



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

N° d'ordre :111/Mag/2014

N° de série :03/BA/2014

Mémoire

En vue de l'Obtention du Diplôme:

Magister en Biologie Animale

Option: Biologie et Physiologie Moléculaire

Présenté par : IBTISSEM BOUHOUCHE

Thème:

Etude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins.

Soutenu publiquement le : 18/ 11 /2014 devant le jury composé de :

Président : Y. NECIB Prof. Université Constantine 1

Rapporteur : A. BOUDAH M.C.A. Université Constantine 1

Examineurs : S.TEBIBEL Prof. Université Constantine 1

T. NOUADRI M. C.A. Université Constantine 1

Année universitaire : 2013-2014

Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Je remercie Mr BOUDAH A. Maître de conférences à l'université Constantine 3 d'avoir accepté d'encadrer ma recherche et de m'avoir guidée dans la conduite de ce travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions : Monsieur Necib Y., Professeur à l'Université de Constantine 1., pour m'avoir fait l'honneur d'assurer la présidence de ce jury.

Monsieur Nouadri T., Maître de Conférences à l'Université de Constantine.1

Madame Tebibel S., Professeur à l'Université de Constantine1 , pour avoir accepté d'être les examinateurs de ce travail.

Je remercie chaleureusement Dr Zekri H , pour leur aide dans la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.

Je remercie ma famille et surtout mes parents pour leur soutien moral, leurs encouragements et leurs patiences durant les étapes difficiles de ce travail

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier Zettal Housna pour ses précieux conseils et sa grande disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à mes chers parents Abdesselam et Ouarda
pour leur aide et encouragement tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*A mon frère Mohamed, et mes soeurs Hanane, Zineb et Ahlem
pour le soutien qu'ils m'ont apporté.*

*A mes amis ;
Et à toute la promotion de post graduation 2011/2012 biologie et physiologie moléculaire en
leur souhaitant une bonne continuation dans leurs travaux.*

Avec toute mon affection et ma reconnaissance

Liste des abréviations

4-AAP : Amino-4Phénazone.

ADA: Association Américaine du Diabète .

ADN: Acide désoxyribonucléique .

ADP: Adénosine Di Phosphate .

ALX: Alloxane.

ATP: Adénosine Tri Phosphate.

CE : Cholestérol-estérase.

CHOD : Cholésterol-Oxydase .

DR3: Death Receptor 3 .

DR4: Death Receptor 4.

DT 1: Diabète Type 1.

DT2: Diabète Type 2.

GLUT 2: Glucose Transporter 2.

GK : Glycerol Kinase.

GPO : Glycérol Phosphate-Oxydase.

G6PDH : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase .

HK : Hexokinase .

HLA: Human Leukocyte Antigen.

HO•: Radical hydroxyle.

H2O2: Peroxyde d'hydrogène.

IR: Insulinorésistance.

LPL : Lipoprotéine Lipase.

MODY: Maturity Diabetes of the Young.

Liste des abréviations

NAD⁺: Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé.

NADPH,H⁺: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit.

NO: Oxyde nitrique.

NOD: Non Obese Diabetic.

NOS: NO synthase.

O₂^{•-}: Anion superoxyde.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

ROS: Reactive Oxygen Species.

STZ: Streptozocine.

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique du pancréas	3
Figure 2 : Schéma représentant les différences entre la cytoarchitecture des îlots de Langerhans chez le rat et chez l'homme	6
Figure 3 : Synthèse d'insuline et transport intracellulaire.....	8
Figure 4 : Structure primaire de l'insuline humaine.....	9
Figure 5 : Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose.....	10
Figure 6 : Tissus cibles de l'insuline.....	12
Figure 7 : Interaction entre génétique, facteur environnementaux et système immunitaire lors de destruction auto-immune des cellules β	17
Figure 8 : Interaction entre facteur génétiques et facteur environnementaux dans la patogénèse du diabète de type 2	19
Figure 9 : Formules chimiques de l'alloxane, l'acide dialurique et butyl-alloxane.....	22
Figure 10 : Réaction redox cyclables entre l'acide dialurique et l'alloxane	25
Figure 11 : Le mécanisme de la production d'espèces réactives de l'oxygène induit par l'alloxane dans les cellules β de pancréas de rat	26
Figure 12 : Le mécanisme de la streptozocine induites dans les cellules β du pancréas de rat	30
Figure 13 : Représentation schématique de processus intracellulaires qui contribue à la toxicité de streptozocine	31
Figure 14 : Représentation schématique des effets toxique d'alloxane et de STZ analogues de glucose dans les cellules β qui produisent diabete chimique.....	33
Figure 15 : Variation du poids corporel moyen (g) des 5 lots de rat en fonction du temps....	46
Figure 16 : Variation de la glycémie (g/l) des 5 lots de rat en fonction du temps.....	47
Figure 17 : Variation de l'insulinémie (μ u/ml) après l'injection chez les 5 lots	49
Figure 18 : Variation de la cholestérolémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots	50
Figure 19 : Variation de la triglycérémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots	51
Figure 20 : Variation de la protéinémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots	52
Figure 21 : Variation du volume urinaires (ml) des 5 lots de rats en fonction du temps.....	53
Figure 22 : Variation de consommation d'eau (ml) des 5 lots de rats en fonction du temps	53

Figure 23 : Variation de consommation de nourriture (g) des 5 lots de rats en fonction du temps.....	54
Figure 24 : Tissu pancréatique du rat témoin (coloration par l'hématoxyline +éosine) (X400s).....	55
Figure 25 : Tissu pancréatique du rat injecté par 150 mg/kg d'alloxane (coloration l'hématoxyline +éosine) (x400S)	56
Figure 26 : Tissu pancréatique du rat injecté par 150 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	56
Figure 27 : Tissu pancréatique du rat injecté par 200 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x100S)	57
Figure 28: Tissu pancréatique du rat injecté par 200 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	57
Figure 29 : Tissu pancréatique du rat injecté par 200 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S).....	58
Figure 30 : Tissu pancréatique du rat injecté par 250 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x100S)	59
Figure 31 : Tissu pancréatique du rat injecté par 250 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	59
Figure 32 : Tissu pancréatique du rat injecté par 250 mg/kg d'alloxane (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	60
Figure 33: Tissu pancréatique du rat injecté par 60 mg/kg de streptozocine (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	61
Figure 34: Tissu pancréatique du rat injecté par 60 mg/kg de streptozocine (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	61
Figure 35: Tissu pancréatique du rat injecté par 60 mg/kg de streptozocine (coloration par l'hématoxyline +éosine) (x400S)	62

Liste de tableaux

Tableau 1 : Propriétés chimiques de l'alloxane	22
Tableau 2 : Propriétés chimiques de streptozocine	28
Tableau 3 : Caractéristiques de l'alloxane et de la stz	32
Tableau 4 : Constitution des lots des rats	35
Tableau 5 : Les doses d'alloxane injectés.....	37
Tableau 6 : Evolution du poids corporel moyen en grammes des 5 lots	45
Tableau 7 : Evolution de la glycémie en g/l des rats des 5 lots.....	47
Tableau 8 : Variation de l'insulinémie (μ u/ml) après l'injection chez les 5 lots	48
Tableau 9 : Variation de la cholestérolémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots.....	49
Tableau 10 : Variation de la triglycérémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots	50
Tableau 11 : Variation de la protéinémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots	51
Tableau 12 : Effet de l'alloxane et la stz sur les paramètres métaboliques.....	52

TABLE DES MATIERES

Introduction

Introduction1

Revue bibliographique

I-Etude du diabète 3

 I-1-Le pancréas3

 I-1-1- Le pancréas exocrine4

 I-1-2-Le pancréas endocrine 4

 I-1-2-1-Histologie4

 I-1-2-2-Particularités animales5

 I-2-Physiologie de la cellule β et sécrétion d'insuline7

 I-2-1- Insuline.....7

 I-2-2- Définition et biosynthèse 7

 I-2-3- Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose 9

 I-2-4- Effet de l'insuline sur les différents métabolismes.....10

 I-2-4-1- Métabolisme glucidique.....10

 I-2-4-2- Métabolisme lipidique.....11

 I-2-4-3- Métabolisme protéique.....11

 I-3-Le diabète sucré 13

 I-3-1- Classification13

 I-4- Le diabète de type 114

 I-4-1-Physiopathologie15

 I-4-1-1-Facteur génétique15

 I-4-1-2-Facteur immunitaires15

 I-4-1-3-Facteur environnementaux16

 I-5-Le diabetes de type 218

 I-5-1-Physiopathologie du DT2.....18

I-5-1-1-Facteur génétiques.....	18
I-5-1-2-Facteurs environnementaux.....	18
II- Définition du diabète expérimental	20
II-1-Diabète induit par l'alloxane	21
II-1-1-Définition.....	21
II-1-2-Historique.....	21
II-1-3-Mode d'action	23
II-2-Diabète induit par la strptozocine	27
II-2-1-Définition.....	27
II-2-2-Historique	27
II-2-3-Mode d'action	28

Matériel et méthodes

1-Matériel	34
1-1-Matériel biologique.....	34
A-choix de l'animal.....	34
B-condition d'élevage	34
1-2-Matériel chimique	35
2-Méthodes	35
A-Protocole expérimental	35
2-1-Constitution des lots des rats	35
2-2-Pesée	36
2-3-Dosage de glucose	36
2-3-1- Prélèvement sanguins	36
2-3-2- Fonctionnement du lecteur accu chek performa	36
2-3-3- Mesures glycémiques	36
2-4-Induction du diabète sucré expérimental chez les rats	37
2-4-1-Le diabète induit par l'alloxane	37
2-4-2-Le diabète induit par la streptozocine.....	37
B- Méthode analytique.....	38
2-5-Prélèvement de sang chez le rat.....	38

Table des matières

2-5-1-Dosage du Glucose	38
2-5-2-Dosage du cholestérol total.....	38
2-5-3-Dosage des triglycérides.....	39
2-5-4-Dosage des protéines totales.....	39
2-5-5-Dosage de l'insuline	40
C-Analyse histologique.....	40
2-6-1-Dissection des rats.....	40
2-6-2-Prélèvements des organes.....	40
2-6-3-Traitement des organes	41
A-Fixation des organes.....	41
B-Lavage, déshydratation.....	41
C-Inclusion	41
D-Coupe des organes.....	42
E-Coloration.....	43
F-Déshydratation.....	43
G-Montage.....	44
2-6-4-Observation au microscope	44
D-Analyse statistique.....	44

Résultats

1- Evolution du poids corporel	45
2- Suivi de la glycémie des animaux	47
3- Etude des paramètres sanguins	48
3-1-L'insulinémie	48
3-2-Le cholestérol total	49
3-3-Triglycerides.....	50
3-4-Protéines totales	51
4-Effets de l'alloxane et la stz sur les paramètres métaboliques	52
4-1-Volumes urinaires	53
4-2-Consommation d'eau	53
4-3-Consommation de nourriture	54
5-Etude histologique.....	55

Table des matières

5-1-Lot témoin	55
5-2-Etude de l'effet d'alloxane sur le pancréas endocrine.....	56
5-2-1-Effet de 150mg/kg d'alloxane	56
5-2-2-effet de 200mg/kg d'alloxane	57
5-2-3-effet de 250mg/kg d'alloxane	59
5-3- Etude de l'effet de streptozocine sur le pancréas endocrine	61

Discussion

Discussion.....	63
-----------------	----

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives.....	74
---------------------------------	----

Références bibliographiques

Références bibliographiques.....	75
----------------------------------	----

Annexes

Annexes	
---------	--

Introduction

Le diabète sucré est une maladie chronique endocrinienne, est devenu un problème de santé publique [1], des données récentes révèlent qu'il y'a environ plus de 150 millions de diabétiques dans le monde et que leur nombre pourrait doubler d'ici 2025 [2].

C'est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie résultante d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline, ou de ces deux anomalies associées [3].

L'hyperglycémie chronique du diabète est associée à long terme des dommages, un dysfonctionnement et finalement l'incapacité des organes, en particulier les yeux, les reins, les nerfs et le système cardiovasculaire [3].

En général, le diabète sucré se développe en réponse à une altération des cellules β des îlots du pancréas sécrétant de l'insuline. Cette altération peut provenir d'un diabète sucré essentiel pour lequel les cellules β des îlots sont détruites par le système auto-immunitaire ou en tant que réponse diabétique secondaire à d'autres maladies essentielles telles qu'une maladie pancréatique, à des excès d'hormones anti-insuline, à des états provoqués par des médicaments ou à des anomalies génétiques autres que celles associés au diabète essentiel. Dans chaque cas, les cellules β des îlots ne peuvent pas produire l'insuline en quantité suffisante pour transporter de manière adéquate le glucose sanguin du sang vers les tissus sensibles à l'insuline [4].

Le diabète expérimental sucré a été induit chez les animaux de laboratoire par plusieurs méthodes : chimique, chirurgicale ou génétique (immunologique). La plupart des expériences sur le diabète est effectuée chez les rongeurs, bien que certaines études sont encore effectuées sur les plus grands mammifères [5] (les lapins, les singes, les chats, les chiens ...).

Deux agents sont couramment utilisés pour induire une pancréatectomie chimique, tous deux des analogues du glucose : l'alloxane (ALX), dérivé pyrimidique (synthétisé en 1938) et la streptozocine (STZ), agent antimicrobien et alkylant. Les propriétés chimiques de ces composés sont cruciales pour leur diabétogénicité. Tous deux sont hydrophiles et ne franchissent pas la membrane plasmique. Ils empruntent le transporteur du glucose GLUT2 de la membrane des cellules bêta du pancréas qui les transporte dans le cytosol. Ainsi, les cellules bêta n'exprimant pas ce transporteur sont résistantes à la STZ et à l'ALX [6].

Les effets cytotoxiques de l'ALX sont dus à son produit de réaction réduit, l'acide dialurique, et à la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) (génération de radicaux superoxydes, peroxydes d'hydrogène et hydroxyles [6].

La STZ exerce sa toxicité grâce à une activité d'alkylation de l'ADN. La glycosylation des protéines est un facteur délétère supplémentaire. L'ADP ribosylation est alors sur-stimulée, ce qui entraîne une baisse de NAD⁺ cellulaire, du stock d'ATP et conduit à la mort des cellules bêta et de toutes les cellules porteuses du transporteur GLUT2 (cellules du rein et du foie) [6].

La mise au point de ces modèles a permis une meilleure compréhension de la physiopathologie et de l'évolution naturelle du diabète, dans le but unique d'une amélioration de nouvelles thérapies antidiabétique.

L'objectif principal de notre travail est de clarifier l'effet comparative de l'alloxane et de la streptozocine sur quelques paramètres biochimiques (la glycémie, l'insulinémie, le cholestérol total, les triglycérides, les protéines totales) et sur la structure histologique du pancréas endocrine chez les rats blancs a un diabète expérimental pendant (2-3 jours après injection).

*Revue
Bibliographiques*

I – Etude du diabète

Comme présenté en introduction, le diabète sucré résulte d'un dysfonctionnement partiel ou total de l'hormone antidiabétique l'insuline sécrétée en totalité par le pancréas.

