ملخص

يعتبر مرض السكري أحد أكبر الطوارئ الصحية العالمية في القرن ال21 ووفقا لمنظمة الصحة العالمية 1.6 مليون حالة وفاة بسبب مرض السكري سجلت في عام 2015 مقارنة مع أقل من مليون في عام 2000يتم تعريفه بمجموعة من الأمراض الأيضية ويتميز بإرتفاعٍ مزمن لنسبة السكر في الدم ناجم عن خلل في إفراز الأنسولين أو عمل الأنسولين أو الاثنين معاً

مع الزيادة المقلقة في الإصابة بمرض السكري وعدم كفاءة الأدوية المضادة للسكري الحالية لتحسين حالة الأشخاص المتضررين، يهدف البحث إلى تطوير علاجات جديدة هدفها ليس فقط استقرار نسبة السكر في الدم عند الأشخاص الذين يعانون من مرض السكري ولكن استعادة وظيفة البنكرياس حيث يتجه هاذا الأخير نحو موادٍ بأثار جانبية أقل وفعالية أفضل مثل ثنائي نيكليوتيد الأدنين هو إنزيم يشارك في توازن المخزون الطاقوي للخلية أو الزنجبيل، وهو نبات يستخدم في الطب التقليدي للعديد من الأمراض.

يعتبر نموذج مرض السكري المفتعل بمادة الستربتزتوسين مثالا جيدا عن مرض السكري التجريبي وغالبا ما يستخدم لفهم العلاقات السببية للمرض ومسارات علاجية جديدة

الهدف من هذا العمل هو تقييم قدرة كل من ثنائي نيكليوتيد الأدنين و الزنجبيل على حماية غدد البنكرياس ضد اضرار مادة الستربتزتوسين

مكنتنا التحليلات الفيزيائية من تقييم القوة المضادة للأكسدة لكل منثنائي نيكليوتيد الأدنين والزنجبيل والتكوين الجزيئي لهذا الأخير

تشير نتائجنا إلى أن حقن مادة الستربتزتوسين سمح بإحذات مرض السكري نوع 2 ارتفاع مزمن للسكر في الدم مستمر طوال فترة التجربة، ضمور جزر لانجرهانز تشهد على تدمير جزئي للخلايا ب البنكرياسية

في حين أنا حقن كل من والزنجبيل قبل حقنة لم يعطي أي أثر لحدوث داء السكري عند الحيوانات مع تسجيل نسبة سكر في الدم عادية طوال فترة التجربةا الأجزاء النسيجية من كلا المجموعتين تظهر البنكرياس صحي مع العديد من الجزر العادية والمنتظمة

هذه الدراسة توضح تأثير وقائي جيد جدا لكل منثنائي نيكليوتيد الأدنين والزنجبيل في نموذج لمرض السكري الناجم عن مادة الستربتزتوسين ومع ذلك، فإن عملنا لا يزال أوليا ويتطلب المزيد من الدراسة لتوضيح أفضل للآثار التي كشف عنها

الكلمات الرئيسية مرض السكري ثنائي نيكليوتيد الأدنين الزنجبيل خلايا ب البنكرياسية

Abstract :

Diabetes is one of the biggest global health emergencies of the 21st century. According to WHO, 1.6 million deaths were due to diabetes in 2015, compared with less than 1 million in 2000. It is defined as a group of metabolic diseases characterized by chronic hyperglycemia resulting from a defect in insulin secretion or insulin action or both abnormalities associated.

With the alarming increase in the incidence of diabetes and the incompetence of current antidiabetic medicines to improve the condition of people affected, research is aimed at developing new therapies whose goal is not only stabilization of blood glucose but also restoration of the endocrine pancreas's function of patient with diabetes; For that, they are oriented towards molecules with fewer side effects and more efficacy such as NADH, a coenzyme known for its energetic effect within the cell, or ginger, a plant used in traditional medicine for many diseases.

STZ-induced diabetes presents a very good example of experimental diabetes and is often used for understanding the causal relationships of disease and research of new therapeutic pathways.

The objective of this work is to evaluate the protective effect of the two products which are NADH and ginger against the diabetogenic agent used.

The physicochemical analyzes allowed us to evaluate the antioxidant power of NADH and ginger and the molecular composition of the latter.

Our results indicate that injection of STZ in IP at 45mg / kg allowed the induction of type 2 diabetes characterized by persistent hyperglycemia throughout the period of the experiment; the histological study actually shows an atrophy of the islands of langerhans testifying a partial destruction of pancreatic b cells.

While animals IP injected with NADH or ginger extract at 500mg / kg followed by STZ injection did not show any signs of diabetes, normal normoglycemia was noted throughout the experiment and the histological sections of the two lots treated groups show a healthy pancreas with numerous and regular islets.

This study reports a very good protective effect for NADH and ginger in a model of STZ-Induced diabetes. However, our work remains preliminary and requires further study to better explain the effects revealed.

Key words : STZ-induced diabetes , NADH , Ginger , β Cells.

Résumé :

Le diabète est l'une des plus grandes urgences sanitaires mondiales du 21ème siècle. D'après l'OMS 1,6 million de décès étaient dus aux diabètes en 2015, contre moins de 1 million en l'an 2000. Il est défini par un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées.

L'augmentation alarmante de la fréquence du diabète associée aux limites therapeutiques du traitement conventionnel poussent la recherche à développer de nouvelles thérapies dont le but est non seulement la stabilisation de la glycémie mais également la restauration de la fonction du pancréas endocrine chez les personnes diabétiques.

Cette nouvelle thérapie viserait des molécules ayant moins d'effets secondaires et plus d'efficacité telle que le NADH, un coenzyme reconnu pour son effet énergétique au sein de la cellule, ou bien le gingembre, une plante utilisée dans la médecine traditionnelle pour de nombreuses maladies.

Le diabète induit par Stréptozotocine présente un très bon exemple de diabètes expérimental t souvent utilisé pour l'exploration etiopathogénique et thérapeutique de ce dernier.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet protecteur des deux produits qui sont le NADH et le gingembre contre l'agent diabétogène utilisé.

Les analyses physico-chimiques ont permis d'évaluer le pouvoir antioxydant du NADH et du gingembre et la composition moléculaire de ce dernier.

Nos résultats indiquent que l'injection de la STZ en IP à 45mg/kg a permis l'induction d'un diabète de type 2 caractérisé par une hyperglycémie persistante tout au long de la période de l'expérience.

L’étude histologique montre effectivement une atrophie des ilots de langerhans témoignant d’une destruction partielle des cellules β pancréatiques.

Alors que, l’injection intrapértonéale de NADH ou de l’extrait de gingembre à raison de 500mg/kg respectivement suivie d’une injection de STZ n’a donné aucun signe d’installation du diabète, une normoglycémie normal tout au long de l’expérience a été notée et les coupes histologiques des deux lots ont montré un pancréas sain avec des ilots nombreux et réguliers.

Cette étude rapporte un très bon effet protecteur pour le NADH et le gingembre dans un model de diabète induit par la STZ. Cependant, notre travail reste préliminaire et nécessite une étude plus approfondie pour mieux expliquer les effets révélés.

Mots clé : Diabète induit par STZ, NADH, Gingembre, Cellules β.

Introduction :

Au cours des trois dernières décennies, le nombre de personnes souffrant de diabète sucré a plus que doublé dans le monde entier, ce qui en fait l'un des défis de santé publique les plus importants pour toutes les nations (Chen et al. 2011).Le diabète qui résulte d'une déficience relative ou absolue de l'insuline associée ou non à une insulinorésistance , est considéré comme une maladie chronique où la perte des cellules β sécrétrices d'insuline est progressive et aggravée par l'hyperglycémie persistante, rendant la maladie plus difficile a contrôler au fil du temps (Of & Mellitus 2014, Wu & Yan 2015).

les recherches et les tentatives en pharmacothérapie ont permis d'établir l'insulinothérapie ainsi que les médicament antidiabétiques pour le traitement et la lutte contre le diabète avec ses différents types .Cependant, Les facteurs de risque multiples du diabète, le diagnostic retardé, les complications micro et macro-vasculaires, l'échec des thérapies actuelles à certains niveaux et les coûts financiers pour le traitement de cette maladie, rendent nécessaire de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques plus efficaces ainsi que des mesures de prévention appropriées pour le contrôle du diabète (Of & Mellitus 2014).

L'effet hypoglycémiant du NADH, un conenzyme présent naturellement dans toutes les cellules vivantes et dont on a développé une formule orale ; ainsi que le gingembre, une plante utilisée dans la médecine traditionelle pour de nombreux symptômes, a été rapporté par quelques études (Lotfi et al. 2016, Abdulrazaq et al. 2012, Mozaffari-khosravi & Talaei 2014) , alors que leur effet préventif est peu documenté.

Nous nous somme intéressé à exploré l'effet protecteur et donc préventif de deux produit qui sont le NADH et le gingembre, contre l'action d'un agent diabétogène qui est la strétozotocine connu pour sa toxicité envers les cellules β pancréatiques. Notre objectif été le suivie de deux paramètres révélateurs de l'installation ou non du diabète expérimental chez l'animal, ainsi qu'une étude histologique témoignant de la destruction des ilots de langerhans dans le cas de l'induction réussite du diabète ou leur protection dans le cas contraire.

Ce travail, en effet, évalue la capacité du NADH et du gingembre à prévenir l'installation de lésions irréversibles au niveau du pancréas endocrine à la suite d'une injection unique de STZ, et tente par conséquent d'expliquer leurs modes d'action à travers des paramètres biologiques et biochimiques.

Partie Bibliographique

A/ I- 1) Définition

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées.

L'hyperglycémie chronique est associée - à long terme - à un dysfonctionnement, voir une défaillance totale de différents organes, notamment les yeux, les reins, les nerfs, les vaisseaux sanguins, et le cœur (Of & Mellitus 2014).

Selon L'OMS le diabète sucré se définit comme une hyperglycémie permanente avec une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1 ,26 g/l (7 mmol /l) mesurée à 2 reprises consécutives ; ou une glycémie aléatoire supérieure ou égale à 2 g/l (11mmol/l).

La grande majorité des cas de diabète se répartissent en deux grandes catégories étiopathologiques (Of & Mellitus 2014,Hba 2013):

*Le diabète de type 1, une forme qui ne représente que 5 à 10% de ceux atteints de diabète, communément nommé diabète insulinodépendant ou diabète juvénile, il résulte d'une déficience totale de l'insulino-sécrétion due à une destruction auto-immune des cellules β du pancréas, le taux de destruction de ces dernières est assez variable, étant rapide chez certains individus (principalement les enfants) et lent chez d'autres (principalement les adultes) (Of & Mellitus 2014,Atkinson et al. 2014 , Ferranti et al. 2014).

*Le diabète de type 2 - qui compose la majeure partie des cas de diabètes (90%) - appelé aussi diabète non insulinodépendant ou diabète de l'adulte (Of & Mellitus 2014,Wu et al. 2014) est dû à une altération relative de la fonction des cellules β de Langerhans associée à une insulinorésistance (IR) omniprésente pendant de nombreuses années avant l'apparition de l'hyperglycémie (Millar & Kue 2003, DeFronzo et al. 2015, Defronzo 2009).

Il est souvent la conséquence d'un excès pondéral du principalement à l'inactivité physique (DeFronzo et al. 2015).

Pendant de nombreuses années, le DT2 n'était observé que chez les adultes âgés, à présent il est aussi diagnostiqué chez les plus jeunes parmi les enfants et les adolescents (Gojka Roglic et all 2016, Chen et al. 2011, Dabelea et al, 2014 Gojka Roglic et all 2016).

La troisième catégorie quand a elle concerne le diabète gestationnel qui est défini comme n'importe quel degré d'intolérance au glucose diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse (Zhou et al. 2010,Lamri et al. 2014).

On reconnait également un groupe intermédiaire de personnes dont les taux de glucose ne répondent pas aux critères du diabète, mais sont plus élevés que ceux considérés comme normaux. Deux catégories ont été définies : intolérance au glucose (IG) et trouble ou anomalie de la glycémie à jeun (AGJ). Les individus atteints d'IG et / ou d'AGJ ont été désignés comme ayant un prédiabète avec un risque relativement élevé de développer un diabète au ultérieurement (Of & Mellitus 2014,Nam Han Cho et all 2015).

Les autres types particuliers comprennent une grande variété de troubles relativement peu courants, surtout des formes de diabète d'origine génétiques, iatrogène ou secondaires à d'autres pathologies (Barbara Young and all 2014).

A/ I- 2) Epidémiologie

A/I-2) a- dans le monde

Le diabète est devenu un problème majeur de santé publique, sa prévalence augmente à une vitesse alarmante dans le monde entier. Cette pandémie mondiale concerne principalement le DT2 qui représente plus de 90% des cas diabétiques.

En effet, la Fédération Internationale du Diabète (FID) a estimé qu'en 2013, 8,3 % d'adultes âgés de 20 à 70 ans – 382 millions de personnes _ avait DT2. Pourtant, avec 175 millions de cas non diagnostiqués, nombreuses sont les personnes atteintes de diabète qui s'exposent à des complications sans le savoir (Nam Han Cho et all 2013).

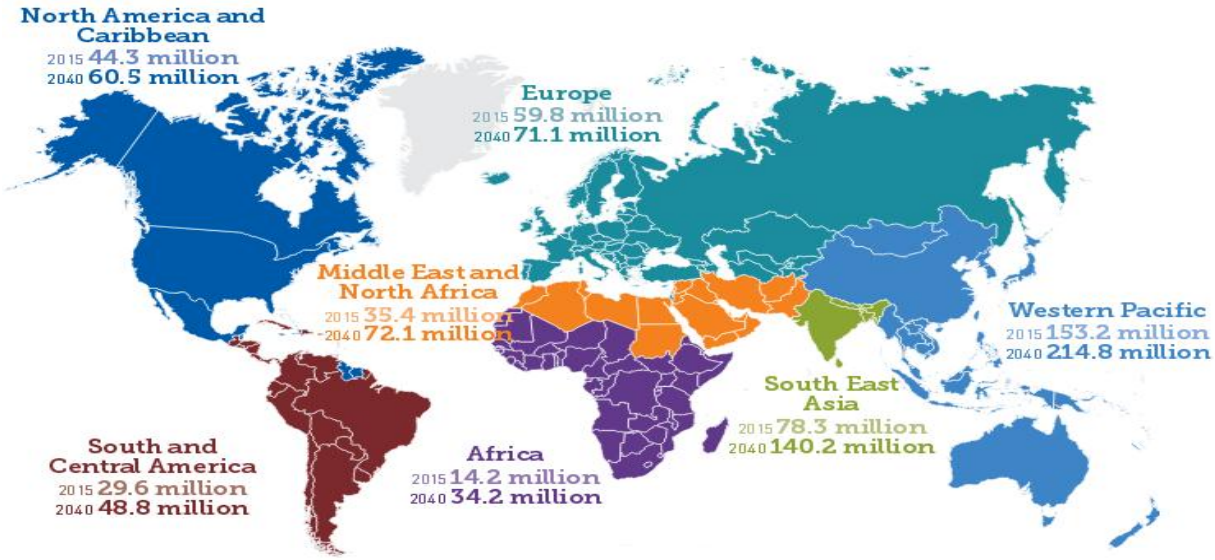


Figure 1. Nombre estimé de personnes atteintes de diabète dans le monde et par région en 2015 et 2040 (20-79 ans) (Nam Han Cho et all 2015).

En 2015 le nombre a augmenté jusqu'à 450 millions avec une estimation de 642 millions pour 2040 (Nam Han Cho et all 2015).

De son côté, l'OMS indique que Le diabète de par ses complications a causé 1,5 million de décès en 2012, alors qu'une glycémie supérieure à l'optimale a causé 2,2 millions de décès supplémentaires, en augmentant les risques de maladies cardiovasculaires et rénales (Gojka Roglic et all 2016).

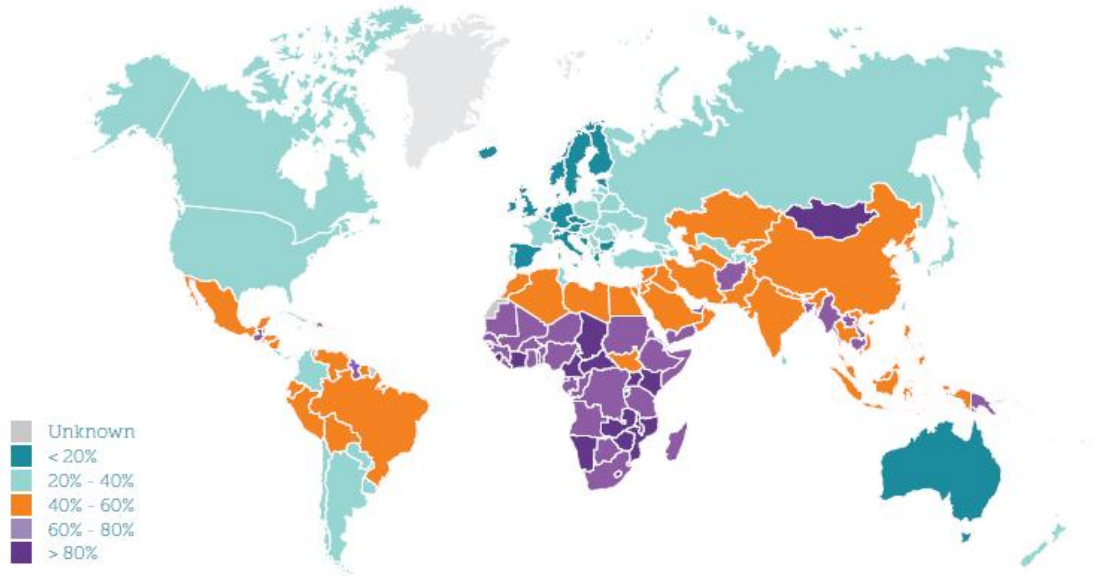


Figure 2. Proportions de décès dus au diabète chez les personnes de moins de 60 ans (L'OMS 2016).

Contrairement aux idées reçues, le diabète s'évit majoritairement dans les pays en développement plutôt que dans les pays développés. De plus, le DT2 n'est pas nécessairement moins répandu dans les zones rurales que dans les zones urbaines des pays en développement (Chen et al. 2011).

A/ I-2) b- En Algérie

En Algérie, la fréquence de diabète varie de 1,3% dans les régions du sud où les populations sont pauvres en raison de conditions de vie difficiles à 8%, 14% et 16% dans les villes du nord où la réduction de l'activité physique chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte associée à un régime occidentalisé type « fast food » serait directement liée une prise de poids exponentielle et incontrôlée menant inéluctablement au syndrome métabolique (Chentli

et al. 2013). Des études nationale suggèrent que la prévalence du diabète en Algérie a sauter de 6,8% en 1999 à 12,29 en 2005 (Lamri et al. 2014).

L'OMS rapporte en 2016, 3610 cas de décès par diabète chez les hommes et 2520 chez les femmes âgés respectivement de 36 à 70 ans. Cependant, dans la même tranche d'âge 6690 hommes et 4250 femmes succomberaient ultérieurement à une hyperglycémie létale (L'OMS 2016).

A/ II- Le pancréas

A/ II-1) Anatomie, histologie et physiologie du pancréas

A/ II-1) a-Anatomie

Le pancréas est une glande allongée qui se trouve derrière et au-dessous de l'estomac, au-dessus de la première boucle du duodénum. Il est composé de 3 parties :

_ La tête, qui représente la partie la plus volumineuse de cet organe et qui s'insère dans le cadre du duodénum

_ Le corps

_ La queue, se termine au contact de la rate (Sherwood 2010)

A/ II-1) b-Histologie

Etant une glande amphicrine, le pancréas se compose de deux compartiments, l'un exocrine, l'autre endocrine :

- La portion exocrine est constituée d'acini, de canaux conducteurs et de cellules centro-acinaires. Les cellules acinaires exocrines constituent ~ 95% du pancréas et forment des amas de fleurs qui se raccordent aux conduits terminaux situés aux extrémités de l'arbre ductal, elles libèrent un liquide digestif (enzymes et bicarbonate) pour faciliter la dégradation intestinale et l'absorption des nutriments (Conover et al. 2014)

- La portion endocrine : Les cellules endocrines du pancréas se regroupent en grappes pour former des îlots de Langerhans qui représentent environ 1-2% du pancréas (Conover et al. 2014).

Les îlots varient en taille et sont plus nombreux dans la queue du pancréas, ils contiennent une variété de types cellulaires, chacun responsable de la sécrétion d'un type d'hormone polypeptidique :

_ Les cellules α sécrétant l'insuline : hormone hypoglycémiante

_ Les cellules β sécrétant le glucagon : hormone hyperglycémiante

_ Les cellule δ sécrétant la somatostatine : hormone régulatrice de la sécrétion des deux hormones précédentes, secrétée également par l'hypothalamus et le système nerveux central.

_ Les cellules polypeptidiques pancréatiques sécrétant des polypeptides pancréatiques (Barbara Young and all 2014).

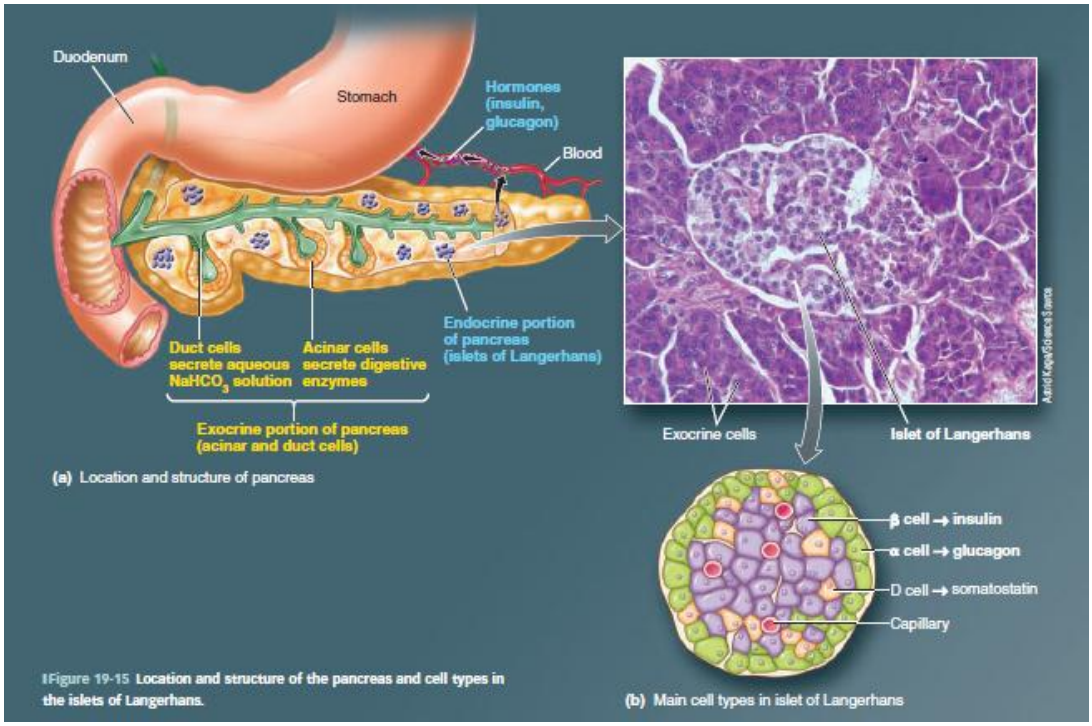


Figure 19-15 Location and structure of the pancreas and cell types in the islets of Langerhans.

