République Démocratique Algérienne et Populaire
Ministère de l'éducation supérieure et la recherche scientifique
Université Dr. Yahia Fares
Médéa

Faculté des sciences
Département Science de la nature et de la vie

MÉMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

En Biologie Médicale

Présenté Par

DJELLAL Merouane

THEME

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*

Devant le jury d'examen

Mr. Nabi Ibrahim	MAA à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Président
Pr. Benachour *Karine*	Professeur à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Promotrice
Dr. Abes *Rachida*	MCB à l'université Dr. Yahia Fares Médéa	Examinatrice
Dr. Otmanine Khaled	MAA à l'université Hassiba Benbouali Chlef	Co-promoteur

Année Universitaire 2016/2017

Remerciement

J’exprime d’abord mes profonds remerciements à Allah qui m’a donné le courage et la volonté d’achever ce travail.

Je voudrais tout d’abord remercier grandement mon encadreur de master, **Prof. *Benachour Karine***, Université Dr Yahia Fares Médéa, pour toute son aide, elle a été toujours là pour me soutenir et me conseiller au cours de l’élaboration de ce mémoire.

J’adresse également mes remerciements à notre doyen **Prof. *Oumouna Mustapha***, Université Dr Yahia Fares Médéa, pour l’avoir comme un deuxième père pour moi, d’avoir son aide, et qui a donné le tous pour notre département de biologie, Monsieur le professeur sans votre soutien morale et physique nous ne pourrons jamais réaliser ce modeste travail.

Je voudrai remercie aussi profondément Dr. ***Otmanine Khaled***, MAA université Hassiba Benbouali Chlef Pour sa contribution dans ce travail, son temps, sa générosité et son aide morale et physique. Dr. Je vous témoigne toutes mes reconnaissances.

Je voudrai remercie les membres du jury :

Madame ***Mouzaoui Fatimzohra,*** MAA Université Dr Yahia Fares Médéa vous nous a fait l’honneur d’accepter la présidence de notre jury de mémoire, et qui a sacrifie de son temps afin d’évaluer ce travail. Je lui témoigne toutes mes reconnaissances.

Dr. ***Abes Rachida,*** MCB Université Dr Yahia Fares Médéa, Qui m’a fait l’honneur d’examiné notre mémoire. Toute ma gratitude.

Nous Remercions aussi Monsieur ***MEDJADJI Omar***, ex-chef de département de physiquo-chimie, Complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL pour nous avoir accompagnés avec bienveillance et patience tout au long de notre travail expérimental. Pour avoir su nous soutenir et encourager quand il le fallait. Nous vous remercions, de nous avoir donné l’envie et le goût de poursuivre dans la recherche et de finaliser ce travail de mémoire. Que dieu puisse vous accueillir dans son vaste paradis.

Monsieur ***MAZARI Noureddine***, ex-Ingénieur de l’animalerie, service de toxicologie, complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL, rien de ces travaux n’aurait pu être possible sans votre contribution. Nous vous remercions pour votre encadrement et votre expertise technique si précise. Vous formez avec M. ***MEDJADJI Omar*** un duo remarquable de complémentarité et vous m’avez fait découvrir une vision conviviale et humaine de la recherche.

Sans oublié Pr. ***George Birkmayer*** qui a sponsorisé ce travail, Toute ma gratitude.

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À Mes parents :

*Ma mère **Messad Zineb**, 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.*

*Mon père **Ahmed**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.*

À Mes frères

***Nadhir,** et sa famille, **Benaissa**, **Mohamed** et sœur **Wassila** et ses enfant, et surtout à ma sœur **Fatima Zohra** Que dieu puisse vous accueillir dans son vaste paradis. Qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

À Mes frères qui ne portent pas le même nom mais qu'ils portent la même âme

Benlahoual Mohamed Fateh, Medjahed Mohamed Nazim, Mahdi Abdelazize, sans votre soutien morale et physique je ne réaliserai jamais ce mémoire, que Dieu vous protège.

À Mes collègues et mes amis

Daoudi Mohamed, Aissani Fatima zohra, Selma Hentabli, Younes, Amine, Amina, Oussama, Walid, Siefeddine, Nada, Amira, Mahdia, Chahinez, club MDC et toute la promotion de biologie médical 2017.

À Toutes la famille Djellal et la Famille Messad.

Djellal Merouane

Un homme qui ose perdre une heure
de temps n'a pas découvert la
valeur de la vie
Charles Darwin (1809- 1882)

SOMMAIRE

LISTE DES ABRÉVIATIONS
LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
RÉSUMÉ

INTRODUCTION……..……..……a

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE1 : Généralités sur le diabète..…….……..……2

1.1 Définition……..…..2
1.2 Classification……...2
1.2.1 le diabète de type 1 …….....2
1.2.2 le diabète de type 2 ……3
1.3 Diabète de type 2 …….3
1.3.1 Etiologie ……..…….3
1.3.2 Définition du diabète expérimentale …….....……....4
1.3.3 Diabète induit par la Streptozocine …….5
1.3.3.1 définition ……..5
1.3.3.2 Historique ……...6
1.3.3.3 Mode d'action …….……7
1.4 anatomie du pancréas……..…11
1.4.1 Histologie…..……..…….……12
1.4.1.1 le pancréas endocrine ……...12
1.4.1.2 le pancréas exocrine ……13
1.4.2 physiopathologie du diabète de type 2 ……13
1.5Epidémiologie..……..…….....15
1.6 Complications.……15
1.7 traitements …….16

CHAPITRE 2 : la metformine ……...……18

2. la metformine ……...18
2.1. Historique …….18
2.2 pharmacologie ……..……..19
2.3 Mode action et effets ……20

2.4 Toxicologie ……...23
2.4.1 Toxicité chez l'humain ……23
2.4.2 Effets tératogènes ……...24

CHAPITRE3 : NADH..…….…….....26

3.1 Définition ……..26
3.2 Historique ……..…….....27
3.3 NADH dans les sources alimentaire et les diabétiques ……..…….....27
3.4 Rôle du NADH dans le contrôle de l'intégrité du génome …….....28
3.5 NADH dans le système immunitaire.…….....29
3.6 L'activité antioxydante du NADH…….…….....29
3.7 NADH comme neurostimulants ……..…….…….30
3.8 Rôle du nicotinamide adénine dinucliotide (NAD) dans la génère de certaines pathologies humaines ……..……...….....31
3.9 Restriction calorique ……..32

PARTIE EXPERIMENTALE

Partie Expérimentale…….35

CHAPITRE 4: Matériels et Méthodes……...……...**35**

4.1 Matériel……35
4.1.1 Matériel biologique…….....35
4.1.2 Conditions de l'élevage……36
4.2 Matériels non biologiques……36
4.2.1produits chimiques……....36
4.2.2 appareillage de laboratoire……...36
4.3 Méthodes ……..……..37
4.3.1 Induction de diabète ..……..….37
4.3.2 Préparation des lots de rats ……..37
4.3.3 Marquage ……38
4.3.4 période d'acclimatation ……...38
4.3.5 Pesée ……38
4.4 Préparation des doses du produit administré ……...38
4.4.1 Traitement des animaux……. 39
4.5 Mesure de la glycémie ……40

4.6 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes …….. 40
4.7 Etude histologique ……..……..……...41
4.7.1 Circulation ……..41
4.8 Confection des coupes ……....42
4.8.1 Coloration des lames ……..42
4.8.2 Montage et lecture ……..42
4.9 Piégeage du radical libre DPPH……..43
4.9.1 Principe.……...43
4.9.2 Mode opératoire ……..43

CHAPITRE 5 : Résultats Et Discussion……...46
5.1 Résultats du diabète ……....46
5.2 Variation de la glycémie …….....46
5.2.1 Variation de la moyenne glycémique totale ……46
5.2.2 Variation journalières de la glycémie moyennes ……...47
5.3 Cinétique de la glycémie ……52
5.4 Interprétation des variations de la glycémie…….……...53
5.5 Pourquoi la metformine et pourquoi le NADH ……..55
5.6 Lecture histologique ……54
5.7 Test de pouvoir antioxydant ……...62

CONCLUSION ET PERSPECTIVE……...…… 65
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES…….66

FID	Fédération International des Diabètique
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADO	antidiabétique oraux
ADP	Adénosine Di Phosphate
AL	Acide Lactique
AMPK	Adénosine Mono Phosphate Kinase
ATP	Adénosine Triphosphate
DID	Diabète insulinodépendant
DL50	Dose Létale 50%
DNID	Diabète non insulinodépendant
ER	Réticulum Endoplasmique
FDA	Food and drug administration
GLUT 2	OpenGL Utility Toolkit
H&E	Hématoxyline éosine
H2O2	Eau Oxygéné
IC 50	Concentration Inhibitrice 50%
IP	Intrapéritonéal
LKB	Liver Kinase B
MET	Metformine
MODY	Maturity onset diabetes of the young
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucleotide
NFK	Nicrotic Factor Kinase
NO	monoxyde d'azote
NOD	non obese diabetic
OMS	organisation mondiale de la santé
ONAB	Office national des Aliment de Bétails
PARP	Poly Adénine Di phosphate Ribose polymérase
PKC	Protéine Kinase C
ROS	espèce reactive d'oxygène
STZ	Streptozocine
TH	Tyrosine Hydroxylase
TSC	The Tuberculosiss Complex

Liste des figures

Figure1.1: Mode d'action la Streptozocine dans les cellules β du pancréas de rat……9

Figure 1.2 : Représentation schématique du processus intracellulaires de toxicité de la Streptozocine…….10

Figure 1.3 : Schéma illustrant la position du pancréas dans la cavité abdominale Principaux constituants biologiques actifs du gingembre.....…….11

Figure 1.4 : Schéma illustrant les principaux conduits pancréatiques ...…….……11

Figure 1.5 : (a)Une coupe histologique du pancréas (X40). (b) ilot de Langerhans (H&EX100) …….…….……....12

Figure 1.6: Ilots de Langerhans immunohistochimie …….12

Figure 1.7 : Physiopathologie de diabète de type 2 ……..…..……..……...14

Figure 2.1 : Schéma résumant les mécanismes sous-jacents à la régulation induite par l'AMPK de diverses voies métaboliques. ……..……...……...21

Figure 2.2 Mécanismes possibles des effets antidiabétiques de l'ATM En réponse à la metformine……21

Figure 2.3 : Les mitogènes activent mTOR indépendamment d'Akt à travers la voie Ras / Mek / ERK, la voie de signalisation Wnt et par l'activation de la phospholipase D…….…….....22

Figure 2.4 : Rôle intégratif de l'AMPK dans le diabète et le cancer. Ce modèle décrit le rôle intégratif de l'AMPK dans le diabète et le cancer…….....23

Figure 3.1 : Structure de NAD+ (a) et NADH (b)…….……...……...26

Figure 3.2 : schéma représentatif de l'intervention du NADH dans l'apoptose. Rat wistar mâle ……..……31

Figure 3.3 : l'intervention de NADH dans la restriction calorique……..32

Figure3.4 : l'intervention du NADH dans le diabète de type 2. ……..……...33

Figure4.1 : Rats Wistar utilisé dans l'expérience……..……...……35

Figure4.2 : Lecteur de glycémie contour plus. ……40

Figure4.3 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH……..43

Figure 5.1 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne ……46

Figure 5.2 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 1 er jour ……...…47

Figure 5.3 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 2ème jour……...…….48

Figure 5.4 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 3ème jour…….....48

Figure 5.5 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 4ème jour…….....49

Figure 5.6 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 5ème jour ……..…… ….49

Figure 5.7: Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 6ème jour……..…….50

Figure 5.8 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 7ème jour……....50

Figure 5.9 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 8ème jour……51

Figure 5.10 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 9ème jour……51

Figure 5.11 : Représentation schématique de la cinétique de la glycémie pour le lot de metformine.……...……....52

Figure 5.12 : Représentation schématique de la cinétique de la glycémie pour le lot de NADH à forte dose……....52

Figure 5.13 : Représentation schématique de la cinétique de la glycémie pour le lot de NADH à faible dose. ……....53

Figure 5.14 : Contrôle négatif G 10x. Ilots de Langerhans sains ……..……56

Figure 5.15 : Contrôle négatif G10x. Ilot de Langerhans sain…….……..……..…...56

Figure 5.16 : Contrôle négatif G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans ……..…....…….56

Figure 5.17 : Contrôle négatif G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans..……...…….…….56

Figure 5.18 Contrôle positif G10x. Ilots de Langerhans atrophiés …… 57

Figure 5.19 Contrôle positif G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans .....….....57

Figure 5.20 : Contrôle positif G 100x. Détails d'un ilot de ……...…….....57

Figure 5.21 : Metformine G 10x. Deux ilots de Langerhans ……..58

Figure 5.22 : Metformine G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans……..……..58

Figure 5.23 : Metformine G 100x. Vaisseaux sanguins irrigant un ilot de Langerhans …….…….……58

Figure 5.24 : NADH Faible dose G 10x. Ilots de Langerhans de forme irrégulière ……..…….....59

Figure 5.25 : NADH Faible dose G 40x. Vaisseaux sanguins irrigant un ilot de Langerhans……59

Figure 5.26 : NADH Faible dose G 100x. Vaisseaux sanguins parcourant un ilot de Langerhans …….……..……59

Figure 5.27 : NADH forte dose G 10x. Deux ilots de Langerhans de forme irrégulière …….……..……60

Figure 5.28 : NADH forte dose G 40x. Vaisseaux sanguins irriguant un ilot de Langerhans ……...60

Figure 5.29 : NADH forte dose G 100x. Détails des vaisseaux sanguins irrigant un ilot de Langerhans ……..……...……..60

Figure 5.30 : Graphe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du NADH…….……62

Figure 5.31 : Graphe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'Acide Ascorbique……..63

Figure 5.32 : Comparaison de L'IC50 de NADH. Avec l'acide ascorbique (vitamine C) ……...64

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Tableau illustrant les Propriétés chimiques de la Streptozocine ……7
Tableau 2.1 : les caractéristiques de la metformine. ……...19
Tableau 3.1 : Autres dénominations connues du NADH ……...27
Tableau 4.1 : représente les matériaux utilisés dans le laboratoire ……..36
Tableau 4.2 : répartition des lots des rats……... 37
Tableau 5.1 : les différentes concentrations de NADH et leurs absorbances dans la longueur d'onde λ 515 nm. …….…….62
Tableau 5.2: les différentes concentrations d'acide ascorbique et leurs absorbances dans la longueur d'onde λ 515 nm……63
Tableau 5.3: Les valeurs d'IC50……..64

Résumé

Le diabète est une maladie très fréquente dans le monde entier. Il est traité par l'insuline et les antidiabétiques oraux pouvant être à l'origine d'effets secondaires graves. Pour ce faire la recherche d'une voie thérapeutique moins toxique est de mise.

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'activité antidiabétique de la Nicotinamide Adénosine Dinucleotide (NADH), déjà connue pour ses capacités hypoglycémiantes chez les diabétiques et essayer de lui attribuer une fonction régénérative spécifique des cellules β de Langerhans tenant compte de son potentiel régénératif chez d'autres types cellulaires.

Le modèle expérimentale animale constitué de rats *Wistar* rendues diabétique par l'injection intraperitoneal (IP) de deux doses de Streptozocine (STZ) à 48h d'intervalle, nous a permis de mesurer les variation de la glycémie chez les différents lots départagés à des fins expérimentales.

Il s 'agit de deux lots à deux dose croissantes de NADH soit 100mg/kg et 350mg/kg respectivement, un lot traité à la Met en plus du contrôle positif diabétique et du contrôle négatif sain.

Les résultats confirment l'effet hypoglycémiant du NADH toutes doses confondues ainsi que celui de la Metformine.

L'effet régénératif du NADH ne pouvant pas être prouvé à cause de la courte durée de l'expérimentation, une normo glycémie propre aux lots NADH a été par contre observée.

Néanmoins, un effet directe du NADH et de la met sur l'amélioration du climat cytotoxique des ilots de Langerhans pouvait se révéler par la présence d'une dynamique vasculaire omniprésente chez le contrôle positif mais quasi absente chez le témoin diabétique.

Toute fois l'observation d'un effet hypoglycémiant à normoglycémiant persistant du NADH même après deux jours de sevrage thérapeutique lui confère la capacité probable d'une action directe sur les cellules β contrairement à l'effet bien connu de la Metformine qui agirait quant à elle sur la voie hépatique des Map kinases (MAPK).

En conclusion l'aspect multi tentaculaire du NADH lui confèrerait des possibilités thérapeutique future très prometteuses à l'abri de tout risque de toxicités hépatorénales secondaires et pourquoi pas un effet thérapeutique totale.

Ceci **Mots clés :** *diabète de type 2, Streptozocine, NADH, Metformine, rats diabétique.*

Abstract

Diabetes is a very common disease worldwide. It is treated with insulin and oral antidiabetics that can cause serious side effects. In order to do this research for a less toxic therapeutic route.

The objective of this work is to evaluate the antidiabetic activity of Nicotinamide Adenosine Dinucleotide (NADH), already known for its hypoglycaemic capacities in diabetics and to try to attribute to it a regenerative function specific to β cells of islets of Langerhans, taking into account its regenerative potential in other cell types.

The experimental animal model consisting of *Wistar* rats rendered diabetic by intraperitoneal (IP) injection of two doses of Streptozocin (STZ) at 48 h intervals, allowed us to measure the variation in blood glucose in the different batches separated for purposes experimental.

These are two increasing two-dose batches of NADH, i.e. 100mg / kg and 350mg / kg respectively, a lot treated with the Met in addition to positive diabetic control and healthy negative control.

The results confirm the hypoglycaemic effect of NADH at all doses combined with that of Metformin. The regenerative effect of NADH cannot be proved, because of the short duration of the experiment, whereas a normal glycaemia specific to NADH batches was observed.

Nevertheless, a direct effect of NADH on the improvement of the cytotoxic climate of the Langerhans islets can be demonstrated by the presence of a vascular dynamic, which is omnipresent in the positive control but almost absent in the diabetic control.

Nevertheless, the observation of a hypoglycaemic effect with persistent normoglycemic NADH even after two days of therapeutic withdrawal confers the probable capacity of a direct action on the β cells in contrast to the well-known effect of Metformin, which would act as she is on the hepatic route of Map kinases (MAPK).

In conclusion, the multi-sprawl aspect of NADH would give it very promising future therapeutic possibilities free from any risk of secondary hepatic and renal toxicities and why not a total therapeutic effect.

Keywords : *Type 2 diabetes, Streptozocine, NADH, Metformin, diabetic rats.*

الملخص

مرض السكري هو مرض شائع جدا في جميع أنحاء العالم. يتم التعامل معه بالأنسولين والمضادات السكري عن طريق الفم التي يمكن أن تسبب آثارا جانبية خطيرة. قمنا بهذا البحث للحصول على مسار علاجي أقل سمية.

والهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للسكري من نيكوتيناميد دينوكليوتيد أدينوسين (ناد)، المعروف بالفعل لقدراته في خفض مستوى السكر في الدم لمرضى السكري ومحاولة أن يعزو إليها وظيفة التجدد محددة لخلايا جزر من لانجرهانز، مع الأخذ بعين الاعتبار إمكانية التجدد في أنواع الخلايا الأخرى.

النموذج الحيواني في التجربة يتكون من جرذان ويستار بعد ان قمنا بإحداث داء السكري عن طريق حقنة عبر البطن، جرعتين من ستريبتوزوسين على فترات 48 ساعة، سمح لنا لقياس الاختلاف في مستوى السكر في الدم في دفعات مختلفة فصل لأغراض تجريبية.

حيث قدمنا جرعتين من ناد، أي 100 / mgكغ و350 ملغ / كغ على التوالي، بالإضافة إلى مجموعة تم التعامل معها بالميتفورمين ومجموعة أخرى كشاهد إيجابي على مرض السكري و مجموعة الشاهد السلبي على المرض.

النتائج تؤكد أن تأثير تراجع نسبة السكر في الدم من ناد في جميع الجرعات جنبا إلى جنب مع ذلك من الميتفورمين.

لا يمكن إثبات الأثر التجديدي لل ناد، وذلك بسبب مدة قصيرة من التجربة، في حين لوحظ وجود نسبة السكر في الدم طبيعية مقارنة مع جرعات ناد.

ومع ذلك، فإن التأثير المباشر لل ناد على تحسين المناخ السام للخلايا من الجزر لانجرهانز يمكن إثباتها من خلال وجود ديناميكية الأوعية الدموية، والتي هي في كل مكان في السيطرة الإيجابية ولكن غائبة تقريبا في السيطرة على مرض السكري.

ومع ذلك، فإن رصد انخفاض نسبة السكر في الدم إلى نسبة السكر في الدم الطبيعية عند المجموعة المعالجة بالناد مستمر حتى بعد يومين من الانسحاب العلاجي، حيث يعطي القدرة المحتملة للعمل المباشر على الخلايا، على النقيض من تأثير معروفة من الميتفورمين، والتي من شأنها أن تعمل كما هي على المسار الكبدي من خريطة الكاياناز

في الختام، فإن الجانب متعدد التمدد من ناد تعطيه إمكانيات علاجية مستقبلية واعدة جدا خالية من أي خطر من سمية الكبد والكلى الثانوية ولماذا ليس تأثير علاجي الكلي.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري 2، ستربتوزوسين، ناد، ميتفورمين، مرض السكري للجرذان.

Introduction :

Le diabète est un syndrome caractérisé par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de la sécrétion ou de l'action de l'insuline. Cette physiopathologie a une étiologie variable. Plusieurs défaillances existent et caractérisent les différentes formes du diabète.

Les chiffres se révèlent inquiétants ; en effet, la fédération internationale du diabète (FID) estime à environ 415 millions le nombre de diabétiques dans le monde en 2015 ce qui représente 9,09% de la population mondiale. En Afrique la prévalence des diabétiques est de 5,2% ***(FID 2015)***

Avant l'ère de l'insulinothérapie, les diabétiques mourraient rapidement de coma acidocétosique. Depuis l'avènement des antibiotiques, les infections sévères sont jugulées, et ces deux progrès remarquables ont permis d'augmenter considérablement l'espérance de vie des diabétiques ***(Wright et al., 1980).***

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques touchant, particulièrement, les yeux, les nerfs, les reins, le cœur et les vaisseaux. Ces complications constituent toute la gravité du diabète. Tous ces effets nocifs de l'hyperglycémie justifient le besoin d'équilibrer aussi parfaitement que possible le taux du glucose dans le sang ***(Diarra and Adji 2015).***

Un bon contrôle glycémique est basé sur un régime alimentaire équilibré et hypocalorique, l'exercice physique et le traitement médicamenteux. Ce dernier est représenté seulement par l'insuline chez les diabétiques de type 1. Aussi, il est constitué des antidiabétiques oraux (ADO) et d'insuline chez les diabétiques de type 2.

La physiopathogénie du diabète de type 2 est principalement marquée par une Insulinorésistance et un déficit d'insulinosécrétion. Sa prise en charge consiste d'une part à lutter contre cette insulinorésistance par les activités physiques, les mesures hygiéno-diététiques, les médicaments insulinosensibilisateurs, et d'autre part de palier au déficit de sécrétion d'insuline par des médicaments insulinosécréteurs.

Les médicaments actuellement utilisé sont de famille des biguanides. La metformine, est un biguanide découvert en 1957 est l'antidiabétique oral le plus prescrit au monde notamment en Algérie où elle est plus accessible gratuitement à toute la population diabétique dans les centres de santé. Insulinosensibilisateur par excellence, la metformine est un médicament bien toléré ***(Diarra and Adji 2015)***. Cependant, son utilisation impose un respect de ses différentes contre-indications notamment l'altération de la fonction rénale ou la méconnaissance de l'état de la fonction rénale ou encore par une clairance de la créatinine inférieure à 60ml/min ***(Diarra and Adji 2015).***

Le Nicotinamide Adénine Dinucleotide (NAD) a été découvert en 1905 dans la levure, et a été initialement nommé Cozymase. Depuis plus de 90 ans, il a été largement décrit dans plusieurs manuels de biochimie ***(Birkmayer, 1993).***

L'endommagement du socle génétique serait responsable de nombreuses maladies chroniques telles que le diabète. Par conséquent, il est impératif que notre matériel génétique reste inchangé afin de garantir un renouvellement cellulaire indemne de toute altération génomique aussi bien au niveau des cellules somatiques que, progénitrices.

Un remède émergent de régénération cellulaire, le NADH source inépuisable d'énergie serait la molécule clé par excellence afin de réorienter le destin cellulaire et en préférant la survie à la mort cellulaire. ***(Birkmayer 1993)(Siu,et al 2007).***

Parmi les 1er utilisations du NADH dans la recherche est de testé l'effet régénératif des cellules dans le traitement de la maladie de Parkinson par *Walther Birkmayer*, ainsi que le travail de *George Birkmayer* qui a été consacré dans le traitement des maladies cardiovasculaire.

Par contre ce présent travail consiste à l'utilisation du NADH comme une molécule de stimulation de la régénération des cellules B de Langerhans du pancréas.

La 1ère partie de ce mémoire est constitué d'une recherche bibliographique qui commence par généralités sur le diabète et leur pathogénie, ainsi que des généralités sur les biguanides et notre produit Metformine, se poursuit par une vue générale sur le Nicotinamide Adénine Dinucleotide (NAD).

La 2ème partie est répartie en deux chapitres, elle présente l'approche expérimentale suivie, et le deuxième chapitre présente les résultats obtenus suivis de leur discussion. Et nous finissons par une conclusion générale et perspective.

1. Généralités sur le diabète

1.1. Définition

Le diabète sucré est une affection qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou que l'organisme ne peut utiliser de manière efficace l'insuline qui est produite.***(Margaret et al. 2016)*** Il se reconnaît par une élévation chronique de la glycémie qui s'accompagne par une polydipsie, polyurie, asthénie, polyphagie, amaigrissement ou obésité, et des troubles de la conscience aboutissant à un coma mortel ***(Buysschaert & Herman, 1998; Raccah, 2004; Calop, 2008)***.

C'est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologies diverses, caractérisé par une hyperglycémie chronique, accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiques, résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, d'une altération de son action ou de ces deux anomalies associées. A long terme, cette hyperglycémie chronique est à l'origine de complications affectant en particulier les yeux, les reins, les nerfs, le cœur ainsi que les vaisseaux sanguins ***(Alberti et Zimmet, 1998 ; OMS, 1999 ; Rodier, 2001 ; ADA, 2008).***

Le diabète sucré s'accompagne aussi d'une hyperglycémie chronique, où l'on observe une glycémie à jeun supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) et une glycémie post- prandiale supérieure à 2g /l (11,1 mmol/l). Une hyperglycémie peut aussi être provoquée dans ce cas par deux prises orales d'un concentré glucosé, les répercussions majeures d'une telle élévation de la glycémie sur l'intégrité vasculaire se manifesteraient à long terme par des micros et macroangiopathies. ***(Sachon et al. 2004 ; ADA, 2007).***

1.2. Classification

Il existe deux principales formes cliniques de diabète correspondant à deux mécanismes pathogéniques différents : le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1et le diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2**.**

1.2.1 Le diabète de type 1

Le diabète de type 1, auparavant appelé diabète insulino-dépendant (DID), représente environ 10% des cas de diabète. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte, c'est pourquoi il est aussi appelé "diabète juvénile". Les symptômes classiques les plus manifestes sont, une sécrétion excessive d'urine (polyurie), une sensation de soif (polydipsie) ainsi qu'une perte de poids, d'où son autre dénomination de "diabète maigre".