I -1- Le pancréas

Le pancréas est une glande abdominale, annexée au tube digestif, appartenant à la cavité péritonéale située derrière l'estomac, devant et au-dessus des reins. Chez l'homme, le pancréas avoisine les 15 cm de long pour une masse allant de 70 à 100 g. C'est la deuxième glande la plus grosse en volume après le foie. Le pancréas comporte deux parties distinctes tant au niveau anatomique que fonctionnel : une partie exocrine et une partie endocrine [7].

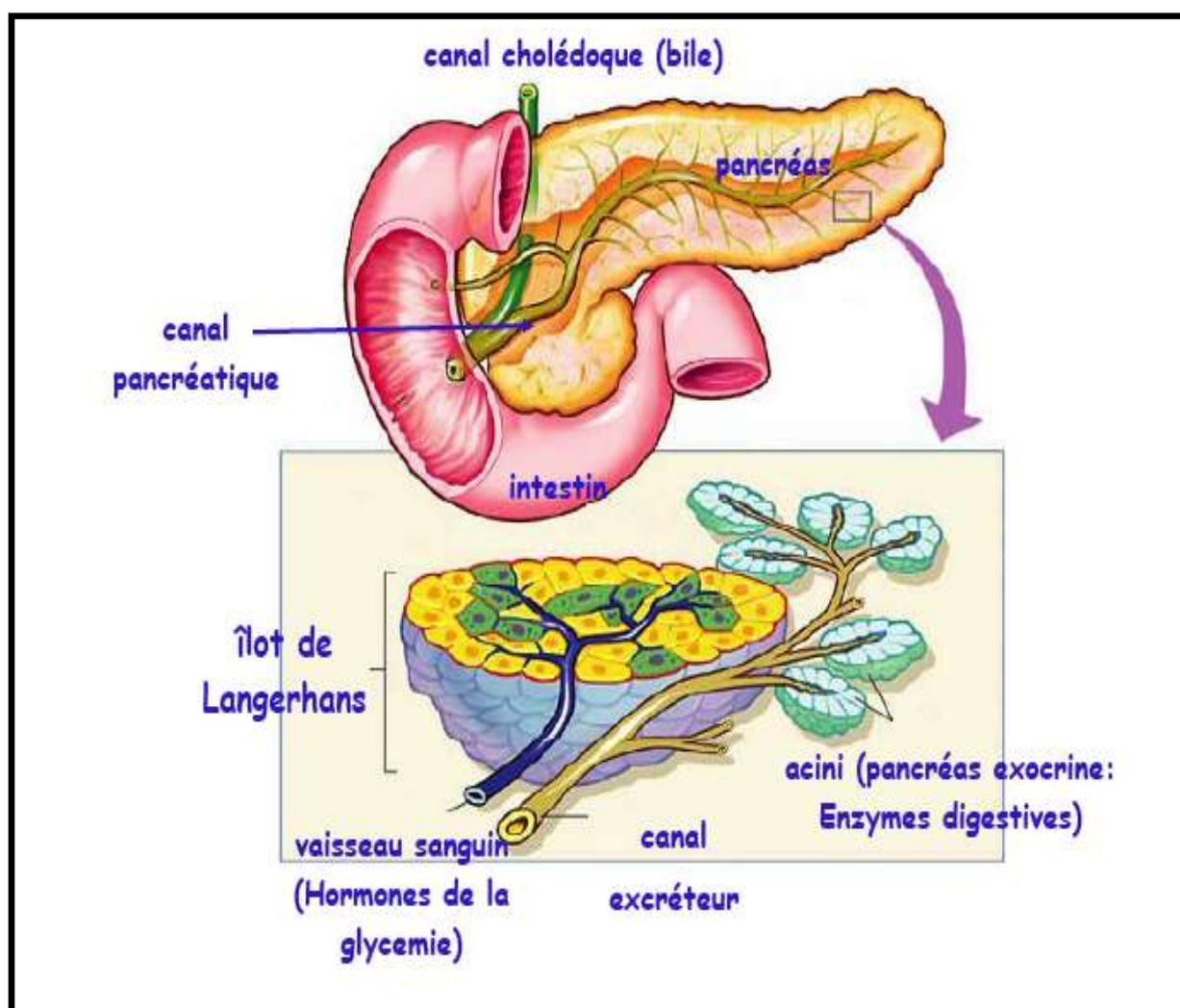


Figure 1 : Représentation schématique du pancréas [8].

I -1-1- Le pancréas exocrine

Le pancréas exocrine est l'organe qui sécrète la grande quantité d'enzymes par rapport à sa masse ; ces enzymes responsables de la dégradation des aliments en éléments simples (oligopeptides; oligosaccharides et monoglycérides) qui peuvent être digérés et absorbés par l'intestin [9].

La suppression de cette fonction entraîne des désordres graves de la digestion et de l'absorption intestinale, le pancréas exocrine représente 90% de la masse parenchymateuse comme les glandes salivaires ; il est composé de cellules glandulaires groupées en acini à l'intérieur des lobules. Ces cellules zymogènes responsables de sécrétion des enzymes pancréatiques [9].

Le produit de sécrétion est déversé dans des canaux excréteurs (cellules canalaire responsables de la majeure partie de sécrétion hydro électrolytiques du pancréas) dont le principal est celui de Wirsung qui se jette dans le duodénum [9].

I-1-2-Le pancréas endocrine

LANGERHANS a décrit les îlots pour la première fois en 1869 :c'est un amas de cellules polygonales d'aspect homogène. Mais c'est l'histologiste français LAGUESSE qui en a montré le rôle endocrine (1893) [10].

I-1-2-1-Histologie

Le rôle endocrine du pancréas est dévolu à des amas de cellules disséminés dans l'organe, les îlots de Langerhans [11].

Chaque îlots, de forme plus ou moins sphérique, mesure environ 200 à 400 µm de diamètre et contient plusieurs milliers de cellules. Le pancréas contient environ un million d'îlots dispersés dans toute la glande, mais plus nombreux dans la queue de l'organe [11].

Les îlots de Langerhans sont entourés d'une fine enveloppe de réticuline qui ne les sépare qu'à peine des acini. Leur structure est celle d'une glande endocrine trabéculée . Ils sont très richement vascularisés par un réseau capillaire très dense [11].

Les colorations traditionnelles montrent de discrètes différences de taille entre les cellules, dont certaines contiennent des granulations basophiles (cellules B) et les autres des granulations acidophiles (cellules A) [11].

La microscopie électronique et surtout l'immunocytochimie révèlent l'existence de quatre types cellulaires dans les îlots de Langerhans : les cellules A, B, D et PP [11].

- **Les cellules A :** qui constituent environ 20% de la population, sont grandes et contiennent des granulations α insolubles dans l'alcool . En microscopie électronique, il s'agit de vésicules de 230nm de diamètre contenant un volumineux granule dense, les cellules A sont situées surtout en périphérie des îlots [11].
- **Les cellules B :** sont les plus nombreuses (75 %), plus petites, elles occupent le centre de l'îlot. Leurs granulations β sont solubles dans l'alcool et en microscopie électronique, apparaissent comme des vésicules de 270nm de diamètre contenant des granulations cristallines irrégulières [11].
- **Les cellules D :** peu fréquentes (5 %), contiennent de grosses granulations (330nm) peu denses, encloses dans une membrane [11].
- **Les cellules PP :** récemment mises en évidence par immunocytochimie, sont très mal connues. Leurs vacuoles sont de petites tailles (150nm) et ont un contenu dense. Elles sont responsables de la sécrétion du peptide pancréatique [11].

I -1-2-2- Particularités animales

Rappelons que les îlots de langerhans du rat sont assez différents du type habituel chez les mammifères (homme, cobaye, ect ...) [12].

Ils sont relativement peu nombreux, de forme presque toujours ovalaire et nettement délimitées, ils sont petits, le grand diamètre des plus volumineux n'excédant pas 250 μ (500-600 μ chez le cobaye) et possèdent un riche réseau capillaire) [12].

Selon les espèces, l'organisation des cellules au sein de l'îlots diffère. Ainsi chez les rongeurs, les cellules β sont plutôt regroupées au centre des îlots et sont entourées d'une couche hétérogène de cellules α , δ et PP, suggérant une organisation de l'îlots en sous-compartiments. En comparaison, chez l'homme l'organisation semble plus aléatoire, les cellules observées par immunofluorescence semblent dispersées le long des vaisseaux sanguins. Cette organisation cellulaire particulière pourrait être reliée à des différences spécifiques à chaque espèce [13].

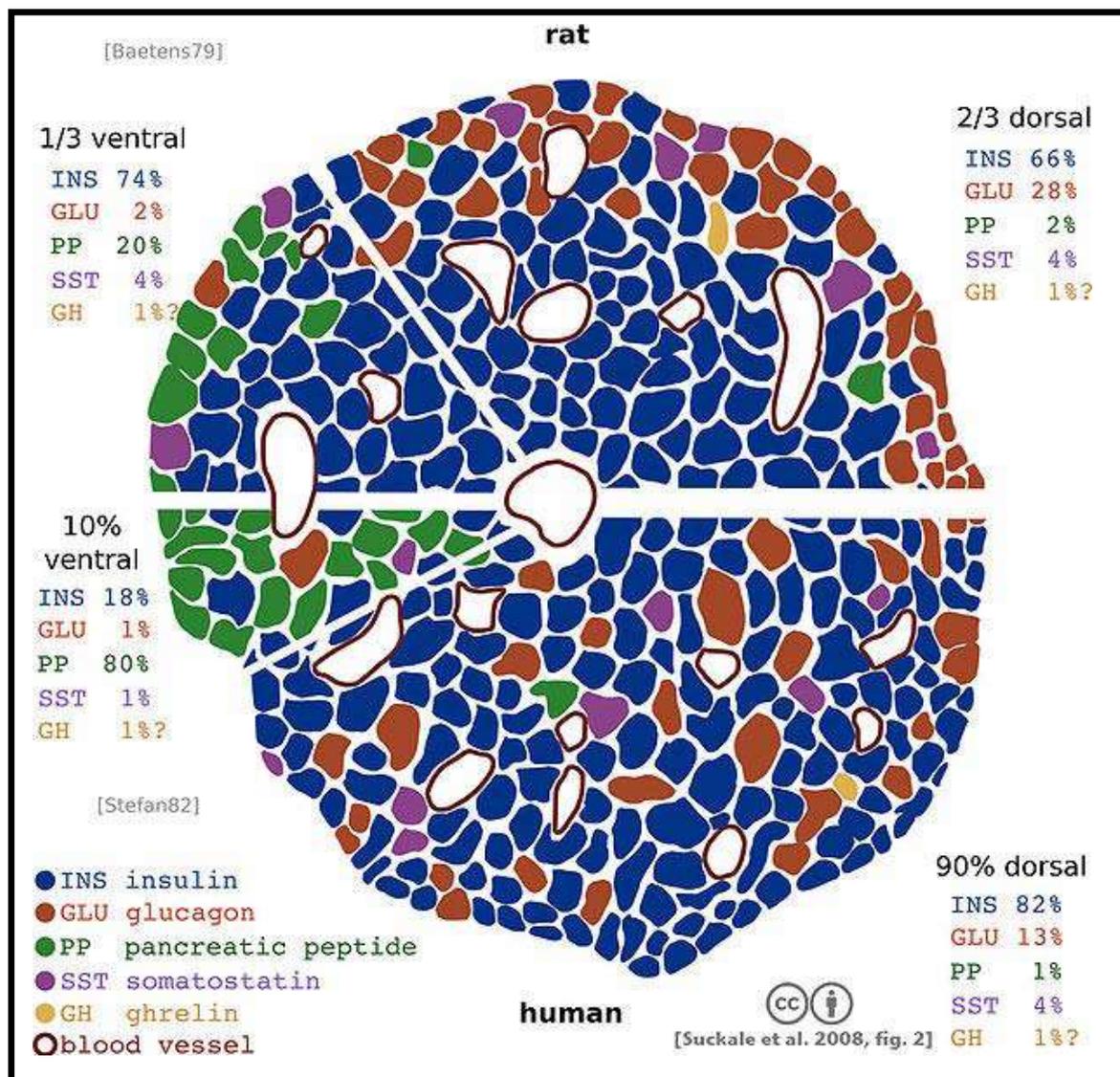


Figure 2 : Schéma représentant les différences entre la cytoarchitecture des îlots de Langerhans chez le rat et chez l’homme [7].

I-2-Physiologie de la cellule β et sécrétion d'insuline

I-2-1- Insuline

L'insuline est produite dans les cellules β qui constituent 75% des îlots de Langerhans du pancréas [14].

C'est la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme, elle favorise la disparition du glucose du milieu extracellulaire ainsi que sa captation par les tissus.

Les perturbations de sa sécrétion entraînent une intolérance aux glucides et conduit au diabète [15].

I-2- 2-Définition et biosynthèse

C'est un polypeptide hormonal, formé par deux chaînes peptidiques A (acide) et B (basique) réunies par des ponts disulfures et secrété par les cellules β des îlots de Langerhans (pancréas endocrinien) sous forme de pré-pro-insuline. Ce précurseur est une molécule de 98 AA. Par élimination des 16 AA du peptide signal en position N-terminal, le précurseur se transforme en pro-insuline (PM = 12000) qui est également une longue chaîne aminoacidique comprenant trois parties de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale : une chaîne de 30 AA dites de chaîne B ; un peptide de 31AA ou peptides de connexion (peptide C) et une chaîne A. Par coupure enzymatique le peptide C est détaché de l'ensemble et les deux chaînes sont reliées par deux ponts sulfures, ce qui constitue la molécule d'insuline (PM = 6000) [15].

