3 Physiologie générale du pancréas 7

I.3.3.1 Bases fonctionnelles du pancréas endocrine 8

I.4 Diabète de type 1(DT1) 10

I.4.1 Physiopathologie et étiologies 11

I.4.1.1 Prédisposition génétique 12

I.4.2 Facteurs environnementaux : 12

I.4.2.1 Rôle de l'albumine bovine chez le nouveau-né au lait artificiel : 12

I.4.2.2 Infection : 12

I.4.2.3 Processus auto-immun : 13

I.5 Diabète type 2 14

I.5.1 Physiopathologie et étiologies 14

I.5.1.1 Mécanismes de l'insulinorésistance : 15

I.5.1.2 Les facteurs génétiques 16

I.5.1.3 Facteurs de risques liés au mode de vie et aux Comportements 17

I.5.1.4 Facteurs de risques liés à l'état métabolique 17

I.6 Complications liées au diabète : 18

I.6.1 Complications aigue : 19

I.6.2 Complications chronique 19

I.6.2.1 Complications cardio-vasculaires dites macro angiopathiques : 19

I.6.2.2 Complications microangiopathiques 19
I.7 Diabète, stress oxydant et hyperglycémie chronique 20
I.7.1 Hyperglycémie et stress oxydant 20
I.7.2 Produits de glycation avancée (AGE) et les cellules bêta du pancréas 21
I.8 La prise en charge du diabète 22
I.8.1 Non pharmacologique 22
I.8.1.1 Régime alimentaire et activité physique 22
I.8.1.2 Education sur le diabète 23
I.8.2 Pharmacologique 23
I.8.2.1 L'insulinothérapie 23
I.8.2.2 Hypoglycémiants oraux / antidiabétiques oraux (ADO) 23
I.9 Diabète induit par la Streptozotocine 25
I.9.1 Mécanisme d'action 26
CHAPITRE II : Généralité sur la Metformine 29
II.1 La Metformine (GLUCOPHAGE) 29
II.1.1 Pharmacologie 29
II.1.2 La Metformine chez les animaux 30
II.1.3 Mécanisme d'action 30
II.1.3.1 Le foie est l'organe cible de la Metformine 30
II.1.3.2 Cibles moléculaires de la Metformine 31
II.1.4 Effets indésirables 33
CHAPITRE III : Généralité sur la NADH 34
III.1 NADH coenzyme numéro un 34
III.1.1 L'Hydrogène biologique 34
III.2 NADH connu depuis 100 ans 35
III.3 Le NADH dans les sources alimentaires et diététiques 35
III.4 La production de NADH dans le corps 36
III.5 Les fonctions biologiques de NADH dans le corps 37
III.5.1 Rôle dans la régulation de transcription des gènes 37
III.5.2 Le NADH protège et répare l'ADN 38
III.5.3 NADH et renforcement du system immunitaire 39
III.5.4 Le NADH stimule l'adrénaline et la dopamine 39
III.5.5 Un puissant antioxydant 40
III.5.6 Un rôle dans le rajeunissement 41
III.6 Application médicales de NADH 42

III.6.1 La maladie de parkinson 42
III.6.2 La maladie d'Alzheimer : 43
III.6.3 Syndrome de fatigue chronique 43
III.6.4 Effet thérapeutique contre le diabète 43
CHAPITRE IV : Matériels et méthodes 45
IV.1 Présentation du travail 45
IV.2 Matériel biologique 45
IV.2.1 Conditions d'élevage 45
IV.3 Matériel non biologique 46
IV.3.1 Produits chimique 46
IV.3.2 Appareillages de laboratoire 46
IV.4 Méthodes 47
IV.4.1 Protocole expérimental 47
IV.4.1.1 Constitution des lots des rats 47
IV.4.1.2 Préparation des doses de produits administrés 48
IV.4.1.3 L'induction du diabète par STZ 48
IV.4.1.4 Mode opératoire 49
IV.4.2 Etude histopathologique 51
IV.4.2.1 Traitement des organes 51
IV.4.3 Etude immuno-histochimique 52
IV.5 Etude statistique : 54
CHAPITRE V : Résultats et discussion 55
V.1 Induction du diabète 55
V.2 Évolution du poids corporel 55
V.2.1 Le groupe préventif 55
V.2.2 Le groupe curatif 58
V.3 Control de la glycémie 58
V.3.1 Le groupe préventif 59
V.3.2 Le groupe curatif : 64
V.3.2.1 Variations de la moyenne glycémique totale 64
V.3.2.2 Variations journalières de la glycémie moyenne 65
V.4 Etude histopathologique 67
V.5 Description des coupes histologiques 67
V.5.1 Groupe préventif non à jeun 67
V.5.2 Groupe préventif à jeun : 68

V.6 Discussion 69
V.6.1 Efficacité de la STZ dans l'induction du diabète 69
V.6.2 Effet protecteur et/ou régénérateur du NADH 82
V.6.3 Rôle hypoglycémiant 84
V.6.4 Variation du poids corporel 85
V.6.5 Efficacité de la Metformine 85
V.6.6 Effet thérapeutique du NADH 87
CONCLUSION ET PERSPECIVES 89

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Nombre de personnes atteintes de diabète (60-79 ans) en 2013 4
Figure I.2. Représentation schématique de l'anatomie du pancréas. 6
Figure I.3. Une coupe histologique du pancréas (X40) 4
Figure I.4. (**A**) Tissu acineux avec un canal intralobulaire en coupe transversale, pancréas humain (H & E). (**B**) ilot de Langerhans (H&EX100).. 5
Figure I.5. Stimulation de la sécrétion d'insuline par la voie dépendant des canaux K+ sensibles à l'ATP.. 9
Figure I.6. Effets pléïotropes de l'insuline. (+) stimulation (-) inhibition 10
Figure I.7 .Représentation schématique du diabète sucré de type 1 12
Figure I.8. Développement de l'inflammation dans le diabète de type 2 16
Figure I.9. Mécanismes de dommages cellulaires induits par l'hyperglycémie 20
Figure I.10. Relations entre hyperglycémie et stress oxydant 21
Figure I.11. Structure chimique de STZ 25
Figure I.12.. Mécanisme d'action de STZ**.** 26
Figure I.13. Méthylation et appariement de base anormal 27
Figure II .1. L'AMPK est un senseur du statut énergétique intracellulaire.. 31
Figure II.2. Cibles moléculaires de la Metformine dans l'hépatocyte 32
Figure II .3. Mécanismes d'inhibition de la gluconéogenèse hépatique par la Metformine ... 33
Figure III.1. Diminution de la fonction mitochondrial dans le vieillissement 35
Figure III.2. Production de NADH dans la cellule 37
Figure III.3. Structure de Nicotinamide Adénine Dinucléotide, réduite et oxydé 42
Figure IV.1: Le principe de la technique d'immunohistochimie……54
Figure V.1.Variation du poids corporel en (g) des lots préventifs non à jeun en fonction du temps..... 57
Figure V.2 .Variation du poids corporel en (g) des lots préventifs à jeun en fonction du temps..... 57
Figure V.3. Variation du poids corporel en (g) des lots témoins en fonction du temps. 58
Figure V.4 . Variation du poids corporel moyen (g) des 6 lots de rats en fonction du temps. ……...60
Figure V.5. Courbe de variation de la glycémie (mg/dl) des rats des lots Témoin diabétique en fonction du temps..... 62

Figure V.6. Histogramme courbe de variation de la glycémie (mg/dl) des rats des lots Témoin diabétique en fonction du temps. 62
Figure V.7. Courbe de variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot à jeun traité au NADH avec différentes doses en fonction de temps.. 64
Figure V.8 .Histogramme de variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot à jeun traité au NADH en fonction de temps... 65
Figure V.9. Courbe de variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot non à jeun traité au NADH en fonction du temps..... 66
Figure V.10. Histogramme de variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot non à jeun traité au NADH en fonction du temps.. 67
Figure V.11. Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne (mg/dl) des 4 lots en comparaison avec les lots témoins.. 69
Figure V.12. Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne (mg/dl) des 6 lots en fonction de temps.. 70
Figure V.13. Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne (mg/dl) des 6 lots en fonction de temps 71
Figure V.14. Pancréas du contrôle non diabétique du lot à jeun.. 74
Figure V.15. Pancréas du groupe à jeun traité avec 150mg/kg de NADH 75
Figure V.16. Pancréas du témoin diabétique du groupe à jeun.. 76
Figure V.17. Pancréas du groupe à jeun traité avec 300mg /kg de NADH.. 77
Figure V.18. Pancréas du groupe à jeun traité avec 500mg/kg de NADH.. 78
Figure V.19. Pancréas du lot à jeun traité avec 500mg/kg de NADH. 79
Figure V.20. Pancréas du groupe diabétique non à jeun.. 80
Figure V.21. Pancréas des groupes non à jeun traités avec 150mg de NADH. 81
Figure V.22. Pancréas des groupes non à jeun traité avec 500 mg/kg de NADH. 82
Figure V.23. Pancréas des groupes non à jeun traités avec 300mg/kg de NADH. 83

LISTE DES TABLEAUX

Tableau III.1. Teneur en NADH dans les aliments 36
Tableau IV.1. Les matériaux utilisés dans le laboratoire. 46
Tableau IV.2. Répartition des lots 47

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADO	Antidiabétique oraux
ADP	Adénosine Di Phosphate
ALX	Alloxane
AMPK	Adénosine Mono Phosphate Kinase
ATP	Adénosine Triphosphate
CHD	Coronary Heart Disease
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CtBP	C-terminal-binding protein
CTLA4	Antigène 4 des lymphocytes T cytotoxiques
DAB	Diamino-3,3'benzidine
DC	Dendritic cells
DG	Diabète gestationnel
DL 50	Dose Létale 50%
DMT1	Diabète mellitus type 1
DT2	Diabète type 2
ERO (ROS)	Espèces réactives de l'oxygène
FID	Fédération International des Diabétiques
GAD	Glutamate acide décarboxylase
GK	Glucokinase
GLUT	OpenGL Utility Toolkit
GTP	Guanosine triphosphate
H&E	Hématoxyline éosine
HbA1	hémoglobine A1
HDL	High density lipoprotein
HLA	Human leukocyte antigen
IA2	Islet antigen-2
ICA	Islet cells antibody
IgG	Immunoglobuline de type G
IL	Interleukine
IP	intrapéritonéale
IRS	Insulin receptor substrate

JNK	C-Jun N-terminal kinase
LDL	low density lipoprotein
LKB1	Liver Kinase B 1
LPL	Lipoproteine lipase
MALA	Metformin associated lactic acidosis
MAP	Maladie artérielle périphérique
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MET	Metformine
MODY	Maturity onset diabetes of the young
NA	Nicotinamide
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADHP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NFkB	Nuclear factor-kappa B
NO	Nitric oxide
OCT1	Organic cation transporter 1
OMS	Organisation mondiale de la santé
ONAB	Office national des Aliment de Bétails
PARP	Poly Adénine Di phosphate Ribose polymérase
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PKC	Protein kinase C
PP	Polypeptide pancréatique
PTP22	Protein tyrosine phosphatase 22
P53	Protéine 53
RBP4	Rétinol binding protein 4
SFC	Syndrome de la fatigue chronique
SIRT	Sirtuine
STZ	Streptozotocine
TBST	Tris-buffered saline,Tween 20
TCR	T cell receptor
TNF	Tumor necrosis factor
VNTR	Variable number tandem repeat
ZnT8	Zinc transporter 8

Résumé :

Le diabète sucré est un problème majeur de santé publique. Sa prévalence a augmenté de façon exponentielle au cours des 20 dernières années. La WHO prévoit que le diabète sera la septième cause de décès en 2030.

Le traitement actuel repose sur l'utilisation de l'insuline et des antidiabétiques oraux à l'origine de complications plus graves. Aucun traitement curatif efficace n'est disponible à l'heure actuelle. Il est nécessaire donc de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques plus efficace et des mesures de prévention appropriées.

le NADH une molécule au pouvoir antioxydant et énergétique, utilisée aussi pour traiter certaines pathologies dégénératives aurait cependant dévoilé certaines de ses vertus cachées à savoir un effet hypoglycémiant intéressant dont l'origine reste inconnue. D'où l'intérêt de ce travail qui consiste à évaluer l'effet protecteur du NADH, d'étudier son activité antidiabétique et régénérative tout en mettant en exergue les mécanismes sous-jacents.

Le diabète induit par la STZ est l'un des meilleurs exemples de diabète expérimental étudié à des fins étiopathogéniques et thérapeutiques.

Cent rats Wistar albinos mâles adultes ont été répartis en deux groupes afin de réaliser une étude préventive et curative. Le groupe du curatif comprenait le groupe contrôle non diabétique, le groupe diabétique non traité, le groupe diabétique traité avec différentes doses de NADH (1, 2 et 3 mg / kg / jour) après injection de STZ et un autre groupe diabétique traité avec 750mg/kg de la Metformine. Alors que le groupe préventif comptait a son tour un groupe témoin diabétique à jeun, un groupe témoin diabétique non à jeun en plus des trois groupes ayant reçu chacun 15 mn avant injection de STZ une dose IP de NADH de 150mg/kg, 300mg/kg et 500 mg/kg respectivement. Ces derniers comptaient aussi un lot à jeun et non a jeun. Tous les animaux sauf ceux tu témoin non diabétique ont reçu une dose IP de 45mg/kg de STZ.

La glycémie à jeun et le poids ont été mesurés régulièrement. A la fin de l'expérience, Les pancréas ont été recueillis et une étude histologique et immuno-histochimique a été réalisée.

Les résultats ont montré une nette efficacité du traitement dans la prévention de l'installation d'une hyperglycémie persistante au sein du lot préventif contrairement au lot curatif ou l'hyperglycémie n'a pas pu être contenue. Cet effet protecteur observé confirme l'efficacité du traitement aussi bien à faibles qu'a fortes doses. L'examen histopathologique et immunohistochimique a permis la mise en évidence chez les individus traités, d'une

augmentation de la masse des cellules beta signe pathognomonique d'une régénération cellulaire.

En conclusion, le NADH aurait indéniablement un rôle protecteur des cellules beta en proie aux changements biochimiques et histologiques observés lors d'un stress oxydant généré par l'action de la STZ mimant un état diabétique, alors que dans le présent travail l'effet curatif du NADH n'a pas pu être prouvé à cause de la destruction massive des cellules beta rendant toute régénération impossible. Cette étude cependant ouvrirait des perspectives d'avenir permettant l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutique et/ou préventives dans la gestion du diabète.

Mots clé : Diabète induit par STZ, NADH, Cellules bêta, Metformine.

Absruct:

Diabetes mellitus is a major public health problem. Its prevalence has increased exponentially over the last 20 years. The World Health Organization (WHO) predicts that diabetes will be the seventh leading cause of death in 2030.

The current treatment depend on the use of insulin and oral ant-diabetic agents originally of complications that are more serious. No effective curative treatment is available at this time. It is therefore necessary to develop new strategies therapeutic more effective and appropriate preventive measures.

NADH an antioxidant and energetic molecule, also used to treat certain degenerative pathologies, however, unveiled some of its hidden virtues namely an interesting hypoglycemic effect whose origin remains unknown. Hence the interest of this work, which consists of evaluating the protective effect of NADH, to study its anti-diabetic and regenerative activity while highlighting the underlying mechanisms.

STZ-induced diabetes is one of the best examples of experimental diabetes been studied for etiopathogenic and therapeutic purposes.

One hundred adult male albino Wistar rats had been divide into two groups to carry out a preventive and curative study. The curative group included the non-diabetic control group, the untreated diabetic group, the diabetic group treated with different doses of NADH (1, 2 and 3 mg / kg / day) after injection of STZ and another diabetic group treated with 750 mg / kg of Metformin. While the preventive group also counted a fasting diabetic control group, a non-fasting diabetic control group in addition to the three groups each receiving 15 min before injection of STZ an IP dose of NADH of 150mg / kg, 300mg / kg and 500 mg / kg respectively. They also included a fasting and non-fasting group. All animals except non-diabetic control group have received an IP dose of 45mg / kg of STZ.

Fasting blood glucose and weight was measure regularly. At the end of the experiment, the pancreases had been collected and a histological and immunohistochemical study had been perform.

The results showed a clear efficacy of the treatment in preventing of a persistent hyperglycemia within the preventive group in contrast to the curative group where hyperglycemia could not been contained. This protective effect confirmed the effectiveness of the treatment at both low and high doses. Histopathological and immunohistochemical examination allowed the identification in treated individuals, of an increase in the mass of beta cells which is a pathognomonic sign of cell regeneration.

In conclusion, NADH undeniably has a protective role for beta cells in the process of biochemical and histological changes observed during oxidative stress generated by the action of STZ mimicking a diabetic state, while in the present work the healing effect NADH could not been prove because of the massive destruction of beta cells making regeneration impossible. This study, however, would open up prospects for the development of new therapeutic and / or preventive strategies in the management of diabetes.

Key words: STZ-induced diabetes, NADH, Beta cells, Metformin.

الملخص :

باعتبار داء السكري مشكلة صحية عامة كبرى ازداد انتشارها بشكل كبير خلال العشرين سنة الماضية فان منظمة الصحة العالمية تتوقع أن يكون مرض السكري هو السبب الرئيسي السابع للوفاة في عام 2030.

و استنادا على العلاج الحالي القائم على استخدام الانسولين و العوامل المضادة للسكري عن طريق الفم و التي تسبب مضاعفات خطيرة فانه لا يوجد علاج فعال متاح في الوقت الحالي لذالك نجد من الضروري تطوير استراتيجيات علاجية جديدة أكثر فاعلية وتدابير وقائية مناسبة.

ان ثنائي نيكليوتيد الأدينين الذي يحتوي على جزيء مضاد للأكسدة وقوة حيوية، والذي يستخدم في علاج بعض الأمراض التنكسية ، يحتوي أيضا على ايجابيات خفية، من بينها تأثيره على خفض مستوى السكر في الدم و هنا تكمن اهمية هذا العمل في الكشف عن طريقة حدوث التأثير ، الذي يتكون من تقييم التأثير الوقائي لـثنائي نيكليوتيد الادينين ، في دراسة نشاطه المضاد لمرض السكر وإعادة تجديده مع إبراز الآليات الأساسية.

مرض السكري الذي تسببه مادة الستربتزتوسين هو واحد من أفضل الأمثلة على مرض السكري التجريبي الذي تم دراسته للأغراض المسببة للأمراض والأدوية العلاجية.

تم تقسيم مائة فئران ذكور بالغين ألبينو ويستار إلى مجموعتين لإجراء دراسة وقائية وعلاجية، شملت المجموعة العلاجية : المجموعة غير المصابة بالسكري ، المجموعة المصابة بالسكري ، المجموعة المصابة بالسكري التي عولجت بجرعات مختلفة من ثنائي نيكليوتيد الأدينين(1 ، 2 ، 3 مغ / كغ / يوم) بعد حقن بمادة الستربتزتوسين، ومجموعة أخرى من مرضى السكري تمت معالجتها بـ(750 مجم / كغ) من الميتفورمين، في حين أن المجموعة الوقائية تنقسم بدورها الى : مجموعة شاهدة مصابة بالسكري عن صيام ، مجموعة شاهدة مصابة بالسكري عن غير صيام، بالإضافة إلى المجموعات الثلاث التي يتتلقى كل منها حقنة من مادة الستربتزتوسين 15 دقيقة بعد حقنة عن طريق البطن من ثنائي نيكليوتيد الأدينين بثلاث جرعات (150 ملغ / كغ ، 300 ملغ/ كغ و 500 ملغ / كغ) على التوالي، هذه الأخيرة تحوي فئات على صيام و عن غير صيام. جميع الحيوانات تلقت جرعة عن طريق البطن قدرها (45 مغ/كغ) من مادة الستربتزتوسين ، باستثناء المجموعة الشاهدة غير المصابة بالسكري .

تم قياس الجلوكوز في الدم عن صيام و الوزن بشكل منتظم، و في نهاية التجربة تم جمع البنكرياس لكل الحيوانات وتعريضه لدراسة نسيجية ومناعية.

أظهرت النتائج فعالية واضحة للوقاية من الارتفاع المستمر للسكر في الدم ضمن الفئة الوقائية، على نقيض الفئة العلاجية حيث لم يكن ممكن احتواء ارتفاع السكر في الدم، هذا التأثير الواقي الملاحظ يؤكد فعالية العلاج عند كل من الجرعات المنخفضة والعالية، سمح الفحص التشريح النسيجي و فحص الكيمياء النسيجية المناعية بالظهور بزيادة في كتلة خلايا بيتا عند الأفراد المعالجة و هذا دليل مرضي على التجدد الخلوي.

في الختام نجد أن ثنائي نيكليوتيد الأدينين لديه دور وقائي لخلايا بيتا في عملية التغيرات البيوكيميائية والنسيجية التي لوحظت خلال الإجهاد التأكسدي الناجم عن عمل مادة الستربتزتوسين لمحاكاة حالة مرضى السكري ، بينما في العمل

الحالي الاثر الشفائي لثنائي نيكليوتيد الأدينين لا يمكن إثباته بسبب التدمير الهائل لخلايا بيتا مما يجعل التجدد مستحيلاً، ومع ذلك ، فإن هذه الدراسة تفتح آفاقا لتطوير استراتيجيات علاجية و / أو وقائية جديدة في إدارة مرض السكري.

الكلمات المفتاحية : مرض السكرية، ثنائي نيكليوتيد الأدنين، خلايا بتا البنكرياسية، ميتفورمين.

Introduction

Le diabète sucré est un problème majeur de santé publique. Sa prévalence a augmenté d'une façon dramatique au cours des 20 dernières années. Toutefois, le diabète de type 2 serait de loin le plus récurent (90% des cas). Selon un rapport récent de la WHO (2017) le nombre d'individus affectés par ce fléau ne cesserait d'augmenter. En se référant à la même source d'information les prévisions d'ici 2030 concerneraient 360 millions de personnes. Ceci serait dû à une pléiade d'agents étiologiques à savoir l'occidentalisation du régime alimentaire dans le sens d'une alimentation type fast food associée une sédentarisation prolongée et constante. Ces raisons conduiraient inéluctablement à l'installation d'un processus adaptatif connu comme résistance à l'insuline. Cette dernière initialement compensée par une hypersécrétion d'insuline conduirait à long terme à l'épuisement pancréatique et enfin à une insulinopénie ***(Fédération In & Diabète, 2013).*** Le diabète de type 1 de par son etiopathogénie très différente du diabète de type2 serait difficile à prévenir car ne revête aucun critère de risque rendant impossible de prédire les conditions de son apparition.

Une fois installé le diabète nécessite une surveillance draconienne afin d'éviter ou du moins retarder les complications aiguë, subaiguë et chronique imputables à cette pathologie. Les complications aiguës comprennent l'hypoglycémie et l'acidocétose diabétique, tandis que les complications subaiguës comprennent la soif, la polyurie, le manque d'énergie, le flou visuel et la perte de poids. à long terme, L'hyperglycémie chronique générerait des produit terminaux de glycation responsables de micro et macro angiopathies.**(Daisy & Jeeva Kani, 2012)**

La gestion du diabète implique selon sa nature des approches à la fois non pharmacologique et pharmacologiques. L'approche non pharmacologique comprend l'exercice physique et le contrôle du régime alimentaire surtout efficace pour le diabète de type 2. Tandis que l'approche pharmacologique comprendrait l'utilisation de médicaments tels que l'insuline pour le diabète de type 1 et les cas chronique du type 2. Aussi, ce dernier bénéficierait d'une thérapie orale d'antidiabétiques à vertu hypoglycémiantes.

La Metformine est le médicament antidiabétique le plus couramment prescrit dans le monde ***(DeFronzo et al., 2015).*** Cette substance hypoglycémiante introduite dans la pratique clinique dans les années 1950, est à présent largement utilisé dans le traitement du diabète de type 2 ***(Gunton et al., 2018).*** Son efficacité incontestable serait lié à son rôle incontournable

dans la réduction des mortalités liées au diabète, à savoir la fréquence des infarctus du myocarde et le risque de survenue de micro et macro angiopathies diabétiques ***(Tielmans et al., 2007).*** Cependant, 20 à 30% des personnes traitées par la Metformine développeraient au long cour des effets secondaires notamment l'altération de la fonction rénale, troubles gastro-intestinaux ou de l'acidose lactique ***(Chowdhury et al., 2018; DIARRA, 2015; Dujic et al., 2016)***.

Sachant que ce médicament ne guérira jamais le diabète, il est ainsi pertinent de s'intéresser à rechercher des substances alternatives qui pourraient prévenir et guérir le diabète.

Le NADH, l'abréviation de la Nicotinamide Adénine Dinucléotide (forme réduite de NAD), présent dans chaque cellule vivante est une source incontestable d'énergie dont la concentration conditionnerait la longévité cellulaire **(Birkmayer & Pharmaceuticals, 1993).**

Le NADH a fait l'objet de nombreuses études visant à déterminer son impact sur divers processus biochimiques et physiologiques, son effet bénéfique pour la maladie d'Alzheimer, de Parkinson ainsi que pour le syndrome de fatigue chronique ont été confirmé par des études cliniques contrôlées**.(Lotfi, Birkmayer, & Ghouini, 2016)**

Après avoir testé l'effet hypoglycémiant du NADH chez l'être humain par Birkmayer et Rahal en 2016, la question était de comprendre les mécanismes par lesquels le NADH agirait. Deux grandes questions devait faire état d'investiture la première concernant le pancréas comme cible potentielle du NADH et la seconde est celle d'explorer un éventuel effet régénératif de ce dernier.

Pour ce faire deux modèles animaux expérimentaux étaient nécessaires, un modèle préventif et un curatif. Le premier concernerait des groupes de rats Wistar prétraités par une injection unique de NADH à différentes doses suivie d'une injection de STZ afin de provoquer le diabète. Le second quant à lui comporterait des groupes diabétiques chez qui un traitement orale serait instillé tous les deux jours et ce pendant une période bien déterminée.

Les résultats ainsi obtenues par analyse biochimique du sang et histopathologiques du pancréas nous permettraient de confirmer l'efficacité du traitement.

I.1 Définition du diabète

Le diabète sucré est défini comme étant un trouble métabolique caractérisé par le manque relatif ou absolu de la sécrétion d'insuline couplé ou non à un état d'insulinorésistance ***(Belhadj et al., 2018; OMS, 2016)***, accompagnée par l'élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie)***(Haute Autorité de Santé, 2014; ROMLI, 2016).***

L'hyperglycémie chronique est associée à long terme à des complications, des dysfonctions et des insuffisances de différents organes ***(UZAN Johanna, 2016).*** En effet, le diabète entraîne des complications rénales, des atteintes du système nerveux, des maladies cardio-vasculaires et peut causer la cécité ***(Langlois, 2008).***

La majorité des cas de diabète se répartissent en deux catégories : le diabète de type 1 et le diabète de type 2 ***(Diabetes National Data & group, 1979; Guerin-Dubourg, 2014)***. Les autres cas de diabète sont le diabète gestationnel défini comme une intolérance au glucose pendant la grossesse ou d'autres types plus spécifiques liés à des anomalies génétiques des cellules ß du pancréas, des anomalies génétiques de l'action de l'insuline, des maladies du pancréas exocrine, des endocrinopathies, secondaire à la prise de médicaments ou de substances chimiques, secondaire à une infection, des formes non communes de diabètes immuns ou des diabètes associés à des syndromes génétiques ***(Alberti, 2014; D. O. F. Diabetes, 2010; Fédération In & Diabète, 2013; OMS, 2016; ROMLI, 2016).***

I.2 Epidémiologie de diabète

I.2.1 Le fardeau mondial

La majorité des 382 millions de personnes atteintes de diabète ont entre 40 et 59 ans, et 80 % d'entre elles vivent dans des pays à faible et moyen revenu. Tous les types de diabète sont en progression, en particulier le diabète de type 2 : le nombre de personnes atteintes de diabète aura pratiquement doublé d'ici à 2035. Cependant, Vingt et un (21) millions de cas d'hyperglycémie gestationnelle serait à l'origine de diabètes confirmé chez leur progéniture. Ce qui correspondrait à 17 % des enfants nés en 2013 de femmes qui présentaient une certaine forme d'hyperglycémie durant la grossesse ***(Fédération In & Diabète, 2013; OMS, 2016).***

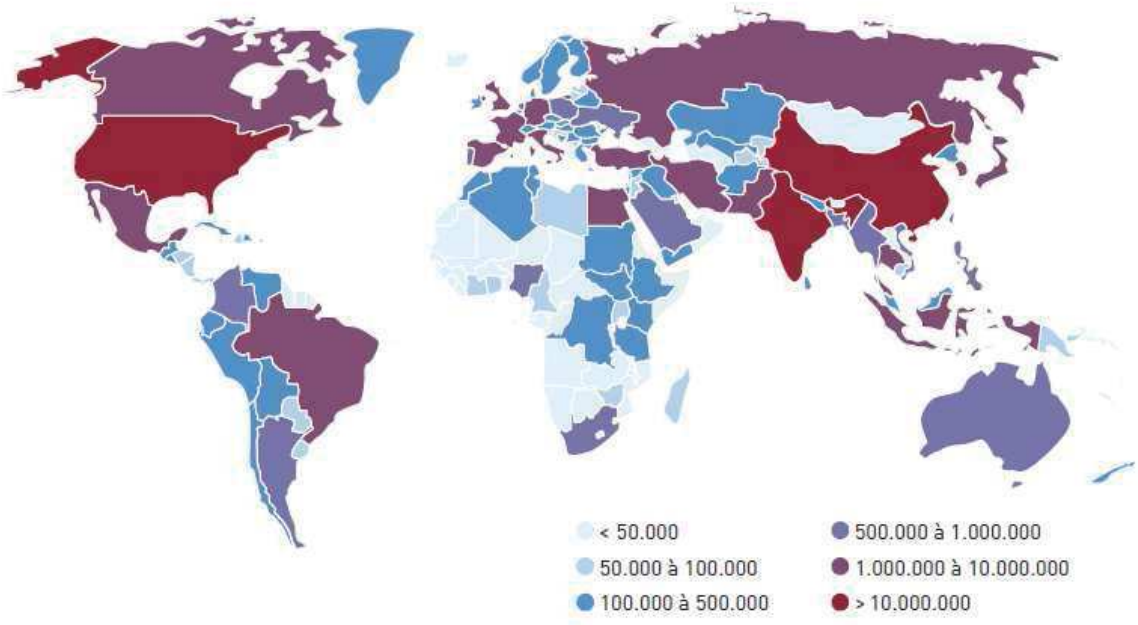


Figure I.1 *:* Nombre de personnes atteintes de diabète (60-79 ans) en 2013 ***(Fédération In & Diabète, 2013)***

En 2014, 422 millions de personnes dans le monde étaient diabétiques la prévalence dans la population adulte étant de 8,5 % ***(OMS, 2016).***

43 % de tous les décès imputables a l'hyperglycémie surviennent prématurément, avant l'âge de 70 ans alors que le nombre de décès est estimé à 1,6 million. A l'échelle mondiale, l'hyperglycémie est responsable de 7 % des décès chez les hommes de 20 a 69 ans et de 8 % des décès chez les femmes de 20 a 69 ans ***(OMS, 2016).***

I.2.2 En Algérie

En Algérie, le diabète pose un vrai problème de santé publique de par sa prévalence et le poids de ses complications chroniques dominées par les complications cardiovasculaires, le pied diabétique, l'insuffisance rénale chronique et la rétinopathie ***(Santé, 2015).***

Selon une enquête de l'institut national de santé publique, le diabète occupe la quatrième place dans les maladies chroniques non transmissibles selon ENS 1990.

Avant les années 2000, les enquêtes réalisées à l'Est et à l'Ouest du pays montraient une prévalence du diabète de type 2 située entre 6,4 et 8,2% chez les sujets âgés de 30 à 64 ans.

Chez les Touaregs du sud algérien dans la même tranche d'âge, elle n'est que de 1,3% ce qui confirme l'influence du mode de vie et de l'activité physique sur le développement de la maladie ***(Santé, 2015).***

L'étude STEPS OMS réalisée en 2003 dans 2 wilayas pilotes (Sétif et Mostaganem) chez les sujets de 25 à 64 ans a montré une prévalence de 8.9% ***(OMS, 2016).***

En 2006, une étude réalisée à Sidi Belabbes note une prévalence de 10,5%.

L'enquête nationale TAHINA signale une prévalence de 12,2%. Selon les registres du diabète de type 1, chez les jeunes de moins de 15 ans, l'incidence relevée à Constantine en 2010 était de 17,44 /100 000 contre celle de 26/100 000 à Oran en 2011 et de et de 22.8/100 000 chez les enfants à Alger ***(Santé, 2015).***

I.3 Organisation anatomique et histologique du pancréas

I.3.1 Anatomie macroscopique de la glande pancréatique

Le pancréas est un organe plein de couleur jaune rosée, entouré d'une fine capsule conjonctive, et constitué de lobules bien visibles à la surface. Il est de consistance ferme, mais est particulièrement friable et fragile. Les lobules sont séparés par des travées conjonctives et graisseux ***(Beaugerie et al., 2014).*** Son poids oscille entre 60 et 110 g chez l'adulte, sa longueur varie de 12 à 20 cm et Sa hauteur maximale est de 6 à 7 cm (tête). Il se localise profondément dans la cavité abdominale, ce qui rend son exploration particulièrement difficile ***(Muller, 2016).***

Macroscopiquement, il peut être divisé en 4 parties principales :

- ✓ **La tête**, enchâssée dans le cadre duodénal ;
- ✓ **L'incisure pancréatique, ou isthme ou col pancréatique**, située en avant de la veine porte ;
- ✓ **Le corps**, dont la face postérieure est marquée par l'empreinte de la veine splénique ;
- ✓ **La queue**, séparée du corps par une échancrure, formée au bord supérieur par le passage d'arrière en avant des vaisseaux spléniques ***(Dolensek, Rupnik, & Stozer, 2015).***

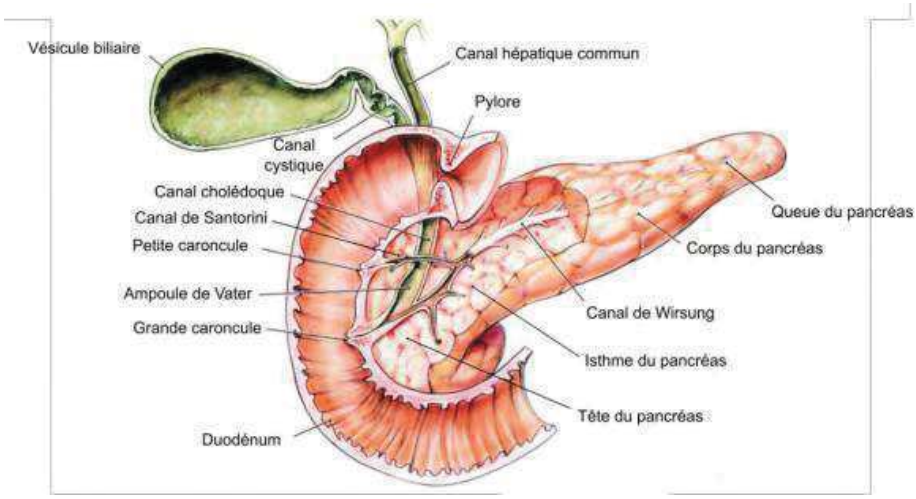


Figure I.2 *:* Représentation schématique de l'anatomie du pancréas ***(Muller, 2016).***

I.3.2 Histologie de la glande pancréatique

Le pancréas est une glande lobulée entourée d'un fin tissu conjonctif aréolaire qui donne naissance à de fins septa séparant les lobules ***(Beaugerie et al., 2014).***

Dans les lobules, il y a principalement des acini qui représentent 85 % de la masse pancréatique. Les cellules acineuses, formant les acini, synthétisent et contiennent les enzymes pancréatiques. Elles ont un cytoplasme rose et granulaire. La sécrétion enzymatique (exocrine) est drainée par les canaux excréteurs jusqu'à la papille (canaux intralobulaires puis interlobulaires et enfin canaux collecteurs). Les canaux sont bordés par des cellules cubiques ou cylindriques qui sécrètent de l'eau, du chlore et des bicarbonates ***(Beaugerie et al., 2014; Young, O'Dowd, & Woodford, 2013).***

Le pancréas endocrine est constitué d îlots de Langerhans, dispersés au sein du parenchyme pancréatique. Ces îlots ne représentent que 1 à 2 % de la masse pancréatique. Ils apparaissent sous forme de travées associées à des petits capillaires. Les cellules des îlots de Langerhans se distinguent par les hormones qu'elles secrètent. Les quatre principales hormones sécrétées par le pancréas sont l'insuline, le glucagon, la somatostatine et le polypeptide pancréatique (PP). Le pancréas contient du tissu adipeux dont la proportion augmente avec l'âge ***(Dolensek et al., 2015; Young et al., 2013).***

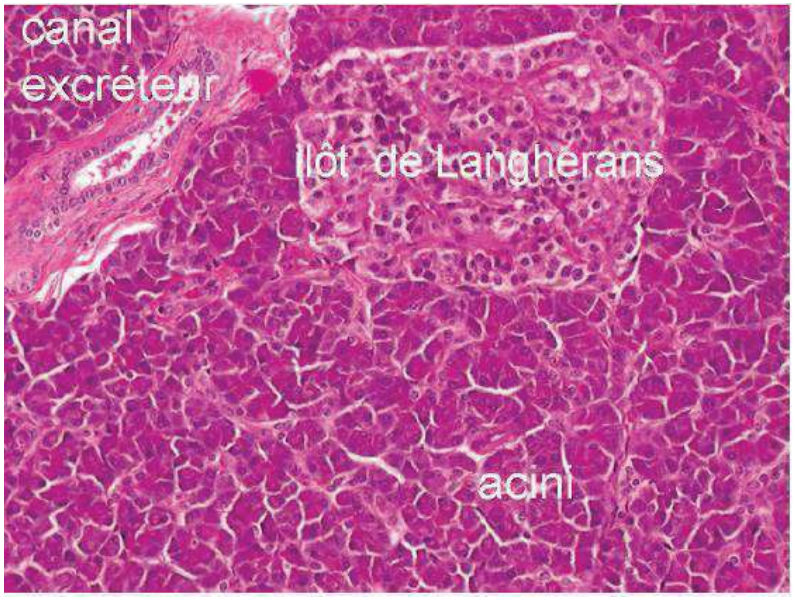


Figure I.3*:* Une coupe histologique du pancréas (X40) ***(Beaugerie et al., 2014).***

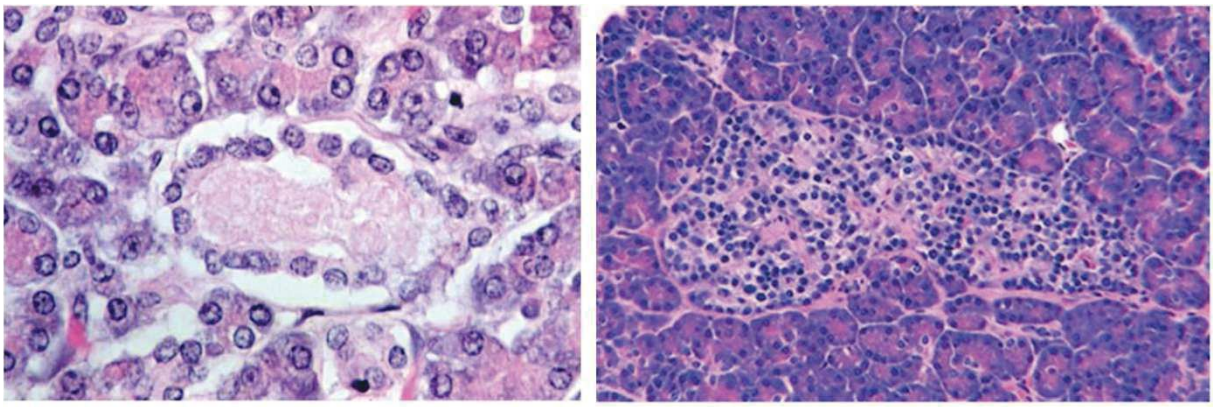


Figure I.4*:* (**A**) Tissu acineux avec un canal intralobulaire en coupe transversale, pancréas humain (H & E). (**B**) ilot de Langerhans (H&EX100) ***(Beaugerie et al., 2014).***

I.3.3 Physiologie générale du pancréas

Le pancréas est une glande à la fois exocrine et endocrine. Le pancréas exocrine secrète dans le duodénum des enzymes impliquées dans la dégradation des lipides, des glucides et des protides. La partie endocrine du pancréas, qui a un rôle majeur dans le métabolisme glucidique et lipidique , est constituée par les îlots pancréatiques qui secrètent notamment l'insuline et le glucagon et sont majoritairement situés dans la queue du pancréas ***(Beaugerie et al., 2014).***

Le suc pancréatique est un liquide incolore, résultant de deux mécanismes sécrétoires distincts : les sécrétions électrolytiques et enzymatiques. La sécrétion électrolytique est caractérisée par une concentration élevée en bicarbonates. Cette sécrétion bicarbonatée s'accompagne d'une sécrétion d'eau et de sodium ***(Beaugerie et al., 2014).***

La sécrétion enzymatique, assurée par les cellules acineuses, est destinée à la digestion des protides (par exemple, la trypsine), des glucides (par exemple, l'amylase) et des lipides (par exemple, la lipase) ***(Beaugerie et al., 2014).***

I.3.3.1 Bases fonctionnelles du pancréas endocrine

La sécrétion endocrine du pancréas est assurée par les cellules des îlots de Langerhans. Les cellules bêta sécrètent de l'insuline, les cellules alpha du glucagon. L'insuline et le glucagon sont les deux hormones clés de l'homéostasie glucidique. Le glucagon est libéré dans le sang en réponse à une diminution de la glycémie : il s'agit d'une hormone hyperglycémiante, qui agit en stimulant la production hépatique de glucose ***(Beaugerie et al., 2014; Muller, 2016).***

I.3.3.1.1 Insuline

I.3.3.1.1.1 Séquence biologique de l'insuline

L'insuline humaine est une protéine globulaire de poids moléculaire avoisinant 5 800 kd, constituée de 51 résidus d'acides aminés organisés en deux chaînes polypeptidiques (A et B), reliées par deux liaisons disulfure ***(Gualandi-Signorini & Giorgi, 2001).***

I.3.3.1.1.2 Régulation de la sécrétion et de l'action de l'insuline

La sécrétion d'insuline est régulée de manière complexe par des facteurs métaboliques, hormonaux, nerveux et électrophysiologiques.