C'est une maladie auto-immune conduisant à la destruction sélective et progressive des cellules β pancréatiques, productrices d'insuline. Cette destruction résulte de la production d'auto-anticorps dirigés contre des antigènes des cellules β. Ce processus de destruction entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique permanente. Le pancréas étant incapable de produire l'insuline, la survie de ces malades dépend entièrement d'injections quotidiennes de cette hormone, d'où son nom de diabète insulino-dépendant. ***(Buysschaert et al., 1999; Boitard, 2002; Delattre et al., 2003).***

1.2.2. Le diabète de type 2

C'est la forme la plus fréquente du diabète sucré, regroupe près de 85% des cas diabétiques. Parfois faussement appelé « diabète gras », elle survient majoritairement après 40 ans chez les sujets obèses et sa prévalence augmente avec l'âge **(*Buysschaertet al. 1999).***

Le diabète non insulinodépendant (DNID) est caractérisé par une sécrétion persistante et importante d'insuline, qui est sécrétée par le pancréas chaque fois que la glycémie a tendance à s'élever, après les repas et au contraire, freinée dans les situations de jeûne à distance des repas. On parle de résistance à l'insuline ou d'insensibilité à l'insuline ***(Geoffrey et al., 2005)***.Les principaux facteurs cliniques d'insulinorésistance sont, l'obésité, la sédentarité, l'âge et les facteurs génétiques familiaux, cette forme peut être maîtrisée par un régime alimentaire spécial, des médicaments par voie orale et un exercice physique systématique ***(Gmenezet al., 2002).***

1.3. Diabète de type 2

1.3.1. Étiologie

Le diabète detype 2 apparaît le plus souvent comme une maladie polygénique (70 à 85%) à début tardif ***(Velho et Froguel, 1997)*** ; hétérogène et multifactorielle résultant de l'interaction des prédispositions génétiques avec les facteurs de l'environnement ***(Halimi et al. 1999 ; Östenson et al. 2001).***

Des formes monogéniques, liées à une mutation portant sur un seul gène ont été décrites à l'origine dans la plupart des cas d'une insulinopénie comme dans les diabètes de type MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) ou les diabètes mitochondriaux ***(Byrne et al., 1995 ; Byrne et al., 1996 ; Velho et al., 1996).***

Elles représentent moins de 5 % de l'ensemble de tous les diabètes de type 2, et semblent indépendantes des facteurs liés à l'environnement **(Halimi et *al.*, 1999).**

Plusieurs gènes ont été associés au dysfonctionnement des cellules β-pancréatiques, tels que les gènes codant les facteurs de transcription, les protéines impliquées dans le métabolisme du glucose et les molécules de la voie de signalisation de l'insuline ***(Sladek et al., 2007; Meyre et al., 2009).***

Les facteurs d'environnement jouent un rôle fondamental dans la genèse du diabète de type2. Ainsi, l'obésité constitue le principal facteur de risque de diabète de type 2 ***(Golditz et al. 1995 ; Fumeron, 2005 ; Young, 2010).*** 80% des diabétiques de type 2 présentent une obésité dite androïde caractérisée par un excès de tissus adipeux intra-abdominal **(Halimi, 2002)**. En effet des études prospectives ont indiqué que l'obésité androïde ou centrale avec une répartition de la graisse à la partie supérieure du corps apprécié par la mesure du rapport taille/hanches, est plus diabétogène que l'obésité gynoïde ***(Tourniaire et al., 1994).***

Quel que soit la population étudiée, la prévalence du diabète de type 2 augmente avec l'âge ***(French et al., 1990 ; Dornan, 1994 ; Gourdy et al., 2001).***

De plus l'origine ethnique ***(King et Rewers, 1993 ; Marshall et al., 1993*)** ; Le déséquilibre alimentaire ***(Nuttall et Gannom, 1981 ; Zimmet, 1992),*** la sédentarité (***OMS, 1985 ; Helmrich et al., 1991).*** Le niveau socio-économique ***(Golay et al., 1994 ; Harris, 1984)***, le stress ***(Surwit, 1992)*** et la consommation ou l'utilisation de certains médicaments ou certains agents chimiques (les corticoïdes, les diurétiques, la prolactine, les inhibiteurs des récepteurs β-adrénergiques ***(NDDG, 1979)***, la streptozotocine, l'alloxane, les quinoléines, la pentamidine et les produits N-nitrosés ***(Golay et al., 1994)*** sont des facteurs prédisposant au développement du diabète de type 2. Il est à noter, que le sexe comme tel n'est pas considéré comme un facteur de risque pour le diabète de type 2 **(*Barceló, 1996).***

1.3.2. Définition du diabète expérimental

Le diabète expérimental consiste à produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme afin de trouver de nouvelles thérapies ***(Wright S, et al. 1980).***

Les études sur la physiologie du pancréas endocrine ont été réalisées chez l'humain, mais également très fréquemment dans des organismes modèles, la plupart du temps le rat ou la souris. Diverses techniques ont pu être appliquées à ces organismes, notamment des techniques chirurgicales pour effectuer la perfusion du pancréas. La fonction endocrine du pancréas dans

le contexte pathologique du diabète a pu être abordée avec ces organismes dans différents modèles expérimentaux de diabètes **(*Glauser D. 2007).***

Ceux-ci comprennent, par exemple, le diabète induit par le vieillissement chez le rat, le diabète d'origine génétique, comme pour les souris NOD ('non-obese diabetic'). Le diabète induit par le régime alimentaire comme chez le rat des sables (*Psammomysobesus*). Ainsi que des modèles de diabète induit par des composés organiques comme : **(*Glauser D. 2007)*** alloxane, streptozocine, l'acide ascorbique et ses dérivés, styrylquinoline 90, diethyldithiocarbonate de sodium, acide urique, …etc sont quelques-uns d'entre eux **(*Sudha , M.J. 2012),*** ou par la chirurgie du pancréas (ablation partielle) ***(Lunzen S. 2012).***

Le diabète expérimental par pancréatectomie n'est plus très utilisé pour des raisons de difficultés techniques et aussi parce que la pancréatectomie supprime, non seulement la sécrétion d'insuline ce qui est le but recherché, mais aussi celle d'autre hormone comme le glucagon produit par les cellules α des îlots et qui 'est impliqué dans le métabolisme glucidique ***(Lunzen S. 2012).***

Or on sait que, dans la grande majorité des diabètes humains, seules les cellules β des îlots qui sécrètent l'insuline sont touchées alors que les autres catégories cellulaires, notamment les cellules α sont intactes. Aussi a-t-on recours de préférence, pour induire des diabètes expérimentaux, à des drogues qui lèsent sélectivement la cellule β comme l'alloxane et surtout la streptozocine qui est la plus employée actuellement **(*Lunzen S. 2012).***

Ces produits chimiques très pratique et simple à utiliser détruisent sélectivement les cellules β du pancréas ***(Szkudelski T. 2001)*** et sont des analogues cytotoxiques du glucose ***(Lunzen S. 2012).***

Tandis que les mécanismes d'action cytotoxique des deux composés sont différents, le mécanisme de la sélectivité de l'action des cellules β est identique ***(Lunzen S. 2012).***

1.3.3. Diabète induit par la Streptozocine

1.3.3.1. Définition

La streptozotocine ou Izostazin ou Zanosar (STZ) **(*Akbarzadeh A., et al 2007*)** ou estreptozocina, ou, streptozocinium**.** La streptozocine est un antibiotique isolé à partir de *Streptomycesachromogene* ***(Alejandro D., et al 2002).***

C'est une glucosamine nitrosé ***(Anderson T.,et al 1974 ; Povoski SP., et al. 1993),*** qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans ***(Crouch R., et al.1978).***

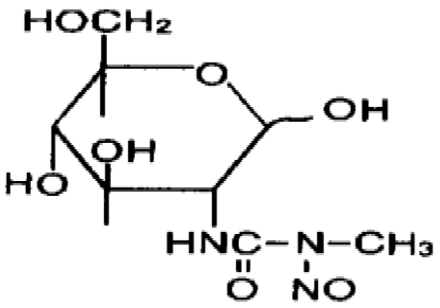
La STZ est un analogue du glucose pour le récepteur GLUT2. Elle pénètre ainsi spécifiquement dans les cellules β où son pouvoir alkylant induit de nombreux dommages. Elle est ainsi utilisée dans le traitement des insulinomes ***(Emre Y., 2007).***

1.3.3.2 Historique

Streptozocine a été initialement identifié dans les années 1950 comme un antibiotique. La drogue a été découverte dans une souche de microbes du sol *Streptomycesachromogenes* , par des scientifiques de la société Upjohn de drogue ***(Alejandro D., et al 2002).***

Au milieu des années 1960, la Streptozocine a été trouvé pour être sélectivement toxique pour la cellule bêta des îlots de Langerhans, les cellules qui régissent normalement les niveaux de glucose dans le sang par la production de l'hormone insuline. Cela suggère l'utilisation de la drogue sur un modèle animal du diabète, et comme un traitement médical pour les cancers des cellules bêta. Dans les années 1960 et 1970, l'institut national du cancer ; ont étudié l'utilisation de streptozocine dans la chimiothérapie du cancer. La FDA accepte le dossier d'enregistrement de la streptozotocine comme traitement pour le cancer des cellules du pancréas exocrine en Novembre 1976, et ce n'est qu'en Juillet 1982 que l'approbation a été accordée. Le médicament a ensuite été commercialisé sous le nom déposé de Zanosar ***(Alejandro D., et al 2002).*** La Streptozocine est maintenant commercialisé par la société pharmaceutique sous le générique Sicor (Teva) ***(Alejandro D., et al 2002).***

Tableau 2 : Tableau illustrant les Propriétés chimiques de la **Streptozocine** ***(Emre Y., 2007 ; Alejandro D., et al.2005 ; Rajasekaran S.et al.2005).***

La formule chimique	
Nom chimique	2-Deoxy-2-[[(methylnitrosoamino)-carbonyl] amino]-Dglucopyranose .
Formule moléculaire	$C_8H_{15}N_3O_7$
Masse moléculaire	265.221 g/mol
La demi-vie	35-40 minutes

1.3.3.3. Mode d'action

Le mécanisme d'action de cet agent diabétogène reste encore mal connu. Cependant, des études antérieures ont montré son action sur les îlots de Langerhans, en réduisant la masse des cellules β et par conséquent une insulinopénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire ***(Szkudelski T., et al. 2002 ; Rajasekaran S.et al.2005).***

Le glucose qui constitue la molécule de la STZ, permet sa pénétration dans les cellules β pancréatiques à travers les transporteurs de glucose GLUT2 ***(Akbarzadeh A., et al.2007).*** A l'intérieur de la cellule, la STZ provoque :

- la libération de monoxyde d'azote (NO).
- la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS).
- l'alkylation de l'ADN.
- l'épuisement de l'ATP des cellules β.
- l'inhibition de l'enzyme N-acétyl glucosamine sélective N - glycosylation des protéines acétyl-BD-glucosaminidase et irréversible (Alejandro D., *et al.*2005).

La génération de NO au cours de la métabolisation cellulaire de STZ, cause des dommages cellulaires au niveau de l'ADN des cellules des îlots du pancréas de rat ***(Alejandro D., et al.2005).***

La participation du monoxyde d'azote (NO) dans l'effet cytotoxique de la STZ, a été confirmée dans plusieurs expériences, Cependant, il ne serait pas la seule molécule responsable de l'effet cytotoxique de cette dernière ***(Akbarzadeh A., et al.2007).***

La STZ génère également des espèces réactives de l'oxygène, qui contribuent aussi à la fragmentation de l'ADN et à d'autres changements délétères dans les cellules ***(Akbarzadeh A., et al.2007).***

La STZ causerait la fragmentation de l'ADN en stimulant la production accrue du radicale O2 par le système de la xanthine oxydase du pancréas ce qui engendrerait une concentration élevée du radicale H2O2 ***(Alejandro D., et al.2005).*** Il est généralement admis que la toxicité de la Streptozocine est dépendante de l'activité d'alkylation de l'ADN et de son groupement méthylnitrosourée, en particulier en O_6 de guanine. Le transfert du groupe méthyle à partir de la streptozocine de la molécule d'ADN provoque des dommages, qui le long d'une chaîne d'événements définis, entraîne la fragmentation de l'ADN, ce qui active la poly (ADP-ribose) polymérase, enzyme clé de la réparation de l'ADN. Cette réaction consomme le NAD et l'ATP comme cofacteurs enzymatiques conduisant à leur déplétion et à la nécrose de la cellule β ***(Lenzen S. 2008)***

La glycosylation des protéines peut être un facteur préjudiciable supplémentaire ***(Lenzen S. 2008).*** En plus de son impact sur le métabolisme des hydrocarbures qui est bien étudié, la STZ provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline ***(Szkudelski T., et al. 2002 ; Junod A., et al 1989).***

Plusieurs travaux réalisés en vue de mieux comprendre le mécanisme d'action pathogène de la STZ, ont montré que ce produit diminue la défense antioxydante de la cellule, particulièrement une inhibition de l'activité superoxydedismutase ***(Robbins MJ, et al. 1990 ; Gandy SE. 1992 ; Rajasekaran S. 2005).***

La dose choisie de la STZ est variable selon la voie d'administration, l'animal et surtout la pathologie voulue ***(Chen V, 1981 ; Junod A., et al.1989).*** 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) **(*Jarrin M. et al 2002).*** De plus, l'injection de la STZ est à l'origine d'une chute de poids ***(Chen V, 1981 ; Junod A., et al 1989).***

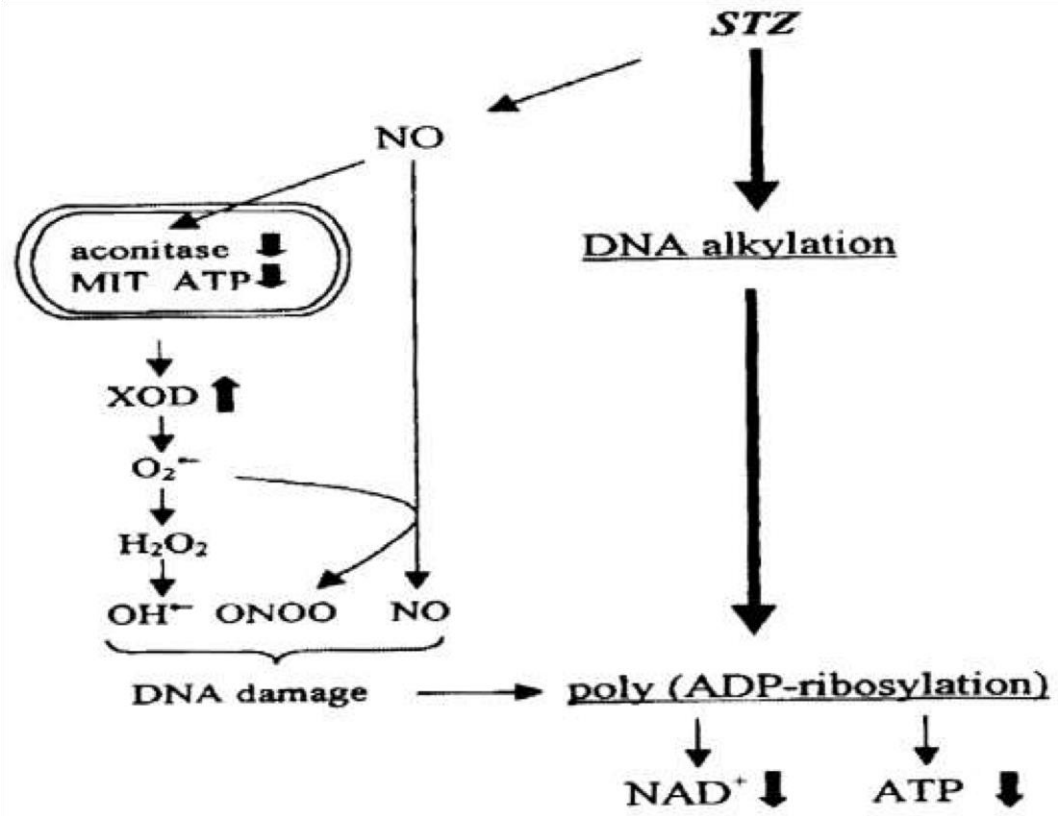


Figure 1.1 : Mode d'action la streptozocine dans les cellules β du pancréas de rat ***(Jarrin M, et al. 2002)***

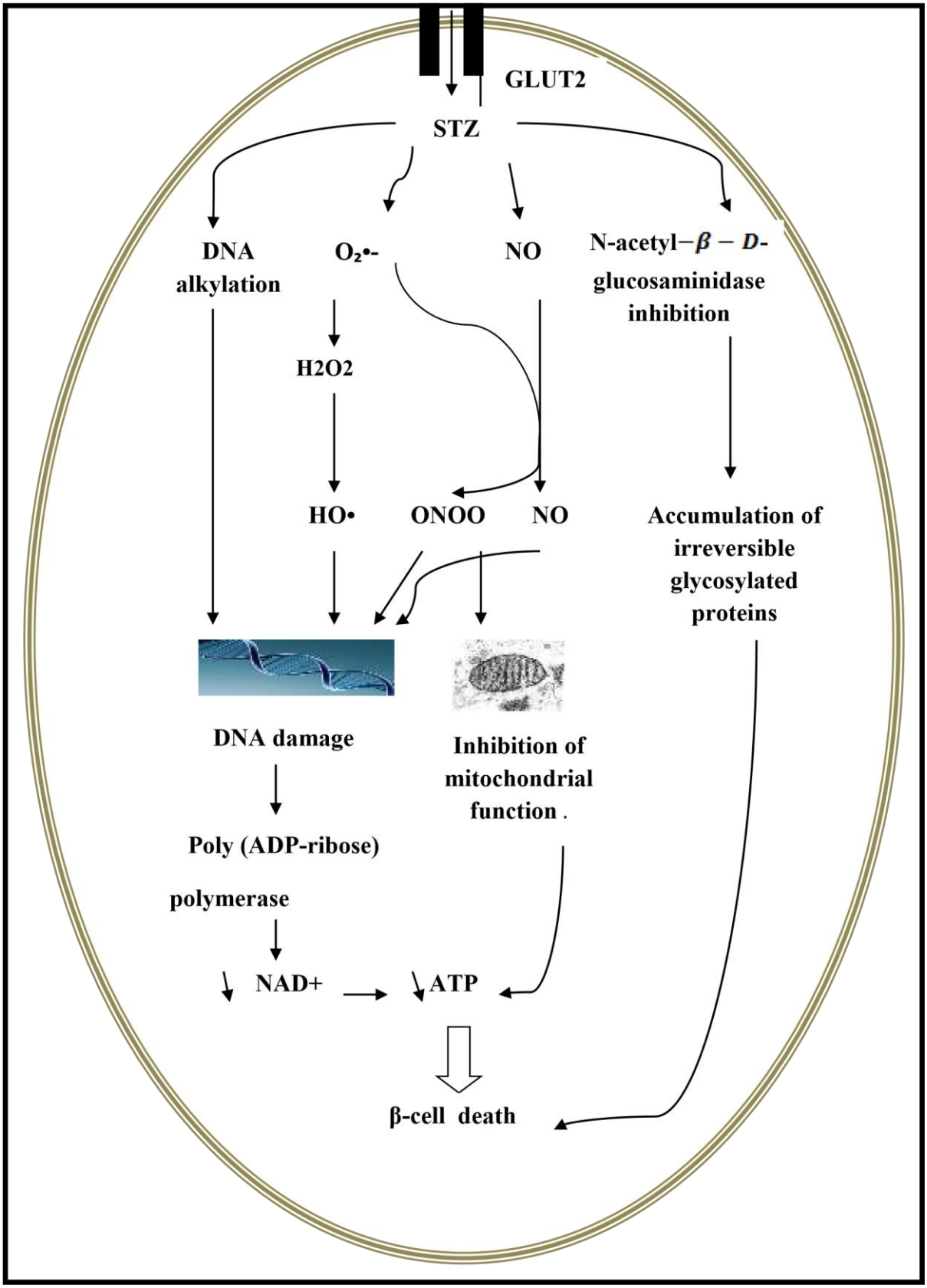


Figure 1.2 : Représentation schématique du processus intracellulaires de toxicité de la Streptozocine ***(Glauser D. 2007).***

1.4. Anatomie du pancréas :

Le pancréas est une glande amphicrine annexée à l'intestin grêle, il se situe le long de la partie postérieure de la partie abdominale, derrière l'estomac, adjacent à la grande courbe, devant et au-dessus des reins.

Le pancréas se divise en 3 portions : la tête, une partie lovée dans le cadre duodénale, le corps qui est la partie centrale du pancréas suivi de la queue qui délimite l'extrémité pancréatique et s'étale sur la rate.

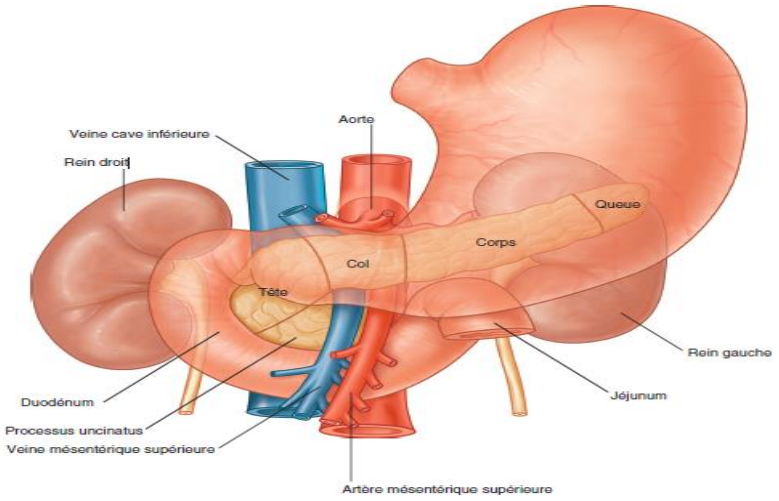


Figure 1.3 Schéma illustrant la position du pancréas dans la cavité abdominale.

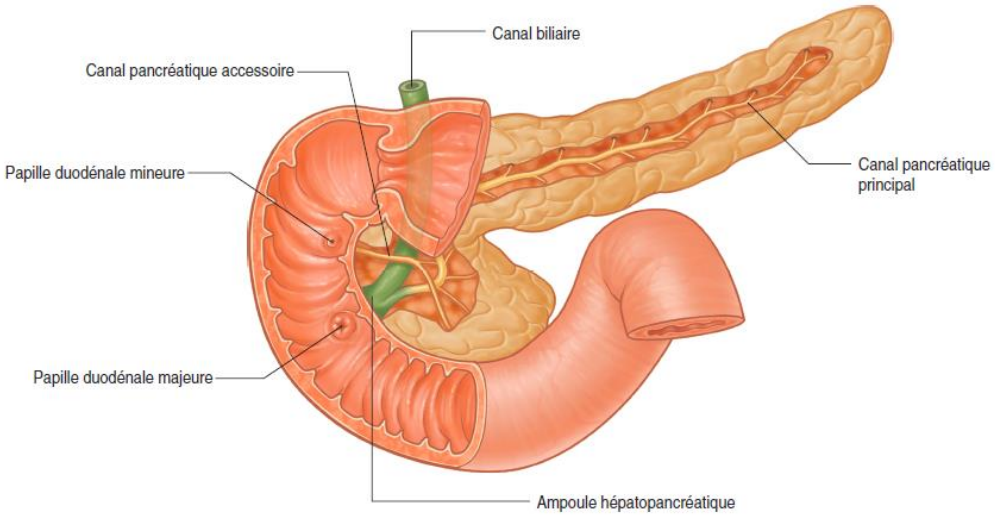


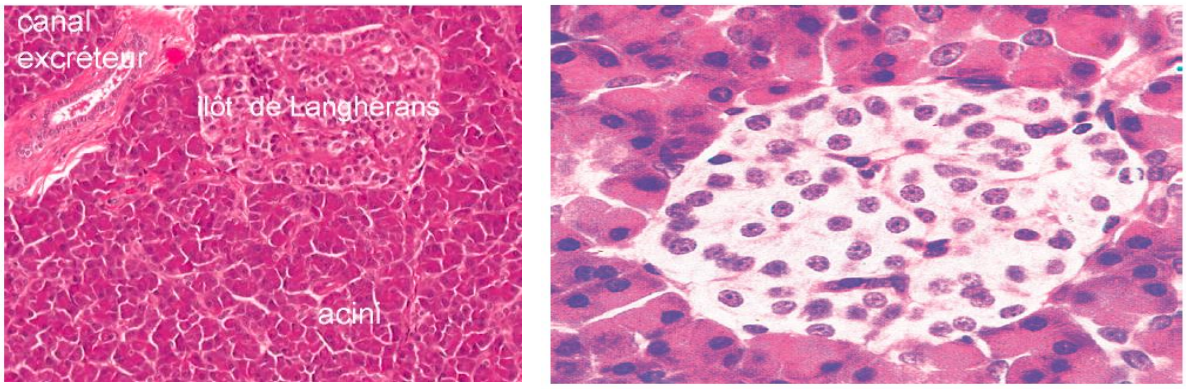
Figure 1.4 Schéma illustrant les principaux conduits pancréatiques.

1.4.1 Histologie

Le pancréas est une glande amphicrine assurant une fonction mixte endocrine et exocrine.

1.4.1.1. Le pancréas endocrine

C'est la partie la plus petite de la glande, elle ne représente que 1% des cellules pancréatique, ces cellules se situent principalement dans la queue du pancréas. Elles sont regroupées en îlots de Langerhans, disséminés dans la glande et sécrètent l'insuline et le glucagon. Le pancréas endocrine serait représenté globalement par un ensemble d'amas cellulaires localisé entre les acini exocrine de la glande.