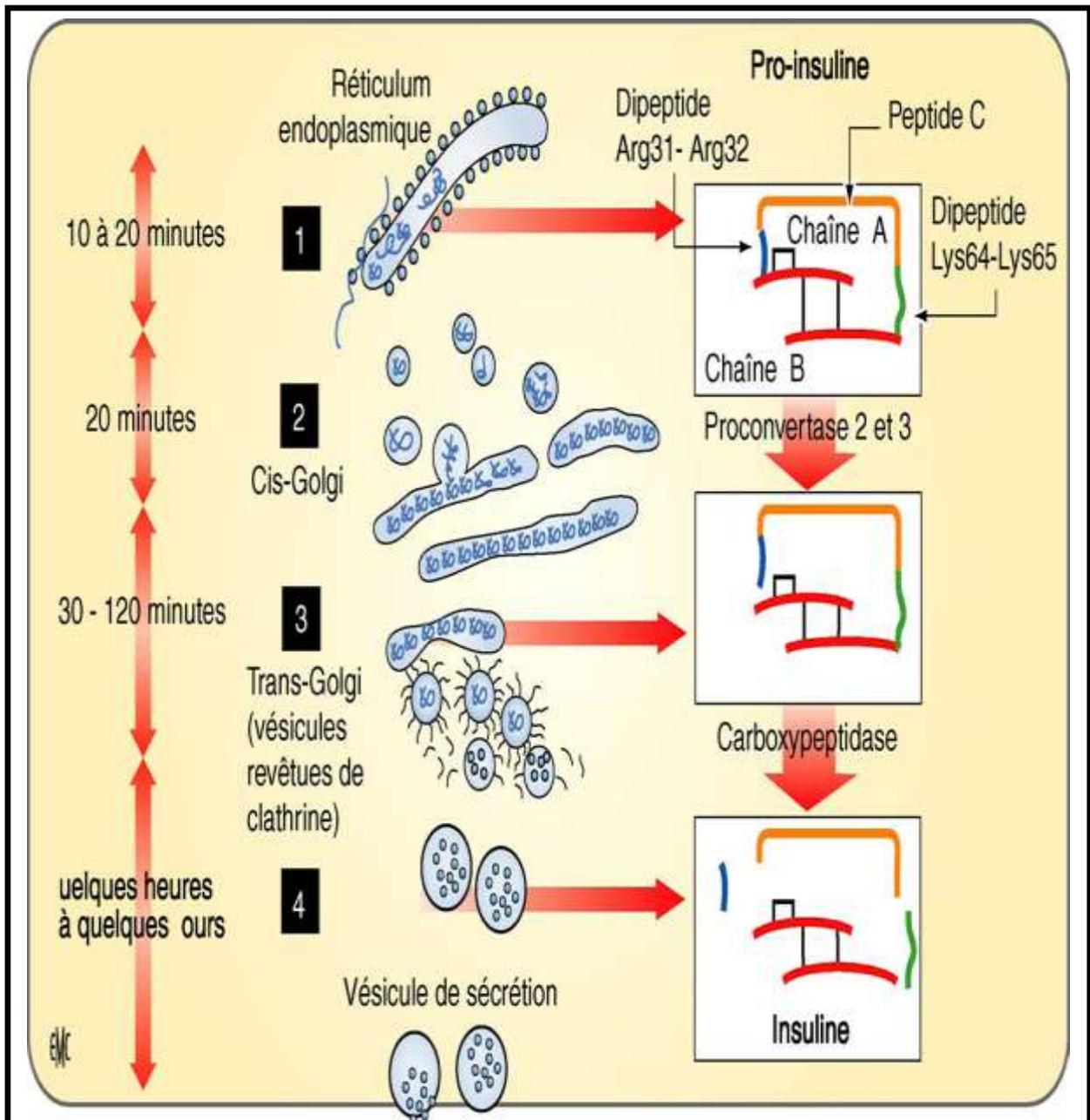


Figure 3 : Synthèse d'insuline et transport intracellulaire [16].

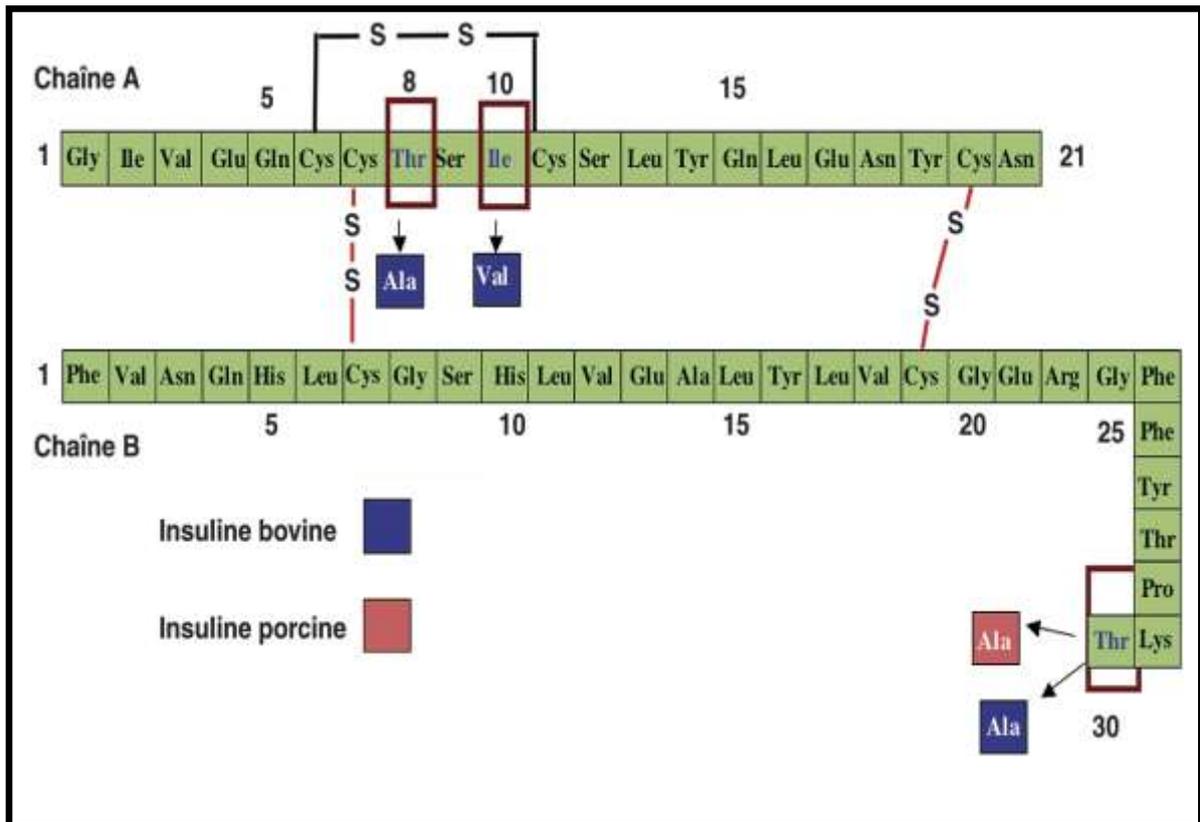


Figure 4 : Structure primaire de l'insuline humaine [16].

I-2-3- Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose

Le glucose pénètre dans la cellule β par l'intermédiaire d'un transporteur spécifique (GLUT-2), il est phosphorylé en glucose-6-phosphate par la glucokinase puis utilisé principalement par la voie de la glycolyse et de la respiration oxydative. Le métabolisme du glucose dans la cellule β est à l'origine d'une production d'ATP. La génération d'ATP conduit à l'inactivation des canaux K^+/ATP , entraînant une dépolarisation membranaire et l'ouverture de canaux Ca^{++} voltage-dépendants, aboutissant finalement à l'augmentation massive de la concentration cytosolique du calcium et stimulation de l'exocytose des granules de sécrétion d'insuline [17].

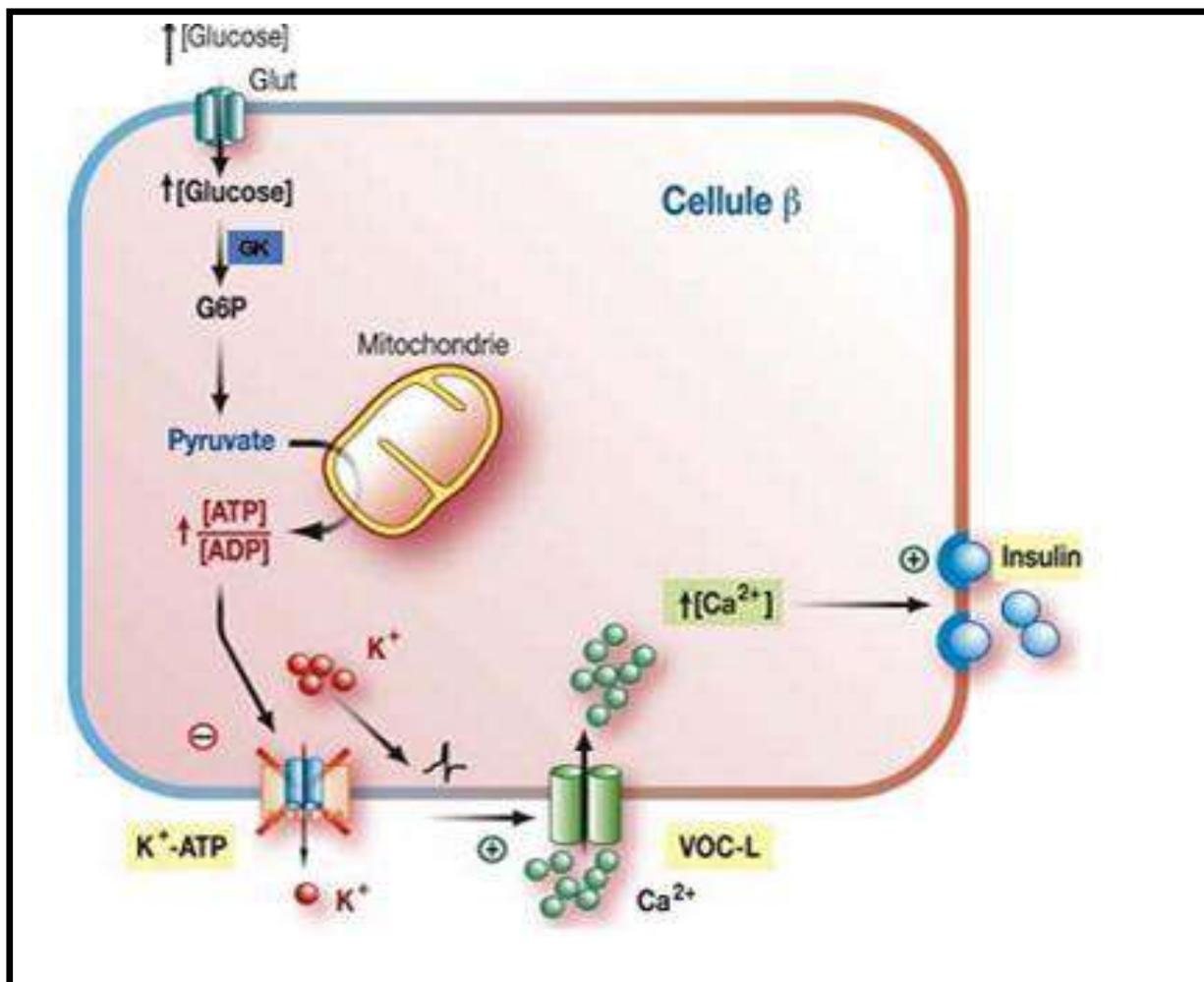


Figure 5 : Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose [17].

I-2-4- Effets de l'insuline sur les différents métabolismes

L'insuline est essentielle pour maintenir l'homéostasie du glucose et réguler le métabolisme des lipides et des protéines, en effet l'insuline est le seul facteur hypoglycémiant face à l'arsenal copieux des hormones et des neurotransmetteurs hyperglycémiant. L'effet de l'insuline sur le métabolisme glucido-lipidique porte en priorité sur les trois tissus cibles de l'hormone (foie, muscle et tissu adipeux) [17].

I-2-4-1- Métabolisme glucidique

En ce qui concerne le métabolisme glucidique, l'insuline augmente l'utilisation du glucose par les tissus : au niveau du muscle elle favorise son stockage sous forme de glycogène par induction de la glycogène synthase, son entrée en permettant la translocation de transporteurs spécifiques du glucose (GLUT 4) depuis des vésicules intracellulaires vers la

membrane plasmique et son oxydation en stimulant des enzymes de la glycolyse. Dans le foie l'insuline diminue la production de glucose par blocage de la synthèse d'enzymes clefs de la néoglucogenèse, par diminution de la disponibilité des substrats nécessaire à cette voie (acides aminés et glycérol) et par inhibition de la sécrétion du glucagon, en plus elle inhibe la glycogénolyse [17].

I-2-4-2- Métabolisme lipidique

L'insuline facilite le stockage des acides gras en triglycérides dans le tissu adipeux et diminue la mobilisation de ceux-ci par inhibition de la lipolyse en inhibant la lipase hormonosensible [17].

I-2-4-3- Métabolisme protéique

L'insuline joue un rôle fondamental dans la régulation du métabolisme protéique, en effet elle inhibe le catabolisme des protéines (protéolyse) en présence d'un excès d'acide aminés [17].

Notons que la cellule bêta pancréatique a pour fonction essentielle de mesurer la glycémie et d'ajuster en conséquence la sécrétion d'insuline afin de maintenir l'homéostasie du glucose. Ce processus cellulaire est appelé couplage métabolisme-sécrétion et implique le catabolisme du glucose, l'activation mitochondriale, la génération d'ATP, l'élévation du calcium cytosolique, *in fine* libérant le contenu des granules de sécrétion par exocytose de l'insuline. Un défaut de sécrétion est associé aussi bien au diabète de type 1 qu'au diabète de type 2, même si les étiologies respectives de ces deux types diffèrent [18].

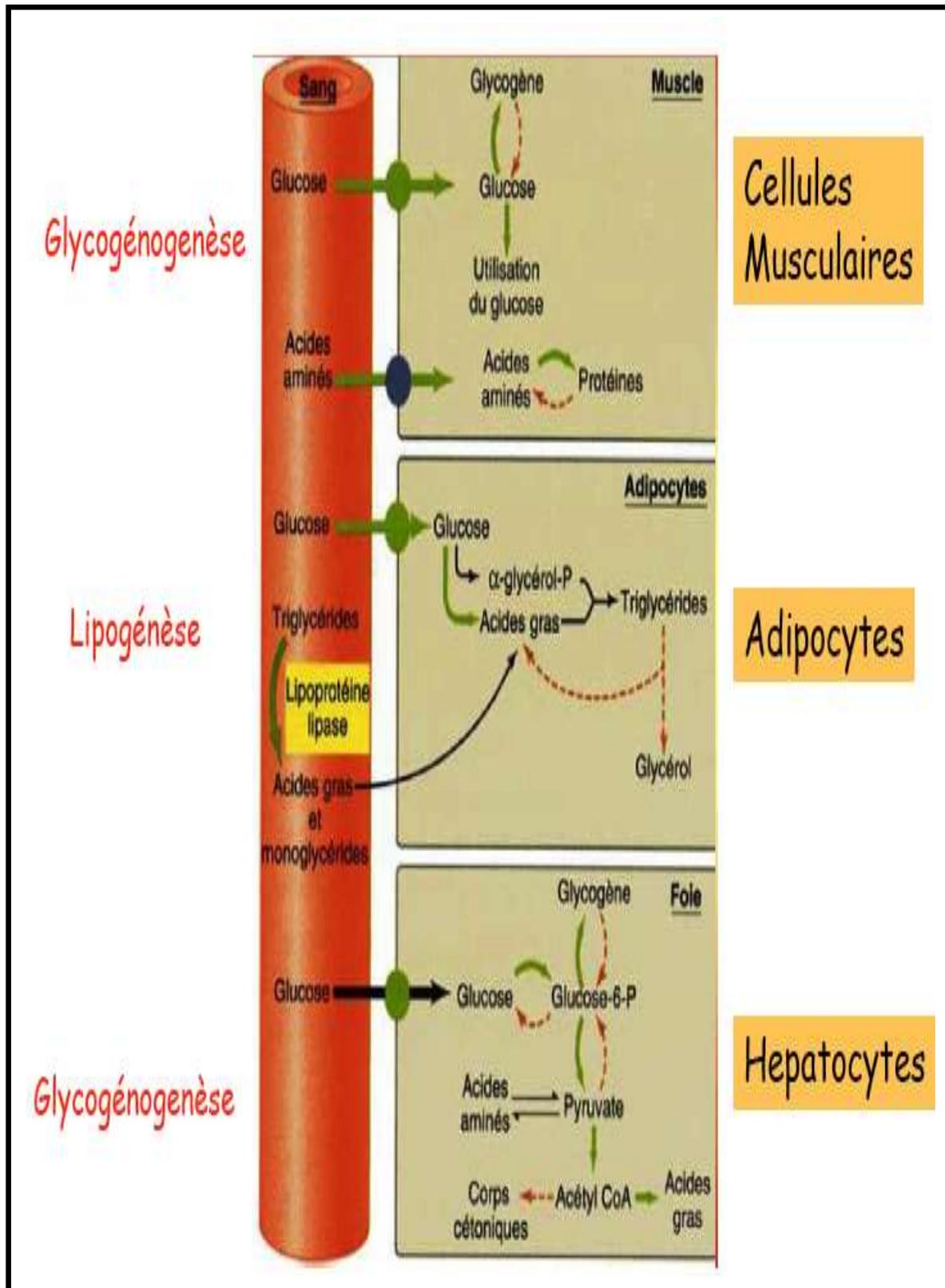


Figure 6 : Tissus cibles de l'insuline [8].