Figure 4: a) structure du Pancréas b) les principales cellules des ilots de Langerhans (Conover et al. 2014)

A/ II-1) c-Physiologie

L'ingestion d'un repas stimule la réponse physiologique pour contrôler la digestion, l'absorption et l'assimilation des nutriments. Le pancréas fait partie intégrante de ce processus, communiquant avec d'autres organes à travers des hormones et des métabolites pour l'obtention et l'utilisation efficace des sources d'énergie (Conover et al. 2014).

Les hormones secrétées contrôlent l'utilisation et le stockage des aliments énergétiques (le glucose, les lipides et les protéines) pendant les différentes transitions métaboliques (l'alimentation, le jeûne et l'exercice) (Conover et al. 2014).

L'insuline et le glucagon, qui sont les principaux produits sécrétoires du pancréas jouent un rôle important dans le métabolisme des glucides : l'insuline favorise l'absorption du glucose par la plupart des cellules, en particulier celles du foie, du muscle squelettique et du tissu adipeux, ce qui réduit la concentration plasmatique de glucose, alors que le glucagon a des effets métaboliques qui s'opposent aux actions de l'insuline.

Outre leur rôle dans le métabolisme des glucides, ces hormones ont une grande variété d'autres effets sur le métabolisme énergétique, la croissance et le développement (Conover et al. 2014).

A/ II-2) Pancréas et insulino-sécrétion

A/ II-2-a) Libération de l'insuline

L'homéostasie normale du glucose, sa genèse hépatique, sa mobilisation, son absorption ainsi que son utilisation par les tissus périphériques est étroitement régulée par l'insuline (Vinay Kumar et all 2015).

La libération de l'insuline est principalement sous le control du taux du glucose sanguin et donc de la demande métabolique. Les cellules β détectent spécifiquement la concentration du glucose plasmatique et libèrent la quantité d'insuline nécessaire.

Les cellules β sont regroupées dans des îlots qui se connectent stratégiquement au système vasculaire. Les îlots forment un réseau dense avec de petits vaisseaux sanguins et reçoivent 10 fois la quantité de sang que les cellules dans les régions exocrines environnantes.

Cette structure améliore la perméabilité, permettant un accès illimité aux nutriments, de sorte que les cellules β puissent détecter l'état nutritionnel rapidement. Les fenestrations permettent aussi une diffusion rapide de l'insuline dans le sang (Fu et al. 2013).

Le glucose entre dans la cellule via le transporteur de glucose 2 (GLUT2) et est phosphorylé par la glucokinase et métabolisé dans la glycolyse et le cycle de l'acide tricarboxylique. Ceci augmente l'ATP cellulaire et le rapport ATP / ADP induisant la fermeture des canaux K + sensibles à l'ATP. La dépolarisation subséquente de la cellule provoque l'ouverture des canaux de Ca2 + à tension contrôlée et permet un afflux d'ions Ca2

+ qui stimulent l'éxocytose des granules contenant l'insuline (Fu et al. 2013, Rutter et al. 2015).

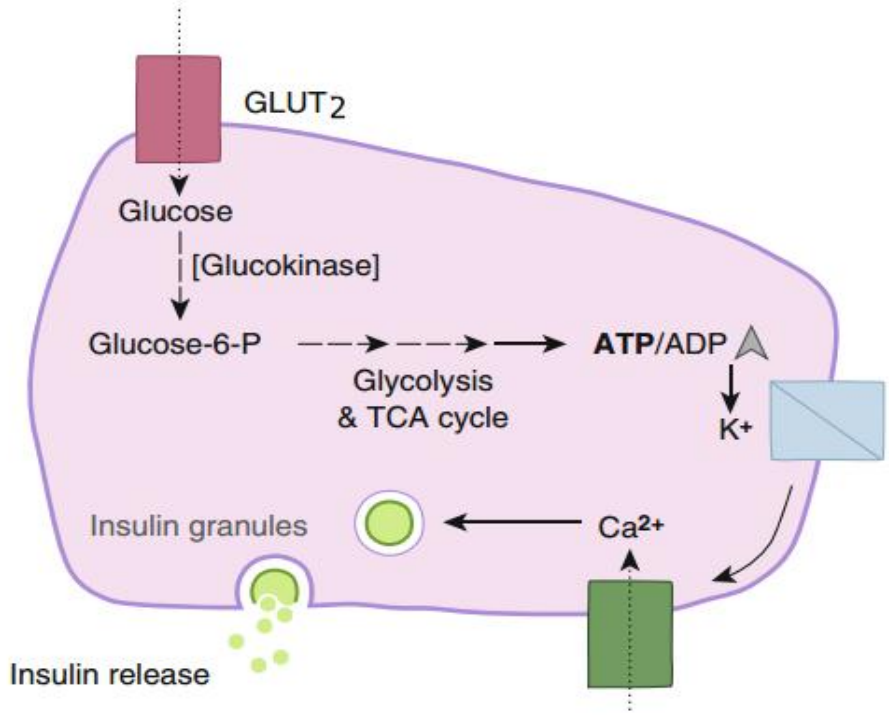


Figure 5. Schéma d'une sécrétion d'insuline stimulée par le glucose dans une cellule β (Conover et al. 2014)

A/ II-2-b) Action de l'insuline

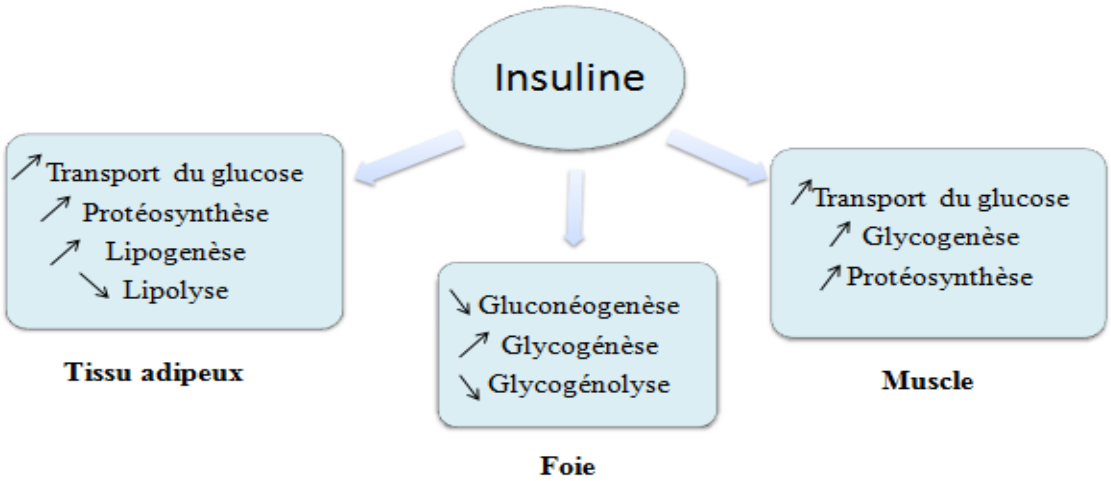


Figure 6. Action de l'insuline sur les principaux tissus cibles (Figure originale)

L'insuline joue un rôle anabolique majeur au niveau de l'organisme, dans la mise en réserve et l'utilisation des substrats énergétiques, qu'ils soient glucidiques ou lipidiques. Elle exerce également des fonctions pléïotropes sur le métabolisme protéique (Capeau 2003).

Dans le muscle squelettique et le tissu adipeux, trois isoformes de transporteur de glucose sont exprimées: GLUT1, GLUT3 et GLUT4.

L'insuline augmente la vitesse d'absorption du glucose principalement en stimulant la translocation des isoformes GLUT4 des pools intracellulaires vers la membrane cellulaire de surface (Dimitriadis et al. 2011).

Elle augmente aussi le taux de glycolyse en augmentant le transport du glucose, et les activités de l'hexokinase et de la 6-phosphofructokinase également (Dimitriadis et al. 2011), une diminution de l'activité dans l'une de ces étapes pourrait être responsable de l'insulino-résistance (Procedures 1996).

A/ II-3) Physiopathologie du diabète

A/ II-3) a- Diabète type 1 et ses facteurs de risques

Le diabète de type 1 se développe en raison d'une combinaison de prédisposition génétique, de facteurs environnementaux largement inconnus et d'événements stochastiques, les événements immunologiques, génétiques et physiologiques précis qui contrôlent l'initiation et la progression de la maladie continuent d'être élucidés (Bluestone et al. 2010).

La destruction auto-immune des cellules β sécrétrices d'insuline induit une hyperglycémie qui n'apparait que lorsqu'il ne reste que 10-20% de ces cellules fonctionnelles.

La masse de cellules β est détruite graduellement au fil du temps chez des individus génétiquement sensibles, après une exposition à des déclencheurs environnementaux qui induisent une lésion de cellules β à médiation cellulaire par lymphocytes T et la production d'auto-anticorps humoraux (DeFronzo et al. 2015), les ilots sont infiltrés par des cellules mononuclées, on y trouve principalement des lymphocytes TCD8, TCD4, des lymphocytes B et des macrophages (Bluestone et al. 2010, De & Professeur 2005).

On pense que le site principal de la présentation de l'antigène est le ganglion lymphatique pancréatique où les antigènes d'îlot sont présentés par des cellules présentatrice d'antigène aux cellules T. Le processus d'autodestruction qui s'en suit cible spécifiquement les cellules β

productrices d'insuline, tandis que d'autres cellules endocrines dans l'îlot sont épargnées (Bluestone et al. 2010).

Avec la perte continue de cellules β, une hyperglycémie peut être détectée (Bluestone et al. 2010).

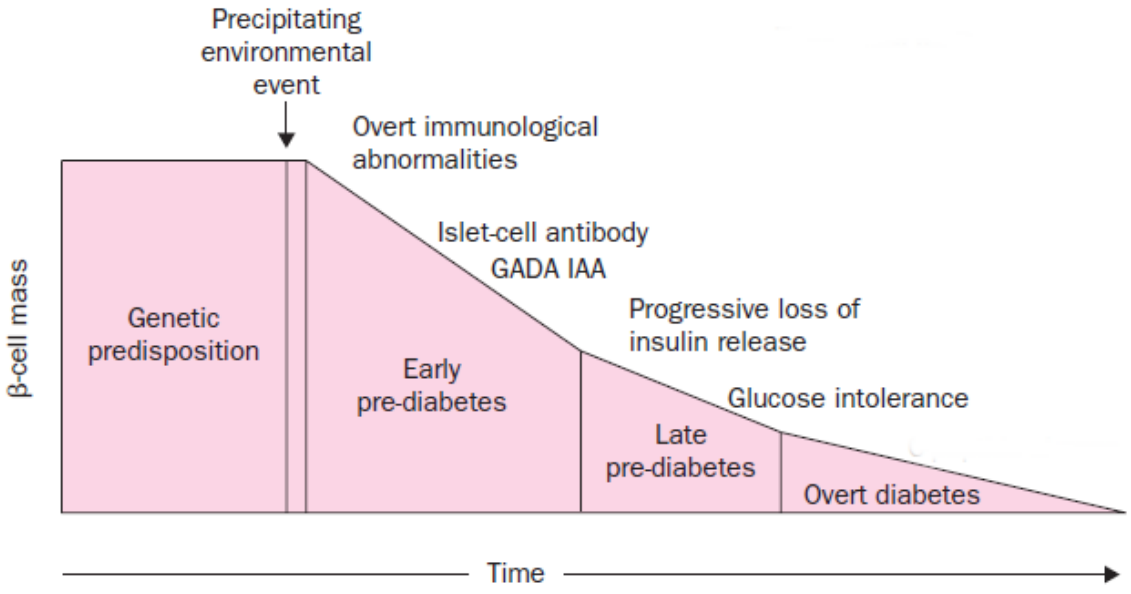


Figure 7. L'histoire naturelle du diabète de type 1 (Atkinson & Eisenbarth 2001).

À l'apparition clinique de la maladie, une population résiduelle de cellules β survit encore ce qui permet la rémission ou la période de «lune de miel» après le diagnostic du diabète.

Si ces cellules pouvaient être conservées, la gestion du diabète deviendrait beaucoup moins difficile au fil du temps. La conservation de cellule β résiduelle, ainsi que l'arrêt de la lésion initiale auto-immune de ces cellules, sont devenues un sujet d'intérêt pour la recherche (Ratner 2003).

Facteurs de risque

Facteurs génétiques

Le diabète de type 1 est un trouble polygénique, avec près de 40 loci (jusqu'à présent) connus pour influer sur la susceptibilité à la maladie (Atkinson et al. 2014).

De multiples loci génétiques dans la région de complexe majeur d'histocompatabilité CMH (ou HLA) prédisposent au développement du diabète de type 1. La plus grande susceptibilité au diabète est conférée par les allèles de classe II : DR et DQ (Ratner 2003).

Le risque pour une mère avec un DT1 d'avoir un enfant diabétique est environ 2% alors que le risque est de 4 à 5 % lorsque c'est le père qui a le DT1.

La susceptibilité génétiques influence non seulement sur les mécanismes immunitaires mais également sur la repense aux stimuli environnementaux et les vois physiologiques (Atkinson et al. 2014).

Facteurs immunitaires

Comme cité précédemment, le DT1 est une maladie auto-immune ou du moins elle comporte un composant auto-immun majeur (Papers & Notkins 2002), la preuve viens de 3 sources : la présence d'un infiltrat inflammatoire (insulite) dans les îlots ; un lien fort entre le diabète de type 1 et certains allèles du CMH, et l'implication d'auto-anticorps qui réagissent avec les antigènes des îlots (Atkinson et al. 2014).

-Les principaux auto-anticorps impliqués :

*Anticorps anti-ilots de Langerhans (ICA : Islet Cell Antibody) : Les ICA sont retrouvés chez 60-80 % des diabétiques de type 1 au moment du diagnostic et disparaissent 18 mois-2 ans après (Jean Claude et all 2004).

*Anticorps anti-insuline (IAA : Insufin Auto Antibodies) : La prévalence des IAA est comprise entre 30 et 50 % chez les diabétiques de type 1 au moment du diagnostic (Jean Claude et all 2004).

* Anticorps anti-GAD (GAD : décarboxylase de l'acide glutarnique) : Les anticorps anti-GAD ont une prévalence comprise entre 70-80 % chez les diabétiques de type 1 au moment du diagnostic, ils peuvent être présents jusqu'à 8 ans avant l'apparition de la maladie (Jean Claude et all 2004).

Facteurs environnementaux

De multiples facteurs environnementaux, auxquels l'individu peut être exposé à un âge très précoce, sont suspectés de déclencher le système immunitaire pour détruire la masse de cellulesβ.

Les déclencheurs environnementaux comprennent des agents infectieux tels que des virus, des composants de l'alimentation et des toxines. Les entérovirus, tels que le virus coxsackie B et le virus de la rubéole, peuvent induire la destruction des cellules d'îlots par le mimétisme moléculaire (Ratner 2003).

L'exposition précoce au lait de vache peut être diabétogène chez ceux qui ont un risque génétique. Le risque de diabète peut également être augmenté chez les jeunes enfants atteints de manque vitamine D qui ne sont pas pris en charge (Ratner 2003).

Une théorie hygiéniste voudrait enfin que notre environnement trop propre, trop protégé par les mesures d'hygiène, empêche un développement normal du système immunitaire et favorise l'émergence des maladies auto-immunes, dont le diabète.

A/ II-3) a- Diabète type 2 et ses facteurs de risque

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle impliquant des facteurs génétiques et environnementaux.

L'obésité et l'inactivité physique associées à une prédisposition génétique conduisent à une résistance à l'insuline, cette dernière met les cellules β en situation de stress, entraînant une défaillance de leur fonction et un déclin progressif de la sécrétion d'insuline (DeFronzo et al. 2015, DeFronzo & Abdul-Ghani 2011, Defronzo 2009).

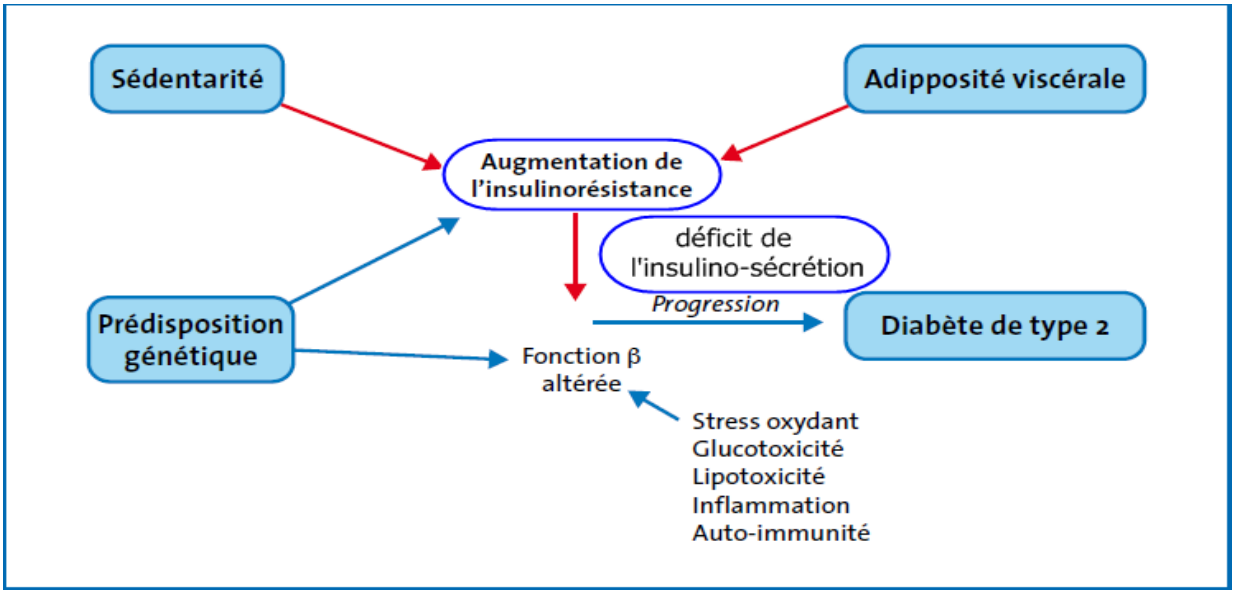


Figure 8. Résumé de la physiopathologie du développement du DT2 (site web)

La résistance à l'insuline est due à l'accumulation de lipides dans le foie et le muscle squelettique déclenchant des voies qui altèrent la signalisation de l'insuline, et conduisant à une diminution de la prise de glucose musculaire et une diminution de la synthèse du glycogène hépatique (Samuel & Shulman 2016), elle précède le DT2 de nombreuses années : tant que les cellules β peuvent augmenter leur sécrétion d'insuline suffisamment pour compenser l'IR, la tolérance au glucose reste normale.

Cependant, avec le temps, les cellules β échouent à faire face à cette IR et les taux de glucose plasmatique postprandial et par la suite, la concentration de glucose plasmatique à jeun commence à augmenter, ce qui entraîne l'apparition d'un diabète (Hba 2013, DeFronzo et al. 2015, Defronzo 2009).

L'IR dans l'obésité et le DT2 a été principalement liée à la voie PI3K. Elle est généralement associée à une augmentation de la phosphorylation de sérine des protéines IRS, qui inhibe la phosphorylation de la tyrosine, conduisant à la résistance à l'insuline.

Dans certains cas, la phosphorylation de sérine augmente également la dégradation de l'IRS, contribuant davantage à la résistance à l'insuline (DeFronzo et al. 2015).

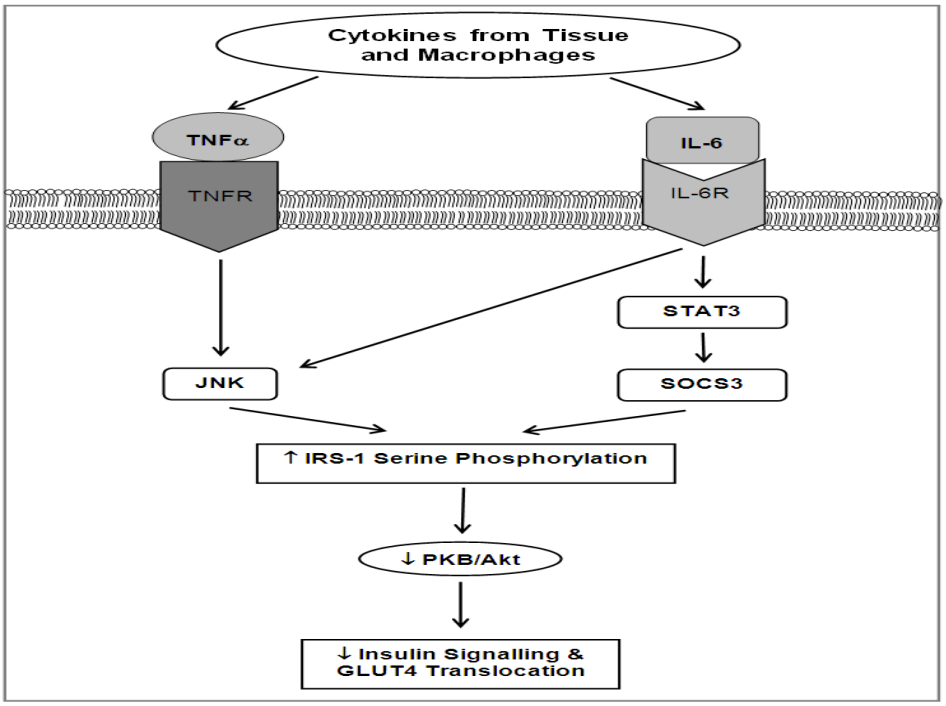


Figure 9. Mécanisme de la résistance à l'insuline induite par l'inflammation dans le muscle (DeFronzo et al. 2015).