(a) **(b)**

Figure 1.5 (a)Une coupe histologique du pancréas (X40). (b) ilot de Langerhans (H&EX100)

Ces ilots de Langerhans sont composés de groupes cellulaires qui contient plus de 3000 cellules sécrétrices disposées sur un réseau fin de collagène contenant plusieurs capillaires fenêtrés. Une capsule délicate qui entoure chaque ilot. Les cellules endocrines sont de petites tailles avec un cytoplasme granuleux (pale-stained). ***(Barbara, Geraldine, et al. 2013)***

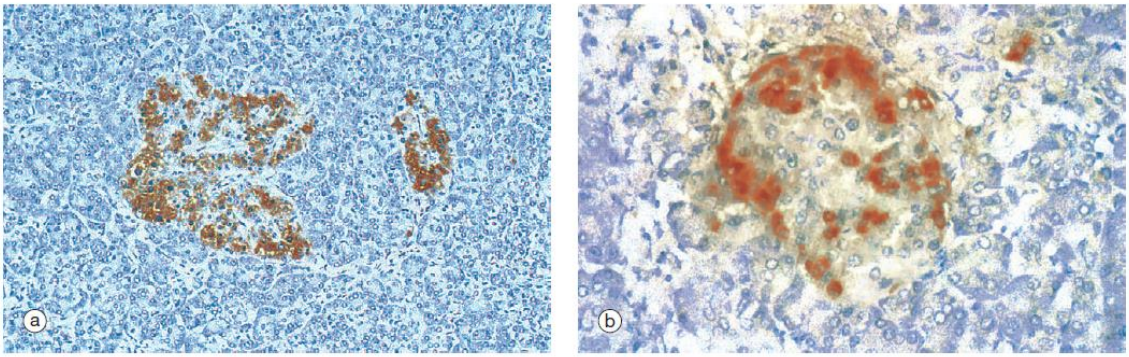


Figure 1.6 Ilots de Langerhans immunohistochimie

Dans les îlots de Langerhans on distingue plusieurs types cellulaire ; Alpha, Bêta et Téta. Nous pouvons voir ces types cellulaires sous le microscope optique mais avec des colorations spécifiques ou par la technique d'immunohistochimie. ***(Barbara, et al. 2013)***

1.4.1.2. Le pancréas exocrine

Occupant les 99% du pancréas, il est doté de cellules responsables de la synthèse du suc pancréatique, dont l'excrétion duodénale se ferait par des canaux pancréatiques. Le pancréas exocrine contient plusieurs acini tubulo-alvéolaire séparés par des septa. Ces acini sont connectés entre eux par des conduits inter et intra lobulaire, ces conduits communiquent avec le canal de Wirsung le canal principal, ce qui rejoint le conduit biliaire commun en formant l'ampoule de Vater, entouré par le sphincter d'Odch. Les conduits sont tapissés d'un épithélium cubique alors que les acini comptent des cellules pyramidales, des cellules trapézoïdes à noyau rond et pale, et des cellules Centro-acinaires. Dans la partie centrale du conduit pancréatique, sont localisées les plus petites cellules. Le cytoplasme au pôle basal apparait homogène, mais au pôle apical abrite des granules zymogène.

1.4.2. Physiopathologie du diabète de type 2

L'insuline est l'hormone principale de l'homéostasie du glucose. Trois principales anomalies métaboliques conduisent à l'hyperglycémie dans le diabète de type 2 : insulinopénie relative, résistance périphérique à l'action de l'insuline et l'augmentation de la production hépatique de glucose. Chacune de ces altérations est actuellement bien caractérisée. Leur part relative est éminemment variable selon les patients ce qui souligne l'extrême hétérogénéité physiopathologique du diabète de type 2 ***(Broussolle et al., 1990 ; Bastard et Hainque, 1995).***

Des anomalies de la sécrétion d'insuline sont observées chez les patients atteints de diabète de type2, avec une détérioration progressive de la sécrétion d'insuline avec la durée d'évolution de la maladie **(*UKPDS, 1995).***

L'insulinorésistance se définit comme un état de diminution de la sensibilité cellulaire et tissulaire à l'hormone en présence d'une glycémie normale au prix d'insulinémie élevée. En effet, tant que la sécrétion β pancréatique est suffisante pour contrer la résistance à l'insuline, la glycémie reste normale ou modérément altérée. Ainsi, le syndrome métabolique se traduit biologiquement soit par une hyperinsulinémie et une altération de la tolérance au glucose, soit par une évolution vers par un diabète de type 2 lorsque les capacités sécrétoires du pancréas sont dépassées. Cette résistance à l'insuline concerne en premier lieu le foie, les muscles et les

tissus adipeux. II existe, de plus, une corrélation étroite entre la production hépatique de glucose et la glycémie à jeun, ce qui indique un rô1e primordial du foie dans 1'é1évation glycémique du réveil. L'augmentation de la production hépatique de glucose correspond principalement à une accélération de la néoglucogenèse ***(Broussolle et al., 1990).***

Le diabète de type 2 associé à l'obésité est caractérisé par l'augmentation de la concentration de glucose dans le sang, suite à une dysfonction des cellules β-pancréatiques, une élévation de la production de glucose par le foie (gluconéogenèse et glycogénolyse) et une diminution de la capture de glucose par les tissus périphériques ***(Wellen et Hotamisligil, 2005).***

Dans les conditions physiologiques normales, les patients qui développent une résistance à l'insuline suite à l'obésité peuvent augmenter la sécrétion d'insuline et maintenir l'homéostasie du glucose pour une longue période, évitant le développement du diabète ***(Marchetti et al., 2006).*** Au contraire, chez les patients qui subissent une dysfonction des cellules β-pancréatiques, la sécrétion d'insuline devient progressivement trop basse pour répondre à la demande des tissus périphériques ***(Prentki et Nolan, 2006).*** Par conséquent, la glycémie s'élève, passant de l'état normal à l'intolérance au glucose et éventuellement à la manifestation du diabète ***(Chang-Chen et al., 2008).***

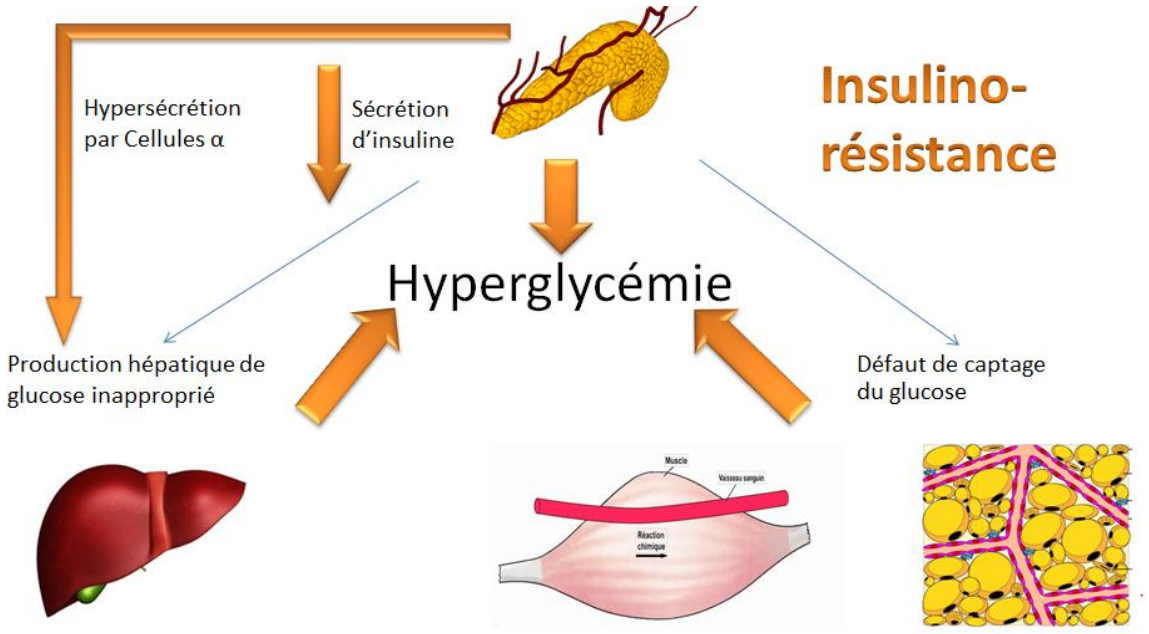


Figure 1.7 Physiopathologie de diabète de type 2

La glucotoxicité et la lipotoxicité sont les deux principaux facteurs acquis causant l'endommagement des cellules β-pancréatiques ***(Chang- Chen et al. 2008).*** L'exposition prolongée de ces cellules à une concentration élevée en glucose stimule toutes les voies conduisant à l'augmentation de la production des radicaux libres (les ROS : Reactive oxygen species) et du stress oxydatif via la phosphorylation oxydative, la suractivation de la voie d'hexosamine et l'activation de la PKC (Protéine kinase C) ***(Poitout et Robertson, 2002 ; Prentki et Nolan, 2006)***. En parallèle, l'accumulation des acides gras et de leurs métabolites dans les cellules β-pancréatiques induit l'inhibition de l'expression du gène de l'insuline ***(Prentki et Nolan, 2006).***

De plus, les glucotoxicité- et lipotoxicité augmentent l'apoptose chez les cellules β-pancréatiques ***(Lupi et al., 2002; Andreozzi et al., 2004).***

La physiopathogénie du diabète de type 2 est principalement marquée par une insulinorésistance et un déficit d'insulinosécrétion. Sa prise en charge consiste d'une part à lutter contre cette insulinorésistance par les activités physiques, les mesures hygiéno-diététiques, les médicaments insulinosensibilisateurs, et d'autre part de palier au déficit de sécrétion d'insuline par des médicaments insulinosécréteurs. ***(Diarra et al. 2015)***

1.5 .Epidémiologie

Le diabète sucré est un problème de santé majeur présent partout dans le monde. Les études épidémiologiques ont montré qu'il frappe indistinctement toutes les populations et tous les groupes d'âge ***(Barceló, 1996).*** À l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation spectaculaire ces dernières années. En 2011, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a enregistré 356 millions de diabétiques dans le monde ***(OMS, 2011).***

De même, en 2010, la fédération internationale du diabète (FID) a enregistré un million 632 milles diabétiques en Algérie. Ce chiffre peut atteindre jusqu' à 2 millions 850 milles en 2030, avec une augmentation de 61milles nouveaux cas recensés par an. La prévalence mondiale, déclarée par FID, était de 8,5% et la prévalence nationale était de 7.4 %. Elle peut augmenter à plus 9,3% en 2030 ***(Whiting, 2011 ; Margaret et al. 2016)***

1.6. Complications

Malgré le développement de molécules normalisant la glycémie et l'amélioration de schémas thérapeutiques, le diabétique reste soumis à une sur morbidité et à une surmortalité liée essentiellement à des atteintes dégénératives tissulaires notamment au niveau des nerfs, des reins, de la peau, de la rétine et du cœur. Le diabète sucré induit fréquemment l'apparition de

complications aiguës ou chroniques. La principale complication diabétique aiguë est un coma causé soit par une hyperglycémie (acidocétose) soit par une hypoglycémie (due par exemple à une prise trop importante d'un médicament hypoglycémiant). Les complications chroniques du diabète concernent à la fois les gros vaisseaux (macroangiopathie) et les microvaisseaux (microangiopathie). La persistance de l'hyperglycémie est étroitement liée à l'augmentation de l'incidence et de la gravité des complications vasculaires diabétiques ***(Sheetz and King, 2002).***

1.7. Traitements

En ce qui concerne le diabète de type 1, le premier objectif est de normaliser la glycémie. L'insulinothérapie et la maîtrise des variations physiologiques de la glycémie provoquées par l'alimentation et l'exercice physique, en attendant la maîtrise de la greffe du pancréas, doit permettre d'atteindre cet objectif idéal. Le traitement du diabète de type 2 passe essentiellement par un contrôle diététique strict et une médication adaptée. Les objectifs de la diététique sont doubles : d'une part diminuer l'insulinorésistance en réduisant une éventuelle surcharge pondérale et d'autre part éviter les pics hyperglycémiques notamment la nuit et après les repas. Les sulfamides hypoglycémiants (dérivés de la sulfonylurée) stimulent la sécrétion d'insuline basale et induite par le glucose. Ils ont également des effets extrapancréatiques (qui n'ont cependant qu'une importance clinique limitée) en potentialisant le transport de l'insuline et le stockage du glucose. Les biguanides ont une action hypoglycémiante par un effet extrapancréatique : ils potentialisent l'action de l'insuline au niveau des cellules cibles (foie et muscles surtout). De plus, ils réduisent la néoglucogenèse hépatique et l'absorption intestinale des glucides ***(Ouedraogoet al. 2000).***

2. La Metformine

La metformine, commercialisée notamment sous le nom de Glucophage ® ou Novoformine ®, est un médicament antidiabétique de la famille des biguanides, pris sous la forme de comprimés.

Elle est utilisée pour traiter l'hyperglycémie chronique, élévation anormale du taux de glucose dans le sang dans le cadre de l'évolution d'un diabète de type 2, c'est-à-dire insulinorésistance

Elle est souvent prescrite lorsqu'un régime adapté n'a pas permis de faire redescendre le taux de glucose à des valeurs souhaitables. Ce médicament permet de rétablir l'équilibre glycémique en diminuant l'insulinorésistance ainsi que les risques de complications dues au diabète. ***(Anonyme 1)***

2.1. Historique

Les biguanides ont été introduits dans le traitement du diabète en 1950. Ce sont des médicaments dérivés de l'alcaloïde d'une plante herbacée utilisée en pharmacopée traditionnelle depuis plusieurs siècles : *Galegaofficinalis,* encore appelée faux indigo ou rue-de-chèvre, ou lilas français ***(Bailey CJ., 1996 ; Owen MR., et al. 2000).*** Les effets galactagogue et diurétique de la plante sèche étaient connus. La mise en évidence des propriétés antidiabétiques de son alcaloïde principal, la galégine, a conduit à la synthèse de trois dérivés : phenformine, buformine et metformine. Les deux premiers biguanides ont été retirés du marché en raison de la survenue fréquente d'acide lactique (AL). La metformine a été mise au point en 1957 et représente aujourd'hui un des antidiabétiques oraux les plus prescrits dans le monde ***(OwenMR., et al. 2000 ;Spiller HA, et al. 2004).***

2.2. Pharmacologie

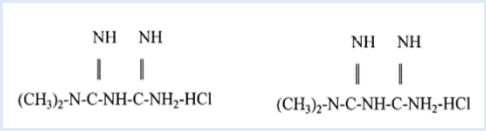
Dénomination commune	Metformine
Nom chimique	chlorhydrate de N,N-diméthyl-biguanide
Formule moléculaire et masse moléculaire	165,6 Da
Formule développée	

Tableau 2.1 les caractéristiques de la metformine.

Elle est absorbée relativement lentement, durant une période pouvant atteindre plus de 6 heures. La demi-vie du médicament variant entre 1,7 heure et 5 heures ***(Bailey CJ., 1996).***Certains résultats semblent indiquer que la prise de metformine normalise la sécrétion de l'insuline chez le diabétique obèse atteint d'hyper insulinémie, en même temps qu'elle normalise la glycémie ***(Spiller HA, et al. 2004).***

Chez l'animal sain, l'administration de metformine n'a que peu d'effets sur les réserves hépatiques de glycogène. L'emploi de doses faibles ou modérées n'entraîne aucune modification de ces réserves, alors que celui de doses élevées se rapprochant de la dose létale occasionne une diminution de ces réserves, qui précède la chute de la glycémie ***(Spiller HA, etal. 2004).***

La metformine est éliminée dans les fèces et l'urine. Elle est rapidement excrétée par le rein sous forme inchangée. La clairance rénale de la metformine à 450 ml/min semble expliquer l'absence d'accumulation du médicament dans l'organisme ***(Fourriera, A., 2010).*** Les méthodes de dépistage fondées sur le radio marquage ou le dépistage chimique n'ont pas permis de trouver des métabolites de la metformine. L'examen radio chromatographique des urines révèle de façon constante un seul pic de soluté pour lequel le rapport frontal correspond toujours à celui de la metformine pure. L'administration de metformine pendant 10 jours consécutifs n'a donné lieu à aucun signe d'accumulation ***(Fourriera, A., 2010).***

Chaque comprimé GLUCOPHAGE dosé à 500 mg, 850 mg et 1000 mg contient respectivement 500 mg, 850 mg et 1000 mg de chlorhydrate de metformine, de même que les ingrédients non médicinaux suivants : povidone et stéarate de magnésium. L'enrobage du

comprimé contient de l'hydroxypropylméthylcellulose, du dioxyde de titane et du polyéthylèneglycol. Les comprimés GLUCOPHAGE doivent être conservés à la température ambiante (entre 15 ºC et 30 ºC) dans un contenant hermétique ***(Barco, SD., 2011).***

L'emploi de la metformine est indiqué pour la maîtrise de l'hyperglycémie en cas de diabète de type 2, stable, léger et non susceptible d'entraîner une cétose, lorsqu'on ne peut rétablir l'équilibre glycémique par un régime alimentaire approprié, l'exercice et une perte pondérale, ou lorsqu'on ne peut avoir recours à l'insulinothérapie ***(Spiller HA, et al. 2004).***

2.3 Mode d'action et effets

La metformine est un dérivé de la famille des biguanides ayant un effet anti-hyperglycémiant, mais seulement chez l'humain et chez l'animal diabétique, et uniquement en présence de sécrétion d'insuline ***(Briet, CM., et al. 2010).*** La metformine administrée seule aux doses thérapeutiques n'entraîne pas d'hypoglycémie chez l'humain et chez l'animal non diabétique ; un tel effet n'apparaît que lorsque la dose administrée est très près de la dose létale. La metformine n'exerce aucun effet sur les cellules bêta du pancréas.

Ses effets sont multiples : elle favorise l'action hypoglycémiante de l'insuline par réduction de l'insulinorésistance ; elle augmente l'utilisation et le stockage du glucose dans le muscle sous forme de glycogène ; elle diminue l'absorption intestinale de glucose, la production intestinale de glucose et la glycogénolyse hépatique ***(Owen MR, et al. 2000 ; Detaille D., et al. 2005).***

Ces actions sont liées à des effets cellulaires complexes et encore mal compris : la molécule agit au niveau des mitochondries où elle induit une inhibition incomplète du complexe 1 de la chaîne respiratoire et diminue ainsi la consommation d'oxygène de l'hépatocyte ; elle active l'AMP protéine kinase (AMPK). La phosphorylation de l'AMPK supprime la production de glucose dépendant du glucagon et augmente la captation du glucose dans le muscle et l'hépatocyte ***(Detaille D., et al. 2005).***Par ailleurs, la metformine modifie l'ouverture des pores de transition mitochondriaux et prévient par conséquence l'apoptose cellulaire induite par l'hyperglycémie ***(Detaille D., et al. 2005 ; Dykens JA., et al. 2008).***

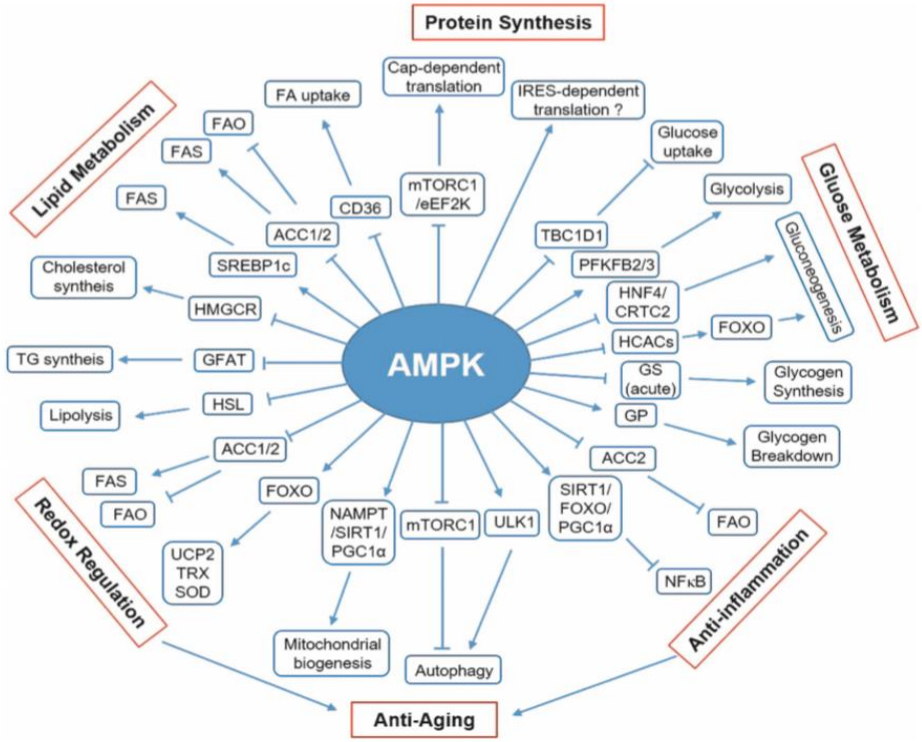


Figure 2.1 Schéma résumant les mécanismes sous-jacents à la régulation induite par l'AMPK de diverses voies métaboliques. La flèche indique l'activation et la ligne à tête de barre indique l'inhibition ***(Jeon, 2016).***

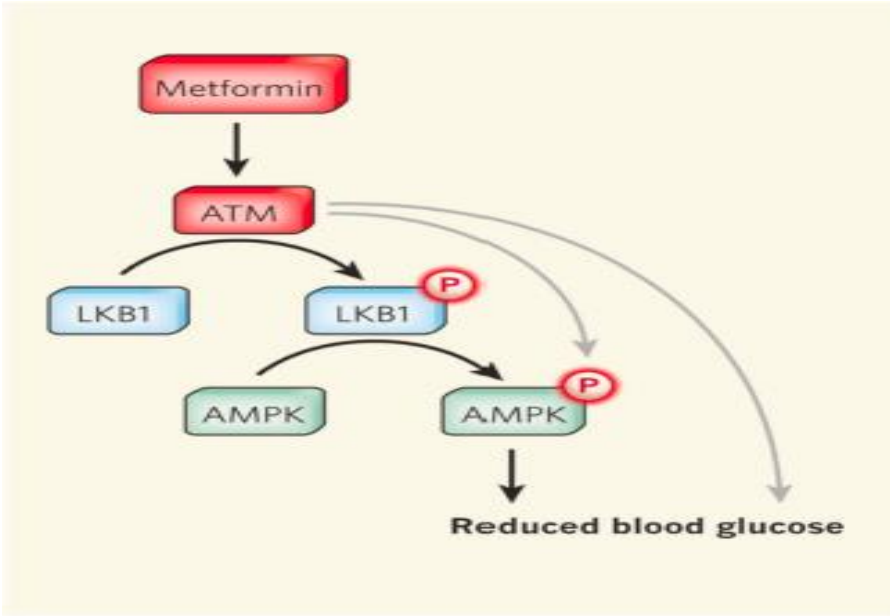


Figure 2.2 Mécanismes possibles des effets antidiabétiques de l'ATM En réponse à la metformine, l'ATM pourrait mesurer la phosphorylation (P), et donc l'activation de l'AMPK (Adénosine Mono Phosphate Kinase) par phosphorylation de LKB1. Alternativement, ATM peut activer AMPK indépendamment de LKB1, ou réduire les taux de glucose dans le sang par des voies entièrement indépendantes de l'AMPK.***(Morris & Reuben, 2014).***

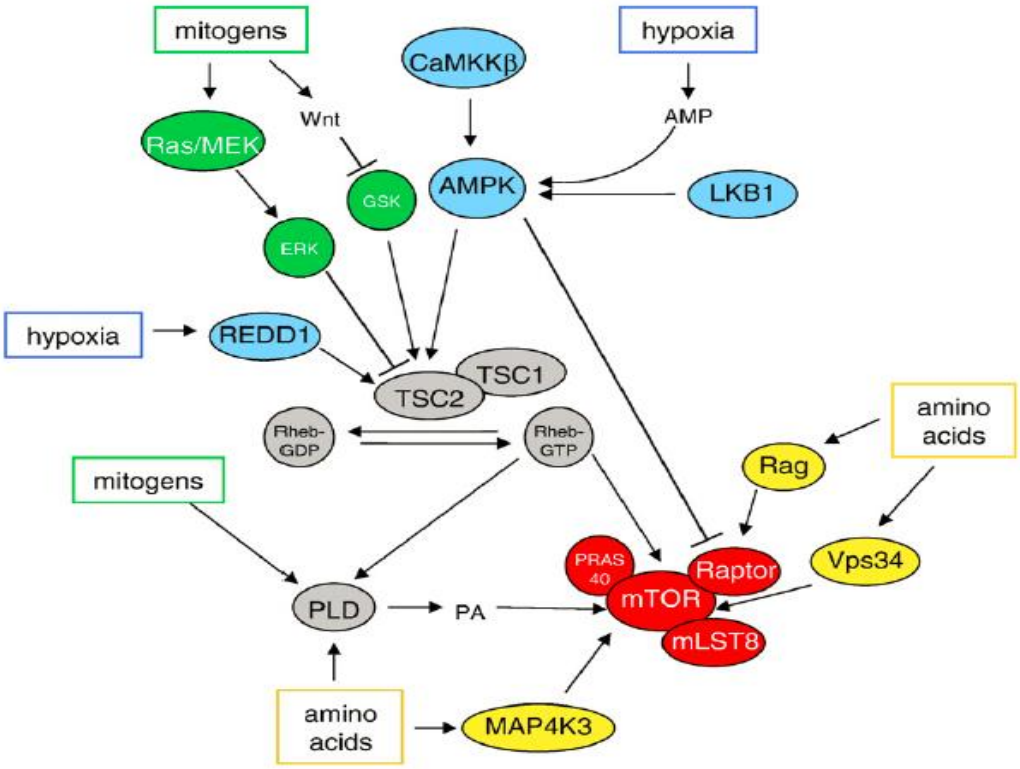


Figure 2.3 Les mitogènes activent mTOR indépendamment d'Akt à travers la voie Ras / Mek / ERK, la voie de signalisation Wnt et par l'activation de la phospholipase D. Les acides aminés activent également le mTOR à travers de multiples mécanismes : l'activation de Vps34, MAP4K3, la famille des GTPasesRag et la phospholipase D. Cependant, les mécanismes par lesquels certaines de ces protéines activent mTOR ne sont pas bien compris et il peut y avoir une diaphonie entre ces composants de voie. À l'inverse, les conditions qui épuisent l'énergie intracellulaire, telles que l'hypoxie, inhibent la voie mTOR. Un mécanisme par lequel cela se produit est par l'activation d'AMPK. AMPK est activée par une élévation du taux d'AMP intracellulaire, aussi bien par les upstreamkinases, LKB1 et CaMKKβ. AMPK inhibe la voie mTOR directement par la phosphorylation de Raptor et indirectement par la phosphorylation et l'activation de TSC2. Bien que l'hypoxie puisse inhiber la voie mTOR grâce à l'activation de l'AMPK, elle se traduit par une augmentation de l'expression du facteur inducible-1-ganglion de l'hypoxie, REDD1. ThetuberoussclerosiscomplexesTSC1 / TSC2 etRhebGTPase (représentés en gris) intègrent les signaux des voies capteurs sensibles aux molécules énergétiques et nutritives pour réguler mTORC1 (montré en rouge)***(Memmott & Dennis, 2009).***

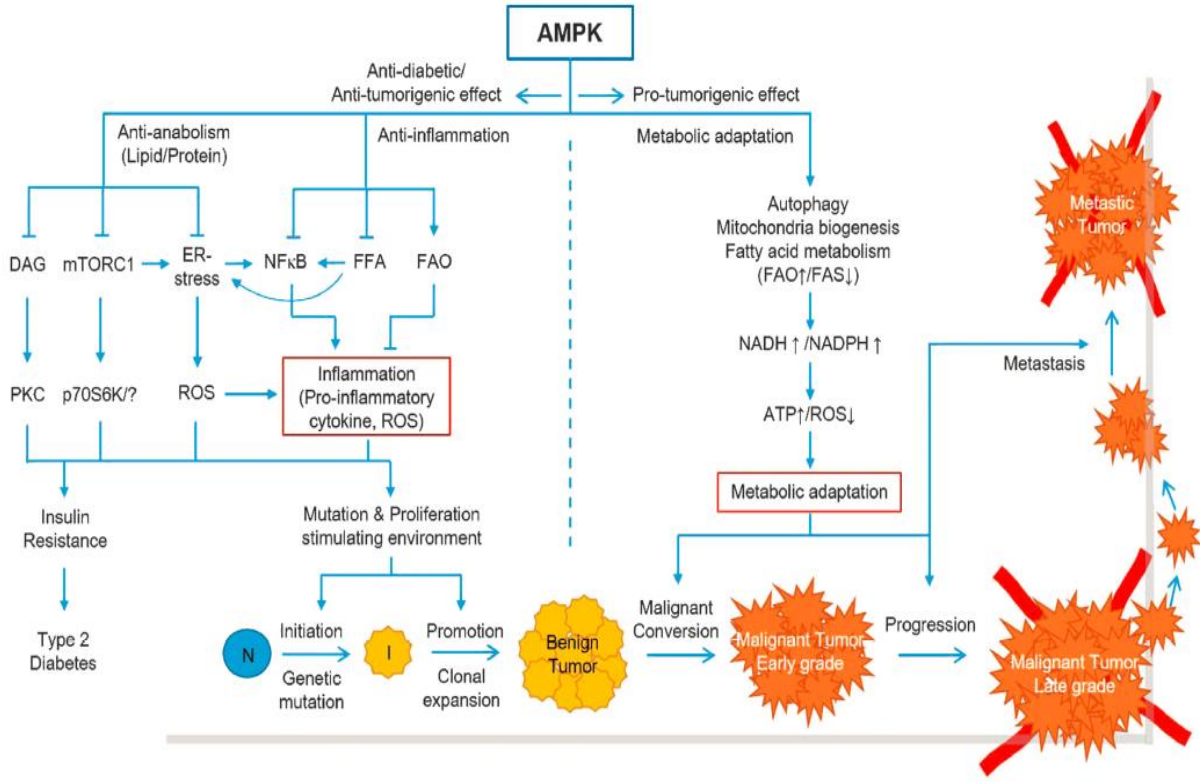


Figure 2.4 Rôle intégratif de l'AMPK dans le diabète et le cancer. Ce modèle décrit le rôle intégratif de l'AMPK dans le diabète et le cancer.