I-3-Le diabète sucré

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) à 2 reprises consécutives ; ou une glycémie aléatoire supérieure ou égale à **2 g/l** (11mmol/l) [19].

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultante 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 terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins [20].

Il ya plusieurs étiologies pour le diabète et bien établir le type de diabète pour chaque patient est important, la compréhension de la physiopathologie des différentes formes de la maladie est la clé d'un traitement approprié. La classification actuelle des diabètes est basée sur la physiopathologie de chaque forme de la maladie [21].

I-3-1-Classification

La classification nosologique du diabète publiée en 1997 par un groupe d'experts sous la responsabilité de l'Association Américaine du Diabète (ADA) remplace celle élaborée en 1979 par le "National Diabetes Data group" et entérinée en 1980 par l'OMS [22].

1. Diabète sucré de type 1

- a. auto-immun (trouble des cellules β)
- b. idiopathique (rare, sans élément pour facteur auto-immun) [23].

2. Diabète sucré de type 2 (défini comme une résistance à l'insuline et défaut de sécrétion d'insuline) [23].

3. Types spécifiques de diabète

- a. Défaut génétique de la fonction des cellules β (Maturity Diabetes of the Young: MODY). Actuellement, cinq défauts différents sont connus dans le diabète de type MODY:

MODY 1: défaut de l'Hépatocyte nuclear factor 4 α (HNF-4 α).

MODY 2: défaut de la glucosinase.

MODY 3: défaut de l'HNF-1 α .

MODY 4: défaut de l'IPT-1 (insulin promoter factor-1).

MODY 5: défaut de l'HNF-1 α , diabète mitochondrial, autres [23].

- ✓ Défaut génétique dans l'action de l'insuline (résistance à l'insuline de type A, le préchaunisme, syndrome de Rabson-Mendenhall: défaut des récepteurs à l'insuline, diabète lipo-atrophique, autres) [23].
- ✓ Maladies du pancréas exocrine (pancréatite, néoplasie, fibrose kystique, hémochromatose, pancréatopathie fibro-calculuseuse, autres) [23].
- ✓ Endocrinopathies (acromégalie, syndrome de Cushing, phéochromocytome, syndrome de Conn, autres) [23].
- ✓ Induit par les médicaments (stéroïdes, pentamidine, acide nicotinique, diazoxyde, thiazides, inhibiteurs de la protéase, autres) [23].
- ✓ Infections (rougeole congénitale, oreillons, virus Coxsackie, cytomégalovirus) [23].
- ✓ Formes rares de diabète immunogène (syndrome de Stiff-Man, anticorps anti-insuline-récepteurs, autres) [23].
- ✓ Autres syndromes génétiques associés au diabète (trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, dystrophie myotonique, autres) [23].

4. Diabète gestationnel : qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement [15].

I-4-Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 (précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou juvénile) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière [24].

Représente 5 à 10% de tous les cas de diabète. L'entrée dans la maladie caractérisée par une hyperglycémie supérieure à 2 g/l (la limite supérieure étant de 1,26 g/l à jeun), peut se traduire par une polyurie, une polyphagie, une polydipsie, une perte de poids, une fatigue, ou

un profond déséquilibre de l'homéostasie glycémique accompagné de cétose ou d'acidocétose, pouvant aboutir à un coma. L'évolution de la maladie est marquée par des complications : microangiopathie, accidents vasculaires cérébraux, rétinopathie, cataracte, glaucome, hypertension, cardiopathie ischémique, glomérulosclérose, neuropathie autonome, vasculopathie périphérique, gangrène... [25].

I-4-1-Physiopathologie

Le diabète de type 1 (DT1) est provoquée par la destruction auto-immune des cellules bêta productrices d'insuline des îlots pancréatiques [26].

Il est généralement considéré que le diabète est diagnostiqué lorsque 70-80% des cellules bêta ont été détruites et que le reste est détruit après le diagnostic [26].

La physiopathologie du diabète de type 1 est complexe et multifactorielle (predisposition génétique, réaction immunitaire, rôle de l'environnement). Il est probable qu'il existe une susceptibilité individuelle de développer un diabète insulino-dépendant, et qu'un ou plusieurs facteurs environnementaux soient déterminants pour l'émergence clinique de ce diabète [27].

I-4-1-1-Facteurs génétiques

Plusieurs gènes sont impliqués dans la prédisposition à développer un diabète de type 1, notamment les gènes codant pour les antigènes HLA DR3 ou DR4 du système HLA de classe II [28].

Le risque pour une mère DID d'avoir un enfant diabétique est environ 2% alors que le risque est de 4 à 5 % lorsque c'est le père qui est diabétique ID [27].

I-4-1-2-Facteurs immunitaires

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immunitaire due à la destruction des cellules β des îlots de Langerhans par des cellules T [29].

Bien que la destruction des cellules β par médiation des cellules T, l'implication des anticorps ont été d'une grande importance, permettant un diagnostic précis et la prédiction des individus risquant de développer ce type de diabète [29].

Anti-corps anti insuline IAA

Chez les patients DID, l'insuline est la première protéine contre laquelle la réaction auto-immunitaire a été documentée [30].

Ils sont dosés par méthode radio-immunologique, près de 50 % des patients nouvellement diagnostiqués ont des anticorps circulant contre l'insuline [29].

Anticorps anti-cellules d îlots ICA

L'expression de cette protéine ICA est localisée dans les cellules β , le cerveau, à des faibles quantités au niveau du cœur, la thyroïde et les reins. Les anticorps anti-ICA sont détectés chez 60 à 80 % des sujets ayant un DID récent. Leur détection diminue avec l'ancienneté de la maladie [23] [28].

I-4-1-3-Facteurs environnementaux

a) Infections

Le rôle potentiel d'une infection virale dans la pathogénie du diabète de type 1 fut suspecté initialement à partir d'études épidémiologiques (augmentation de l'incidence du diabète en automne et en hiver, association significative entre diabète et rubéole congénitale, oreillons, coxsackie B4, cytomégalovirus, virus Epstein-Barr) et par l'existence de modèles de diabètes viro-induits chez l'animal [27].

Les mécanismes potentiels sont multiples : réaction antigénique croisée (homologie entre protéines virales et autoantigènes), activation lymphocytaire T, modification de l'expression antigénique des cellules β , rôle cytopathogène direct (peu probable)... [27].

b-Toxiques

L'alloxane, la streptozocine, la pentamidine et le pyrinuron (raticide) affectent directement la cellule bêta ; la susceptibilité à chaque agent est variable selon les espèces [27].

c-Alimentation

L'implication possible des protéines du lait de vache ou des nitrosamines dans la pathogénie du diabète de type 1 a été envisagée, mais il n'existe aucune preuve en ce domaine [27].

d-Stress

Toute agression peut révéler l'existence d'un diabète de type 1 chez un sujet prédisposé [27].

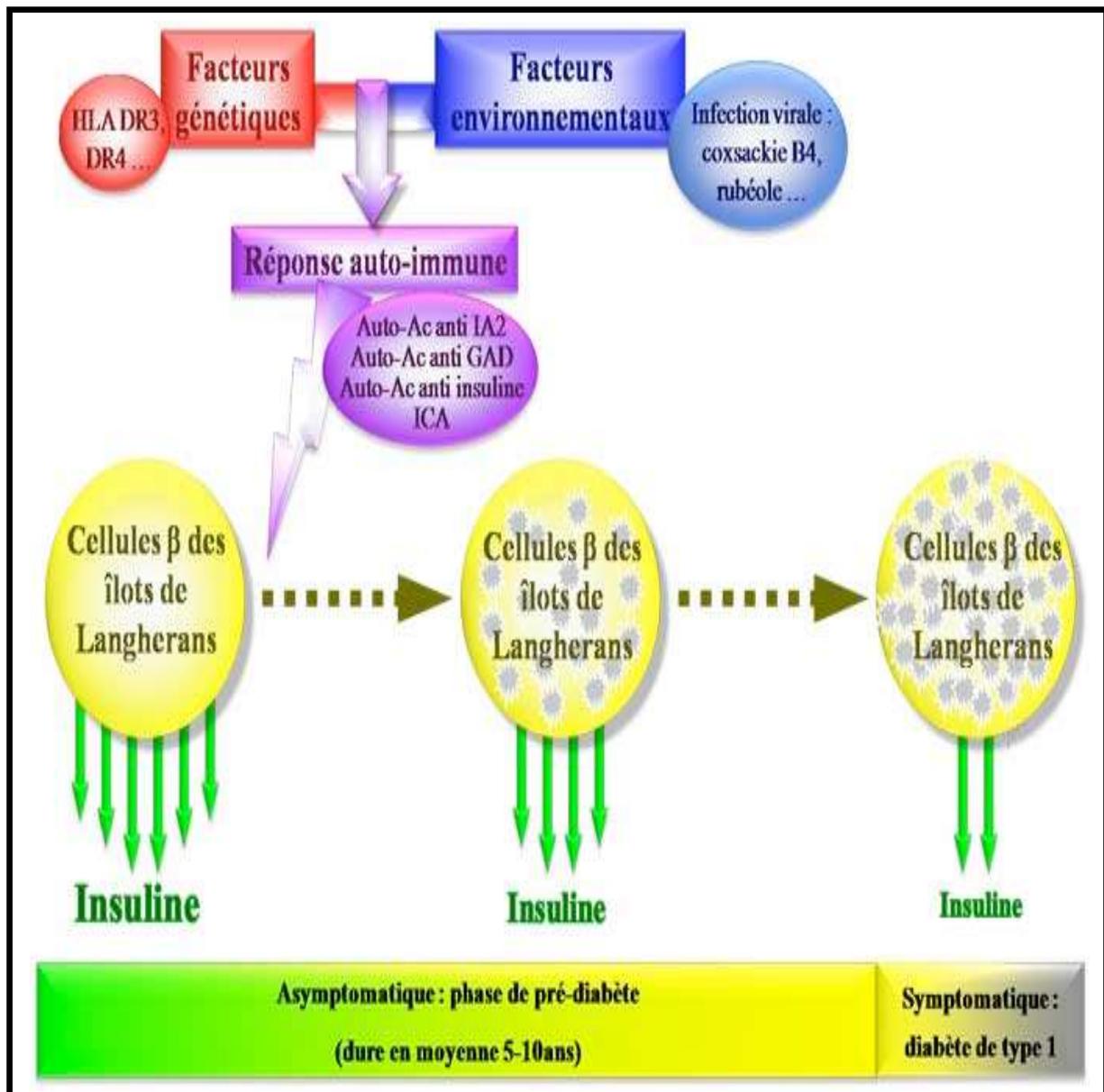


Figure 7 : Interaction entre génétique, facteur environnementaux et système immunitaire lors de destruction auto-immune des cellules β [8] .

I-5-Le diabète de type 2

Ou diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité, touchant principalement les sujets plus âgés et souvent obèses [15], le diabète de type 2 concerne 85% à 90% des patients diabétiques [31].

I-5-1- Physiopathologie du DT2

Sur le plan physiopathologique, le développement du DT2 résulte de la coexistence entre une insulino-résistance (IR) et un développement progressif d'un déficit de l'insulinosécrétion. De plus, le DT2 est une maladie complexe s'inscrivant généralement dans le cadre plus large du syndrome métabolique [32].

I-5-1-1-Facteurs génétiques

La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres de cette famille, ce qui est en faveur d'une participation génétique dans l'apparition du diabète de type 2. De plus, des études de concordance entre jumeaux dont l'un au moins est atteint de diabète de type 2 montrent une concordance plus importante chez les homozygotes (58 % à 80 % selon les études) que pour les hétérozygotes (17 % à 40 %). Cela suggère un support génétique important au diabète de type 2, mais l'absence de concordance à 100 % suggère aussi que cette participation est dépendante d'autres facteurs [33].

I-5-1-2-Facteurs environnementaux

Le diabète de type 2 est lié au mode de vie. Les facteurs de risque principaux sont le surpoids, la sédentarité et une alimentation trop riche et inadaptée (excès de sucre et de graisse saturée) [34].

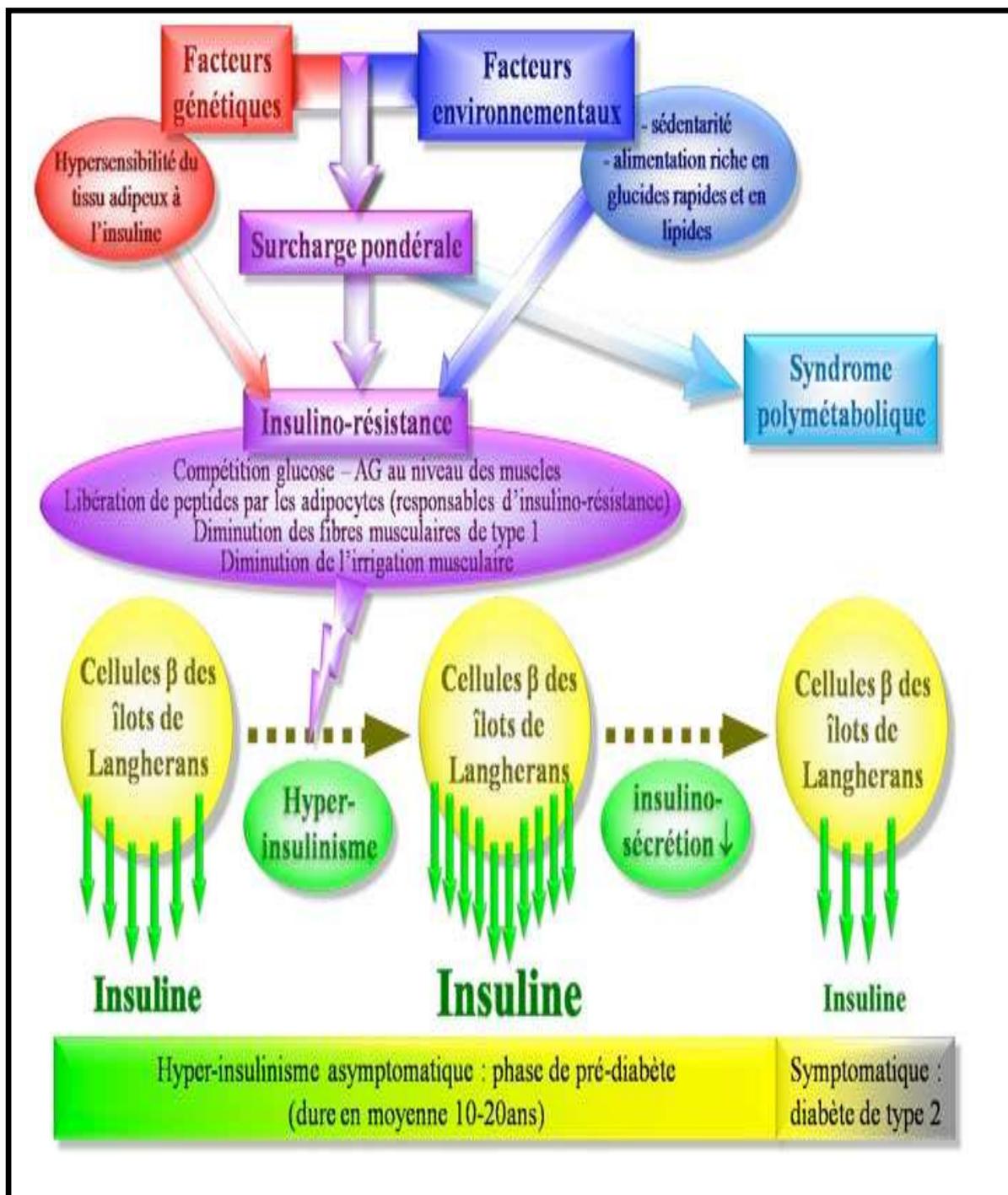


Figure 8 : Interaction entre facteurs génétique et environnementaux dans la pathogénèse du diabète de type 2 [8].