Les agents stimulants de la sécrétion d'insuline sont classés en deux grands groupes : Les stimuli primaires (ou déclencheurs) comme le glucose capables de déclencher à eux seuls la sécrétion d'insuline. Les stimuli secondaires (potentialisateurs ou amplificateurs) quant à eux, sont incapables de stimuler sécrétion d'insuline qu'en présence d'un stimulus primaire***(Magnan & Ktorza, 2005).***

Le glucose pénètre dans la cellule beta par l'intermédiaire d'un transporteur spécifique (isoforme GLUT-2 chez les rongeurs et GLUT-1 chez l'homme). Il est ensuite phosphorylé en glucose-6- phosphate par la glucokinase « détecteur du glucose ». Une fois phosphorylé, le glucose est utilisé principalement par la voie de la glycolyse et de la respiration oxydative. Le

métabolisme du glucose dans la cellule beta est à l'origine d'une production accrue de protons, d'équivalents réduits (NADH, NADPH, glutathion réduit) et surtout d'intermédiaires phosphorylés à haute énergie (ATP) La génération d'ATP conduit à l'inactivation des canaux K+ /ATP, entraînant une dépolarisation membranaire et l'ouverture de canaux Ca2+ voltage-dépendants, aboutissant finalement à l'augmentation massive de la concentration cytosolique de Ca2+. L'entrée massive de calcium dans la cellule aboutit a la stimulation de l'exocytose des grains de sécrétion d'insuline ***(Magnan & Ktorza, 2005).***

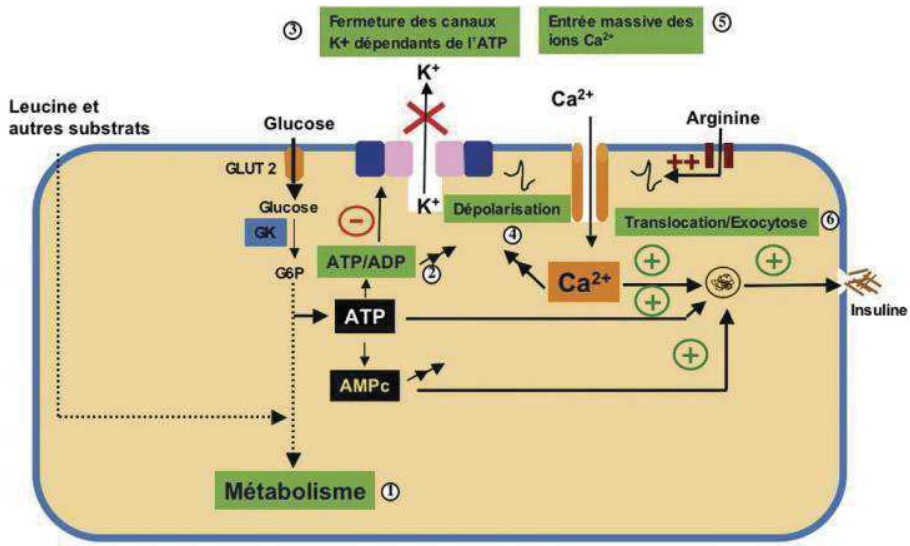


Figure I.5 *:* Stimulation de la sécrétion d'insuline par la voie dépendant des canaux K+ sensibles à l'ATP ***(Magnan & Ktorza, 2005).***

L'insuline joue un rôle anabolique majeur dans la mise en réserve des substrats glucidiques et lipidiques. Ses effets résultent de sa liaison à un récepteur membranaire spécifique exprimé en priorité sur ses trois tissus cibles, le foie, le muscle et le tissu adipeux. Ce récepteur possède une activité tyrosine-kinase qui permet l'autophosphorylation du récepteur puis la phosphorylation des résidus tyrosine des protéines substrats comme les protéines IRS (insulin receptor substrates) ***(Capeau, 2003).***

Les deux voies majeures d'activation sont celles de la phosphatidylinositol-3 kinase, activant la protéine kinase B et impliquée en priorité dans les effets métaboliques, et la voie des MAP (mitogenactivated protein)-kinases, impliquée en priorité dans les effets nucléaires, la croissance et la différenciation ***(Capeau, 2003).***

L'effet de l'insuline sur le transport du glucose, qui représente sans doute l'un des effets les mieux étudiés de l'hormone, illustre la complexité du signal de l'insuline. Celle-ci est

capable d'induire la translocation, d'un compartiment intracellulaire vers la membrane plasmique, de vésicules contenant les transporteurs GLUT4, présentes dans les cellules musculaires et les adipocytes ***(Czech, 2017).***

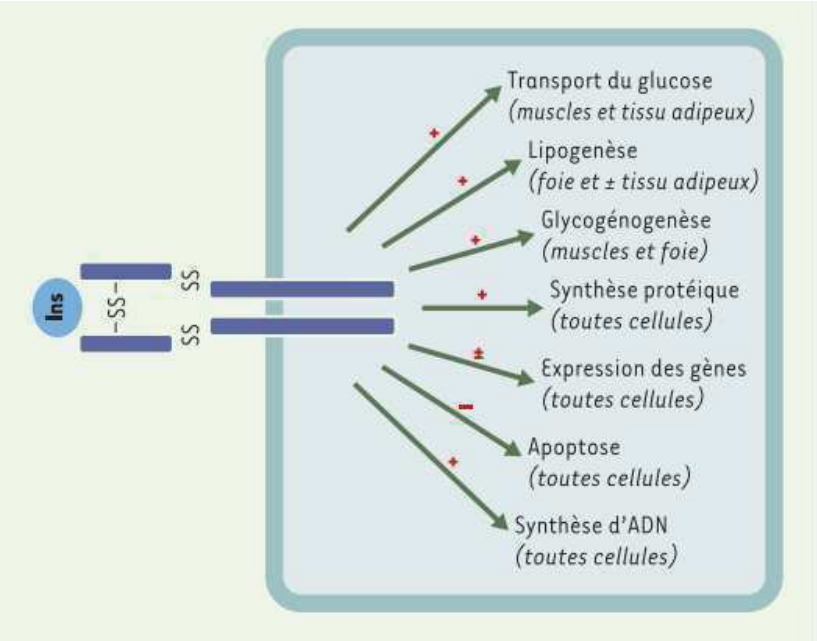


Figure I.6 *:* Effets pléïotropes de l'insuline. (+) stimulation (-) inhibition ***(Capeau, 2003).***

I.4 Diabète de type 1(DT1)

Le diabète de type 1 (précédemment appelé diabète insulinodépendant ou diabète juvénile) , qui survient le plus souvent avant l'âge de 20 ans représente seulement environ 10-15 % de tous les cas de diabète; cependant, son incidence continue à augmenter dans le monde entier avec des complications majeures à court et à long terme ***(Daneman, 2006; Grimaldi, 2000; Katsarou et al., 2017).***

Le diabète de type 1 est un trouble auto-immun qui résulte de la destruction des cellules béta pancréatiques insulino-sécrétrices par les lymphocytes T, médiateurs de l'immunité cellulaire ***(Alberti, 2014; Atkinson, Eisenbarth, & Michels, 2014; Daneman, 2006; de Ferranti et al., 2014; Grimaldi, 2000; Katsarou et al., 2017; Kostic et al., 2015; Santin, Santos, & Eizirik, 2015).*** Il se caractérise par un syndrome cardinal de début brutal associant polyuro-polydipsie (l'augmentation de la quantité d'eau bue par jour et l'augmentation de la quantité d'urines émise par jour) et polyphagie (sensation excessive et insatiable de faim), amaigrissement et asthénie. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et l'adolescent mais de plus en plus de cas sont diagnostiqués à l'âge adulte***(de Ferranti et al., 2014; OMS, 2016).***

I.4.1 Physiopathologie et étiologies

Le DT1 est caractérisé par une carence en insuline due à la destruction progressive des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. L'hyperglycémie et les signes cliniques de la maladie n'apparaissent que lorsque 80 à 90 % des cellules β ont été détruites. Le mécanisme de destruction des cellules β est un mécanisme auto-immun. Actuellement, on pense que deux facteurs principaux sont en cause : une prédisposition génétique à laquelle s'ajoutent des facteurs environnementaux ***(Atkinson et al., 2014; Baalbaki, 2013; Katsarou et al., 2017; Solène, 2015).***

Des interactions entre les lymphocytes T et les lymphocytes B peuvent conduire à la formation d'autoanticorps ciblant les îlots. Cependant, l'événement déclencheur est inconnu, mais l'apparition du premier auto-anticorps ciblant les îlots reflète la présentation de l'autoantigène par les cellules dendritiques et les réponses subséquentes des cellules T CD4 + et CD8 + spécifiques à l'autoantigène ***(Katsarou et al., 2017).*** Le processus d'autodestruction qui s'en suit cible spécifiquement les cellules β productrices d'insuline, tandis que d'autres cellules endocrines dans l'îlot sont épargnées***(Atkinson, 2012).***

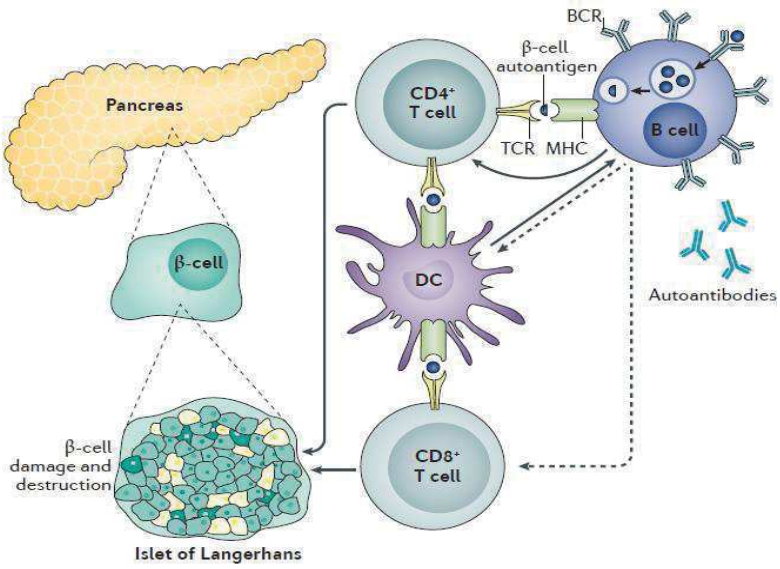


Figure I.7 *:* représentation schématique du diabète sucré de type 1***(Katsarou et al., 2017)***

I.4.1.1 Prédisposition génétique

L'existence d'un terrain génétique de susceptibilité au DT1 est aujourd'hui démontrée. Le déterminisme de la maladie est polygénique.

Il s'agit d'une susceptibilité avec environ 20 gènes en cause : le principal se situe sur le chromosome 6 au niveau des gènes du système HLA de classe II avec un risque relatif de 3 à 5, lorsqu'il existe un antigène HLA DR3-DQ2 ou DR4-DQ8. Le risque relatif atteint 20 à 40 lorsque les deux antigènes DR3-DQ2 et DR4-DQ8 sont associés, ce qui veut dire que l'association DR3-DR4 est fréquente dans la population diabétique alors qu'elle est exceptionnelle dans la population non-diabétique. Le second repère se situe dans la région du gène de l'insuline(***Atkinson, 2012; Katsarou et al., 2017; Solène, 2015; UZAN Johanna, 2016)***.

Bien qu'il soit bien connu que les haplotypes HLA-DR4-DQ8 et HLA-DR3-DQ2 sont les deux principaux facteurs de risque pour le T1DM dans le monde occidental, ces deux haplotypes sont également les principaux facteurs de risque pour le développement des autoanticorps ciblant les cellules beta ***(Katsarou et al., 2017).***

Il existe de nombreux autres gènes de prédisposition, notamment des éléments variables du gène de l'insuline ou VNTR (variable number tandem repeat), ou encore les gènes CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4) et PTPN22 (protein tyrosin phosphatase 22) (Atkinson, 2012) ***(Atkinson, 2012; Atkinson et al., 2014; Katsarou et al., 2017).***

I.4.2 Facteurs environnementaux :

Certains arguments permettent d'évoquer le rôle de l'environnement dans la survenue du DT1 :

I.4.2.1 Rôle de l'albumine bovine chez le nouveau-né au lait artificiel :

Ce facteur de risque a été mis en évidence après qu'une étude (cas- témoins) impliquant la durée de la période d'allaitement maternel dans la genèse du diabète de type 1 englobant des enfants diabétiques , leurs frères et sœurs non diabétiques ainsi qu'une population d' enfants sains non apparentés , a prouvé l'influence de la durée d'allaitement sur le risque de développer un diabète de type 1. ***(Meijer, Discepolo, Troncone, & Mearin, 2017).***

I.4.2.2 Infection :

Les maladies infectieuses ont été proposées comme un modificateur de l'environnement de l'auto-immunité chez l'homme. L'infection par différents pathogènes viraux et bactériens a été

proposée depuis longtemps comme l'une des étiologies du diabète auto-immun ***(Atkinson, 2012).***

Le rôle des virus dans la pathogénie du diabète de type 1 est suspecté mais non démontré. En faveur de cette hypothèse, certains virus pourraient présenter un antigène commun avec des protéines des cellules β (virus Coxsakie ou Cytomégalovirus). L'infection virale pourrait être responsable de la sécrétion de cytokines, en particulier d'interféron γ, favorisant par différents mécanismes le développement de la réaction auto-immune au niveau pancréatique ***(Daneman, 2006; Dubois-Laforgue & Timsit, 2012).***

Les infections à entérovirus au cours de la grossesse pourraient constituer un facteur de risque de diabète de type 1 chez l'enfant ***(Dubois-Laforgue & Timsit, 2012).***

I.4.2.3 Processus auto-immun

Il a pour cible les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas ***(Atkinson, 2012)***.

Tout d'abord, il se développe une insulite correspondant à une infiltration lymphoplasmocytaire des îlots accompagnée d'une réaction inflammatoire ***(Atkinson, 2012).***

Au cours de cette réaction sont produits plusieurs types d'autoanticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces autoanticorps sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique ***(Knip, 2002).***

Ces anticorps sont:

- Les anticorps anti-îlots (islet cell antibody: ICA), très spécifiques du DT1, détectables surtout chez les enfants qui sont nés dans des familles avec une mère ou un père avec T1DM ***(Katsarou et al., 2017).***
- Les anticorps anti-GAD (glutamate acide décarboxylase), ces anticorps sont dirigés contre une enzyme ubiquitaire mais qui est exprimée uniquement au niveau pancréatique. les enfants qui développent ces autoanticorps d'abord sont habituellement> 1 an d'âge et ils ont l'haplotype HLA-DR3-DQ2 ***(Atkinson et al., 2014; Katsarou et al., 2017)***.
- Les autoanticorps anti-insuline avec une incidence maximale entre à 1-2 ans. Ils apparaissent généralement en premier chez les enfants qui ont le HLA-DR4-DQ8 haplotype ***(Katsarou et al., 2017).***

- Les autoanticorps qui ciblent les molécules analogues à la protéine tyrosine-phosphatase IA2 et IA2β, ou ZNT8. Ces protéines se trouvent dans la membrane des vésicules sécrétoires ***(Atkinson, 2012; Katsarou et al., 2017).***

I.5 Diabète type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulinodépendant est caractérisé par une déficience relative en insuline causée par un dysfonctionnement des cellules β pancréatiques et une résistance à l'insuline dans les organes cibles. Il résulte de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs environnementaux tel que la consommation excessive de graisses saturées, de sucres rapides ainsi que la sédentarité ***(Chatterjee, Khunti, & Davies, 2017; Fuchsberger et al., 2016; Langlois, 2008; Rigalleau, Lang, & Gin, 2007).***

A l'opposé du diabète de type 1, ce type de diabète se caractérise par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un sujet en surpoids ou obèse de plus de 40 ans avec une surcharge pondérale à prédominance abdominale ***(Grimaldi, 2000)***.

Le diabète sucré de type 2 est associé à des altérations du métabolisme du glucose et des lipides dans le muscle squelettique. Certaines de ces altérations sont secondaires à la résistance à l'insuline, qui à son tour, a été expliquée par des anomalies à un ou plusieurs niveaux de la cascade de signalisation de l'insuline ***(Hernández-Alvarez et al., 2017).***

I.5.1 Physiopathologie et étiologies

Son étiologie est déterminée par l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux. Sur le plan physiopathologique, elle résulte de la combinaison à des degrés variables, d'anomalies de la sécrétion et de l'action de l'insuline, ce qui rend compte de son phénotype hétérogène ***(Rigalleau et al., 2007).***

Le diabète de type 2 est caractérisé par une hyperinsulinémie accrue, une résistance à l'insuline et une insuffisance des cellules β pancréatiques, avec jusqu'à 50% de perte cellulaire au moment du diagnostic ***(Chatterjee et al., 2017).***

Les organes impliqués dans le développement du diabète de type 2 comprennent le pancréas (cellules β et cellules α), le foie, le muscle squelettique, les reins, le cerveau, l'intestin grêle et le tissu adipeux ***(Chatterjee et al., 2017).***

L'effet incrétine, les modifications du côlon et du microbiome, le dérèglement immunitaire et l'inflammation sont apparus comme des facteurs physiopathologiques importants et sont soit établis, soit susceptibles d'être des cibles thérapeutiques ***(Chatterjee et al., 2017).***

I.5.1.1 Mécanismes de l'insulinorésistance

L'insulinorésistance est définie comme une diminution de l'action de l'insuline au niveau des tissus cibles : les muscles, le foie et le tissu adipeux, se traduisant par d'échec de captation du glucose au sein de ces tissus et un moindre frein de la production de glucose par le foie en réponse à l'insuline. L'insulinorésistance est liée à des mécanismes complexes mêlant réaction inflammatoire, accumulation d'acides gras, stress oxydant et dysfonction mitochondriale ***(DeFronzo et al., 2015; Dubois-Laforgue & Timsit, 2012; Guerin-Dubourg, 2014; Rigalleau et al., 2007).***

Un grand nombre d'anomalies biochimiques, affectant différentes étapes de l'action de l'insuline, ont été décrites dans le diabète de type 2. ***(Boulogne & Vantyghem, 2004; Rigalleau et al., 2007).*** Une anomalie de transport serait secondaire au contenu anormalement élevé en triglycérides intramusculaires ***(Guerin-Dubourg, 2014; Rigalleau et al., 2007).***
Cette anomalie de composition musculaire a été attribuée à une dysfonction du métabolisme mitochondrial des acides gras qui, mal oxydés, s'accumuleraient dans les myocytes. Le même mécanisme est d'ailleurs évoqué pour expliquer l'insulinorésistance du sujet âgé ***(Hernández-Alvarez et al., 2017).***

Les mécanismes responsables de l'insulinorésistance associée à l'obésité sont multiples. On sait que les acides gras libres, dont les taux sont élevés dans l'obésité, s'accumulent dans les myocytes où ils interfèrent avec la signalisation de l'insuline en réduisant l'activité de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase), molécule reconnue comme essentielle pour assurer la pénétration intracellulaire du glucose par translocation des transporteurs GLUT4. ***(Boulogne & Vantyghem, 2004; DeFronzo et al., 2015; Rigalleau et al., 2007).***
En outre, les adipocytes ont une capacité à produire des adipokines (hormones et cytokines) qui régulent l'utilisation et le stockage des nutriments dans les autres tissus. L'augmentation de la masse adipeuse au cours de l'obésité s'accompagne d'une libération accrue de résistine, de RBP4 (rétinol binding protein- 4) et de TNFα (Tumor Necrosis Factor) responsables d'une moindre sensibilité des tissus à l'insuline. L'obésité s'accompagnerait d'un défaut d'adiponectine et d'une résistance à la leptine et aurait par conséquence un effet diabétogène ***(Boulogne & Vantyghem, 2004; Guerin-Dubourg, 2014; Rigalleau et al., 2007).***

La voie du NfκB est activée dans de nombreux tissus au cours du diabète de type 2 et de l'obésité et a un rôle central dans la promotion de l'inflammation tissulaire. L'obésité induit ainsi l'expression de gènes cible du facteur de transcription NFκB comme les gènes des cytokines proinflammatoires dans le foie et les tissus adipeux. Ces cytokines, incluant le TNFα, l'IL-6 et l'IL-1 β peuvent entrainer une insulinorésistance dans les tissus dans lesquels elles sont produites et peuvent être transportées dans la circulation sanguine pour affecter des tissus à distance : parois des vaisseaux sanguins, muscle, cœur, reins, et leucocytes circulants. La voie du JNK active des facteurs de transcription dont le rôle n'est pas complètement établie au cours de l'insulinorésistance. Les cytokines produites par la voie du NFkB, notamment IL-1β et TNFα ont aussi la capacité d'activer la voie du NFkB ***(DeFronzo et al., 2015; Donath & Shoelson, 2011).***

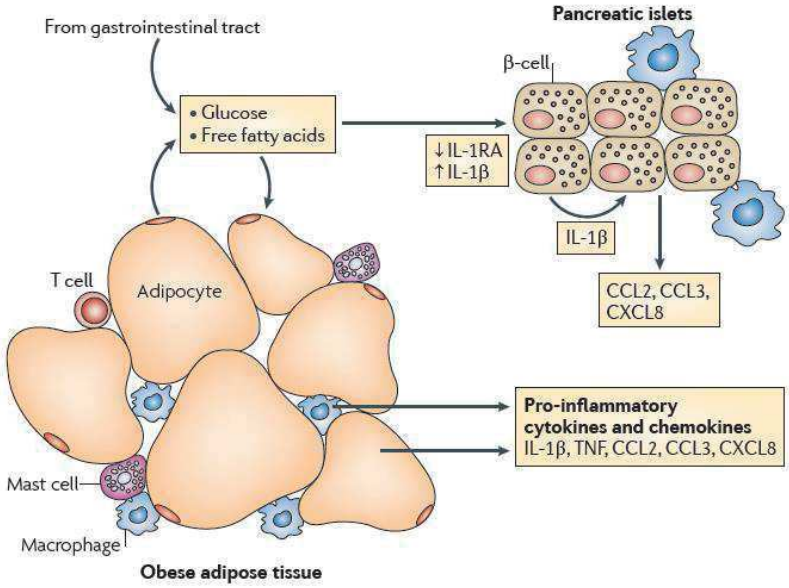


Figure I.8 *:* Développement de l'inflammation dans le diabète de type 2***(Donath & Shoelson, 2011)***

I.5.1.2 Les facteurs génétiques

La part du déterminisme génétique dans le diabète de type 2 est très importante puisque l'on estime que le risque de développer la maladie est de 30% avec un parent atteint de diabète de type 2 et de 70% si les deux parents le sont. Le taux de concordance entre jumeaux monozygotes est de près de 90%. Cependant, au regard de l'importante prévalence du diabète de type 2 dans la population générale, il est probable que les gènes de susceptibilité soient très nombreux, très répandus et de faible pénétrance, ce qui les rend difficile à identifier. Ainsi de nombreux gènes ont été analysés notamment ceux impliqués dans la régulation de la sécrétion de l'insuline ou de son action mais les variations interindividuelles et interethniques limitent

les conclusions ***(DeFronzo et al., 2015; Donath & Shoelson, 2011; Fuchsberger et al., 2016; Rigalleau et al., 2007).***

I.5.1.3 Facteurs de risques liés au mode de vie et aux Comportements

I.5.1.3.1 L'obésité et la sédentarité

Le facteur le plus puissant prédisposant au diabète de type 2 est l'obésité, particulièrement à répartition abdominale, puisque 80% des personnes atteintes de ce type de diabète présentent un excès pondéral. L'obésité est capable d'induire ou d'aggraver une insulinorésistance, imposant au pancréas une hypersécrétion permanente d'insuline. ***(Chatterjee et al., 2017; Rigalleau et al., 2007).***

La sédentarité, de plus en plus présente dans nos sociétés industrialisées, est également mise en cause dans l'apparition de la maladie, puisque l'activité physique améliore la sensibilité des tissus à l'insuline et donc présente un effet protecteur ***(Guerin-Dubourg, 2014; Guillausseau & Laloi-Michelin, 2003).***

I.5.1.3.2 L'âge avancé

L'âge est un facteur de risque majeur pour le diabète. Les tests devraient commencer à l'âge de 45 ans pour tous les patients, en particulier ceux qui sont en surpoids ou obèses ***(A. A. Diabetes, 2015).***

I.5.1.3.3 L'alimentation

L'accroissement rapide de la prévalence et de l'incidence du diabète de type 2 chez les populations qui ont vécu une transition rapide vers un mode nutritionnel à l'occidentale est l'un des plus importants arguments en faveur du rôle majeur que peut jouer l'alimentation dans l'étiologie du diabète de type 2 ***(ROMLI, 2016).***

Actuellement, le poids moyen de la population croît régulièrement. La situation de l'adolescent rivé au moniteur de son jeu vidéo, nourri de friandises et de boissons sucrés en est la caricature, et conduit à l'apparition d'intolérances au glucose ou d'authentiques DT2 non MODY (maturity-onset diabetes of the young) chez des adolescents. Cette évolution conduira à un abaissement de l'âge d'apparition du DT2 au cours des prochaines décennies ***(Guillausseau & Laloi-Michelin, 2003).***

I.5.1.4 Facteurs de risques liés à l'état métabolique

I.5.1.4.1 Diabète gestationnel

La parenté physiopathologique entre le diabète gestationnel (DG) et le diabète de type 2 est actuellement établie ***(Fédération In & Diabète, 2013; Grimaldi, 2000)***. Un antécédent de diabète gestationnel augmente 7 fois le risque de diabète de type 2, jusqu'à 5 fois le syndrome métabolique et de 1,7 fois les maladies cardiovasculaires. Le DT2 peut apparaître dès le post-partum comme il peut être retardé durant 25 ans ***(ROMLI, 2016).***

Les femmes qui développent une résistance à l'insuline et, par conséquent, une glycémie élevée pendant leur grossesse sont atteintes de diabète gestationnel. Le diabète gestationnel apparaît généralement à un stade plus avancé de la grossesse, souvent vers la 24e semaine. Ce trouble survient parce que l'action de l'insuline est inhibée, probablement par les hormones produites par le placenta, ce qui provoque une insensibilité à l'insuline (également appelée insulinorésistance) ***(Fédération In & Diabète, 2013).***

La grossesse est caractérisée par des modifications fonctionnelles ainsi que par des modifications structurales des ilots de langerhans qu'ont été décrits par une hypertrophie et une hyperplasie des cellules beta ***(Biquard et al., 2002).***

I.5.1.4.2 Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique est une association de plusieurs anomalies métaboliques manifesté par une hyperglycémie, une hypertension artérielle, une dyslipidémie, un taux élevé en triglycérides avec un faible taux de C-HDL et une obésité abdominale ***(Moller, 2001; Vergès, 2007)***. Selon la Fédération Internationale du Diabète (FID), ce groupe de facteurs constitue le moteur de la double épidémie mondiale de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires.

Le diabète de type 2 et le syndrome métabolique sont caractérisés par une très grande fréquence d'anomalies lipidiques quantitatives et qualitatives. Les principales anomalies quantitatives sont l'hypertriglycéridémie et la baisse du HDLcholestérol. Les anomalies qualitatives comprennent essentiellement des VLDL de grandes tailles, un enrichissement des LDL et HDL en triglycérides, une oxydation des LDL et, en cas de diabète, une glycation des apolipoprotéines. Toutes ces anomalies (quantitatives et qualitatives) sont athérogènes ***(Vergès, 2007).***

I.6 Complications liées au diabète

Les personnes atteintes de diabète sont exposées à un risque de développer divers problèmes de santé invalidants et potentiellement mortels. Une glycémie en permanence élevée peut être à l'origine de maladies graves touchant le système cardiovasculaire, les yeux, les reins et les nerfs ***(Fédération In & Diabète, 2013; OMS, 2016).***

Les complications du diabète se subdivisent en deux groupes : les complications aigues qui sont d'une urgence vitale, et les complications chroniques qui s'installent progressivement ***(OMS, 2016; Santé, 2015).***

I.6.1 Complications aigue

Le coma acidocétosique avec hyperglycémie apparaît en cas de déficit sévère en insuline. Il complique le diabète de type 1 insulinodépendant le plus souvent ***(OMS, 2016; ROMLI, 2016).***

L'acidocétose est un désordre métabolique qui traduit une carence relative ou absolue en insuline empêchant la pénétration cellulaire du glucose. La carence insulinique favorise la mise en place d'un état catabolique avec activation de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse, ce qui contribue à augmenter la glycémie. ***(Baalbaki, 2013; Solène, 2015).***
Le coma hypoglycémique survient en cas d'inadéquation entre les doses d'insuline et les besoin énergétique_ (un effort physique sans réduction des doses d'insuline ou une réduction des apports alimentaires) ou en cas de surdosage accidentel ou volontaire d'insuline. C'est un coma brutal, agité qui mime parfois une crise d'épilepsie ***(Baalbaki, 2013; OMS, 2016; Santé, 2015; Solène, 2015).***

I.6.2 Complications chronique

I.6.2.1 Complications cardio-vasculaires dites macro angiopathiques

La maladie cardiovasculaire est une complication à long terme du diabète qui constitue une préoccupation majeure pour les patients et les professionnels de santé. La maladie cardiovasculaire est définie comme une maladie coronarienne (CHD), une maladie cérébrovasculaire ou une maladie artérielle périphérique (MAP). L'insuffisance cardiaque et la cardiomyopathie ont également été décrites dans DT1 ***(de Ferranti et al., 2014).***

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de décès et d' handicap parmi les personnes atteintes de diabète ***(Fédération In & Diabète, 2013).***

I.6.2.2 Complications microangiopathiques

L'hyperglycémie chronique se caractérise par l'apparition retardée de lésions caractéristiques dont les conséquences se manifestent au niveau de la rétine, des glomérules rénaux et des nerfs périphériques ***(Baalbaki, 2013; Katsarou et al., 2017; OMS, 2016).***

Une hyperglycémie persistante, associée à une hypertension et à un taux de cholestérol élevé, est la principale cause de rétinopathie ***(Fédération In & Diabète, 2013; Katsarou et al., 2017).***

La néphropathie diabétique est la première cause d'insuffisance rénale terminale dans la plupart des pays occidentaux. Environ 15% des diabétiques de type 2 développent une insuffisance rénale après 10 à 25 ans d'évolution ***(ROMLI, 2016).***

Lorsque la glycémie et la tension artérielle sont très élevées, le diabète peut provoquer des lésions nerveuses dans l'ensemble de l'organisme (neuropathie). Il peut en résulter des problèmes de digestion et de miction, des troubles de l'érection et d'autres dysfonctionnements, mais les zones les plus couramment touchées sont les extrémités, en particulier les pieds ***(Fédération In & Diabète, 2013).***

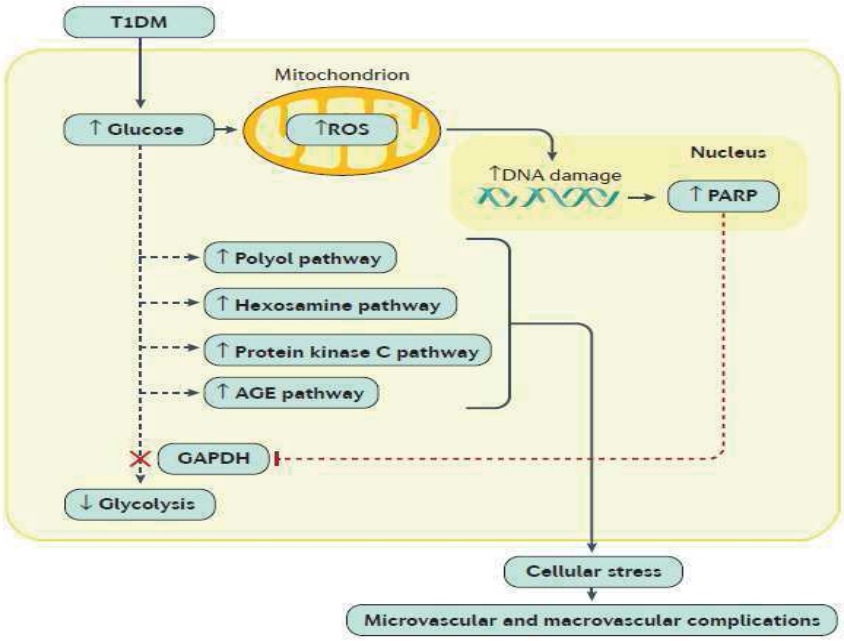


Figure I. 9 : Mécanismes de dommages cellulaires induits par l'hyperglycémie ***(Katsarou et al., 2017).***

I.7 Diabète, stress oxydant et hyperglycémie chronique

I.7.1 Hyperglycémie et stress oxydant

Au cours du diabète, et plus particulièrement dans le type 2 lié à un syndrome métabolique, l'hyperglycémie est associée à un stress oxydant lié à une hyperproduction de radicaux libres et ROS.