AMPK exerce des effets anti-inflammatoires en grande partie en régulant le métabolisme d'acide gras (FA), le stress de facteur nécrotique (NFK) et le stress de réticulum endoplasmique (ER), ce qui indique que les activateurs AMPK peuvent être utilisés à la fois pour prévenir et traiter la résistance à l'insuline et le diabète. Les effets anti-inflammatoires de l'AMPK empêchent également le cancer en inhibant les étapes d'initiation et de promotion du cancer. Cependant, l'activation de l'AMPK peut également favoriser la conversion, la progression et la métastase malignes en permettant une adaptation métabolique des cellules tumorales. La flèche indique l'activation ; La ligne à tête de barre indique l'inhibition. N, cellules normales ; I, a initié des cellules.***(Jeon, 2016).***

2.4 Toxicologie

2.4.1. Toxicité chez l'humain

Aucun effet indésirable sur la fonction hépatique ou rénale, sur le système hématopoïétique ou sur les vaisseaux sanguins n'a été rapporté chez l'humain à la suite de l'administration de metformine ***(Briet, CM., et al. 2010).***

L'administration successive de phenformine et de metformine a permis de mettre au jour une différence fondamentale entre ces 2 biguanides quant à leur effet sur la lactacidémie. ***(Bruijstens LA, et al. 2008)*** Dans certains cas, une hyperlactacidémie est survenue après l'administration de Phenformine chez des patients dont la lactacidémie était demeurée normale au cours d'un traitement par la metformine. Dans d'autres cas, l'hyperlactacidémie observée pendant un traitement par la Phenformine a régressé lorsqu'on a remplacé ce médicament par la metformine. La prise de metformine peut elle aussi provoquer une hausse de la lactacidémie, mais cette hausse sera moins significative sur le plan clinique que celle entraînée par l'emploi de Phenformine. ***(Bruijstens LA, et al. 2008).***

2.4.2 Effets tératogènes

Des études de tératologie ont été menées chez des rates albinos, qu'on avait réparties en 3 groupes. Nous n'avons relevé aucune malformation congénitale, même chez les petits des rates traitées à des doses élevées. Le nombre d'animaux était le même dans chacun des groupes étudiés. ***(Diarra et al., 2015)***

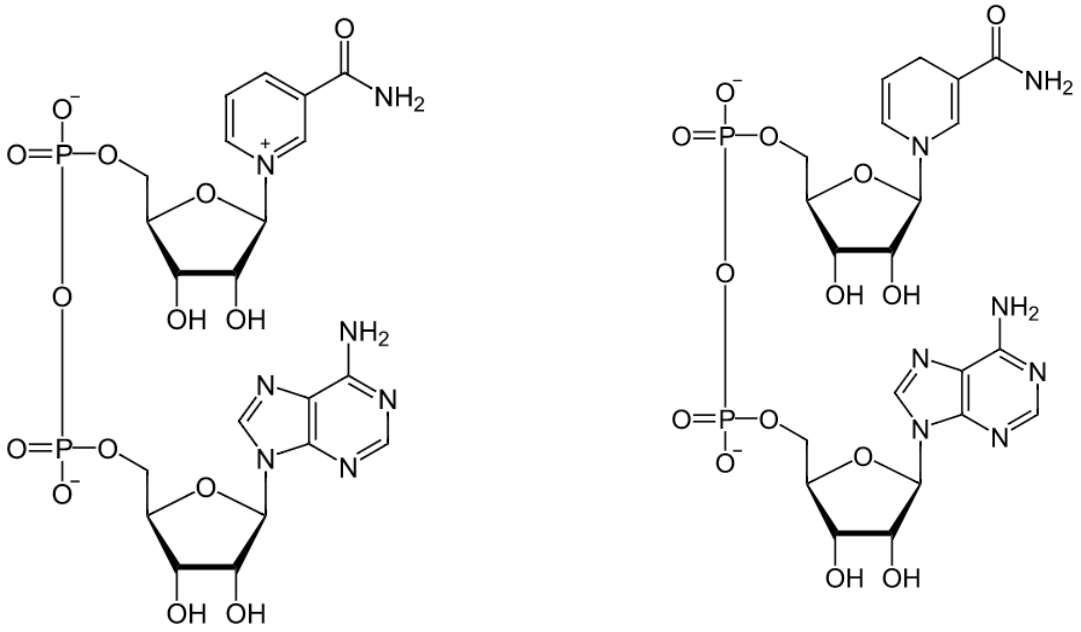
Les taux de décès étaient à peu près les mêmes pour les 2 groupes ayant reçu de la metformine et pour le groupe témoin. Le nombre de naissances vivantes était cependant légèrement plus faible dans les 2 groupes traités que dans le groupe témoin. De plus, la fréquence des portées de plus de 10 ratons vivants était un peu plus élevée dans ces groupes que dans le groupe témoin. ***(Sanofi, 2014)*** Au moment du sevrage, le poids des ratons nés de mères traitées par la metformine était en outre inférieur au poids des ratons issus du groupe témoin.

Les différences observées n'étaient pas significatives sur le plan statistique. Il n'y avait aucune différence entre les groupes quant à la mortinatalité. Le nombre de décès survenus après la naissance était légèrement plus élevé dans les groupes traités par la metformine que dans le groupe témoin, mais la mortalité moyenne ne différait pas de façon significative entre ces groupes.***(Pelletier G, et al.)***

3. Nicotinamide Adénine Dinucleotide

3.1. Définition

NADH est l'abréviation de la substance biologique Nicotinamide Adenine Dinucleotide. Le «H» désigne l'hydrogène à haute énergie et indique que c'est la forme réduite. La coenzyme 1, un autre terme pour NADH. Le NAD est une molécule biologique ubiquitaire qui participe à de nombreuses réactions métaboliques. ***(Lin & Guarente, 2003)***. La réduction de l'adénine nicotinamide joue un rôle central dans le processus énergétique de la cellule ***(Brigitte et al., 2003).***



(a)NAD$^+$ (oxydant) **(b) NADH** (réducteur)

Figure 3.1 : Structure de NAD^+ (a) et NADH (b).

Les enzymes sont des protéines qui catalysent les réactions chimiques présentes lors de processus biologiques. Au sein des cellules vivantes, elles jouent un rôle dans toutes les fonctions. Sans une coenzyme complémentaire, la majorité des enzymes ne fonctionneront pas ***(Birkmayer, 1993).***

On pourrait comparer l'effet d'une coenzyme sur une enzyme à celle du carburant sur un moteur. L'enzyme serait le moteur et le carburant sa coenzyme. La carence d'une coenzyme nécessaire ralentit réellement le mode d'action du processus enzymatique. Le NADH étant une coenzyme, son déficit altérerait la fonction énergétique cellulaire. Avec l'âge le niveau de NADH diminuerait considérablement ***(Birkmayer, 1993)***

3.2. Historique

Le NADH a été découvert en 1905 dans la levure et a été initialement nommé cozymase. Depuis plus de 90 ans, il a été largement décrit dans plusieurs manuels de biochimie ***(Birkmayer, 1993).*** **Le** NADH est également connu sous différentes dénomination citées dans le tableau illustré ci-dessous (tableau 3.1).

Tableau 3.1 Autres dénominations connues du NADH

Nom chimique (forme réduite)	**Synonymes (forme réduite)**	
ß-nicotinamide adeninedinucleotide	Nadide, sel disodique	Diphosphopyridine
	Enzopride	nucléotide
	Codehydrogénase	Cozymase
	D-ribose-nicotinamide	Coenzyme 1
	Adénine-D-ribose-phosphate-phosphate	

3-3. 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)***

Il convient de noter que la plupart du NADH que nous prenons via l'alimentation est détruit 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.

Les plantes étant incapables de se mouvoir leur teneur cellulaire en NADH reste de loin inferieure à celles des animaux. Ce qui explique l'installation inéluctable d'une carence chronique en cette coenzyme chez les végétariens. Cependant, ils peuvent surmonter leur déficit potentiel en NADH par un simple comprimé de supplément quotidien de la forme stabilisée du NADH**. *(Birkmayer, 1993).***

3.4. Rôle du NADH dans le control de l'intégrité du génome

Le code génétique de toutes les cellules réside dans l'acide désoxyribonucléique, l'ADN. L'ADN dans le noyau est bien protégé par les histones et d'autres macromolécules. 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.

Il est important de noter que l'industrie chimique produit chaque année plus de 20 000 nouveaux composés chimiques, souvent sans savoir à quel point ils sont potentiellement toxiques. Pourtant, ils sont commercialisés de différentes façons, pures ou combinés avec d'autres produits chimiques, généralement sans études toxicologiques effectuées auparavant. Inutile de dire que les gens sont continuellement exposés à ces nouveaux produits chimiques en général sans se rendre compte de leur potentiel toxique. Ces agents potentiellement dangereux peuvent réagir avec nos chromosomes. Si notre ADN est endommagé par l'un de ces agents, notre matériel génétique sera modifié. La réplication d'un ADN défectueux entraine des modifications dans les cellules nouvellement divisées, pourvu que la division cellulaire puisse encore se produire. Plus les dommages à l'ADN sont importants, plus des altérations cellulaires et par conséquent tissulaires se produisent.***(Siu, et al. 2007)***

L'endommagement du socle génétique serait responsable de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, la polyarthrite rhumatoïde, les immunodéficiences et l'artériosclérose. Par conséquent, il est impératif que notre matériel génétique reste inchangé afin de garantir un renouvellement cellulaire indemne de toute altération génomique aussi bien au niveau des celles somatiques que, progénitrices. Toutefois cette immunité génomique est assurée par l'omniprésence d'un système de protection intrinsèque dont l'acteur principal serait une enzyme de réparation nucléaire armée d'une capacité constitutive lui permettant de réparer ponctuellement et systématiquement les cassures repérées au niveau de l'ADN. Il s'agit de la PARP ou poly (ADP-ribose) polymérase.

Cette dernière aussi puissante soit elle possède cependant son talent d'Achille qui n'est autre que l'énergie. Il est clair que tout déficit énergétique au niveau cellulaire affecterait négativement la fonction réparatrice de cette enzyme culte entrainant indubitablement la mort cellulaire par apoptose ou par nécrose.

Etant le remède miracle, le NADH source intarissable d'énergie serait la molécule clé par excellence afin de réorienter le destin cellulaire et en préférant la survie à la mort. ***(Birkmayer 1993)(Siu,et al 2007) .***

3-5. NADH dans le système immunitaire

La réponse immunitaire non spécifique fait intervenir en premier lieu les cellules phagocytaires en particulier les Macrophages. Ce processus d'ingestion de l'intrus nécessite le déploiement de tout un système enzymatique nécessitant une consommation accrue d'énergie. En conséquence, l'activité métabolique est nettement augmentée, y compris la consommation d'oxygène dans les cellules. La plupart de l'oxygène est converti en super oxyde et en peroxyde d'hydrogène. Ce phénomène, connu sous le nom de «rafale métabolique», semble être la première étape et aussi la plus critique dans le processus de destruction de l'envahisseur. Au cours de cette initiation de l'activité cytotoxique des macrophages, la présence d'une quantité considérable d'NADH est de mise.

la coenzyme NADH serait donc directement impliquée dans le maintien de la fonction du système de défense immunitaire ***(Xavier, 2015).***

3.6. L'activité antioxydante du NADH

Le NADH ou forme réduite de la coenzyme 1, est doté d'une très grande capacité antioxydante due principalement à sa grande puissance réductrice des matériaux biologique. Les autres antioxydants bien connus comptent des vitamines comme le vit A, C et E, le sélénium et le glutathion ainsi que des enzymes comme la glutathion peroxydase et la superoxydedismutase. ***(Meziti, et al. 2009).***

Les antioxydants biologiques sont présents au sein de toutes les cellules vivantes pour les protéger des effets destructeurs des radicaux libres. Les radicaux libres sont des molécules extrêmement réactives qui interagissent avec de nombreuses structures cellulaires, en particulier avec celles contenant des lipides telles que la membrane cellulaire.

Les radicaux libres ont été aussi impliqués dans l'émergence du cancer, des maladies coronariennes, de l'athérosclérose, du diabète, des troubles neurodégénératifs tels que Parkinson et l'Alzheimer et d'autres maladies auto-immunes.***(Fatima, et al. 2015)***

De petites quantités de radicaux libres sont systématiquement produites dans nos cellules lors de processus physiologiques des cellules normales par des réactions métaboliques. Afin de protéger la cellule des conséquences d'une accumulation de ces dérivés de l'oxygène

il existerait un système de protection nommé, le bouclier de protection antioxydant composé de substances anti oxydantes (voir début du texte) dont le NADH détiendrait le potentiel réducteur le plus élevé.

Ce système de protection antioxydante peut faire face aux quantités naturelles habituelles produites dans le corps ; Cependant, il peut devenir accablé par de grandes quantités de radicaux libres produits à partir de l'environnement extérieur.***(Birkmayer 1993; Meziti, et al.2009; Fatima, et al. 2015).***

3.7. NADH comme neurostimulants

Les études in vitro sur cellules neuronales rapportent que la production de dopamine serait augmentée par l'addition de NADH au milieu de culture. La production de dopamine serait proportionnelle à la dose de NADH (jusqu'à 6 fois plus). Aussi, le NADH stimulerait la tyrosine hydroxylase (TH), l'enzyme clé pour la production de dopamine (70%). Des recherches réalisées en France ont révélé que dans certaines zones cérébrales, le NADH stimulerait plus de 40% de la production de dopamine et de norépinephrine. Cependant une étude récente en double-aveugle contrôlée par placebo, effectuée dans un hôpital universitaire allemand avec des patients parkinsoniens recevant du NADH a montré un niveau élevé de L-dopa et de dopamine dans leur sang. Ces données suggèrent que le NADH stimule la production d'adrénaline et de dopamine et devrait donc avoir un effet positif sur toutes les fonctions physiologiques qui sont stimulées par l'adrénaline ou la dopamine, à savoir : la force, le mouvement, la coordination, la vigilance, les fonctions cognitives, l'humeur, le désir sexuel et la sécrétion d'hormone de croissance. La dopamine semble être un médiateur important des fonctions sexuelles, car les agonistes de la dopamine améliorent les perturbations de la libido, de l'orgasme et de l'éjaculation au moins chez certains patients parkinsoniens. Étant donné que le NADH augmente la production de L-dopa et de dopamine, il peut avoir un effet similaire sur les fonctions sexuelles. 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.***(Birkmayer et al. 1993)***

Enfin, l'impact positif de la dopamine sur la sécrétion d'hormone de croissance est plus pertinent, car l'hormone de croissance est considérée comme un facteur clé pour la régénération des cellules et des tissus.

3.8. Rôle du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) dans la genèse de certaines pathologies humaines

Un appauvrissement en NAD est suggéré comme élément initiateur de l'apoptose des cellules B pancréatiques sécrétrices d'insuline. Ceci serait possible sachant que la diminution du rapport NAD / NADH activerait le suppresseur de tumeur P53 via Sir2p.

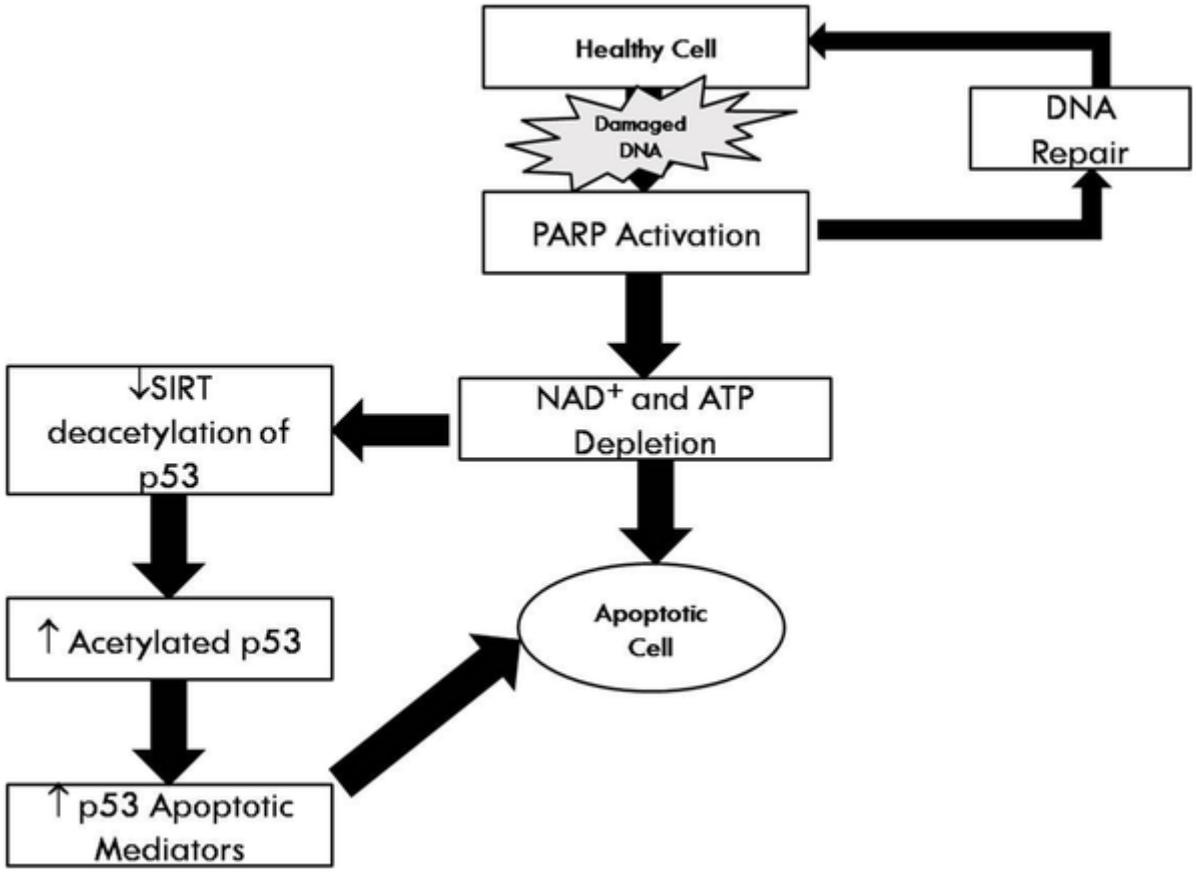


Figure 3.2 schéma représentatif de l'intervention du NADH dans l'apoptose.

NAD joue également un rôle dans le dysfonctionnement vasculaire diabétique. L'hyperglycémie induit des complications vasculaires dans le diabète de type 1 et de type 2 ***(Birkmayer GJD. 1989).*** Elle provoque une diminution du taux de NAD/ NADH en raison d'une augmentation du flux de carbone à travers la voie polyol **(Birkmayer GJD, 1989).** L'appauvrissement de NAD médiée par PARP1 entraine également un dysfonctionnement endothélial diabétique.

Dans une autre étude, la NADH déshydrogénase, un composant du complexe de la chaîne respiratoire I, isolée à partir de patients atteints de diabète de type 2, présenterait une activité plus faible.

NAD est apparu comme un régulateur métabolique putatif de la transcription, de la longévité et de plusieurs maladies associées à l'âge, y compris le diabète, le cancer et les maladies neurodégénératives.

Des études récentes montrent que NAD joue également un rôle important dans la régulation de la transcription, la longévité par la restriction calorique et l'extension des maladies associées à l'âge. ***(Lin & Guarente, 2003).***

3.9. Restriction calorique :

La restriction calorique exerce de nombreux effets bénéfiques contre le vieillissement, le diabète et le cancer. En plus de son effet sur le rapport AMP / ATP, la restriction calorique active l'AMPK grâce à de multiples mécanismes. Elle augmenterait apriori le rapport NAD + / NADH et activerait SIRT1. Ce dernier activerait l'AMPK en-là désacétylant et en activant LKB1.

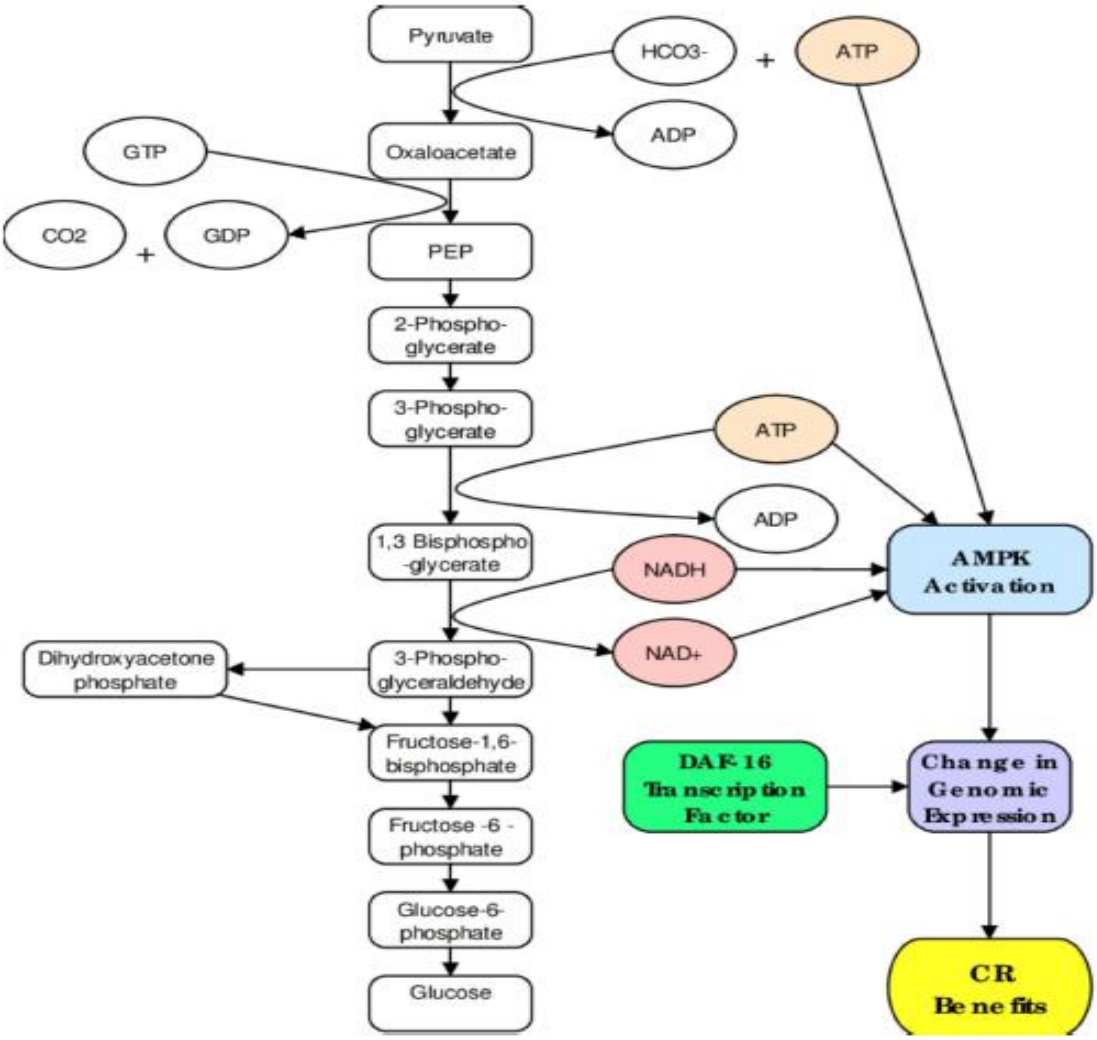


Figure 3.3 l'intervention de NADH dans la restriction calorique

La restriction calorique stimulerait aussi la sécrétion d'adiponectine à partir d'adipocytes qui activent l'AMPK dans de multiples tissus, y compris les muscles squelettiques. Il est intéressant de noter que la sécrétion d'adiponectine est significativement réduite chez les personnes obèses, ce qui explique en partie l'activité réduite d'AMPK chez ces individus. Il est important de noter que l'adiponectine explique de nombreux effets bénéfiques de la restriction calorique, y compris la sensibilisation à l'insuline par activation d'AMPK.***(Jeon, 2016)***

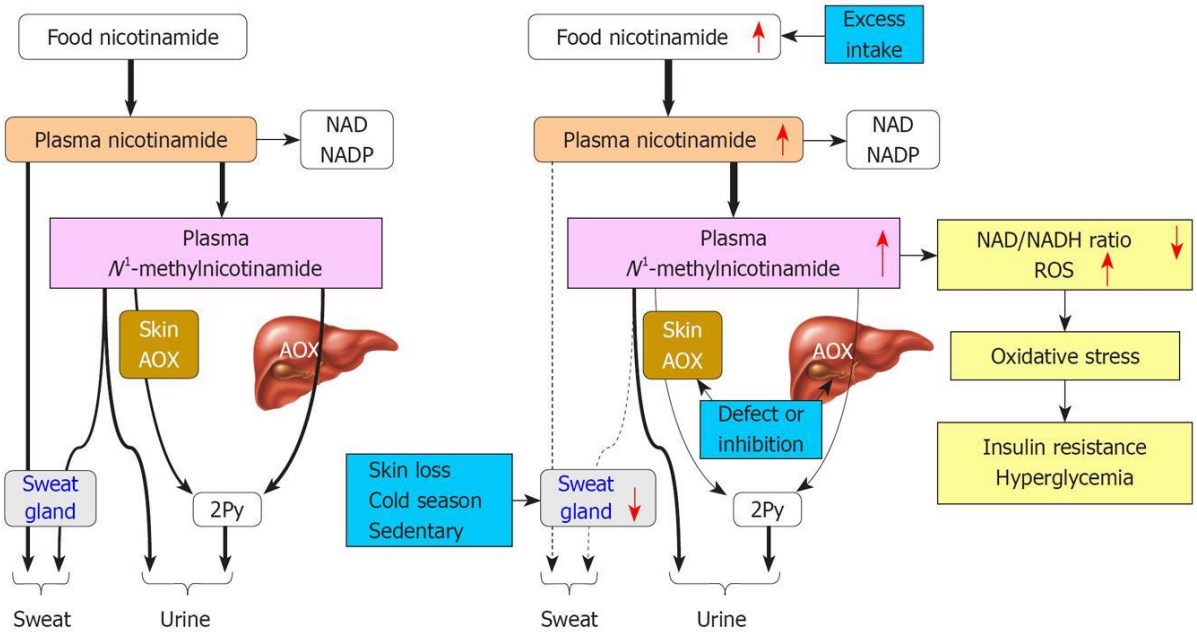


Figure 3.4 l'intervention du NADH dans le diabète de type 2.