II-Définition du diabète expérimental

Le diabète expérimental consiste à produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelles thérapies [35].

Les études sur la physiologie du pancréas endocrine ont été réalisées chez l'humain, mais également très fréquemment dans des organismes modèles, la plupart du temps le rat ou la souris. Diverses techniques ont pu être appliquées à ces organismes, notamment des techniques chirurgicales pour effectuer la perfusion du pancréas. La fonction endocrine du pancréas dans le contexte pathologique du diabète a pu être abordée avec ces organismes dans différents modèles expérimentaux de diabètes [36].

Ceux-ci comprennent, par exemple, le diabète induit par le vieillissement chez le rat, le diabète d'origine génétique comme pour les souris NOD ('non-obese diabetic'), le diabète induit par le régime alimentaire comme chez le rat des sables (*Psammomys obesus*), ainsi que des modèles de diabète induit par des toxines, comme : [36] alloxane, streptozocine, l'acide ascorbique et ses dérivés, styrylquinoline 90, diethyldithiocarbonate de sodium, acide urique, ...etc sont quelques-uns d'entre eux [37], ou par la chirurgie du pancréas (ablation partielle) [38].

Le diabète expérimental par pancréatectomie n'est plus très utilisé pour des raisons de difficultés techniques et aussi parce que la pancréatectomie supprime, non seulement la sécrétion d'insuline ce qui est le but recherché, mais aussi celle d'autre hormone comme le glucagon produit par les cellules α des îlots et qui est impliqué dans le métabolisme glucidique [38].

Or on sait que, dans la grande majorité des diabètes humains, seules les cellules β des îlots qui sécrètent l'insuline sont touchées alors que les autres catégories cellulaires, notamment les cellules α sont intactes. Aussi a-t-on recours de préférence, pour induire des diabètes expérimentaux, à des drogues qui lèsent sélectivement la cellule β comme l'alloxane et surtout la streptozocine qui est la plus employée actuellement [38].

Ces produits chimiques très pratique et simple à utiliser qui détruisent sélectivement les cellules β du pancréas [39], qui sont des analogues cytotoxiques du glucose [40].

Tandis que les mécanismes d'action cytotoxique des deux composés sont différents, le mécanisme de la sélectivité de l'action des cellules β est identique [40].

II-1-Diabète induit par l'alloxane

II-1-1-définition

L'alloxane est un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine [41].

C'est le produit chimique le plus couramment utilisé pour l'induction du diabète mellitus. C'est un agent bien connu largement utilisé pour induire un diabète de type 1 chez les animaux tels que : les lapins, les rats, les souris et les chiens [42].

C'est un dérivé de l'urée qui provoque sélectivement une nécrose pancréatique des cellules β des îlots de Langerhans [42].

II-1-2-Historique

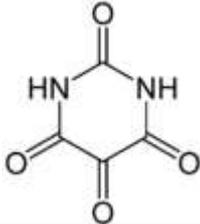
En 1818, le Brugnatelli italien a obtenu une substance à partir de l'oxydation de l'acide urique qu'il nommé ossieritrico. Ce nom, du grec « à faire rouge», fait référence à la propriété de la substance pour colorer la peau une couleur rouge caractéristique [43].

Vingt ans plus tard, les chimistes allemands, Wöhler et Liebig, ont étudié l'oxydation de l'acide urique dans le détail et ont obtenu le même composé, qu'ils ont appelé alloxane. Le nom alloxane issu de la fusion de deux mots, à savoir, allantoïne et acide oxalurique. L'allantoïne est un produit de l'acide urique excrété par le fœtus dans l'allantoïde et l'acide oxalurique est dérivé de l'acide oxalique et l'urée qui se trouve dans l'urine [43].

L'alloxane resté uniquement dans le domaine de la pharmacie jusqu'en 1943, lorsque Dunn et all., ont signalé que cette substance provoque une nécrose des îlots pancréatiques lorsqu'il est administré à des lapins ou des rats [43].

L'alloxane est sélectivement toxique pour les cellules β du pancréas, ce qui provoque le diabète chez les animaux de laboratoire. Cette substance est alors devenu d' un grand intérêt pour les diabétologistes, devenant un outil standard pour l'induction du diabète chez les animaux [43].

Tableau 1 : Propriétés chimiques d'alloxane [44].

La formule chimique	
Nom chimique	2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.
Structure chimique	$C_4H_2N_2O_4$
Masse moléculaire	160,09 g/mol.
Point de fusion	253°C.

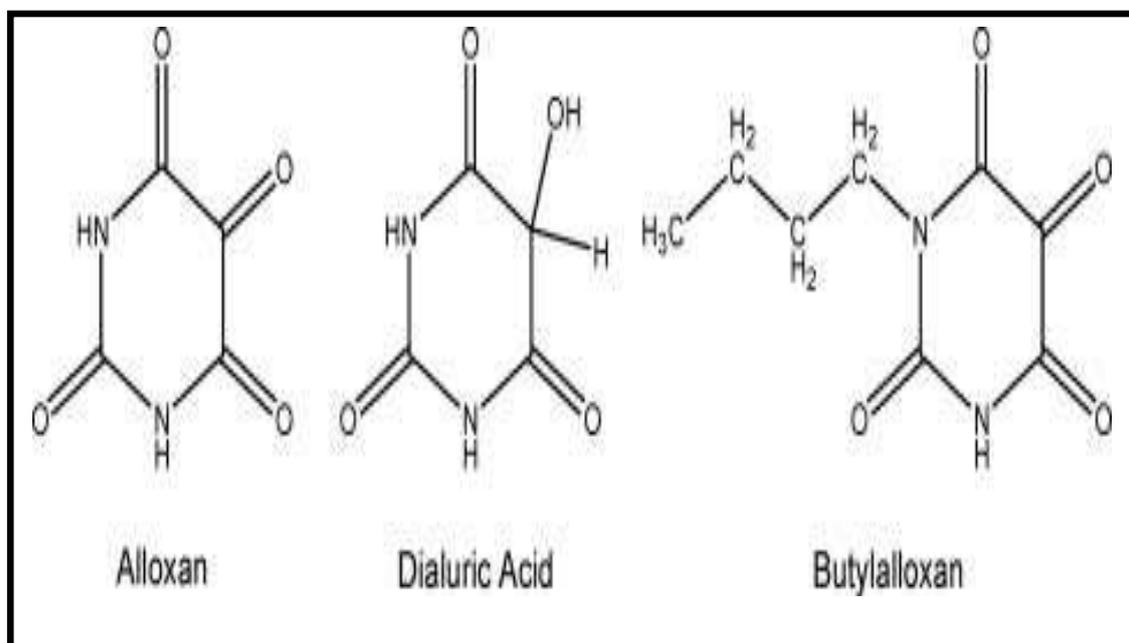


Figure 9 : Formules chimiques de l'Alloxane, l'acide dialurique et butyl-alloxane [40].

II-1-3-Mode d'action

L'alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules β pancréatiques. Au cytosol, l'Alloxane est réduit en acide dialurique. Cette réduction est assurée par plusieurs agents tels que le glutathion réduit, la cystéine, l'acide ascorbique et les groupements SH des protéines [45].

L'alloxane a un groupe 5 carbonyle central qui réagit très avidement avec des groupes thiol. La glucokinase est l'enzyme thiol le plus sensible de la cellule β . À des concentrations élevées, l'alloxane peut inhiber nombreuses enzymes fonctionnellement importants, ainsi que d'autres protéines et fonctions cellulaires [46]. L'alloxane se relie avec deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant l'enzyme [45].

L'inhibition de la glucokinase, réduit l'oxydation du glucose et la génération de l'ATP, ce qui supprime le signal d'ATP, qui déclenche la sécrétion d'insuline. L'inhibition de la glucokinase est atteinte en 1 min d'exposition à l'alloxane.

Cet effet peut être expliquer par une réduction initiale de la consommation d'ATP, résultante d'un blocus de la phosphorylation du glucose par la glucokinase, ce qui produit une augmentation transitoire de l'ATP dans la cellule β et déclenche une libération transitoire de l'insuline [46].

L'acide dialurique formé est ré-oxydé en alloxane, ce qui génère des espèces réactives oxygénées et active à la réaction de Fenton [39] [47].

L'alloxane inhibe la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante et augmente la perméabilité des membranes des cellules β [48].

L'action des radicaux hydroxyyles après l'alloxane traitement a été démontrée *In vitro* et *In vivo* [39].

Un autre mécanisme qui a été rapporté est l'effet de ROS sur l'ADN des îlots pancréatiques. Ce mécanisme est semblable à celui de la streptozocine [47].

La fragmentation de l'ADN a lieu dans les cellules β exposés à l'alloxane, qui cause des dommages de l'ADN, qui stimule la poly ADP-ribosylation, un processus participant à la réparation de l'ADN. Les antioxydants comme le superoxyde dismutase, la catalase et les

piégeurs de radicaux hydroxyyles non enzymatiques ont été trouvés pour se protéger contre la toxicité de l'alloxane [47].

En outre, la perturbation de l'homéostasie de calcium intracellulaire, également signalée, constitue une étape importante dans l'action diabétogène de l'alloxane. Il a été noté que l'alloxane cytosolique libre augmente la concentration Ca^{2+} dans les cellules β pancréatiques. L'afflux de calcium est entraîné par la capacité de l'alloxane de dépolariser les cellules β du pancréas, qui s'ouvre en outre tension des canaux calciques voltage-dépendants et améliore l'entrée du calcium dans des cellules pancréatiques. La concentration accrue d'ion Ca^{2+} contribue davantage à la libération d'insuline qui avec ROS a été noté finalement causer des dommages des cellules β des îlots pancréatiques [47].

L'alloxane exerce son action diabétogène quand il est administré par voie parentérale: intraveineuse, intra-péritonéale ou sous-cutanée. La dose requise de l'alloxane pour induire un diabète dépend de l'espèce animale, la voie d'administration et l'état nutritionnel. Les îlots de l'espèce humaine sont nettement plus résistants à l'alloxane que ceux du rat et de la souris. La dose intra-péritonéale inférieure à 150 mg / kg en poids brut peut être insuffisante pour induire un diabète chez le rat. Animaux à jeun sont plus sensibles à l'alloxane, alors que l'augmentation du glucose dans le sang fournit une protection partielle [39].

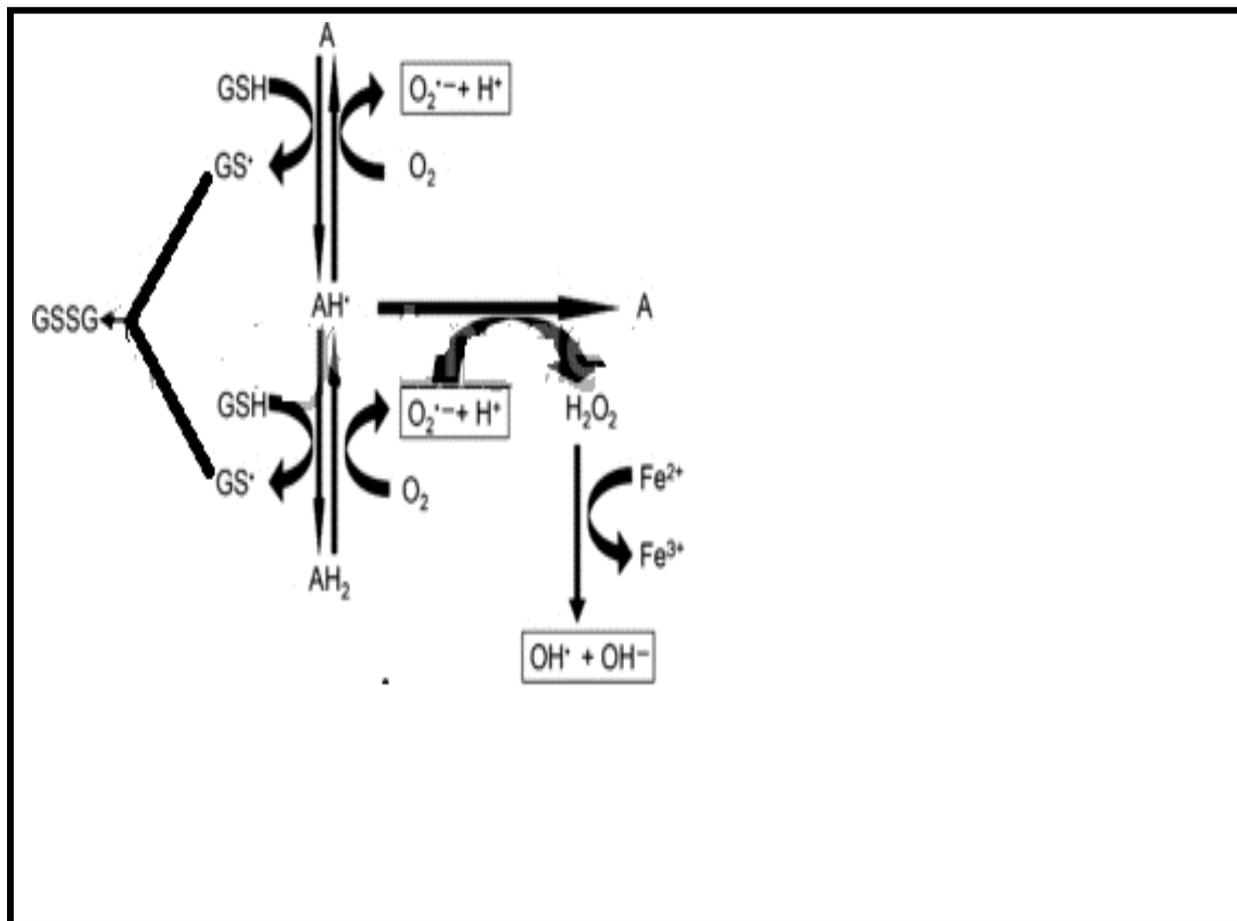


Figure 10: Réactions redox cyclables entre l'acide dialurique et l'alloxane [46].