Plusieurs mécanismes peuvent être impliqués dans la genèse d'un stress oxydant dans des conditions d'hyperglycémie chronique : auto-oxydation du glucose, surproduction de radicaux superoxyde par la chaîne respiratoire mitochondriale et par activation de la NAD(P)H oxydase vasculaire, voie des polyols, et formation de produits de glycation avancée. Le gradient de protons généré par la chaîne mitochondriale de transport des électrons conduit à une production intra-cellulaire de radicaux superoxide (O2 •–), au niveau de deux sites principaux : la NADH deshydrogénase du complexe I, et l'interface entre l'ubiquinone et le complexe III. Cette surproduction de superoxyde est accrue en présence de fortes concentrations de glucose qui sont susceptibles d'induire la synthèse de diacylglycérol ou l'hydrolyse des phosphatidylcholines, activant ainsi la protéine kinase C (PKC) ***(Bonnefont-Rousselot et al., 2004; Ido, Kilo, & Williamson, 1997).***

Par ailleurs, les cellules vasculaires telles que les cellules endothéliales ou les cellules musculaires lisses sont capables de produire des ERO via l'activation des NAD(P)H oxydases. Des fortes concentrations de glucose peuvent stimuler la production d'ERO en activant la NAD(P)H oxydase par une voie dépendante de la PKC ***(Raccah, 2004).***

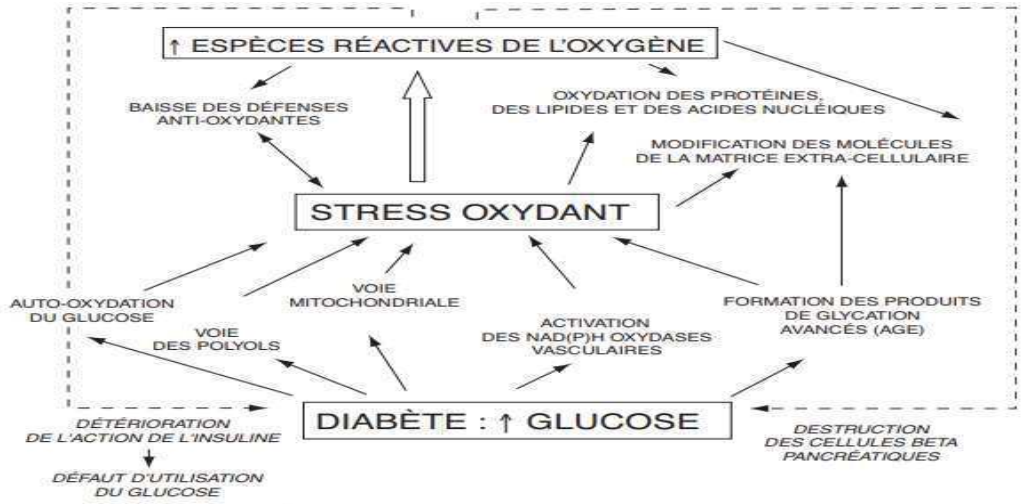


Figure I.10 : Relations entre hyperglycémie et stress oxydant ***(Bonnefont-Rousselot et al., 2004).***

Il est intéressant de souligner que, si l'hyperglycémie chronique est bien à l'origine d'un stress oxydant, ce dernier pourrait être aussi à l'origine du diabète de type 1 par un phénomène d'apoptose des cellules bêta pancréatiques ou à l'origine de l'insulino-résistance du diabète de type 2 ***(Bonnefont-Rousselot et al., 2004).***

I.7.2 Produits de glycation avancée (AGE) et les cellules bêta du pancréas

Plusieurs chercheurs ont souligné les effets néfastes de la glycation et des AGE sur la formation de la cataracte associée au diabète, la néphropathie, la rétinopathie, la neuropathie, la maladie parodontale et l'altération de la cicatrisation osseuse et dermique. Cependant, il y a eu peu d'études sur les effets directs des AGE sur la fonction des cellules bêta (Lin, Zhang, & Su, 2012)**.**

Le stress oxydatif est un mécanisme important de la dégénérescence des cellules bêta. Il est capable de réagir avec diverses cibles moléculaires et de les endommager, notamment l'acide désoxyribonucléique (ADN), les protéines et les lipides. Plus important encore, le stress oxydatif est un déclencheur de l'apoptose connu et un modulateur activant la protéine kinase pro-apoptotique activée par un mitogène (MAPK) et d'autres voies de signalisation. Comme les cellules bêta ont des niveaux intrinsèques très faibles de protéines antioxydantes, elles sont extrêmement vulnérables aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) **(Bonnefont-Rousselot et al., 2004; Lin et al., 2012).**

Le stress oxydatif chronique (accumulation de ROS) en raison de la toxicité du glucose et lipotoxicité a été de plus en plus impliqué dans l'état altéré des cellules bêta dans le diabète ***(Clarke, Dordevic, Tan, Ryan, & Coughlan, 2016; Lin et al., 2012).***

Méthylglyoxal (MGO), le précurseur le plus réactif des AGEs, également altérée à la fois l'action et la sécrétion de l'insuline par l'amélioration de l'activité du glycogène synthase kinase-3 (GSK3) ***(Bonnefont-Rousselot et al., 2004).***

De fortes concentrations d'AGE associées à des niveaux élevés de sucre, de lipides et d'autres facteurs affectent les mécanismes de sécrétion d'insuline en perturbant le statut redox et en favorisant l'apoptose cellulaire qui aggrave la résistance à l'insuline périphérique et entraîne finalement la progression du diabète de type 2 ***(Bonnefont-Rousselot et al., 2004).***

I.8 La prise en charge du diabète

I.8.1 Non pharmacologique

I.8.1.1 Régime alimentaire et activité physique

Le diabète peut être différé ou prévenu chez les personnes en surpoids intolérantes au glucose. Les interventions liées à l'alimentation et à l'activité physique sont plus efficaces que les médicaments ***(OMS, 2016).***

La prise en charge diététique constitue, dès lors, un aspect essentiel dans la prévention et la prise en charge du patient diabétique de type 2 ***(Aquot, 2005).***

La perte de poids est un objectif important chez les patients diabétiques de type 2 avec surpoids ou obèses. En effet, une perte de poids, même modérée telle qu'une diminution de 5 % du poids initial, améliore l'action de l'insuline, réduit la glycémie à jeun et amène à une réduction de la médication hypoglycémiante ***(Aquot, 2005).***

I.8.1.2 Education sur le diabète

L'éducation sur le diabète consiste à enseigner aux personnes diabétiques les connaissances et aptitudes qui vont les rendre capable d'assurer l'autogestion de la prise en charge de leur diabète et des affections liées. C'est l'une des pierres angulaires de la prise en charge, aux cotés du régime alimentaire, de l'activité physique et du traitement médicamenteux, et elle est capitale pour améliorer les résultats ***(Fédération Internationale du Diabète Region Afrique, n.d.)***

I.8.2 Pharmacologique

I.8.2.1 L'insulinothérapie

Les schémas d'insulinothérapie actuellement proposés visent à reproduire l'insulino-sécrétion physiologique. En effet, le sujet normal présente une insulino-sécrétion basale continue, persistant y compris après plusieurs jours de jeûne, à laquelle viennent s'ajouter des pics insulino-secrétoires adaptés lors des repas. La plupart des diabétologues ont donc adopté un schéma dit « basal bolus » réalisé :

- soit par l'association de bolus d'insuline rapide injectés avant chaque repas.
- soit par l'utilisation d'une pompe portable perfusant par voie sous cutanée de l'insuline rapide avec un débit de base continu éventuellement modulé pour couvrir les besoins nocturnes et des bolus à la demande avant les repas ***(Grimaldi, 2000).***

L'insulinothérapie est de plus en plus utilisée soit en association au traitement oral, soit en monothérapie dans la prise en charge des diabétiques de type 2, dans le but d'assurer un meilleurs contrôle glycémique adapté à chaque circonstance. Lorsque faisable, l'institution de l'insulinothérapie doit être différée **(*Fédération Internationale du Diabète Region Afrique, n.d.; Hilips & Cheen, 2005; Santé, 2015).***

L'insulinothérapie est le traitement de référence du DT1, indispensable à la survie des patients. Il s'agit d'un traitement à vie et uniquement palliatif (faute de traitements préventif et curatif) ***(Baalbaki, 2013; Mohn, Kavan, Bourcelot, Zimmermann, & Penfornis, 2012).***

I.8.2.2 Hypoglycémiants oraux / antidiabétiques oraux (ADO)

Le traitement médicamenteux oral est indiqué lorsque les objectifs glycémiques ne sont pas obtenus en associant le régime alimentaire et les exercices/activités physiques. ***(Fédération Internationale du Diabète Region Afrique, n.d.).***

Traiter un diabétique non insulino-dépendant, c'est chercher non seulement à baisser les valeurs glycémiques mais aussi à corriger les autres facteurs de risque vasculaire souvent associés ***(Grimaldi, 2000).***

Les hypoglycémiants oraux sont le troisième volet du traitement du diabète non insulino-dépendant, après la diététique et l'activité physique. Il existe actuellement trois familles d'hypoglycémiants oraux : les sulfamides hypoglycémiants, les Biguanides, les inhibiteurs des alpha-glucosidases ***(Grimaldi, 2000).***

- Les Sulfamides hypoglycémiants ils agissent en stimulant l'insulino-sécrétion, en se liant à un récepteur spécifique présent sur la membrane de la cellule B pancréatique.
- Les biguanides ils agissent en luttant contre l'insulino-résistance.
- Les inhibiteurs de l'alpha glucosidase inhibent le dernier stade de la digestion des sucres ***(Grimaldi, 2000).***

I.9 Diabète induit par la Streptozotocine

Streptozotocine (STZ) est une substance chimique d'origine naturelle produite par la bactérie du sol *Streptomyces achromogenes* qui présente un large spectre de propriétés antibactériennes **(*Eleazu, 2013)*.**

La STZ est un analogue du glucose cytotoxique. Après sa découverte, elle était utilisée comme agent alkylant chimiothérapeutique dans le traitement des tumeurs métastatiques des cellules des îlots pancréatiques et d'autres tumeurs malignes. ***(Lenzen, 2008)***

La STZ est une glucosamine nitrosé ***(Press, 2015).*** Considéré comme une toxine pour les cellules β-pancréatique qui induit une nécrose aléatoire, rapide et irréversible..***(Hayashi, Kojima, & Ito, 2006)***

En 1963, Rakieten et ses collègues ont rapporté que la STZ est diabétogène ***(Rakieten N., et al.1963)***. Depuis le moment de sa découverte et jusqu'à nos jours , la STZ est utilisée comme agent chimique inducteur du diabète expérimentale ***(Eleazu, 2013).***

Sa structure est composée d'une partie nitrosourée avec un groupe méthyle attaché à une extrémité et une molécule de glucose à l'autre extrémité

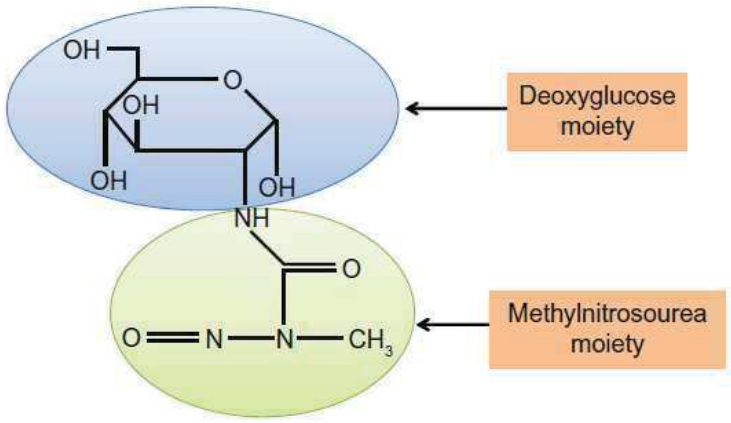


Figure I.11 : Structure chimique de STZ.***(Wu & Yan, 2015)***

La STZ est capable d'induire un diabète sucré insulinodépendant (type 1) par l'élimination complète ou la destruction des cellules β pancréatiques. Elle est également capable de

développer une résistance à l'insuline périphérique ou d'altérer la sécrétion d'insuline à partir des cellules β. Ses effets sont suffisants pour induire un diabète sucré non insulinodépendant (type 2). De nombreux rapports ont indiqué que la STZ est capable de produire des types de diabète légers à sévères qui varient selon la dose, la voie d'administration, la souche, l'état nutritionnel de l'animal et son âge, ainsi que d'autres facteurs ***(Press, 2015 , Etuk, 2010)***

La dose choisie de la STZ est variable selon la voie d'administration, l'animal et surtout la pathologie voulue. Par exemple, dans les essais préliminaires, il est important de garder la vitalité de l'animal où on injecte de faibles doses de STZ (dose inférieure ou égale à 60mg/kg) ***(Bouhouche, 2014)***. Par conséquent, les chercheurs sont obligés de concevoir leurs propres protocoles d'induction du diabète induit à la STZ selon les besoins de chaque étude.

I.9.1 Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action de la STZ entraînant la mort cellulaire n'a pas été complètement identifié, bien que l'on pense qu'il résulte de l'endommagement de l'ADN provoqué par la génération de radicaux libres pendant le métabolisme de la STZ ce qui arrête la production d'insuline. ***(Bolzán & Bianchi, 2002)***

la STZ considérée comme analogue du glucose est capable de traverser toute membrane cellulaire contenant un transporteur de glucose GLUT-2 ***(Lenzen, 2008)*.** Sa toxicité sélective aux cellules beta pancréatiques est liée à la fraction du glucose qui se trouve dans sa structure chimique et qui permet à cette dernière de rentrer dans la cellule beta via le transporteur du glucose GLUT2 à faible affinité. Cependant, la sensibilité accrue des cellules bêta aux variations de la glycémie explique leur vulnérabilité à l'effet de la STZ.

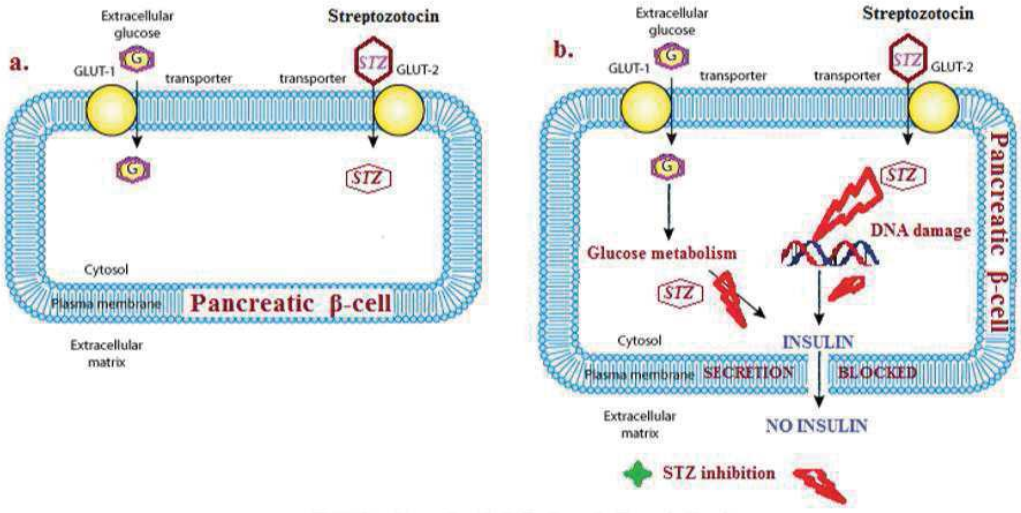


Figure I.12 : Mécanisme d'action de STZ**.** ***(Goud, 2015)***

IL a été bien documenté que la principale cause de la mort des cellules sécrétrices d'insuline induite par la STZ est l'alkylation de l'ADN. STZ est un agent d'alkylation hautement génotoxique, qui peut causer des dommages cellulaires, y compris des ruptures de brins d'ADN et entraîner éventuellement la mort cellulaire ***(Eleazu, 2013)*** Une fois que STZ pénètre à l'intérieur de la cellule, il est capable de se décomposer spontanément pour former une molécule d'isocyanate et une molécule de méthyldiazohydroxyde ***(Goud, 2015)***. Le méthyldiazohydroxyde peut se décomposer pour former un ion carbonium hautement réactif (CH3 +) qui est considéré comme un acteur clé dans l'alkylation de l'ADN induite par la STZ, provoquant des liaisons croisées d'ADN ***(Goud, 2015).*** Des études ont fourni des preuves suggérant que le site le plus prédominant pour l'alkylation de l'ADN est à la position O6 de la guanine ***(Eleazu, 2013).*** La méthylation à O6 peut interférer avec la liaison hydrogène et permettre à la guanine de se lier avec la thymine, provoquant ainsi une mutation ponctuelle (Figure **I.13**).

On suppose que l'action diabétogène de STZ chez les animaux est médier par une réduction du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD +) dans les cellules pancréatiques **(Goud, 2015)**. Les lésions de l'ADN provoquées par l'alkylation médier par la STZ sont réparées par un processus de réparation qui nécessite l'activation de la (PARP) dépendante de la NAD ***(Lenzen, 2008)***. La sur stimulation de cette enzyme conduit a l'épuisement de NAD + cellulaire et par conséquent, les réserves d'ATP.La perte critique de NAD + conduit à l'arrêt de la fonction cellulaire et finalement à la mort des cellules bêta.

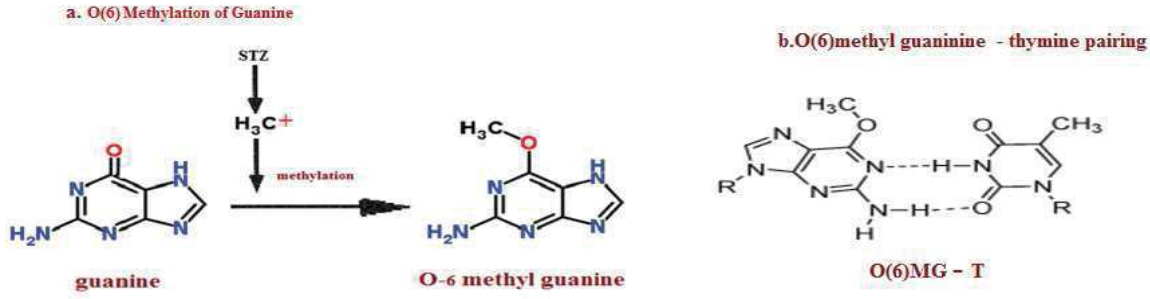


Figure I.13 : Méthylation et appariement de base anormal ***(Goud, 2015).***

D'autres études ont révélées l'action de STZ dans la genèse de monoxyde d'azote qui participe aussi à la destruction des cellules bêta pancréatique des rats et à l'endommagement de l'ADN. ***(Goud 2015, Lenzen 2008)*** .Comme d'autres nitrosourées, La STZ est un donneur potentiel de NO qui intervient dans la destruction des cellules des îlots pancréatiques β par l'endommagement de l'ADN.

Le radical NO inactive l'enzyme mitochondriale aconitase, ce qui bloque l'oxydation du substrat et la production d'ATP. ***(Eleazu 2013,T Szkudelski 2001).*** Les canaux ioniques et les complexes I et II de la chaîne mitochondriale de transport d'électrons sont deux autres cibles possibles pour les effets du NO qui peuvent altérer la sécrétion d'insuline ***(Goud, 2015).***

Cependant, le NO n'est pas la seule molécule responsable de l'effet cytotoxique de STZ, mais aussi les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont des molécules potentiellement dévastatrices. Plusieurs études ont démontrées que l'hyperglycémie dans le diabète induit par la STZ a été associée à une augmentation de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à des dommages oxydatifs sur les composés *tissulaires* ***(Nakhaee 2009, Szkudelski 2001,Eleazu 2013).***

Les inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) suppriment le processus de méthylation de l'ADN. Ainsi, l'injection de nicotinamide et d'autres inhibiteurs de PARP en parallèle ou avant l'administration de streptozotocine est bien connue pour protéger cellules bêta contre l'action toxique de la streptozotocine et empêche le développement d'un état diabétique ***(Tomasz Szkudelski 2012, Elsner 2000).***

II.1 La Metformine (GLUCOPHAGE)

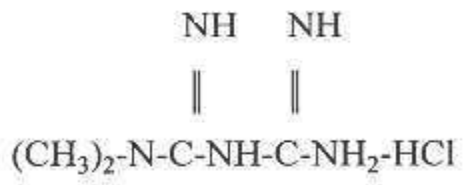
La metformine (1,1-diméthylbiguanide hydrochloride) est un antidiabétique oral de la famille des biguanides. Les biguanides tirent leur origine du galéga officinal (Galega officinalis), une plante herbacée utilisée depuis le Moyen Âge pour réduire les symptômes du diabète. La metformine a été mise sur le marché pour la première fois en 1979 en France sous l'appellation de Glucophage® ***(Foretz & Viollet, 2009).***

La Metformine est un médicament hypoglycémiant capable d'augmenter la sensibilité des cellules hépatiques à l'action de l'insuline. Elle est souvent prescrite comme médicament de première intention chez les patients diabétiques de type 2 ***(Hemmingsen et al., 2012).***

Depuis le retrait de la Phenformine (INSORAL) responsable d'acidose lactique dans les années cinquante, seule la Metformine est aujourd'hui commercialisée en France sous quatre formes : le GLUCOPHAGE 500, le GLUCOPHAGE 850 (ex GLUCOPHAGE RETARD) le GLUCINAN et le STAGID. Le plus puissant est le GLUCOPHAGE 850 mais c'est aussi le moins bien toléré sur le plan digestif ***(Grimaldi, 2000).***

II.1.1 Pharmacologie

- Dénomination commune : Metformine
- Nom chimique : chlorhydrate de N,N-diméthyl-biguanide
- Formule moléculaire et masse moléculaire : 165,6 Da
- Formule développée : (Santé, 2017)



Les comprimés GLUCOPHAGE doivent être conservés à la température ambiante (entre 15 ºC et 30 ºC) dans un contenant hermétique**.** L'absorption de la Metformine est relativement lente et peut s'étendre sur environ 6 heures, et sa demi-vie variant entre 9 heures et 17 heures ***(Santé, 2017; Spiller & Quadrani, 2004).***

L'absorption intestinale est incomplète et ne concerne que 70 à 80 % de la dose ingérée. La metformine ne se lie pas aux protéines plasmatiques, et n'est pas métabolisée. Elle est

éliminée par voie rénale sous forme active; son élimination est donc directement sous la dépendance du débit de filtration glomérulaire ***(Tielmans et al., 2007).***

II.1.2 La Metformine chez les animaux

Chez l'animal sain, l'administration de Metformine n'entraîne de réduction de la glycémie que lorsque la dose administrée est très proche de la dose létale. La sensibilité à ce médicament varie d'une espèce animale à l'autre. Les animaux atteints de diabète provoqué expérimentalement y sont nettement plus sensibles à condition qu'il y ait toujours sécrétion d'insuline ***(Santé, 2017).***

Toutefois, son efficacité a été confirmée chez des souris obèses déficientes en leptine qui présentent une insulinorésistance et une stéatose hépatique. Le traitement de ces animaux par cette molécule améliore la stéatose hépatique, l'hépatomégalie et la cytolyse hépatique ***(Foretz & Viollet, 2009).***

II.1.3 Mécanisme d'action

La Metformine est le médicament antidiabétique le plus couramment prescrit dans le monde et agit en supprimant la production de glucose hépatique, entraînant une réduction des taux de glycémie à jeun et de l'HbA1c. Cependant, elle n'aurait aucun effet sur la fonction des cellules β et en l'absence de perte de poids, elle serait incapable d'améliorer la sensibilité à l'insuline du muscle striée ***(DeFronzo et al., 2015).***

Les mécanismes par lesquels la Metformine inhibe la production de glucose hépatique restent incertains, mais comprennent l'inhibition du complexe mitochondrial I, l'activation de la protéine kinase activé par l'AMP (AMPK) et l'inhibition des enzymes glycolytiques et / ou gluconéogéniques et de la glycérophosphate déshydrogénase mitochondriale ***(DeFronzo et al., 2015; S.Ripudaman et al., 2000; Tielmans et al., 2007).***

II.1.3.1 Le foie organe cible de la Metformine

Du fait de son administration orale, la Metformine est absorbée par l'intestin et ses concentrations au niveau de la veine porte et au niveau hépatique sont élevées ***(Foretz & Viollet, 2009).***

Des études récentes ont rapporté que son transport intracellulaire est médié par le transporteur de cations organiques OCT1 (Organic cation transporter 1) ***(Foretz & Viollet, 2009; Wang, 2002).*** Chez l'homme, la présence de polymorphisme au niveau du gène OCT1 affecte l'effet de cette dernière au cours du test de tolérance au glucose ***(Foretz & Viollet, 2009).*** Oct1 est exprimé dans le foie et les reins, tandis que Oct2 est exprimé principalement dans les reins

(DIARRA, 2015; Wang, 2002). Dans le foie et le rein, OCT1 participe respectivement à l'absorption et à l'excrétion de la Metformine. L'expression importante du transporteur OCT1 dans l'intestin et le foie entraîne son accumulation plus marquée dans ces deux organes. L'accumulation de la Metformine dans ces tissus est accentuée par le fait qu'elle n'est pas métabolisée par l'organisme, mais directement excrétée par la voie urinaire ***(Foretz & Viollet, 2009).***

II.1.3.2 Cibles moléculaires de la Metformine

Le mécanisme d'action cellulaire de la Metformine est resté longtemps obscur. Un certain nombre de mécanismes moléculaires ont été proposés pour expliquer ses effets hépatiques impliqués dans l'inhibition de la gluconéogenèse. Récemment, plusieurs études ont démontré, d'une part que la Metformine inhibe modérément le complexe I (NADH : ubiquinone oxidoreductase) de la chaîne respiratoire et, d'autre part, active la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK). L'AMPK est une sérine thréonine kinase extrêmement conservée chez les eucaryotes ***(Foretz & Viollet, 2009; Tielmans et al., 2007).***

L'AMPK est un senseur métabolique sensible aux variations énergétiques de la cellule, qui permet d'ajuster en permanence, et au plus près, les besoins et disponibilités énergétiques de la cellule. L'AMPK est activée par une diminution du rapport intracellulaire ATP/AMP suite à un stress métabolique comme l'exercice, le jeûne ou l'hypoxie. Une fois activée, l'AMPK inhibe les voies métaboliques anaboliques consommatrices d'ATP et active les voies cataboliques productrices d'ATP afin de restaurer le rapport ATP/AMP intracellulaires Dans le foie, l'AMPK augmente l'oxydation des acides gras et inhibe la lipogenèse et la gluconéogenèse ***(DIARRA, 2015; Foretz & Viollet, 2009; Jeon, 2016).***

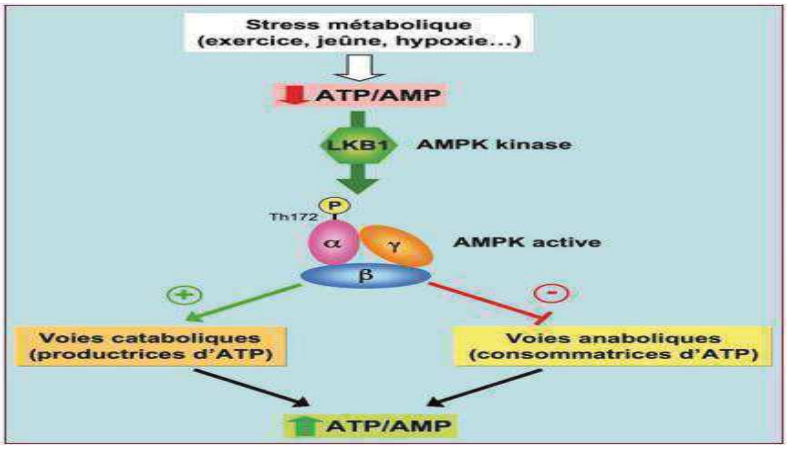


Figure II.1. L'AMPK est un senseur du statut énergétique intracellulaire.

En 2001, Zhou et al. Ont montré, pour la première fois, que la Metformine active l'AMPK dans des hépatocytes en culture et dans le muscle squelettique. Ainsi l'AMPK n'est pas une cible directe de la Metformine puisqu'elle est incapable de stimuler l'activité de l'AMPK ou d'augmenter sa phosphorylation par LKB1 in vitro. L'effet de la Metformine sur la mitochondrie n'est pas une conséquence de l'activation de l'AMPK et que le complexe I de la chaîne respiratoire est probablement sa cible primaire. Ainsi, ces observations suggèrent que l'activation de l'AMPK par la Metformine résulte d'une modification du statut énergétique cellulaire ***(Foretz & Viollet, 2009).***

La Metformine modifie l'ouverture des pores de transition mitochondriaux et prévient par conséquence l'apoptose cellulaire induite par l'hyperglycémie ***(DIARRA, 2015).***

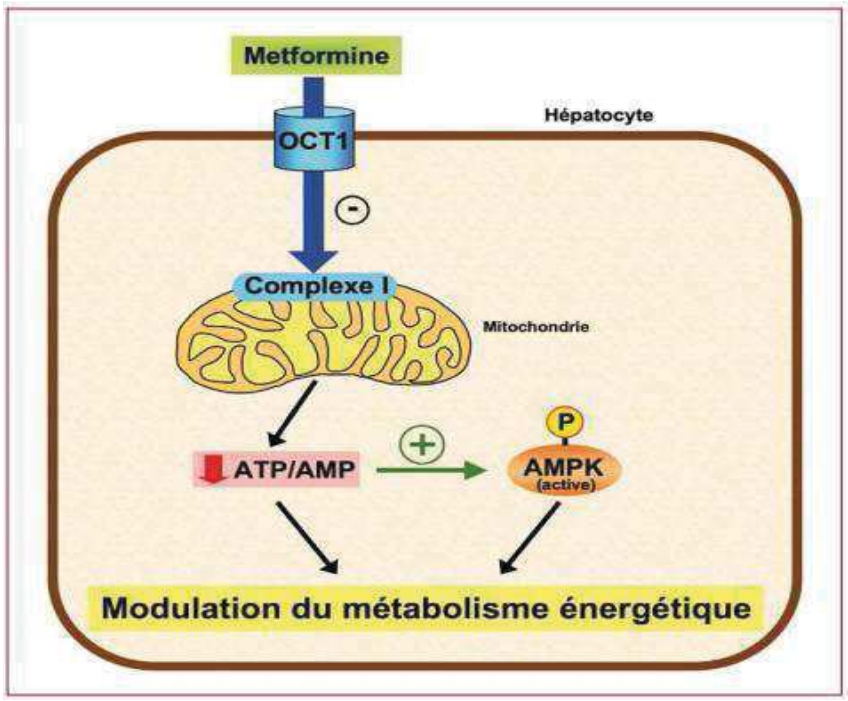


Figure II.2 *:* Cibles moléculaires de la Metformine dans l'hépatocyte

La diminution de la production hépatique de glucose par la Metformine est attribuée à une inhibition de la gluconéogenèse. Il est important de rappeler que l'inhibition spécifique et non toxique du complexe I de la chaîne respiratoire diminue modérément le rapport intracellulaire ATP/AMP dans des hépatocytes incubés avec des concentrations thérapeutiques de Metformine. Cet effet sur la mitochondrie pourrait fournir une explication à l'inhibition rapide de la gluconéogenèse. La gluconéogenèse étant une voie métabolique à haute consommation énergétique puisqu'elle nécessite 4 ATP et 1 GTP par molécule de glucose formée. Par conséquent, la diminution du contenu intracellulaire en ATP par inhibition du complexe I réduit le flux gluconéogénique. De plus, l'augmentation des concentrations intracellulaires de

l'AMP inhibe de manière allostérique la fructose-1,6-biphosphatase, une enzyme clé de la gluconéogenèse, contribuant à l'inhibition de la production de glucose ***(Foretz & Viollet, 2009)***

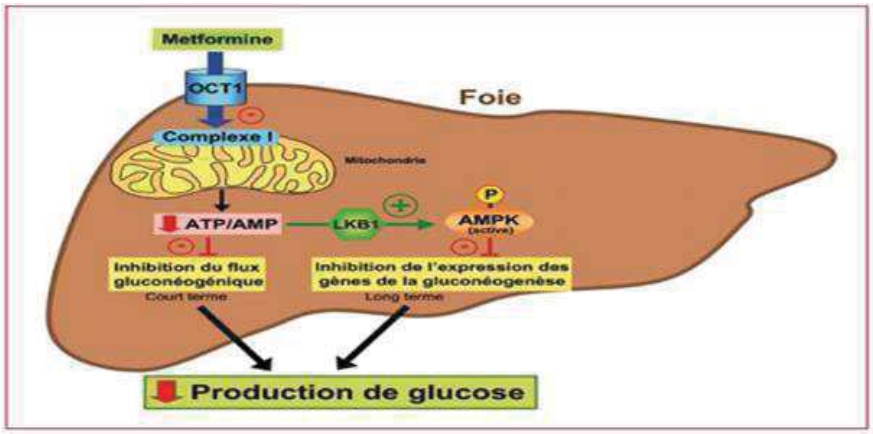


Figure II.3*:* Mécanismes d'inhibition de la gluconéogenèse hépatique par la Metformine ***(Foretz & Viollet, 2009).***

II.1.4 Effets indésirables

Les symptômes digestifs sont les plus fréquents, touchant 20 à 50 % des patients il s'agit de diarrhée, flatulence, "gêne" abdominale et peuvent imposer un arrêt complet du traitement dans 5 à 10 % des cas ***(Tielmans et al., 2007).***

Chez 10 à 30 % des patients une malabsorption de la vitamine B12 sans traduction clinique ou biologique pourrait se manifester ***(Tielmans et al., 2007).***

L'acidose lactique est réputée comme étant la complication la plus grave du traitement par la Metformine avec une mortalité proche de 50 %. Son incidence est de 2 à 9/100 000 patients/an ***(Chowdhury et al., 2018; Santé, 2017).***

Des facteurs de risque de MALA (Metformin induced lactic acidosis) ont été rapportés comme une maladie concomitante entraînant une hypoxémie ou une insuffisance rénale (septicémie, décompensation hépatique aiguë, abus d'alcool, infarctus aigu du myocarde, choc). La pathogenèse de MALA en cas de surdosage est complexe sans être totalement maitrisée ***(Spiller & Quadrani, 2004).***

III.1 NADH coenzyme numéro un

NADH est l'abréviation de la substance biologique nicotinamide adénine dinucléotide. Le -H- signifie hydrogène à haute énergie et indique qu'il s'agit de la forme réduite de coenzyme 1, un autre terme pour NADH.

Les enzymes catalysent les processus biologiques et créent dans notre corps des produits dont nous avons besoin pour survivre. Dans les cellules vivantes, elles catalysent la décomposition et le renouvellement des composants alimentaires en unités plus petites, transformant finalement les aliments en eau et en énergie. Les enzymes peuvent effectuer leur travail seulement si un facteur essentiel supplémentaire se combine avec l'enzyme elle-même. Ce facteur est appelé une coenzyme.

Le NADH est considéré comme une coenzyme nécessaire dans le processus de production enzymatique. Une carence en NADH entraînerait un déficit énergétique au niveau cellulaire, dont le symptôme est la fatigue.***(Forsyth et al., 1999)***

Le NADH réagit avec l'oxygène présent dans la cellule vivante, produisant ainsi de l'énergie et de l'eau. Plus une cellule contient de NADH, plus elle peut produire de l'énergie, plus elle fonctionne bien et plus la cellule peut vivre long temps (tout l'organisme). **(*Nadlinger et al., 2002)***

La quantité de NADH cellulaire dépend de l'énergie nécessaire au maintien du métabolisme de base. Ce qui explique la grande consommation d'énergie au niveau des cellules cardiaques et nerveuses comparativement aux autres tissus.

III.1.1 L'Hydrogène biologique

Le H du NADH est l'hydrogène biologique car il se lie à la molécule NAD dans la cellule et réagit avec l'oxygène pour aboutir à la formation d''eau et d'énergie
La nicotinamide, qui fait également partie de la molécule NADH, est également connu comme vitamine B3. Elle est produite dans le corps, et considéré comme une substance biologique naturelle.**(*George D. Birkmayer, 2009)***

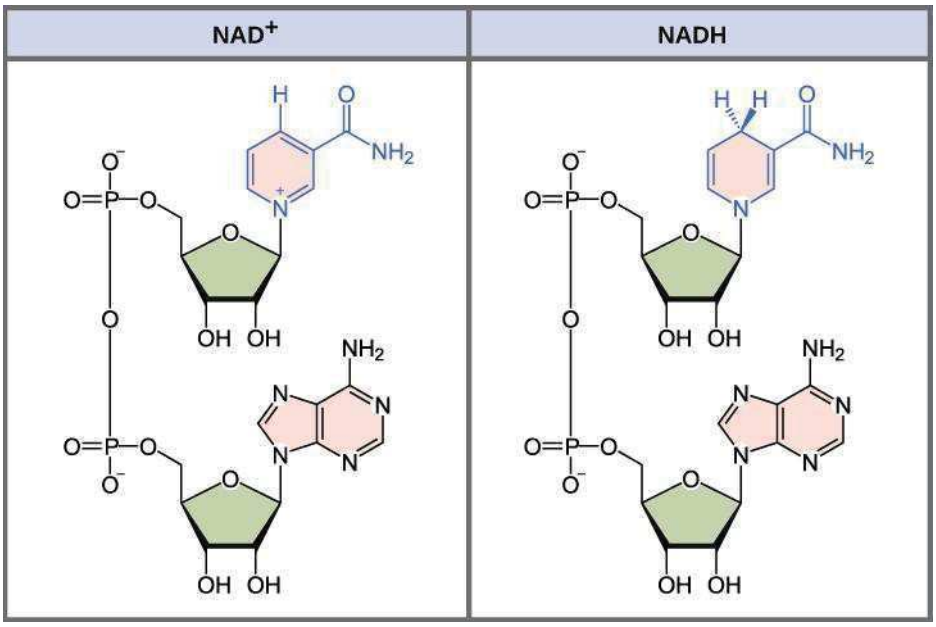


Figure III.1: Structure de nicotinamide adénine dinucléotide, réduite(NADH) et oxydé (NAD+).

III.2 NADH connu depuis 100 ans

Le NADH a été découvert en 1903 dans la levure et était à l'origine nommé cozymase, indiquant que c'est un facteur essentiel pour une enzyme. Depuis plus de 90 ans, il a été constaté que cette coenzyme catalysait un nombre incommensurable de réactions métaboliques dans le corps. De par son importance majeure dans l'organisme il lui a été attribué le non de coenzyme 1**.** ***(Pharmaceuticals 1993).***

Le NADH est isolé de la levure qui contient une quantité élevée de NAD (forme oxydé de NADH), le NAD est réduit en NADH de manière naturelle par une enzyme également présente dans de la levure.