4. MATÉRIEL

4.1 Matériel biologique

Notre travail a porté sur le rat blanc, qui est une espèce génétiquement sélectionnée, 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.



Figure 4.1 Rats *Wistar* utilisé dans l'expérience (photo originale)

4.1.1. Conditions d'élevage

Les rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats adultes de la souche Wistar, pesant 180g ± 20g et provenant de l'institut Pasteur d'Alger, Algérie. Avant toute expérimentation, les rats sont maintenus individuellement dans des cages conçues pour l'occasion à partir de boites en plastique recouvertes d'un grillage métallique et munies chacune d'une mangeoire et d'un système de distribution d'eau ad libitum sous forme de biberons. Le régime alimentaire standard et équilibré est sous forme de granulés provenant de l'ONAB (Office National des Aliments de Bétail). Ces animaux sont d'abords soumis à une période d'adaptation aux nouvelles conditions d'élevage pendant dix jours en alternant lumière et obscurité toutes les 12h (12 h/12h) sous une température ambiante maintenue à 22°C ± 2°C et un taux d'humidité de 50% ± 5%. ***(Abunasef, et al. 2014)***

4.2.Matériel non biologique

4.2.1. Produits chimique

- Streptozocine (annexe A)
- Novoformine® (annexe B)
- NADH (Annexe C)

4.2.2. Appareillages de laboratoire

Les appareils utilisés sont illustrés dans le tableau 4.1 suivant :

Une balance à précision	Une sonde de gavage
Des bandelettes pour mesure de la glycémie	Les seringues 1ml, 2,5 ml, et 5 ml
Un lecteur de glycémie contour Plus	Verreries.

Tableau 4.1 : représente les matériaux utilisés dans le laboratoire

Notre étude est portée sur les variations du poids corporel, glycémie à jeun et une étude histopathologique du pancréas chez le rat *Wistar* mâle, après l'administration de Streptozocine (STZ) par voix intrapéritonéal (IP) à raison de2 administrations à72h d'intervalle, la 1er de 40 mg/kg de poids corporel, et la 2ème de 45 mg/kg de poids corporel.

La répartition des lots s'est faite systématiquement en fonction des groupes d'animaux répondant positivement à l'induction du diabète.

4.3.Méthodes

4.3.1. Induction du diabète

Le diabète est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit par injection intrapéritonéale d'une dose unique de 40 mg/kg de poids corporelle de STZ dissoute dans un tampon citrate (0.01 M, pH 4.5) ***(Pathaket al., 2011).*** 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. Après 72 heures le diabète n'étant pas induit une seconde dose de STZ a été injectée. Dans un souci d'optimisation, cette dernière a été augmentée de 5mg afin d'atteindre les 45mg/kg de poids corporel.

Après 72 heures de l'injection de l'agent diabétogène, le diabète a été confirmé chez tous les rats par mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre (Contour Plus, Bayer Diagnostics, Meylan, Allemagne). Seuls les rats ayant un taux de glucose sanguin supérieur à 150 mg/dl sont utilisés et considérés comme diabétiques.

4.3.2. Préparation des lots de rats

L'expérience a été conduite sur 30 rats *Wistar* mâles, de poids 180g ± 20g. Les rats sont répartis en 5 lots, le tableau 4.2 suivant présente la répartition des lots selon le la substance chimique utilisé et sa dose.

LOTS	NaCl 0.9%	NADH 350mg/kg	NADH 100mg/kg	Novoformine® 700mg/kg
Contrôle négatif	+	-	-	-
Contrôle positif	+	-	-	-
Diabétique traité	-	-	-	+
Diabétique traité	-	-	+	-
Diabétique traité	-	+	-	-

Tableau 4.2 : répartition des lots des rats

Chaque lot contient six (6) individus, répartis d'une façon aléatoire par logiciel Excel, où le poids moyen par chaque lot est homogène.

4.3.3. Marquage

Les rats sont identifiés par un marquage spécifique, (étiquette pour chaque cage), et chaque rat est mis dans une cage individuelle. Chaque lot est mis sur une étagère étiquetée mentionnant le nombre de rats par lot, le sexe ainsi que le traitement octroyé.

4.3.4. Période d'acclimatation

Afin de minimiser l'influence néfaste du stress sur notre partie expérimentale, les rats sont soumis à une période d'acclimatation de dix (10) jours.

4.3.5. Pesée

Pendant la période d'acclimatation et pendant toute la période expérimentale des pesées sont effectuées quotidiennement sur les rats afin de suivre leur évolution pondérale. Avant chaque administration de traitement les rats sont pesés afin de déterminer la dose correspondante à chaque individu.

4.4.Préparation des doses de produits administrés

Deux(2) doses de NADH ont été préparé pour 2 lots différents, une de 350 mg/kg/J considérée comme forte dose (lot N++) et une de 100 mg/kg/J considérée comme faible dose (lot N). Ces dernières sont préparées en fonction du poids corporel de chaque individu. Avant chaque administration, La quantité nécessaire de NADH est diluée systématiquement dans de l'eau physiologique (NaCl 0.9%).

Une dose de metformine a été préparée pour le lot de metformine, 700 mg/kg/J est considérée comme une dose inférieure de la dose létale (DL_{50}), cette dernière est préparée en fonction du poids corporel de chaque individu. Avant chaque administration, la quantité nécessaire de Metformine est diluée dans de l'eau physiologique (NaCl 0.9%).

4.4.1. Traitement des animaux

Afin d'étudier l'effet du NADH ainsi que celui de la metformine sur le pancréas, nous avons réalisé une étude s'étalant sur 09 jours.

- Le premier lot (contrôle négatif), recevait 1 ml/ rat /jour, d'eau physiologique.
- Le deuxième lot contrôle positif), recevait 1 ml/ rat /jour, d'eau physiologique.
- Le troisième lot (traité par la metformine), recevait 1 ml/ rat /jour de metformine pendant 09 jours, l'administration était journalière, gavage par voie per os, correspondant à la dose de 700 mg/kg de poids corporel.
- Le quatrième lot, (traité par le NADH à forte dose), recevait 1 ml/ rat /jour, de NADH pendant 09 jours, l'administration était journalière, gavage par voie per os, correspondant à la dose de 350 mg/kg de poids corporel.
- Afin de stabiliser la glycémie, nous avons marqué un arrêt de 3 jours, et repris le traitement du jour J 6 jusqu'à la fin de l'expérience.
- Le cinquième lot, (traité par le NADH à faible dose), recevait 1 ml/ rat /jour, de NADH pendant 09 jours, l'administration était journalière le gavage par voie per os, correspondait à la dose de 100 mg/kg de poids corporel. Ce dernier lot à cependant aussi subit un arrêt au jour 3 suivi d'une reprise au jour 6.

4.5.Mesure de la glycémie

La nourriture est systématiquement retirée le soir, afin de mesurer la glycémie à jeun (8h de jeun au minimum). Le lendemain la glycémie est mesurée par lot en prenant une gouttelette de sang de la queue du rat qu'on dépose sur une bandelette. La lecture est faite en utilisant un lecteur de glycémie Contour Plus.



Figure 4.2 Lecteur de glycémie contour plus. (Photo originale)

4.6.Sacrifice des animaux et prélèvement

A la fin de la phase expérimentale, les rats ont été maintenus à jeun depuis la veille puis 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. ***(Alfredo et al. 2009).***

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

Pour l'étude histologique, les pancréas de tous les rats ont été mis dans des piluliers, contenant un liquide fixateur : le formol à concentration de 10%.

La fixation consiste à protéger les tissus prélevés de toute autolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaire. Elle permet de préserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

4.7.Etude histologique

Le matériel prélevé a été soumis aux techniques histologiques courantes.

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.

4.7.1. La circulation

Elle consiste à faire séjourner les pièces histologiques dans une séries de solvants dans un ordre déterminé, en transférant les organes d'un solvant à un autre, de manière à faire pénétrer dans un tissu à l'origine hydraté des substances souvent hydrophobes. Cette étape est nécessaire pour la réalisation et la confection des coupes à la paraffine. La circulation se déroule comme suit :

A. Il faut tout d'abord procéder à la déshydratation : on passe les tissus dans des bains d'alcool (éthanol) de degrés croissants (75°, 95°, 100°) à raison d'une heure pour le 1er bain et de deux heures pour chacun des deux autres bains. L'intérêt de la déshydratation et d'éliminer l'eau.
B. L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : il s'agit soit du xylène ou du toluène (hydrocarbure). Ces substances éliminent l'éthanol. Cette étape est effectuée par passages successifs dans deux bacs de xylène pendant deux heures. Au fur et à mesure de leur infiltration par le solvant, les tissus auront tendance à s'éclaircir d'où le nom de phase d'éclaircissement ou de clarification.
C. L'imprégnation à la paraffine constitue l'étape finale de la circulation. La paraffine doit être au préalable chauffée à 56° C pour se liquéfier. Les cassettes d'organes séjourneront successivement pendant 2 heures dans deux bains de paraffine fondue et maintenue à 56°C. Cette opération permet l'élimination du xylène et l'imprégnation des tissus par la paraffine.
D. L'inclusion ; consiste à faire pénétrer la paraffine dans les tissus ce qui va procurer à ces derniers la résistance mécanique nécessaire à la réalisation des coupes au microtome. La confection des blocs se fait par l'écoulement de paraffine fondue dans des moules métalliquesoù les fragments y seront plongés, la paraffine s'introduit à travers les grilles des cassettes jusqu'au remplissage. Les blocs ne seront démoulés qu'après refroidissement total.

4.8.Confection des coupes

Les blocs obtenus sont coupés au microtome à une épaisseur de 3µm. L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire. Les rubans des coupes sont étalés sur la surface d'un bain marie, puis récupérées sur des lames. Les lames sont égouttées puis séchées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

4.8.1. Coloration des lames

Pour qu'on puisse utiliser une coloration, la paraffine doit être éliminée. Nous procédons donc au déparaffinage, qui consiste à passer les lames dans deux bains de xylène pendant 5min chacun, afin de dissoudre la paraffine.

Nous effectuerons ensuite une réhydratation en passant les lames dans des bains d'alcool de concentration décroissante 100°, 95°, et 70° (5min/bain), puis dans de l'eau distillée pendant 10 mn.

Une fois prêtes à être colorées, nous procédons alors à la coloration standard hématoxyline Eosine (HE).

4.8.2. Montage et lecture

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture en microscopie, il s'agit de recouvrir l'étalement avec une lamelle dans le but de protéger les coupes des dégradations chimiques des colorants qui s'oxyde facilement à l'air et afin d'obtenir un degré de transparence associé à un indice de réfraction élevé.

Après le montage, les lames sont séchées sur papier absorbant et nettoyées au xylène. Elles sont alors prêtes à l'observation microscopique.

Afin de voir est ce que le NADH a un pouvoir antioxydant, nous avons réalisé un test de pourvoir antioxydant avec le radical libre de référence DPPH.

4.9.Piégeage du radical libre DPPH :

a- Estimation du pouvoir anti radicalaire par la méthode au DPPH

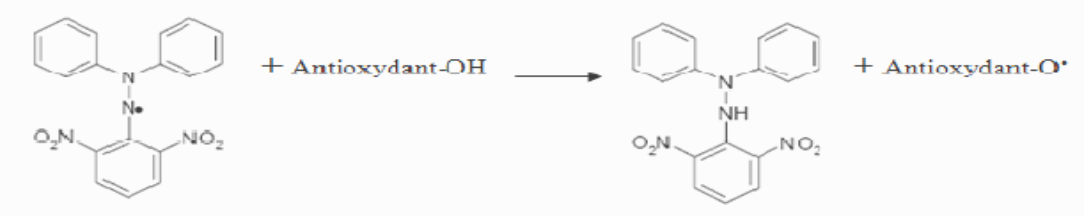
4.9.1. Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparait rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entrainant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons ***(Sanchez-Moreno, 2002).***On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :

$$DPPH^{*}+(AH)n \longrightarrow DPPH\text{-}H+ (A^{*})n$$

Où : **(AH)** représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) ***(Brand-William et al.,1995).***

Le balayage indique que la longueur d'onde correspond au max d'adsorption est celui de 515 nm, dans notre cas.



DPPH violet (radical libre) DPPH jaune (radical capté)

Figure 4.3 Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

4.9.2. Mode opératoire

Un volume de 0.1ml des différentes concentrations 0,25-1,5 mg/ml de l'extrait éthanolique est ajouté à 3.9 ml de la solution éthanolique du DPPH (4mg/100ml) 0.1 mM fraîchement préparée. L'absorbance est mesurée à 515 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol pur après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Répéter les mêmes opérations, en remplaçant l'extrait de NADH par le l'acide ascorbique (le standard) Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. ***(Ruramasamy et al., 2007)***. Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante

% Concentration d'inhibition = [(A1 – A2) / A1] x 100

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait ou standard.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le standard (antioxydant de **référence vit C**). Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = *f* (concentrations)].

5. Résultats et discussion

5.1 Induction du diabète

Les deux injections de streptozotocine (STZ) à 48 h d'intervalle l'induction du diabète ont été finalement réalisée avec succès. Ceci a été confirmé par l'hyperglycémie omniprésente chez le témoin positif tout au long de notre expérience (voir figure 5.1). De par la demie vie courte de la STZ ***(Wu and Yan 2015).*** son effet cytotoxique ne serait pas donc le seule responsable de cette hyperglycémie persistante maintenue le long de l'expérience***(Bouchet et al. 2011)***mais serait due aux conséquences de cette dernière (hyperglycémie)présente immanquablement chez le témoin diabétique ainsi que majoritairement chez tous les autres lots surtout avant le gavage. Ce qui entretiendrait un climat toxique nocif pour les cellules B restante les incitant ainsi à mourir d'où l'effet hypoglycémiant persistant.

5.2. Variations de la glycémie

5.2.1 Variations de la moyenne glycémique totale

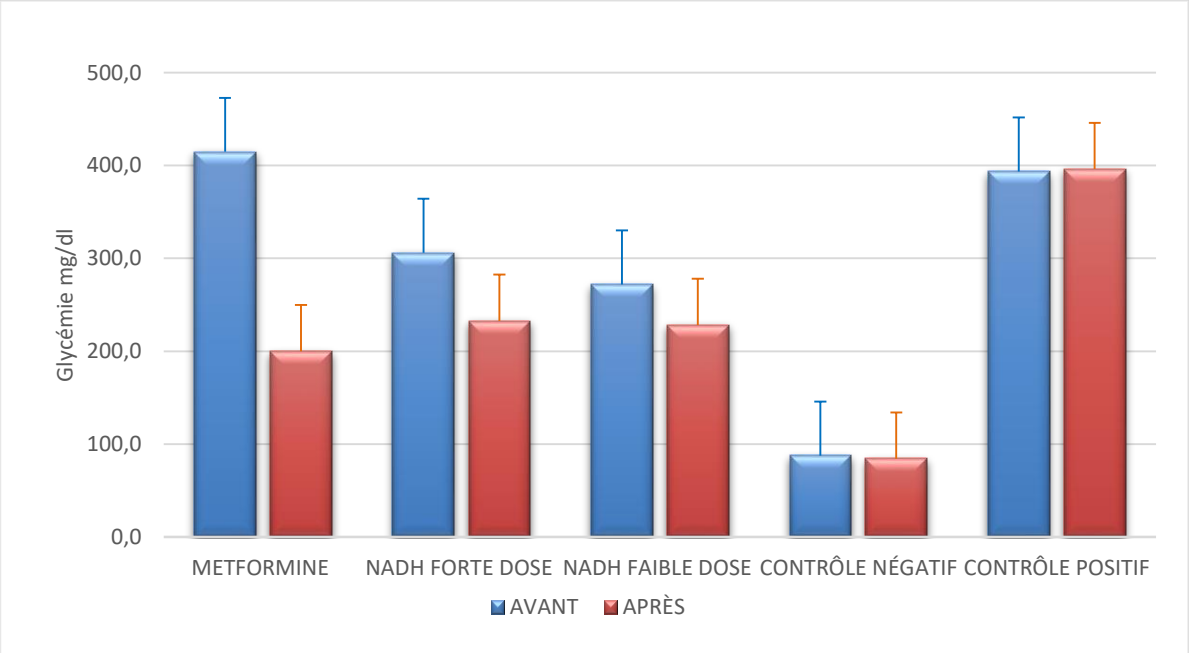


Figure 5.1 : Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne

Cet histogramme représente la moyenne de la glycémie (avec écart type), avant et après le gavage, pendant toute la phase expérimentale. Dans le lot de metformine il y a une différence majeure entre la glycémie avant(en bleu) et après (en rouge) le gavage, le taux de glycémie a chuté de 414 mg/dl à 200 mg/dl une chute de 50%.

Dans le lot de NADH à forte dose soit de 350mg/kg, on observe une différence de 70 mg/dl entre avant et après le gavage sachant que le ce dernier a été interrompu pendant 3 jours consécutives durant l'expérimentation, suite à une hypoglycémie à jeun inquiétante. Le traitement depuis a été remplacé par de l'eau glucosée à 10%. Les mêmes observations ont été faites chez le lot de NADH à faible dose (100mg/kg).

5.2.2 Variations journalières de la glycémie moyenne

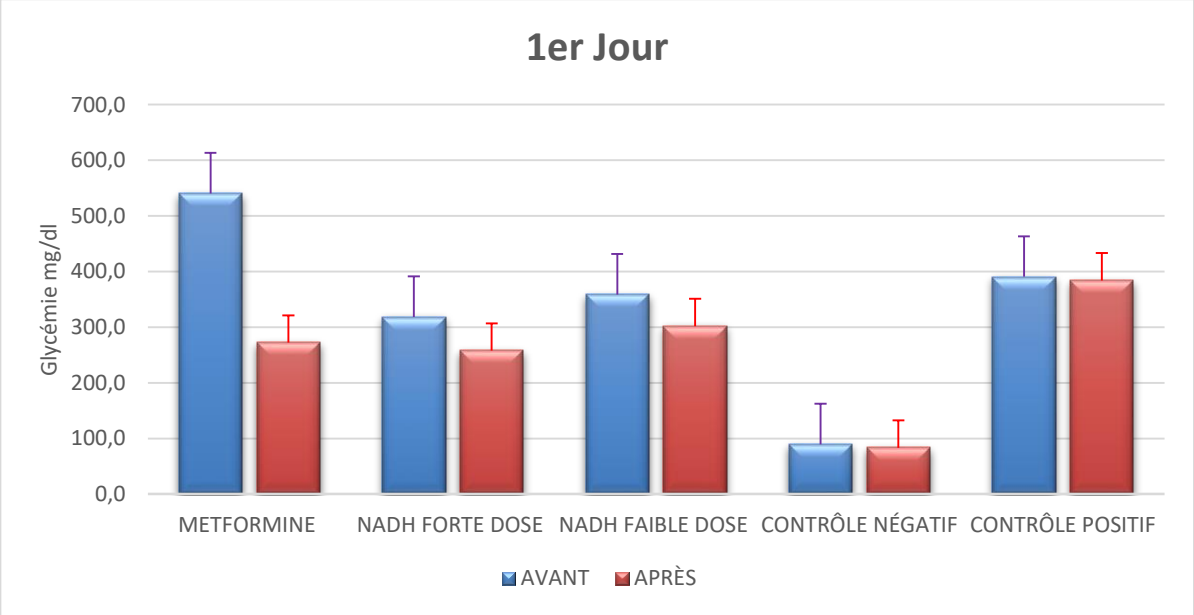


Figure 5.2 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 1er jour

Cet histogramme représente la moyenne de la glycémie avant et après le gavage durant le 1er jour de l'expérience. On note la présence d'une hyperglycémie avant gavage chez tous les lots sauf celui du contrôle négatif ce qui confirme l'efficacité de la STZ. En ce qui concerne les autres lots pris individuellement, une baisse de la glycémie a été observée chez le lot metformine et NADH avec un net effet hypoglycémiant du lot met comparativement à celui du NADH.

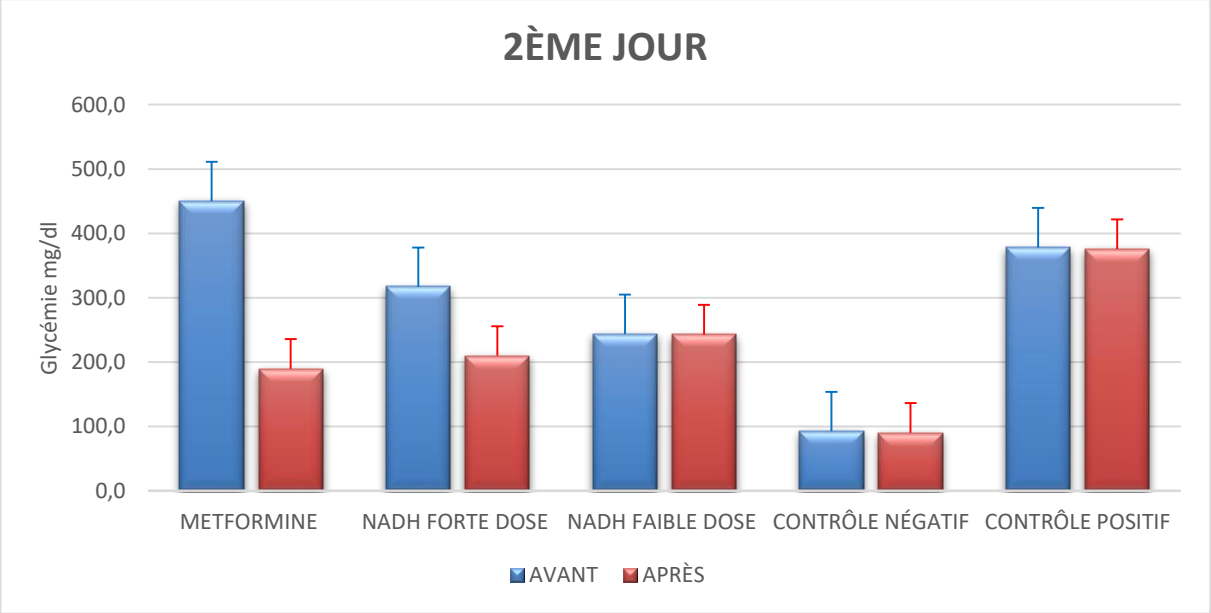


Figure 5.3 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 2ème jour

2 heures après l'administration de Metformine 750 mg/kg on remarque une chute de la glycémie aussi importante qu'au premier jour. Une baisse de la glycémie chez les deux lots de NADH confondus avant et après gavage a été signalée avec une stabilisation temporaire de celle-ci chez le lot NADH à faible dose.

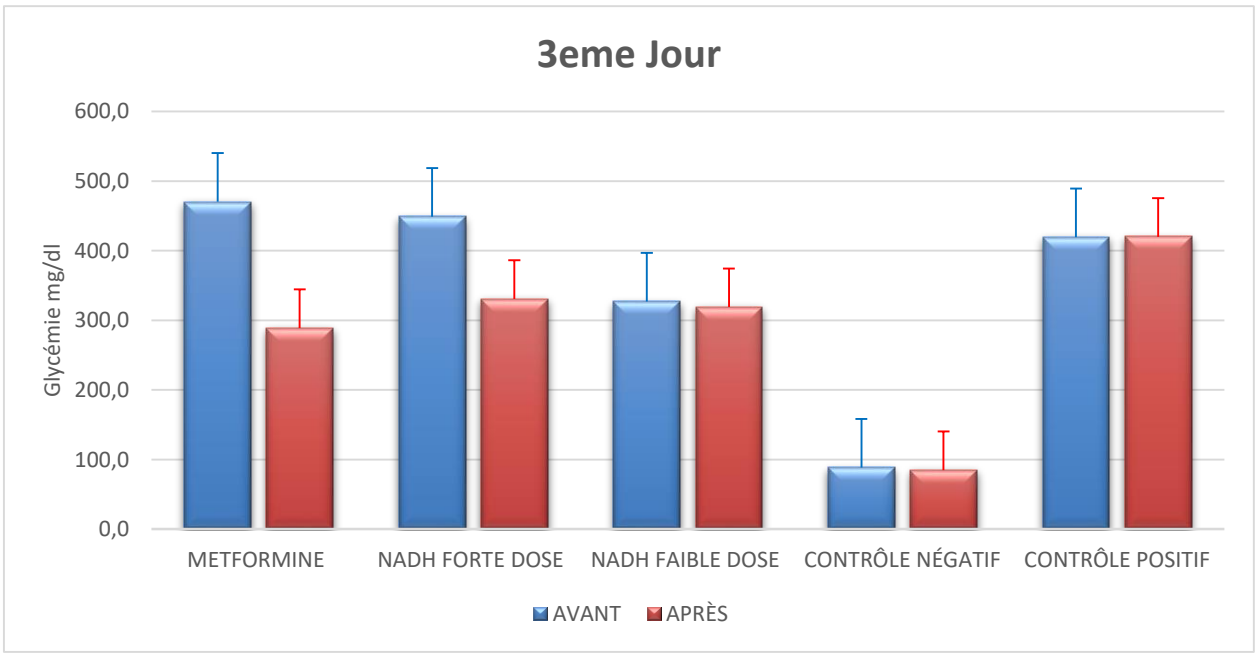


Figure 5.4 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 3ème jour

Au troisième jour on a observé une glycémie supérieure à celle mesurée le jour précédent. Ceci pourrait s'expliquer par une période de jeun prolongé supérieure aux deux jours précédents. L'effet hypoglycémiant de la MET ainsi que celui du NADH pouvait encore s'observer avec une meilleure efficacité hypoglycémiante du NADH à forte dose comparativement à la faible dose.