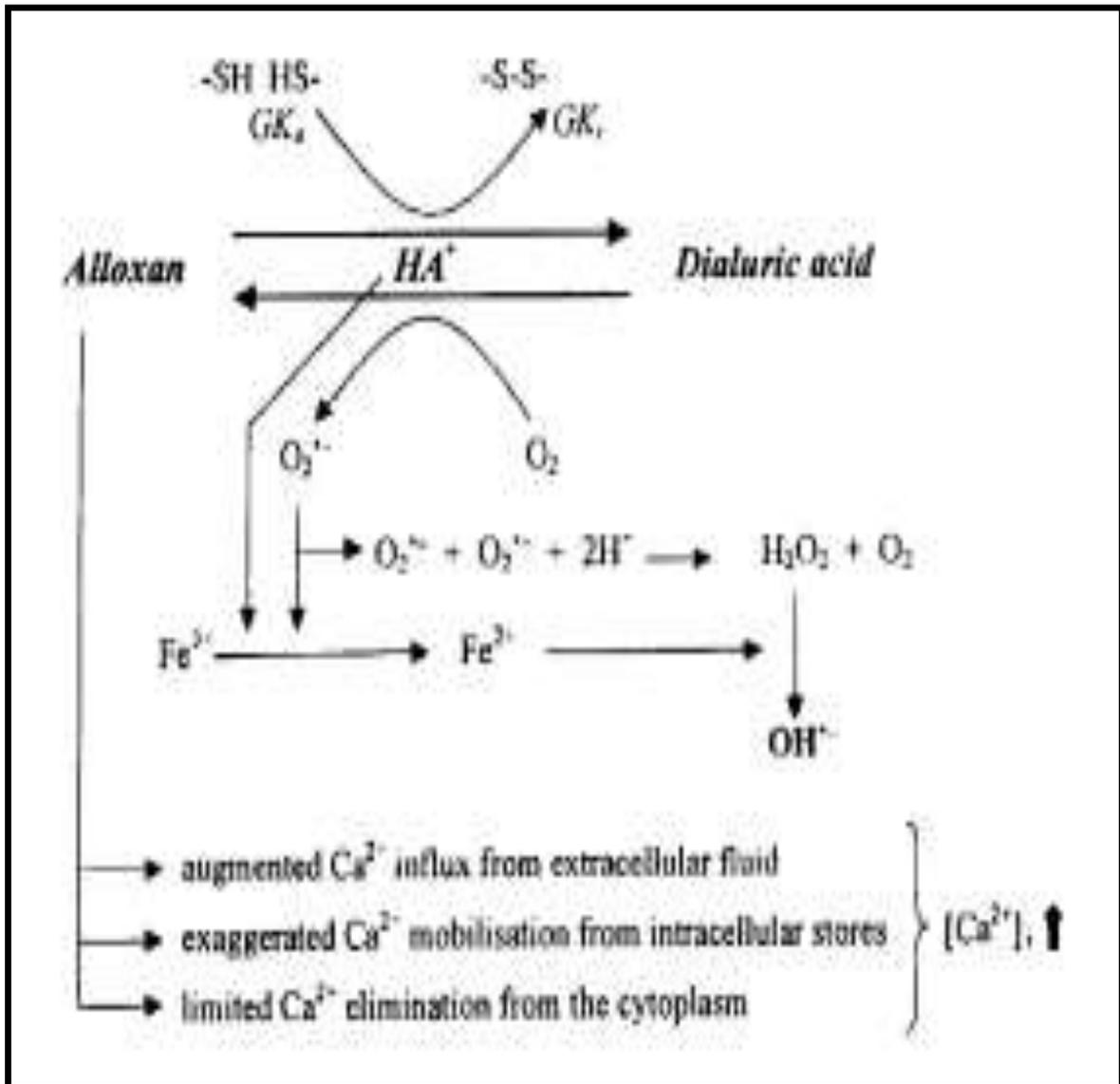


Figure 11 : Le mécanisme de la production d'espèces réactives de l'oxygène induite par l'alloxane dans les cellules β de pancréas de rat [39].

II-2-Diabète induit par la streptozocine

II-2-1-Définition

La streptozotocine ou Izostazin ou Zanosar (STZ) [49] [50] ou estreptozocina, ou, streptozocinium [50].

La streptozocine est un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces achromogenes*. [51] de bouillon de fermentation [52].

C'est une glucosamine nitrosé [56] [57], qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans [56] [57] [58].

La STZ est un analogue du glucose pour le récepteur GLUT2. Elle pénètre ainsi spécifiquement dans les cellules β où son pouvoir alkylant induit de nombreux dommages. Elle est ainsi utilisée dans le traitement des insulinomes [51].

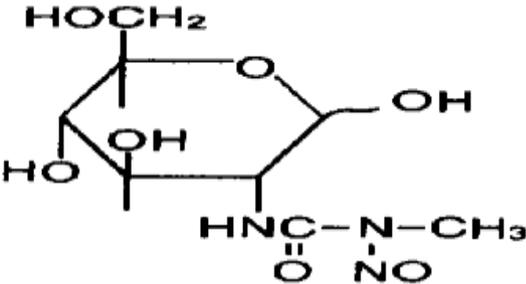
II--2-2-Historique

Streptozocine a été initialement identifié dans les années 1950 comme un antibiotique. La drogue a été découverte dans une souche de microbes du sol *Streptomyces achromogenes*, par des scientifiques de la société Upjohn de drogue [53].

Au milieu des années 1960, la streptozocine a été trouvé pour être sélectivement toxique pour les cellules bêta des îlots de Langerhans, les cellules qui régissent normalement les niveaux de glucose dans le sang par la production de l'hormone insuline. Cela suggère l'utilisation de la drogue comme un modèle animal du diabète, et comme un traitement médical pour les cancers des cellules bêta. Dans les années 1960 et 1970, l'institut national du cancer ; ont étudié l'utilisation de streptozocine dans la chimiothérapie du cancer. Upjohn a déposé à la FDA de streptozocine comme un traitement pour le cancer des cellules des îlots pancréatiques en Novembre 1976, et l'approbation a été accordé en Juillet 1982. Le médicament a ensuite été commercialisé comme Zanosar [53].

La streptozocine est maintenant commercialisé par la société pharmaceutique générique Sicor (Teva) [53].

Tableau 2 : Propriétés chimiques de la streptozocine [50] [52] [54] [55]

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

II-2-3-Mode d'action

Le mécanisme d'action de cet agent diabétogène reste encore mal connu. Cependant, les études antérieures ont montré son action sur les îlots de Langerhans, en réduisant la masse des cellules β et par conséquent une insulinopénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire [59] [48] [60].

Le glucose qui constitue la molécule de la STZ, permet sa pénétration dans les cellules β pancréatiques à travers les transporteurs de glucose GLUT2 [39]. A l'intérieur de la cellule, la STZ provoque :

- la libération d'oxyde nitrique (NO).
- la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS).
- l'alkylation de l'ADN.
- l'épuisement de l'ATP des cellules B.
- l'inhibition de l'enzyme N-acétyl glucosamine sélective N - glycosylation des protéines acétyl-BD-glucosaminidase et irréversible [52].

La génération de NO au cours de la métabolisation cellulaire de STZ, causé à îlots du pancréas de rat des dommages cellulaires au niveau de l'ADN [52].

La participation de NO dans l'effet cytotoxique de STZ, a été confirmée dans plusieurs expériences, Cependant, les résultats de plusieurs expériences fournissent la preuve que le NO n'est pas la seule molécule responsable de l'effet cytotoxique de STZ [39].

La STZ génère également des espèces réactives de l'oxygène, qui contribuent aussi à la fragmentation de l'ADN et d'autres changements délétères dans les cellules [39].

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le mécanisme de dommages à l'ADN et la cytotoxicité par la STZ. Tout d'abord, il a été constaté que la STZ améliore la production des radicaux O₂ •- par le système de la xanthine oxydase du pancréas et stimule la production de H₂O₂ et causes fragmentation de l'ADN dans les îlots pancréatiques isolés de rat. En outre, Ohkuwa et al démontré la génération de radicaux OH par STZ chez les rats diabétiques [52].

Il est généralement admis que la toxicité de streptozocine est dépendant de l'activité d'alkylation de l'ADN de son groupement méthylnitrosourée, en particulier à la position O6 de guanine. Le transfert du groupe méthyle à partir de streptozocine de la molécule d'ADN provoque des dommages, qui le long d'une chaîne d'événements définis, entraîne la fragmentation de l'ADN, ce qui active la poly(ADP-ribose)polymérase, enzyme clé de la réparation de l'ADN. Cette réaction consomme le NAD et l'ATP comme cofacteurs enzymatiques conduisant à leur déplétion et à la nécrose de la cellule β [39].

La glycosylation des protéines peut être un facteur préjudiciable supplémentaire [46]. En plus de son impact sur le métabolisme des hydrocarbures qui est bien étudié, la STZ provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline [39] [61] [62].

Plusieurs travaux réalisés en vue de mieux comprendre le mécanisme pathogène de la STZ, ont montré que ce produit diminue la défense antioxydante de la cellule, particulièrement une inhibition de l'activité superoxyde dismutase [63] [64] [58] [65].

La dose choisie de la STZ est variable selon la voie d'administration, l'animal et surtout la pathologie voulue [62] [60]. Par exemple, dans les essais préliminaires, il est important de garder la vitalité de l'animal où on injecte de faibles doses de STZ (dose inférieure ou égale à 60mg/kg) [66]. De plus, l'injection de la STZ est à l'origine d'une chute de poids [62] [60].

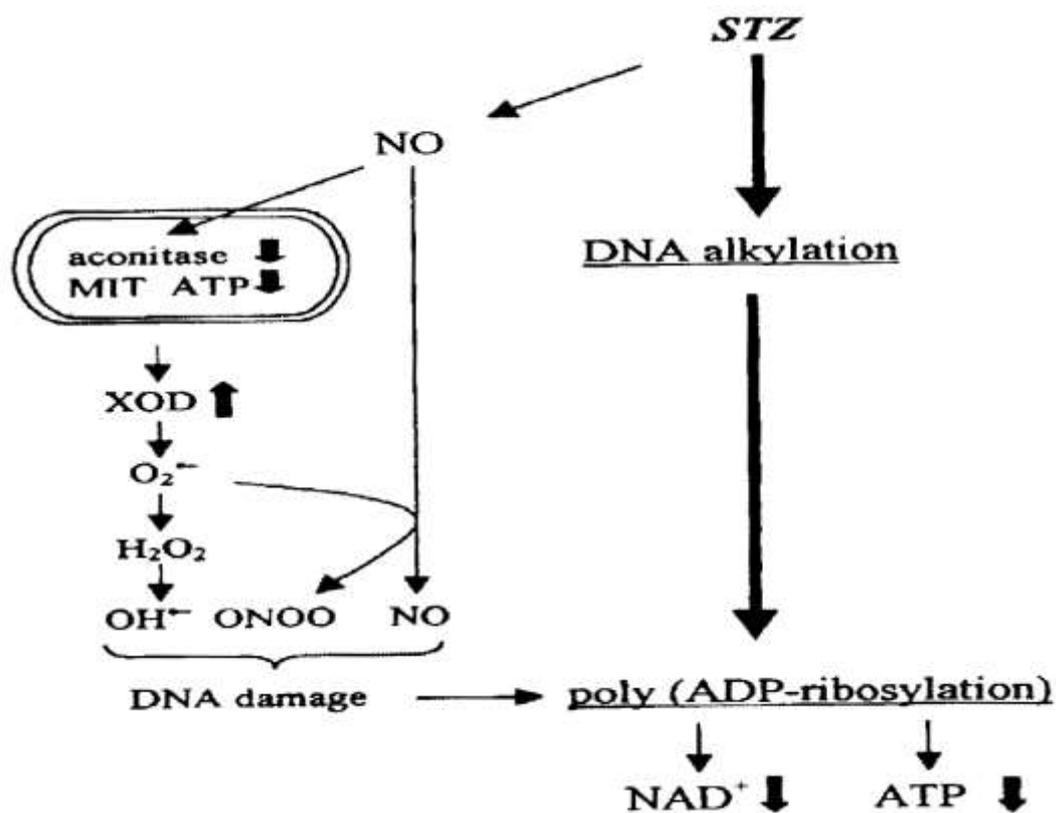


Figure 12 : Le mécanisme de la streptozocine induit dans les cellules β de pancréas de rat [39].

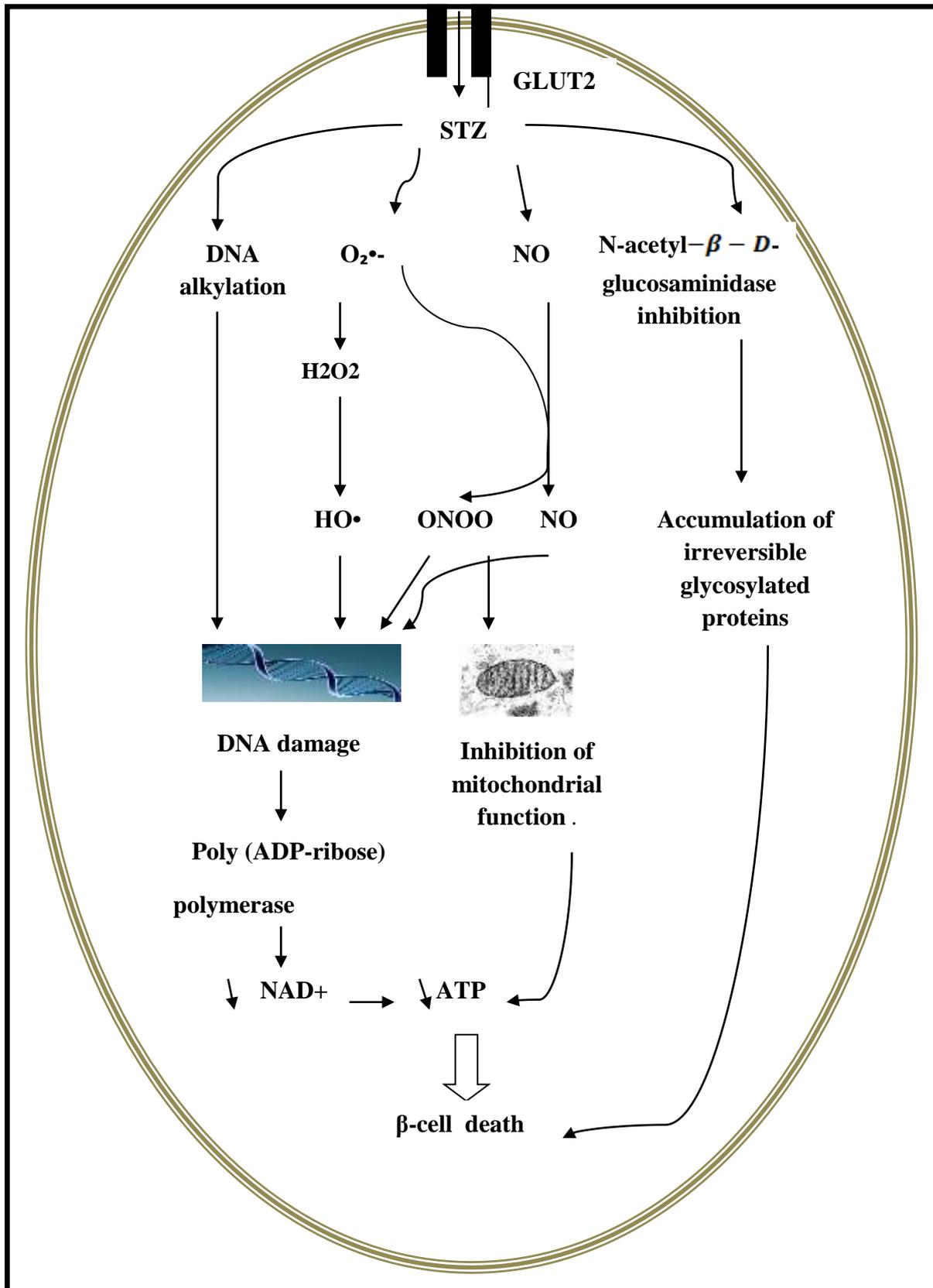


Figure 13 : Représentation schématique de processus intracellulaires qui contribue à la toxicité de streptozotocine [67].