III.3 Le NADH dans les sources alimentaires et diététiques

Le NADH est présent dans toute cellule vivante, animale ou végétale. Par conséquent, il est présent dans notre alimentation quotidienne. La viande, la volaille et le poisson contiennent la plus grande quantité de NADH. Les légumes, les fruits et autres aliments végétariens ont une teneur en NADH beaucoup plus faible que celle de la viande**. (*Pharmaceuticals 1993)***

Bien que le NADH soit présent dans nos aliments, nous n'en prenons que des quantités marginales dans notre alimentation quotidienne, car une grande quantité de NADH est détruite

lors du processus de cuisson. La situation ne serait guère meilleure, même si nos régimes se constituaient principalement de viande ou de poisson cru, car la plupart du NADH présent dans ces aliments serait dégradé par l'acide gastrique de l'estomac**.** ***(Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Birkmayer 2009).***

Tableau III.1: Teneur en NADH dans les aliments ***(Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Birkmayer 2009).***

Type d'alimentation	Teneur en NADH en mg/kg
Viande	50
Volaille	40
Poisson	30
Pomme de terre	0.2
Blé	1.8

III.4 La production de NADH dans le corps

Notre alimentation quotidienne contient des glucides, protéines et graisses. Ces grosses molécules sont dégradées par les enzymes en entités plus petites telles que le sucre, les acides aminés et les acides gras. Ces composés sont ensuite transportés dans la circulation sanguine vers les organes, où ils sont absorbés par les cellules. Ils sont ensuite divisés et insérés dans le cycle de l'acide citrique, également appelé cycle de Krebs.

Dans ce processus métabolique, l'hydrogène est pris du glucose et transféré au NAD. Par ce mécanisme, le NADH est formé, il réagit ensuite avec l'oxygène pour produire de l'ATP et de l'eau.***(Ying, 2006) (Fjeld, Birdsong, & Goodman, 2003).***

Le NADH est produit en quantité relativement élevée dans le corps humain. La teneur la plus élevé se retrouve dans le cœur car il s'agit d'un organe à grande consommation énergétique.

Le NADH possède de nombreuses fonctions biologiques dans le corps humain, il catalyse plus de mille réactions métaboliques dans différents tissus et organes.

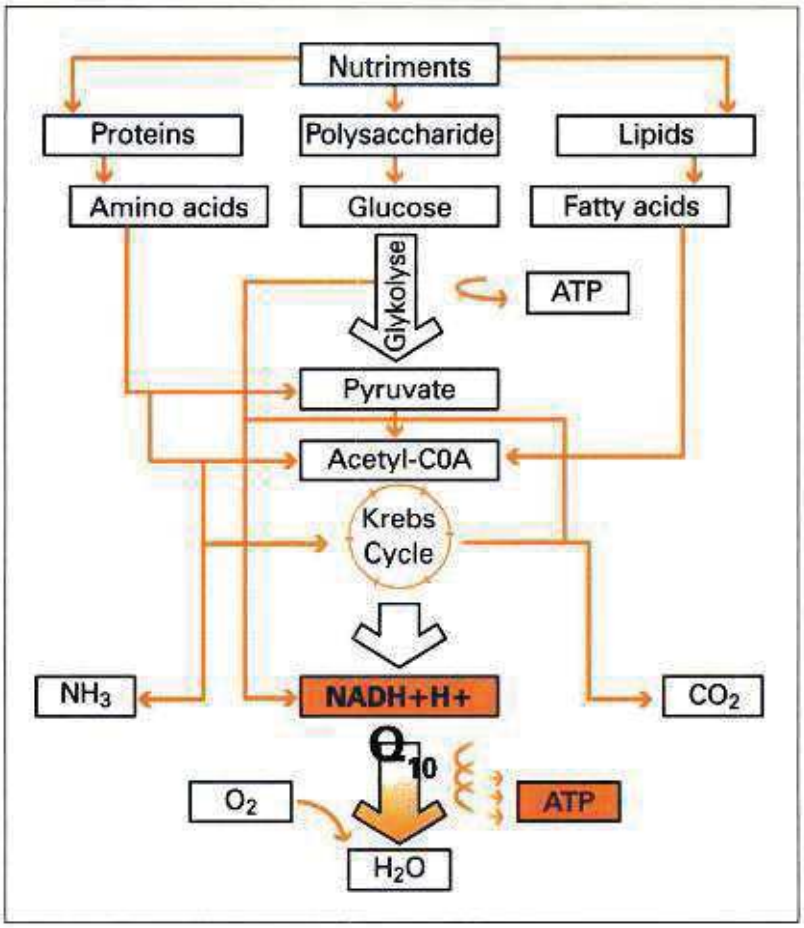


Figure III.2: production de NADH dans la cellule.***(George D. Birkmayer, 2009)***

III.5 Les fonctions biologiques de NADH dans le corps

Les fonctions biologiques les plus importantes du NADH sont les suivantes :

III.5.1 Rôle dans la régulation de transcription des gènes

La dégradation des sources de carbone est associée à la réduction du NAD+ en NADH. Le NADH sert de transporteur d'électrons tout au long de la chaine respiratoire afin de synthétiser de l'énergie ATP. La synthèse d'ATP implique une phosphorylation oxydative, dans laquelle le NADH est oxydé en NAD+ et en oxygène est réduit en eau. Le rôle de NAD+ /NADH fournit un lien supplémentaire, entre l'homéostasie énergétique et la régulation des gènes. Le lien a été reconnu lorsqu'il est apparu que les nicotinamides adénine dinucléotides étaient capables d'interagir avec certaines enzymes impliquées dans l'inactivation transcriptionnelle***(Fjeld et al., 2003)***

Deux facteurs de transcription nucléaires ont été proposés pour être régulés par le NADH. Le premier, NPAS2, est une protéine liant l'ADN impliquée dans le maintien des rythmes

circadiens chez les mammifères**.** ***(Fjeld et al., 2003)*** Les études de Rutter et al. ont suggéré que la liaison du NPAS2 aux éléments de contrôle dans les gènes cibles était régulée par NADH et NADPH.***(Rutter, 2001)***

Le NADH est un puissant régulateur de l'activité de la protéine de liaison carboxyterminal du corepressor CtBP qui est un facteur transcriptionnel important pour la régulation, le développement et la transformation du cycle cellulaire.***(Ying, 2006).*** CtBP interagit avec une grande variété de facteurs de transcription cellulaires, y compris plusieurs répresseurs transcriptionnels. Ainsi, CtBP a été classé comme un corépresseur transcriptionnel.***(Fjeld et al., 2003)***

Des études proposent que NAD+ et le NADH régulent la liaison de CtBP à certains répresseurs transcriptionnels se liant à l'ADN, ciblant ainsi ses fonctions de répresseur à des promoteurs de gènes particuliers.***(Fleuriel et al., 2015)***

D'autre études montrent que le NADH a une affinité pour le CtBP 100 fois plus élevée que le NAD+. ***(Fjeld et al., 2003).***

III.5.2 Le NADH protège et répare l'ADN

Le centre d'information de chaque cellule réside dans l'ADN. Comme ces composants sont de la plus haute importance pour la cellule, ils sont protégés par des «gardes du corps» de grosses molécules protéiques appelées histones, qui se lient à l'ADN. Cependant, ce n'est que lors de la division cellulaire que ce manteau se déplace afin que l'ADN ne puisse se répliquer. Néanmoins, il peut être endommagé par l'exposition à divers agents tels que les rayonnements, la lumière ultraviolette, l'ozone et les toxines chimiques telles que les cytostatiques, les antibiotiques ou les anti-inflammatoires.

Les humains sont exposés plus que jamais à de nouvelles substances potentiellement toxiques et leurs effets néfastes sur l'organisme sont à peine connus. Ces toxines sont absorbées par le corps et réagissent avec les chromosomes dans le noyau de la cellule conduisant à l'altération de l'ADN. Plus les dommages dans l'ADN sont importants, plus les répercussions sur l'homéostasie cellulaire sont graves.

L'endommagement du matériel génétique serait responsable de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, la polyarthrite rhumatoïde, les immunodéficiences et l'artériosclérose.

Comme le dommage de l'ADN pourrait entraîner des conséquences fatales, les deux cellules humaines et mammifères doivent développer un système de réparation de leur matériel génétique. Ce système de réparation de l'ADN ainsi assemblé est basé sur des enzymes qui sont capables de corriger les changements ou les erreurs dans l'ADN. L'ADN endommagé est comparable à la fermeture à glissière dans laquelle quelques dents sont manquantes et ne fonctionne donc plus. Les enzymes de réparation intègrent les composants absents dans l'ADN altéré. En tant que cofacteur essentiel, ces enzymes de réparation ont besoin de NADH.

Le mécanisme de réparation semble être basé sur l'action de certaines protéines, telles que: la cycline A, la cycline B1, la p53 et le Bcl-2 qui jouent tous un rôle central dans la régulation de la division cellulaire. ***(George D. Birkmayer, 2009)***

Le NADH est maintenant utilisé en association avec la chimiothérapie en cas de cancer pour protéger les cellules non cancéreuses normales des effets secondaires néfastes de cette dernière ***(George D. Birkmayer, 2009) (Birkmayer 1993).***

III.5.3 NADH et renforcement du system immunitaire

Le coenzyme NADH est directement impliquée dans l'immunité, plus le NADH est disponible dans le corps et plus il fournit une protection auto-immune.

Le processus d'ingestion d'un agent étranger par les cellules inflammatoires (macrophages) engendre une augmentation de l'activité métabolique, ce qui induit une augmentation de consommation d'oxygène. La plupart de l'oxygène est converti en super oxyde et peroxyde d'hydrogène, c'est le phénomène de « l'explosion métabolique ». Durant ce phénomène, une grande quantité de NADH est consommée, ce qui affecte le taux de NADH cellulaire se répercutant sur la réponse immunitaire. ***(Ying, 2006)***

Les résultats d'une autre étude démontrent que le NADH serait capable de stimuler la production d'IL-6 par les leucocytes du sang périphérique humain ***(Nadlinger et al., 2001)***

III.5.4 Le NADH stimule l'adrénaline et la dopamine

Les premières indications de l'effet stimulant du NADH sur la production d'adrénaline et de la dopamine ont été rapportées par des auteurs ayant conduit des études impliquant des patients atteints de la maladie de Parkinson. ***(George D. Birkmayer, 2009)***

La maladie de Parkinson est caractérisée par trois Symptômes: tremblements, rigidité et akinisie (immobilité). La biochimie de cette maladie est le manque de production de dopamine dans la zone spécifique du cerveau. La dopamine est un neurotransmetteur essentiel pour la coordination de la mobilité et du mouvement. Les neurotransmetteurs sont des

molécules de signal qui déclenchent certaines réactions dans les cellules nerveuses.

La mobilité s'est considérablement améliorée lors de la première application de NADH chez un patient parkinsonien. Avant le NADH, le patient avait du mal à se lever de sa chaise et marchait difficilement. Une heure après la perfusion de NADH (20 mg), le patient pouvait se lever de sa chaise sans problème, marcher normalement et même sauter. C'était la première indication que le NADH stimulait la biosynthèse de la dopamine dans le cerveau.

Etant étroitement liée à l'augmentation de l'activité de la tyrosine hydroxylase.,Le NADH serait responsable de la biosynthèse de la dopamine. ***(George D. Birkmayer, 2009)***

Il conduit également à augmenter les niveaux de dopamine dans le sang chez les individus en bonne santé. Cela a été montré avec des athlètes professionnels qui ont pris NADH (5 mg par jour) pendant quatre semaines. Les niveaux de dopamine ont augmenté en moyenne de 50 pourcent chez tous les athlètes.

Basé sur cette découverte, le NADH pourrait avoir un effet positif sur toutes les fonctions physiologiques déclenchées par la dopamine et l'adrénaline. Ceux-ci comprennent la mobilité, la coordination, le pouvoir, la vigilance et le processus cognitif, ainsi que l'humeur et le bien-être. ***(George D. Birkmayer, 2009)***

La dopamine réduit également la sécrétion de prolactine et l'appétit global d'une personne. Plus le niveau de dopamine est élevé, plus l'appétit est faible. Cela peut être particulièrement intéressant pour les personnes en surpoids, surtout si elles utilisent le NADH en tant que supplément***. (George D. Birkmayer, 2009) (Vrecko et al., 1997).***

III.5.5 Un puissant antioxydant

Le stress oxydatif est impliqué dans un large éventail de pathologies, y compris les maladies coronariennes, le cancer, l'athérosclérose, le diabète, les maladies neurodégénératives (maladie de Parkinson et d'Alzheimer) et d'autres maladies liées à l'âge.

Les mitochondries génèrent la plus grande partie de l'énergie cellulaire par la phosphorylation oxydative et sont considérées comme la principale source de radicaux libres (ROS) dans les cellules. ***(Apostolova & Victor, 2015)***

Les radicaux libres générés par les mitochondries sont des molécules extrêmement réactives qui attaquent presque toutes les structures cellulaires. Ils modifient la structure lipidique de la membrane cellulaire, ce qui provoque la mort cellulaire. Les radicaux libres attaquent également l'ADN et les protéines endommageant les enzymes impliquées dans les réactions métaboliques. Par conséquence les fonctions cellulaires importantes deviennent altérées.

Le corps humain a développé un système de défense capable de détruire ces "destructeurs de cellules" agressifs, c'est les antioxydants qui sont capable de neutraliser une certaine quantité de radicaux libres

Le contraire de l'oxydation est la réduction, un composé chimique ayant un fort pouvoir réducteur agit comme un puissant antioxydant, la NADH est considéré comme un antioxydant directe. ***(Olek et al., 2004)***

Le rapport NADH / NAD + est impliqué dans de nombreuses réactions enzymatiques et peut agir comme donneur d'hydrogène dans sa forme réduite, ou comme accepteur d'hydrogène dans sa forme oxydé***. (Olek et al., 2004) (Ying, 2006)***

D'autres études ont rapporté que le NADH est un puissant antioxydant à la fois in vitro et in vivo, avec une capacité antioxydante assez proche de celle de la vitamine C ***(Reibnegger, Greilberger, & Oettl, 2002) (Bahria, n.d.)***

Le NADH a le potentiel de réduction le plus élevé de toutes les molécules biologiques d'une cellule. Par conséquent, c'est un antioxydant direct et l'un des antioxydants biologiques les plus puissants. D'autres antioxydants bien connus sont la vitamine A, C et E, ainsi que le sélénium et le glutathion.***(George D. Birkmayer, 2009)***

III.5.6 Un rôle dans le rajeunissement

Le rapport NAD+/NADH est un élément que les cellules utilisent pour fabriquer l'ATP. Lorsque les niveaux de NAD+/ NADH diminuent, le transfert d'énergie baisse entraînant un ralentissement des fonctions mitochondriales, une augmentation du stress oxydatif et un vieillissement prématuré des cellules. Des données cumulatives ont suggéré que le NAD + et le NADH pourraient être des facteurs critiques dans le processus de vieillissement en régulant les sirtuines,et le stress oxydatif.***(Ying, 2006)***

La restriction calorique augmente l'expression de SIRT1, SIRT3 et SIRT5, enzymes qui sont connues pour réguler l'expression des gènes associés au vieillissement. Ainsi, l'augmentation de la biodisponibilité de NAD+/NADH cellulaire et l'augmentation de l'activité des sirtuines pour prolonger la durée de vie prend tout son sens comme une stratégie pour lutter contre le vieillissement et les maladies du vieillissement ***(Imai & Guarente, 2016)***. La relation complexe entre le NAD+ et les Sirtuines aide à contrôler les voies métaboliques et la longévité grâce au maintien des communications entre le noyau et les mitochondries au niveau cellulaire. Si cette orchestration fonctionne bien, le résultat serait une harmonie mélodieuse qui maintiendrait les cellules en bonne santé.

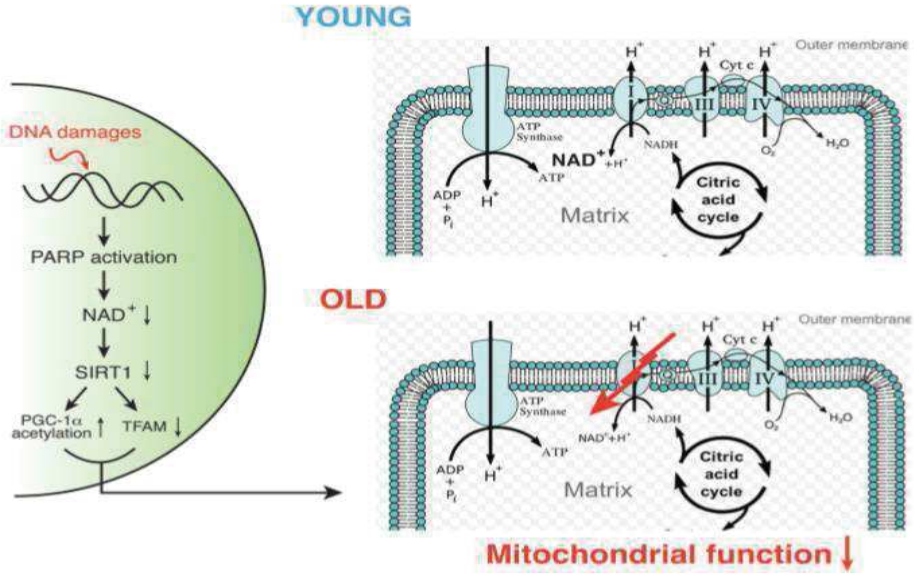


Figure III.3 *:* diminution de la fonction mitochondrial dans le vieillissement. ***(Imai & Guarente, 2016)***

III.6 Application médicales de NADH

III.6.1 La maladie de parkinson

Le NADH a été utilisé dans plusieurs essais ouverts en tant que nouveau médicament chez les patients atteints de la maladie de Parkinson : 470 patients de Parkinson ont reçu une dose de 5 mg Enada (NADH) administrée tous les deux jours, l'amélioration de la mobilité, en particulier la marche, la posture et la parole ainsi que la capacité à imiter le comportement ou la parole d'une autre personne, ont été signalée après deux semaines de traitement.

Cet effet bénéfique a été confirmé par une autre étude d'une clinique universitaire en Allemagne.***(Georg D Birkmayer & Pharmaceuticals, 1993)***

III.6.2 La maladie d'Alzheimer :

Une étude évaluant l'effet du NADH par voie orale sur le fonctionnement cognitif chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer a révélé des performances significativement meilleures sur le plan de la fluidité verbale et la capacité de construction visuelle. Pourtant, il n'y avait aucune différence dans les mesures d'attention, la mémoire ou la classification clinique de la gravité de la démence. ***(Prousky, 2011)***

Conformément à une étude antérieure, ouverte de 3 mois sur 25 patients atteints de démence légère à modérée, le traitement au NADH 10 mg / jour n'a donné aucune amélioration cognitive chez les 19 patients qui ont fini l'expérience ***(Jellinger, 2000)***

III.6.3 Syndrome de fatigue chronique

Chez des personnes souffrant de syndrome de fatigue chronique (SFC) due à une carence en ATP qui s'accompagne d'une fatigue intense et d'une faiblesse accompagnée de douleurs musculaire, le NADH a montré un effet bénéfique ou la réponse a été caractérisée par l'amélioration de la fatigue, la diminution des symptômes de la maladie et l'amélioration de la qualité de vie ***(Forsyth et al., 1999).***

Une autre étude a été lancée au Centre médical de l'Université de Georgetown en utilisant Enada (NADH). Le mécanisme d'action proposé pour NADH est de reconstituer les réserves cellulaires épuisées d'ATP, améliorant ainsi la fatigue et la dysfonction cognitive. Le Dr Bellanti, chercheur principal dans cette étude, et directeur de centre internationale d'immunité de Georgetown, affirme que «certains patients du SCF participant à l'étude montrent une amélioration marquée au fil du temps».***(Georg D Birkmayer & Pharmaceuticals, 1993)***.

III.6.4 Effet thérapeutique contre le diabète

D'après l'étude réalisée par Rahal et Birkmayer, là où ils ont administré le NADH rapid Energy 80mg à des patients diabétiques de type 2 avec au moins un facteur de risque cardiovasculaire, le NADH a normalisé la glycémie, le taux de HbAc1 ainsi une amélioration dans le profil lipidique a également été observée avec une diminution du taux total du cholestérol et une augmentation du taux des HDLs après 2 mois du traitement. ***(Lotfi, 2016)***

IV.1 Présentation du travail

Notre étude a pour objectif de tester sur un modèle expérimentale animale les effets antidiabétiques probables du NADH.

Afin de tester les effets préventifs et curatifs du NADH, les animaux ont été répartis en deux lots distinct ayant reçu chacun un traitement différent.

Hormis les lots non traités ou de contrôle, le lot préventif a reçu une injection intrapéritonéale de NADH un quart d'heure avant l'injection de la STZ alors que chez le lot curatif une seule injection de STZ était nécessaire.

Après l'induction du diabète à la STZ, un contrôle systématique de la glycémie a été effectué au sein des différents lots englobant respectivement le lot non diabétique, le lot diabétique et les lots traités.

Les animaux seront tous sacrifiés à la fin de l'expérience (J15 pour le curatif et J21 pour le préventif) et leurs pancréas prélevés feront l'objet d'études histologiques et immuno-histochimiques.

IV.2 Matériel biologique

Notre expérience a porté sur le rat blanc, issue par croisement, de race albinos. C'est un rongeur nocturne, omnivore et coprophage. Le pelage du jeune rat blanc est soyeux mais devient progressivement rugueux et décoloré avec l'âge. Il possède une large tête, de petites oreilles et des yeux rouges globuleux. Il se reproduit pendant toute l'année et la gestation dure 21 jours. Sa durée de vie est de 2 à 3 ans.

Le modèle animal utilisé dans cette étude est le rat albinos (rattusnorvegieux) de souche Wistar et de sexe mâle.

IV.2.1 Conditions d'élevage

L'étude a été réalisée sur 100 rats Wistar albinos mâles, pesant entre 165 et 200 g et provenant de l'institut pasteur d'Alger.

- Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en 2 groupes (curatif et préventif) dont chaque groupe est divisé en plusieurs lots.

- les rats sont maintenus dans des cages conçues pour l'occasion à partir de boites en plastique recouvertes d'un grillage métallique.

- Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages, renouvelée tous les 2 jours.

- Les animaux ont libre accès à l'eau et la nourriture qui se compose de croquettes fournies par l'Office National des Animaux du Bétail (ONAB).

- Avant leur utilisation les rats subissent une période d'adaptation de 3 semaines au niveau de l'animalerie de la faculté à température constante (21 ± 2) °C, humidité (55%–65%) et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique.

IV.3 Matériel non biologique

IV.3.1 Produits chimique

- Streptozocine

- NADH.

- Novoformine®

IV.3.2 Appareillages de laboratoire

Les appareils utilisés sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 4.1: les matériaux utilisés dans le laboratoire.

Balance à précision	Seringues : 1ml, 5ml.	Un lecteur de glycémie : Vital check
Agitateur	Sonde de gavage	lampe
Verreries	Bandelettes pour mesure de la glycémie	PH mètre

IV.4 Méthodes

IV.4.1 Protocole expérimental

IV.4.1.1 Constitution des lots des rats

L'échantillon se compose de 97 rats mâles pesant entre 150 à 220 g (au début de l'expérimentation), divisés en 2 groupes dont chaque groupe contient des lots reparti selon le tableau ci –dessous: **Tableau 4.2** : Répartition des lots

Lots	Etat nutritionnel	1ére injection	2eme injection	Traitement par gavage
Lot 1	à jeun	Tampon citrate	/	/
Lot 2	Non à jeun	STZ 45 mg/kg	/	/
Lot 3	à jeun	STZ 45 mg/kg	/	/
Lot 4	non à jeun	NADH 500mg/kg	STZ 45 mg/kg	/
Lot 5	non à jeun	NADH 300mg/kg	STZ 45 mg/kg	/
Lot 6	non à jeun	NADH 150mg/kg	STZ 45 mg/kg	/
Lot 7	à jeun	NADH 500mg/kg	STZ 45 mg/kg	/
Lot 8	à jeun	NADH 300mg/kg	STZ 45 mg/kg	/
Lot 9	à jeun	NADH 150mg/kg	STZ 45 mg/kg	/
Lot 10	à jeun	STZ 45 mg/kg	/	NADH 1mg/kg
Lot 11	à jeun	STZ 45 mg/kg	/	NADH 2mg/kg
Lot 12	à jeun	STZ 45 mg/kg	/	NADH 3mg/kg
Lot 13	à jeun	STZ 45 mg/kg	/	Metformine 750mg

- Contrôle négatif : lot 1
- Contrôle positif : lot 2, lot 3
- Groupe préventif : lot 4, lot 5, lot 6, lot 7, lot 8, lot 9
- Groupe curatif : lot 10, lot 11, lot 12, lot13

L'identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur permanent.

IV.4.1.2 Préparation des doses de produits administrés

- La Streptozotocine : La STZ est dissoute dans un tampon citrate à pH 4.5 et à froid.

La solution est préparée 5 à 10 min avant l'administration à cause de l'instabilité de produit.

- Le NADH : pour le groupe préventif, 3 doses de NADH ont été préparés (150mg/kg, 300mg/kg et 500 mg/kg). Ces doses ont été injectés par voie intra péritonéale chez les rats 15 min avant l'injection de STZ. ***(Furman, 2015)***

Pour le groupe curatif 3 doses journalière ont été administré (4 comprimés, 8 comprimés et 12 comprimés de NADH).

Avant chaque administration, La quantité nécessaire de NADH est dissoute systématiquement dans de l'eau physiologique (NaCl 0.9%).

- Metformine : Une dose de 750 mg/kg/J de metformine a été préparée pour le lot de metformine, cette dose est considérée comme une dose inférieure à la dose létale (Oral LD50 (rat): 1 g/kg).

Avant chaque administration, la quantité nécessaire de Metformine est diluée dans de l'eau physiologique (NaCl 0.9%).

Ces doses sont préparées en fonction du poids corporel de chaque individu.

IV.4.1.3 L'induction du diabète par STZ

La STZ fraîchement dissout dans du tampon citrate 0,1 M (pH 4,5) a été injecté chez des rats nourries (accès libre à la nourriture) et chez d'autres rats jeunaient pendent 12h. La dose de 45 mg / kg été introduit par voie intra péritonéale chez les rats ***(Daisy & Jeeva Kani, 2012) (Abunasef et al., 2014)***.Après 4 heures de l'injection, les bouteilles d'eau ont été remplacées par d'autres contenant une solution de glucose à 10% pendant 24 heures afin de surmonter

l'hypoglycémie induite par le STZ suite à la destruction des cellules β pancréatiques et la libération massive d'insuline. ***(Abunasef et al., 2014).***

Le troisième jour après l'injection de STZ, les taux initiaux de glucose sanguin ont été déterminés pour les rats à jeun de 12 heures (accès libre à l'eau) en mesurant leur glycémie à l'aide d'un glucomètre (Vital Check).Seuls les rats ayant un taux de glucose sanguin supérieur à 200 mg / dl ont été considérés comme diabétiques.

IV.4.1.4 Mode opératoire

- Le 1er lot (contrôle négatif) : reçoit une seule injection de tampon citrate pH= 4.5.

- Le 2eme (contrôle positif à jeun) : reçoit une seule injection intra péritonéal de STZ à 45 mg/kg.

- Le 3eme lot (contrôle positif non à jeun) : reçoit une seule injection intra péritonéal de STZ à 45 mg/kg.

- Pour le groupe préventif

Afin d'étudier l'effet préventif du NADH sur le pancréas endocrine, nous avons réalisé l'étude suivante :

- Les 4eme, 5eme et 6eme lots (traité non à jeun) : reçoivent une injection IP de NADH de doses différentes 150mg/kg, 300mg/kg et 500mg/kg respectivement 15 min avant l'injection de la STZ.

- Les 7eme, 8eme et 9eme lots (traité à jeun) : reçoivent une injection IP de NADH de doses différentes 150mg/kg, 300mg/kg et 500mg/kg respectivement 15 min avant l'injection de la STZ.

- Une prise de glycémie à jeun et de poids est effectuée 48 h après l'injection pour voir l'installation ou non du diabète, puis 1 jour sur 2 pendant 21 jours.

- Pour le groupe curatif

- Traitement des rats :

- Le 10eme lot (traité par le NADH : recevait 1 ml/jour, de NADH pendant 14 jours, l'administration était journalière, gavage par voie per os, correspondant à la dose de 1 mg/kg de poids corporel.

- Le 11eme lot, (traité par le NADH) : recevait 1 ml/ jour, de NADH pendant 14jours, l'administration était journalière, gavage par voie per os, correspondant à la dose de 2 mg/kg de poids corporel.
- Le 12eme lot, (traité par le NADH) : recevait 1 ml/jour, de NADH pendant 14jours, l'administration était journalière, gavage par voie per os, correspondant à la dose de 2 mg/kg de poids corporel.
- Le 13eme lot, (traité par la Metformine) : recevait 1 ml/jour, de NADH pendant 14 jours, l'administration était journalière, gavage par voie per os, correspondant à la dose de 750 mg/kg de poids corporel.
- Nous avons marqué un arrêt de gavage pendant 2 jours (7eme et 8eme jours) afin de stabiliser la glycémie.

IV.4.1.4.1 Dosage de la glycémie

L'aliment est retiré chaque jour le soir à fin de mesurer la glycémie le matin à jeun. Le lendemain la glycémie est mesurée par lot en prenant une gouttelette de sang de la queue du rat et on la dépose sur une bandelette. La lecture est faite en utilisant un lecteur de glycémie Vital check.

L'évolution de la glycémie des rats des différents groupes est contrôlée dès le premier jour du l'expérience, et jusqu'à la fin du l'expérience.

IV.4.1.4.2 Pesée

Les animaux sont pesés à l'aide d'une balance de précision avant l'induction de diabète (début de la manipulation) et au cours de l'expérience jusqu'au jour de sacrifice des rats.

IV.4.1.4.3 Sacrifice des animaux et prélèvement

A la fin de la phase expérimentale, les rats ont été anesthésiés au chloroforme inhalé dans un cristallisoir. L'inhalation du chloroforme est prolongée jusqu'à la provocation d'une insuffisance respiratoire aigüe menant rapidement à la mort**.**

Le pancréas de chaque animal est soigneusement prélevé, débarrassé du tissu adipeux et rincé à l'eau physiologique (NaCl 0.9%).

IV.4.2 Etude histopathologique

L'étude histopathologique a été réalisée au niveau de laboratoire d'anatomopathologique de l'hôpital de la wilaya de Médéa.

Les pancréas à fixer sont déposés dans des cassettes en plastique immergées dans du formol à 10% puis soumis à des traitements successifs permettant la confection de blocs histologiques en paraffines conçues pour l'étude histopathologique de notre matériel biologique.

IV.4.2.1 Traitement des organes

- Fixation des organes : La fixation se fait dans du Formol tamponné à 10% jusqu'au moment de l'analyse histologique, dans le but de conserver les structure histologique et protéger l'organe de toute autolyse. Le pancréas de chaque rat est mis dans un pilulier avec un volume de formol 10 fois supérieur à la taille de l'organe.

- Déshydratation : La déshydratation est réalisée par un automate qui contient une série de bains successifs d'alcool à concentration croissante (50%,60%, 75%, 80%, 90% ,96%,98%et 100%) afin d'extraire complètement l'eau des tissus. Suivis de 2 bains de Xylène

- Réalisation des blocs (inclusion) : En premier lieu, l'inclusion se fait dans 2 bains de paraffine à 56°C 2 heures chacun. Ensuite, les organes imprégnés sont transférés dans des cassettes identifiées puis immergés dans la paraffine, les blocs sont préparés et conservé au froid à +4°C.

- Réalisation des coupes : Elle se fait grâce à un microtome réglé à 3 microns, les coupes sont recueillies sur des lames imbibées d'eau gélatinée puis séchées sur une plaque chauffante à 35°C.

- Coloration des lames : nous commençons d'abord par le déparaffinage, qui consiste à passer les lames dans deux bains de xylène pendant 2min chacun, afin de dissoudre la paraffine. , suivie ensuite d'une réhydratation en passant les lames dans des bains d'alcool à concentration décroissante 100°, 95°, et 70° pendent 2 minutes chaque 'un , puis un bain de rinçage.

Une fois terminée, nous procédons à une coloration standard hématoxyline Eosine (HE), qui consiste à faire passer les lames dans un bain d'Hématoxyline puis dans un bain de rinçage. La deuxième coloration se fait par l'éosine suivis d'un bain de rinçage.

Déshydratation et montage : La déshydratation consiste à faire passer les lames dans 3 bains d'alcool à concentration croissante (70% 96%, 100 %,) pendent pour 2 mn chacun suivis de deux bains de Xylène pendant 2 mn chacun aussi.

La lame est recouverte de lamelle couvre-objet grâce à une solution d'adhésion «eukit » et est prête pour l'observation microscopique.

IV.4.3 Etude immuno-histochimique

L'étude immuno-histochimique a été réalisée au niveau de **University College London**

La coloration immuno-histochimique a été effectuée sur des coupes de pancréas fixées au formol et incluses en paraffine, d'une épaisseur de 5 µm, en utilisant une méthode streptavidine-biotine-peroxydase.

La réaction d'immunohistochimie dans sa globalité se décompose en plusieurs étapes :

- Le déparaffinage des sections dans trois bains de xylène pendant 5 minutes chaque 'un.
- La réhydratation des sections dans des bains d'éthanol à 100%, 75%, 50% et 30% pendant 3 minutes chaque 'un, puis un bain de rinçage à l'eau distillé pendant 3 minutes.
- Blocage des peroxydases endogènes en incubant le tissu dans l'eau oxygénée (H_2O_2) 3% pendant 15 min. Suivis d'un bain de rinçage à l'eau courante pendant 3 minutes.
- Le démasquage antigénique : permettant aux antigènes de retrouver leur conformation protéique initiale et les rendant accessibles aux anticorps par incubation de la lame dans un tampon de Citrate PH : 6 pendant 2 min à haute température, puis un bain de rinçage à l'eau courante pendant 3 minutes suivis d'un autre bain de rinçage à l'eau distillé.
- Blocage des sites non spécifiques : permet de supprimer les interactions protéine-protéine non spécifiques en les "occupant", ici avec des IgG non spécifiques de souris suivis d'une incubation de la lame pendant 10 minutes à température ambiante.
- Lavage dans un tampon Tris-NaCl 0.05M avec 0.2% de tween 20 (TBST) pendant 5 minutes.
- L'anticorps primaire anti-insuline, préalablement dilués pendant 60 minutes à température ambiante, sont déposés sur les lames : permet la fixation spécifique d'un anticorps (monoclonal de souris [D6C4]) sur l'insuline.
- Lavage dans le TBST pendant 5 minutes.
- Les anticorps primaires étaient détectés par la suite par des anticorps secondaires (IgG de chèvre anti-souris biotinylés) , ces derniers sont polymérisés en un complexe enzymatique (HRP- biotine-peroxidase).
- Lavage dans le TBST pendant 5 minutes (4 fois).

- La révélation s'effectue grâce au chromogène diaminobenzidine (DAB) pendant 10 minutes qui, vont être déposés sur la coupe, révélant par la formation d'un précipité rougeâtre indiquant la présence de la protéine recherchée. Suivis d'un bain de rinçage à l'eau courante.
- La coloration était réalisée à l'aide de l'hématoxyline de harris pendant une minute, conférant une coloration violacée profonde. Suivis d'un bain de rinçage à l'eau courante.
- Incubation dans l'acide-alcool pendant une seconde pour enlever les colorants en excès.
- Rinçage à l'eau courante jusqu'à l'apparition de la couleur bleu.
- déshydratation dans des bains d'alcool successifs (70%, 90% et 100%) puis les lames sont placées dans du xylène. Les lames sont ensuite protégées par des lamelles et sont prête pour l'observation microscopique.

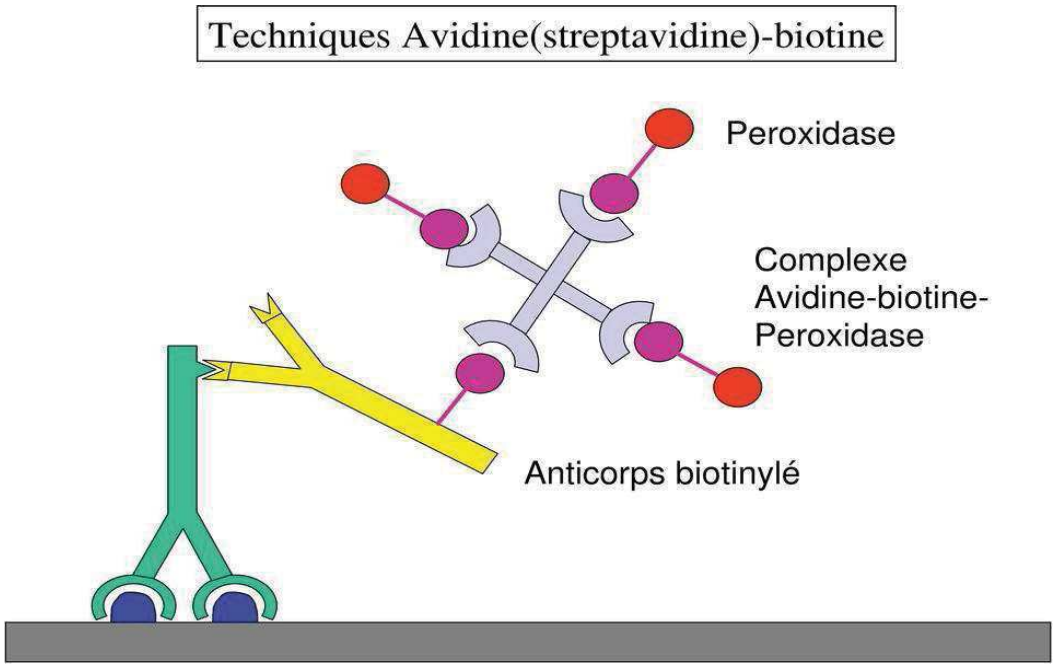


Figure IV.1: Le principe de la technique d'immunohistochimie.

IV.5 Etude statistique :

Nous avons utilisé Excel 2007 et un logiciel d'étude bio-informatique : logiciel R.