Les causes de l'augmentation de la phosphorylation des sérines sont multifactorielles, y compris l'accumulation de lipides ectopiques, le dysfonctionnement mitochondrial, l'inflammation et le stress du réticulum endoplasmique (DeFronzo et al. 2015).

Facteurs de risques

Facteurs génétiques

La présence d'un DT2 dans une famille augmenterait le risque de survenue de la maladie chez les autres membres de cette même famille.

Le risque relatif pour les frères et sœurs d'un patient souffrant de DT2 de développer la maladie est 2-3 plus grand par rapport aux familles dans lesquelles aucun des frères et sœurs ne l'a. Ce chiffre augmente considérablement si deux frères et sœurs sont diabétiques (DeFronzo et al. 2015).

Une étude menée sur une durée de 8 ans a montré que les sujets présentant un risque génétique élevé sont incapable d'augmenter leur sécrétion d'insuline pour compenser l'augmentation de la résistance à l'insuline aussi efficacement que ceux ayant un faible risque génétique (Pulizzi et al. 2008).

L'utilisation de marqueurs génétiques pourrait être un ajout très précieux chez les sujet à haut risque, notamment les enfants et les jeunes adultes, afin de les motiver à changer leur mode de vie et à se conformer aux mesures préventives nécessaires avant l'apparition des signes cliniques (Chen et al. 2011).

L'âge

Malgré la hausse notable de sa fréquence chez les personnes assez jeunes, le diabète demeure une maladie davantage associée aux personnes âgées (Millar & Kue 2003) ; surtout après l'âge de 40 ans, c'est probablement parce que les gens ont tendance à exercer moins, à perdre de la masse musculaire et à prendre du poids au niveau viscéral à mesure qu'ils vieillissent.

Alors que l'augmentation chez les jeunes est le résultat d'une augmentation de la fréquence de l'obésité dans les populations pédiatriques (Dabelea et al. 2014).

Grossesse et diabète gestationnel

Les femmes atteintes de diabète gestationnel (DG) présentent un risque accru de développer un diabète, généralement de type 2 (ADA 2003), la progression vers ce dernier augmente fortement dans les 5 premières années après l'accouchement, puis se stabilise en un plateau (Catherine Kim et al 2002).

En outre, plusieurs études ont fourni des preuves substantielles que l'exposition intra-utérine au DG a des effets durables sur la descendance, y compris un risque accru d'obésité, de DT2 et des maladies cardiovasculaire (West et al 2013, Dabelea et al. 2000).

Facteurs liés au mode de vie

Une grande variété de facteurs associés au style de vie est d'une grande importance dans le développement du DT2, l'inactivité physique (Karin M et al 2002, Frank B et all 2012), le tabagisme (Manson et al.), l'alcool (Cullmann & Hilding 2011) et le statut socioéconomique sont les plus documentés.

Mais par-dessus tous, de considérables études épidémiologiques ont montré que l'obésité -en particulier l'adiposité viscéral excessive- désignée par un indice de masse corporelle ≥ 30 est le plus important facteur de risque pour le DT2 (Wu et al. 2014, Frank B et all 2012).

Effectivement, au cours des dernières décennies, la prévalence des régimes riches en calories a augmenté dans le monde entier, fondée sur une préférence pour les boissons sucrées et les aliments gras. L'augmentation de la sédentarité résultant de l'automatisation croissante des différents domaines du travail et les modes de vie urbains stressants se sont conjugués pour créer une crise sanitaire mondiale désastreuse de l'obésité et ses comorbidités, y compris les maladies cardiovasculaires et le DT2 (Belkina & Denis 2010).

La relation entre l'obésité et le diabète a été étudiée et un bon nombre de données expérimentales et cliniques ont clairement établi que le tissu adipeux, le foie, le muscle et le pancréas sont des sites d'inflammation en présence d'obésité (Esser et al. 2014) les cytokines pro-inflammatoire produites favorisent l'IR en interférant avec la cascade de signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques (Shoelson et al. 2006).

La progression de la résistance à l'insuline liée à l'obésité au DT2 implique une défaillance des cellules β pancréatiques pour compenser cette résistance, conduisant à une hyperglycémie chronique (Esser et al. 2014).

Autres facteurs

Outre le surpoids et l'obésité, les facteurs génétiques, épigénétiques et d'autres facteurs majeurs, un certain nombre de facteurs associés comme les troubles du sommeil, la dépression et l'usage d'antidépresseurs viendraient assombrir le pronostic (Chen et al. 2011).

A/ II-4) La prise en charge thérapeutique

A/ II-5) a- Régime alimentaire et exercices physique

La crainte de l'hypoglycémie dissuade souvent les personnes atteintes de DT1 de faire de l'exercice alors que l'activité physique et l'entraînement cardiorespiratoire modérés sont associés à d'importantes réductions de la morbidité et de la mortalité, en présence de DT1 (Alyce Y et al 2013).

De plus, La régularité de l'apport glucidique ainsi que de l'heure et de l'espacement des repas peuvent contribuer à la maîtrise de la glycémie, Les personnes atteintes de DT1 ou DT2 qui doivent être traitées avec de l'insuline, doivent ajuster leur insulinothérapie selon la teneur en glucides de leurs repas (Paula D. Dworatzek et al 2013).

De son coté, un changement de mode de vie conçu pour influer sur l'apport alimentaire et le niveau d'activité physique d'une personne diabétique est un élément essentiel de la gestion du DT2 (Inzucchi et al. 2015,William T. et al 2016).

Les études montrent que la majorité des cas de DT2 pourraient être évités par la perte de poids, l'exercice régulier, la modification du régime alimentaire, l'abstinence du tabagisme et la consommation de quantités limitées d'alcool (Frank B et al 2012).

En effet, La perte de poids et l'exercice augmentent la sensibilité à l'insuline, améliorent la tolérance au glucose et réduisent la charge de travail des cellules β (DeFronzo & Abdul-Ghani 2011).

Cependant, parfois le maintien de la perte de poids / de l'activité physique est difficile à entretenir sur de longues périodes (DeFronzo & Abdul-Ghani 2011), dans d'autre cas c'est insuffisant et une association avec une thérapie médicamenteuse est nécessaire.

A/ II-5) b- Traitement médicamenteux

A/ II-5) b-1) pharmacothérapie du diabète de type 1

*<u>L'insulinothérapie</u>

L'insulinothérapie demeure la pierre angulaire de la maîtrise de la glycémie chez les personnes atteintes de DT1, ces derniers reçoivent une insulinothérapie immédiatement après le diagnostic (Richardson et al. 2013).

Les préparations d'insuline sont classées en fonction de leur durée d'action et du moment de leur activité maximale ; l'insulinothérapie doit être individualisée selon les objectifs thérapeutiques, le mode de vie, l'alimentation, l'âge, l'état général de santé, la motivation, la capacité du sujet à reconnaître l'hypoglycémie et ses aptitudes en matière d'autogestion.

Aujourd'hui, Les stylos injecteurs facilitent l'administration de multiples injections d'insuline (Richardson et al. 2013).

L'hypoglycémie provoquée par l'insuline est un obstacle majeur à l'atteinte des objectifs glycémiques. Une hypoglycémie grave peut entraîner confusion, coma ou convulsions, ce qui exige l'intervention d'autres personnes (Richardson et al. 2013).

*Antidiabétiques oraux

L'utilisation de Metformine dans le traitement du DT1 réduit les besoins en insuline et le rapport cholestérol total/ cholestérol lié aux lipoprotéines de basse densité (LDL), et peut mener à une perte de poids modeste, mais elle n'entraîne pas une amélioration du taux d'HbA1c.

Cependant, l'utilisation de Metformine dans le traitement du DT1 peut être potentiellement nocive dans un contexte d'insuffisance rénale ou cardiaque (Richardson et al. 2013).

A/ II-5) b-1) pharmacothérapie du diabète de type 2

Le DT2 est souvent diagnostiqué avec du retard et, dans 20 % à 50 % des cas, des complications microvasculaires ou macrovasculaires sont présentes au moment du diagnostic. Quand les modifications du mode de vie ne permettent pas d'atteindre les objectifs glycémiques en deux à trois mois, il faut avoir recours à la pharmacothérapie.

En présence d'hyperglycémie marquée (HbA1c $\geq$ 8,5 %), on doit instaurer une thérapie antihyperglycémiante en même temps que les modifications du mode de vie et envisager l'association de deux médicaments dont l'un pourrait être de l'insuline (Cl & Saillants 2013).

À moins de contre-indication, la Metformine constitue le traitement initial de choix ; d'autres antihyperglycémiants pouvant toutefois être choisis en présence d'éléments cliniques pertinents, comme une contre-indication au médicament, la capacité de réduction de la glycémie, le risque d'hypoglycémie et l'effet sur le poids corporel (Cl & Saillants 2013).

Chacun des agents oraux cités ci-dessus souffre d'une efficacité généralement insuffisante (en monothérapie) et d'un certain nombre d'effets indésirables (Lorenzati et al. 2010). En conséquence, de nouvelles voies préventives plutôt que thérapeutiques sont explorées, sur le plan pharmaceutique mais également médecine traditionnelle.

A/ III- Le diabète expérimental induit par la stréptozotocine

La streptozotocine (STZ) est une substance chimique d'origine naturelle, synthétisée par une souche de bactérie Gram+ du sol *Streptomyces achromogenes* Nantie d'un large éventail de propriétés antibactériennes (Goud 2015), elle est également dotée de propriétés antitumorales d'où son utilisation en chimiothérapie (Lenzen 2008, Damasceno et al. 2014) pour le traitement de l'insulinome malin (Goud 2015).

Actuellement, la STZ est principalement utilisée pour l'induction du diabète expérimental en raison de sa toxicité spécifique associée aux cellules β pancréatiques (Goud 2015, Lenzen 2008, Szkudelski 2001, Damasceno et al. 2014).

Selon la souche animale, la dose et la voie d'administration du médicament, un diabète sévère (glycémie supérieure à 200/300 mg/dl) ou un diabète léger (glycémie entre 120 et 200/300 Mg / dl) seront générés (Damasceno et al. 2014).

La STZ est le plus souvent livrée par l'une des deux voies, intrapéritonéale (IP) ou intraveineuse(IV) à une dose variant de 40mg/kg à 60mg/kg (Goud 2015).

Mode d'action :

Malgré son vaste utilisation pour l'induction du diabète expérimental, le mode d'action de la STZ n'est pas entièrement élucidé, sa toxicité cellulaire est principalement associée à son absorption sélective par les cellules β pancréatiques qui se fait par le transporteur de glucose à faible affinité GLUT2 dans la membrane plasmique (Goud 2015, Lenzen 2008).

Les expériences ont prouvé que la principale raison de la mort des cellules β induite par la STZ est l'alkylation de l'ADN, son action intracellulaire entraîne des changements d'ADN comprenant sa fragmentation (Szkudelski 2001).

La libération d'oxyde nitrique (NO), la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'épuisement de l'ATP des cellules β contribuent à l'endommagement de l'ADN induit par la STZ (Goud 2015, Lenzen 2008, Szkudelski 2001).

Une fois que la STZ entre dans la cellule, elle inhibe le métabolisme du glucose et la sécrétion d'insuline des cellules bêta et altère le pancréas (Goud 2015).

B/ NADH : le coenzyme énergétique

Un siècle après l'identification d'une activité coenzymatique pour le NAD, le métabolisme de ce dernier suscite actuellement une attention particulière suite aux nombreuses recherches qui ont mis en avant la pertinence thérapeutique potentielle d'un ensemble d'enzymes dont l'activité serait étroitement régulée par l'équilibre entre les formes oxydées et réduites de ce métabolite (Houtkooper et al. 2015).

Dans plusieurs sous-unités cellulaires, NAD oxydé ou réduit sert à des réactions transhydrogénase catalysées par diverses enzymes oxydoréductase. Ce n'est que dans la dernière décennie que l'ampleur de la fonction de NAD a commencé à émerger avec l'identification des protéines NAD-consuming « Protéines dépendantes de NAD », qui à leur tour fonctionnent comme régulateurs métaboliques (Houtkooper et al. 2015).

L'importance de ces résultats est illustrée par des études qui impliquent ces régulateurs métaboliques dans les maladies liées au vieillissement telles que le diabète de type 2 (DT2) et le cancer. Les approches Thérapeutique visant ces voies sont actuellement testées dans les essais cliniques notamment après la réalisation d'une forme stable de NADH sous forme de comprimés, par le Professeur Georg D Birkemeyer, Directeur médical de l'Institut Birkmayer pour la thérapie de Parkinson à Vienne.

B / I) Généralités sur NADH

Il devient de plus en plus évident que les processus de signalisation médiés par le NAD sont présents partout dans tous les organismes et qu'ils sont impliqués non seulement dans l'ajustement métabolique des changements environnementaux, mais plutôt dans le contrôle des événements cellulaires fondamentaux.

En outre, il existe également des processus spécifiques aux cellules et aux tissus qui sont soumis à une réglementation médiée par le NAD et ses dérivés, parmi lesquels la sécrétion d'insuline qui est régulée par quatre mécanismes différents de signalisation NAD-dépendants (Nikiforov et al. 2015).

NADH est l'abréviation de la substance biologique nicotinamide adénine dinucléotide, le «H» représente l'hydrogène à haute énergie et indique que c'est la forme réduite de Coenzyme 1, un autre terme pour NADH (Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Birkmayer 2009).

C'est un coenzyme présent dans chaque cellule vivante, jouant un rôle crucial, en particulier dans la phosphorylation oxydative mitochondriale et dans la production d'ATP (Mero et al. 2008) en effets, NAD + et sa forme réduite NADH jouent un rôle central en tant

que porteurs d'électrons dans les réactions oxydoréduction pendant la glycolyse, le cycle de l'acide tricarboxylique, la chaîne respiratoire et d'autres voies métaboliques (Krejˇ 2012).

À titre d'illustration, une cellule à besoins d'énergie, plus elle contient de NADH. Par exemple, les cellules cardiaques ont 90 µg / g de tissu; les cellules cérébrales et musculaires contiennent 50 µg/g de tissu; les cellules du foie contiennent 40 µg/g de tissu et les globules rouges contiennent 3 µg/g de tissu (Ying 2006).

Ceux-ci peuvent être facilement modulés en fonction des modifications métabolique. Par exemple, une triple augmentation du contenu cytosolique du NADH a été signalée dans le muscle squelettique après un exercice intensif. Ainsi, une augmentation significative de la teneur en NADH des hépatocytes a été observée après le traitement à l'éthanol (Olek et al. 2004).

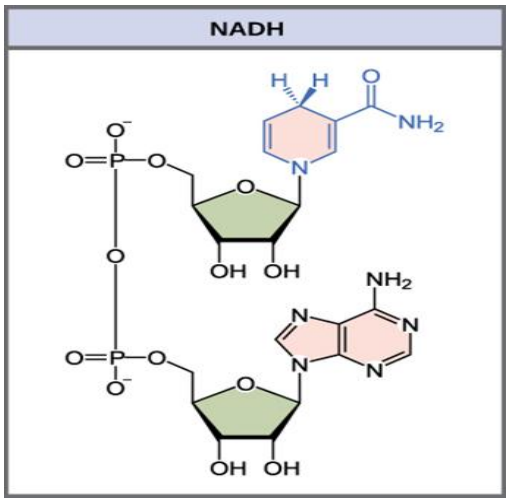


Figure 10. Structure du nicotinamide adénine dinucléotide, réduit (NADH)

Chez l'homme, le NAD à partir duquel est dérivé le NADH, est synthétisé par voie dite de novo à partir de précurseurs extracellulaires fournis par le régime alimentaire maintenant appelés collectivement vitamine B3, dont le plus important est le nicotinamide, lui-même est parmi les produits de dégradation des réactions de signalisation NAD-dépendantes exploités dans la deuxième voie de synthèse du NADH appelée voie de sauvetage (Nikiforov et al. 2015).

Comme cité ci-dessus, toutes les cellules vivantes qu'elles soient animales ou végétales contiennent du NADH, de ce fait, il est présent dans notre alimentation en plus grande concentration dans les viandes comparativement au fruit et légumes dont la teneur reste la plus faible (Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Birkmayer 2009)

Cependant, il est important de noter que la plupart du NADH que nous prenons des aliments est détruit au cours de la cuisson. La situation ne serait pas meilleure, même si nos régimes étaient constitués principalement de viande ou en poisson cru, car une fois ingérés la plus grande partie du NADH présent dans ces aliments est dégradée par l'acide gastrique au moment de la digestion (Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Birkmayer 2009).

B / II) Principales fonctions biologiques du NADH :

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

Le combustible cellulaire pour la production d'énergie :

La production d'énergie représente la condition préalable essentielle pour chaque cellule vivante : la fonction la plus importante de NADH est son implication dans la respiration cellulaire, au cour de cette dernière et suivant une cascade de réactions, le NADH réagit avec d'oxygène pour former l'eau et 3 molécules d'ATP.

Brigitte et all ont montré que le traitement au NADH améliore l'état métabolique de cardiomyocytes isolées en augmentant leur taux d'ATP (Schaffer et al. 2003).

Un rôle clé dans l'expression des gènes et la réparation de l'ADN :

Le ratio NAD+/NADH peut influencer l'expression des gènes mais également la réparation de l'ADN à travers plusieurs voies, à titre d'exemple : l'enzyme consommatrice de NADH, PARP-1 peut affecter plusieurs facteurs transcriptionnels tels que, AP-1 et NF-κB ainsi que la protéine p53 un des plus important suppresseurs de tumeurs (Ying 2006).

Un autre exemple est que NADH est un régulateur puissant de l'activité de la protéine de liaison CtBP1, un facteur de transcription important pour la régulation du cycle cellulaire, le développement et la transformation, les études montrent qu'il aurait une affinité 100 fois plus élevée pour NADH que pour NAD + (Fjeld et al. 2003).

Implication dans le système immunitaire :

Le coenzyme NADH est directement impliqué dans le système de défense immunitaire. Au cours du déclenchement de la réponse immunitaire et de l'activité cytotoxique des macrophages, une bonne quantité de NADH est utilisée (Birkmayer 2009), le taux de NADH peut aussi affecter de manière significative l'initiation de la réponse inflammatoire (Ying 2006).

En effet, des études ont montré que le NADH améliore la réponse immunitaire chez les personnes âgées en améliorant la prolifération des lymphocytes (Bouamama et al. 2017).

Un puissant antioxydant :

Un composé avec un potentiel de réduction très élevé présente une forte puissance antioxydante, c'est le cas de NADH avec la plus grande puissance réductrice de toutes les molécules biologiques et qui par conséquent, a une énorme capacité antioxydante (Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Ying 2006, Birkmayer 2009).

Des études ont montré que NADH agit comme antioxydants directs, et que les changements dans le rapport NADH / NAD + peuvent influencer de manière significative le potentiel antioxydant dirigé contre la cytotoxicité des radicaux libres dans les cellules vivantes (Olek et al. 2004).

Dans une autre étude faite sur une lignée des cellules hépatiques, les résultats indiquent que le NADH a protégé les hépatocytes contre les endommagements causés par l'irradiation des rayons X, en régulant la génération des ROS et donc la diminution de leur taux intracellulaire (Fa-Quan Liu 2003).

G. Reibnegger and all ont rapporté que le NADH est un puissant antioxydant à la fois in vitro et in vivo, avec une capacité antioxydante assez proche de celle de la vitamine C (Reibnegger et al. 2002).

NADH et signalisation cellulaire :

En plus des fonctions métaboliques bien connues du NAD et ces dérivés notamment le NADH, il apparait que ces coenzymes jouent également un rôle importants dans la signalisation cellulaire. Il s'agit de l'ADP-ribosylation, la libération de calcium intracellulaire ainsi que la régulation de son afflux et la désacétylation des protéines NAD dépendantes (Ying 2006).

B / III) 1- Développement d'un supplément NADH

NADH, la forme biologique de l'hydrogène est très réactif, il est rapidement oxydé en NAD au contact de l'aire et l'oxygène, le développement d'une formulation ou le NADH est

stabilisé et absorbé par le tractus intestinal était nécessaire pour le considérer dans des approches thérapeutiques.

Il a d'abords été mélangé au lactose, le remplisseur le plus utilisé dans la compression des comprimés, cependant il était impossible de garder la molécule stable pour plus de deux ans, la période nécessaire pour l'approbation d'une substance en tant que médicament (Birkmayer 2009).

Il a fallu trouver une autre substance de remplissage : le mannitol, plus un stabilisateur supplémentaire qui est le bicarbonate de sodium pour arriver a confectionné des tablettes de comprimés ou le NADH garderait sa stabilité pour plus de deux ans (Birkmayer 2009).

A présent le NADH est commercialisé en tant que supplément alimentaire.

B / III) 2- Effets médicales signalés du supplément NADH

B / III) 2- a) Effets de NADH sur les performances mentales :

Il a été prouvé que l'administration de NADH aussi bien par voie orale que par voie intrapéritonéale augmenterait significativement la quantité de NADH dans le cerveau donc il est concevable que l'administration exogène de NADH puisse avoir un effet direct ou indirect sur le cerveau (Hentschke & Fink 2002).

Le NADH a été utilisé dans plusieurs essais ouverts en tant que nouveau médicament chez les patients atteints de la maladie de Parkinson : 470 patients de Parkinson ont reçu une dose de 5 mg Enada (NADH) administrée tous les deux jours, l'amélioration de la mobilité, en particulier la marche, la posture et la parole a été signalée après deux semaine de traitement. Cet effet bénéfique a été confirmé par une autre étude d'une clinique universitaire en Allemagne (Birkmayer G and al 1993), Kuhn et al. 1996).