Tableau 3 : Caractéristiques de l'alloxane et de la streptozocine [46].

	Alloxane	Streptozocine
Nom chimique	2,4,5,6-Tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone	2-Deoxy-2- ([(methylnitrosoamino)carbonyl]amino)- D-glucopyranose
Structure chimique	Pyrimidine oxygénée; dérivé de l'acide barbiturique (5 -acide ketobarbituric)	Groupe méthylnitrosourée cytotoxique (N-méthyl- N-nitroso-urée) fixé à l'glucose (2désoxyglucose) molécule;dérivé glucosamine
Les propriétés chimiques	Très hydrophile, bêta cellule toxique analogue du glucose (partition coefficient -1,8); acide faible	Hydrophile, bêta-glucose cellule toxique analogique
	Chimiquement instable (demi-vie de 1,5 min à pH 7,4 et 37 ° C,décomposition de l'acide alloxanique);Stable à pH acide	Relativement stable à pH 7,4 et 37 ° C (à moins jusqu'à 1 h) b
Réactivités chimiques	Réactif de type thiol qui est réduite à acide dialurique, en présence de GSH et d'autres thiols	Agent d'alkylation de l'ADN
	A protoxine; intracellulaire métabolisme des xénobiotiques cette génère des ROS toxique par cycle redox avec de l'acide dialurique sur une période de temps longue (> 1h)	Agent alkylant en protéines
	Le composé 305', un non-toxique alloxan-GSH produit d'addition d'inconnu Structure avec une caractéristique absorbance à une longueur d'onde de 305 nm; une petite quantité est formé au cours de chaque cycle d'oxydoréduction	donneur de NO
Mode de toxicité	Génération de ROS	Alkylation de l'ADN

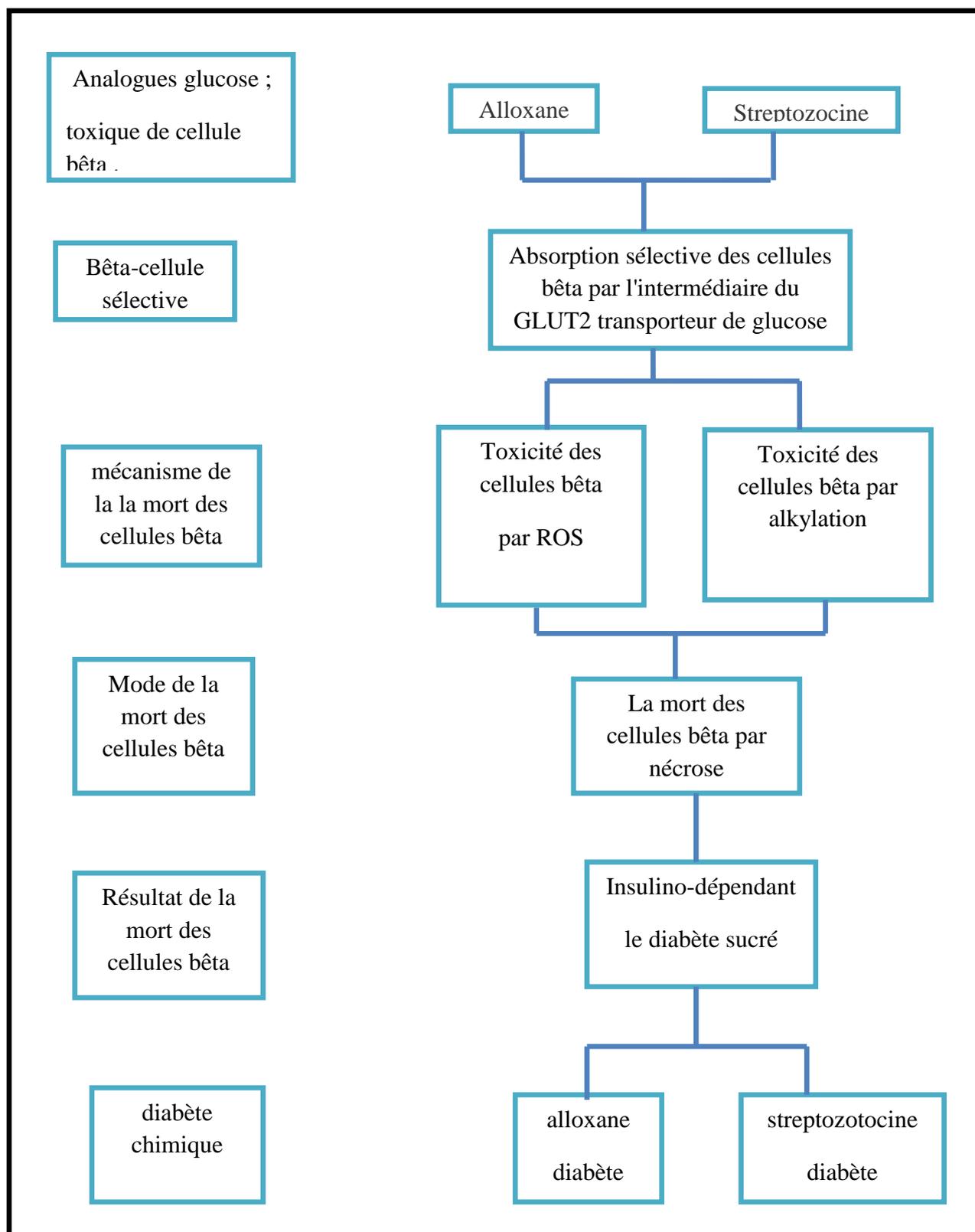


Figure 14 : Représentation schématique des effets toxiques d'alloxane et de streptozocine [46].

Matériel
Et
Méthodes

1- Matériel

1-1 Matériel Biologique

A- Choix de l'animal

Notre travail a porté sur le rat blanc , qui est une espèce génétiquement sélectionnée, issue par croisement, de race albinos. C'est un rongeur nocturne, omnivore et coprophage. Le pelage du jeune rat blanc est soyeux mais devient progressivement rugueux et décoloré avec l'âge. Il possède une large tête, de petites oreilles des yeux rouges globuleux et une petite queue. Il se reproduit pendant toute l'année et la gestation dure 21 jours. Sa durée de vie est de 2 à 3 ans [68].

Le rat à la naissance pèse à peu près 5 grammes, mais très actif, il atteint rapidement 35-50 grammes en trois semaines. Le mâle adulte pèsera 400-500 grammes alors que la femelle adulte pèsera environ 100 grammes de moins. Après la souris d'expérimentation, le rat est rongeur d'expérimentation le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de rongeur utilisés en recherche.

Depuis les quatre-vingts dernières années, le rat a été utilisé dans presque tous les aspects de la recherche biomédicale et comportementale et de la toxicologie [69].

Le choix de ce modèle animal a été fait pour les raisons suivantes :

- Ces rats sont des animaux dociles et faciles à manipuler surtout si on les habitue dès leur plus jeune âge.
- Ils sont peu agressifs.
- Leur facilité d'entretien.
- Leur résistance vis-à-vis de diverses contaminations.
- C'est le modèle animal le mieux adapté et le plus utilisé pour des études similaires citées par la littérature.

B - Conditions d'élevage

L'étude a été réalisée sur des rats *Wistar albinos* mâles, produits localement au niveau de l'animalerie du département de biologie animale, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Constantine 1.

Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en 5 groupes dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable de dimensions (36cm ×25cm).

Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages, renouvelée tous les 2 à 3 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 2 semaines au niveau de l'animalerie à température constante (22 ± 2) °C et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique.

1-2- Matériel chimique

- Alloxane
- Streptozocine

2- Méthodes

A- Protocole expérimental

2- 1- Constitution des lots des rats

L'échantillon se compose de 32 rats mâles pesant entre (150-230 g) (au début de l'expérimentation), divisés en 5 lots selon le tableau 4.

Tableau 4 : Constitution des lots des rats

	Lot 1 n=6	Lot 2 n=8	Lot 3 n=6	Lot 4 n=6	Lot 5 n=6
Alloxane	0	250mg/kg	200mg/kg	150mg/kg	0
Streptozocine	0	0	0	0	60mg/kg

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

2-2-Pesée

Les animaux sont pesés à l'aide d'une balance de précision à des moments fixes avant l'induction de diabète (début de la manipulation) et chaque jour après l'induction du diabète, jusqu'au le jour de dissection des rats.

2-3-Dosage du glucose

L'évolution de la glycémie des rats des différents groupes est contrôlée dès le premier jour du traitement, et jusqu'à la fin du traitement. Selon un programme identique à celui des pesées.

2-3-1-Prélèvement sanguins

Tous les prélèvements sanguins pour le dosage de la glycémie sont effectués au niveau de la queue des rats. Après nettoyage de la queue à l'alcool, les rats sont piqués à l'aide d'une fine aiguille, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie. (**Lecteur Accu Chek**).

2-3-2-Fonctionnement du lecteur Accu Chek Performa

Par simple insertion de la bandelette dans le sens des flèches, le lecteur se met en marche automatiquement. Le lecteur effectue automatiquement des contrôles de sécurité, comme le contrôle de l'intégrité de la bandelette, ces contrôles sont rapides et instantanés.

Vérifiez que le code affiché à l'écran correspond au code du flacon de bandelettes. Le symbole d'une goutte de sang s'affiche sur l'écran.

2-3-3-Mesures glycémiques

Au toucher de l'extrémité de la bandelette, le sang est absorbé rapidement. Les contrôles de sécurité complémentaires sont effectués automatiquement. Lorsque la quantité est suffisante, le symbole clignotant d'un sablier s'affiche sur l'écran.

Quand nécessaire, vous pouvez appliquer plus de sang dans 5 secondes. Le résultat s'affiche à l'écran après 5 secondes et il est automatiquement sauvegardé dans la mémoire du lecteur avec l'heure et la date.

2-4-Induction du diabète sucré expérimental chez les rats

2-4-1- Le diabète induit par l'alloxane

Le diabète induit par l'alloxane est un diabète toxique insulinooprive, connu sous le nom de « diabète alloxanique» [17], Le diabète sucré est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit [70] [71] , la solution mère d'alloxane à injecter est de 0,1g/ml, diluée dans de l'eau distillée. L'injection aux rats s'est faite par voie intra-péritonéale. 3 doses différentes ont été utilisées selon le tableau suivant :

Tableau 5 : Les doses d'alloxane injectés.

Les lots	Dose d'alloxane	Références
Lot (n 2)	250mg/kg	Normes du laboratoire .
Lot (n 3)	200mg/kg	[17][72]
Lot (n 4)	150mg/kg	[5][73][74][75][76][77][78][79] [80][81][82]

Après injection, les rats sont remis dans les cages et reçoivent systématiquement un libre accès à l'alimentation et une solution de 5% de glucose à boire pendant une nuit pour éviter le choc hypoglycémique [70] [71] [72] [78] [79] [82] .

2-4-2- Le diabète induit par la streptozocine

Après une mise à jeun pendant une nuit [2] [83] [84] [85] [86] [87], le diabète a été induit chez les rats par injection intra-péritonéale d'une dose unique de streptozocine (STZ), diluée dans un tampon citrate (0.1 mol/L, pH 4.5), et à raison de 60 mg/Kg du poids corporel [2] [89] [90] [84] [85] [86] [91] [87] [49] [92] [88] [93].

La streptozocine est capable d'induire une hypoglycémie fatale résultante d'une sécrétion pancréatique massive de l'insuline. Après l'administration de la streptozocine et pour prévenir à cet effet fatal, les rats reçoivent une solution glucosée à 5 % pendant une nuit [2] [72] [89] [85].

Le lendemain (9h à 11 h) les rats diabétiques par injection d'ALX et de STZ sont triés par dosage de la glycémie. Les rats qui présentent une glycémie supérieure à 180 mg/dl, sont transférés dans des cages métaboliques individuelles pour le contrôle de la consommation de nourriture, de l'eau et le contrôle du volume urinaire [49] [94].

B- Méthode analytique

2-5-Prélèvement de sang chez le rat

Pour l'exploration des autres paramètres, le prélèvement est réalisé au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil (région cartilagineuse richement vascularisée) à l'aide d'un capillaire à hématocrite préalablement plongé dans une solution d'EDTA (1%). Ces prélèvements sont effectués, sur des rats à jeun.

Le recueil de sang a été effectué respectivement sur tubes hépariné numérotés.

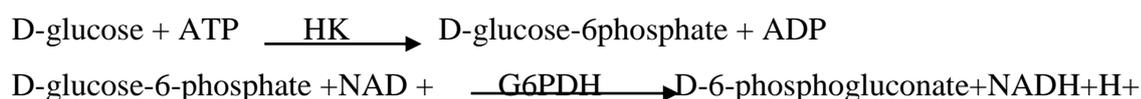
Cette opération est effectuée dans le but du dosage d'autres paramètres sériques de nos rats :

La glycémie, le cholestérol total, les triglycérides, les protéines totales, l'insulinémie. Ces dosages sont effectués au laboratoire d'analyses médicales IBN SINA Constantine.

2-5-1- Dosage du glucose

Méthode de référence enzymatique à l'hexokinase. Le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate par l'action de l'ATP et de l'hexokinase (HK).

Ensuite, une seconde enzyme, la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate par le NADP + pour former du NADH+H+.



La concentration de NADH formé est directement proportionnelle à la concentration du glucose. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

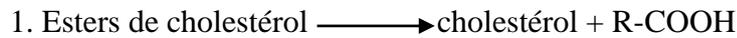
2-5-2- Dosage du cholestérol total

Méthode enzymatique colorimétrique : La cholestérol-estérase (CE) hydrolyse les esters du cholestérol pour former du cholestérol libre et des acides gras .Dans une réaction ultérieure catalysée par le cholestérol-oxydase.