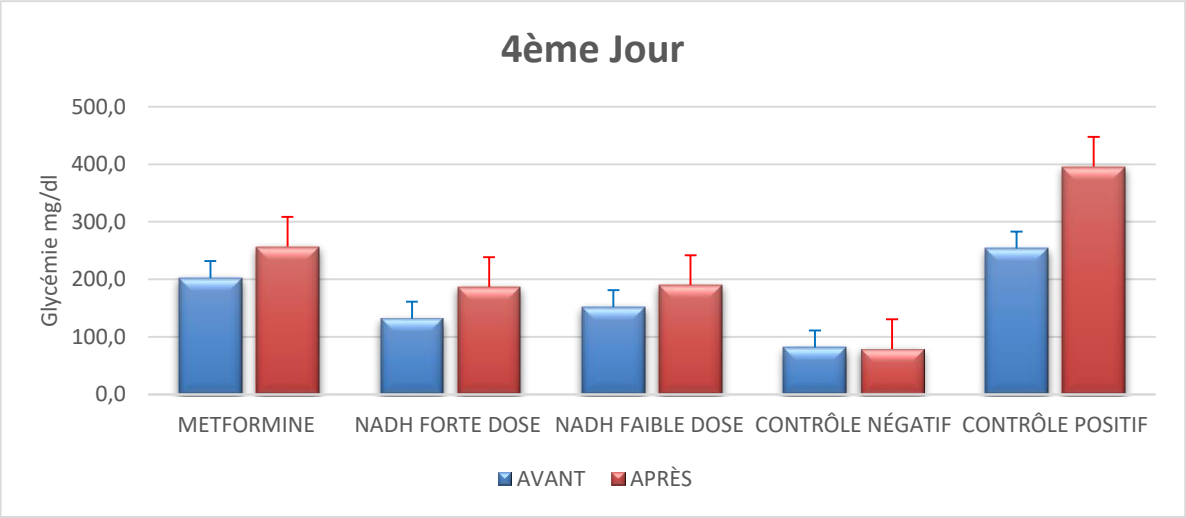


Figure 5.5 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 4ème jour

Au quatrième jour, les valeurs hyperglycémiques post gavage observées au niveau de tous les lots à l'exception du contrôle négatif, reflètent un état post prandiale typique observé lors d'un jeun prolongé chez les diabétiques de type 2 (voir partie interprétation).Cette hyperglycémie post gavage faisant suite à une normo glycémie à jeun nous a incité à lever le traitement chez les lots de NADH et ce jusqu'à la stabilisation de celle-ci. Le traitement à la Metformine quant à lui a été maintenu.

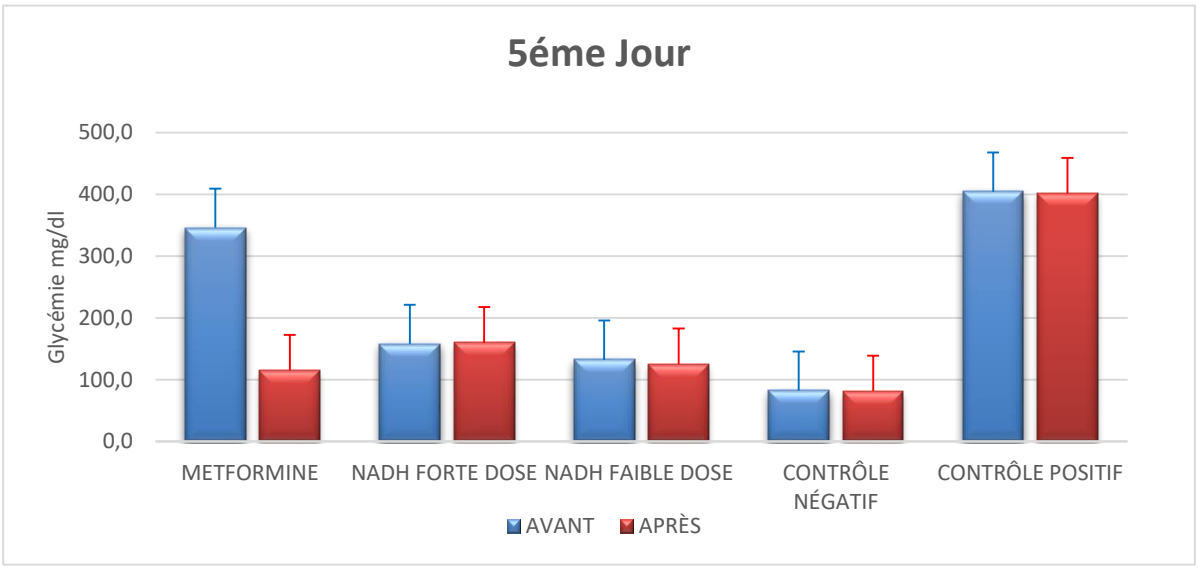


Figure 5.6 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 5ème jour

Au cinquième jour la persistance de l'effet hypoglycémiant des lots de NADH allant même à la normo glycémie observée aussi bien avant qu'après le gavage nous ont incité à continuer la levée du traitement au NADH pour ce jour-là.

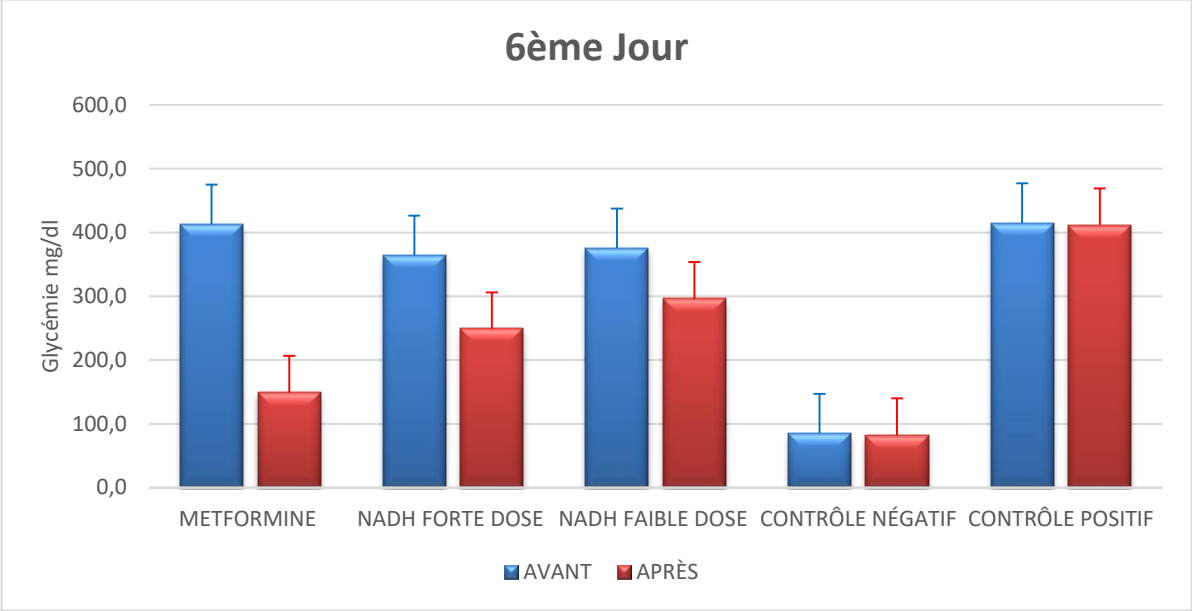


Figure 5.7 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 6ème jour

Au 6eme jour les valeurs glycémiques à jeun ont rejoint des valeurs hyperglycémiques forçant ainsi le retour au traitement des lots NADH.L'effet hypoglycémiant aussi bien à forte qu'à faible dose a été observé mais toujours moins important que celui de la Metformine.

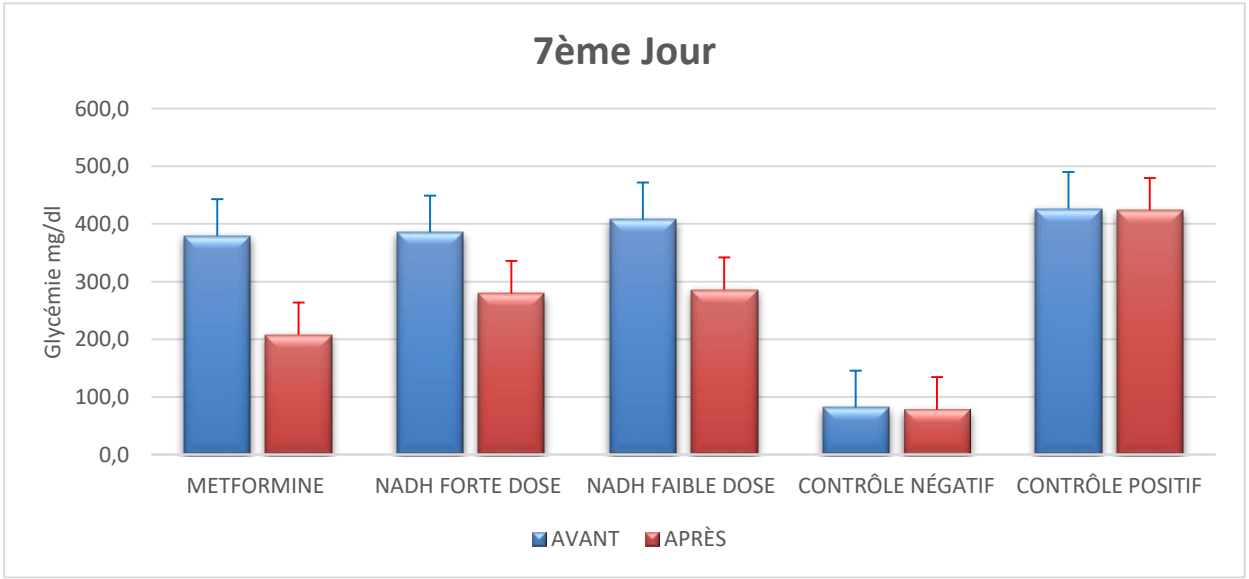


Figure 5.8 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 7ème jour

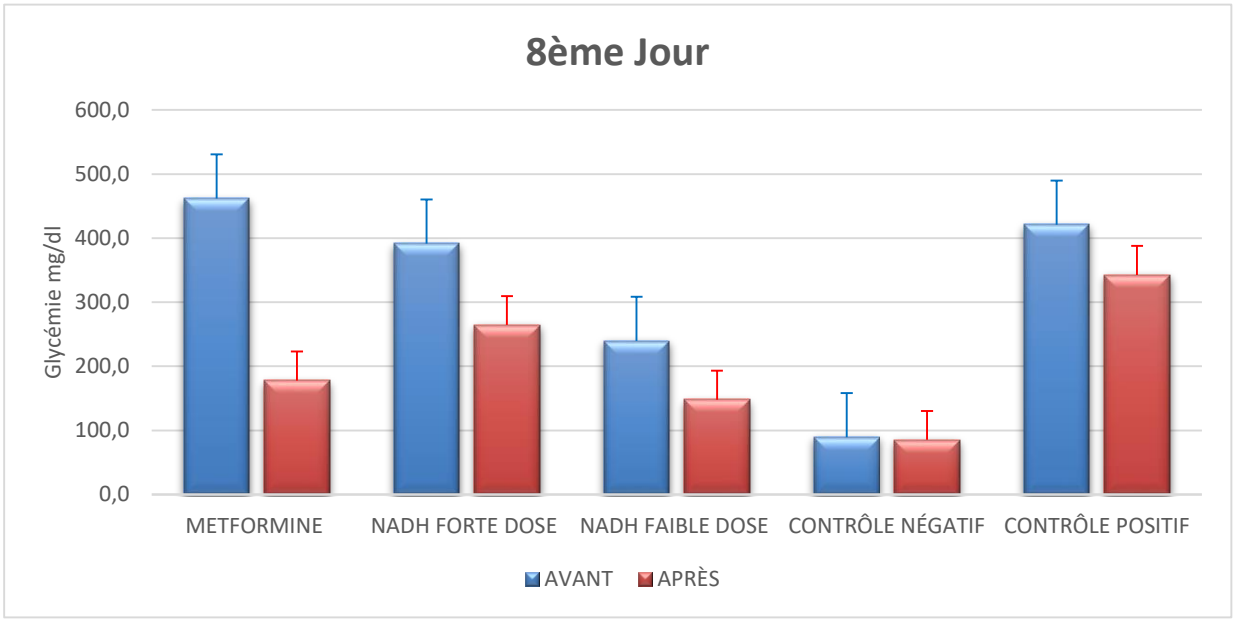


Figure 5.9 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 8ème jour

Au cours de ses deux jours successive (septième et huitième jour) on note une baisse continue de la glycémie avant et après gavage au niveau des lots de NADH respectivement. Celui de la Met est considéré à ce stade comme constante.

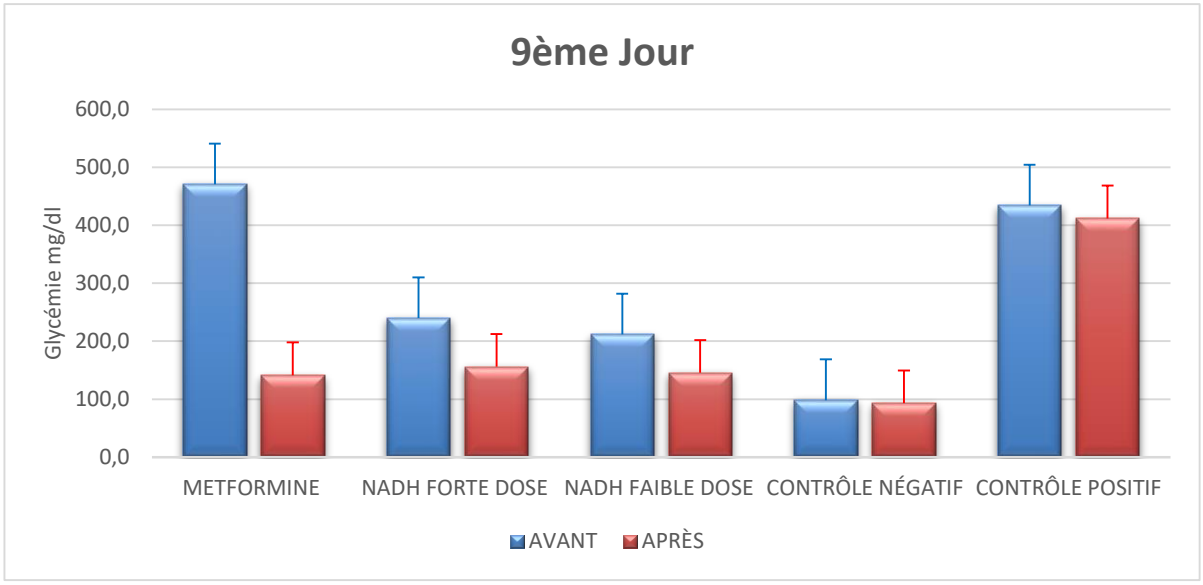


Figure 5.10 Représentation schématique des variations de la glycémie moyenne du 9ème jour

Au neuvième jour des valeurs normoglycémiques ont été enregistrées. Ceci pourrait s'expliquer par l'effet cumulé du NADH incitant à une revitalisation du Pancréas (voir partie interprétation ci-dessous).

5.3Cinétique de la glycémie

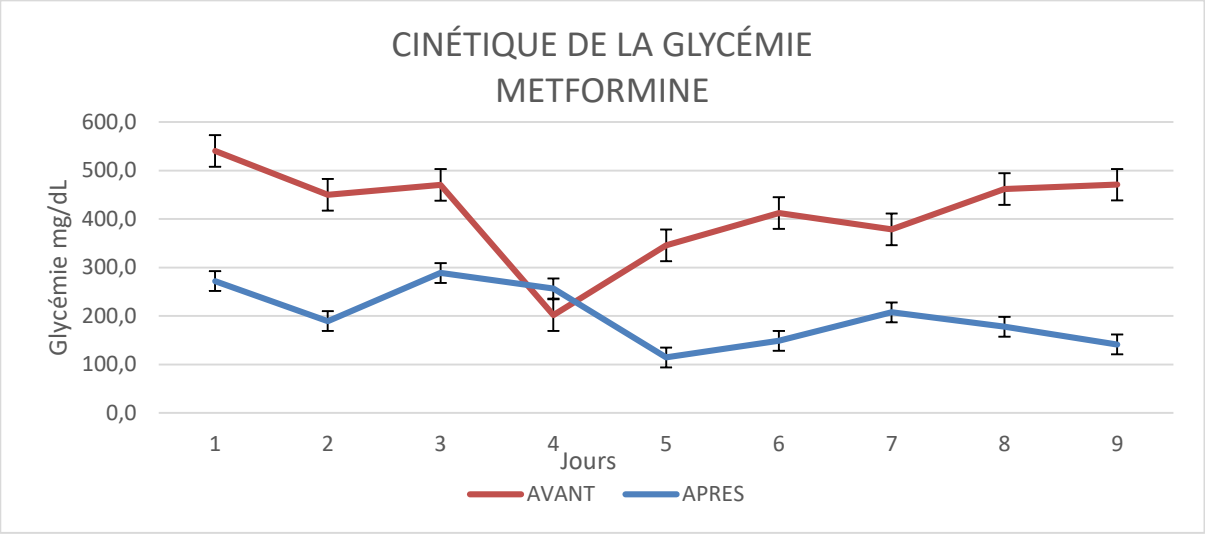


Figure 5.11 Représentation schématique de la cinétique de la glycémie pour le lot de metformine.

Cette figure est une courbe qui représente la cinétique de la glycémie chez le lot de metformine, la glycémie avant le gavage est représentée par la ligne rouge et la glycémie après le gavage est représentée par la ligne bleue. Ceci nous a permis de confirmer sans équivoque l'effet hypoglycémiant déjà connu de la Metformine.

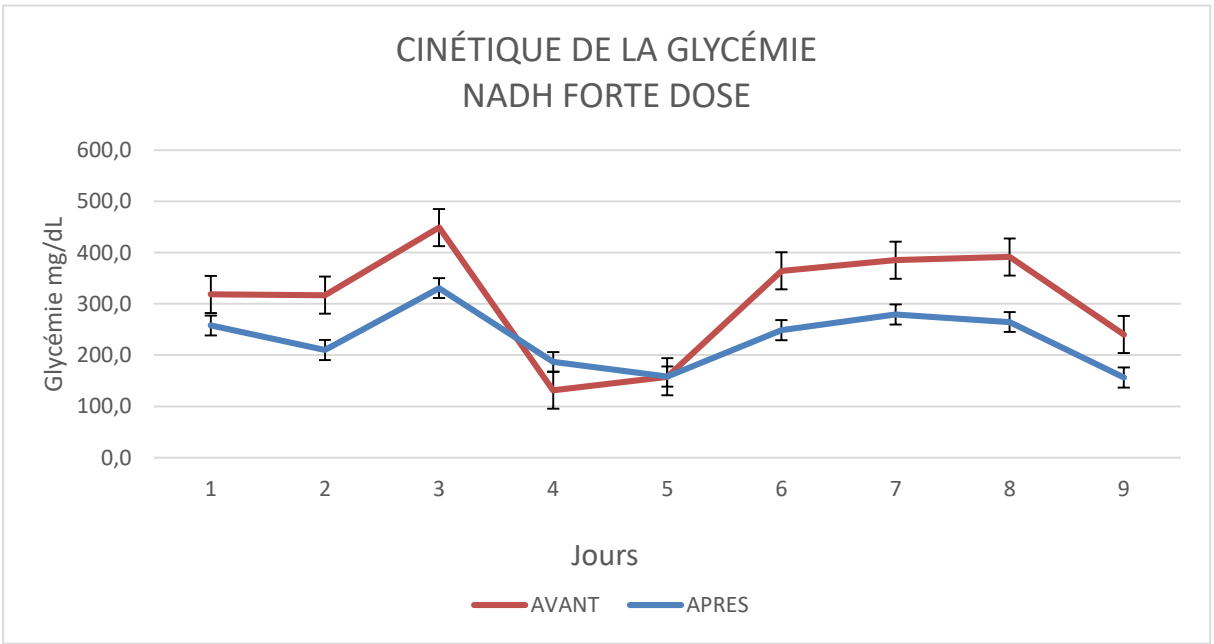


Figure 5.12 Représentation schématique de la cinétique de la glycémie pour le lot de NADH à forte dose.

Cette figure est une courbe qui représente la cinétique de la glycémie chez le lot NADH à forte dose, la glycémie avant le gavage est représentée par la ligne rouge et la glycémie après le gavage est représentée par la ligne bleue.

Nous voyons dans cette courbe une cinétique de la glycémie qui n'est pas stable avant le gavage, au 4ème et le 5ème jour la glycémie pré gavage marque une baisse vers la fourchette thérapeutique 126 mg/dl, la rendant proche d'une glycémie normale. Au 6eme jour la reprise du traitement a permis la stabilisation de cette dernière jusqu'au 9ème jour (fin de l'expérience).

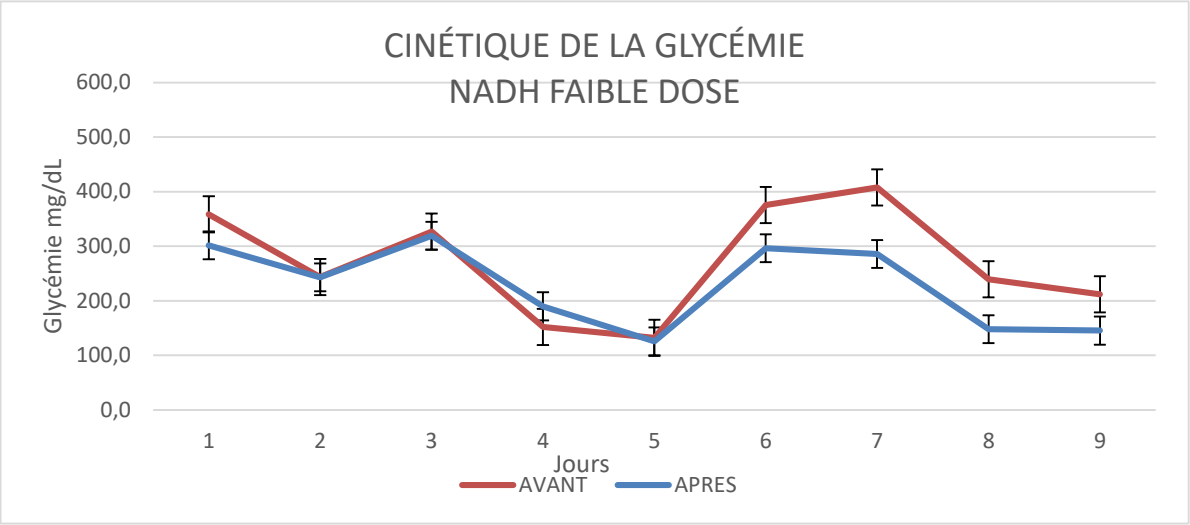


Figure 5.13 Représentation schématique de la cinétique de la glycémie pour le lot de NADH à faible dose.

Cette figure est une courbe qui représente la cinétique de la glycémie chez le lot NADH faible dose, la glycémie avant le gavage est représentée par la ligne rouge et la glycémie après le gavage est représentée par la ligne bleue.

L'effet hypoglycémiant à faible dose de NADH s'observe clairement mais obéit à une cinétique plus lente que celle du NADH à forte dose.

5.4 Interprétation des variations de la glycémie

Tout au long de notre travail il a été possible de noter des variations de la glycémie au niveau des différents lots traités comparativement à ceux non traités représenté ici par le seul témoin négatif. Ceci s'est manifesté par une hyperglycémie avec parfois une baisse relative et même significative de celle-ci allant jusqu'à des valeurs normo glycémiques 126 mg/dl.

La cinétique des variations glycémiques dessinait une diminution lente les deux premiers jours au début du traitement chez les lots traités au NADH comparativement à ceux traités à la Metformine dont l'effet hypoglycémiant constant tout au long de l'expérience a été bien documenté ***(Alsubaie and Almalki 2013)***. Durant ces deux premiers jours, il n'était pas possible de noter des différences significatives entre les deux lots de NADH à dose croissantes, laissant prédire une dose minimale hypoglycémiante déjà suffisante à elle seule ceci confirme les travaux de Birkmayer et al. Mentionnant une dose bien inferieure. La **Figure 5.1** de la moyenne vient confirmer nos suspicions.

Il est aussi important de soulever qu'au deuxième et troisième jour on note une stabilisation de la glycémie chez le lot NADH à faible dose laissant prédire un effet stabilisateur de la glycémie de ce dernier.

Ceci se confirma au J4 ou la glycémie avant gavage ayant atteint sa valeur minimale nous incitant à arrêter l'administration de NADH pendant 2J et de procéder au gavage glucosé uniquement.

Cette mesure de sécurité nous a permis de noter une autonomie d'action du NADH même après deux jours d'abstention en plus de la journée mentionnée ci-dessus, laissant prédire une reprise de fonction des cellules β pancréatiques par amélioration du climat cytotoxique environnant à la suite de l'apport énergétique nécessaire au bon fonctionnement des cellules β***(Birkmayer, and Ghouini 2016; Socorro and Esni 2014).***

Le quatrième jour du gavage ayant suivie une journée sans traitement laisse apparaitre une hyperglycémie observée au niveau de tous les lots sauf celui du témoin négatif laissant penser à un effet cumulé de la journée perdue il s'agit de l'hyperglycémie post prandiale observée après un jeun prolongé l'effet du jeun prolongé***(Wu and Yan 2015).*** Cependant, l'observation au quatrième jour d'une hyperglycémie post gavage assez sévère et présente chez tous les lots supposés diabétiques y compris celui de la Metformine ,laissent penser à un effet cumulé de la journée perdue il s'agit d'une hyperglycémie post prandiale observée après un jeun prolongé chez les diabétiques de type 2 ***(Ibrahim and Rizk 2008).*** Au sixième jour, l'hyperglycémie mesurée chez les lots traités nous força à reprendre le traitement. Ceci pourrait s'expliquer par l'épuisement des réserves énergétiques due à leur consommation prématurée suite au stress oxydatif prédominant dans un climat hyper toxique où le pouvoir antioxydant serait en panne ***(Wu and Yan 2015).***

Au cours des derniers traitements non interrompue s'étalant du sixième au huitième jour le pouvoir hypoglycémiant du NADH à différentes doses pouvait se confirmer avec aisance. Le

neuvième jour quant à lui affichait des valeurs normoglycémiques immuables avant et après traitement. Ceci vient consolider notre hypothèse octroyant au NADH la fenêtre d'action de plus au moins 48H possiblement due aux réserves énergétiques encore disponibles au niveau des cellules β***(Wu and Yan 2015)***.

5.5 Pourquoi la Metformine et pourquoi le NADH

Ayant fait ses preuves hypoglycémiante, la metformine est de loin le moyen thérapeutique approuvé par la FDA le plus utilisé dans le traitement du diabète de type 2. Cependant ses effet secondaires souvent ignorés pourrait altérer son image***(Alsubaie and Almalki 2013)***; il est sure que son action hypoglycémiante se résumerait à l'activation d'une voie alternative d'énergie celle des MAPK et que son action régénérative au niveau pancréatique est inexistante. La nécessite d'une prise quotidienne de Metformine chez le diabétique confirmée dans nos résultats vient limiter son mode d'action à un effet activateur d'un processus de production énergétique par glycolyse au niveau hépatique sans l'élargir à une possibilité de sollicitation des cellules pancréatiques***(Briet, CM., et al. 2010; Szkudelski 20), l***e NADH étant moins toxique à long terme serait quant à lui la molécule normoglycémiante par excellence. Ceci a été confirmé dans le présent travail.