Une étude évaluant l'effet de NADH par voie orale sur le fonctionnement cognitif chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer a révélé des performances significativement meilleures sur le plan de la fluidité verbale et la capacité de construction visuelle. Pourtant, il n'y avait aucune différence dans les mesures d'attention, la mémoire ou la classification clinique de la gravité de la démence (Demarin V et al 2004). Conformément à une étude antérieure, ouverte de 3 mois sur 25 patients atteints de démence légère à modérée, le traitement au NADH 10 mg / jour n'a donné aucune amélioration cognitive chez les 19 patients qui ont fini l'expérience (Jellinger 2000).

Le NADH a quand même induit un léger effet antidépresseur sur un modèle animal, alors que son précurseur « nicotinamide » n'a pas donné d'effet dans la même expérience (Schickert & Fink 2004).

Chez des personnes souffrant de syndrome de fatigue chronique (SFC) - considéré comme maladie neurologique-, le NADH a montré un effet bénéfique ou la réponse a été caractérisée par l'amélioration de la fatigue, la diminution des symptômes de la maladie et l'amélioration de la qualité de vie (Forsyth et al. 1999). En cohérence, Maria and all ont comparé l'efficacité de NADH avec le traitement conventionnel chez des patients atteints de SFC , ceux recevant le NADH ont eu une réduction drastique et statistiquement significative des symptômes de la maladie au premier trimestre , même si les scores des symptômes dans les trimestres suivants de la thérapie étaient similaires dans le groupe traité et le groupe placebo (Maria L et al 2004).

B / III) 2- b) Effets de NADH sur les performances physique :

Sur le modèle animal, la tension artérielle systolique a diminué significativement après 30 jours chez les rats hypertendus ingérant des pilules de NADH sans preuve évidente de toxicité. En outre, le NADH a influencé le profil lipidique avec baisse du taux de cholestérol total et des LDLs (Bushehri et al. 1998).

Encore une fois sur un modèle animal, A. Woz´niacka et al ont constaté que l'application topique de 1% de NADH dilué dans la vaseline peut être très efficace dans le traitement de la rosacée et de la dermatite de contact. Étant donné qu'aucun effet néfaste n'a été observé, le traitement par NADH peut être considéré comme une alternative potentielle à d'autres traitements établis (Sysa-j 2003).

B / III) 2- C) Potentiel préventif /thérapeutique du NADH contre le diabète **:**

Administré a des patients diabétiques type 2 avec au moins un facteur de risque cardiovasculaire, le NADH Energy 80 mg a normalisé la glycémie ainsi que le taux de HbAc1.

De plus, on a noté une amélioration dans le profil lipidique de ces personnes, avec une diminution du taux total du cholestérol et une augmentation du taux des HDLs. Une perte de poids et un indice de masse corporel (IMC) inférieur ont également été signalés après 2 mois de traitement (Lotfi et al. 2016).

C/ Le gingembre

Le gingembre, la racine de la plante « *Zingiber officinale* » est une espèce de plante qui a largement était utilisé comme épice depuis plus de 2000 ans (Bartley & Jacobs 2000). Utilisé frais, sec, en poudre ou en huile, il est employé dans la cuisine – notamment asiatique -, dans l'industrie pharmaceutique, mais également dans le traitement de certains symptômes 'médecine traditionnelle' (Stoilova et al. 2007, Bhatkhandeb 2016) . La saveur est un peu poivrée et légèrement sucrée, avec un arôme fort et épicé.

Le gingembre est une épice ancestrale peu coûteuse et sans effets indésirables notables (Sirirat A et al 2006).

Le terme de gingembre vient à l'origine du mot sanskrit " srngaveram ", qui signifie "en forme des bois du cerf". Les arabes l'ont appelé "zinjabil"/ "زنجبيل" puis les grecs ont emprunté ce mot et lui ont donné pour nom " zingiberis", duquel découle le latin "zingiber", traduit en français "gingembre"

On trouve sa trace dans les plus vieux écrits chinois et dans des textes anciens en provenance d'Inde, il y a plus de 3000 ans. Originaire de l'Asie, le gingembre est l'une des premières épices à être importée dans le bassin méditerranéen via la mer rouge. En Egypte antique, il est utilisé dans le processus de momification.

Répandu en Europe dès le Ier siècle, le gingembre est très vite utilisé en cuisine par les grecs et les romains. A cette époque, on découvre les origines du gingembre et rectifie la croyance selon laquelle le gingembre aurait été la racine du poivrier.

Au Moyen Âge, le gingembre était très utilisé où l'on évoque déjà ses vertus aphrodisiaques, il coûtait très cher, servait même de monnaie d'échangeLa plante tombe dans l'oubli au XVIIIème siècle, avant de redevenir très utilisée de nos jours.

C/ II) Principales propriétés pharmacologiques du gingembre

C/ II) -1- Activité anti-inflammatoire

L'une des nombreuses allégations de santé attribuées au gingembre est sa capacité à diminuer l'inflammation, l'enflure et la douleur (Packer et al. 2008).

La recherche in vitro a révélé que de multiples composés de gingembre sont capables d'induire un effet anti-inflammatoire à travers un certain nombre de voies comprenant

l'inhibition de l'enzyme COX2 et de la 5-lipoxogénase (Marx et al. 2015).

Les composés de gingembre ont également démontré un effet anti-inflammatoire chez des modèles de souris et de rats, à titre d'exemple : une étude établit sur un modèle de souris a monté que le gingembre inhibe l'inflammation des poumons induite par les allergènes en réduisant l'éosinophilie des voies respiratoires et les cytokines de la voie Th2 (Louise et al. 2008), une autre étude a démontré des effets antiarthritiques puissants d'extrait de gingembre contenant du gingérol dans un modèle expérimental de polyarthrite rhumatoïde (Chen et al. 2016).

C/ II) 2-Activité antioxydante

Un des mécanismes les plus importants pour expliquer les bienfaits du gingembre est associé à ses propriétés antioxydantes.

Dans un modèle de rats ou l'altération de la fonction hépatique et rénal a était induite par un pesticide 'Carbendazime', le gingembre a rétablit efficacement les paramètres hématologiques et les structures et fonctions des tissus étudiés par un mécanisme impliquant l'inhibition de la peroxydation lipidique et l'augmentation des systèmes de défense antioxydants (Mariama S et al 2015).

D'autres résultat montrent que l'extraits de gingembre riche en 6-gingerol a amélioré les activités des enzymes antioxydantes : la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la S-transférase de glutathion (GST) ainsi que le glutathion (GSH) dans le cerveau, l'ovaire et l'utérus de rats exposés à l'insecticide chlorpyrifos (CPF) ,tout en empêchant les élévations induites par le CPF du niveau de NO et de l'activité de l'enzyme myélopéroxydase (MPO) .

Les propriétés de l'extrait de gingembre comparées à celles de l'antioxydant synthétique, déterminent son potentiel en tant que conservateur naturel, applicable dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Stoilova et al. 2007).

C/ II) - 3 -Effets cardiovasculaires

Le gingembre présente un intérêt considérable pour son potentiel à traiter de nombreux aspects des maladies cardiovasculaires. De par ses effets anti-inflammatoires et antioxydants, plusieurs études approuvent l'effet bénéfique du gingembre sur l'hyperlipidémie, l'agrégation plaquettaire et l'hypertension (Nicoll & Henein 2007).

Dans un modèle de rats, l'extrait aqueux de gingembre a induit une baisse de la pression artérielle (PA) dose-dépendante (3,0-10,0 mg / kg) (Nabeel et al. 2005).

D'autres données montrent que la consommation alimentaire d'extrait de gingembre par des souris a considérablement abaissé les lésions athérosclérotiques, ceci est dû à la réduction significative du taux de cholestérol total, des LDLs, des VLDLs, des triglycérides et des phospholipides (Nicoll & Henein 2007).

C/ II) - 4 -Activité anti-cancérogène

L'efficacité du gingembre dans la prévention ou la suppression de la croissance tumorale a été examinée chez des modèles de rats et souris mais également sur des lignées cellulaires humaines dans différents types de cancer, y compris le lymphome (Rubila & Ranganathan 2016), l'hépatome (Hanim et al. 2008, Weng et al. 2012), le cancer colorectal (Jessica Citronberg et all 2014, Zick et al. 2014), le cancer du sein (Ling et al. 2010), le cancer de la peau (Cojocaru SI et al G 2015), et pleines d'autres variétés de cancer.

Les mécanismes proposés pour expliquer les activités anticancéreuses du gingembre et de ses composants comprennent l'activité antioxydante, la capacité à diminuer la prolifération tumorale, à provoquer une interruption du cycle cellulaire et à supprimer la protéine activatrice 1 (AP-1) et les voies de signalisation NF-κB / COX-2 (Packer et al. 2008).

C/ II) - 5-Amélioration de la fonction digestive et activité antiémétique

Les résultats d'une étude faite de manière aléatoire et en double aveugle, montrent que le gingembre accélère la vidange gastrique et stimule les contractions antrales chez des sujets sains (Giacosa et al. 2015).

De nombreuses études ont rapporté l'effet antiémétique du gingembre dans de nombreuses circonstances telles que les nausées matinales et le mal des transports (Sirirat A et al 2006), certaines données montrent qu'il peut réduire la nausée et les vomissements postopératoires (Montazeri et al. 2013) ceux lié à la grossesse et ceux survenant chez les patients sous chimiothérapie (Giacosa et al. 2015).

Chez les rats, l'extrait de gingembre a atténué les symptômes de la colite ulcéreuse induite par l'acide acétique (Packer et al. 2008).

C/ II) -6-Autres effets

Outre les effets cités ci-dessus, l'extrait de gingembre a montré un effet radio-protecteur chez les animaux de laboratoire (Jagetia et al. 2004) et sur des cellules cultivées in vitro (Manjeshwar Shrinath Baliga et all 2012).

On a démontré son effet antibactérien sur différentes espèces bactériennes (Jolly & K 2015).

Ses effets sur le système nerveux ont également été étudiés démontrant qu'il peut être bénéfique dans le traitement de la démence, y compris la maladie d'Alzheimer (Packer et al. 2008).

Il s'est révélé efficace aussi comme expectorant, apéritif, aphrodisiaque, dépuratif, et tonique (Packer et al. 2008).

C/ II) -8- Potentiel préventif /thérapeutique du gingembre contre le diabète

Un certain nombre d'études ont examiné l'efficacité du gingembre dans le contrôle de l'hyperglycémie in vitro sur des modèles cellulaires et in vivo sur des animaux de laboratoire.

Le traitement de souris diabétiques de type 2 (db / db) avec le composant [6] -gingérol (100 mg / kg) pendant 12 jours a significativement abaissé leur glycémie à jeun et amélioré leur profil lipidique en diminuant les taux de triglycérides, de cholestérol et des aides gras libres (98) des effets similaires ont étaient trouvés dans une autre étude sur un modèle de diabète de type 2 chez des rats traités avec 200 mg/kg de solution de racine de gingembre (Madkor et al. 2011) et un modèle de diabète de type 1 ou on suggère que l'activité antidiabétique potentielle du jus de Z. officinale impliquent les récepteurs de sérotonine (5-HT) (Akhani et al. 2004).

D'autres données suggèrent que le traitement par gingembre exerce un effet thérapeutique et protecteur dans les modèles expérimentaux de diabète en diminuant le stress oxydatif et les dommages hépatiques et rénaux (Ramudu et al. 2011).

In vitro, le potentiel de différents extraits de gingembre à inhiber des enzymes clés et pertinentes dans le diabète de type 2 a été étudié sur une lignée cellulaires de myoblastes murins et les résultats indiquent que le gingembre présente un très bon potentiel d'inhibition de la glucosidase et de l'α-amylase pour le traitement du diabète de type 2 (Rani et al. 2011).

Dans une autre étude et avec le même type cellulaire, le (S) - [8] -Gingerol a été identifié comme un constituant puissant dans l'activation d'absorption du glucose. Cette activation s'est

produite principalement par une augmentation de l'expression de GLUT4 à la surface de la membrane plasmatique (Yiming Li et al 2012).

Sur le plan des essais cliniques, une étude a démontré que la consommation quotidienne de 3 g de gingembre pendant 8 semaines chez les patients atteints de diabète de type 2 entraîne une diminution de la glycémie à jeun et de l'HbA1c et une augmentation de la sensibilité à l'insuline (Mozaffari-khosravi & Talaei 2014).

C/ III) Composants bioactifs du gingembre

L'utilité du gingembre dans l'industrie alimentaire et la pharmacothérapie est strictement liée à son contenu de divers composants (Koch et al. 2017).

Les rhizomes du gingembre contiennent deux sortes de produits, des composés volatils constituant l'huile essentielle et des produits non volatils (ou lourds) constituants l'oléorésine, en plus d'autres composés organiques et inorganiques habituels présents dans les aliments.

L'oléorésine est principalement composée de terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes et alcools sesquiterpéniques) et de polyphenols, y compris les gingerodiones, gingersiols, dehydrogingerdiones et diarylheptanoids) (Koch et al. 2017).

Au moins 115 constituants de différentes variétés de gingembre frais et séché ont été identifiés par divers processus analytiques. Les gingérols sont les principaux composés présents dans les rhizomes du gingembre frais, leur analogues sont thermiquement labiles et subissent facilement des réactions de déshydratation pour former les shogaols correspondants, qui confèrent au gingembre séché son goût caractéristique piquant ((Packer et al. 2008, Badoni et al. 2015, Jolad et al. 2005).

La proportion de chaque composant dans un échantillon de gingembre dépend du pays d'origine, du processeur commercial, et si le gingembre est frais, séché ou traité (Packer et al. 2008 , Ali et al. 2008, Koch et al. 2017).

C/IV) Métabolisme du gingembre

Après administration intraveineuse à une dose de 3 mg/kg,le [6] -gingerol a été rapidement éliminé du plasma avec une demi-vie terminale de 7,23 min et une clairance totale du corps de 16,8 ml/min/kg. La liaison protéique sérique de [6] -gingerol était de 92,4% (Packer et al.

2008, Ali et al. 2008). On a également étudié la cinétique chez les rats avec une insuffisance hépatique ou rénale aiguë expérimentale et on a constaté qu'il n'y avait pas de différence significative sur les paramètres pharmacocinétiques entre les rats témoins et néphréctomisés ; il est donc suggéré que l'excrétion rénale ne contribue pas à l'elimination du [6] -gingerol du plasma chez le rat (Ali et al. 2008).

En revanche, la toxicité hépatique a élevé la concentration plasmatique de [6] -gingerol à la phase terminale. Sa demi-vie d'élimination a augmenté significativement, de 8,5 à 11,0 min chez les rats atteints de dommages hépatiques et le taux de [6] -gingerol lié à la protéine sérique était supérieure à 90% et a été légèrement affectée par la toxicité suggérant que le [6] -gingérol est éliminé en partie par le foie (Ali et al. 2008).

Un essai clinique s'est concentré sur la pharmacocinétique de [6] -, [8] - et [10] -gingerols et [6] -shogaol avec leurs métabolites conjugués respectifs. Les résultats indiquent que les formes libres de [6] -, [8] et [10] -gerérols ou [6] -shogaol ne sont pas détectables, alors que le glucuronide respectif de chaque composé a été détecté, suggérant que ces composants de gingembre sont facilement absorbés après consommation orale et sont détectables sous forme de conjugués glucuronides (Ali et al. 2008, Zick et al. 2008).

Ces résultats sont similaires à ceux observés avec le dosage de 6-gingerol administré oralement chez le rat, dans lequel aucune forme libre de 6-gingerol n'a été trouvée à aucun moment dans l'urine ou la bile, mais le (S)-[6] gingerol-4-Oh-glucuronide était présent dans la bile (Nakazawa & Ohsawa 2002).

C/V) Toxicité et réactions défavorables du gingembre

Le gingembre est généralement considéré comme une plante médicinale sûre (Packer et al. 2008, Ali et al. 2008, Sloth & Sigwart 2000). La DL_{50} orale est estimée à 6 g/kg Oléorésine (P.N. Ravindran and K. Nirmal Babu 2005).

Dans une étude de toxicité, des rats mâles et femelles ont été traités quotidiennement avec de la poudre de gingembre aux doses de 500, 1000 et 2000 mg / kg par gavage pendant 35 jours ; les résultats ont démontré que cette administration chronique de gingembre n'était associée à aucune mortalité, ni anomalie dans les conditions générales et de la croissance. Seulement à une dose très élevée (2000 mg / kg), le gingembre a permis de réduire légèrement le poids relatif des testicules (Sloth & Sigwart 2000).

Dans le but d'examiner l'effet du gingembre sur le développement fœtal, une étude ou on a administré à des femelles gestantes 20g/l ou 50g/l un infusion de gingembre du 6eme au 15eme jour de gestation avant de les sacrifier au 20eme jour, démontre qu'aucune toxicité maternelle n'a été observée, mais la perte embryonnaire dans les groupes de traitement était le double de celle des témoins (Wilkinson 2000). Inversement, d'autres chercheurs ont conclut que l'administration de l'extrait de gingembre a des rats femelles gestantes pour la même période, n'affectait pas leur performance reproductive et aucun décès ou effets indésirables liés au traitement n'ont été observés même à des doses quotidiennes allant jusqu'à 1000 mg/kg (Sloth & Sigwart 2001).

Une étude perspective clinique approuve ces données : des femmes enceintes prenaient du gingembre au cours du premier trimestre de grossesse et les résultats suggèrent que le gingembre ne semble pas augmenter les taux de malformations majeures au-dessus du taux de base qui est de 1% à 3% (Portnoi et al.).

Dans l'ensemble, ces données indiquent que la consommation de gingembre semble être sûre avec des effets secondaires très limités.

C/VI) Interactions signalées avec d'autres médicaments

Peu d'interactions médicament-gingembre ont été rapportées dans la littérature :

Il a été rapporté qu'un extrait éthanolique séché n'a montré aucun changement dans l'agrégation plaquettaire de personnes saines à une dose de 4 g par jour pendant 3 mois. On a également montré que chez les rats, un extrait de gingembre standard n'interférait pas avec la warfarine (anticoagulant) et n'entraînait aucun effet significatif sur les paramètres de la coagulation (Sloth & Sigwart 2000).

D'autres résultats ont suggéré que le gingembre et la nifédipine ont un effet synergique sur l'agrégation antiplaquettaire. Il a été recommandé que la combinaison de 1 g de gingembre avec 10 mg de nifédipine par jour puisse être utile pour lutter contre les complications cardiovasculaires et cérébrovasculaires dues à l'agrégation plaquettaire (Ali et al. 2008).

Présentation du travail :

Notre étude a pour objectif de comparer l'effet préventif du Gingembre et du NADH sur le pancréas endocrine exposé à la streptozotocine (STZ). Pour ce faire, un contrôle systématique de la glycémie a été effectué au sein des différents lots englobant respectivement le lot non diabétique, le lot diabétique, le lot NADH et le lot Gingembre.

Les animaux seront tous sacrifiés au quatorzième jour de l'experience (J14) et leurs pancréas prélevés feront l'objet d'études histologiques.

Toute la partie expérimentale allant des études sur l'animal au traitement du matériel biologique a été réalisée au sein de l'université.

I - Matériel biologique :

Notre expérience a porté sur 20 rats *Wistar albinos* mâles, pesant entre 130 et 200g et provenant de l'institut pasteur d'Alger.

Condition d'élevage :

-Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en 4 groupes dans de grandes cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable.

-Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages, renouvelée tous les 2 jours et plus souvent pour les animaux en cours d'expérimentation.

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

-Avant leur utilisation les rats subissent une période d'adaptation de 3 semaines au niveau de l'animalerie à température constante (22 ± 2) °C et sont soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique.

II - Matériel non biologique :

Le matériel non biologique comporte les différentes appareils et verreries présentes au niveau du laboratoire, ainsi que les produits végétaux ou chimiques utilisés tout au long de la phase expérimentale. (Voir annexe)

III - Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé du rhizome (racine) sec de l'espèce zingiber officinale qu'on s'est procuré du marché locale et qu'on a broyé en poudre.

IV - Extraction de l'oléorésine du gingembre par éthanol :

L'extraction a été faite par macération de 50 g de poudre de gingembre dans 500 ml d'éthanol à 96% pendant 24 h dans un récipient fermé et à température ambiante.

Après 24 h, la solution est filtrée, le solvant est évaporé en utilisant un rotavapor « évaporateur rotatif » sous pression réduite à 40°C et l'extrait est récupéré.

L'opération est répétée deux fois afin d'épuiser la plante et le filtrat est séché à 40°C puis pesé pour le calcul du rendement.

V- Méthodes d'analyse :

V - 1) Analyse de l'extrait de gingembre :

Chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrométrie de masse (CG-MS):

L'analyse a été réalisée au niveau du laboratoire de la police scientifique de la wilaya d'Alger.

Principe :

CG-MS ou GC-MS, d'après l'anglais **« Gas Chromatography Mass Spectrometry »** est une méthode qui combine les caractéristiques de la chromatographie et de la spectrométrie pour identifier différentes substances présentes dans un échantillon.

La chromatographie en phase gazeuse (CG) sert à séparer les molécules d'un échantillon pour en faire des composés individuels au moyen d'une colonne capillaire à température contrôlée. Tandis que la spectrophotométrie (SM) sert à la détection et l'identification de ces composés en fonction de leur spectre de masse étant donné que chaque composant a un spectre de masse unique, ou quasi unique, que l'on peut comparer avec des bases de données de spectres de masse, ce qui permet de les identifier.

La GC-MS est reconnue comme la méthode de référence ou « Golden Standard » pour l'identification des composés organiques volatils et semi-volatils d'un échantillon.

V- 2) Evaluation comparative de l'activité antioxydante du Gingembre et de NADH par rapport à celle de la Vitamine C :

Test de réduction du radical stable, le DPPH :

Nous nous somme intéressé à évaluer l'activité antioxydante des deux produits : Gingembre et NADH, en vue de leur valorisation en tant qu'antioxydants en comparaison avec la Vitamine C considérée comme l'antioxydant de référence.

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir antioxydant de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante).On mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène.