Les résultats sont exprimés par la moyenne ± l'écart-type. Les tests statistiques ont été réalisés selon la méthode classique (ANOVA) respectant les critères de normalité et d'homogénéité par le logiciel R. Le test réalisé est le test Kruskal-wallis. Un $p < 0,05$ est considéré comme significatif dans tous les tests statistiques.

V.1 Induction du diabète

L'induction du diabète a été réalisée avec succès sans aucune mortalité enregistré. Ceci a été confirmé par une augmentation significative ($p<0,05$) de la glycémie 72h après l'injection de streptozotocine (STZ).

V.2 Évolution du poids corporel

L'évolution de la courbe pondérale est un paramètre indicateur de l'homéostasie métabolique chez nos individus diabétiques et/ou traités. Pour ce faire, le poids des animaux était systématiquement mesuré et ce avant l'injection de STZ et tout au long de l'expérience.

.

La variation du poids corporel moyen des rats de tous les lots est représentée dans le tableau V.1 pour les lots de préventif et le tableau V.2 pour les lots du modèle curatif chaque valeur correspond à la moyenne ± écart-type (voir annexe) et illustré dans les (Figures 1, 2,3 et 4).

V.2.1 Le groupe préventif

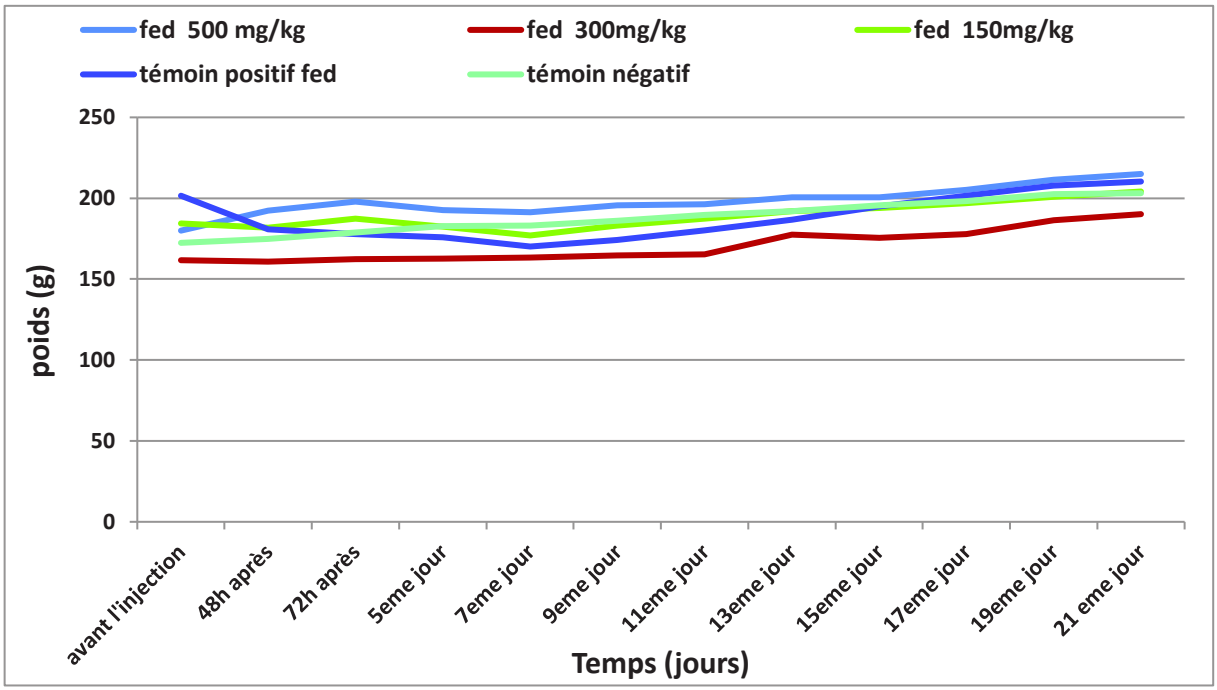


Figure V.1 : Variation du poids corporel en (g) des lots préventifs non à jeun en fonction du temps.

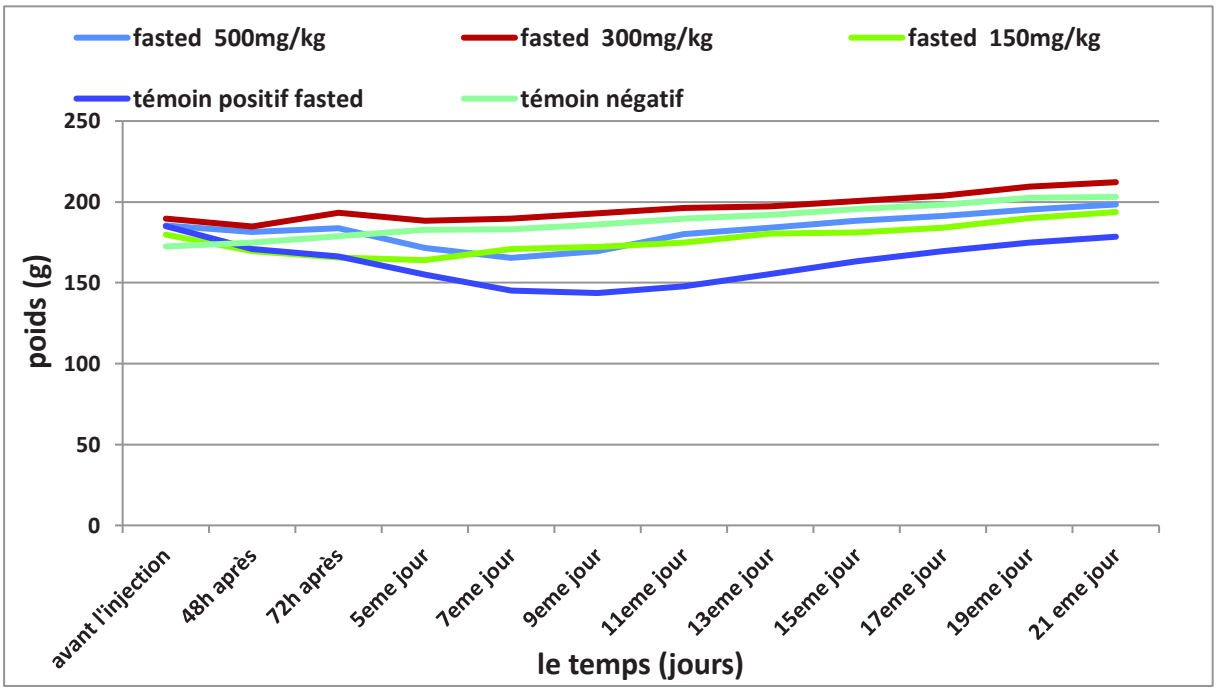


Figure V.2 : Variation du poids corporel en (g) des lots préventifs à jeun en fonction du temps

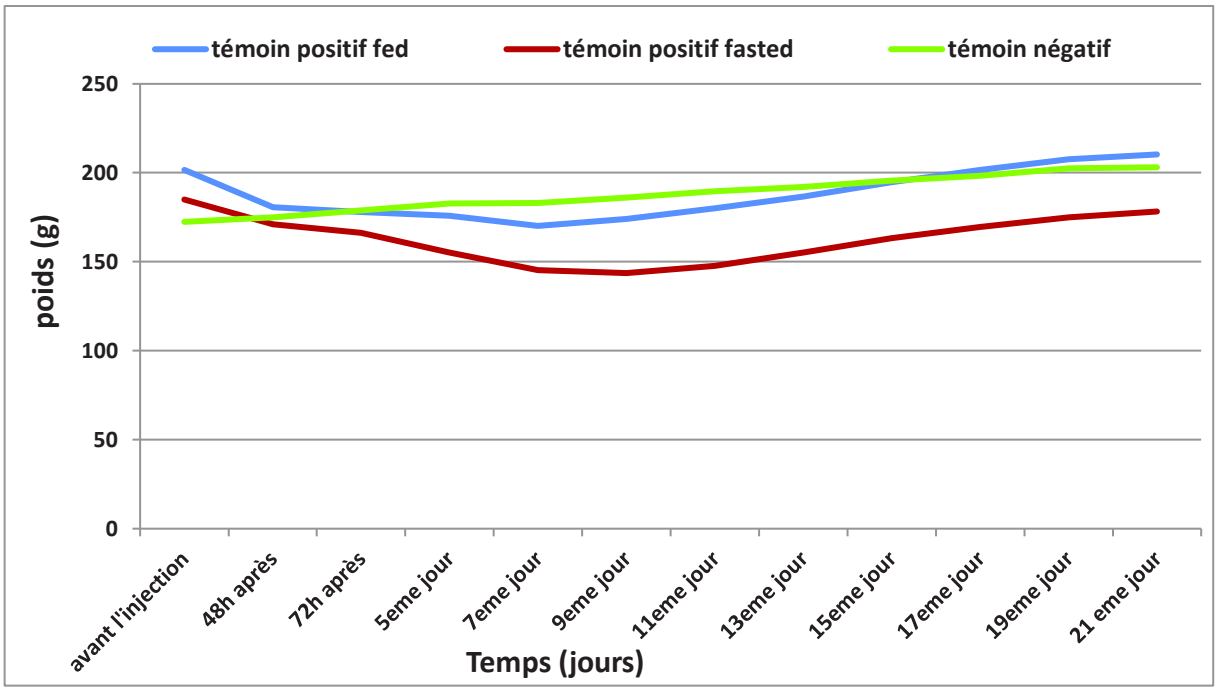


Figure V.3 : Variation du poids corporel en (g) des lots témoins en fonction du temps

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré un gain régulier en poids corporel chez les des rats témoins non traités (de 172g à 203 g) ainsi que chez les lots traités au NADH (de 161.83 à 215 chez le groupe non à jeun et de 179.75 à 212.2 chez le groupe à jeun).

Par ailleurs, les groupes témoins diabétiques (à jeun et non à jeun) ont enregistré après 72h post injection de STZ, une diminution significative du poids corporel de l'ordre (201.66g à 177.83g) et (185g à 166.16g) respectivement.

Ces résultats sont statistiquement significatifs ($p<0.05$).

Cependant, un léger regain de poids a été observé aussi bien chez le lot diabétique non à jeun à partir du 9eme jour (de 174.14g à 201.33g) que chez le lot à jeun à partir du 11eme jour (de 147.66g à 178.33g). Ce dernier, s'est maintenu ainsi jusqu'à la fin de l'expérience.

V.2.2 Le groupe curatif

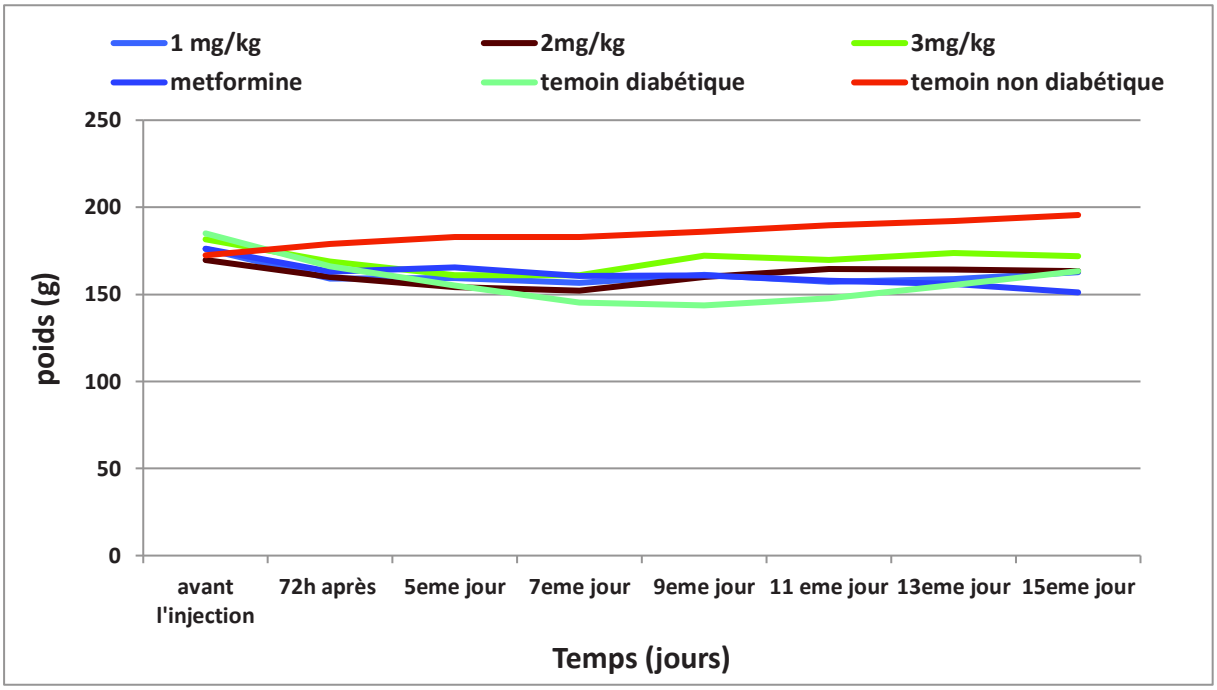


Figure V.4 *:* Variation du poids corporel moyen (g) des 6 lots de rats en fonction du temps.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré une perte significatif de poids corporel ($p<0.05$) après 72h de l'injection de STZ chez les rats des lots (NADH 1mg/kg, NADH 2mg/kg, NADH 3mg/kg et témoin diabétique), de l'ordre de (176.1 à 156.6), (167.7 à 152.11), (181.6 à 161) et (185 à143.66) respectivement.

Toutefois, un léger gain de poids a été observé au 9eme jour chez ce même lot (pour les rats traités au NADH), L'étude statistique de ces résultats n'a révélée aucune différence significative ($p>0,05$).

Chez les rats traités à la Metformine, une perte de poids corporel a été observée 72h post injection de STZ (176.22 à 151.11) et s'est maintenue jusqu'à la fin de l'expérience.

Par ailleurs, un gain de poids corporel ($p<0.01$) significative a été signalé chez le lot témoin non diabétique tout au long de notre expérience. Les valeurs moyennes du poids corporel sont passées de 172,44g au début à 195,55g à la fin de l'expérience.

V.3 Control de la glycémie

Le suivi de la glycémie au cours de notre expérience nous a permis d'enregistrer les résultats représentés dans les tableaux V.3 et V.4 (voir annexe).

V.3.1 Le groupe préventif

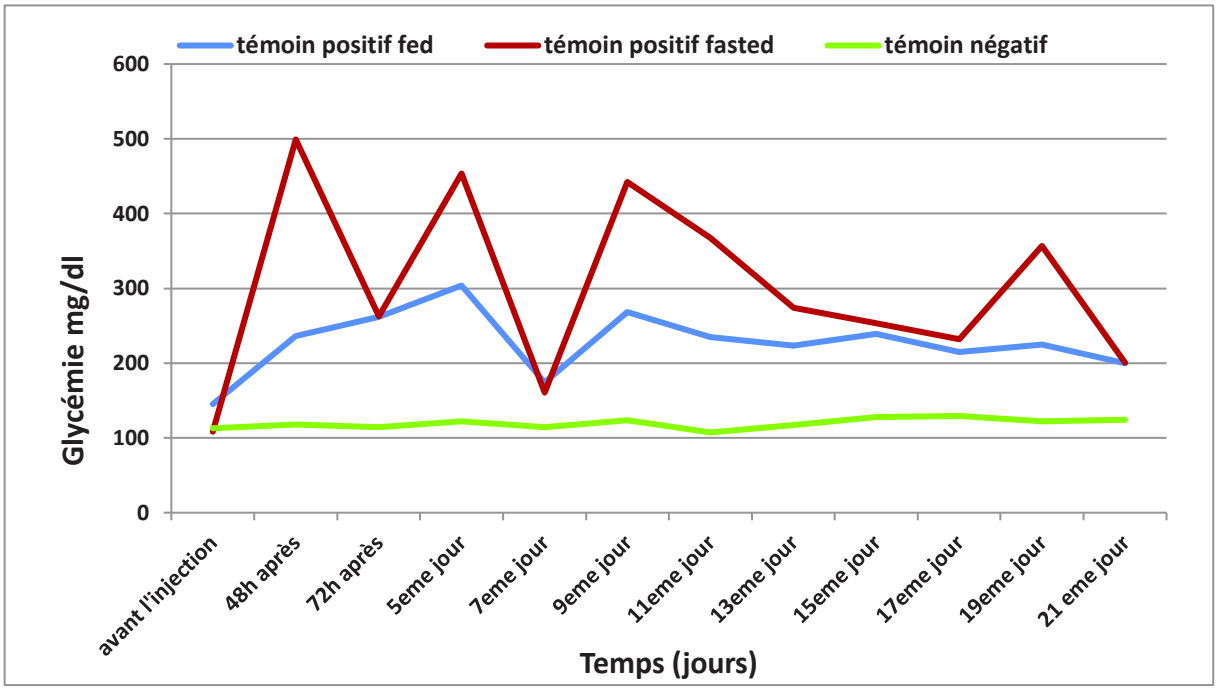


Figure V.5*:* variation de la glycémie (mg/dl) des rats des lots Témoin diabétique en fonction du temps.

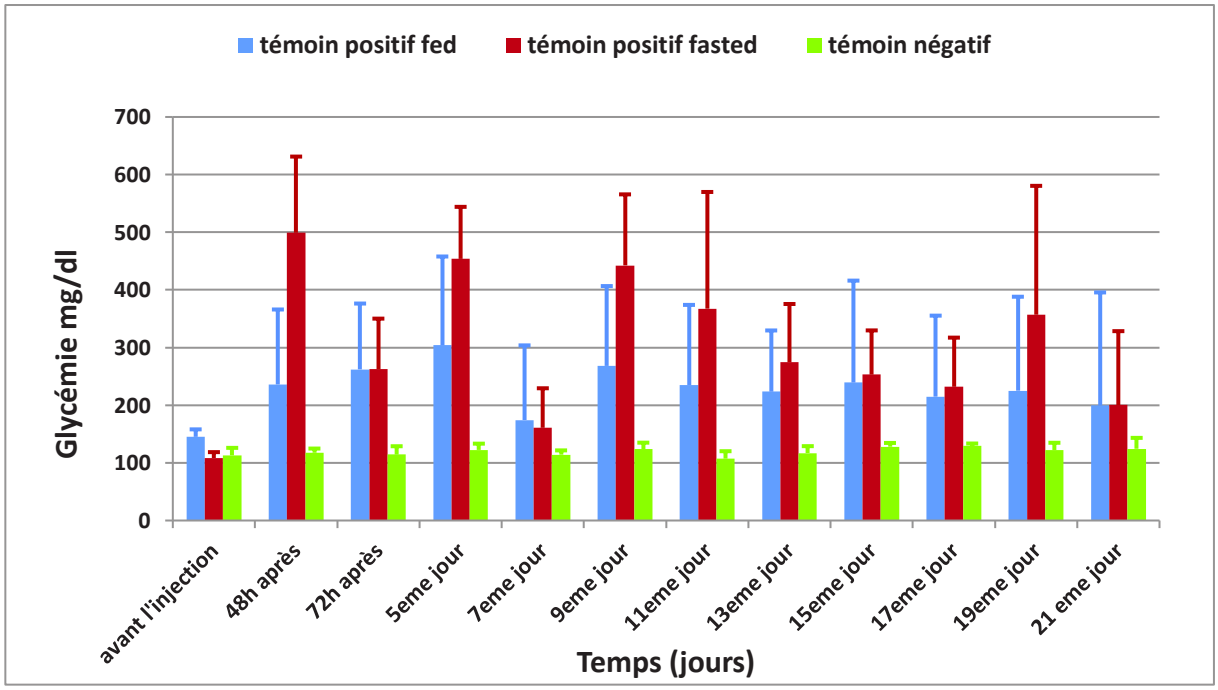


Figure V.6 *:* variation de la glycémie (mg/dl) des rats des lots Témoin diabétique en fonction du temps.

La présence chez les lots témoin diabétique (à jeun et non à jeun) d'une hyperglycémie significative 72h après l'injection de STZ ($p<0.005$) nous permet de confirmer avec aisance l'efficacité incontestable de la STZ dans l'induction du diabète au sein de notre modèle expérimental.

Au cours du 7 eme jour, nous avons enregistré un état d'hypoglycémie chez tous les rats témoins diabétique (de 303.83 à 174.33 chez les non à jeun et de 453.83 à 160.83 chez les à jeun) ainsi que chez tous les autres lots traités au NADH (de 127.83 à 102.5, de 139.33 à 114.66 et de 135 à 109.5 chez les lots non à jeun traité avec 500mg/kg, 300mg/kg et 150 mg/kg de NADH respectivement ; Les rats des lots à jeun ont aussi subi une légère hypoglycémie de l'ordre 136 à 129.6 chez le lot traité avec 150mg/kg de NADH, de 147 à 129.6 chez le lot traité avec 300mg/kg de NADH et de 126 à 109 chez le lot traité avec 500 mg/kg de NADH).

Aucun changement de la glycémie n'a été observé chez le lot témoin non diabétique.

- **La glycémie de groupe à jeun**

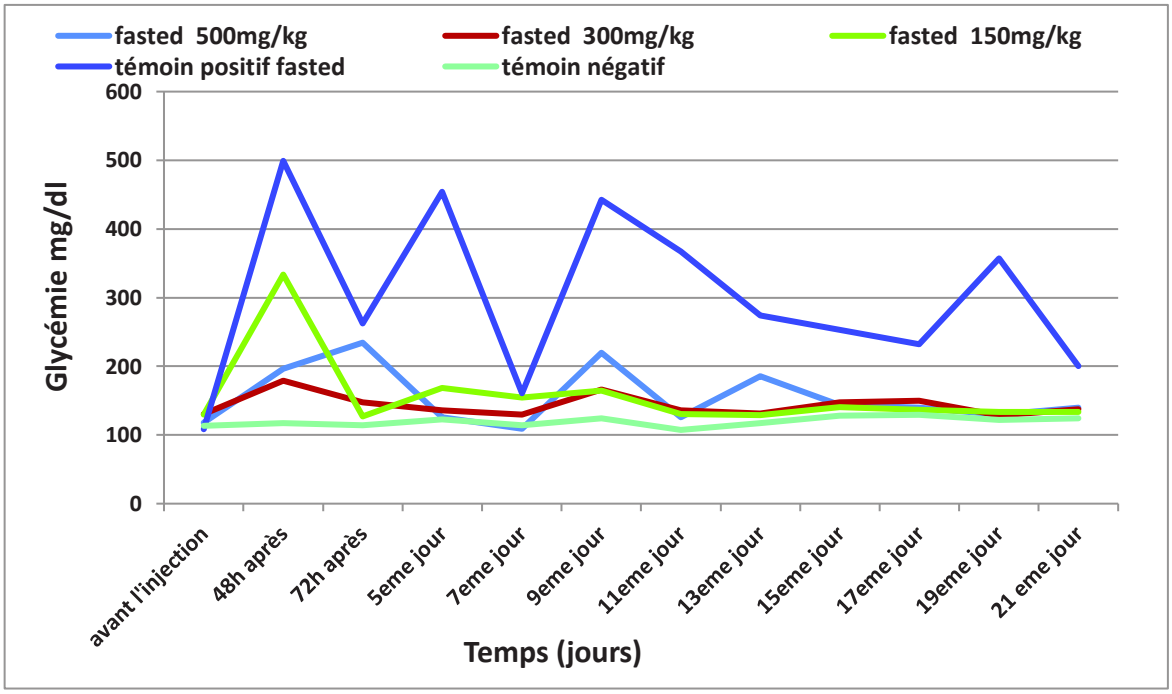


Figure V.7: variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot à jeun traité au NADH avec différentes doses en fonction de temps.

Une nette diminution de la glycémie a été observée chez les animaux traités au NADH à différentes doses. Alors que, les meilleurs glycémies ont été enregistrées parmi les lots ayant reçus des doses inferieures (150 mg/kg et 300 mg/kg de NADH) le lot de 500 mg/kg quant à lui a présenté une variation de la glycémie assez houleuse avec une tendance à se stabiliser vers la fin. Le témoin diabétique quant à lui a continué à manifester tout au long de l'expérience une hyperglycémie supérieure à 200mg/kg.

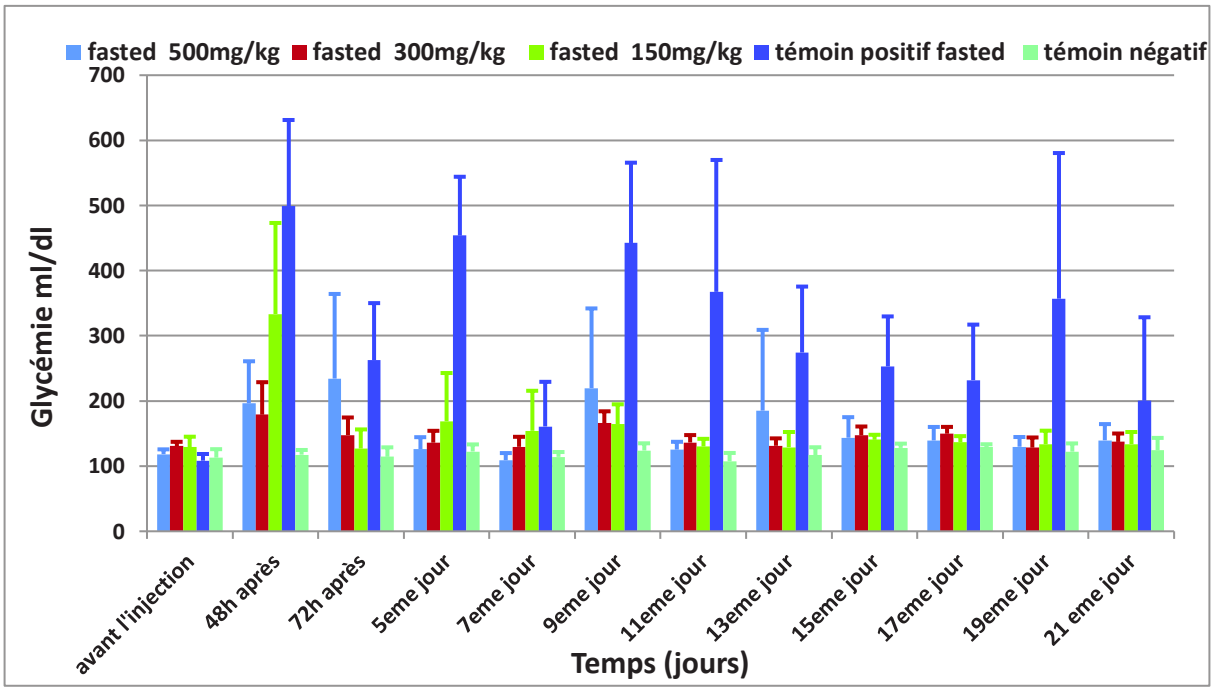


Figure V.8 : variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot à jeun traité au NADH en fonction de temps.

D'après cet histogramme, on note une augmentation non significative ($p > 0.05$) de la glycémie pendant les premiers jours de l'expérience par rapport au lot des rats non traités, cette légère hyperglycémie se stabilise à partir de 11 eme jour jusqu'à la fin de l'expérience pour les lots traité par 150 mg/kg et 300mg/kg, une légère ré-augmentation de la glycémie apparaît chez le lot traité avec 500mg/kg le 13 eme jour. Une hyperglycémie chez le lot diabétique s'est maintenu tout au long de l'expérience et ce de manière significatif ($p < 0.05$).

- **La glycémie de groupe non à jeun**

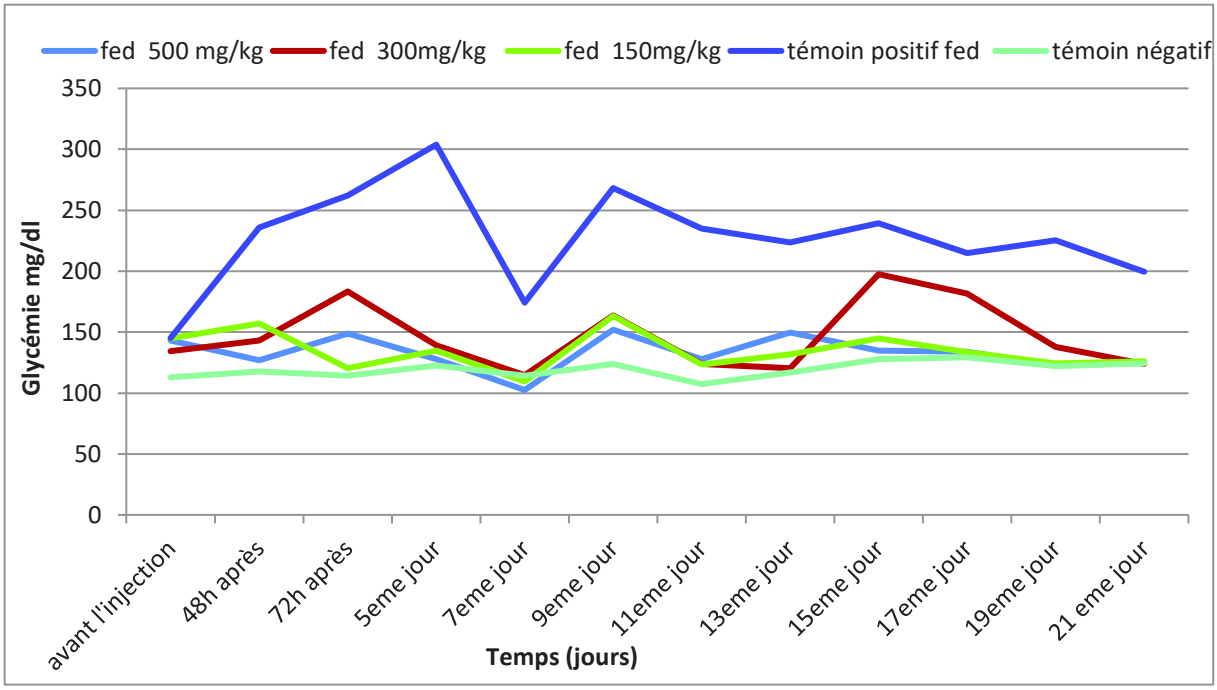


Figure V.9 : variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot non à jeun traité au NADH en fonction du temps.

Les résultats montrent une baisse significative ($p < 0.05$) de la glycémie chez les animaux non à jeun traités au NADH par rapport au témoin diabétique du même lot. Une variation de la glycémie a été plus marquée chez les animaux traités avec 300 mg/kg de NADH que chez ceux traités avec 500 mg/kg. Alors, qu'avec une dose inférieure (150 mg/kg) la réponse était bien meilleure. Aussi, Les résultats montrent un maintien du diabète chez le lot témoin diabétique et ce jusqu'à la fin de l'expérience.

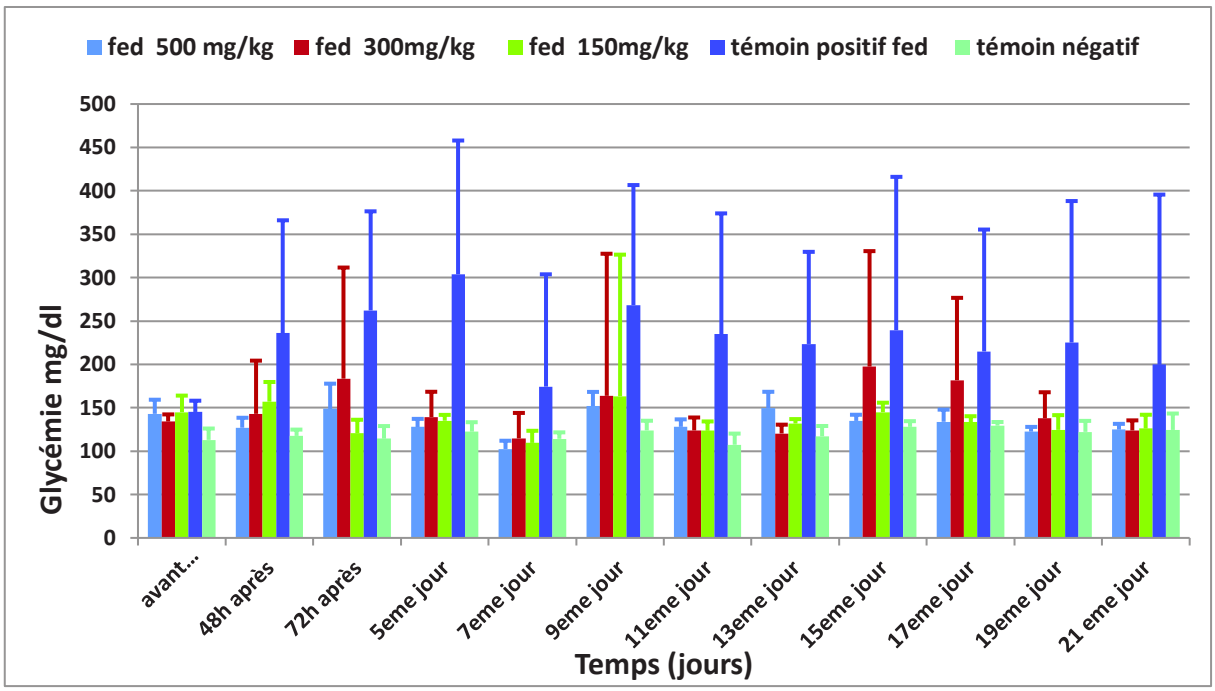


Figure V.10 : variation de la glycémie (mg/dl) chez le lot non à jeun traité au NADH en fonction du temps.

L'histogramme représente l'évolution du taux de glycémie des rats à jeun traités avec différentes doses de NADH. Nous avons enregistré une augmentation hautement significative de la glycémie ($p<0.05$) chez le lot diabétique 72h après l'injection de STZ par rapport aux rats non traités, et une légère augmentation de la glycémie (<200mg/dl) chez les deux lots traités avec le NADH (500mg/kg et 300mg/kg) mais qui reste statistiquement non significative ($p>0.05$).

Au cours de 9eme, 15eme et 17eme jours, une variation inconstante de la glycémie a été observée chez le lot traité par 300mg/kg, cette variation a été caractérisée par une augmentation significative ($p< 0.05$) de taux de glucose dans le sang. Une stabilité relative a été marquée chez le même lot à la fin de l'expérience ($p<0.05$) pour atteindre une valeur assez proche de celle des rats non traité (123,83±11.63).

V.3.2 Le groupe curatif :

V.3.2.1 Variations de la moyenne glycémique totale

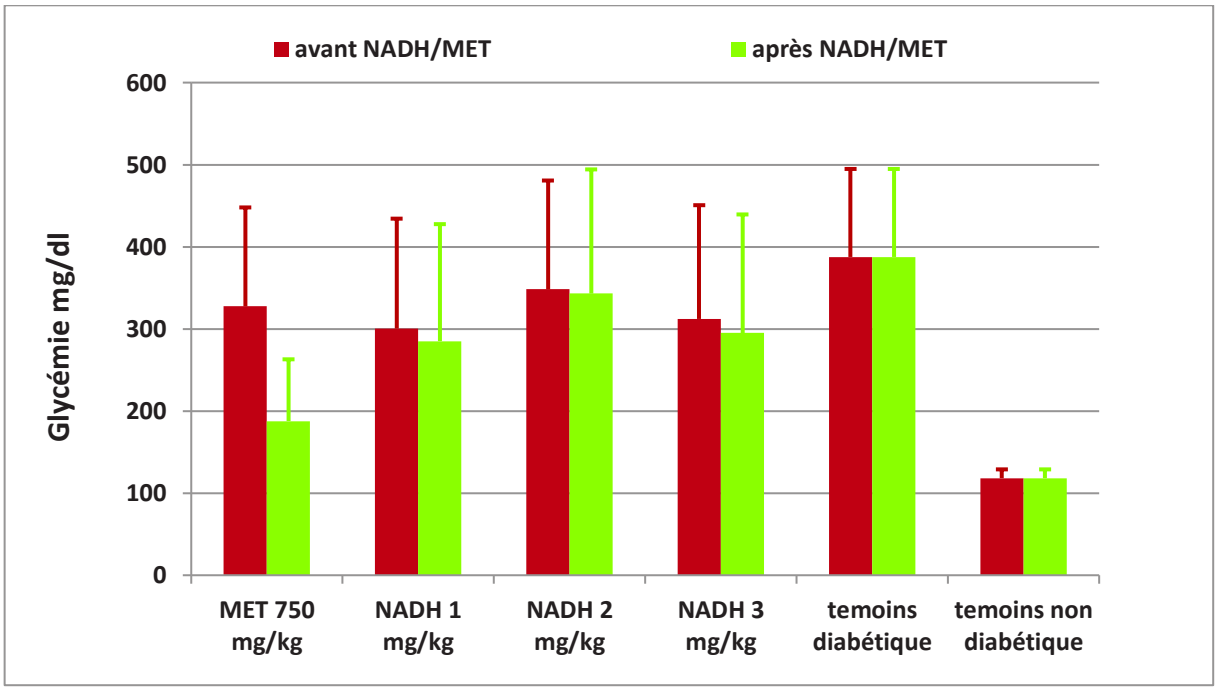


Figure V.11 *:* Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne (mg/dl) des 4 lots en comparaison avec les lots témoins.

Cet histogramme représente la moyenne de la glycémie, avant et après le gavage, durant toute la phase expérimentale. Dans le lot de Metformine il y a une différence importante entre la glycémie avant(en rouge) et après (en vert) le gavage, le taux de glycémie a chuté de 327.4 mg/dl à 187.7 mg/dl soit de 57%.

Dans les lots traités au NADH (1mg/kg, 2mg/kg et 3mg/kg), on observe une différence avant et après le gavage de 15mg/dl, 5mg/dl et de 17mg/dl respectivement.

Durant l'expérimentation, nous avons marqué un arrêt de gavage pendant 2 jours suite à une hypoglycémie à jeun inquiétante (correspondant au septième jour documentée en détail dans la partie préventive). Pendant cette phase le traitement a été remplacé par de l'eau glucosée à 10%. En effet, dans un souci d'honnêteté scientifique, il est impératif de prendre en considération la survenue de cette phase dans l'interprétation objective des résultats.