5.6 Lecture histopathologique

Les observations histologiques inhérentes au présent travail n'ont pas montré des différences louables entres les lots de NADH et ceux de la Metformine. Cependant, chez le contrôle positif, les ilots de Langerhans étaient plus petits et de forme irrégulière **(Fig. 5.18 et 5.19)** dont la différence avec le témoin négatif se résumait principalement à la taille et au nombre significativement réduits de ces derniers **(Fig. 5.14 et 5.15)**. Les détails de ces structures au fort grossissement nous ont permis d'observer une riche vascularisation de ses ilots à cellules saines chez le témoin négatif **(Fig. 5.16 et 5.17)** alors que chez le témoin positif ces cellules étaient d'apparence moins saine et contenaient très peu de vaisseaux sanguins **(Fig.5.19 et 5.20).**

Le lot de NADH toutes doses confondues **(Fig. 5.24, 5.25 5.27 et 5.28)** ; ainsi que celui de la Metformine **(Fig. 5.21 et 5.22)**, laissent apparaitre des ilots toujours irréguliers mais d'apparence plus saine que ceux du témoin positif **(Fig. 5.18 et 5.19)**. L'aspect fonctionnel de ces ilots se manifeste par la présence de plusieurs capillaires sanguin irrigant les ilots traités à la Metformine **(Fig. 5.22 et 5.23)** et au NADH **(Fig. 5.25, 5.26, 5.28 et 5.28)** alors qu'ils seraient très rares voire absents chez le contrôle positif **(Fig. 5.19 et 5.20)**. Ceci pourrait s'expliquer par l'effet hypoglycémiant de la Metformine et

revivifiant du NADH qui produirait suffisamment d'énergie nécessaire à la protection des cellules restante de l'hyperglycémie persistante responsable du stress oxydatif.

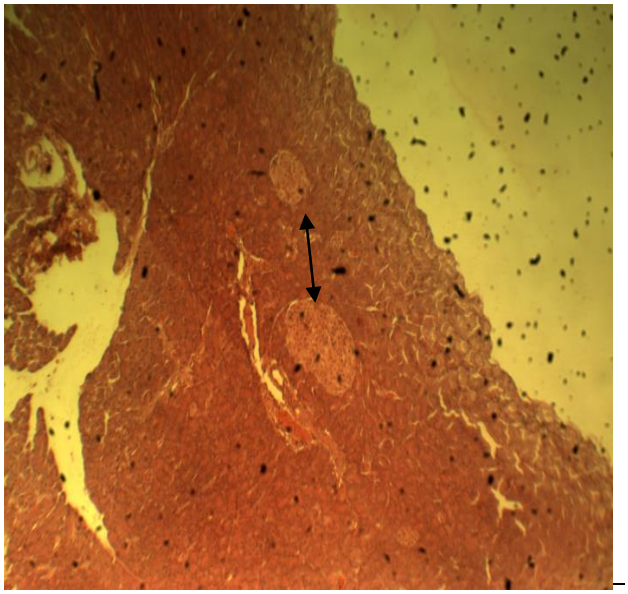


Fig. 5.14 Contrôle négatif G 10x. Ilots de Langerhans sains (flèche).

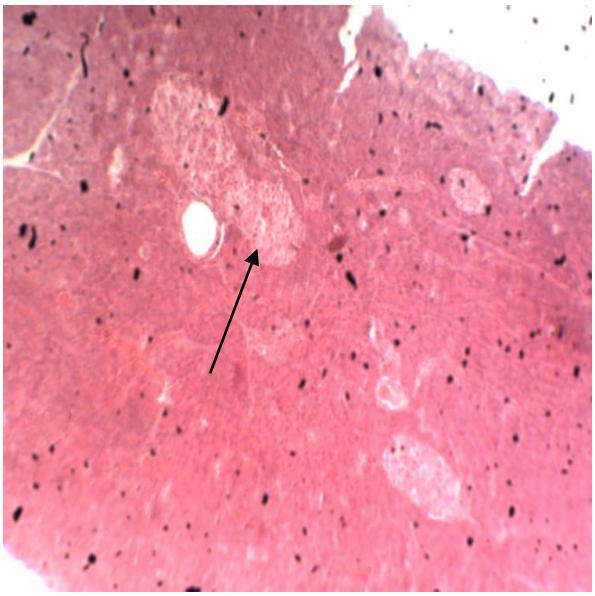


Fig. 5.15 Contrôle négatif G10x. Ilot de Langerhans sain (flèche).

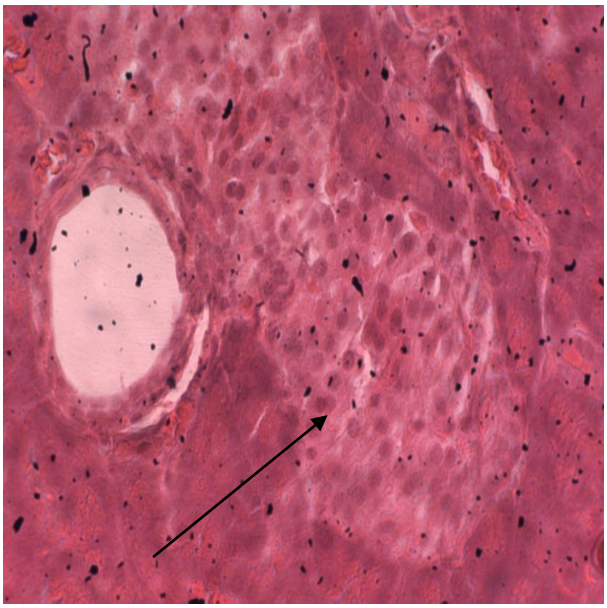


Fig. 5.16 Contrôle négatif G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans sains bien vascularisé (flèche).

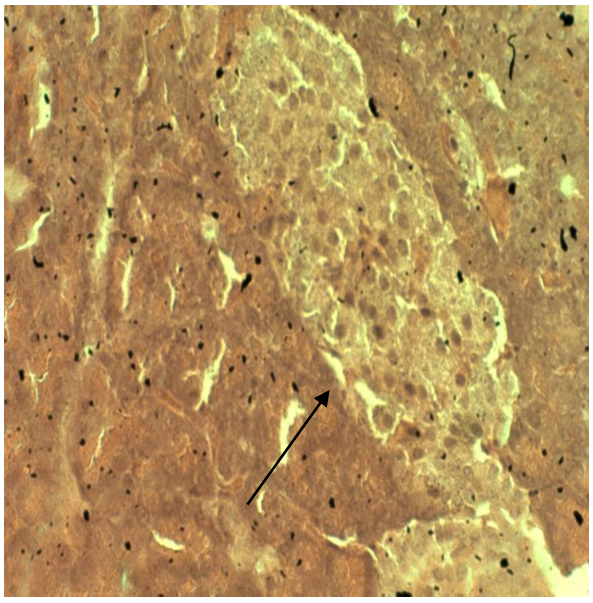


Fig. 5.17 Contrôle négatif G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans sain (Flèche).

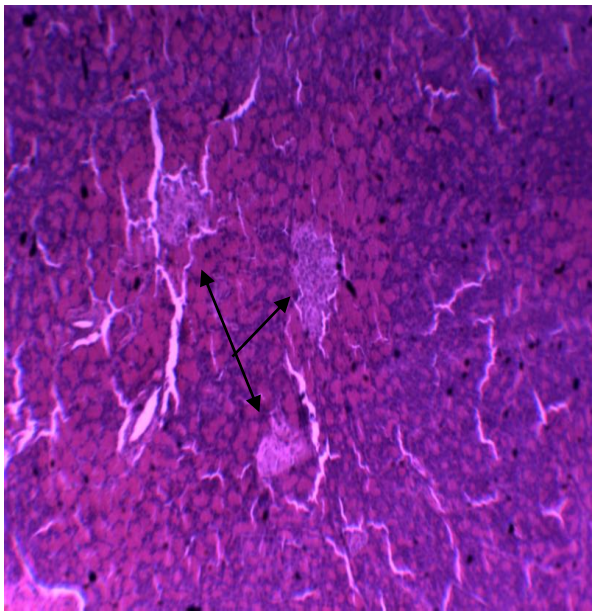


Fig. 5.18 Contrôle positif G10x. Ilots de Langerhans atrophiés (flèches).

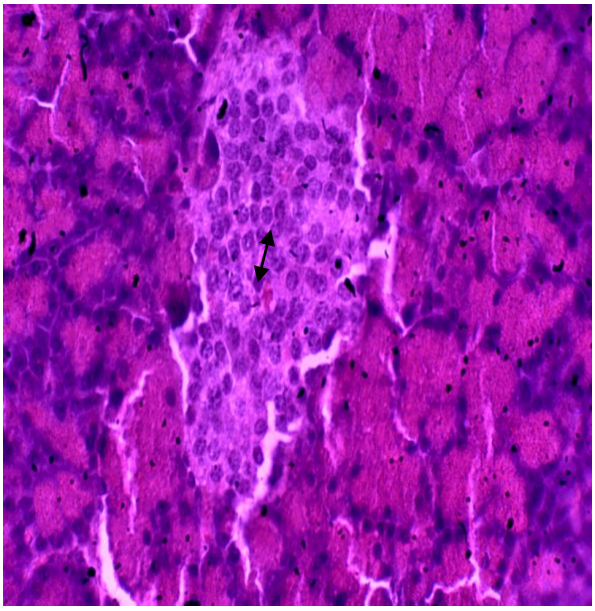


Fig. 5.19 Contrôle positif G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans atrophié très peu vascularisé (flèche)

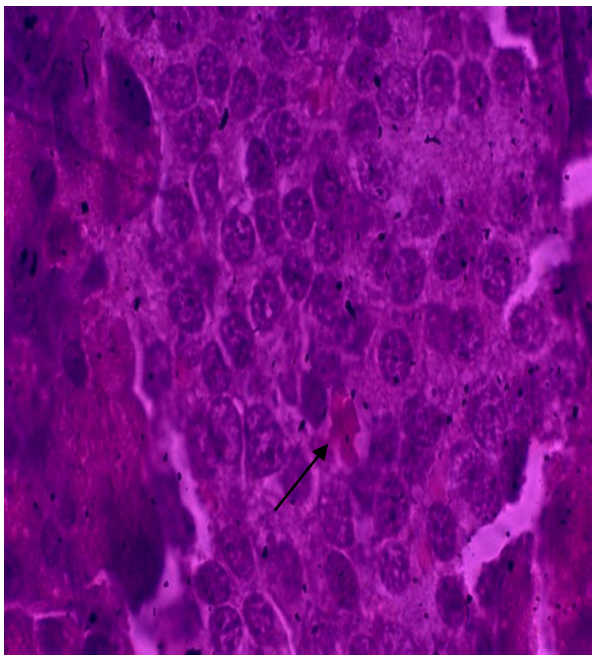


Fig. 5.20 Contrôle positif G 100x. Détails d'un ilot de Langerhans très peu vascularisé (flèche).



Fig. 5.21 Metformine G 10x. Deux ilots de Langerhans d'aspect irrégulier (flèche).

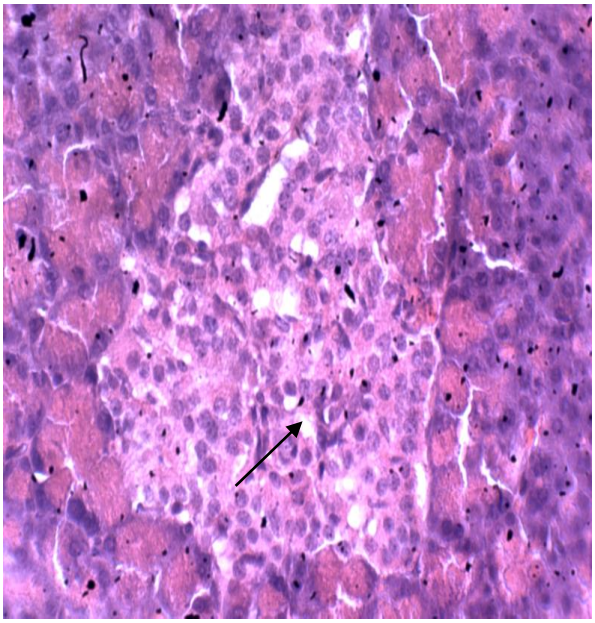


Fig. 5.22 Metformine G 40x. Détails d'un ilot de Langerhans irrégulier montrant des vaisseaux sanguins (flèche).

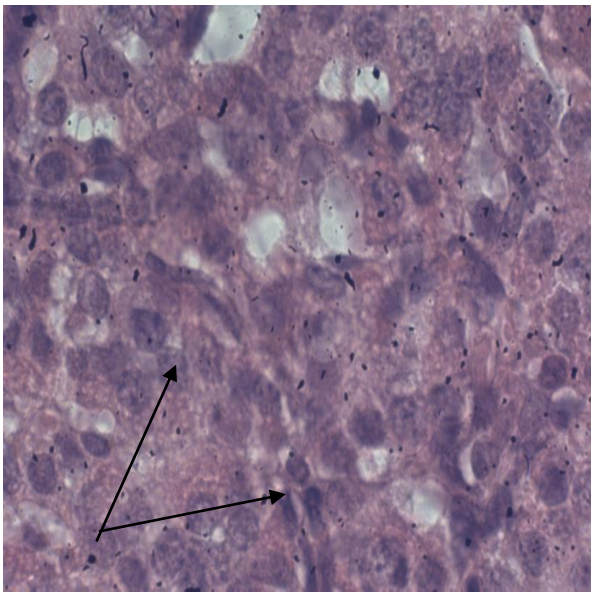


Fig. 5.23 Metformine G 100x. Vaisseaux sanguins irrigant un ilot de Langerhans (flèches)

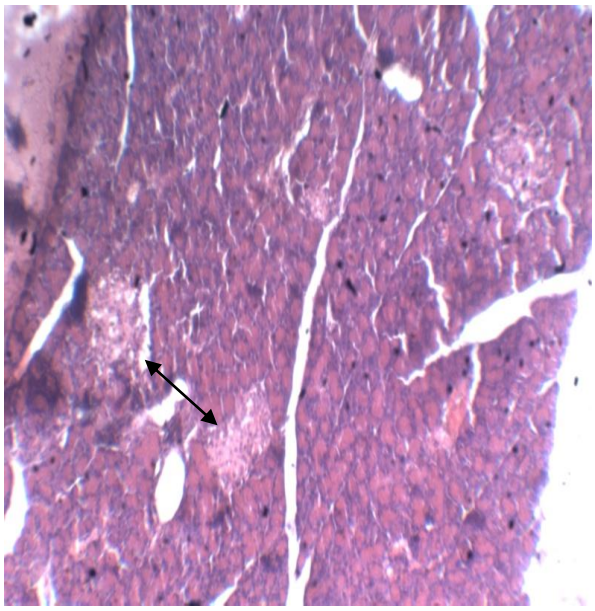


Fig. 5.24 NADH Faible dose G 10x. Ilots de Langerhans de forme irrégulière (flèche).

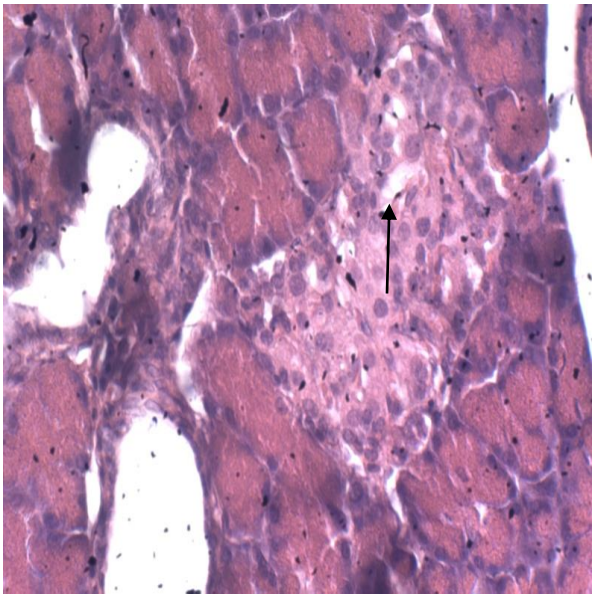


Fig. 5.25 NADH Faible dose G 40x. Vaisseaux sanguins irrigant un ilot de Langerhans (flèche).

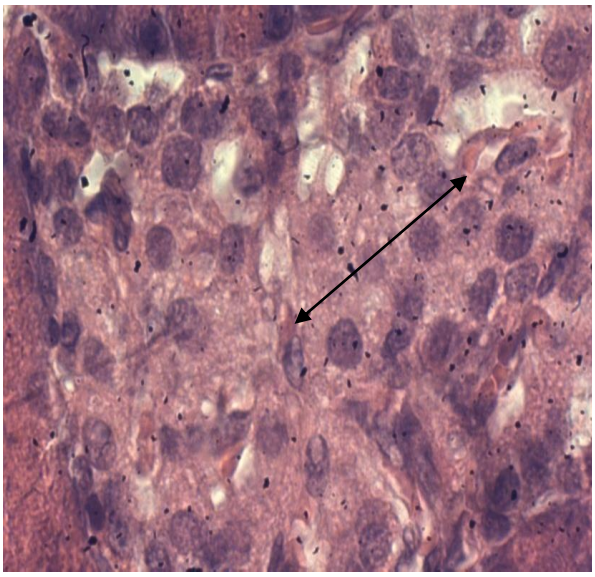


Fig. 5.26 NADH Faible dose G 100x. Vaisseaux sanguins parcourant un ilot de Langerhans (flèche).

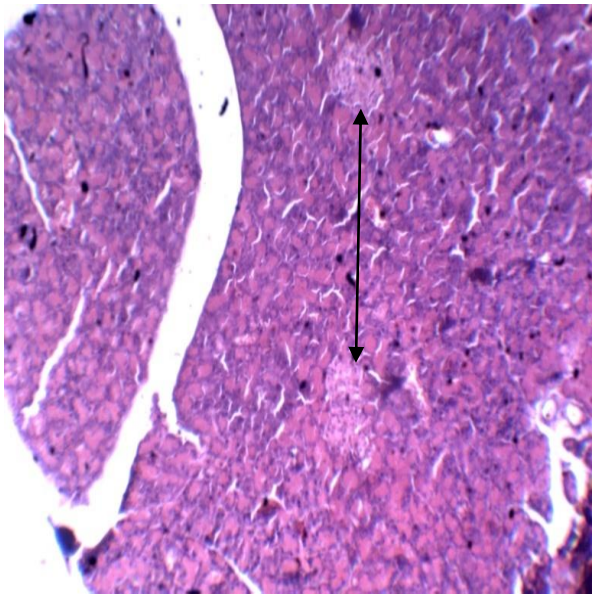


Fig. 5.27 NADH forte dose G 10x. Deux ilots de Langerhans de forme irrégulière (flèche).

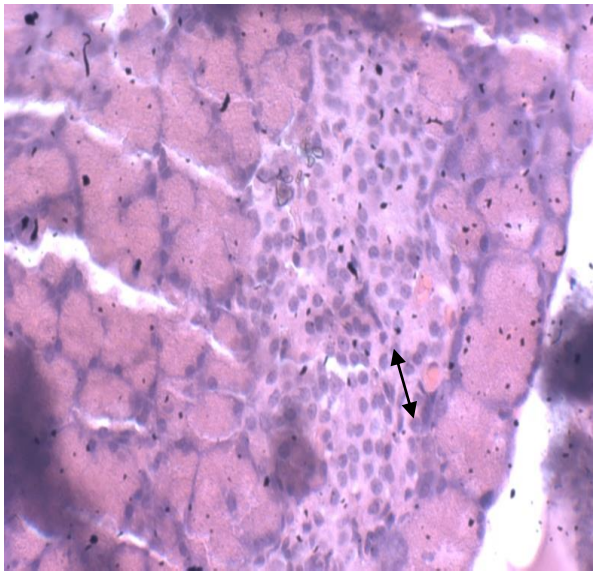


Fig. 5.28 NADH forte dose G 40x. Vaisseaux sanguins irriguant un ilot de Langerhans (flèche).

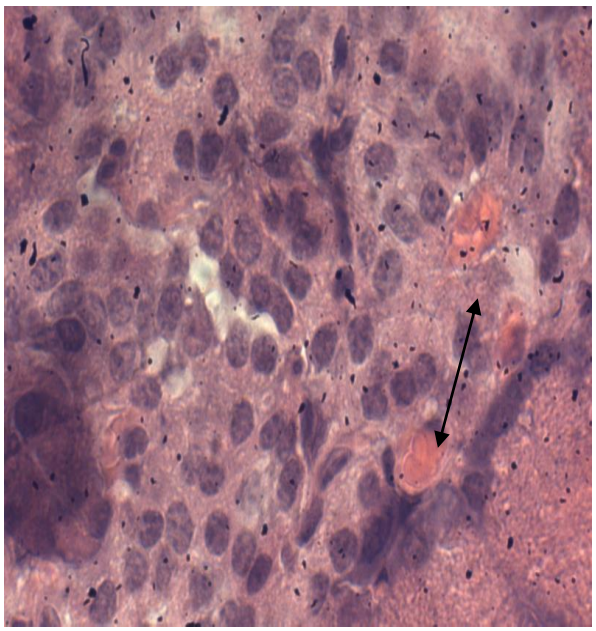


Fig. 5.29 NADH forte dose G 100x. Details des vaisseaux sanguins irrigant un ilot de Langerhans (flèche).

En résumé, les pancréas des lots traités au NADH et à la Metformine montreraient une raréfaction des ilots de Langerhans moins prononcée que chez le contrôle positif avec un aspect souvent rétrécis de ses derniers. Cependant, il n'est pas rare de rencontrer quelque fois des ilots en meilleur état mais toujours loin de la normale observée chez le contrôle négatif. Cet état de souffrance cellulaire reflète un état de toxicité cellulaire entretenue par l'hyperglycémie à jeun quasi constante***(Wu and Yan 2015)*** responsable sur le taux accrue d'insuline par les cellules bêta des ilots restants, qui jouent un rôle dans la cytotoxicité, en créant ainsi un climat de radicaux libres impossible à éliminer d'où l'enchainement d'une apoptose et/ ou nécrose secondaire. Ce climat cytotoxique paradoxalement initié par l'insuline ne pourrait être réduit que par un apport exogène d'énergie ceci pourrai s'expliquer par l'effet hypoglycémiant du NADH dont la fonction serait de restaurer les lésions nucléaires causées par le stress oxydatif et pourrait de ce fait redonner un second souffle aux cellules β préexistantes***(Wu and Yan 2015)***.

L'observation d'une autonomie normo glycémiante de 48H chez le lot NADH en phase de sevrage pourrait nous renseigner sur un effet stimulant direct des cellules β les incitant ainsi à produire d'avantage d'insuline. l'aspect régénératif de l'hypothèse pourrait se révéler assez précoce dans notre cas vue la durée assez limitée de notre expérience ***(Socorro and Esni 2014).***

L'hyperglycémie traitée par la Metformine et relativement par le NADH pourrait s'expliquer par l'effet hypoglycémiant protecteur de ces derniers sur les ilots de Langerhans dont la structure et la fonction restent de loin différentes de celles du témoin positif. cependant, il est impératif de signaler que ces altérations structurales observés au niveau du contrôle positif (photo) ne seraient pas dues uniquement à l'effet fugace de la STZ dont la demie vie serait de quelques minutes***(Wu and Yan 2015)***mais surtout à l'hyperglycémie persistante***(Wu and Yan 2015)*** qui y réside . Ceci ajouté à nos résultats, vient confirmer l'effet protecteur de la Metformine et surtout du NADH lui associant l'avantage d'une toxicité moindre et un effet régénératif probable.

Pour confirmer la 2ème hypothèse que le pouvoir antioxydant du NADH sur les cellules β de Langerhans, nous avons évalué son pouvoir antioxydant en le comparant avec l'acide ascorbique connue sous le nom Vitamine C.

5.7. le test de pouvoir antioxydant

Concentration du NADH	0,25	0,5	0,8	1	1,25	1,5
Absorbance 1	0,799	0,569	0,554	0,442	0,432	0,294
Absorbance 2	0,796	0,568	0,553	0,44	0,431	0,293
Absorbance 3	0,795	0,566	0,552	0,438	0,43	0,292
Absorbance M	0,797	0,568	0,553	0,440	0,431	0,293
Inhibition %	19,933	42,948	44,422	55,779	56,683	70,553

Tableau 5.1 les différentes concentrations de NADH et leurs absorbances dans la longueur d'onde λ 515 nm.

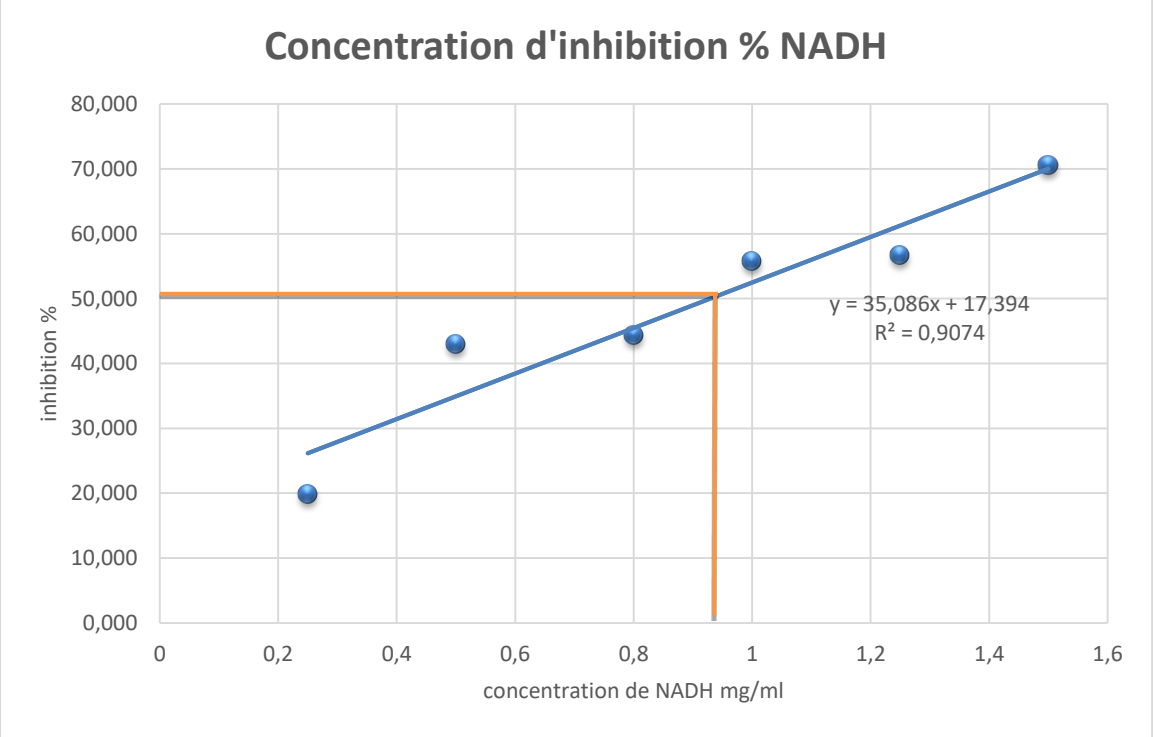


Figure 5.30 graphe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du NADH.

$IC_{50\%} => y = 50 = 35{,}086x + 17{,}39450 - 17{,}394 = 35{,}086x \Rightarrow x = \frac{32{,}606}{35{,}086} = 0{,}929.$

La concentration adéquate de NADH réduire 50% de DPPH est de 0,929 mg/ml.