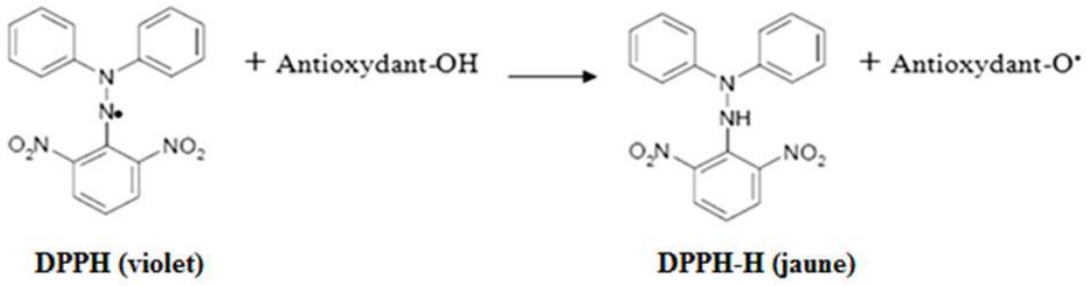


Figure 13. Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)

Protocol :

_ La solution de DPPH a été préparée à l'avance (au moins 1-2 heures) car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité.

_ Chaque produit à tester (Gingembre, NADH et Vitamine C) a été dissous dans de l'éthanol a 96% et des volumes de 0.1 ml de différentes concentration ont été mélangés avec 3.9 ml de la solution du DPPH .Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes et conservé a l'obscurité.

_ Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance à 515 nm est mesurée par spectroscopie UV-visible.

_ Le pourcentage d'inhibition est calculé et une courbe d'étalonnage est dessinée pour chaque solution. % d'inhibition = (Abs $_{blanc-}$ Abs $_{échantillon)}$ x100/ Abs blanc. Abs : Absorbance.

_ L' IC_{50}, la concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % de la concentration initiale en DPPH° est calculée pour chaque produit testé, la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa IC_{50} est petite.

VI - Protocole expérimental :

VI - 1- 1) Phase d'optimisation :

27 rats ont reçus une unique injection intrapéritonéale de STZ à 60 mg/kg. Une prise de la glycémie a été effectuée 72h après l'injection pour sélectionner les rats diabétiques.

En se basant sur les résultats obtenues, la dose a était réduite à 45 mg/kg.

VI - 1- 2) Constitution des lots :

Les 20 rats Wistar sont répartis aléatoirement en 4 lots de 5 chacun, selon le tableau suivant :

Tableau 3. Répartition des lots

	Lot1	Lot2	Lot3	Lot4
1ère injection	⁄	⁄	Gingembre 500mg /kg	NADH 500mg/kg
2eme injection	Tampon citrate Ph 4,5	STZ 45mg/kg	STZ 45mg/kg	STZ 45mg/kg

***** Lot1 : Témoin -

***** Lot2 : Témoin + (diabétique)

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

VI - 1- 3) Mode opératoire :

_ Le lot témoin - (1er lot) reçoit une seule injection de tampon citrate ph 4,5 uniquement alors que le lot témoin + (2eme lot) reçoit une seule injection de STZ à 45m/kg.

_ Les rats des 2 autres lots reçoivent une injection IP soit de Gingembre-500mg/kg (3eme lot) ou de NADH-500mg/kg (4eme lot) 30 mn et 15 mn respectivement avant de recevoir une injection intra péritonéale de STZ à 45mg/kg.

_ Une prise de glycémie à jeun et de pois est effectuée 48 h après l'injection pour voir l'installation ou non du diabète, puis 1 jour sur 2 pendant 14 jours.

_ Les rats sont sacrifiés au 14eme jour afin de récupérer leur pancréas.

Préparation des injections :

_ L'injection de l'extrait de gingembre : On prépare une émulsion de l'extrait de gingembre avec l'eau distillée et un émulsionnant, Le Tween 80.

_ L'injection de NADH : Le NADH est dissous dans de l'eau physiologique.

_ L'injection de la Streptozotocine : La STZ est dissoute dans un tampon citrate à ph 4.5, la solution est préparée juste avant l'administration (15 à 20 mn au plus tard) car le produit est instable.

Pesée :

Les animaux sont pesés à l'aide d'une balance de précision à des moments fixes 4 fois pendant l'expérience ; avant le commencement de l'expérience, 48 après l'injection, le 8eme jour et le jour de sacrifice.

Mesure de la glycémie :

L'appareil utilisé pour la détermination quantitative du glucose est le lecteur de la glycémie : le glucomètre.

Le prélèvement sanguin pour la mesure de la glycémie est effectué au niveau de la queue de l'animal. Après nettoyage de la queue à l'alcool, elle est piquée à l'aide d'une fine aiguille, la goutte de sang résultante est récupérée et déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie.

VI - 2) Etude histopathologique :

A la fin de l'expérience, le sacrifice des animaux a été fait après une dernière prise de pois et de glycémie.

Sacrifice et prélèvement des organes :

Le rat est anesthésié avec du chloroforme durant 1 à 2 mn dans une boite hermétiquement fermée. Il est posé face dorsale contre le liège, les membres étirés et fixées en extension afin de procéder à la dissection.

Le pancréas est rapidement prélevé pour éviter son autolyse, puis lavé abondamment à l'eau physiologique pour le débarrasser de tout tissu adjacent et élément sanguin.

Traitement des organes :

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

- Lavage, déshydratation : L'organe est retiré du pilulier est mis dans 5 bains de lavage d'eau courante pendant 5 mn chacun pour le débarrasser de l'excès de Formol. La déshydratation est réalisée manuellement par une série de bains successifs d'alcool à concentration croissante (70%, 90% et 100%) pendant 20 mn chacun afin d'enlever complètement l'eau des tissus. Suivis de 2 bains de Xylène de 20 mn chacun.

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

- Réalisation des coupes : Elle se fait grâce à un microtome réglé à 5 microns, les coupes sont recueillies sur des lames imbibées d'eau gélatinée puis séchées sur une plaque chauffante à 35°C.

- Déparaffinage et réhydratation : Il est nécessaire d'enlever la paraffine et de réhydrater l'échantillon, ceci par une série de bains : 2 bains de Xylène 20 mn chacun, suivis de 3 bains d'alcool à concentration décroissante (100%, 96% et 70%) et un bain de rinçage.

- Coloration à l'hématoxyline-éosine : La première à l'hématoxyline pour 4-5 mn suivie de rinçage à l'eau courante. La deuxième à l'éosine pour 1-2 mn suivie de rinçage à l'eau courante.

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

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

VI - 3) Etude statistique :

L'analyse statistique et la représentation des résultats obtenus a été réalisée avec le logiciel Excel 2010.Ceci comprend :

_ Calcul de la moyenne.

_ Calcul de l'écartype.

_ Calcule de p value :

 p > 0, 05 = la différence n'est pas significative ns

 p > 0, 01 = la différence est significative

 p > 0,001 = la différence est hautement significative

Résultats et discussion :

Résultats :

I) Analyses physico-chimique :

I) 1- Calcul du rendement de l'extraction de gingembre:

Le calcul du rendement de l'extraction de gingembre selon la formule détaillée ci- dessous nous à permis d'évaluer ce dernier à 16,7% d'oléorésine (R= 16,7 %).

R= $[(P_0-P_1)/P_0]*100$, P_0: Poids initial, P_1: Poids après extraction et séchage.

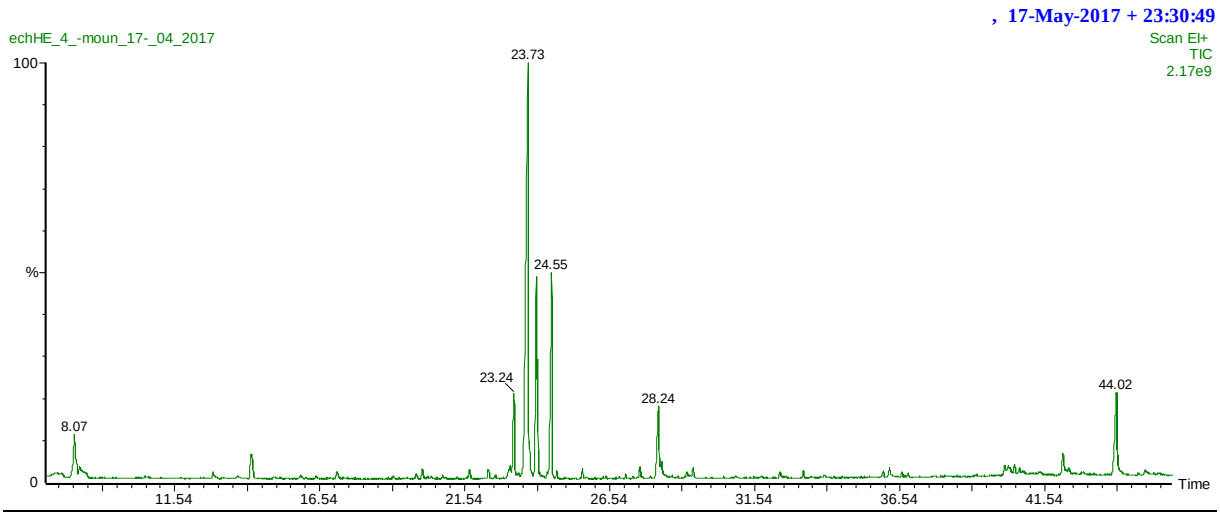
R= $[(50-P_1)/50]*100$

R= [(50-41,65)/50]*100

R= 16,7 %

I) 2- Analyse de l'extrait de gingembre par CG-MS :

Chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrométrie de masse :



Interprétation de la CG :

La chromatographie en phase gazeuse montre que l'extrait de gingembre épuisé par éthanol, contient 6 molécules différentes avec un temps de rétention caractéristique pour chacune d'elles.

Un spectre de masse est lancé pour chaque molécule afin d'obtenir sa masse molaire et pouvoir ainsi l'identifier en se basant sur la bibliographie.

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 4. Les molécules composant l'extrait de gingembre obtenues par analyse CG-SM.

Nom de la molécule	Temps de rétention	Masse molaire g/mol	Action pharmacologique
Beta-phellandrene	8.07	136	-Activité antioxydante -Activité antifongique
Curcumene	23.24	202	-Activité antioxydante -Activité anticancéreuse
Zingiberene	23.73	204	-Activité anti-inflammatoire et antioxydante -Effet chimioprotecteur
β-sesquiphellandrene	24.55	204	-Activité anti-inflammatoire et antioxydante
Zingerone	28.24	195	-Activité antioxydante, anti-inflammatoire et anticancéreuse
6-shogaol	44.02	276	-Activité anti-inflammatoire -Activité anticancéreuse -Effet protecteur sur les cellules β pancréatique -Effet hypoglycémiant

I) 3- Résultat du test DPPH :

Une courbe exprimant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration a été dessinée pour chaque produit, a partir de laquelle l'IC_{50} a été calculée.

Rappelons que l'IC_{50} est la concentration qui assure la réduction de 50% du DPPH, une faible valeur d'IC50 correspond à un fort pouvoir antioxydant.

Les figures suivantes présentent les courbes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des 3 produits :

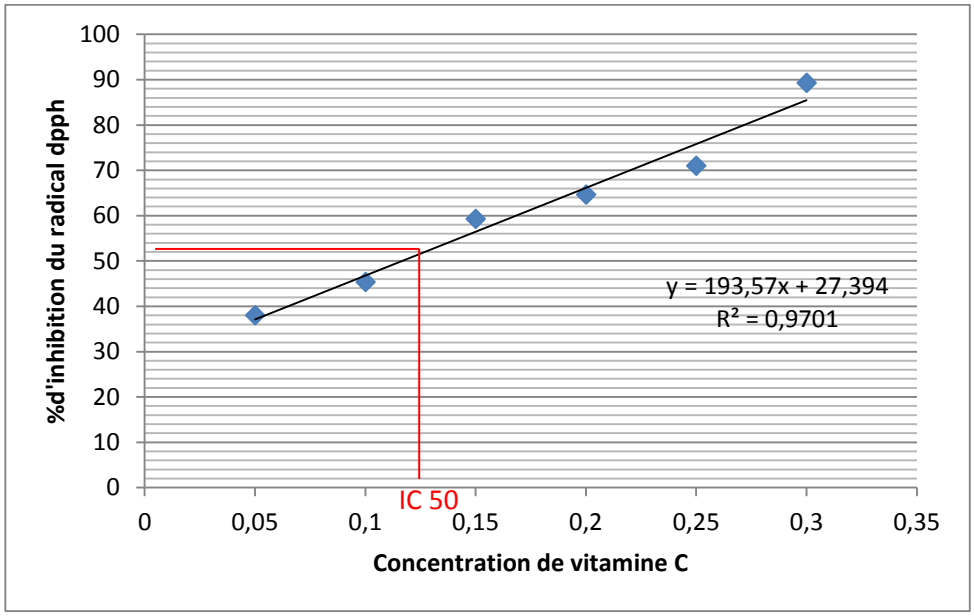


Figure 14. Courbe du % d'inhibition de dpph en fonction de la [ ] de la vitamine C

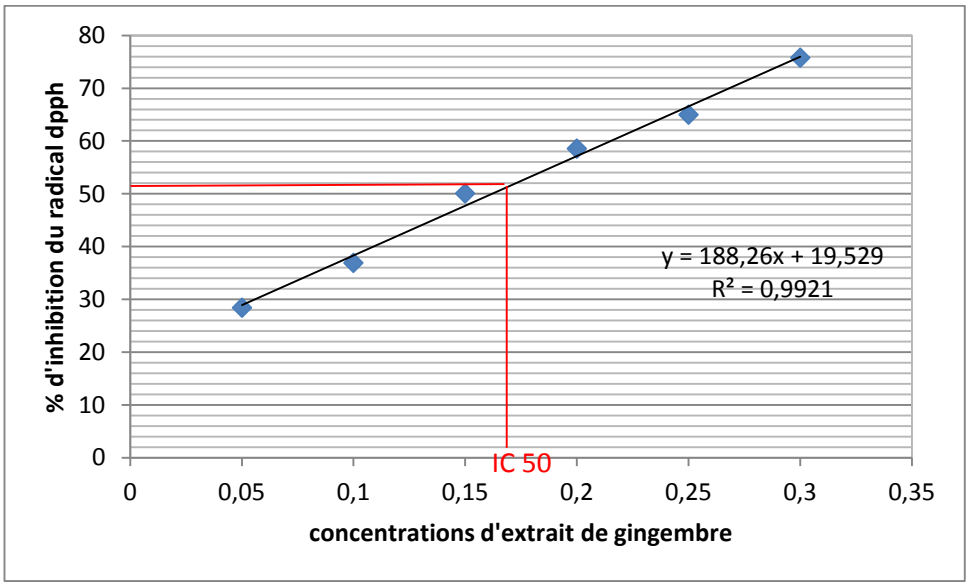


Figure 15. Courbe du % d'inhibition de dpph en fonction de la [ ] de l'extrait de gingembre

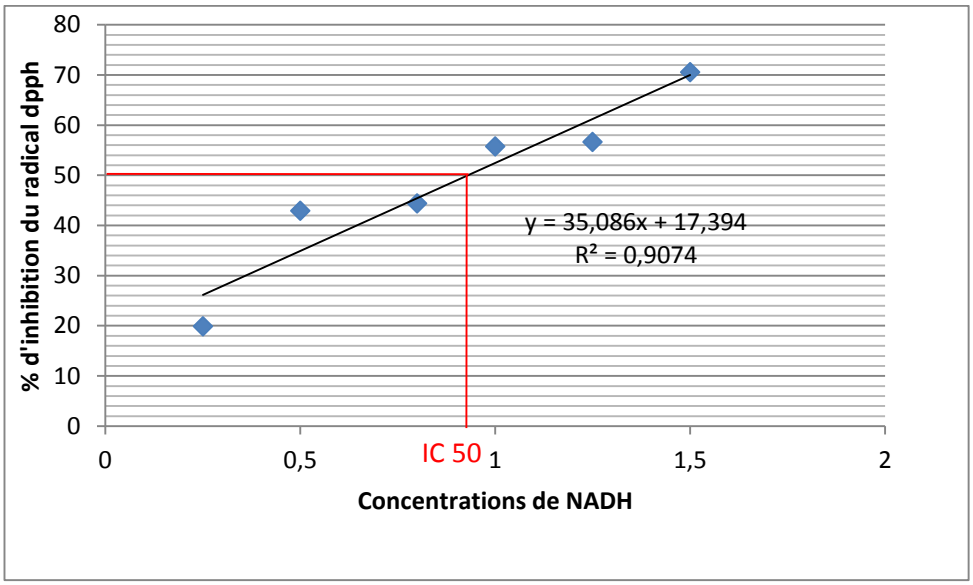


Figure 16. Courbe du % d'inhibition de dpph en fonction de la [ ] de NADH

Rappelons que l'IC_{50} est la concentration qui assure la réduction de 50% du DPPH, une faible valeur d'IC50 correspond à un fort pouvoir antioxydant.

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 5. Les valeurs d'IC50 pour la Vitamine C, l'extrait de gingembre et le NADH.

Produit	IC_{50} (mg/ml)
Vitamine C	0,116
Extrait de gingembre	0,161
NADH	0,929

Interprétation :

Les résultats obtenus indiquent que la concentration adéquate de Vitamine C, d'extrait de gingembre et de NADH pour réduire 50% de DPPH est 0,116, 0,161 et 0,929 mg/ml respectivement

Nous constatons que l'extrait de gingembre ainsi que le NADH sont de très forts antioxydants. Néanmoins, il faut noter que le pouvoir antioxydant de l'extrait de gingembre

est très proche de celui de la vitamine C considérée comme l'antioxydant de référence, alors que le NADH a un pouvoir antioxydant 8 fois inférieur à celui de la Vitamine C.

II) Modèle expérimentale animal

L'optimisation expérimentale de la dose de STZ nous a permis après plusieurs tentatives '(non mentionnées dans le manuscrit) d'opter pour la dose unique de 45mg/kg de poids corporel.

La réussite de l'induction a été apprécié qualitativement par l'induction généralisée du diabète chez tous les individus traités et quantitativement par une hyperglycémie omniprésente d'abords croissante jusqu'aux 8eme jours post induction se stabilisant en plateau jusqu'à la fin de l'expérience.

II) 1 – Evolution pondérale :

Les résultats des variations du poids corporel moyen des rats des 4 lots suivis tout au long de notre étude sont représentés dans le tableau ci-dessous (chaque valeur correspond à la moyenne) :

Tableau 6. Évolution du poids corporel moyen en g des 4 lots.

Les lots	Avant l'injection	48h après	8eme jour	14eme jour
Lot 1 : témoin négatif	162 ± 4,84	162 ± 4,84	168 ± 5,12	173 ± 4,84
Lot 2 : témoin positif(diabétique)	168 ± 8,66	164.2 ± 8,95	161.6 ± 10,21	160.4 ± 10,52
Lot 3 : traité au gingembre	165 ± 17,33	165,2 ± 17,19	170,2 ± 16,40	171,4 ± 17,50
Lot 4 : traité au NADH	167 ± 19,28	167,2 ± 19,71	170,4 ± 20,05	174,8 ± 20,33

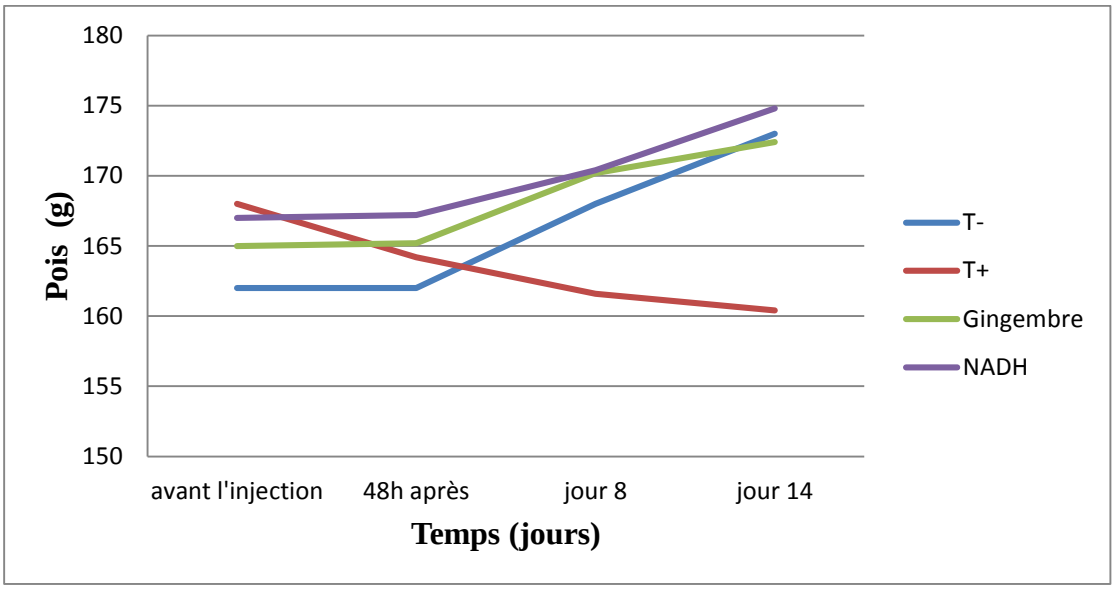


Figure 17.Variation du poids corporel moyen (g) des 4 lots de rats en fonction du temps.

Les résultats obtenus montrent un léger gain de poids corporel aussi bien chez le lot témoin négatif (de 162 à 173g) que chez les deux lots traités au gingembre (de 165 à 171,4g et au NADH (167 à 174,8 g) et ce sur la longueur de l'expérience.

Toutefois, chez le lot témoin positif, une légère perte de poids a été signalée 48 h post injection de STZ. Cette dernière était présente tout au long de notre expérience.

Ces résultats restent statistiquement non significatives, $p > 0.05$.

II) 2 – Control glycémique :

Le suivi de la glycémie nous a permis d'enregistrer les résultats représentés dans le tableau suivant :

Tableau 7. Évolution de la glycémie en mg/dl des rats des 4 lots.