V.3.2.2 Variations journalières de la glycémie moyenne

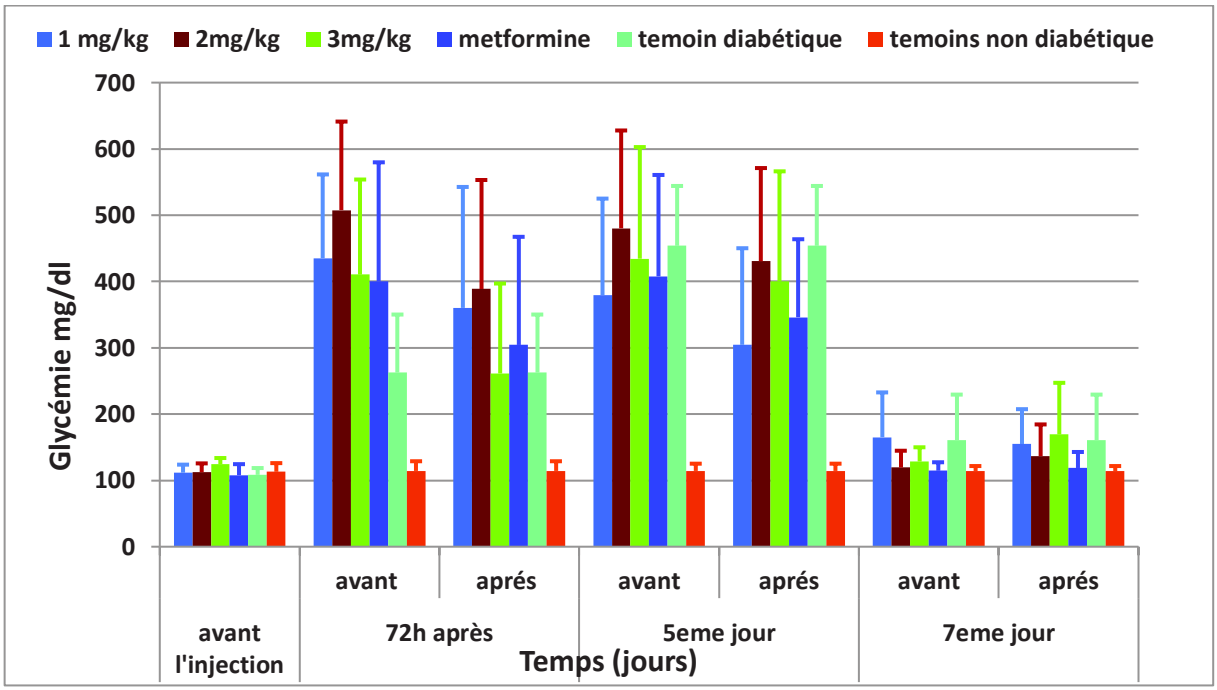


Figure V.12 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne (mg/dl) des 6 lots en fonction de temps.

Cet histogramme représente la moyenne de la glycémie avant et après le gavage durant la première phase de l'expérience (du jour 0 jusqu'à 7eme jour).

D'après ces résultats, une augmentation significative ($p < 0.05$) de la glycémie a été observée avant le traitement par gavage et ce chez tous les lots hormis celui du temoin non diabétique. Une baisse de la glycémie après gavage au NADH à différentes doses (1mg/kg, 2mg/kg, 3mg/kg) a été a priori observée.

Au cinquième jour, une légère chute de la glycémie a été enregistrée avant le gavage chez les deux lots traités au NADH (1mg/kg, 2mg/kg).

Cependant, une légère diminution de la glycémie a été observée chez le lot traité à la Metformine.

Au septième jour, un état d'hypoglycémie avant gavage a été signalé au niveau de tous les lots à l'exception du contrôle non diabétique. Cette hypoglycémie à jeun inquiétante qui a entrainer la mort d'un rat nous a incité à arrêter le traitement pendent 2 jours afin de stabiliser la glycémie. Les valeurs hyper glycémiques post gavage de l'eau glucosé reflètent un état post prandiale typique observé lors d'un jeun prolongé chez les diabétiques.

.

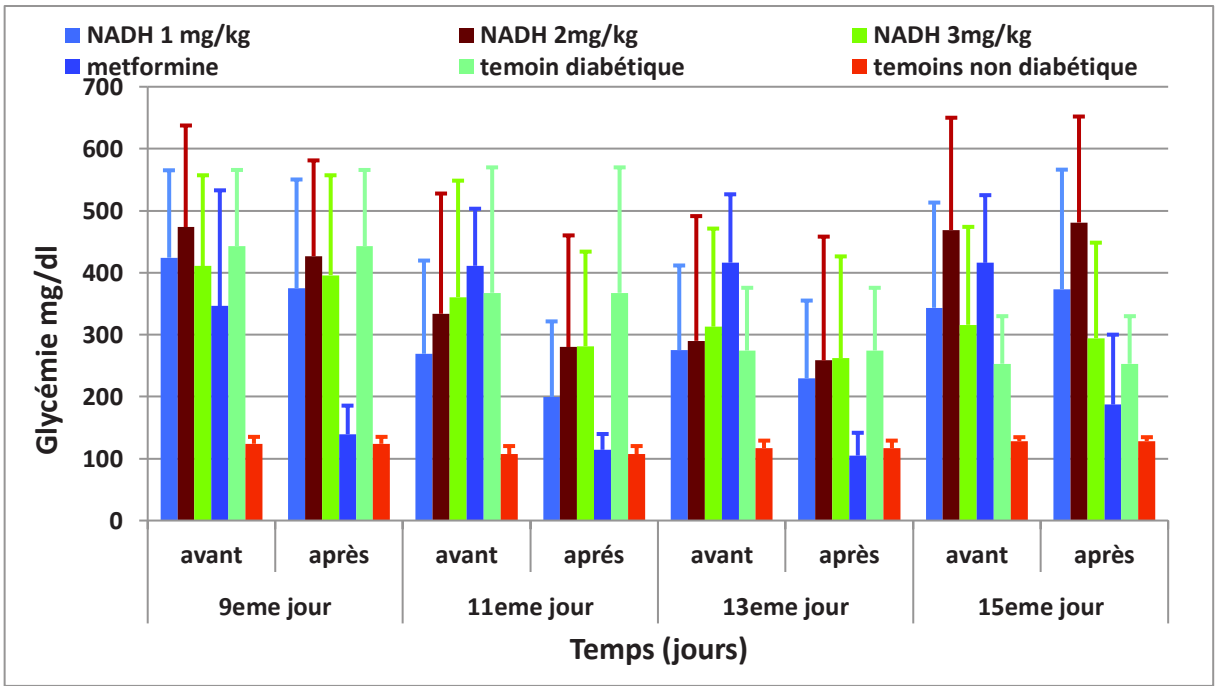


Figure V.13 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne (mg/dl) des 6 lots en fonction de temps.

Cet histogramme montre une variation plus stable de la glycémie chez les lots traités (NADH, MET) en comparaison avec les valeurs de la phase précédente.

Après l'analyse de ces résultats, une ré-augmentation de la glycémie à jeun chez les animaux diabétiques a été observée au 9eme jour forçant ainsi le retour au traitement.

Durant cette deuxième phase de l'expérience, une chute de la glycémie après gavage plus importante qu'aux jours précédents a été soulignée chez les rats traités à la Metformine 750mg/kg

Au cours de 11eme et 13eme jours on note au niveau des lots de NADH une légère baisse de la glycémie avant et après gavage avec une ré-augmentation de celle-ci au 15eme jour. Ceci reflète néanmoins un manque d'efficacité du traitement au NADH probablement dû au stress oxydant omniprésent.

V.4 Etude histopathologique

Afin de mettre en exergue l'effet du NADH au niveau pancréatique il était nécessaire de recourir à une étude histopathologique. Celle-ci a été effectuée uniquement chez le lot du préventif pour des raisons de priorité.

Les observations histologiques du pancréas des sujets sains, diabétiques et traités ont révélé une pléiade de différences histologiques nous permettant d'établir une lecture objective de l'efficacité du traitement.

Cette lecture est basée exclusivement sur les variations morphologiques aussi bien quantitatives que qualitatives au niveau des ilots de langherans en générale et des cellules bêta en particulier.

V.5 Description des coupes histologiques

V.5.1 Groupe préventif non à jeun

La comparaison du témoin non diabétique **figure14 (A, C, D)** avec celui diabétique **figure20 (U)**, **figure21 (W, Z)** révèle une moindre concentration d'ilots de langherans. Ces derniers à aspect très sains chez le témoin non diabétique se caractérisent par une forme tantôt allongée tantôt arrondie selon l'incidence de la coupe **figure21 (Z)**. La présence chez le témoin diabétique de quelques ilots de langherans d'aspect sain témoignerait d'une activité résiduelle incontestable **figure20 (V).** Toutefois, le nombre franchement réduit des ilots de langherans explique sans aucun doute une altération significative de la fonction pancréatique se manifestant par une hyperglycémie persistante **figure22 (g).**

La comparaison des lots traités avec ceux diabétiques témoigne d'une nette efficacité du traitement. Ceci se manifeste histologiquement par une augmentation de la masse des cellules bêta chez les individus traités au NADH avec une réponse assez surprenante chez les lots ayant bénéficié d'une plus faible dose de NADH à savoir 300mg/kg **figure23 (a, b, c, d)** et 150mg/kg **figure21 (X, Y)** exprimant une similitude structurale avec le témoin non diabétique **figure14 (A, B, C et D).** Cependant, les résultats étaient t aussi bien appréciables chez les individus ayant reçu une dose de NADH de 500 mg /kg où le nombre d'ilots était plus important **figure 22(e, h, f).**

l'analyse immunohistochimique nous a permis de mettre en évidence l'aspect qualitatif et quantitatif des cellules bêta des ilots de langherans dont la morphologie plus saine et le nombre plus prononcé chez les lots d'individus traités **figure21 (Y), figure 23(b,d), figure22 (e, h)** proche du témoin non diabétique **figure14 (C, D)** se démarquent du témoin diabétique **figure20 (V)** et **figure21 (Z).**

Il est impératif de signaler que le nombre des îlots de langherans augmentait systématiquement avec la dose de NADH injectée.

V.5.2 Groupe préventif à jeun :

Contrairement au témoin non diabétique **figure14 (A, B, C, D)** le pancréas du témoin diabétique présentait une absence quasi totale d'îlots de langherans signant une destruction massive de ses derniers **figure16 (E, F, G, H).**

Cet aspect désertique révèle un état diabétique avéré plus prononcé que chez le premier groupe.

Les pancréas des individus traités au NADH montrent comme dans le premier cas un effet du traitement très appréciable comparativement au témoin diabétique.

Ceci s'est manifesté histologiquement par une augmentation en fonction de la dose, de la masse des cellules bêta chez les lots traités à différentes doses de NADH **figure15 (K)** ; **figure17 (L, M)** ; **figure18 (P)** ; **figure19 (S)** comparativement au témoin diabétique **figure16 (E,F,H) .**

Les détails des ilots de langherans montrent des contours cellulaires très sains avec une nette augmentation du nombre de cellules beta mise en évidence par la technique d'immunohistochimie.

En se basant sur leur structure histologique similaire ou proche du témoin non diabétique **figure14 (A, C, D, B)** et en se référant au nombre et à l'aspect des ilots de langherans ,les lots traités avec de plus faibles doses de NADH soit 150 **figure15 (I, J , K)** et 300 **figure17(L, M, N**) révèlent une bonne efficacité du traitement.

La dose de 500 mg/kg reste quant à elle très efficace **figure18 (O, P, Q) ; figure19 (R, S, T).**

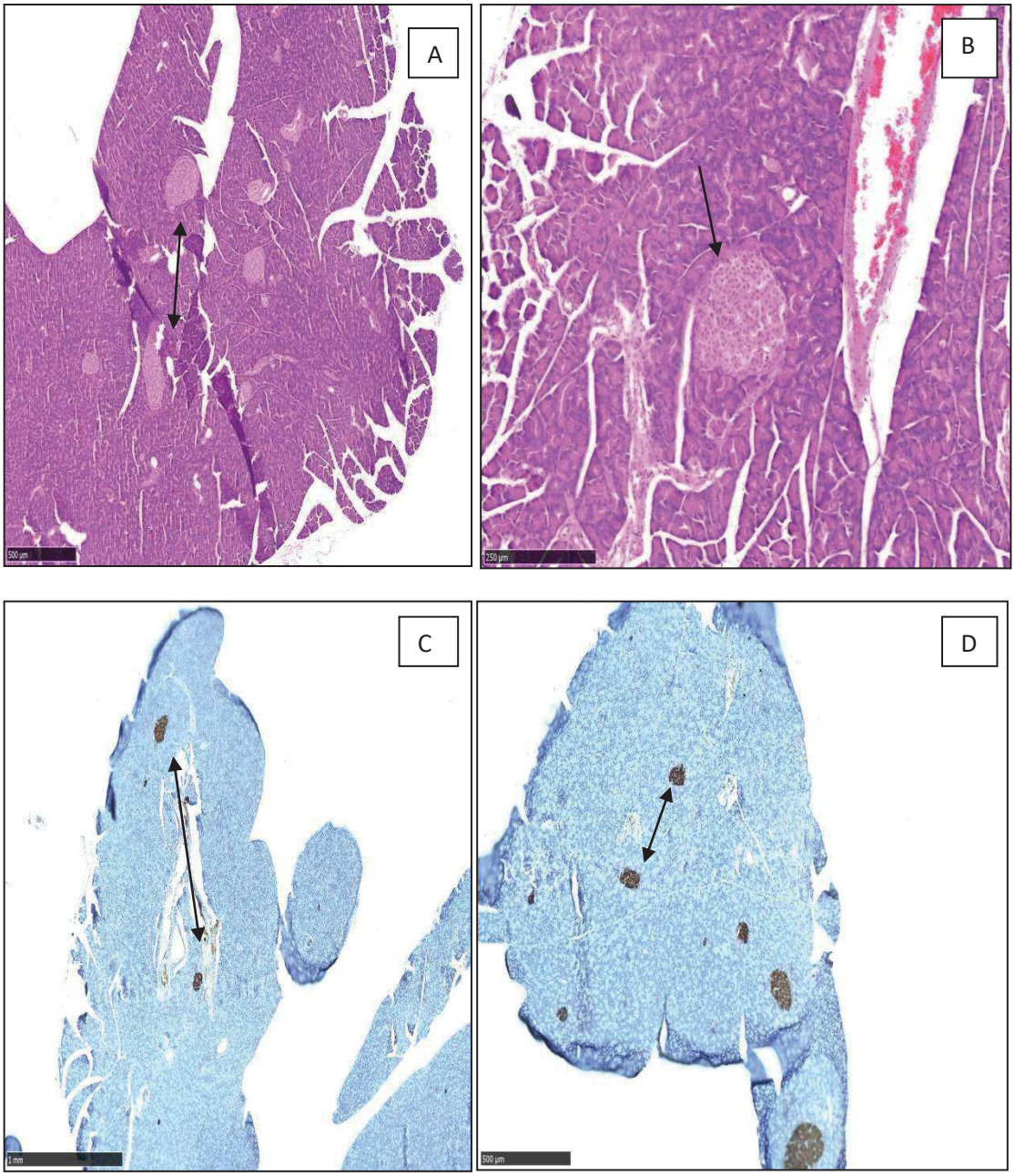


Figure V.14 : Les photos **A, B, C** et **D** correspondent au pancréas du contrôle non diabétique du lot à jeun. Les flèches à double têtes ainsi que la flèche simple indiquent les ilots de Langherans d'aspect sain à différents grossissements. Les photos **A** et **B** correspondent à une coloration conventionnelle à l' H&E ; **C** et **D** à l'immunohistochimie.

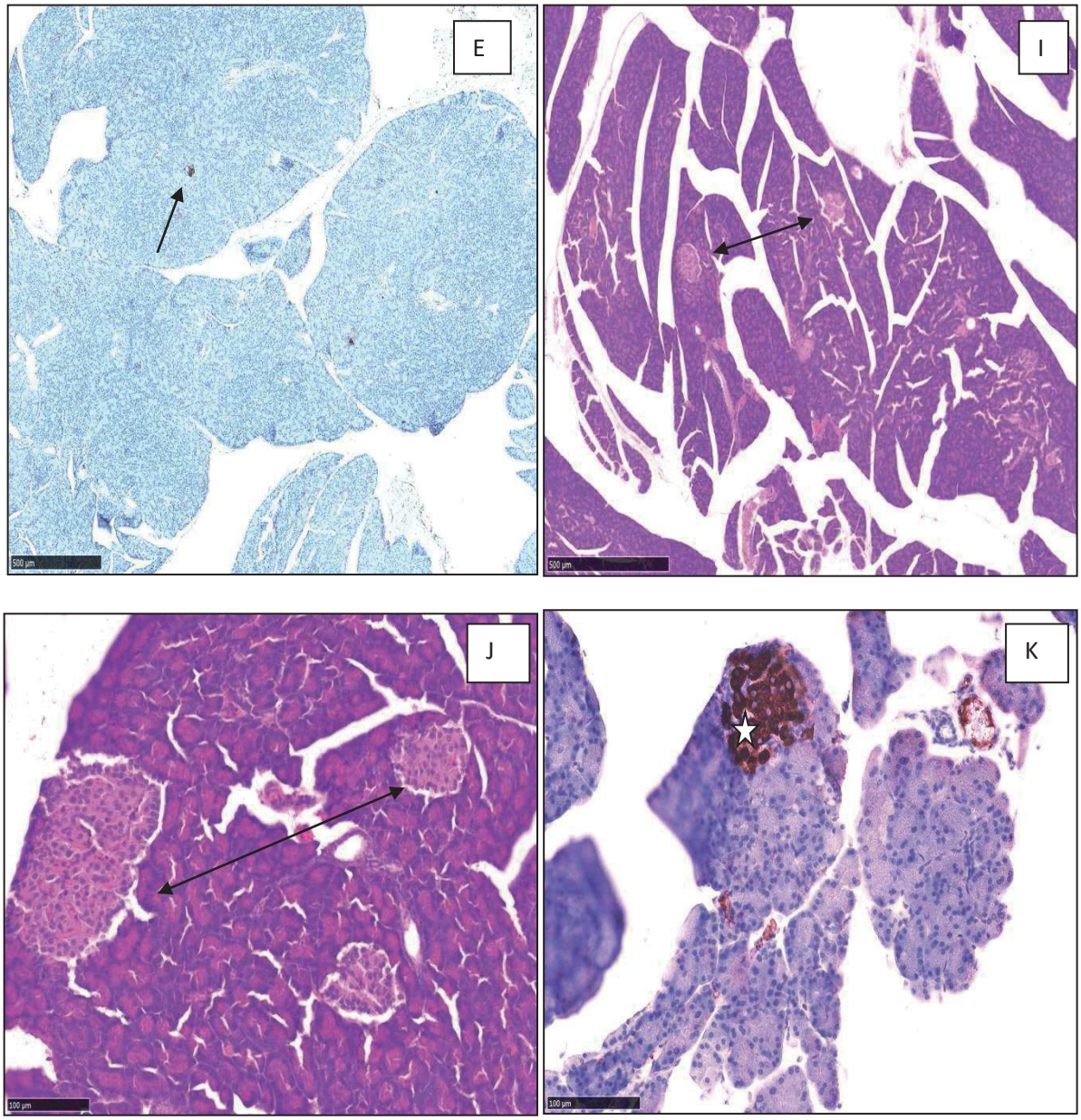


Figure V.15 : Les photos **I, J** et **K** correspondent aux pancréas du groupe à jeun traité avec 150mg/kg de NADH. Les flèches ainsi que l'étoile indiquent des ilots de langherans d'aspect sain à différents grossissement. La photo **E** correspond au témoin diabétique du groupe à jeun. Les photos I et J correspondent à une coloration conventionnelle à l' H&E ; **E** et **F** à l'immunohistochimie.

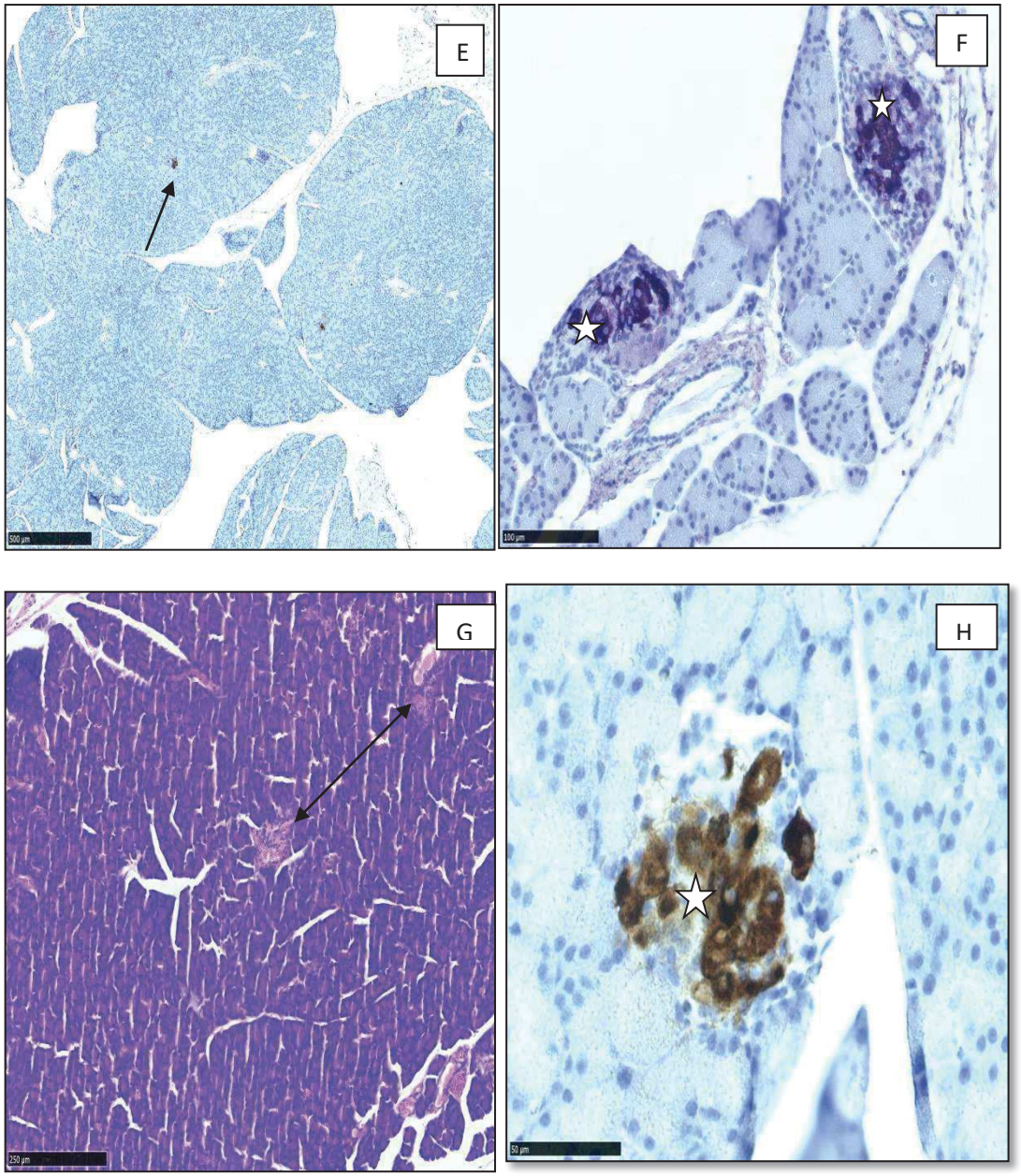


Figure V.16 : Les photos **E, F, G** et **H** correspondent au témoin diabétique du groupe à jeun. Les flèches simple et à double tête ainsi que l'étoile indiquent des ilots de langherans atrophiés avec présence de cellules Beta altérées mises en évidence par la technique d'immunohistochimie (**E, F**et **H**). La technique H&E (**G**) montre une raréfaction des ilots de langherans avec atrophie des ilots restants (flèche à double tête).

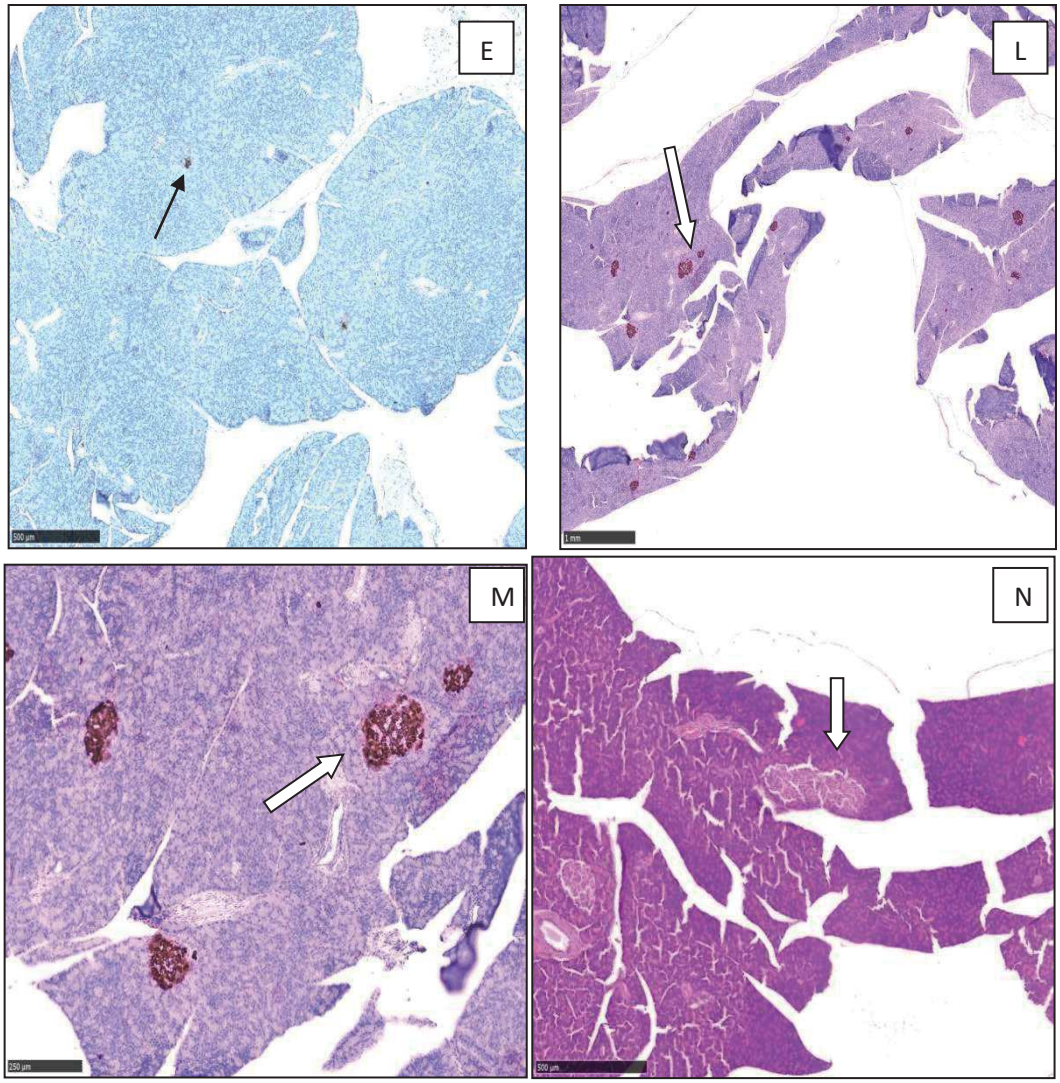


Figure V.17 : Les photos **L, M** et **N** correspondent au pancréas du groupe à jeun traité avec 300mg /kg de NADH. Les flèches pleines indiquent à différents grossissement des ilots de langherans plus nombreux et plus sains comparativement au témoin non diabétique dont les ilots sont atrophiés (flèche). La photo **N** correspond à une coloration conventionnelle à l' H&E ; **E, L** et **M** à l'immunohistochimie.

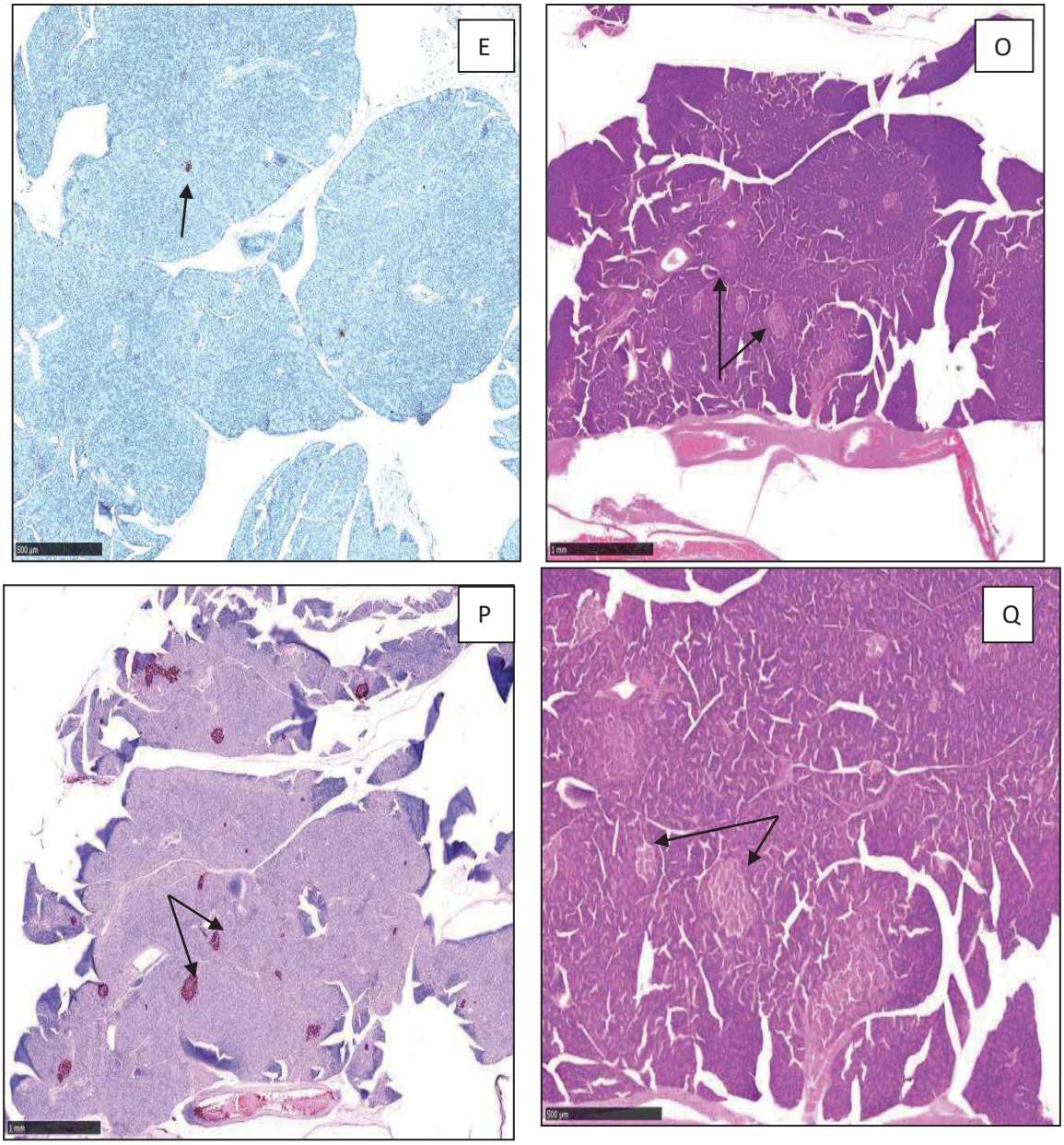


Figure V.18 : Les photos **O, P** et **Q** correspond au pancréas du groupe à jeun traité avec 500mg/kg de NADH. Les flèches indiquent des ilots de langherans d'aspect sain à différents grossissement chez les lots traités (**O, P, Q**) ainsi que chez les lots du témoin diabétique à jeun dont l'aspect apparait atrophié(**E**).). Les photos **O** et **Q** correspondent à une coloration conventionnelle à l' H&E tandis que **E** et **P** à l'immunohistochimie.

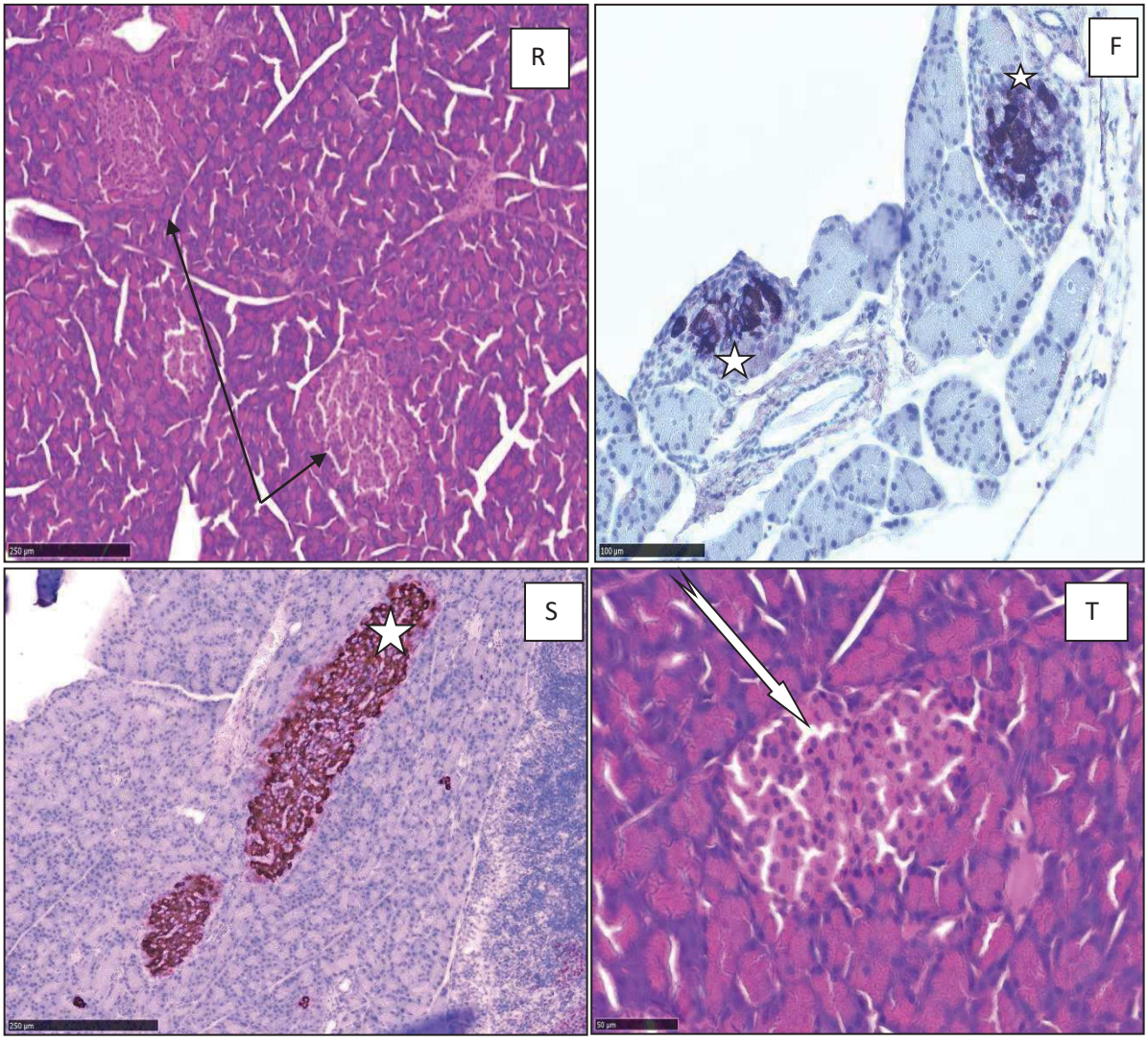


Figure V.19 : Les photos **R, S** et **T** correspondent au pancréas du lot à jeun traité avec 500mg/kg de NADH. Les cellules beta mises en évidence par la technique d'immunohistochimie (**S** et **F**), montrent tantôt un aspect sain chez le groupe (**S**)traité (étoile) tantôt un aspect atrophié chez le groupe diabétique à jeun(**F**). La coloration conventionnelle à l'H&E est représentée par (**R**) et (**T**) les flèches pleine et simple indiquent des ilots de langherans sains à différents grossissement.