Concentration de vitamine C	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3
Absorbance 1	0,983	0,866	0,647	0,559	0,46	0,17
Absorbance 2	0,981	0,865	0,646	0,56	0,46	0,169
Absorbance 3	0,982	0,864	0,643	0,561	0,458	0,169
Absorbance M	0,982	0,865	0,645	0,560	0,459	0,169
Inhibition %	38,005	45,391	59,259	64,646	71,002	89,310

Tableau 5.2 les différentes concentrations d'acide ascorbique et leurs absorbances dans la longueur d'onde λ 515 nm.

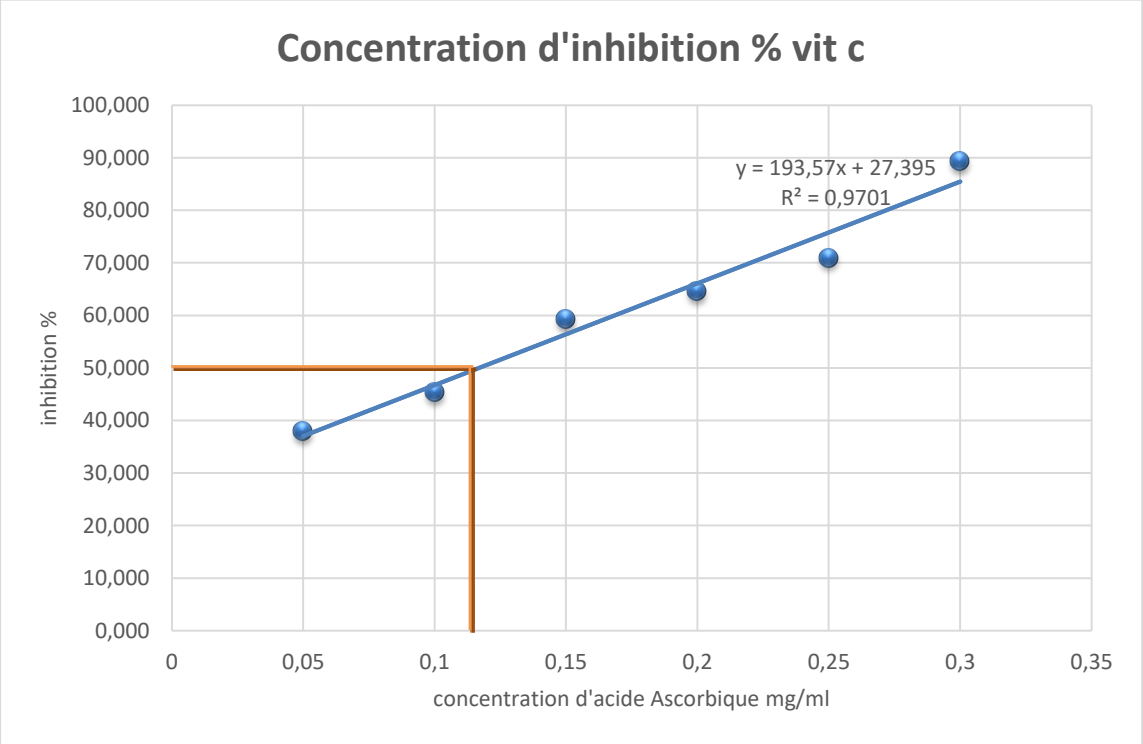


Figure 5.31 graphe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'Acide Ascorbique.

$IC_{50\%} => y = 50 = 193{,}57x + 27{,}39550 - 27{,}395 = 193{,}57x \Rightarrow x = \frac{22{,}605}{193{,}57} = 0{,}116.$

La concentration adéquate d'Acide Ascorbique pour réduire 50% de DPPH est de 0,116 mg/ml.

La dose efficace qui donne un effet antioxydant de l'acide ascorbique est inferieur 9 fois à celui du NADH. Ce qui est sûr que le NADH a donné un effet antioxydant important mais qui reste modéré par rapport à la vitamine C.

Calcul des "IC50"

La valeur IC50 est la concentration qui assure la réduction de 50 % du DPPH, déterminée graphiquement pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait **(Samarth et *al.* 2008)**.Une faible valeur d'IC50 correspond à une grande efficacité de l'extrait et à un pouvoir anti radicalaire plus fort.

Les valeurs des IC50 trouvées pour l'acide ascorbique vitamine C et pour NADH sont représentées dans le tableau. 5.3

	Méthode d'extraction	IC50
NADH	-	0,929
Vitamine C	-	0,116

Tableau. 5.3 Les valeurs d'IC50

Les valeurs d'IC50 pour NADH avec l'acide ascorbique vitamine c sont indiquées dans la Fig. 5.16

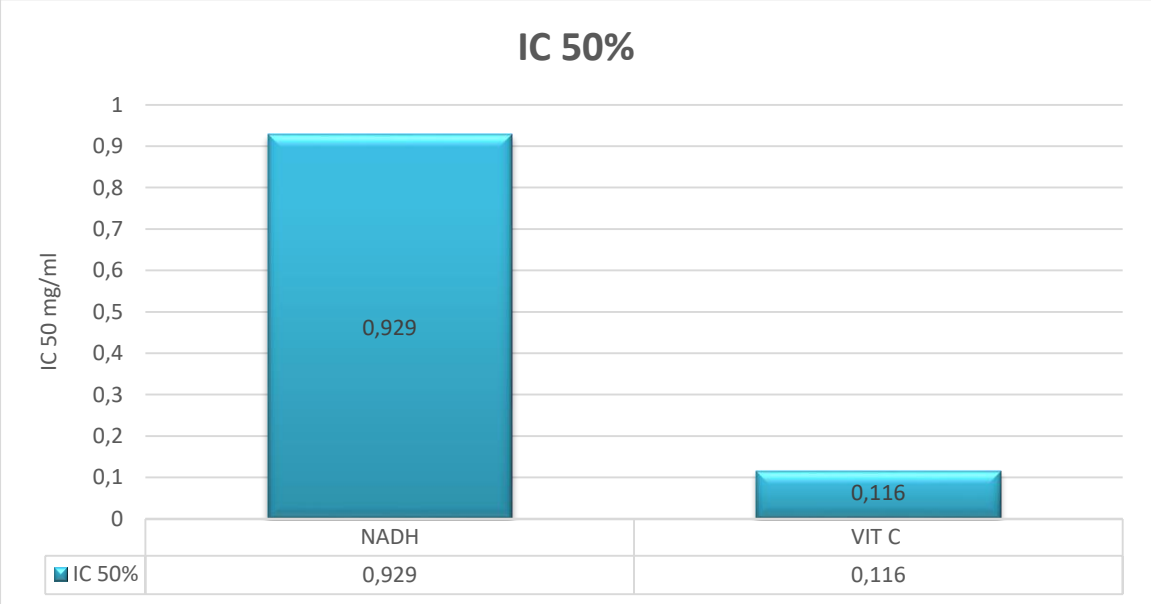


Figure 5.32 Comparaison de L'IC50 de NADH. Avec l'acide ascorbique (vitamine C).

Le NADH a montré un pouvoir anti-radicalaire important de 0,929 mg/ml, bien plus proche de celle obtenue de la vitamine C de 0,116 mg/ml.

Conclusion et perspectives

La lecture ainsi que l'interprétation de nos résultats nous ont permis de comprendre avec plus d'aisance le rôle thérapeutique encore probable du NADH.

Cette molécule fort connue pour ses capacités pro énergétiques mais malheureusement très peu documentée laisserait prédire un large éventail d'action envers une pléiade de pathologies.

Partant du principe que toute pathologie est la conséquence d'une souffrance cellulaire et que toute souffrance cellulaire et la conséquence d'un déficit énergétique, l'idée qu'un apport énergétique exogène pourrait inverser l'horloge biologique serait un peu prétentieux ; mais penser que dans des cas pathologiques aider un processus de réparation cellulaire normale à prendre place et à s'affirmer dans des conditions hostiles serait par contre révolutionnaire.

A partir de ce concept d'énergie exogène, le NADH ne pouvait qu'être la molécule de prédilection. Tenant compte en plus de son état ionique réduit qui lui confère plus d'aisance pour pénétrer dans le milieu intracellulaire.

Les résultats obtenus dans notre travail, confirment avec vigueur l'effet hypoglycémiant du NADH ainsi que celui de la Metformine.

La persistance d'une hypoglycémie relative allant même jusqu'à la normo glycémie après 48h d'une levée de traitement NADH, laisserait prédire une action directe de ce dernier sur les cellules β leurs fournissant suffisamment d'énergie afin qu'elles puissent jouir d'une autonomie de quelques jours. Néanmoins, la persistance d'un climat cytotoxique serait du à l'hyperglycémie omniprésente à l'origine d'un stress oxydatif qui continuerait à altérer les cellules restante. Toute fois, la prise de NADH redonnerait un second souffle à ce mécanisme en augmentant l'effet antioxydant de l'environnement sachant que l'hyperglycémie solliciterait inlassablement la libération d'insuline et de ses radicaux libres par les cellules β restantes.

La Metformine ayant un effet hypoglycémiant direct, réduirait par conséquent le stress oxydatif car solliciterait moins les cellules β. Quel paradoxe me diriez-Vous ?

La solution résiderait donc dans le problème. L'hyperglycémie induirait une production d'insuline, elle-même responsable d'un climat cytotoxique secondaire induisant la mort des cellules β dont la conséquence serait une hyperglycémie persistante.

La solution serait donc d'optimiser la dose de NADH lui permettant une meilleure marge de manœuvre et bien sûr voir plus tard si cette même molécule pourrait avoir des effets régénératifs sur le pancréas rendant le traitement non plus symptomatique mais curatif.

A, J. P. S. (1973). The Effect Concentrations in Normal of Growth Conditions on NAD+ and NADH and the NAD+ : NADH Ratio and Transformed Fibroblasts. *THE JOURNAL OF Bmxmca~ CHEMISTRY Vol. 249, No. 13, Issue of July 10, Pp. 4138-4143, 197*.

ABDELJELIL, A. BEN. (2009). LE TRAITEMENT DU DIABÈTE DE · TYPE 2 CHEZ LES MOINS DE 65 ANS.

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

Abunasef, S. K., Amin, H. A., & Abdel-Hamid, G. A. (2014b). A histological and immunohistochemical study of beta cells in streptozotocin diabetic rats treated with caffeine. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, *520005*(1), 42–50. https://doi.org/10.5603/FHC.2014.0005

Allen, T. C. (n.d.). HEMATOXYLIN AND EOSIN.

Alsubaie, S., & Almalki, M. H. (2013). Metformin induced acute pancreatitis. *Dermato-Endocrinology*. https://doi.org/10.4161/derm.23792

ASMA, M. (2008). *Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L Étude in vitro et in vivo*. UNIVERSITE EL-HAJ LAKHDAR BATNA.

AZZI Rachid. (2012). *Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthi*. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers.

Bailey CJ, Path MRC, Turner RC. (1996). Metformin. N Engl J Med; 29:574-9.

Banerjee, M., Kanitkar, M., & Bhonde, R. R. (2005). Approaches Towards Endogenous Pancreatic Regeneration. *The Review of Diabetic Studies*. https://doi.org/10.1900/RDS.2005.2.165

Baur, J. A., & Birnbaum, M. J. (2014). Control of gluconeogenesis by metformin: Does redox trump energy charge? *Cell Metabolism*. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.07.013

Birnbaum, M. J., & Shaw, R. J. (n.d.). Genomics: Drugs, diabetes and cancer. https://doi.org/10.1038/470338a

Borst, S. E., Snellen, H. G., & Lai, H. L. (2000). Metformin treatment enhances insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle of Sprague-Dawley rats. *Life Sciences*, *67*, 165–174.

Bouchet, A., Baudot, M., Devaux, G., Farge, M., Fraboulet, M., Guillermic, S., … Bourron, O. (2011). P273 - Impact du jeûne prolongé sur la glycémie post-prandiale dans le diabète de type 1. *Diabetes & Metabolism*. https://doi.org/10.1016/S1262-3636(11)70899-0

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 sanguins. Université Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Bruijstens LA, van Luin M, Buscher-Jungerhans PMM, Bosch FH. (2008). Reality of severe metformin-induced lactic acidosis in the absence of chronic renal impairment. Nether J Med; 66:185-90.

C. Briet, M. Saraval, M. Demazeau, F. Deliencourt, L. Hary, JD Lalau. (2010). Concentration de metformine érythrocytaire et altération de la fonction rénale Diabetes & Metabolism , Volume 36, Supplement 1, page A37.

Cabarcas, S. M., Hurt, E. M., & Farrar, W. L. (n.d.). Defining the Molecular Nexus of Cancer, Type 2 Diabetes and Cardiovascular Disease.

Canadian Diabetes Association 2003 Clinical Practice Guidelines. Nephropathy. Canadian Journal of Diabetes 2003:S66-71).

Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Seminar Type 2 diabetes. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2

Collombat, P., Xu, X., Heimberg, H., & Mansouri, A. (2010). Pancreatic beta-cells: From generation to regeneration. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.07.007

Dell'Aglio D, Perino LJ, Kazzi Z, Abramson J, Schwartz MD, Morgan BW. (2009). Acute metformin overdose: examining serum PH, lactate level and metformin concentration in survivors versus non survivors: a systematic review of the literature. Ann Emerg Med; 54:818-23.

Detaille D, Guigas B, Chauvin C, Batandier C, Fontaine E, Wiernsperger N, et al. (2005). Metformin prevents high glucose endothelial cell death through a mitochondrial permeability transition dependent process. Diabetes; 54:2179-87.

Diabcare North Africa 2008. A survey-study of diabetes, management, complications and psychosocial aspect of diabetic patients in North African counties.

Dykens JA, Jamieson J, Marroquin L, Nadanaciva S, Billis PA, Will Y. (2008). Biguanide-induced mitochondrial dysfunction yields increased lactate production and cytotoxicicy of aerobicallypoised HepG2 cells and human hepatocytes in vitro. Toxicol Appl Pharmacol; 233:203-10.

F. Fourriera, A. Seidowsky. (2010). Intoxication par la metformine : mécanismes de toxicité et prise en charge. Réanimation 19, 539-544.

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

Glucophage (metformine) Antihyperglycémiant oral. (2014). *MONOGRAPHIE DE PRODUIT GLUCOPHAGE®*.

Glueck CJ, Wang P, Kobayashi S, Phillips H, Sieve-Smith L. (2002) Metformin therapy throughout pregnancy reduces the development of gestational diabetes in women with polycystic ovary syndrome. Fertility and Sterility; 77(3):520-525.

Goetz P, Le Jeune R. Galega officinalis. (2008). Phytotherapie; 6:39-41.

Gross, D. R., & Animal. (2009). *Animal Models in Cardiovascular Research*.

GUILLAUSSEAU, P. J. (2010). Sulfamides hypoglycémiants et apparentés et leur utilisation RÉSUMÉ. *Service de Médecine B, Hôpital Lariboisière, PARIS. L*.

Guo PY, Storsley LJ, Finkle SN. (2006). Severe lactic acidosis treated with prolonged hemodialysis: recovery after massive overdoses of metformin. Semin Dial; 19:80-3.

HALIMI, S. (2005). Le diabète de type 2 ou diabète non insulino- dépendant (DNID) (223b). *Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble Le*.

Halimi S, Zmirou D, Benhamou PY, Balducci F, Zaoui P, Maghlaoua M et al. (1999). Huge progression of diabetes prevalence and incidence among dialysed patients in mainland France and overseas French territories. A second national survey six years apart (UREMIDIAB 2 study). Diab Metab; 25(6):507-12.

Hanefeld, M., Raccah, D., & Monnier, L. (2016). Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology Individualized, patient-centred use of lixisenatide for the treatment of type 2 diabetes mellitus https://doi.org/10.1080/17425255.2017.1251579

Hankenson, F. C. (n.d.). A Volume in e Laboratory Animal Pocket Reference Series.

http://www.aujourdhui.ma/maroc/societe/maladies-renales-chroniques-2-9-des-marocains-sont-touches--101764#.VPYXjHyG_Fw. Ministère de la santé: Aujourdhui.ma | 19-03-2013 12:00:00.

http://www.lmlcd.com/index.php?option=com_content&view=article&id=213&Itemid=128. Ligue Marocaine de Lutte contre le Diabète. Dernière mise à jour le 27 février 2015.

Ibrahim, S. S., & Rizk, S. M. (2008). Nicotinamide: A cytoprotectant against streptozotocin-induced diabetic damage in wistar rat brains. *African Journal of Biochemistry Research*, *2*(8), 174–180. Retrieved from http://www.academicjournals.org/AJBR

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

Jungers P, Choukroun G, Robino C, Massy ZA, Taupin P, Labrunie M et al. (2000-6). Epidemiology of end stage renal disease in the Île-de-France area: a prospective study in 1998. Nephrol Dial Transplant 2000; 15(12):.

Kandi, S., Deshpande, N., Rao, P., & Ramana, K. V. (2014). Alcoholism and Its Relation to Hypoglycemia – An Overview. *American Journal of Medicine Studies*, *2*(3), 46–49. https://doi.org/10.12691/ajms-2-3-2

Khaldi, & Zohra, F. (2014). *évaluation de l'activité antioxydant et anti inflammatoire des plantes médicinales algériennes Thymus vulgaris, Matricaria recutita Anethum graveolens*. Université frères mentouri Constantine.

Kjøbsted, R., Wojtaszewski, J. F. P., & Treebak, J. T. (n.d.). Role of AMP-Activated Protein Kinase for Regulating Post-exercise Insulin Sensitivity. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43589-3_5

Lalau JD, Lacroix C. (2003). Measurement of metformin concentration in erythrocytes: clinical implications. Diabetes Obesity Metab; 5:93-8.

Lalau JD, Race JM. (2000). Metformin and lactic acidosis in diabetic human. Diabetes Obes Metab; 2:131-7.

Lalau JD, Race JM. (2001). Lactic acidosis in metformin therapy: searching for a link with metformin in reports of ''metformin-associated lactic acidosis''. Diabetes Obes Metab; 3:195-201.

Leonid Sazanov. (2012). A Structural Perspective on Respiratory Complex I. *Structure and Function of NADH:ubiquinone Oxidoreductase*.

MARQUET, P. (2010). *ETUDE PHARMACOGENETIQUE ET PHARMACODYNAMIQUE DE LA CIBLE DE L'ACIDE MYCOPHENOLIQUE : L'INOSINE MONO*. L'UNIVERSITE DE LIMOGES.

Martin, D. D. (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*. UNIVERSITE SIDIMOHAMMED BEN ABDELLAH.

Memmott, R. M., & Dennis, P. A. (2009). Akt-dependent and -independent mechanisms of mTOR regulation in cancer. *Cellular Signalling*. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2009.01.004

Mero, A., Raitanen, R., Birkmayer, J., & Komi, P. (2008). Effects of nicotinamide adenine dinucleotide hydride on physical and mental performance. *Journal of Sports Sciences*. https://doi.org/10.1080/02640410701474200

MOREL, A., LECOQ, D. G., & JOURDAIN-MENNINGER, D. (2012). *Evaluation de la prise en charge du diabète*.

Owen MR, Doran E, Halestrap AP. (2000). Evidence that metformin exerts its antidiabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. Biochem J; 348:607-14.

B, Pelzmann.(2003). NADH supplementation decreases pinacidil-primed in ventricular cardiomyocytes by increasing intacellular ATP. Br J Pharmacol. 139(4). 749-754

Prophet, E. B. (n.d.). TISSUE PROCESSING: DEHYDRATION, CLEARING, AND INFILTRATION.

Protti A, Russo R, Tzagliablue P, Vecchio S, Singer M, Rdiger A, et al. (2010). Oxygen consumption is depressed in patients with lactic acidosis due to biguanide intoxication. Crit Care; 14(1):R22.

Rigalli, A., & Loreto, V. E. Di. (2009). *Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat*.

Sabra., M. (n.d.). *evaluation des facteurs de risque chez les diabétiques au niveau de Ain defla*. Université El Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

Salemi, Z., Rafie, E., Goodarzi, M. T., & Ali Ghaffari, M. (n.d.). Effect of Metformin, Acarbose and Their Combination on the Serum Visfatin Level in Nicotinamide/Streptozocin-Induced Type 2 Diabetic Rats. *Iran Red Crescent Med J. 2016*, *18*(3). https://doi.org/10.5812/ircmj.23814

Sanofi-aventis Canada (2009) : monographie de produit, chloridrate de metformine (Glucophage®) antiiabétique oral.

Scaglia, L., Cahill, C. J., Finegood, D. T., & Bonner-Weir, S. (n.d.). Apoptosis Participates in the Remodeling of the Endocrine Pancreas in the Neonatal Rat*.

SCHEEN, A. J. (2013). RÔLE LIMITÉ DES MÉDICAMENTS HYPOGLYCÉMIANTS ORAUX DANS LE DIABÈTE DE TYPE 1. *Rev Med Liège*, *68*(1), 16–21.

Sciences, Technologie, –, & N°21. (2004). REPONSES METABOLIQUES ET ENDOCRINIENNES (INSULINEMIE ET PROLACTINEMIE) A UN STRESS CHRONIQUE A L'ETHER CHEZ LE RAT MALE NORMAL ET DIABETIQUE, 79–84.

Scudamore, & Cheryl L. (n.d.). A Practical Guide to the Histology of the Mouse.

Seidowsky A, Nseir S, Houdret N, Fourrier F. (2009). Metformin associated lactic acidosis: a prognostic and therapeutic study. Crit Care Med; 37:2191-6.

Sigma-Aldrich Co. (n.d.). *β-Nicotinamide adenine dinucleotide, reduced disodium*.

Siu, E., Won, K., & Chan, B. P. (2007). Electrochemical regeneration of NADH using conductive vanadia-silica xerogels. In *Biotechnology Progress*. https://doi.org/10.1021/bp060247l

Skovsø, S. (2014). Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *Journal of Diabetes Investigation*. https://doi.org/10.1111/jdi.12235

Shu Y, Brown C, Castro RA, Shi RJ, Lin ET, Owen RP, et al. (2008). Effect of genetic variation in the organic transporter OCT1 on metformin pharmacokinetics. Clin Pharmacol Ther; 83:273-80.

Shu Y, Sheardown SA, Brown C, Owen RP, Zhang S, Castro RA, et al. (2007). Effect of genetic variation in the organic transporter OCT1 on metformin action. J Clin Invest; 117: 1422-31.

Socorro, M., & Esni, F. (n.d.). Pancreatic Regeneration: Models, Mechanisms, and Inconsistencies. https://doi.org/10.3998/panc.2017.03

Spiller HA, Quadrani DA. (2004).Toxic effects from metformin exposure. Ann Pharmacother; 38:776-80.

Spiller HA, Weber JA, Winter ML, Klein-Schwartz W, Hofman M, Gorman SE, et al. (2000). Multicenter case series of pediatric metformin ingestion. Ann Pharmacother; 34:1385-8.

Steiner, J. L., Crowell, K. T., & Lang, C. H. (2015). Impact of Alcohol on Glycemic Control and Insulin Action. *Biomolecules*, *5*, 2223–2246. https://doi.org/10.3390/biom5042223

Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*. https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x

Teta, M., Long, S. Y., Wartschow, L. M., Rankin, M. M., & Kushner, J. A. (2557). Very Slow Turnover of ᴺᴸ-Cells in Aged Adult Mice.

Wang DS, Kusuhara H, Kato Y, Jonker JW, Schinkel AH, Sugiyama Y. (2003). Involvement of the organic transporter 1 in the lactic acidosis induced by metformin. Mol Pharmacol; 63:844-8.

Woodward, M. (2015). Use of national data sources in diabetes epidemiology. *THE LANCET Diabetes & Endocrinology*, *3*, 92–93. https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70237-2

World Health Organization. (2016). *World Health Organization – Diabetes country profiles.*

World Health Organization, & All. (2016). GLOBAL REPORT ON DIABETES WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. *ISBN*, *978*, 92–4. Retrieved from http://www.who.int/about/licensing/

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

Ying, W. (2008). NAD $^{+}$ /NADH and NADP $^{+}$ /NADPH in Cellular Functions and Cell Death: Regulation and Biological Consequences. *Antioxidants & Redox Signaling*. https://doi.org/10.1089/ars.2007.1672

Site Internet

http://www.assistancescolaire.com/eleve/3e/svt/reviser-une-notion/l-arbre-d-evolution-de-la-lignee-humaine-4shv05

http://www.hominides.com/html/ancetres/ancetres.php
http://www.atlantico.fr/decryptage/espece-humaine-continue-evoluer-elle-fait-meme-mieux-et-plus-vite-henry-lumley-813190.html

Anonyme1 = http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/31003-glucophage-metformine-indications-posologie-et-effets-secondaires

Annexe I : Matériel non biologique utilisé dans ce travail

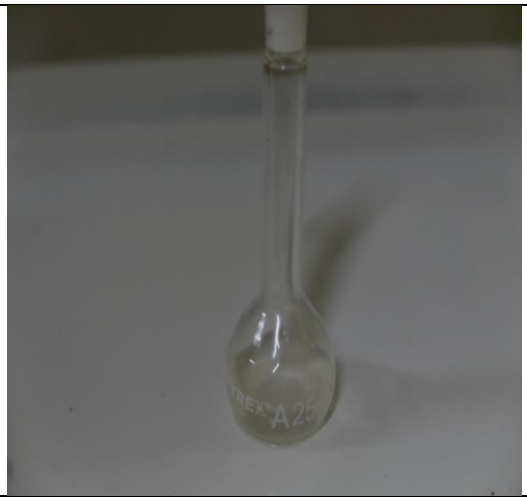
- **Produits utilisées**

	Novoformine® 850 mg
	Streptozocine

- **Balance utilisée**

	Balance de précision « GIBERTINI »

- **Matériel de préparation et d'administration des doses**

	Fiole jaugée 25 ml

	Sonde de gavage

- **Matériel du dosage biochimique**

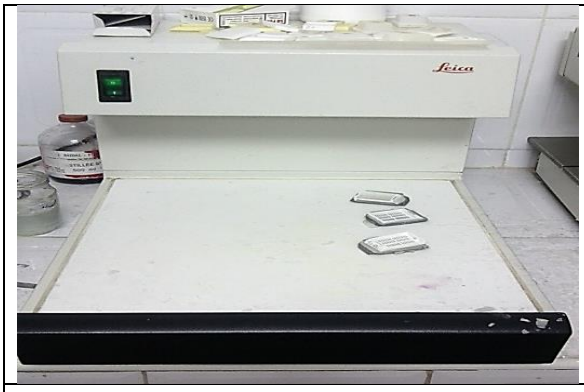
	Lecteur de glycémie automatique Contour Plus- Bayer-

- **Matériel de l'anesthésie et de sacrifice**

	Matériel de l'anesthésie et de sacrifice

- **Matériel de l'étude histologique**

	Piluliers contenant du formol à 10%
	Cassettes en plastique
	Automate « Myr »
	Distributeur de paraffine « Leica EG 1150 H »

	Refroidisseur « Leica EG 1150 H »
	Microtome « Leica RM 2125 RT »
	Bain marie « FIRLABO »

	Etuve « SAKUBA »
	Bains de coloration hématoxyline-éosine (HE)
	Microscope photonique doté d'un appareil photo intégré « Motic BA 200 »