Les lots	Avant l'injection	48h après	4eme jour	6eme jour	8eme Jour	10eme jour	12eme Jour	14eme Jour
Lot 1 : témoin négatif	83± 6,08	83,4± 2,88	84,3± 6,72	84,4± 6,97	83,6± 5,76	84,8± 7,46	85,6± 4,44	85,2± 4,82
Lot 2 : témoin positif	84,4± 4,6	247,8± 28,84	290,2 ± 37,02	286 ± 45,85	312,8 ± 62,54	314,8 ± 62,68	313,8 ± 64,75	316 ± 62,65
Lot 3 : traité au gingembre	82.8± 5,93	83± 7,48	83± 4,71	86.2± 4,03	84.4±	87.6±	85.6±	86±

Lot 4 : traité au NADH	82,6±	92,8±	97,8±	94,2±	91,8±	89,2±	92,2±	89,4±

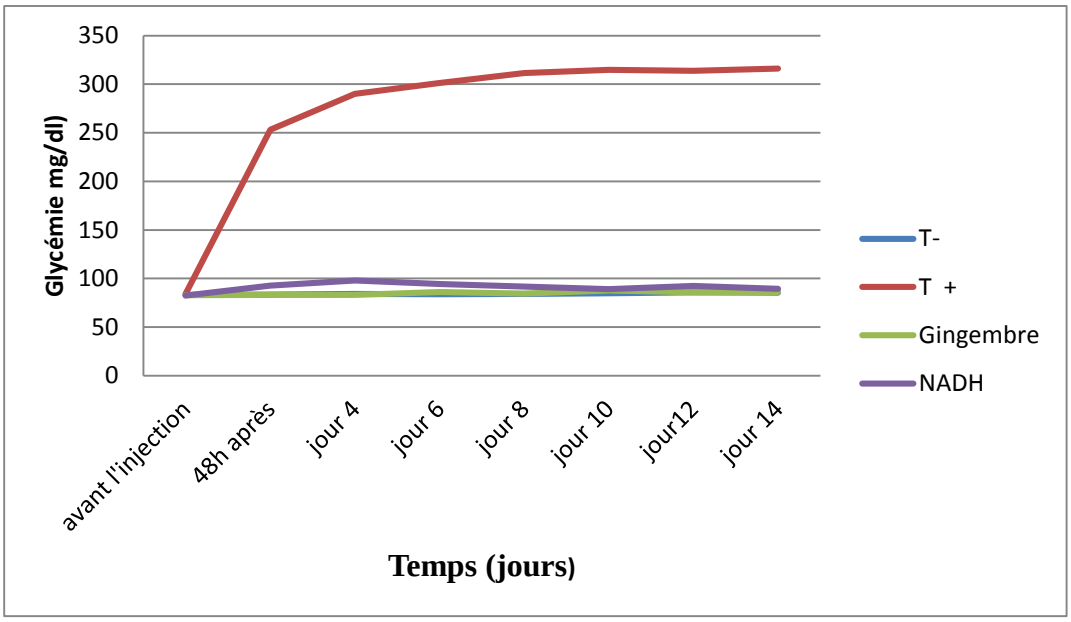


Figure 18. Courbe de la variation de la glycémie (mg/dl) des 4 lots de rats en fonction du temps.

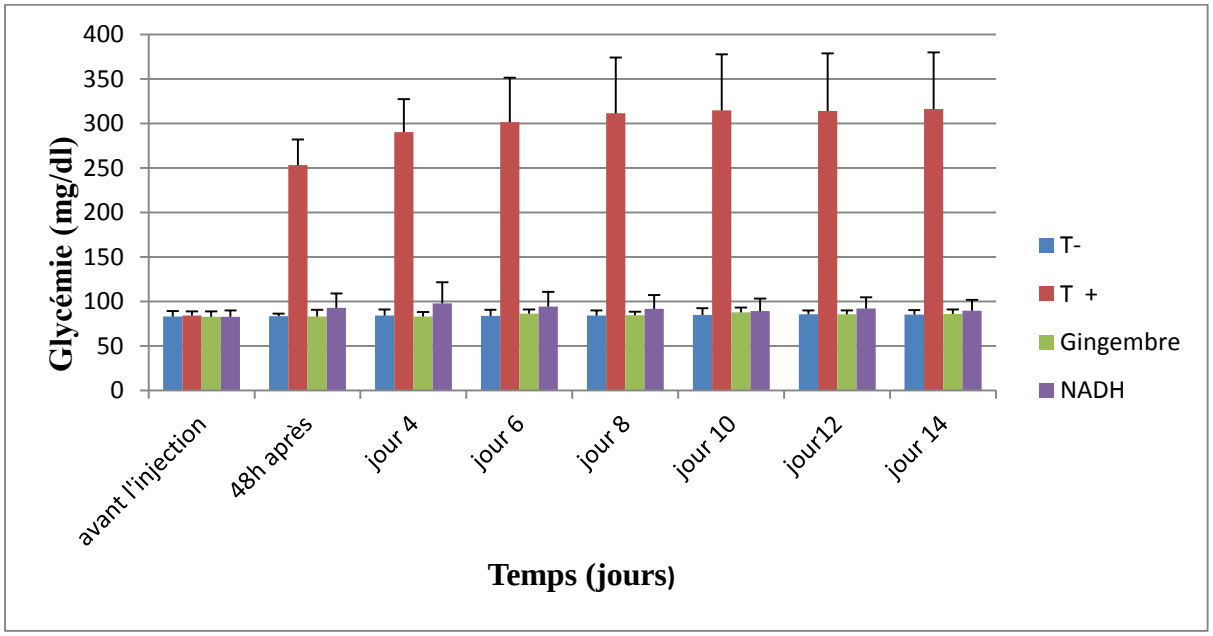


Figure 19. Histogramme de la variation de la glycémie (mg/dl) des 4 lots de rats en fonction du temps.

D'après ces résultats, aucun changement significatif ($p > 0.05$) de la glycémie n'a été observé chez le lot témoin négatif. La même observation a été notée chez les deux lots traités soit au gingembre (500mg/kg) ou au NADH (500mg/kg) suite à l'injection de STZ (45mg/kg), la glycémie est restée dans la limite normale.

Tandis que pour le lot témoin positif, une augmentation de la glycémie (de 84,4 à 247,8 mg/dl) a été soulignée 48 h après l'injection de STZ (45mg/kg). La glycémie a continué d'augmenter pendant la première semaine pour atteindre une valeur relativement stable au cour de la deuxième semaine. Cette hyperglycémie est très significative avec $p < 0.001$.

II) 3) Analyse histopathologique

Les observations microscopiques du pancréas des différents lots de rats (témoin négatif, témoin positif, le groupe NADH et le groupe gingembre) faisant l'objet de notre présente étude ont révélées les résultats cités ci-dessous :

L'induction du diabète avec une dose de streptozotocine de 45mg/kg s'est manifestée histologiquement chez le témoin positif par une raréfaction des ilots de langerhans (fig. 20, 21) avec une nette atrophie de ces derniers comparés à ceux du témoin négatif (fig. 22, 23, 24 et 25).

La même observation a été réalisée chez le lot traité par le gingembre dont les ilots sont aussi plus réguliers (fig. 28, 29 et 30) composés de cellules plus larges et mieux structurées évoquant un aspect sain aussi observé dans le témoin négatif (fig. 25).

Cependant ces mêmes ilots chez les lots traités par le NADH sont plus nombreux et plusvolumineux que ceux du témoin positif alternant d'une forme arrondie à une forme plus allongée ou ovale selon l'incidence de la coupe (fig. 26 et 27).

Les cellules du témoin positif composant souvent un ilot fort atrophié, irrégulier et avasculaire contiennent en plus des cellules apoptotiques (fig. 31 et 32) reflétant ainsi un aspect moins sain que celui du témoin négatif (fig. 25).

La planche suivante montre les coupes histologiques du pancréas endocrine des différents lots à faible grossissement (G× 10) :

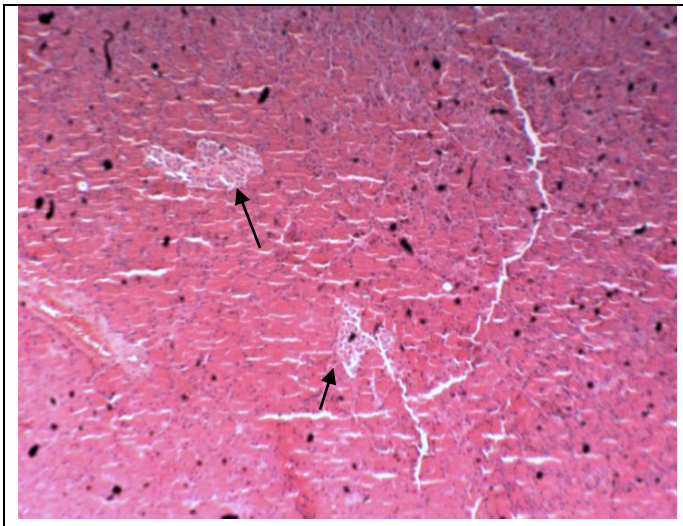


Fig 20. Contrôle Positif. Deux ilots de langerhans atrophiés (flèche).

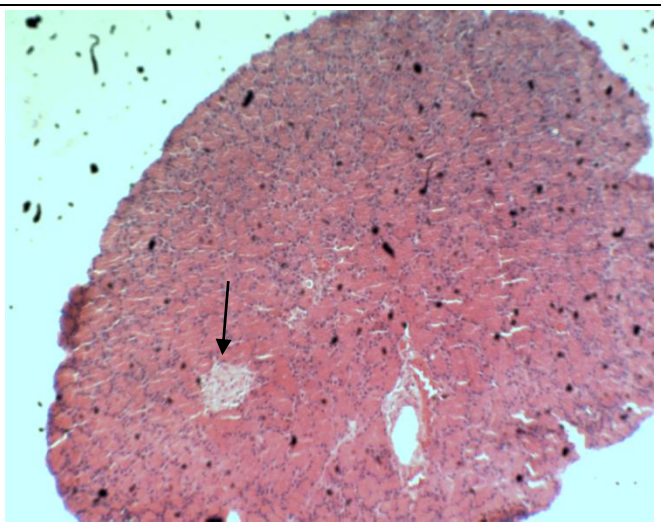


Figure 21. Contrôle Positif G 10x. Ilot de langerhans Atrophié (flèche)

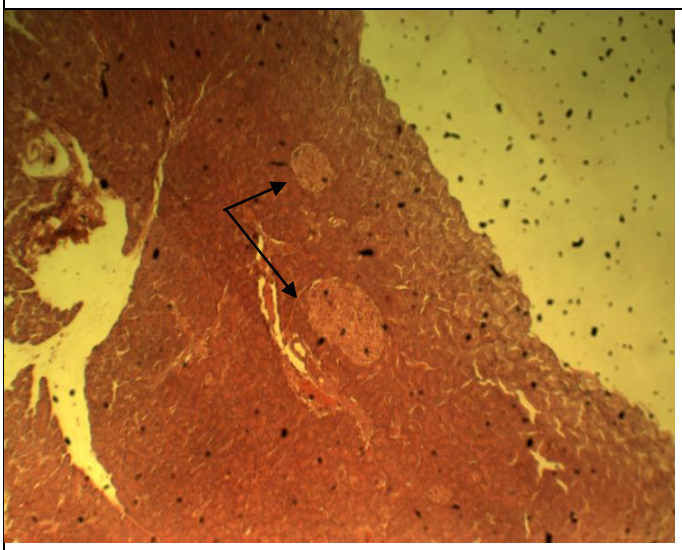


Fig 22. Contrôle négatif. Ilots de langerhans sains (flèches).

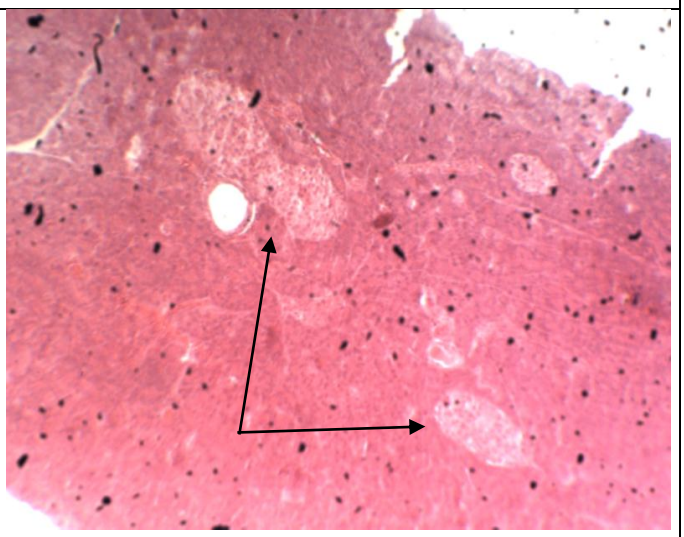


Figure 24. Contrôle négatif G 10x. Ilots de langerhans sain (flèche).

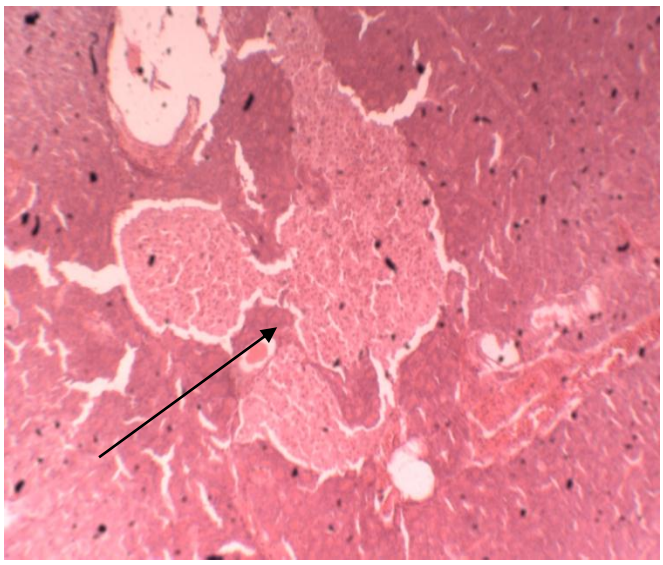


Fig 23. Contrôle Négatif. Ilot de langerhans sain géant (flèche).

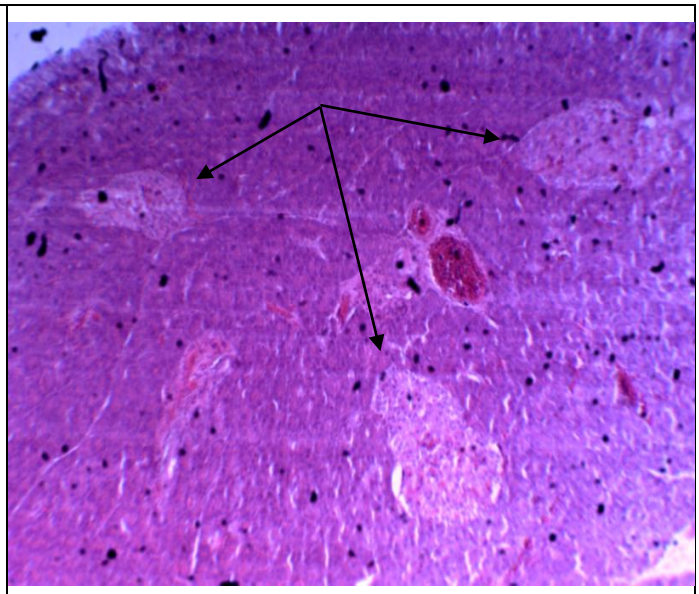


Fig 26. NADH .Groupe d'ilots de langerhans de forme allongée et d'apparence saine (flèches).

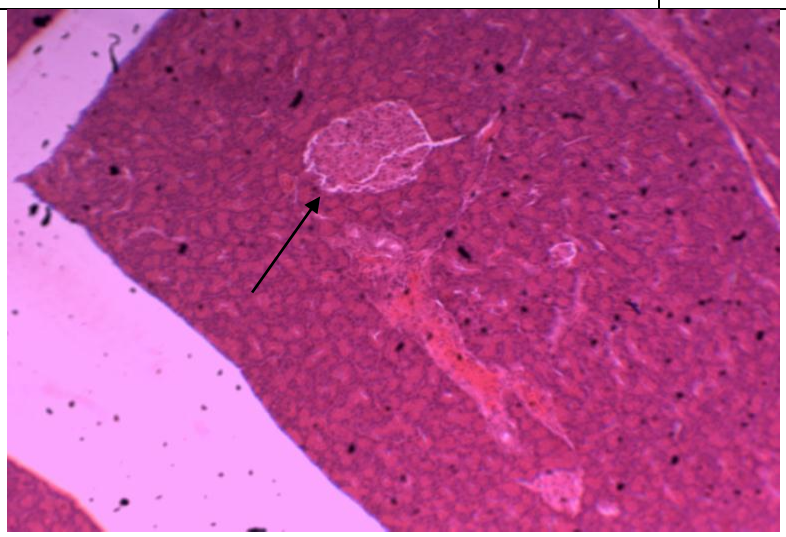


Fig 28. Gingembre ; ilots de langerhans d'apparence saine (flèches).

Leur structure s'apparenterait beaucoup plus à un pancréas sain représenté ici par le témoin négatif (fig. 22, 23, 24, 25).

La planche suivante montre les coupes histologiques du pancréas endocrine des différents lots à grossissement (G× 40) :

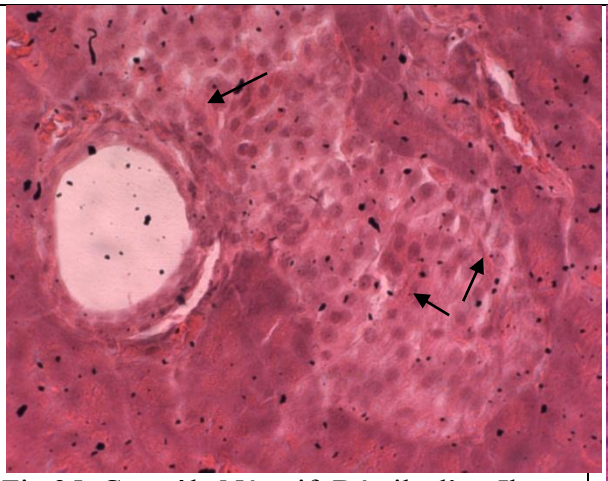


Fig 25. Contrôle Négatif. Détails d'un Ilot de langerhans sain parcouru de vaisseaux sanguins (flèches).

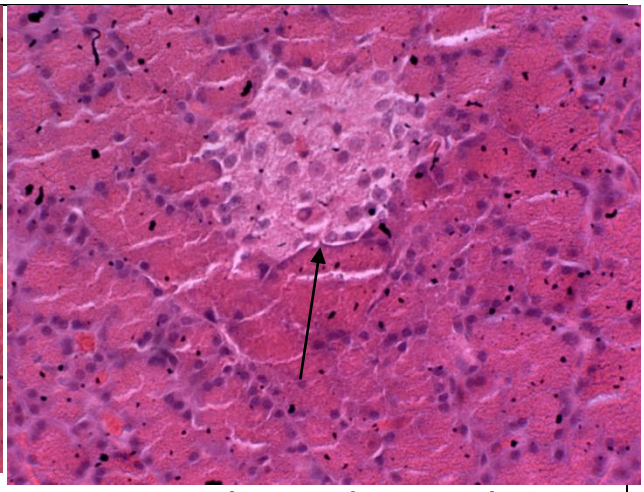


Figure 31. Contrôle Positif G 40x .Détails d'un ilot de langerhans atrophié (flèche).

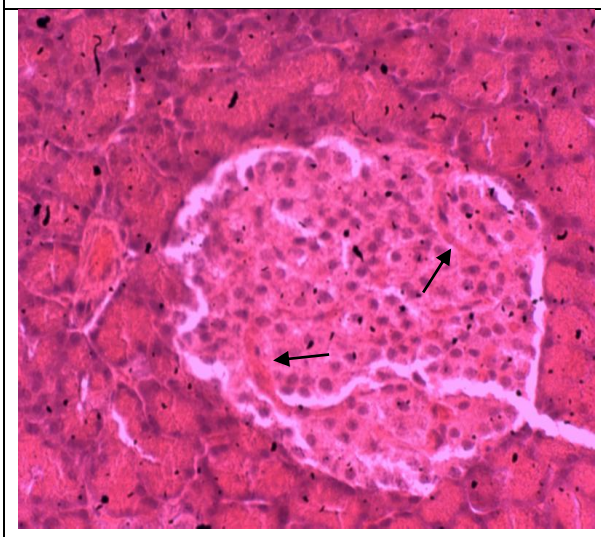


Fig 29 Gingembre G.Details d'un ilot de langerhan d'apparence saine parcouru de vaisseaux sanguins (flèches).

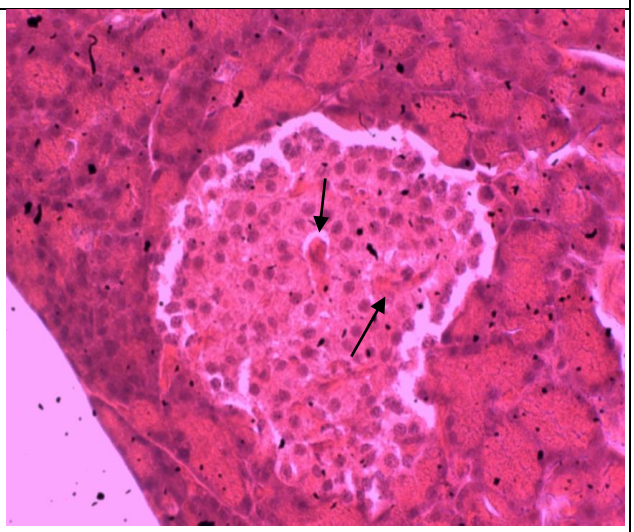


Figure 30. Gingembre G40x. Ilot de langerhans bien vascularisé (flèche).