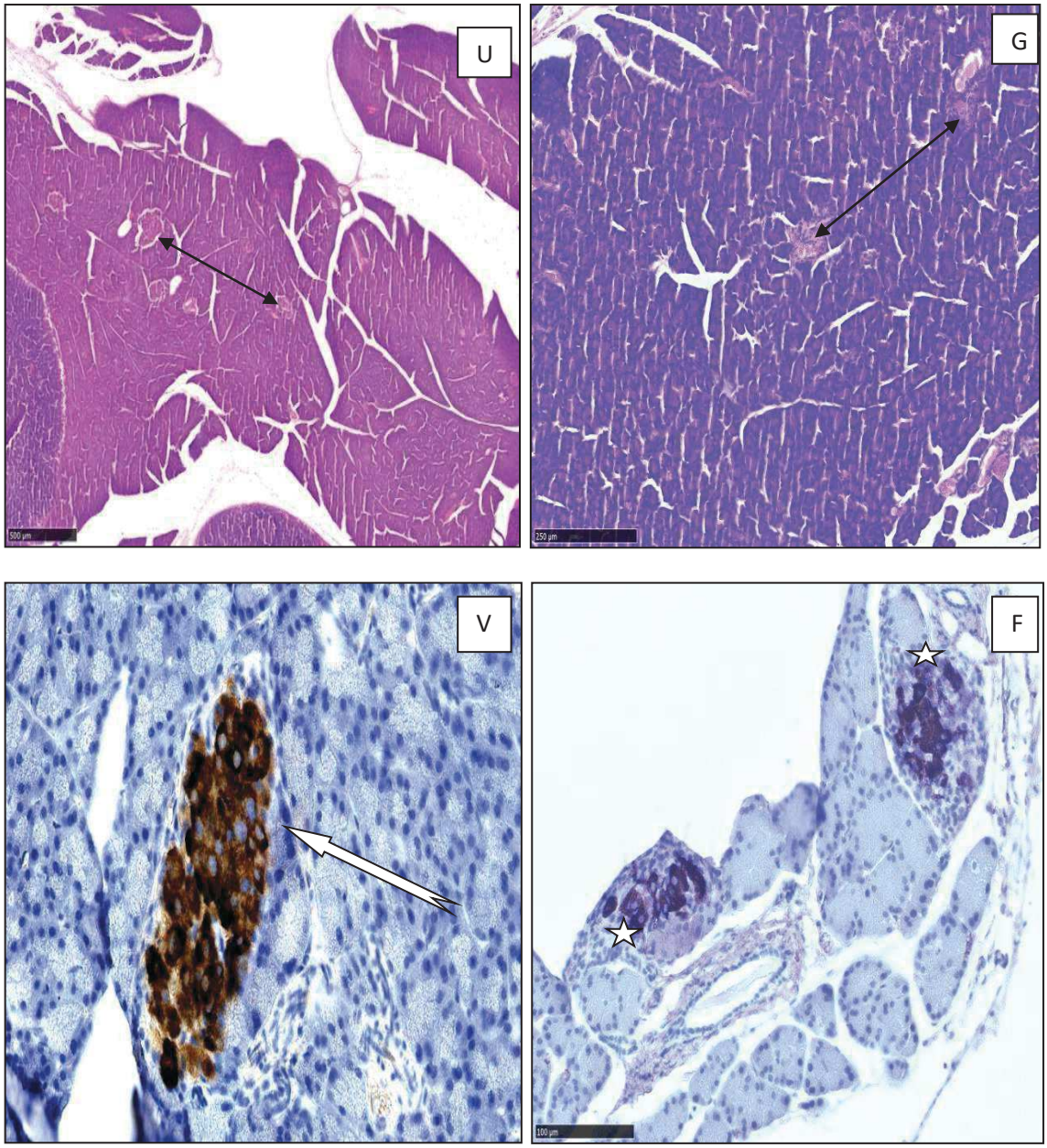


Figure V.20 : Les photos **U** et **V** correspondent au pancréas du groupe diabétique non à jeun. Les cellules beta des ilots de langherans mis en évidence par immunohistochimie(**V** et **F**) montrent des cellules beta d'aspect sain chez le contrôle diabétique non à jeun (**V**) comparativement au contrôle diabétique à jeun où elles sont atrophiées(**F**).la coloration conventionnelle à l'H &E montre des ilots de langherans plus atrophiés chez le contrôle diabétique à jeun (**G**) comparativement a celui non à jeun (**U**).

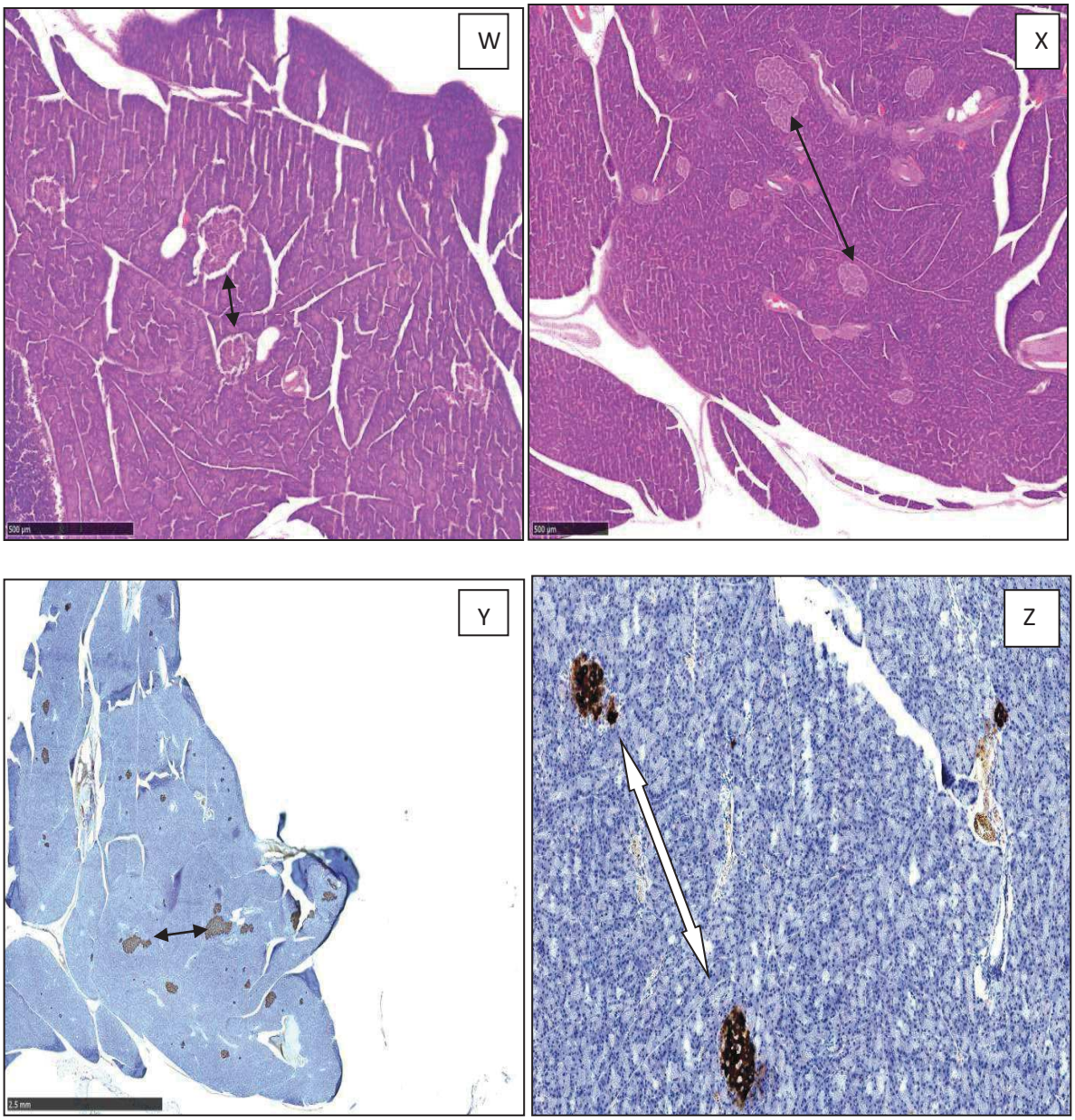


Figure V.21 : Les photos **W, X** et **Y** correspondent au pancréas des groupes non à jeun traités avec 150mg de NADH. Les flèches à deux têtes simples ou pleines indiquent les ilots de langherans à différents grossissements. Les détails des cellules Beta mis en évidence par immunohitochimie(**Y** et **Z**) montrent un aspect sain avec un nombre plus élevé chez le groupe traité (**Y**) comparativement au lot du contrôle diabétique non à jeun(**Z**) . Les photos **X** et **Y** colorés à l'H & E montrent une nette augmentation du nombre d'ilots de langherans chez le groupe traité (**X**) comparativement au contrôle diabétique(**W**)

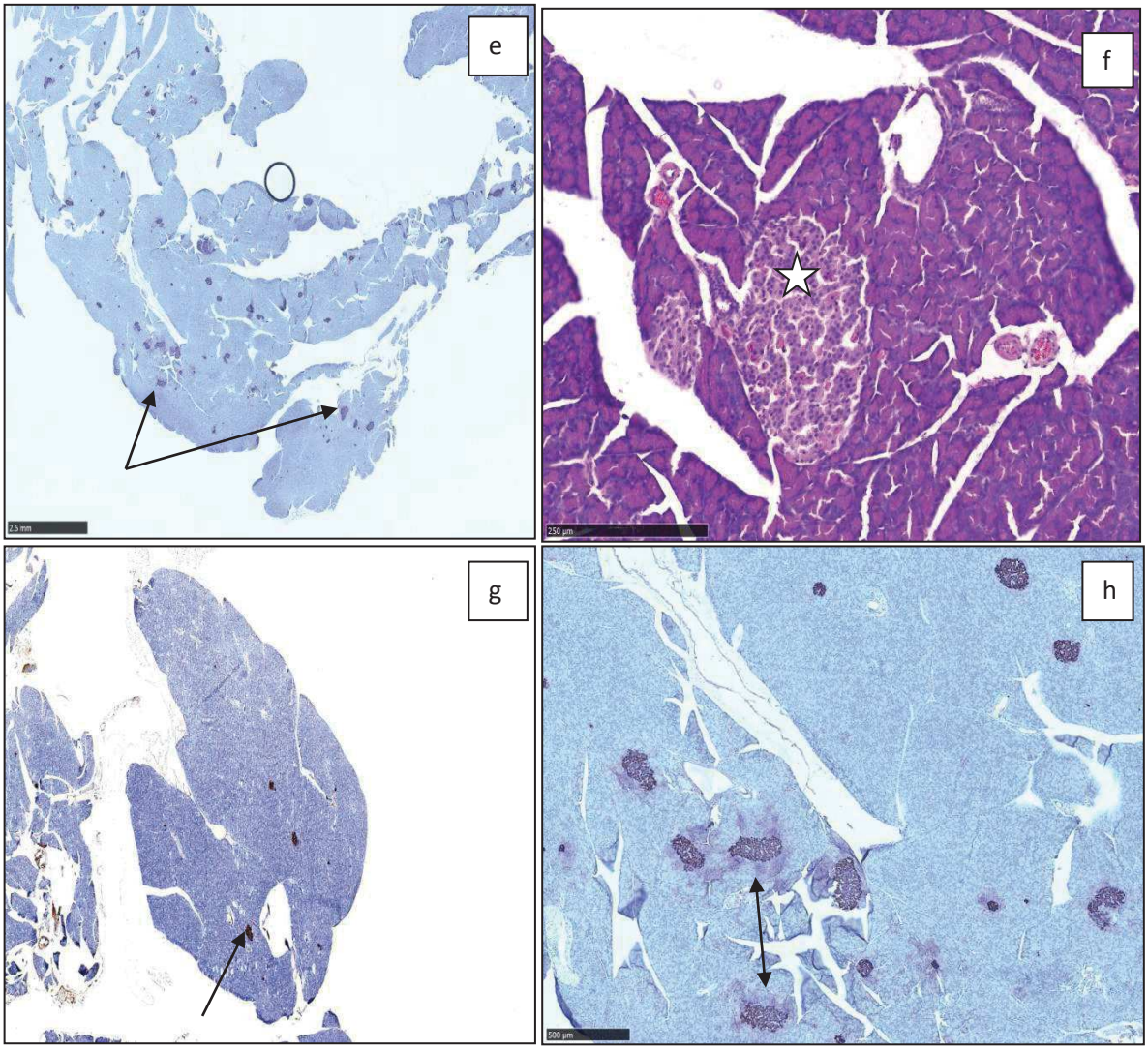


Figure V.22 : Les photos **e, f** et **h** correspondent aux pancréas des groupes non à jeun traité avec 500 mg/kg de NADH. Les flèches simples et à deux têtes ainsi que l'étoile indiquent les ilots de langherans. Les ilots de langherans d'aspect sain sont plus nombreux chez le lot traité (**e, f, h**) que chez le contrôle diabétique(**g**). la masse des cellules Beta est plus conséquente chez le lot traité (**e**, flèches immunohistochimie) et leur aspect est plus sain (**f**, etoile, H&E).

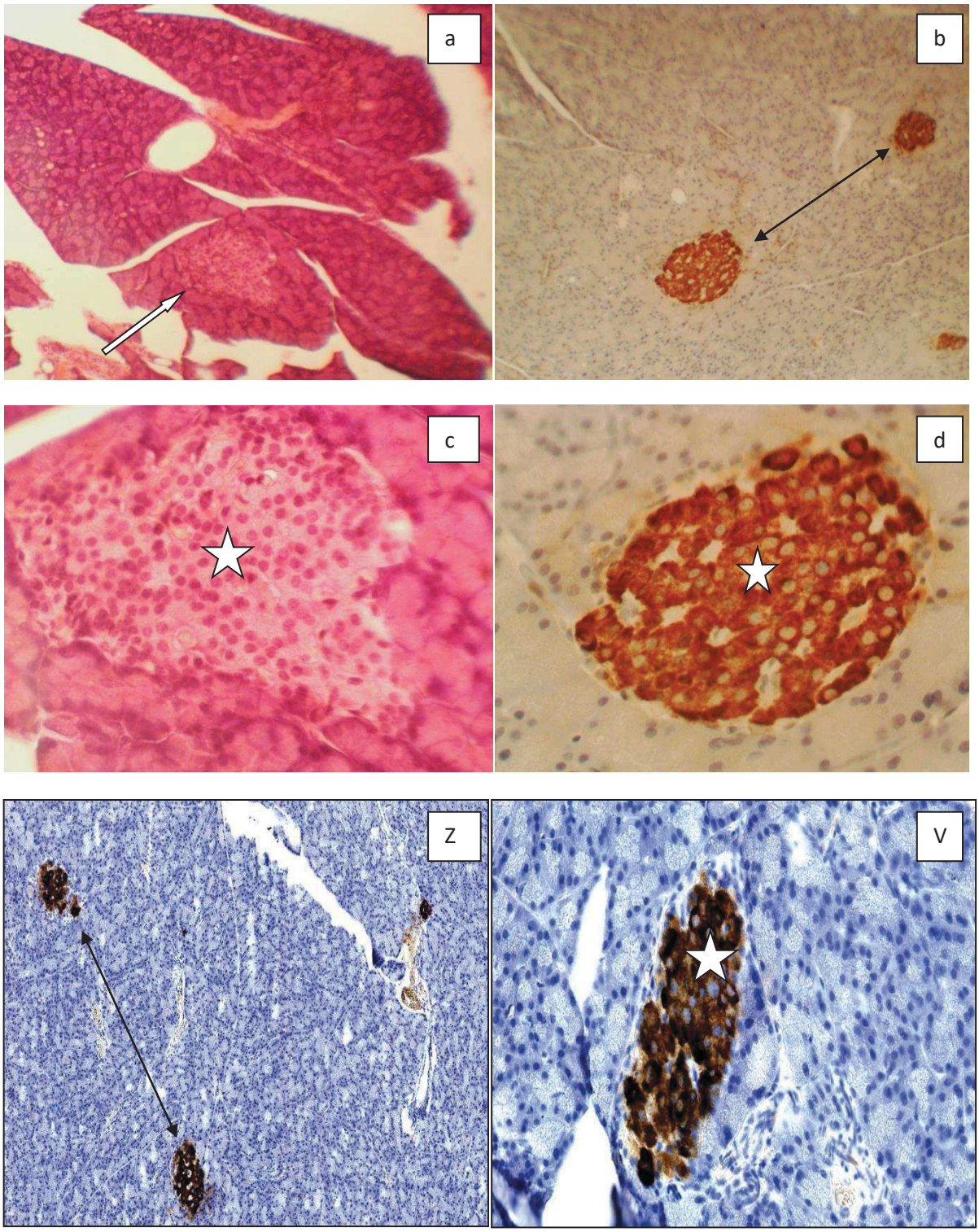


Figure V.23: Les photos **a, b, c** et **d** correspondent aux pancréas des groupes non à jeun traités avec 300mg/kg de NADH. Les photos **Z** et **V** étant des témoins diabétiques du même groupe. Les flèches simples à deux têtes ou pleines ainsi que les étoiles indiquent des ilots de langherans d'aspect sain à différents grossissement (**a** et **c** par H&E ; **b** et **d** par immunohistochimie).

V.1 Discussion

Le diabète sucré et ses complications sont des maladies de glucotoxicité chronique. Le concept de glucotoxicité des cellules β implique que le glucose excessif persistant peut exercer un effet nocif ou toxique sur la fonction des cellules β après l'établissement du diabète induit par des facteurs génétiques ou environnementaux. Par conséquent, la glucotoxicité diabétique a un rôle important dans la conduite de l'insuffisance des cellules β secondaires dans le diabète de type 1 et de type 2 ***(J. Wu & Yan, 2015).***

Un état de stress oxydant a été aussi décrit dans le diabète; il s'agit d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), en particulier des radicaux libres, et les défenses anti-oxydantes. Ce stress oxydant pourrait être impliqué dans les atteintes tissulaires et pourrait représenter un nouveau facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires au cours du diabète ***(Bonnefont-Rousselot et al., 2004).*** Il est cependant important de signaler que dans le cadre de notre expérience le diabète induit par la streptozotocine a pu mimer les conditions réelles d'un diabète sucré surtout marquée par l'hyperglycémie persistante due au stress oxydant entretenu non pas par l'effet fugace de la STZ dont la demi vie est de quelques heures mais au stress oxydant généré à la suite de son action menant indubitablement à une mort cellulaire arégénérative par nécrose (M. Wu et al., 2008)

En se basant sur des doses de STZ rapportés par la littérature, Bahria et Djellal ont pu optimiser la dose capable d'induire le diabète chez le rat *Wistar* au sein de notre modèle expérimentale. IL s'agit de la dose de 45mg/kg aussi utilisé avec succès dans cadre de la présente étude.

V.2 Efficacité de la STZ dans l'induction du diabète

La STZ est largement utilisées pour induire le diabète expérimental chez les animaux de laboratoire. son mécanisme d'action au niveau des cellules bêta du pancréas a fait l'objet d' études approfondies et qui seraient assez bien maitrisées de nos jours ***(Gai & Gleichmann 2004, T Szkudelski 2001, Lenzen 2008).***

Jusqu'à 2010 la STZ aurait été utilisée dans 69% des modèles animaux du diabète induit chimiquement, alors que l'alloxane a été le deuxième le plus couramment utilisé à une fréquence de 31%. ***(Asad, Aslam, Munir, & Nadeem, 2011)***. Ceci pourrait s'expliquer par le

prix souvent onéreux de la STZ et son indisponibilité sur le marché car utilisé principalement en thérapie anticancéreuse.

Le traitement par STZ induit un diabète chez 95% des rats, ce qui est plus élevé que l'alloxane, qui ne cause le diabète que chez 70% des rats ***(Goud, 2015).***

L'action de la STZ sur les cellules beta pancréatiques est accompagnée par une altération du taux de glucose et d'insuline dans le sang 2 heurs après l'injection intra péritonéal de STZ, une destruction massive des cellules beta s'est opérée avec une libération intense d'insuline, ce qui explique l'hypoglycémie immédiate chez les rats. D'ailleurs il est toujours recommandé de mettre immédiatement à la disposition des animaux de l'eau glucosé afin de prévenir l'hypoglycémie post injection imminente.

La stabilisation de la glycémie après 72 post injection de STZ a permis la confirmation du diabète, chez les individus présentant une glycémie supérieure à 200mg par kg qui seraient à l'unanimité diabétiques selon la littérature ***(Akbarzadeh et al., 2007; Luippold, Bedenik, Voigt, & Grempler, 2016; Qinna & Badwan, 2015).***

Le pourcentage élevé d'animaux diabétiques supérieur à 95% témoignerait de l'efficacité de la STZ dans l'induction du diabète ***(Goud, 2015).***

L'observation de symptômes cliniques vient appuyer notre diagnostic. Il s'agit de polydipsie (consommation excessive d'eau) de polyphagie (consommation excessive d'aliments) et de polyuries (augmentation de l'excrétion urinaire) ***(Al, Chan, Jensen, & Brien, 2008).*** La polyurie qui est due à la présence dans le filtrat rénal d'un surcroit de glucose qui a inhiberait la réabsorption de l'eau par les tubules rénaux ***(Daisy & Jeeva Kani, 2012).*** Une diminution du poids corporel a été également observée chez les lots diabétiques (non à jeun et à jeun) 72h après injection de STZ. Ceci est probablement du au stress post injection à court terme et à la dégradation et au catabolisme des protéines structurales à long terme en raison de l'absence de glucides pour le métabolisme énergétique ainsi qu'à l'augmentation de la fonte musculaire dans le diabète ***(Chaudhry1, 2014).*** Nous avons noté un léger gain de poids chez le lot diabétique non à jeun à partir du 9eme jour ce qui pourrait s'expliquer par le type de diabète induit qui se rapprocherait plus d'un diabète de type 2 dans lequel la perte de poids ne serait pas toujours observée ***(Jacob, Salinas, Adams-Huet, & Raskin, 2007).***

L'hyperglycémie observée dans notre étude serait la manifestation clinique clé du diabète sucré causée par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques due à une perte d'intégrité des cellules beta sécrétrice d'insuline.

Dans notre étude, nous avons observé une hyperglycémie très significatif $p<0.05$ chez le lot témoin positif comparé au lot témoin négatif 72h après l'injection de 45mg/kg de STZ. Cette hyperglycémie a subis des variations tout au long de l'expérience mais qui reste supérieure à 200 mg/dl jusqu'à la fin de l'étude. Nos résultats restent en accord avec ceux rapportés par la littérature ***(Tomasz Szkudelski 2012, Alenzi 2009, Abunasef Amin & Abdel-Hamid 2014, Al et al. 2008).***

Le diabète induit par la STZ est caractérisé par une hyperglycémie persistante qui reste même après sa clairance rénale rapide 15 min après injection IV et 48h dans le cas d'une injection IP ***(M. Wu et al., 2008).*** Ce qui pourrait attribué sans aucune équivoque la persistance de l'hyperglycémie à un climat hyperoxydé toxique infernale et irréversible à l'origine de la génération continue d'un stress oxydatif responsable à long terme de lésions cellulaires. Le déficit énergétique qui en découlerait serait la cause majeur de la mort cellulaire des cellules beta par nécrose ***(Goud, 2015, Lenzen, 2008, Socorro, Esni, Surgery, Genetics, & Rangos, 2017).***

Plusieurs études ont démontré que l'hyperglycémie dans le diabète induit par la STZ est associée à une augmentation de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à des

dommages oxydatifs sur les composés tissulaires aboutissant à la mort des cellules bêta par nécrose ***(Nakhaee, Bokaeian, Saravani, Farhangi, & Akbarzadeh 2009, Eleazu 2013, Lenzen, 2008)*** Le stress oxydatif chez les animaux diabétiques induits par la STZ est dû à l'auto-oxydation du glucose, à la glycation des protéines et à la formation de produits de glycation ***(Atalay & Laaksonen, 2002).***

Le modèle des témoins diabétiques à jeun et non à jeun était nécessaire afin de faire une étude comparative de l'efficacité de la STZ dans l'induction de l'hyperglycémie expérimentale. Nos résultats ont montré une nette efficacité chez le lot à jeun confirmant ce qui a été rapporté par la littérature expliquant l'effet compétiteur de la STZ et du glucose au niveau des récepteurs GLUT2 des cellules pancréatiques ***(Nahdi, John, & Raza, 2017).***

Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux rapportés par Zunaira Z qui indiquent que l'efficacité de la Streptozotocine ne serait pas affectée par l'état postprandiale ***(Chaudhry1, 2014).***

L'état d'hypoglycémie observé au cours de septième jour chez tous les rats témoins non à jeun et à jeun ainsi que chez tous les autres lots traités au NADH pourrait s'expliquer par un êtas de jeun prolongé initié suite à une perturbation du rythme alimentaire du aux imprévus climatiques (les animaux ont été nourris une journée ad libitum, le retrait de la nourriture le lent demain les a plongé dans une période de jeun prolongé. Ces derniers ayant été conditionnés la veille à une alimentation nocturne ils perdirent le rythme initial de l'expérience consistant à un retrait systématique de la nourriture en fin de journée. En attendant la nuit pour se nourrir ces animaux étaient restés à jeun de longues heures, la nourriture ayant été retirée systématiquement en fin de journée.).

V.3 Effet protecteur et/ou régénérateur du NADH

L'injection préventive de NADH nous a permis de prévenir l'installation d'un état diabétique observé chez les individus n'ayant pas reçu une protection de NADH.

Les variations de la glycémie 48 après l'injection révèlent encore une instabilité de cette dernière qui pourrait s'expliquer par la destruction massive des cellules beta diminuant ainsi la synthèse et par conséquent la sécrétion d'insuline ***(Levine & Itkin-Ansari, 2008).***

Toutefois, l'observation d'une stabilisation de la glycémie après 72 h et jusqu'à la fin de l'expérience témoignerait d'une reprise de fonction des cellules beta pancréatiques.

Ceci pourrait s'expliquer par une régénération de ses dernières, sachant que la toxicité de la STZ ne pourrait en aucun cas épargner les cellules beta de par son effet alkylant sur les structures génétiques (ADN). La mort étant inéluctable(observée et mise en évidence au niveau du contrôle diabétiques), la présence d'ilots de langherans sains et nombreux au niveau des lots traités au NADH témoignerait d'une reconstitution probable de ses derniers suite à une mort certaine sous l'égide du climat cytotoxique engendré par la STZ ***(Socorro, Esni, Surgery, Genetics, & Rangos, 2017)***. Toutefois, l'existence d'une régénération et d'une augmentation par conséquent de la masse des cellules beta mis en évidence par immunohistochimie serait de mise (voir partie résultats).

Une question nous vient à l'esprit celle des conditions de régénération des cellules beta. En effet, la régénération des cellules beta existe vraiment elle se ferait proportionnellement à l'âge de l'animal soit par réplication chez les plus jeunes ou par néogènes à partir des cellules souches chez les moins jeunes ***(Dalle, 2009; German, 2013).*** Ce qui expliquerait la réémergence des cellules beta pancréatiques après un épisode de destruction certaine par la STZ ***(Socorro et al., 2017).***

Une autre question pourrait nous interpeller ,celle de l'absence de régénération chez les pancréas des sujets diabétiques où l'aspect souvent désertique dépourvu en d'ilot de langherans observé chez le lot à jeun et largement documenté dans la partie résultat refléterait un état altéré de la matrice extracellulaire du au climat cytotoxique entretenu par l'hyperglycémie persistante ***(Dalle, 2009).***

L'altération de la matrice extracellulaire étant un facteur limitant de la régénération cellulaire ***(Kumar, Fausto, & Abbas, 2005)***. les cellules beta résiduelles observées surtout chez le témoin diabétique non à jeun seraient encore dotées d'une activité relative mais seraient incapables de se régénérer et entretiendraient de ce fait un état diabétiques se rapprochant plus d'un diabète de type 2 expliquant ainsi l'hyperglycémie modérée comparativement au lots à jeun dont l'hyperglycémie est plus marquée.

Considérant grossièrement le NADH comme source d'énergie **(Forsyth et al., 2017),(Birkmayer, 2009)** on pourrait expliquer son effet imminent par une restauration du pool énergétique limitant ainsi les lésions cellulaires due au climat cytotoxique du moment.

Néanmoins, cette explication trop simpliste mériterait plus d'éclaircissement. En effet dans la cellule le NADH participerait à plusieurs mécanismes cellulaire permettant la génération d'énergie à savoir le cycle de krebs responsable de l'activation et de l'alimentation du flux de proton au niveaux de l'espace inter mitochondriale se soldant par la production d'énergie ***(Rutledge, Jing, Forster, & Yan, 2017)***. Le rapport NADH/NAD+ serait donc le senseur de tout déséquilibre cellulaire incitant ainsi la cellule en cas de déficit en NAD+ à une mort cellulaire certaine. Un excès en NADH aurait un effet destructeur car serait à l'origine d'un stress oxydatif ***(Yan, Wu, Jin, & Zheng, 2016)***. Toutefois, dans un climat toxique carencé en énergie le NADH ajouté ne serait en aucun cas en excès et ne constituerait donc aucun danger pour la cellule. Son effet protecteur en témoigne avec aisance dans la présente étude.

Au niveau nucléaire les taux de NAD+ seraient décisifs afin de protéger les cellules pancréatiques de l'action cytotoxique de la STZ ceci à été largement documenté dans les

études antérieures se rapportant à l'induction du diabète par la STZ et la nicotinamide un précurseur du NAD+ ***(Ghasemi, Khalifi, & Jedi, 2014; Tomasz Szkudelski, 2012).*** L'observation d'une régénération incontestable des cellules beta chez les lots traités au NADH pourrait s'expliquer par un maintien de l'intégrité de la matrice extra cellulaire et devrait donc exclure sans hésitation une éventuelle mort par nécrose en faveur d'une mort par apoptose.

En effet, au niveau pancréatique il a été rapporté que la STZ ainsi que l'alloxane engendraient immanquablement une mort cellulaire des cellules beta par nécrose ce qui empêcherait toute régénération ultérieure ***(Socorro et al., 2017).*** Néanmoins, certaines toxines aussi utilisées comme agent diabétogène engendraient une apoptose des cellules beta et offraient par conséquent une possibilité de régénération ***(Socorro et al, 2017).*** En se référant à cette étude et en se basant sur nos observations la présence d'une régénération de nos ilots de langherans ferait donc suite à un épisode de mort cellulaire par apoptose inhibant ainsi la nécrose.

Ceci viendrait appuyer le rôle protecteur du NADH qui comme la nicotinamide ***(Alenzi, 2009)*** serait un inhibiteur de PARP. Plusieurs auteurs ont cependant associé un effet proapototique au NADH dans un contexte de pathologies différentes de celles du diabète ***(Filipovic, Meng, & Reeves, 1999).***

L'hyper activation de PARP serait responsable de l'épuisement du stock de NAD+ et d'ATP ce qui orienterait la mort cellulaire vers une nécrose. l'inhibition précoce de PARP empêcherait la déplétion cellulaire en énergie et orienterait la mort cellules vers l'apoptose empêchant ainsi la genèse d'une insulite dont le conséquences serait la destruction de la matrice extra cellule dont l'intégrité est une condition nécessaire à toute régénération ***(Kumar et al., 2005) (Socorro et al., 2017).***

V.4 Rôle hypoglycémiant

Les résultats de la présente étude montrent que l'administration de doses relativement faibles de NADH (150 et 300mg/kg) peut fournir une protection presque totale du pancréas endocrine face à un environnement glucotoxique causé par la STZ. Il convient de souligner que les effets de la STZ chez les rats dépendent de l'âge de l'animal, de la voie d'administration de la STZ ainsi que de l'état nutritionnel des rats (à jeun ou non à jeun). L'âge de l'animal joue un rôle

très important car les cellules beta des animaux plus jeunes sont moins sensibles à la STZ ***(Tomasz Szkudelski, 2012).***

Les résultats obtenus dans le modèle non à jeun montrent une variation de la glycémie en fonction des doses, mais qui est beaucoup plus intéressante et plus significative avec les doses de 500mg/kg et 150 mg/kg. Cependant, la dose de 300 mg/kg a présenté des aléas probablement dues au stress. Ce dernier serait responsable d'une accélération du métabolisme via la libération des hormones du stress généralement antagonistes à l'insuline. Ce qui provoque une diminution de la capacité de l'insuline à métaboliser le glucose s'extériorisant par une intolérance au glucose et une hyperglycémie ***(Black, 2006)***.

Les résultats obtenus dans le modèle non à jeun sont plus significatif. Ces résultats montrent que le NADH à des doses inférieures (150 et 300 mg/kg) serait aussi efficace dans le contrôle de la glycémie protègerait mieux les cellules beta contre l'action cytotoxique de la STZ. Cela serait du à l'augmentation des réserves énergétiques au niveau des cellules traitées au NADH ce qui permet une meilleurs régénération ***(Ying, 2006)(Birkmayer, 2009).***

Compte tenue de la destruction moindre de la portion endocrine de ce lot comparativement au lot à jeun il serait raisonnable de prendre ses résultats avec plus de précautions en prenant le modèle à jeun comme référence.

V.5 Variation du poids corporel

L'administration de la dose diabétogène de STZ à des rats provoque une diminution du poids corporel, cependant le prétraitement par le NADH ne provoque aucune chute de poids, par contre, nos résultats montrent un gain de poids chez tous les lots traité au NADH similaire a celui observé chez le lot des rats non diabétique. Ceci pourrait s'expliquer par l'action de l'insuline qui favorise la lipogenèse, grâce à une activation de la lipoprotéine lipase ou LPL (enzyme permettant la formation de triglycérides à partir de trois acides gras et d'un glycérol) ***(Capeau, 2003).***

V.6 Efficacité de la Metformine

Les rongeurs montrent une différence de sexe et d'âge importante dans la sensibilité au STZ. Les rats mâles et âgées ont tendance à être plus sensibles au diabète induit par la STZ ***(Press,***

2015), ceci est confirmé par l'hyperglycémie sévère et une réponse instable au traitement par la Metformine au cours de la première phase expérimentale.

Les cellules β survivantes ou résiduelles exposées à une hyperglycémie persistante et qui serait responsable d'une altération de la fonction mitochondriale ***(J. Wu & Yan, 2015),*** ne pourraient pas produire de l'insuline en quantité suffisante pour transporter de manière adéquate le glucose du sang vers les tissus qui y sont sensibles. sachant que l'action anti-hyperglycémiante de la Metformine s'exerce uniquement en présence d'une sécrétion suffisantes d'insuline qui pourrait s'expliquer par l'activation par la Metformine de l'AMPK qui va réduire l'accumulation de lipides dans le foie, d'une part en inhibant la lipogenèse et, d'autre part, en activant l'oxydation des acides gras ce qui permet de limiter le phénomène de lipotoxicité dans le foie et contribuer à améliorer la transduction du signal de l'insuline ***(Foretz & Viollet, 2009)***. De ce fait, la diminution de la sécrétion d'insuline mène inéluctablement à une baisse d'efficacité de l'action hypoglycémiante de la Metformine, ce qui appui les résultats obtenus dans la première phase de l'expérience.

La Metformine n'ayant répondu qu'après la première phase de l'expérience, ceci sera expliqué d'une part par l'installation de la glucotoxicité qui conduit au dysfonctionnement des cellules béta menant à l'altération du taux d'insuline circulante, et d'autre part par le facteur de stress en produisant du cortisol et de l'adrénaline qui sont des hormones aidant à trouver l'énergie nécessaire pour faire face à des situations stressantes par l'augmentation de production de glucose a partir des substrats non glucidiques.

Dans la deuxième phase de l'expérience, une stabilisation de la glycémie a été observée ce qui nous a permis de noter une réponse chez le lot de Metformine (750mg/kg) aussi bien que chez les lots de NADH. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par ***(Djellal, 2017).***
La Metformine diminue l'absorption du glucose par l'intestin, réduit la production de glucose dans le foie et diminue la résistance à l'insuline ***(DIARRA, 2015).*** La conséquence de l'effet de la Metformine fait que le glucose ne peut pas être utilisée suffisamment pour la production d'énergie ATP. Par conséquent, il sera principalement fermenté en lactate, ce qui provoque une lactacidose. A cause de ce phénomène, le taux de glucose dans le sang augmente de nouveau. La situation métabolique n'est pas du tout améliorée mais s'aggrave avec la Metformine. Ce médicament ne guérira jamais le diabète mais ne fera que stabiliser la glycemie à court terme en provoquant à long terme une hepato et nephrotoxicité ***(Chowdhury et al., 2018; DIARRA, 2015; Dujic et al., 2016)***.

L'un des effets des biguanides observé sur le métabolisme, l'inhibition de la lipogenèse stimulée par l'insuline qui semble cependant attribuable à l'inhibition de l'acétylcoenzyme A carboxylase par les biguanides. Cet effet pourrait expliquer, du moins en partie, la perte de poids survenant chez les animaux diabétiques ayant été traiter a la Metformine ***(DIARRA, 2015),*** ainsi que la dégradation et le catabolisme des protéines structurales et aussi l'augmentation de la fonte musculaire dans le diabète ***(Chaudhry1, 2014).*** Ce qui explique l'état asthénique plus prononcé chez les rats traités à la Metformine.

V.7 Effet thérapeutique du NADH

L'identification du stress oxydatif comme un acteur majeur de la physiopathologie du diabète a été documentée dans diverses études traitant de l'influence de la réduction du stress oxydatif en tant qu'objectif thérapeutique.

La Nicotinamide adénine dinucléotide (NADH), joue un rôle antioxydant dans les systèmes biologiques, grâce à sa forte réactivité avec certains radicaux libres ***(Vitale et al., 2018)***, le coenzyme est connu pour déclencher la production d'énergie grâce à la génération d'ATP. Cette connaissance a fourni la justification de la présente étude, il a la capacité reconstituer les réserves cellulaires épuisées de l'ATP **(Forsyth et al., 2017).**

De nombreuses études ont montré que la nicotinamide(NA) améliore l'état d'énergie dans les tissus ischémiques, présente des propriétés antioxydantes et des améliorations métaboliques et inhibent l'apoptose ***(Alenzi, 2009).*** Une étude antérieure démontre la protection des cellules beta pancréatiques en donnant de la NA après l'exposition de ces cellules à des composés cytotoxiques tels que la Streptozotocine (STZ). Le traitement avec la nicotinamide permet une protection contre les radicaux libres et le stress oxydatif et améliore la survie des cellules beta traités avec de la STZ par la restauration des réserves de NAD+ appauvries ***(Pipeleers & Winkel, 1986).***

Dans notre étude, nous avons étudié l'effet du NADH sur la variation glycémique chez des rats atteints de diabète induit par la STZ. Une étude biochimique antérieure similaires aux résultats actuels ***(Djellal, 2017),*** rapporte que l'administration de NADH par voie orale à différentes doses (100, 350 mg/kg) pendant 9 jours a permis de réduire d'une manière peu efficace et assez courte l'hyperglycémie existante. Incitant à un retour systématique au traitement. Ces résultats corroborent avec ceux retrouvés dans notre présente étude

confirmant que le traitement des animaux diabétiques avec le NADH, réduit l'hyperglycémie basale, bien que la normalisation complète et persistante ne soit pas atteinte.

L'effet hypoglycémiant relatif du NADH chez les rats diabétiques est clairement apparent le 11eme jour après le début du traitement et s'améliore encore dans les jours suivants. Les trois doses de NADH utilisées dans cette étude (1, 2, 3 mg / kg) seraient relativement efficaces pour réduire l'hyperglycémie existante à des dose inferieurs mais qui reste au-dessus de la norme tolérée. Bien que la dose la plus élevée (3mg/kg) apparait légèrement plus efficace selon les résultats du contrôle glycémique. Ceci pourra s'expliquer par la capacité du NADH à restaurer le pool énergétique décroissant causé par le stress oxydatif environnant et pourrait de ce fait redonner un second souffle aux cellules β préexistantes. Cet effet pourrait être confirmé par le léger gain de poids observé chez les lots de NADH.

En raison du déséquilibre redox NADH / NAD + de l'hyperactivité de complexe I, le stress oxydatif cellulaire et le taux de radicaux libres augmenté ***(Rutledge et al., 2017).*** La combinaison du déséquilibre redox NADH / NAD + et l'hyperglycémie sévère a permis l'installation d'un état de glucotoxicité au niveau des cellules beta pancréatique ce qui a diminué de l'efficacité de du traitement (NADH) ***(Rutledge et al., 2017).***

Les résultats du contrôle glycémique après traitement au NADH pourraient nous renseigner sur un effet hypoglycémiant stimulant directement les cellules β et les incitant ainsi à produire d'avantage d'insuline. l'aspect régénératif pourrait se révéler assez précoce dans notre cas vue la durée assez limitée de notre expérience ***(Socorro et al., 2017).***

Bien que l'effet hypoglycémiant de cette molécule a été largement documenté chez l'homme ***(Lotfi, 2016)*** ,sa confirmation au sein de notre modèle expérimentale reste peu convaincante . Ceci serait probablement dû au stress lié au gavage ainsi qu'a une destruction massive du pancréas endocrine laissant prédire un état de glucotoxicité persistant responsable d'un dysfonctionnement des cellules bêta.

Conclusion et perspectives

L'analyse et l'interprétation des résultats de la présente étude nous a permis de comprendre avec plus d'aisance l'effet antidiabétique du NADH. Cette molécule miracle dotée de capacités pro-énergétiques et antioxydantes mériterait une exploration Plus approfondie. Considérant qu'au niveau cellulaire, le NADH est impliqué dans le processus de génération d'énergie, il aura probablement un effet sur la restauration du pool énergétique au niveau des cellules bêta pancréatiques dans un environnement cytotoxique.

Bien qu'aucun modèle animal du diabète ne puisse reproduire dans son intégralité la complexité de la maladie humaine, le modèle d'un diabète expérimental induit par la STZ est de loin le plus utilisé afin d'étudier la maladie et tester de nouvelles stratégies thérapeutiques. La dose de 45mg/kg a montré une fois encore une efficacité incontestable dans l'induction d'une hyperglycémie persistante preuve d'une destruction massive des cellules bêta.

A la lumière de notre expérience, il a été possible d'assigner au NADH un rôle protecteur des cellules β pancréatiques au sein d'un environnement hyper oxydé et toxique instauré par la STZ. Ce climat hyper toxique mimerait les conditions naturelles génératrices d'un stress oxydant omniprésent au niveau pancréatique responsable d'un dysfonctionnement irréversible des cellules bêta entrainant immanquablement une baisse de leur masse le primum movens de l'installation d'un diabète de type2. Toutefois, cet effet protecteur ne concernerait que le diabète de type 2 aussi bien qu'un état précoce de ce dernier faisant suite à un épisode de la phase asymptomatique de la résistance à l'insuline. En revanche le NADH n'aurait aucun effet sur Le diabète de type 1 vue que chez ce dernier le pancréas est déjà détruit au moment de son diagnostic.

La thérapie préventive est une thérapie de choix car concernerait une catégorie de personnes présentant un syndrome métabolique et susceptibles de développer la maladie. Un traitement préventif efficace permettant la réorientation de la mort cellulaire des cellules bêta d'une nécrose imminente arégénérative vers une apoptose régénérative serait la solution miracle permettant d'avoir une main mise sur le choix du destin cellulaire en faisant basculer les chances vers une restitution totale de la fonction de l'organe se soldant par et une guérison incontestable.

Le NADH ayant prouvé une efficacité préventive supérieure à la curative il serait souhaitable à l'avenir de prévoir un traitement préventif à long terme avant même la simulation

expérimentale d'un état diabétique et le maintenir encore quelques temps après l'injection de STZ afin de garantir une protection plus élargie du traitement. Néanmoins, ce modèle expérimentale trop toxique condenserait la réalité d'une vingtaine d'année en 72h d'où la nécessité d'établir un modèle alternatif nous permettant de tester avec plus de véracité l'efficacité du produit. Il s'agit d'un modèle de diabète initié par un régime alimentaire riche en matières grasses largement usité pour le déclanchement d'une résistance à l'insuline prélude d'un état diabétique éminent.

Le rôle curatif quant à lui nécessiterait l'utilisation d'un modèle expérimentale de diabète de type 2 au sein duquel le pancréas laisserait transparaitre un semblant de vie cellulaire au niveau du pancréas endocrine laissant une fenêtre d'action pour le NADH.

Afin d'explorer l'effet régénératif de cette molécule il serait souhaitable de procéder à un sacrifice précoce de l'animal prétraité au NADH et d'identifier le mode de mort cellulaire au plus 48 après injection de STZ. Ceci nous permettrait d'affirmer sans aucune équivoque notre théorie.

.

Abunasef, S. K., Amin, H. a, & Abdel-Hamid, G. a. (2014). A histological and immunohistochemical study of beta cells in streptozotocin diabetic rats treated with caffeine. *Folia Histochemica et Cytobiologica / Polish Academy of Sciences, Polish Histochemical and Cytochemical Society*, *52*(1), 42–50. https://doi.org/10.5603/FHC.2014.0005

Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mehrabi, M. R., Jamshidi, S., Farhangi, A., Allah Verdi, A., … Lame Rad, B. (2007). Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *22*(2), 60–64. https://doi.org/10.1007/BF02913315

Al, E. T., Chan, K., Jensen, N., & Brien, P. J. O. (2008). Structure – activity relationships for thiol reactivity and rat or human hepatocyte toxicity induced by substituted p - benzoquinone compounds. *Journal of Applied Toxicology : JAT*, *28*(October 2007), 608–620. https://doi.org/10.1002/jat

Alberti, K. G. M. M. (2014). Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Textbook of Diabetes*, 24–30

.

Alenzi, F. Q. (2009). Effect of nicotinamide on experimental induced diabetes. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, *8*(1), 11–18. https://doi.org/08.01/ijaai.1118

Apostolova, N., & Victor, V. M. (2015). Molecular Strategies for Targeting Antioxidants to Mitochondria : Therapeutic Implications, *22*(8). https://doi.org/10.1089/ars.2014.5952

Aquot, N. P. (2005). Le Régime Alimentaire Chez Le Patient Diabétique De Type 2 B Enéfices, (1), 391–394.

Asad, M., Aslam, M., Munir, T. A., & Nadeem, A. (2011). Effect of Acacia nilotica leaves extract on hyperglycaemia, lipid profile and platelet aggregation in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad : JAMC*, *23*(2), 3–7. Retrieved from http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84891901284&partnerID=tZOtx3y1

Atalay, M., & Laaksonen, D. E. (2002). Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine*, *1*(1), 1–14. https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.12.002

Atkinson, M. A. (2012). The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(11), 1–18. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007641

Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, *383*(9911), 69–82. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7

Baalbaki, L. (2013). *Les traitements innovants du diabète de type 1 : focus sur la greffe des îlots de Langerhans (son historique , son optimisation et ses défis réglementaires) Layal Baalbaki To cite this version : HAL Id : dumas-00773110*.

Bahria, K. (2017). *Etude comparative de l'effet préventif du Gingembre et du NADH dans un model de diabète induit par la Stréptozotocine chez le rat Wistar*. Dr. Yahia Fares. Medea.

Beaugerie, L., Sokol, H., Aubé, C., Bardou, M., Beaugerie, L., Cadiot, G., … Zoulim, F. (2014). *Les fondamentaux de la pathologie digestive*. *CDU-HGE - Editions Elsevier-Masson*.

Belhadj, S., Hentati, O., Hamdaoui, G., Fakhreddine, K., Maillard, E., Dal, S., & Sigrist, S. (2018). Beneficial Effect of Jojoba Seed Extracts on Hyperglycemia-Induced Oxidative Stress in RINm5f Beta Cells. *Nutrients*, *10*(3), 384. https://doi.org/10.3390/nu10030384

Biquard, F., Fournié, A., Vambergue, A., Valat, A., Dufour, P., Cazaubiel, M., … De, D. (2002). Physiopathologie du diabète gestationnel. *Biology of Reproduction*, *31*(196359), 30–38.

Birkmayer, G. D. (2009). *NADH, the Biological Hydrogen: The Secret of Our Life Energy*.

Birkmayer, G. D., & Pharmaceuticals, B. (1993). NADH The Energizing Coenzyme, 1–22.

Black, P. H. (2006). The inflammatory consequences of psychologic stress : Relationship to insulin resistance , obesity , atherosclerosis and diabetes mellitus , type II, 879–891. https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.04.008

Bolzán, A. D., & Bianchi, M. S. (2002). Genotoxicity of Streptozotocin. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *512*(2–3), 121–134. https://doi.org/10.1016/S1383-5742(02)00044-3

Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeux, J.-L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, a., & Delattre, J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, *62*(3), 147–157. https://doi.org/10.1016/S0003-4509(04)94297-6

Bouhouche, I. (2014). Etude comparative de l ' alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc . Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres, 1–109.

Boulogne, a., & Vantyghem, M.-C. (2004). Physiopathologie de l'insulinorésistance. *La Presse Médicale*, *33*(10), 666–672. https://doi.org/10.1016/S0755-4982(04)98712-X

Capeau, J. (2003). De Signalisation De L ' Insuline : Mécanismes Affectés Dans L ' Insulino-Résistance. *Medicine Sciences*, *19*, 834–839. https://doi.org/10.1051/medsci/20031989834

Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, *389*(10085), 2239–2251. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2

Chaudhry1, Z. Z. (2014). fed or fasted mice, *47*(4), 257–265. https://doi.org/10.1177/0023677213489548.Streptozotocin

Chowdhury, W., Lodhi, M. U., Syed, I. A., Ahmed, U., Miller, M., & Rahim, M. (2018). Metformin-Induced Lactic Acidosis : A Case Study, *10*(2), 4–9. https://doi.org/10.7759/cureus.2152

Clarke, R. E., Dordevic, A. L., Tan, S. M., Ryan, L., & Coughlan, M. T. (2016). Dietary advanced glycation end products and risk factors for chronic disease: A systematic review of randomised controlled trials. *Nutrients*, *8*(3). https://doi.org/10.3390/nu8030125

Czech, M. P. (2017). Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature Medicine*, *23*(7), 804–814. https://doi.org/10.1038/nm.4350

Daisy, P., & Jeeva Kani, F. G. (2012). Evaluation of antidiabetic activity of various extracts of Cassia auriculata Linn. bark on streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*(SUPPL. 4), 312–318.

Dalle, S. (2009). Effets du glucose sur la cellule bêtapancréatique mature. *Correspondances En MHND*, *13*(1), 29–35.

Daneman, D. (2006). Type 1 diabetes. *The Lancet*, *367*(9513), 847–858. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68341-4

de Ferranti, S. D., de Boer, I. H., Fonseca, V., Fox, C. S., Golden, S. H., Lavie, C. J., … Eckel, R. H. (2014). *Type 1 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease*. *Circulation* (Vol. 130). https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000034

DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., … Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, *1*(July), 1–23. https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19

Diabetes, A. A. (2015). 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, *38*(January), S8–S16. https://doi.org/10.2337/dc15-S005

Diabetes, D. O. F. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, *33*(SUPPL. 1). https://doi.org/10.2337/dc10-S062

DIABETES NATIONAL DATA, & GROUP. (1979). Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. National Diabetes Data Group. *Diabetes*, *28*(12), 1039–1057. https://doi.org/10.2337/diab.28.12.1039

DIARRA, M. (2015). *DOSAGE DE LA METFORMINEMIE INTRA-ERYTHROCYTAIRE CHEZ LES PATIENTS DIABETIQUES DE TYPE 2 AVEC OU SANS INSUFFISANCE RENALE : ETUDE COMPARATIVE DES CONCENTRATIONS INTRA-ERYTHROCYTAIRES ENTRE DEUX GROUPES DE PATIENTS DIABETIQUES*.

Djellal, M. (2017). *Étude Comparative de l'effet thérapeutique du NADH et de la Metformine sur un modèle de diabète induit par la Streptozocine chez le Rat Wistar*. Dr. Yahia Fares, Medea.

Dolensek, J., Rupnik, M. S., & Stozer, A. (2015). Structural similarities and differences between the human and the mouse pancreas. *Islets*, *7*(1), 2–9.

Donath, M. Y., & Shoelson, S. E. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature*

Reviews Immunology, *11*(2), 98–107. https://doi.org/10.1038/nri2925

Dubois-Laforgue, D., & Timsit, J. (2012). Diabète de type 1 et environnement. *Médecine/Sciences*, *16*(10), 1045. https://doi.org/10.4267/10608/1523

Dujic, T., Causevic, A., Bego, T., Malenica, M., Pearson, E. R., & Semiz, S. (2016). Short Report : Treatment Organic cation transporter 1 variants and gastrointestinal side effects of metformin in patients with Type 2 diabetes, 511–514. https://doi.org/10.1111/dme.13040

Eleazu, C. O. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals , its practical use and potential risk to humans, 1–7.

Elsner, M. (2000). Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin, 1528–1533.

Etuk, E. U. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus Department of Pharmacology , College of Health Sciences , Usmanu Danfodiyo University ,. *Agriculture and Biology Journal of North America*, *1*(2), 130–134. https://doi.org/10.1002/elps.201000583

Fédération In, & Diabète, ternationale du. (2013). *ATLAS du DIABÈTE de la FID*. *ATLAS du DIABETE de la FID*.

Fédération Internationale du Diabète Region Afrique. (n.d.). Guide de prise en charge du diabete de type 2 pour l ' afrique Fédération Internationale du Diabète Region Afrique, 3–42.

Filipovic, D. M., Meng, X., & Reeves, W. B. (1999). Inhibition of PARP prevents oxidant-induced necrosis but not apoptosis in LLC-PK1 cells. *The American Journal of Physiology*, *277*(3 Pt 2), F428-36. https://doi.org/10.1152/ajprenal.1999.277.3.F428

Fjeld, C. C., Birdsong, W. T., & Goodman, R. H. (2003). Differential binding of NAD ⁺ and NADH allows the transcriptional corepressor carboxyl-terminal binding protein to serve as a metabolic sensor.

Fleuriel, C., Leprince, D., Jonathan, V., Piston, D. W., Goodman, R. H., Wang, S., … Piston, D. W. (2015). Retraction for Zhang et al., Metabolic regulation of SIRT1 transcription via a HIC1:CtBP corepressor complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(7), E819–E819. https://doi.org/10.1073/pnas.1501052112

Foretz, M., & Viollet, B. (2009). Mécanisme d'action hépatique de la metformine dans le diabète de type 2. *Medecine Des Maladies Metaboliques*, *3*(1), 48–54. https://doi.org/10.1016/S1957-2557(09)70104-X

Forsyth, L. M., Preuss, H. G., Macdowell, A. L., Chiazze, L., Birkmayer, G. D., & Bellanti, J. A. (2017). Therapeutic effects of oral NADH on the symptoms of patients with chronic fatigue syndrome, *82*(2), 185–191. https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62595-1

Forsyth, L. M., Preuss, H. G., MacDowell, A. L., Chiazze, L., Birkmayer, G. D., & Bellanti, J. A. (1999). Therapeutic effects of oral NADH on the symptoms of patients with

chronic fatigue syndrome. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, *82*(2), 185–191. https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62595-1

Fuchsberger, C., Flannick, J., Teslovich, T. M., Mahajan, A., Agarwala, V., Gaulton, K. J., … McCarthy, M. I. (2016). The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature*, *536*(7614), 41–47. https://doi.org/10.1038/nature18642

Furman, B. L. (2015). Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocols in Pharmacology / Editorial Board, S.J. Enna (Editor-in-Chief) ... [et Al.]*, *70*(September), 5.47.1-5.47.20. https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0547s70

Gai, W., & Gleichmann, H. (n.d.). Differential Target Molecules for Toxicity Induced by Streptozotocin and Alloxan in Pancreatic Islets of Mice in Vitro. https://doi.org/10.1055/s-2004-815724

German, M. S. (2013). Anonymous sources: Where do adult β cells come from? *Journal of Clinical Investigation*, *123*(5), 1936–1938. https://doi.org/10.1172/JCI69297

Ghasemi, A., Khalifi, S., & Jedi, S. (2014). Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiologica Hungarica*, *101*(4), 408–420. https://doi.org/10.1556/APhysiol.101.2014.4.2

Goud. (2015). Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models, (1).
Grimaldi, A. (2000). Diabétologie, 142.

Gualandi-Signorini, a M., & Giorgi, G. (2001). Insulin formulations - a review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *5*, 73–83. https://doi.org/2001L0083 — ES — 16.11.2012 — 011.001 — 1

Guerin-Dubourg, A. (2014). *Structural and functional impairments of albumin in type 2 diabetes – Focus on cardiovascular disease-associated biomarker identification*.

Guillausseau, P. J., & Laloi-Michelin, M. (2003). Physiopathologie du diabète de type 2. *Revue de Medecine Interne*, *24*(11), 730–737. https://doi.org/10.1016/S0248-8663(03)00244-3

Haute Autorité de Santé. (2014). *Guide parcours de soins. Diabète de type 2 de l'adulte.*

Hayashi, K., Kojima, R., & Ito, M. (2006). Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, *29*(6), 1110–1119. https://doi.org/10.1248/bpb.29.1110

Hemmingsen, B., Christensen, L. L., Wetterslev, J., Vaag, A., Gluud, C., Lund, S. S., & Almdal, T. (2012). Comparison of metformin and insulin versus insulin alone for type 2 diabetes: systematic review of randomised clinical trials with meta-analyses and trial sequential analyses. *Bmj*, *344*(apr19 1), e1771–e1771. https://doi.org/10.1136/bmj.e1771

Hernández-Alvarez, M. I., Díaz-Ramos, A., Berdasco, M., Cobb, J., Planet, E., Cooper, D., … Zorzano, A. (2017). Early-onset and classical forms of type 2 diabetes show impaired expression of genes involved in muscle branched-chain amino acids metabolism.

Scientific Reports, *7*(1), 1–12. https://doi.org/10.1038/s41598-017-14120-6

Hilips, J. P., & Cheen, A. J. S. (2005). L ' Insulinothérapie Dans Le Diabète De Type 2, *2*(1), 419–423.

Ido, Y., Kilo, C., & Williamson, J. R. (1997). Cytosolic NADH/NAD+, free radicals, and vascular dysfunction in early diabetes mellitus. *Diabetologia*, *40*(SUPPL. 2), 115–117. https://doi.org/10.1007/s001250051422

Imai, S., & Guarente, L. (2016). It takes two to tango : NAD + and sirtuins in aging / longevity control. *Nature Publishing Group*, *2*(January), 1–6. https://doi.org/10.1038/npjamd.2016.17

Jacob, A., Salinas, K., Adams-Huet, B., & Raskin, P. (2007). Weight gain in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, *9*(3), 386–393. https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2006.00622.x

Jellinger, K. A. (2000). No evidence for cognitive improvement from oral nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) in dementia Short Communication, 1475–1481.

Jeon, S. M. (2016). Regulation and function of AMPK in physiology and diseases. *Experimental & Molecular Medicine*, *48*(7), e245. https://doi.org/10.1038/emm.2016.81

Katsarou, A., Gudbjörnsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., … Lernmark, A. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*, 1–18. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16

Knip, M. (2002). Can We Predict Type 1 Diabetes in the General Population? *Diabetes Care*, *25*(3), 623–625. https://doi.org/10.2337/diacare.25.3.623

Kostic, A. D., Gevers, D., Siljander, H., Vatanen, T., Hyötyläinen, T., Hämäläinen, A. M., … Xavier, R. J. (2015). The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host and Microbe*, *17*(2), 260–273. https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.01.001

Kumar, V., Fausto, N., & Abbas, A. (2005). *New Pathologic Basis of Disease. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders.* (Vol. 7th). https://doi.org/citeulike-article-id:4745943

Langlois, A. (2008). Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation : approche génétique ou pharmacologique ? *Sciences-New York*.

Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, 216–226. https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7

Levine, F., & Itkin-Ansari, P. (2008). β-cell regeneration: Neogenesis, replication or both? *Journal of Molecular Medicine*, *86*(3), 247–258. https://doi.org/10.1007/s00109-007-0259-1

Lin, N., Zhang, H., & Su, Q. (2012). Advanced glycation end-products induce injury to pancreatic beta cells through oxidative stress. *Diabetes and Metabolism*, *38*(3), 250–257.

https://doi.org/10.1016/j.diabet.2012.01.003

Lotfi, R. (2016). Metabolic and Anthropometric Effects of NADH RAPID ENERGY ® in Diabetic Type 2, *6*, 280–285. https://doi.org/10.17265/2159-5828/2016.05.005

Luippold, G., Bedenik, J., Voigt, A., & Grempler, R. (2016). Short- and longterm glycemic control of streptozotocin-induced diabetic rats using different insulin preparations. *PLoS ONE*, *11*(6), 1–12. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156346

Magnan, C., & Ktorza, A. (2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC - Endocrinologie*, *2*(4), 241–264. https://doi.org/10.1016/j.emcend.2005.07.001

Meijer, C. R., Discepolo, V., Troncone, R., & Mearin, M. L. (2017). Does infant feeding modulate the manifestation of celiac disease and type 1 diabetes? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *20*(3), 222–226. https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000367

Mohn, A., Kavan, C., Bourcelot, E., Zimmermann, C., & Penfornis, A. (2012). Insulinothérapie fonctionnelle : Un modèle d'approche éducative pour les patients ayant un diabète de type 1. *Medecine Des Maladies Metaboliques*, *6*(6), 469–476. https://doi.org/10.1016/S1957-2557(12)70465-0

Moller, D. E. (2001). New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature*, *414*(6865), 821–827. https://doi.org/10.1038/414821a

Muller, D. (2016). *Conséquences traductionnelles de la perte de 4E-BP1 dans l'adénocarcinome pancréatique*.

Nadlinger, K., Birkmayer, J., Gebauer, F., & Kunze, R. (2001). Influence of reduced nicotinamide adenine dinucleotide on the production of interleukin-6 by peripheral human blood leukocytes. *NeuroImmunoModulation*, *9*(4), 203–208. https://doi.org/10.1159/000049027

Nahdi, A. M. T. Al, John, A., & Raza, H. (2017). Elucidation of Molecular Mechanisms of Streptozotocin-Induced Oxidative Stress , Apoptosis , and Mitochondrial Dysfunction in Rin-5F Pancreatic β -Cells, *2017*. https://doi.org/10.1155/2017/7054272

Nakhaee, A. (2009). Attenuation of Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats By Eucalyptus Globulus. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *24*(4), 419–425. https://doi.org/10.1007/s12291-009-0075-1

Olek, R. A., Ziolkowski, W., Kaczor, J. J., Greci, L., Popinigis, J., & Antosiewicz, J. (2004). Antioxidant Activity of NADH and Its Analogue - An In Vitro Study, *37*(4), 416–421.
OMS. (2016). Rapport mondial sur le diabète 2013, 4.

Pipeleers, D., & Winkel, M. V. A. N. D. E. (1986). Pancreatic B cells possess defense mechanisms against cell-specific toxicity, *83*(July), 5267–5271.

Press, D. (2015). Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats, 2515–2525.

Prousky, J. E. (2011). Treating Dementia with Vitamin B 3 and NADH, *26*(4), 163–174.

Qinna, N. A., & Badwan, A. A. (2015). Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Design, Development and Therapy*, *9*, 2515–2525. https://doi.org/10.2147/DDDT.S79885

Raccah, D. (2004). Épidémiologie Et Physiopathologie Des Complications Dégénératives Du Diabète Sucré. *EMC - Endocrinologie*, *1*(1), 29–42. https://doi.org/10.1016/j.emcend.2003.10.003

Reibnegger, G., Greilberger, J., & Oettl, K. (2002). The antioxidative capacity of ENADA-NADH in humans, 37–41.

Rigalleau, V., Lang, J., & Gin, H. (2007). Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale.(EMC), Endocrinologie-Nutrition*, *10-366-D-1*(1), 12. https://doi.org/10.1016/S1155-1941(07)46586-6

ROMLI, H. (2016). *PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENT DU DIABETE DE TYPE 2 Pour l ' Obtention du Doctorat en Pharmacie*.

Rutledge, M. A., Jing, S., Forster, M. J., & Yan, L. (2017). Pancreatic mitochondrial complex I exhibits aberrant hyperactivity in. *Biochemistry and Biophysics Reports*, *11*(July), 119–129. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.07.007

Rutter, J. (2001). Regulation of Clock and NPAS2 DNA Binding by the Redox State of NAD Cofactors SUPLEMENTAL ONLINE MATERIAL. *Science*, *293*(July), 510–515.

S.Ripudaman, Hundal, M., Krssak, S., Dufour, D., Laurent, V., & Lebon, Visnathan Chandramouli, Silvio E. Inzucchi, William C. Schumann, Kitt F. Petersen, Bernard R. Landau, G. I. S. (2000). Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*, *49*(12), 2063–2069. https://doi.org/10.2337/diabetes.49.12.2063

Santé, M. de la. (2015). *GUIDE DE BONNES PRATIQUES EN DIABÉTOLOGIE*.

Santé, M. (2017). Glucophage (metformine).

Santin, I., Santos, R. S. Dos, & Eizirik, D. L. (2015). Pancreatic Beta Cell Survival and Signaling Pathways: Effects of Type 1 Diabetes-Associated Genetic Variants. *Methods in Molecular Biology*, (1341), 257–284. https://doi.org/10.1007/7651

Socorro, M., Esni, F., Surgery, T., Genetics, M., & Rangos, J. G. (2017). Pancreatic Regeneration : Models , Mechanisms , and Inconsistencies 2 . Injury models used to study pancreatic regeneration, 1–11. https://doi.org/10.3998/panc.2017.03

Solène, H. (2015). *Le diabète de type 1 et ses défis alimentaires quotidiens : apport de l ' insulinothérapie fonctionnelle avec l ' exemple de Samy Solène Huber To cite this version : HAL Id : dumas-01243515*.

Spiller, H. A., & Quadrani, D. A. (2004). Toxic Effects from Metformin Exposure. *Annals of Pharmacotherapy*, *38*(5), 776–780. https://doi.org/10.1345/aph.1D468

Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas.

Szkudelski, T. (2012a). Experimental Biology and Medicine. https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011372

Szkudelski, T. (2012b). Streptozotocin−nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011372

Szkudelski, T. (2013). Metabolic disturbances and defects in insulin secretion in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes. *Physiological Research*.

Tielmans, A., Laloi-Michelin, M., Coupaye, M., Virally, M., Meas, T., & Guillausseau, P. J. (2007). Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie). *Presse Medicale*, *36*(2 II), 269–278. https://doi.org/10.1016/j.lpm.2006.10.017

UZAN Johanna. (2016). *Thèse Pour Le Diplôme D ' État*.

Vergès, B. (2007). Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition Clinique et Metabolisme*, *21*(1), 9–16. https://doi.org/10.1016/j.nupar.2007.01.011

Vitale, S. G., Capriglione, S., Peterlunger, I., Lucia, V., Rosa, L., Vitagliano, A., … Zito, G. (2018). Review Article The Role of Oxidative Stress and Membrane Transport Systems during Endometriosis : A Fresh Look at a Busy Corner, *2018*.

Vrecko, K., Storga, D., Birkmayer, J. G. D., Möller, R., Tafeit, E., Horejsi, R., & Reibnegger, G. (1997). NADH stimulates endogenous dopamine biosynthesis by enhancing the recycling of tetrahydrobiopterin in rat phaeochromocytoma cells. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, *1361*(1), 59–65. https://doi.org/10.1016/S0925-4439(97)00016-1

Wang, D.-S. (2002). Involvement of Organic Cation Transporter 1 in Hepatic and Intestinal Distribution of Metformin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *302*(2), 510–515. https://doi.org/10.1124/jpet.102.034140

Wu, J., & Yan, L. J. (2015). Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, *8*, 181–188. https://doi.org/10.2147/DMSO.S82272

Wu, M., Liang, J., Lin, Y., Wu, E., Tseng, Y., & Chang, K. (2008). Aminoguanidine prevents the impairment of cardiac pumping mechanics in rats with streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetes, 758–764. https://doi.org/10.1038/bjp.2008.119

Yan, L.-J., Wu, J., Jin, Z., & Zheng, H. (2016). Sources and implications of NADH/NAD+ redox imbalance in diabetes and its complications. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 145. https://doi.org/10.2147/DMSO.S106087

Ying, W. (2006a). Department of Neurology, University of California at San Francisco and San Francisco Veterans Affairs Medical Center, 3129–3148.

Ying, W. (2006b). NAD+ and NADH in cellular functions and cell death, 3129–3148.

Young, B., O'Dowd, G., & Woodford, P. (2013). *Wheater's Functional Histology*. https://doi.org/10.1002/pauz.200790112

Tableau 1 : Évolution du poids corporel moyen en g des lots de groupe préventif.

Les lots	avant l'injection	48h après	72h aprés	5eme jour	7eme jour	9eme jour	11eme jour	13eme jour	15eme jour	17eme jour	19eme jour	21eme jour
Fed 500 mg/kg	180±38.97	192.33± 13.72	198± 15.50	192.66± 15.01	191.33± 15.17	195.66± 14.10	196.33± 15.70	205± 16.53	200.66± 17.07	205.33± 19.057	211.5± 19.89	215± 17.22
Fed 300mg/kg	161.83± 9.98	160.83± 10.34	162.5± 10.61	162.83± 9.66	163.5± 9.22	164.5± 9.60	165.33± 11.44	177.66± 9.20	175.5± 12.07	178.33± 11.63	186.33± 10.91	190.16± 10.57
Fed 150mg/kg	184.33± 8.47	181.83± 5.60	187.5± 8.01	182.33± 9.41	177± 12	183.16± 7.30	187.5± 4.59	198± 8.09	194± 6.78	197± 7.40	201.83± 6.73	204.16± 6.11
Fasted 500mg/kg	185.4± 8.08	181.4± 8.93	183.6± 9.68	191.4± 10.80	165.4± 14.67	169.6± 11.50	180± 13.65	184.2± 14.95	188.2± 15.33	191.4± 14.29	195.4± 14.77	198.4± 14.32
Fasted 300mg/kg	189.8± 12.98	184.8± 9.25	193.2± 12.87	188.2± 9.49	186.6± 10.28	193± 11.51	196.4± 12.17	197.4± 13.97	200.6± 11.99	204± 11.31	209.6± 12.09	212.2± 11.32
Fasted 150mg/kg	179.75± 13.04	169.5± 9.03	165.75± 10.84	164± 11.94	170.75± 12.86	172.25± 11.67	175± 10.61	180.5± 11.73	181.25± 10.90	184± 10.51	190± 11.16	193.75± 9.60
témoin diabétique fed	201.66± 21.06	180.66± 12.61	177.83± 14.46	175.83± 16.72	170.16± 15.13	174.16± 13.92	180.16± 12.18	186.66± 12.95	194.83± 13.18	201.5± 13.38	207.66± 11.36	210.33± 11.21
témoin diabétique fasted	185± 9.25	171± 9.51	166.16± 3.76	155.16± 13.61	145.33± 5.92	143.66± 4.22	147.66± 7.44	155.33± 7.81	163.33± 6.83	169.66± 7.63	174.83± 6.85	178.33± 6.80
témoin non diabétique	172.44± 8.80	175± 11.04	178.88± 11.22	182.88± 11.10	183± 9.61	186.11± 9.41	189.55± 8.90	192.11± 8.38	195.55± 7.12	198.22± 7.39	202.44 ±7.36	203.11± 7.33

Tableau 2 *:* Évolution du poids corporel moyen en g des lots de groupe curatif.

Les jours	Avant l'injection	72h après	5eme jour	7eme jour	9eme jour	11eme jour	13eme jour	15eme jour
NADH 1mg/kg	176.1± 5.36	159.2± 12.76	159.3± 14.47	156,6± 9.74	161,1± 13.82	157,3± 14.07	158,6± 13.83	162,8± 14.76
NADH 2mg/kg	169.7± 10.47	160.1± 13.13	154.1± 18.92	152,11± 20.03	160,11± 24.36	164,66± 25.02	164,33± 25.7	163,37± 26.74
NADH 3mg/kg	181.6± 11.25	168.8± 10.89	161± 12.64	161± 15.49	172,1± 17.58	169,9± 16.64	173,8± 13.55	171,9± 19.96
Metformine 750mg/kg	176.22± 9.02	163± 9.18	160.61± 13.27	160,66± 16.08	160,8± 16.98	157,88± 22.28	155,88± 21.58	151,11± 24.62
Témoin diabétique	185± 9.25	166.16± 3.76	155.16± 13.61	145.33± 5.92	143.66± 4.22	147.66± 7.44	155.33± 7.81	163.33± 6.83
Témoin non diabétique	172.44± 8.80	178.88± 11.22	182.88± 11.10	183± 9.61	186.11± 9.41	189.55± 8.90	192.11± 8.38	195.55± 7.12

Tableau 3 : Évolution de la glycémie en mg/dl des lots de groupe préventif.

Les lots	avant l'injection	48h après	72h après	5eme jour	7eme jour	9eme jour	11eme jour	13eme jour	15eme jour	17eme jour	19eme jour	21eme jour
Fed 500 mg/kg	143± 16.24	127± 11.44	148,66 ± 29.08	127,83± 9.32	102,5± 9.48	152± 16.26	128± 8.62	149,5± 18.88	134,83± 7.08	133,83± 13.99	122,5± 5.43	124,83± 6.58
Fed 300mg/kg	134,16± 8.15	143± 61.28	183,5± 128.06	139,33± 29.06	114,66± 29.36	163,74± 163.74	123,83± 14.93	120,33± 10.17	197,5± 132.98	181,66± 94.98	137,83± 30.09	123,83± 11.63
Fed 150mg/kg	144,83± 19.15	157± 22.65	120,5± 15.64	135± 6.78	109,5± 13.95	163,21± 163.21	123,5± 10.70	131,83± 5.07	144,83± 10.99	133,33± 6.91	124,5± 16.96	126± 15.92
Fasted 500mg/kg	118,33± 7.39	196,4± 64.52	234,4± 129.87	126± 18.42	109± 11.06	219,6± 122.43	125,4± 11.97	185,2± 123.91	143,6± 31.53	139,4± 20.75	129,8± 14.87	139,6± 14.92
Fasted 300mg/kg	130,66± 6.65	179± 49.08	147,6± 27.06	136± 18.2	129,6± 15.42	166± 18.13	136,2± 11.47	131,2± 11.38	147,2± 13.62	149,8± 10.42	128,4± 15.58	137,2± 12.87
Fasted 150mg/kg	129,33± 15.84	333,5± 139.7	127± 29.35	168,75± 74.12	154,25± 61.39	164,5± 30.38	130,25± 11.64	129± 23.35	140,5± 7.59	136,75± 9.28	133,5± 20.92	133,75± 18.62
témoin diabétique fed	145,16± 12.95	236± 130.03	262,16 ± 114.17	303,83± 154.14	174,33± 129.44	268,16± 138.48	234,83± 139.16	223,5± 106.15	239,33± 176.77	214,83± 140.55	225,16± 163.04	199,66± 195.97
témoin diabétique fasted	108,33± 10.3	499,16 ± 132.1	262,5± 87.63	453,83± 90.26	160,83± 68.67	442,5± 123.23	367,5± 202.38	274,33± 101.26	253± 76.77	232± 85.21	357± 223.52	200,33± 128.13
témoin non diabétique	113± 13.04	117,55 ± 7.26	114,33 ± 14.53	122,44± 10.9	114,22± 7.4	123,88± 11.15	107,33± 12.87	117± 11.97	128± 6.51	129,33± 24.44	122,22± 12.65	124,44± 18.9

Tableau 4 : Évolution de la glycémie en mg/dl des rats des lots de groupe curatif.

Les jours		Avant l'injection	72h après	5eme jour	7eme jour	9eme jour	11eme jour	13eme jour	15eme jour
NADH 1mg/kg	Avant traitement	111.6± 12.17	435± 126.51	379.6± 145.47	165± 67.73	424.2± 141	269.1± 150.43	275.2± 136.39	343.3± 169.83
	Après traitement		360.2± 182.43	304.5± 145.70	154.88± 52.52	374.6± 175.76	199.3± 122.03	129.1± 125.87	373.2± 193.05
NADH 2mg/kg	Avant traitement	112.3± 13.35	507.6± 133.64	480.2± 147.60	119.33± 25.41	473.44± 164.05	333.66± 194.04	290± 201.28	468.75± 181.25
	Après traitement		388.7± 164.42	430.6± 140.50	136.5± 47.93	426.44± 154.73	279.87± 180.24	258.33± 199.83	481± 170.96
NADH 3mg/kg	Avant traitement	124.2± 9.53	410.4± 143.62	434.4± 168.37	128.5± 21.41	410.7± 146.47	360.5± 187.96	312.9± 158.25	315.9± 158
	Après traitement		261.3± 135.65	400.4± 165.78	169.3± 77.89	395.9± 161.24	281.1± 152.84	262.3± 163.96	294.2± 154.18
MET 750mg/kg	Avant traitement	107.77±16.72	400± 179.79	407.7± 153.02	114.55± 12.79	346.1± 186.74	411.1± 92.08	416.2± 110.27	415.88± 109.18
	Après traitement		304.3± 163.11	346± 117.76	118.75± 24.12	139.2± 46.26	114.2± 25.46	104.8± 36.86	187.11± 112.88
Témoin diabétique		108.33± 10.3	262.5± 87.67	453.83± 90.28	160.83± 68.57	442.5± 123.23	367.5± 202.38	274.33± 101.26	252± 76.77
Témoin non diabétique		113± 13.04	114.3± 14.53	122.44± 10.9	114.22± 7.41	123.88± 11.15	107.33± 12.87	117± 11.97	128± 6.51