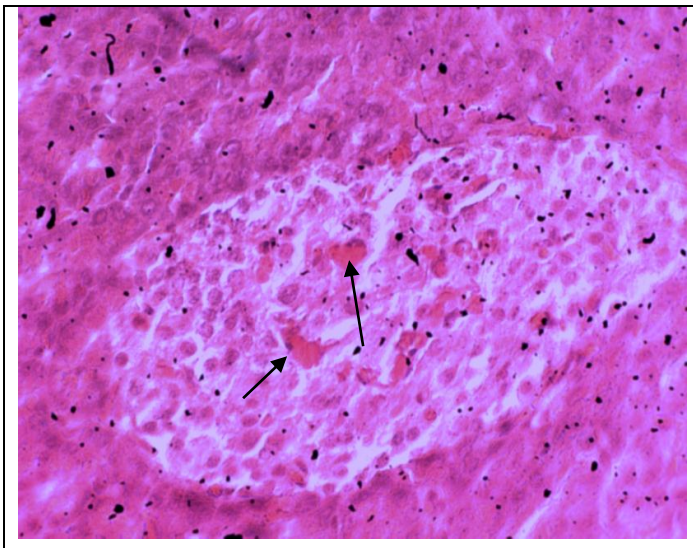


Fig 27. NADH G. Détails d'un ilot de langerhans d'apparence saine très bien irrigué (flèche)

La vascularisation des ilots observée particulièrement chez les lots témoin négatif (fig. 25), le lot gingembre (fig. 28, 29, 30 et 33) ainsi que chez le lot de NADH (fig. 26 et 34) serait révélatrice d'un bon état d'oxygénation tissulaire contrairement à celui du temoin positif évoquant ainsi un statut énergétique positif d'où l'aspect sain non apoptotiques des cellules structurant l'ilot de langerhans.

La planche suivante montre les coupes histologiques du pancréas endocrine des différents lots à très grand grossissement (G× 100) :

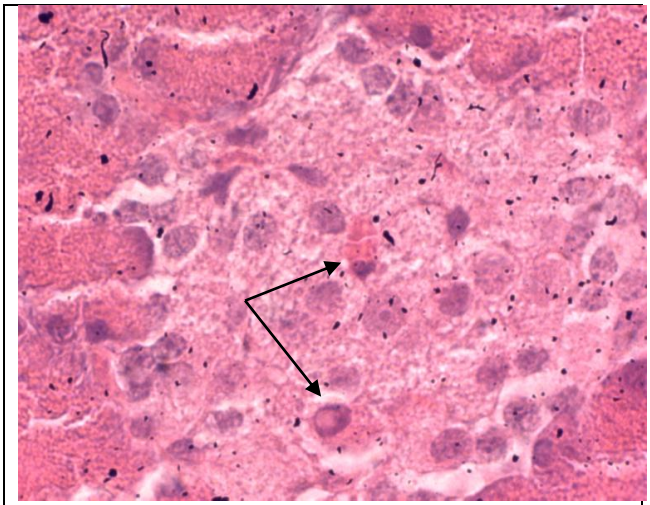


Fig 32.Contrôle Positif. Détails d'un ilot de langerhans avec présence de cellules apoptotiques (flèches) et absence de vaisseaux sanguins.

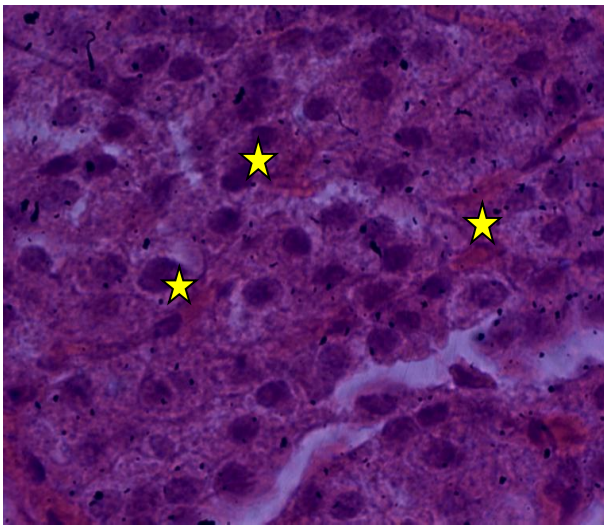


Figure 33. Gingembre G100x. Détails d'un ilot contenant des vaisseaux sanguins (étoiles et flèche).

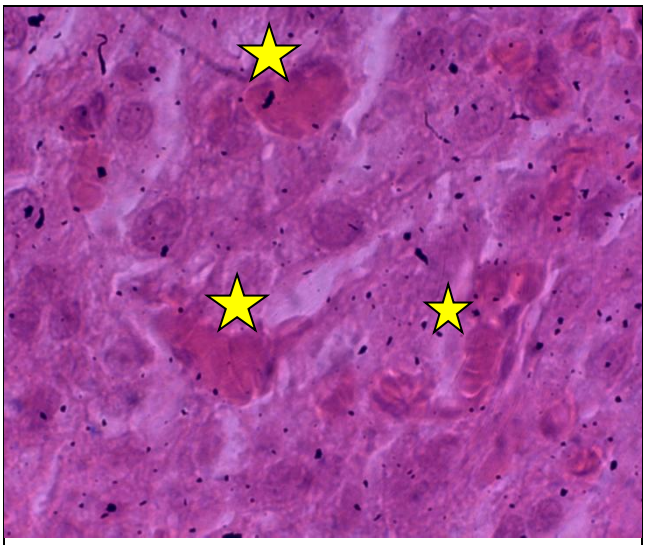


Figure 34. NADH G 100x. Détails d'un ilot très bien vascularisation (flèche).

Discussion :

Le diabète sucré est une maladie dans laquelle l'homéostasie du métabolisme des glucides, des protéines et des lipides est altéré à cause de carence absolue ou relative dans la sécrétion de l'insuline et / ou de son action, ce qui entraîne une élévation du taux de la glycémie (P. Daisy and Feril G. 2013).

La gravité de l'anomalie métabolique peut progresser, régresser ou rester identique. Ainsi, le degré d'hyperglycémie reflète la gravité du processus métabolique sous-jacent et son traitement plus que la nature du processus lui-même (Of & Mellitus 2014).

Étant donné que le danger majeur du diabète découle de ses complications à long terme, on s'attend à ce que le dépistage précoce et l'intervention efficace présentent un énorme impact humain, social, médical et économique. Et avec l'augmentation considérable de l'incidence du diabète et les effets secondaires des médicaments antidiabétiques, les chercheurs tentent de trouver de nouvelles voies thérapeutiques mais aussi préventives visant à protéger les cellules β sécrétrices d'insuline contre tout endommagement. De ce fait, les interventions qui préservent la fonction des cellules β pancréatiques et améliorent la résistance à l'insuline se sont avérées les plus efficaces pour prévenir l'installation du diabète ainsi que sa progression (DeFronzo & Abdul-Ghani 2011).

Dans le but de mettre au point de nouvelle thérapies, la streptozotocine (40-60 mg/kg) est l'agent de choix pour l'induction reproductible d'un état métabolique diabétique chez les animaux de laboratoire (Lenzen 2008, Damasceno et al. 2014).

Le but de notre étude était de comparer l'effet préventif de l'extrait de gingembre et de NADH sur un modèle de diabète expérimental induit par la STZ.

Nous avons initié le travail par une phase d'optimisation ou la dose de STZ administrée était 60 mg/kg. A partir des résultats obtenus dans cette phase et ceux de la littérature, nous avons opté pour une dose de 45 mg/kg.

Pour la dose des deux produits 'Gingembre' et 'NADH' dont l'effet préventif a été testé, nous avons suivi le protocole de l'expérience réalisée par Hassan N et Janjua MZ qui ont suggérer que la dose optimale de nicotinamide 'NAD' pour la protection des cellules β contre l'effet cytotoxique de la STZ chez le rat albino était de 500 mg/kg par voie intrapéritonéale (Hassan N 2001).

Effet de la stréptozotocine sur le pancréas endocrine des rats :

L'induction du diabète expérimental chez le rat utilisant des produits chimiques qui détruisent sélectivement les cellules β pancréatiques est très pratique et simple à utiliser (Szkudelski 2001).

L'alloxan et la STZ sont les produits chimiques diabétogènes les plus utilisés dans la recherche sur le diabète, les deux sont des analogues cytotoxiques du glucose, bien que leur cytotoxicité soit atteinte par des voies différentes.

Cependant, la STZ reste un meilleur choix de par ses propriétés chimiques et sa reproductibilité (Lenzen 2008).

Nos résultats montrent une diminution du poids corporel du lot témoin positif qui reste scientifiquement non significative $p > 0.05$**.** Ceci est probablement du à la courte durée de notre expérience étant donné que les études utilisant la même dose pour l'induction du diabète, rapportent une baisse importante du poids des rats rendus diabétiques mais ceci sur une durée allant de 21 jusqu'a 80 jours (Ramakrishnan et al. 2017, Umamaheswari et al. 2007, Punithavathi et al. 2008).

Les changements de poids corporel observés pourraient résulter de la dégradation ou du catabolisme des protéines structurales en raison de l'absence de glucides pour le métabolisme énergétique et aussi de l'augmentation de fonte musculaire dans le diabète (Ramakrishnan et al. 2017, (Punithavathi et al. 2008).

L'hyperglycémie induite par la STZ a été décrite comme un modèle expérimental bien standardisé pour étudier le diabète sucré. À des doses appropriées, la STZ permet la production d'un état diabétique avec une hyperglycémie légère, modérée ou sévère. Une dose de 45 mg/kg produit un diabète de type 2 chez le rat Wistar (Punithavathi et al. 2008).

Dans notre étude, l'injection de la STZ à raison de 45 mg/kg a provoqué 48h après, une hyperglycémie très significative $p < 0.001$ chez le lot témoin positif comparé au lot témoin négatif. L'hyperglycémie a continué d'augmenter pendant la première semaine avec une stabilité relative à la deuxième semaine. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par la littérature (Ramakrishnan et al. 2017, Umamaheswari et al. 2007, Punithavathi et al. 2008).

L'action diabétogène puissante de la STZ résulte d'une lésion des cellules β pancréatiques qui sont la seule source d'insuline. La STZ est très sélective par rapport à ces cellules grâce à la fraction de glucose dans sa structure lui permettant d'être transportée via le transporteur de glucose GLUT2 (Lenzen 2008,Szkudelski 2001, Szkudelski 2012).

Il est bien documenté que l'exposition des cellules β sécrétrices d'insuline à la STZ entraîne des dommages à l'ADN. Les études in vitro ont révélé que la STZ provoque une alkylation de l'ADN entraînant sa fragmentation.

À la suite d'une lésion de l'ADN, les mécanismes intracellulaires visant sa réparation sont activés. Dans le cas des dommages d'ADN induite par la STZ dans les cellules β, le rôle crucial dans la réparation de l'ADN est attribué à la poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1). Cette enzyme nucléaire une fois activée clive le NAD+ en nicotinamide et ADP-ribose et polymérise ce dernier sur des protéines nucléaires y compris les histones, les facteurs de transcription et PARP elle-même (146,147). Dans le cas d'un dommage léger de l'ADN, l'activation de PARP-1 est bénéfique. Cependant, une blessure à l'ADN étendue induite par la STZ conduit à une hyperactivité de PARP-1 et est préjudiciable à la cellule en raison d'un appauvrissement important en NAD et éventuellement en ATP, la perte critique de NAD+ et l'épuisement énergétique conduit à un arrêt de la fonction cellulaire et la mort des cellules β ((Lenzen 2008, Szkudelski 2012).

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que l'hyperglycémie dans le diabète provoqué par la STZ a également été associée à une formation accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) et à un endommagement oxydatif des composés tissulaire, cela peut accompagner l'effet de la STZ et accélérer le processus de destruction des cellules β (Lenzen 2008).

En effet, les ROS interagissent avec l'ADN provoquant des mutations, avec les protéines causant des défauts de repliement et des enzymes dysfonctionnelles et avec les lipides causant des dommages aux membranes cellulaires. Ces processus peuvent finalement conduire à une apoptose (Friederich et al. 2009).

L'hyperglycémie observée dans notre présent travail et rapportée par plusieurs auteurs (Ramakrishnan et al. 2017, Umamaheswari et al. 2007, Punithavathi et al. 2008) ne serait pas due uniquement à l'effet de la streptozotocine mais aussi à l'hyperglycémie persistante qui en résulte et ce même après la clairance rénale rapide de cette dernière (STZ) qui est éliminée 15 mn après, si l'injection est IV et au bout de 48h en cas d'injection IP (Wu & Yan 2015).

L'hyperglycémie persistante serait responsable de la sollicitation exagérée des cellules β restantes et affaiblies ce qui initiera la production d'insuline et de radicaux libres responsables de la genèse secondaire d'un stress oxydatif dans un environnement où les antioxydants font défauts (Wu & Yan 2015).

Ce climat austère qualifié en conséquent de glucotoxique serait indéniablement responsable du cercle vicieux et infernale de l'apoptose et/ou nécrose des cellules B de langherans (Wu & Yan 2015).

Ce travail confirme avec vigueur l'effet toxique et arégénératif de l'hyperglycémie au sein d'un pancréas exposé à la STZ.

Effet préventif du NADH :

Les micronutriments sont de plus en plus intégrés dans les soins de santé en raison de leur importance dans la gestion de diverses maladies. Ils jouent généralement le rôle de coenzymes et / ou de cofacteurs nécessaires à une fonction bien spécifique (Manna & Kalita 2016). NADH par exemple, joue un rôle crucial dans la phosphorylation oxydative mitochondriale et dans la production d'ATP, il agit également en tant qu'anti oxydant.

Des études récentes démontrent le potentiel thérapeutique du NADH pour la prévention et la prise en charge de nombreuses maladies chroniques, y compris le diabète.

Le nicotinamide ou l'acide nicotinique (NA), précurseur de NAD et NADH est largement utilisé en parallèle avec la STZ pour l'induction du diabète expérimental de type 2, il est administré en IP aux animaux préalablement à l'injection de la STZ pour protéger partiellement les cellules β contre l'action de cette dernière (Szkudelski 2012). Cette protection est dose dépendante et les données suggèrent que la dose optimale de NA pour la prévention contre l'effet cytotoxique de la STZ sur les cellules β chez le rat albinos est de 500 mg/kg (Hassan N 2001).

Dans notre étude, l'injection IP de NADH à raison de 500 mg/kg a effectivement prévenu l'action cytotoxique de la STZ contre les cellules β et donc l'induction du diabète.

Nos résultats ne montrent aucune chute de poids ni hyperglycémie chez le lot traité au NADH, mais plutôt un léger gain de poids et une normoglycémie similaires à ceux observés chez le lot témoin négatif. Les mêmes résultats ont été signalés dans la littérature (Hassan N 2001).

Comme déjà motionné précédemment, la STZ provoque des dommages à l'ADN conduisant à une activité accrue de la poly (ADP-ribose) polymerase (PARP-1) pour réparer l'ADN. Cependant, l'activité exagérée de cette enzyme entraînerait l'épuisement du NAD intracellulaire et de l'ATP conduisant à la déplétion cellulaire subite en énergie dont la conséquence immédiate serait la mort des cellules β sécrétrices d'insuline (Szkudelski 2012).

L'action protectrice de NA est due à l'inhibition de l'activité de PARP-1. Non seulement Na inhibe cette enzyme, empêchant l'épuisement de NAD et l'ATP dans des cellules exposées à STZ, mais elle sert également de précurseur de NAD et augmente ainsi les niveaux intracellulaires de ce dernier (Szkudelski 2012).

De plus, des preuves cumulatives suggèrent d'autres mécanismes à travers lesquels NAD+ et NADH peuvent affecter l'apoptose: le rapport NADH / NAD + est un indice majeur de la puissance de réduction cellulaire pouvant moduler la perméabilité mitochondriale MPT (mitochondrial permiability transision), un médiateur de l'apoptose dans de nombreuses conditions. NAD+ et NADH jouent également un rôle clé dans le métabolisme et l'énergie cellulaire qui est un facteur critique déterminant le mode de mort cellulaire (Ying 2006).

D'un autre côté, le stress oxydatif est considéré comme la cause principale de plusieurs maladies chroniques, dont le diabète, il se produit dans la cellule lorsque la génération de ROS accable la défense antioxydante naturelle de la cellule. De ce fait, l'effet protecteur qu'exerce NADH sur les cellules β serait aussi attribué à son pouvoir antioxydant qui a été rapporté par plusieurs auteurs (Ying 2006, Birkmayer & Pharmaceuticals 1993, Fa-Quan Liu 2003, Reibnegger et al. 2002, Bushehri et al. 1998) et que nous avons constaté nous-même d'après les résultats du test DPPH que nous avons précédemment présenté.

Effet préventif de l'extrait de gingembre :

Au cours des dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour la phytothérapie dans les soins et la gestion du diabète sucré, tant dans les pays en développement que dans les pays développés, en raison de son origine naturelle, son faible couts et ses effets secondaires minimes.

Les approches inspirées de la médecine traditionnelle demeurent importantes, en particulier pour la gestion des maladies chroniques, ceci dit, leur prévention, le control de leur progression ou l'inversement des mécanismes impliqués dans leur physiopathologie.

Le gingembre est l'une des épices les plus couramment utilisées dans le monde. C'est également une plante médicinale qui a été utilisée depuis l'antiquité pour un large éventail de maladies, on a démontré que le gingembre avait diverses activités pharmacologiques telles que les activités antiémétiques, antiulcéreuses, anti-inflammatoires, antioxydantes, antiplaquettaires, anticancéreuses, ainsi que des activités hypoglycémiantes et hypolipidiques (Chrubasik et al. 2006, Rong et al. 2009).

Son effet hypoglycémiant a largement été étudié et l'efficacité de nombreuses sortes d'extrait de gingembre contre le diabète a été examinée (Madkor et al. 2011, Akhani et al. 2004).

Dans notre étude, nous nous somme intéressé à l'effet protecteur que pourrait jouer l'extrait de gingembre épuisé par éthanol contre la toxicité de la STZ envers les cellules β pancréatiques chez le rat albinos.

Les résultats obtenus dans le lot traité au gingembre sont similaires à ceux du lot traité au NADH et du lot témoin négatif, un léger gain de poids accompagné d'une normoglycémie tout au long de l'expérience a été noté. Aucun signe de l'installation d'un diabète n'a été signalé.

Cet effet antidiabétique que présente note extrait de gingembre pourrait être assigné aux différentes molécules qui le composent notamment les shagaols reconnus pour leur effet protecteur sur les cellules β du pancréas. Ces mêmes composants ont montré un puissant effet inhibiteur de l'oxyde nitrique (NO) incriminé également dans la toxicité de la STZ contre les cellules β (Rahmani et al. 2014).

D'autre part, il est connu que les espèces réactives d'oxygène (ROS) sont des médiateurs importants dans la pathogenèse du diabète et ses complications (Friederich et al. 2009) et bien que notre organisme possède des systèmes antioxydants pour la protection contre les dommages oxydatifs, ces systèmes sont insuffisants pour éviter tout dommage possible. Notre extrait de gingembre en revanche présente un très haut pouvoir antioxydant comparable à celui de la vitamine C d'après la littérature (Singh et al. 2009, Ramudu et al. 2011,Rani et al. 2011) et le test DPPH que nous avons effectué, chacune des molécules composant notre extrait de gingembre est reconnue pour son activité antioxydante.

Nos résultats adhérent à ceux citées dans la littérature (Ramudu et al. 2011, Hamid Nasri et al 2013) qui démontrent que l'extrait éthanolique de gingembre pourrait réduire les taux

glycémie et améliorer les activités des enzymes intra et extra-mitochondriales dans un modèle de diabète induit par la STZ, les auteurs suggèrent que cet effet protecteur du gingembre pourrait être attribué en partie à ses propriétés anti-inflammatoires, en atténuant les taux de protéines C réactive (CRP) dans le sérum et en partie à son effet antioxydant, comme le prouvent l'atténuation des marqueurs de peroxydation des lipides et l'augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase rénale.

Lecture histopathologique:

L'analyse comparative des pancréas de nos différents lots traités nous a permis d'associer irréfutablement l'environnement glucotoxiques aux altérations structurales et par conséquent fonctionnelles observées au sein de cet organe.

L'effet cytotoxique largement documenté de la STZ (Goud 2015, Lenzen 2008, (Szkudelski 2001, Szkudelski 2012) se reflète histologiquement par un rétrécissement et une raréfaction des ilots de langherans qui revêtent un aspect irrégulier et atrophique. Ceci pourrait s'expliquer par une apoptose primaire des cellules β initiée par l'injection de STZ engendrant une phase de mort aigues suivie d'une phase d'apoptose secondaire impliquant les cellules pancréatiques restantes, due principalement au climat glucotoxique entretenu par l'hyperglycémie persistante. En effet, la toxicité aigüe de la STZ est très courte avec une demi-vie assez fugace (Wu & Yan 2015) alors que l'hyperglycémie omniprésente sur-sollicite via le GLUT2 les cellules β restantes à secréter d'avantage l'insuline, cette stimulation persistante pourrait éventuellement conduire à l'épuisement des cellules β et à la mort cellulaire.

Cependant, les effets hypoglycémiant et antioxydants imputés aussi bien au NADH (Birkmayer 2009, Fa-Quan Liu 2003, Reibnegger et al. 2002, Bushehri et al. 1998 , Lotfi et al. 2016, Schaffer et al. 2003) qu'au gingembre (Singh et al. 2009, Akhani et al. 2004, (Ramudu et al. 2011, Rani et al. 2011) pourraient expliquer leur effet bouclier protecteur du pancréas endocrine face à un climat glucotoxique environnant, octroyant ainsi au pancréas des lots traités soit au NADH ou à l'extrait de gingembre un aspect plus sains comparativement à ceux du témoin positif.

Nous pouvons expliquer cela par l'augmentation des réserves énergétiques chez les cellules traitées au NADH leur permettant ainsi de réparer avec aisance les cassures causées

au niveau de l'ADN suite au climat cytotoxique initié par la STZ (Ag & O 2002) De son côté, l'effet protecteur observé du gingembre pourrait s'expliquer aussi par son effet anti oxydant et donc proénergétique (Singh et al. 2009, Madkor et al. 2011, Ramudu et al. 2011, Rani et al. 2011).

Ces observations ne seraient pas uniquement la conséquence d'un effet protecteur antioxydant ou hypoglycémiant mais pourrai aussi revêtir un aspect régénératif des cellules β déjà connues pour être sollicitées par le nicotinamide (différentiation endocrine des cellules β) (Patrick Collombat et al 2011). Le NADH étant la forme réduite, il serait doté d'une capacité supérieure à celle du nicotinamide (birkmayer).

Toutefois tenant compte de la durée trop courte de notre expérience et la capacité de régénérations assez lente et limitée des cellules β il est encore trop tôt sinon précipité de confirmer ces hypothèses (Ghasemi et al. 2014).

Néanmoins, les observations histologiques réalisées au cours de ce travail nous ont permis de confirmer sans aucune équivoque l'effet protecteur du NADH ainsi que du gingembre, sauvant ainsi le pancréas d'une apoptose imminente et progressive.

Conclusion

Conclusion et perspectives :

Dans la présente étude, l'effet protecteur de NADH et du gingembre contre la toxicité de la stréptozotocine envers le pancréas endocrine a été confirmé.

La STZ à raison de 45mg/kg a permis l'induction d'un diabète de type 2 avec une destruction partielle des cellules β pancréatiques. Ceci s'est manifesté par une légère perte de poids accompagnée d'une hyperglycémie responsable de l'installation d'un environnement glucotoxique entretenant un état diabétique persistant. L'alkylation de l'ADN, la sur-sollicitation de PARP 1 induisant l'épuisement énergétique de la cellule ainsi que la génération d'un stress oxydatifs sont les principaux mécanismes incriminés.

En revanche, NADH a montré un très bon effet protecteur qu'on pourrait expliquer par son rôle en tant qu'antioxydant mais surtout par son effet énergétique permettant aux cellules β une meilleure gestion des réserves en NAD et en ATP pour la réparation des dommages causés à l'ADN. Les coupes histologiques révèlent des ilots de langerhans sains expliquant ainsi la normoglycémie notée tout au long de l'expérience.

Quand au gingembre, son pouvoir antioxydant permettrait aux cellules sous stress de faire face aux radicaux libres en améliorant l'activité des enzymes mitochondriales impliquées dans la défense contre le stress oxydatif, les effets hypoglycémiants et anti-inflammatoires sont d'une grande importance également. Comme pour le lot NADH, les pancréas du lot gingembre ne présentaient aucune anomalie.

Il ressort clairement de ce travail l'important rôle que pourrait jouer le NADH ainsi que le gingembre comme outils pour l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutique et/ou préventives dans la gestion du diabète sucré.

Cependant, une investigation plus approfondie est nécessaire pour élucider certaines zones d'ombres et expliquer les mécanismes sous-jacents, une étude sur une plus longue période, portant sur un plus grand nombre d'animaux et impliquant d'autres paramètres biochimiques permettrait une meilleure analyse. Il serait très intéressant d'étudier l'effet régénératif des deux produit et ce en exploitant les techniques d'immuno-histochimie.

Références Bibliographiques

Abdulrazaq NB, Cho MM, Win NN, Zaman R. 2012. Beneficial effects of ginger (

Zingiber officinale) on carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. . 1194–1201

Akhani SP, Vishwakarma SL, Goyal RK. 2004. Anti-diabetic activity of Zingiber officinale in streptozotocin-induced type I diabetic rats. . 101–5

Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. 2008. Some phytochemical , pharmacological and toxicological properties of ginger (Zingiber officinale Roscoe): A review of recent research. . 46:409–20

Alyce Y et all. 2013. Activité physique et diabète. . 37:2671

Atkinson MA, Eisenbarth GS. 2001. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*. 358(9277):221–29

Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. 2014. Type 1 diabetes. *Lancet*. 383(9911):69–82

Badoni R, Kumar D, Combrinck S, Viljoen AM. 2015. Gingerols and shogaols : Important nutraceutical principles from ginger. *Phytochemistry*

Barbara Young and all. 2014. *Wheater's Functional Histology A Text and Colour Atlas*

Bartley JP, Jacobs AL. 2000. Effects of drying on flavour compounds in Australian-grown ginger (Zingiber of ® cinale). . 215(October 1998):209–15

Belkina AC, Denis G V. 2010. Obesity genes and insulin resistance

Bhatkhandeb DS. 2016. EXTRACTION OF GINGER OIL USING DIFFERENT METHODS AND EFFECT OF SOLVENTS , TIME , TEMPERATURE TO MAXIMIZE. . 4–7

Birkmayer GD. 2009. NADH, the Biological Hydrogen: The Secret of Our Life Energy

Birkmayer GD, Pharmaceuticals B. 1993. NADH The Energizing Coenzyme. . 1–22

Birkmayer JG1, Vrecko C, Volc D BW. 1993. Nicotinamide adenine dinucleotide

(NADH)--a new therapeutic approach to Parkinson's disease. Comparison of oral and parenteral application

Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. 2010. interventions in type 1 diabetes. *Nature*. 464(7293):1293–1300

Bouamama S, Merzouk H, Medjdoub A, Saidi AM-, Merzouk SA, et al. 2017. Effects of exogenous vitamin A , C , E and NADH supplementation on proliferation , cytokines release , and cell redox status of lymphocytes from healthy aged subjects. . 1–39

Bushehri N, Jarrell ST, Lieberman S, Preuss HG. 1998. Oral reduced B-nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) affects blood pressure , lipid peroxidation , and lipid profile in hypertensive rats (SHR). . 180211:95–100

Capeau J. 2003. De Signalisation De L ' Insuline : Mécanismes Affectés Dans L ' Insulino- Résistance. *Med. Sci.* 19:834–39

CATHERINE KIM et all. 2002. Gestational Diabetes and the Incidence of Type 2 Diabetes. . 25(10):

Chen J, Zhang H, Timmermann BN. 2016. Anti-Inflammatory Effects of the Essential Oils of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) in Experimental Rheumatoid Arthritis. *Biochem. Pharmacol.*

Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. 2011. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nat. Rev. Endocrinol.* 8(4):228–36

Chentli F, Azzoug S, Amani Mel a, Elgradechi a. 2013. Diabetes mellitus and Ramadan in Algeria. *Indian J Endocrinol Metab*. 17:S295-8

Chrubasik S, Pittler MH, Roufogalis BD. 2006. Zingiberis rhizoma : A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. . 12(2005):684–701

Cl M, Saillants P. 2013. Pharmacothérapie du diabète de type 2. . 37:621–22

Cojocaru SI, Stan M, Stoian G DA. 2015. EFFECTS OF ZINGIBER OFFICINALE

ROSCOE FRESH EXTRACT ON AMELANOTIC MELANOMA AND NORMAL SKIN FIBROBLASTS. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*

Conover MS, Hibbing ME, Hultgren SJ. 2014. *Metabolism of Human Diseases. Organ Physiology and Pathophysiology*

Considerations O. 2003. Gestational Diabetes Mellitus. . 26:1–3

Cullmann M, Hilding A. 2011. Article : Epidemiology Alcohol consumption and risk of pre-diabetes and type 2 diabetes development in a Swedish population. . 441–52

Dabelea D, Hanson RL, Lindsay RS, Pettitt DJ, Imperatore G, et al. 2000. Intrauterine Exposure to Diabetes Conveys Risks for Type 2 Diabetes and Obesity A Study of Discordant Sibships. . (December 1999):2–5

Dabelea D, Mayer-davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, et al. 2014. Prevalence of Type 1 and Type 2 Diabetes Among Children and Adolescents From 2001 to 2009. . 80045(17):1778–86

Damasceno DC, Netto AO, Iessi IL, Gallego FQ, Corvino SB, et al. 2014. Streptozotocin-Induced Diabetes Models : Pathophysiological Mechanisms and Fetal Outcomes. . 2014:

De NBC, Professeur RC. 2005. Clinique et diagnostic du diabète de l ' enfant Diagnosis and characteristics of childhood type 1 diabetes. . 2:220–42

Defronzo RA. 2009. From the triumvirate to the ominous octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*. 58(4):773–95

DeFronzo RA, Abdul-Ghani MA. 2011. Preservation of ??-cell function: The key to diabetes prevention. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96(8):2354–66

DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, et al. 2015. Type 2 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Dis. Prim.* (July):15019

Demarin V, Podobnik SS, Storga-Tomic D KG. 2004. Treatment of Alzheimer's disease with stabilized oral nicotinamide adenine dinucleotide: a randomized, double-blind study. *Drugs Exp Clin Res*

Dimitriadis G, Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E. 2011. Insulin effects in muscle and adipose tissue. . 52–59

Esser N, Legrand-poels S, Piette J, Scheen J, Paquot N. 2014. Inflammation as a link between obesity , metabolic syndrome and type 2 diabetes. . 1–10

Fa-Quan Liu J-RZ. 2003. X-ray induced L02 cells damage rescued by new anti-oxidant. . 9(8):1781–85

Ferranti SD De, Boer IH De, Fonseca V, Fox CS, Golden SH, et al. 2014. *AHA / ADA Scientific Statement Type 1 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease A Scientific Statement From the American Heart Association and*

Fjeld CC, Birdsong WT, Goodman RH. 2003. Differential binding of NAD and NADH allows the transcriptional corepressor carboxyl-terminal binding protein to serve as a metabolic sensor

Forsyth LM, Preuss HG, Macdowell AL, Chiazze L, Birkmayer GD, Bellanti JA. 1999. Therapeutic effects of oral NADH on the symptoms of patients with chronic fatigue syndrome. . 82(2):185–91

Frank B et all. 2012. DIET, LIFESTYLE, AND THE RISK OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN WOMEN. . 345(11):790–97

Fu Z, Gilbert ER, Liu D. 2013. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr. Diabetes Rev.* 9(1):25–53

Gautier M. 2011. Le diabète de type 1 chez l'enfant et l'adolescent : conseils à l'officine

Giacosa A, Bombardelli E, Riva A, Porro GB, Rondanelli M. 2015. Can nausea and vomiting be treated with ginger extract ? . 1291–96

Gojka Roglic et all. 2016. GLOBAL REPORT ON DIABETES

Goud BJ et all. 2015. Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. . (1):

Hanim S, Habib M, Makpol IS, Aini IN, Hamid A, Srijit I. 2008. Ginger extract (Zingiber officinale) has anti-cancer and anti-inflammatory effects on ethionine-induced hepatoma rats. . 63(6):807–13

Hba U. 2013. Diabète de type 2 : données épidémiologiques et physiopathologiques, critères diagnostiques. . 9–12

Hentschke M, Fink H. 2002. Bioavailability of Reduced Nicotinamide-adenin-dinucleotide (NADH) in the Central Nervous System of the Anaesthetized Rat Measured by Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy. . 220–25

Houtkooper RH, Canto C, Wanders RJ, Auwerx J. 2015. The Secret Life of NAD : An Old Metabolite Controlling New Metabolic Signaling Pathways. . 31(April 2010):194–223

Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, et al. 2015. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centered Approach: Update to a position statement of the american diabetes association and the european association for the study of diabetes. *Diabetes Care*. 38(1):140–49

Jagetia G, Baliga M, Venkatesh P. 2004. Ginger (Zingiber officinale Rosc .), a Dietary Supplement , Protects Mice Against Radiation- Induced Lethality : Mechanism of Action. . 19(4)

Jean Claude et all. 2004. diabete de type 1 et l'autoimmunité.

Jellinger KA. 2000. No evidence for cognitive improvement from oral nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) in dementia Short Communication. . 1475–81

Jessica Citronberg et all. 2014. Effects of Ginger Supplementation on Cell Cycle Biomarkers in the Normal-Appearing Colonic Mucosa of Patients at Increased Risk for Colorectal Cancer: Results from a Pilot, Randomized, Controlled Trial. . 6(4):271–81

Jolad SD, Lantz RC, Chen GJ, Timmermann BN, Bates RB. 2005. Commercially processed dry ginger (Zingiber officinale): Composition and effects on LPS-stimulated PGE 2 production. . 66:1614–35

Jolly D, K VM. 2015. ANTIBACTERIAL EFFECT OF GARLIC AND GINGER EXTRACTS ON Escherichia coli and Listeria monocytogenes. . 111–18

Karin M et all. 2002. Diet and Exercise Among Adults With type 2 Diabetes. . 25(10):

Koch W, Kukula-Koch W, Marzec Z, Kasperek E, Wyszogrodzka-Koma L, et al. 2017. Application of chromatographic and spectroscopic methods towards the quality assessment of ginger (Zingiber officinale) rhizomes from ecological plantations. *Int. J. Mol. Sci.* 18(2):1–15

Krejˇ A. 2012. Early Career Research Award Metabolic sensors and their interplay with cell. . 311–23

Kuhn W, Miiller T, Danielczik S, Gerstner A, Hiicker R, et al. 1996. Parenteral application of NADH in Parkinson's disease: clinical improvement partially due to stimulation of endogenous levodopa biosynthesis. . 1187–93

L'OMS S officiel de. 2016. Diabète: profils des pays en 2016

Lamri L, Gripiotis E, Ferrario A. 2014. Diabetes in Algeria and challenges for health policy : a literature review of prevalence , cost , management and outcomes of diabetes and its complications. *Global. Health*. 10(1):1–14

Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. . 216–26

Ling H, Yang H, Tan S, Chui W, Chew E. 2010. 6-Shogaol , an active constituent of ginger , inhibits breast cancer cell expression via blockade of nuclear factor- k B activation

Lorenzati B, Zucco C, Miglietta S, Lamberti F, Bruno G. 2010. Oral Hypoglycemic Drugs: Pathophysiological Basis of Their Mechanism of Action. . 3005–20

Lotfi R, Birkmayer JG, Ghouini A. 2016. Metabolic and Anthropometric Effects of NADH RAPID ENERGY ® in Diabetic Type 2. . 6:280–85

Louise M, Ahui B, Champy P, Ramadan A, Van LP, et al. 2008. International Immunopharmacology Ginger prevents Th2-mediated immune responses in a mouse model of airway in fl ammation. . 8:1626–32

Madkor HR, Mansour SW, Ramadan G. 2011. Modulatory effects of garlic , ginger , turmeric and their mixture on hyperglycaemia , dyslipidaemia and oxidative stress in streptozotocin – nicotinamide diabetic rats. . 1210–17

Malu SP, Obochi GO, Tawo EN, Nyong BE. 2009. ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND MEDICINAL PROPERTIES OF GINGER (zingiber officinale). . 15(3):365–68

Manjeshwar Shrinath Baliga et all. 2012. Radioprotective effects of Zingiber officinale Roscoe (Ginger): past , present

Manson JE, Ajani UA, Liu S, Nathan DM, Hennekens CH. A Prospective Study of Cigarette Smoking and the Incidence of Diabetes Mellitus among US Male Physicians. . 9343(0):

Maria L et all. 2004. Comparison of oral NADH Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) versus Conventional Therapy for Chronic Fatigue Syndrome

Mariama S et al. 2015. 6-Gingerol-Rich Fraction from Zingiber officinale Prevents Hematotoxicity and Oxidative Damage in Kidney and Liver of Rats Exposed to Carbendazim 6-Gingerol-Rich Fraction from Zingiber officinale Prevents Hematotoxicity and Oxidative Damage in Kidney and. . 211(December):

Marx W, Ried K, Mccarthy AL, Vitetta L, Sali A, Isenring E. 2015. Ginger — Mechanism of Action in Chemotherapy-induced Nausea and Vomiting : A Review. . (April):37–41

Measurement P. 1983. The active part of the [6] -gingerol molecule in mutagenesis. . 122:87–94

Mero A, Raitanen R, Birkmayer J, Komi P. 2008. Effects of nicotinamide adenine dinucleotide hydride on physical and mental performance. . 26(3):311–19

Millar WJ, Kue T. 2003. Qu'est-ce que le diabète?). . 14:

Montazeri AS, Hamidzadeh A, Raei M, Mohammadiun M. 2013. Evaluation of Oral Ginger Efficacy against Postoperative Nausea and Vomit- ing : A Randomized Double - Blinded Clinical Trial. . 15(12):3–5

Mozaffari-khosravi H, Talaei B. 2014. The effect of ginger powder supplementation on insulin resistance and glycemic indices in patients with type 2 diabetes : A randomized , double-blind , placebo-controlled trial. *Complement. Ther. Med.*

Nabeel M, Hassan A, Afridi MB, Houghton PJ. 2005. Cardiovascular effects of ginger aqueous extract and its phenolic constituents are mediated through multiple pathways. . 43:234–41

Nagabhushan M, Bhide S V. 1987. Mutagenicity of gingerol ans shogaol. . 36:221–33

Nakazawa T, Ohsawa K. 2002. Metabolism of [6] -gingerol in rats. . 70:2165–75

Nam Han Cho et all. 2013. *ATLAS Du DIABÈTE de La FID*

Nam Han Cho et all. 2015. *IDF Diabetes Atlas Seventh Edition*

Nicoll R, Henein MY. 2007. Ginger (Zingiber officinale Roscoe): A hot remedy for cardiovascular disease ? *Int. J. Cardiol.* 131(3):408–9

Nikiforov A, Kulikova V, Ziegler M. 2015. The human NAD metabolome : Functions , metabolism and compartmentalization. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 0(0):1–14

Amercan Associaton of Dzbetes. 2014. Diagnosis and Classi fi cation of Diabetes Mellitus. . 37(January):81–90

Olek RA, Ziolkowski W, Kaczor JJ, Greci L, Popinigis J, Antosiewicz J. 2004. Antioxidant Activity of NADH and Its Analogue - An In Vitro Study. . 37(4):416–21

P.N. Ravindran and K. Nirmal Babu. 2005. *Ginger The Genus Zingiber*

Packer L, Ph D, Cadenas E, Ph D. 2008. *HARBAL MEDICINE Biomolecular Ans Clinical Aspects*

Papers JBC, Notkins AL. 2002. Immunologic and Genetic Factors in Type 1 Diabetes *. . 43545–48

Paula D. Dworatzek et all. 2013. Thérapie nutritionnelle Comité d ’ experts des Lignes directrices de pratique clinique de l ’ Association canadienne du diabète. . 37:

Portnoi G, Chng L, Karimi-tabesh L, Koren G, Tan MP, Einarson A. Prospective comparative study of the safety and effectiveness of ginger for the treatment of

nausea and vomiting in pregnancy. . 1374–77

Press EB, Science E. 1982. Mutagen and anti-mutagen in ginger, Zingiber Zingiber officinale. . 103:119–26

Procedures S. 1996. EXE RCISE A ND INSULIN SENSITIV IT Y INCREASED GLUCOSE TRANSPORT – PHOSPHORYLATION AND MUSCLE GLYCOGEN SYNTHESIS AFTER EXERCISE TRAINING IN INSULIN-RESISTANT. . 1357–62

Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, Berglund G, Altshuler D, et al. 2008. Clinical Risk Factors, DNA Variants, and the Development of Type 2 Diabetes

Raccah. 2004. Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré Epidemiology and physiopathology of degenerative complications of diabetes. . 1:29–42

Ramudu K, Mallikarjuna K, Nishanth K, Hua C. 2011. Protective effect of dietary ginger on antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues. *Food Chem.* 124(4):1436–42

Rani MP, Padmakumari KP, Sankarikutty B, Cherian OL, Raghu KG, et al. 2011. Inhibitory potential of ginger extracts against enzymes linked to type 2 diabetes , inflammation and induced oxidative stress. . 7486(December 2016):

Ratner F. 2003. Type 1 Diabetes Mellitus. . 24(9):291–300

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

Richardson C, Hernandez C, Dornan J. 2013. Pharmacothérapie du diabète de type 1 Comité d ’ experts des Lignes directrices de pratique clinique de l ’ Association canadienne du diabète. . 37:422–27

Rubila S, Ranganathan TV. 2016. Protective Effect of Zingiber officinale Against Dalton ’ s Lymphoma Ascites Tumour by Regulating Inflammatory Mediator and Cytokines. *Appl. Biochem. Biotechnol.*

Rutter GA, Hodson DJ, Martinez-sanchez A. 2015. the control of insulin secretion. .

(March):

Samuel VT, Shulman GI. 2016. The pathogenesis of insulin resistance: Integrating signaling pathways and substrate flux. *J. Clin. Invest.* 126(1):12–22

Schaffer P, Lang P, Nadlinger K, George D, Pelzmann B, et al. 2003. NADH supplementation decreases pinacidil-primed I K (ATP) in ventricular cardiomyocytes by increasing intracellular ATP. . 749–54

Schickert R, Fink H. 2004. Antidepressant-like effect of nicotinamide adenine dinucleotide in the forced swim test in rats. . 77:303–7

Sherwood L. 2010. *Human Physiology: From Cells to System*, Vol. 7th Editio

Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. 2006. Review series Inflammation and insulin resistance. . 116(7):1793–1801

Sirirat A et al. 2006. Effectiveness of Ginger for Prevention of Nausea and Vomiting after Gynecological Laparoscopy. . 89(12):6–8

Sloth M, Sigwart K. 2000. The safety of a ginger extract in the rat. . 73:513–20

Sloth M, Sigwart K. 2001. Investigation of the teratogenic potential of a Zingiber officinale extract in the rat. . 15:75–80

Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A. 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (Zingiber officinale). . 102:764–70

Sysa-j A. 2003. Topical application of NADH for the treatment of rosacea and contact dermatitis. . 61–63

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

Vinay Kumar et all. 2015. *Pathologic Basis of Disease*

Weng C, Chou C, Ho C, Yen G. 2012. Molecular mechanism inhibiting human hepatocarcinoma cell invasion by 6-shogaol and 6-gingerol. . 1–11

West NA. 2013. Exposure to Maternal Diabetes in Utero and DNA Methylation Patterns in the Offspring. . 1–9

Wilkinson JM. 2000. Effect of ginger tea on the fetal development of Sprague-Dawley rats. . 14:507–12

William T. et all. 2016. STANDARDS OF MEDICAL CARE Standards of Medical Care in Diabetes

Wu J, Yan L-J. 2015. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. . 181–88

Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. 2014. Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. .

Yiming Li et al. 2012. Gingerols of Zingiber officinale Enhance Glucose Uptake by Increasing Cell Surface GLUT4 in Cultured L6 Myotubes. . 1549–55

Ying W. 2006. NAD+ and NADH in cellular functions and cell death. . 3129–48

Zhou XH, Qiao Q, Zethelius B, Pyörälä K. 2010. Diabetes, prediabetes and cancer mortality. . 1867–76

Zick SM, Djuric Z, Ruffin MT, Zick SM, Djuric Z, et al. 2008. Pharmacokinetics of 6-Gingerol, 8-Gingerol, 10-Gingerol, and 6-Shogaol and Conjugate Metabolites in Healthy Human Subjects. . 1930–36

Zick SM, Turgeon DK, Ren J, Ruf MT, Wright BD, et al. 2014. Pilot Clinical Study of the Effects of Ginger Root Extract on Eicosanoids in Colonic Mucosa of Subjects at Increased Risk for Colorectal Cancer.