Le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en cholestene-4one-3 avec formation d'eau oxygénée.

En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec l' amino-4phénazone (4-AAP) et le phénol avec formation d'un dérivé coloré rouge.

CE



CHOD



POD



L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 512 nm.

2-5-3-Dosage des triglycérides

Méthode enzymatique, colorimétrique (Gop/PAP) utilisant la glycerol-phosphate-oxydase et l' amino-4phénazone.

Les triglycerides sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase (LPL) en glycérol et acides gras.

Le glycérol est alors phosphorylé en glycérol-3phosphate par l'ATP lors d'une réaction catalysée par le glycérol kinase (GK). L'oxydation du glycérol-3-phosphate est catalysée par le glycérol phosphate-oxydase (GPO) pour former du dihydroxyacétone-phosphate et de l'eau oxygénée (H₂O₂).



2-5-4-Dosage des protéines totales

Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe pourpre caractéristique.

Les tétrades de potassium et de sodium empêchent la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium empêche l'auto-réduction du cuivre.



L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en protéines. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

2-5-5-Dosage du l'insulinémie

Est un dosage chimiluminescent immunométrique, enzymatique, en phase solide. La phase solide (bille) est revêtue d'anticorps monoclonaux murins anti-insuline.

La phase liquide est composée de phosphatase alcaline (intestins de veau) associée à des anticorps polyclonaux ovins anti-insuline, ainsi que de phosphatase alcaline (intestins de veau) associée à des anticorps monoclonaux murins anti-insuline .

L'échantillon du patient et le réactif sont mis à incuber avec la bille revêtue pendant 60 minutes . Pendant ce temps, l'insuline contenue dans l'échantillon forme un complexe d'anticorps de type «sandwich» avec, sur la bille, les anticorps monoclonaux murins anti-insuline et, dans le réactif, les anticorps polyclonaux ovins anti-insuline et les anticorps monoclonaux murins anti-insuline tous deux associés aux enzymes.

L'échantillon non lié du patient et le conjugué enzymatique sont ensuite éliminés par lavages avec centrifugation.

Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté au godet réactionnel qui contient la bille et le signal est généré proportionnellement à l'enzyme liée.

C-Analyse histologique

L'étude histologique du pancréas a été réalisée à la fin des dosages biochimiques, après sacrifice des animaux.

2-6-1- Dissection des rats

Le rat a été anesthésié durant 2à3 minutes sous une cloche expérimentale pour rongeurs de laboratoire et hermétiquement fermée. Il est posé face dorsale contre le liège, les membres sont étirés et fixés en extension. Ensuite nous avons procédé aux incisions cutanées et musculaires ventralement pour avoir accès aux organes.

2-6-2- Prélèvements des organes

Le pancréas est rapidement prélevé pour éviter son autolyse qui s'effectue après quelques instants de la mort de l'animal et mis dans des boîtes à pétri , lavé plusieurs fois à

l'eau physiologique puis débarrassé de tout tissu adjacent et élément sanguin et enfin coupé en morceaux de 1cm.

2-6-3- Traitement des organes

A- Fixation des organes

C'est l'étape la plus importante qui permet de produire de bonnes coupes histologiques. Il s'agit de conserver aussi exactement que possible les éléments histologiques pour respecter la structure tissulaire.

Les liquides fixateurs sont très nombreux, nous avons utilisé le Bouin ; il est utilisé pour les pièces histologiques, de petite taille préférentiellement en première intention (pénétration lente). Convient à la microscopie optique uniquement.

B- Lavage, déshydratation

Les organes sont retirés du pilulier, et mis dans 3 bains de lavage d'eau distillé stérile pendant 5 minutes chacun pour les débarrasser de l'excès du fixateur.

Les pièces doivent être soigneusement déshydratées avant leur inclusion dans la paraffine.

La déshydratation est réalisée manuellement par une série des bains successifs d'alcool à concentration croissante (50%, 70%, 95% et trois fois 100%) pendant 20 minutes chacun, afin d'enlever complètement l'eau des tissus.

C- Réalisation des blocs (inclusion)

Le but de cette opération est de faire pénétrer dans les pièces une substance semi dure : la paraffine, de façon à créer une homogénéité de consistance favorable pour la coupe tout en respectant l'intégrité des tissus.

Le paraffinage a lieu grâce à un appareil d'inclusion (Leica EG 1160).

Placer les échantillons dans le 1ere moule métallique (1ere bain) contenant les cassettes identifiées dans l'appareil d'inclusion muni d'un compartiment alimenté en chaleur pour faire

couler la paraffine (56°-58°). A la fin du bain transvaser l'échantillon dans le bécher suivant et laisser à nouveau 40 minutes, effectuer un 3^{ème} bain dans les mêmes conditions.

A la fin du 3^{ème} bain les pièces couvertes de paraffine liquide, sont laissées refroidir sur une plaque à froid, ainsi, on obtient les blocs qui seront utilisés pour donner de fine coupes. Les blocs sont conservés au froid jusqu'à la coupe des pièces.

D- Coupe des organes

Cette étape permet d'obtenir des coupes destinées à l'examen au microscope. Ces coupes doivent être assez complexes permettant de faire passer les pièces à couper devant le rasoir, à chaque passage celui-ci enlève une tranche d'épaisseur réglable (4-6µm).

Mettre en place sur le microtome (Leica RM 2125 RT) la cassette, convenablement orienté, pour présenter correctement la face à couper devant le rasoir. Celui-ci est à son tour placé et orienté de façon à attaquer la pièce après quelques passages.

Pour enlever l'excès de paraffine, lorsque la pièce est affranchie et qu'elle paraît complète dans la coupe sur toute son étendue, on règle l'épaisseur de couper avec le dispositif spécial. Le mouvement remis en marche, à chaque passage de la pièce, il se fait une coupe (4-6 µm d'épaisseur) qui se colle automatiquement au bord de la coupe précédente. On obtient ainsi un ruban de coupe.

Le ruban fractionné est posé à la surface de l'eau par un léger mouvement de balayage dans un bain-marie (Tissu-TEK.II) où la température devra être de 5-9°C. Laisser la coupe à la surface de l'eau juste le temps nécessaire pour l'aplanir.

Avant de placer les lames à l'étuve (Jouan N1070), égouttez-les brièvement verticalement pour retirer l'excédent d'eau, puis séchez les lames à plat sur une plaque chaude (Labonord), et finalement les lames peuvent être rangées dans des racks en positions droite, puis séchées à l'étuve. Généralement, les températures ne devront pas excéder 65°C pendant 10 à 30 minutes.

Les lames ont été toutes marquées sur leur bord par un stylo à diamant.

E- Coloration

Les colorations sont réalisées à l'aide de colorants donc ne fonctionnant que sur des tissus hydratés. Les lames doivent donc être déparaffinées avant leur réhydratation dans des bains décroissant de l'alcool.

- **Déparaffinage des coupes**

Plonger les lames dans 6 bains de xylène 2minutes chacun, pour dissoudre la paraffine.

- **Réhydratation des coupes**

Pour faire disparaître le xylène faire passer la lame dans 3 bains d'alcool absolu 100% puis un bain de 95% pendant 2 minutes chacun, faire passer les lames dans l'eau courante pendant 2 minutes.

- **Coloration à l'hématoxyline**

Les coupes étant bien hydratées par l'eau, on les plonge dans un bain d'hématoxyline pendant 2 minutes, faire un lavage à l'eau courante.

L'hématoxyline est un colorant basique, colore les structures acides de la cellule en bleu violacé (exp : ribosomes, noyau) .

- **Coloration à l'éosine**

Plonger les lames dans le bain d'éosine pendant 2 minutes, puis effectuer un lavage à l'eau courante 2 bains successifs.

L'éosine est un colorant acide et donc colore les structures basiques de la cellule (exp : la plupart des protéines cytoplasmiques et donc le cytoplasme) en rouge ou en rose.

F- Déshydratation

Faire passer les lames dans l'alcool absolu 100% deux fois, 95%, puis dans le xylène (3 bains), ensuite on fait le montage.

G- Montage

Déposer une goutte d'une solution permettant l'adhésion (eukit) sur la lame, et recouvrir d'une lamelle couvre-objet propre et sèche en l'inclinant progressivement de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'aires.

La solution ne doit pas déborder, la lamelle est adhérente et la préparation prête pour l'observation microscopique.

2-6-4-Observation au microscope

Les coupes sont observées au microscope optique équipé d'un appareil Photographique à différents grossissements.

D- Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés en moyenne \pm écart type. Ils sont traités par le logiciel SPSS version 20. Ils sont soumis à une analyse de la variance ANOVA à un facteur suivi du test de DUNETT.

La valeur trouvée peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns
- $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative*
- $0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative**
- $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative***

Résultat

1- Évolution du poids corporel

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. Le poids des animaux a été suivi tout au long de notre étude : avant l'injection (alloxane et streptozocine), et pendant la phase diabétique.

La variation du poids corporel moyen des rats des 5 lots est représentée dans le tableau 6 (chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart-type) et illustré dans (Fig.15).

Tableau 6 : Évolution du poids corporel moyen en grammes des 5 lots.

L'injection



Les lots	1 ^{ère} mesure	2 ^{ème} mesure	3 ^{ème} mesure	4 ^{ème} mesure après 24 h	5 ^{ème} mesure après 48 h	6 ^{ème} mesure après 72 h
Lot1 : Témoin	203,90 \pm 26,61	204,73 \pm 27,63	209,93 \pm 29,98	210,66 \pm 28,45	212,40 \pm 28,23	214,16 \pm 28,55
Lot2 : ALX 250mg/kg	201,57 \pm 21,13	204,90 \pm 20,34	210,60 \pm 18,09	221,62 \pm 28,09	211,51 \pm 29,71	
Lot3 : ALX 200mg/kg	175,50 \pm 23,29	188,16 \pm 23,69	196,83 \pm 25,00	207,83 \pm 22,19	206,43 \pm 19,03	189,93 \pm 14,55
Lot4 : ALX 150mg/kg	172,16 \pm 15,63	190,33 \pm 17,64	193,16 \pm 17,97	200,33 \pm 18,25	202,10 \pm 19,11	198,93 \pm 18,47
Lot5 : STZ 60mg/kg	178,26 \pm 16,96	183,51 \pm 16,90	188,75 \pm 15,43	189,51 \pm 18,56	178,35 \pm 26,85	

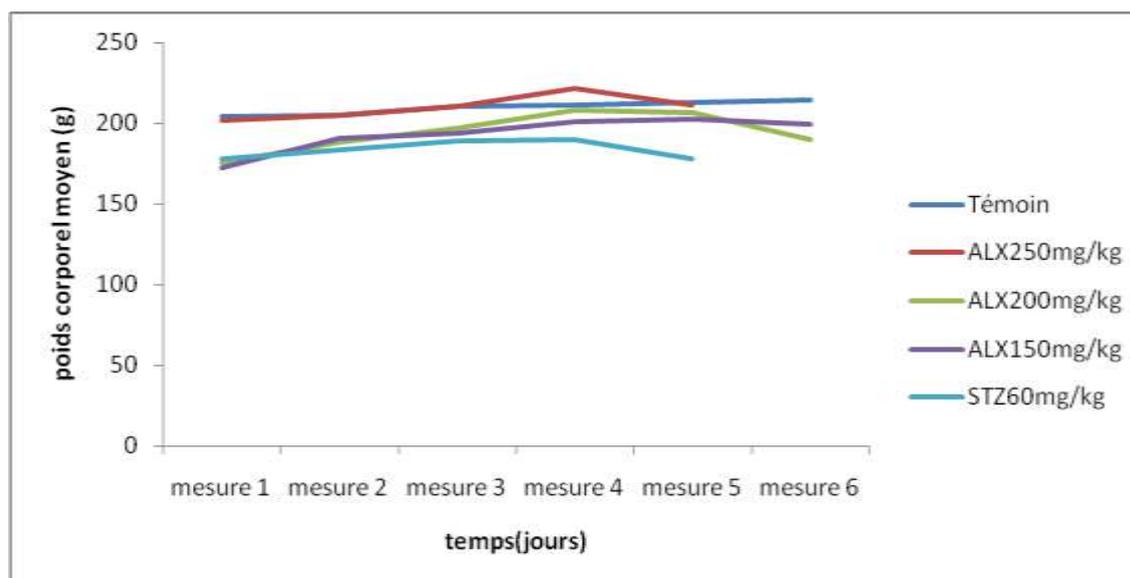


Figure 15 : Variation du poids corporel moyen (g) des 5 lots de rats en fonction du temps.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré un gain régulier du poids corporel des rats normaux témoins, les valeurs moyennes du poids corporel passent de 203,90g en début d'expérimentation à 214,16g en fin de cette étude.

Avant l'injection de l'ALX et de la STZ nous avons noté une augmentation du poids corporel chez les rats (ALX250mg/kg, ALX200mg/kg, ALX150mg/kg, STZ60mg/kg).

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que l'injection de l'ALX et la STZ induisait une perte du poids corporel chez les groupes de rats (ALX250mg/kg, ALX200mg/kg, ALX150mg/kg, STZ60mg/kg).

Nous avons souligné une légère perte du poids corporel après 48 h de l'injection de l'ALX et de la STZ Chez les rats (ALX250mg/kg, STZ60mg/kg), de l'ordre (221,62g à 211,51g) et (189,51g à 178,35g) respectivement.

Par ailleurs, les groupes (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg) a subit durant les 72h une diminution du poids corporel de l'ordre (207,83g à 189,93g) et (202,10g à 198,93g) respectivement.

Toutes ces observations restent statistiquement non significatives.

1- Suivi de la glycémie des animaux

Le suivi de la glycémie nous a donné les résultats représentés dans le tableau suivant (chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart-type) (Fig.16).

Tableau 7 : Évolution de la glycémie en g/l des rats des 5 lots.

L'injection

↓

	1 ^{ère} mesure	2 ^{ème} mesure	3 ^{ème} mesure	4 ^{ème} mesure après 24 h	5 ^{ème} mesure après 48 h	6 ^{ème} mesure après 72 h
Lot1 : Témoin	0,81 \pm ,21	0,83 \pm ,26	1,06 \pm ,17	0,96 \pm ,18	0,93 \pm ,16	0,90 \pm ,15
Lot2 : ALX 250mg/kg	1,01 \pm ,13	1,09 \pm ,20	0,98 \pm ,13	0,73 \pm ,51	5,09 \pm 1,97	
Lot3 : ALX 200mg/kg	0,98 \pm ,15	0,87 \pm ,09	0,87 \pm ,11	1,04 \pm ,10	1,13 \pm ,08	1,43 \pm ,38
Lot4 : ALX 150mg/kg	0,80 \pm ,12	0,87 \pm ,12	0,85 \pm ,07	1,10 \pm ,15	1,55 \pm ,56	1,69 \pm ,75
Lot5 : STZ 60mg/kg	1,04 \pm ,20	1,00 \pm ,23	1,11 \pm ,17	2,75 \pm 2,15	3,94 \pm 2,77	

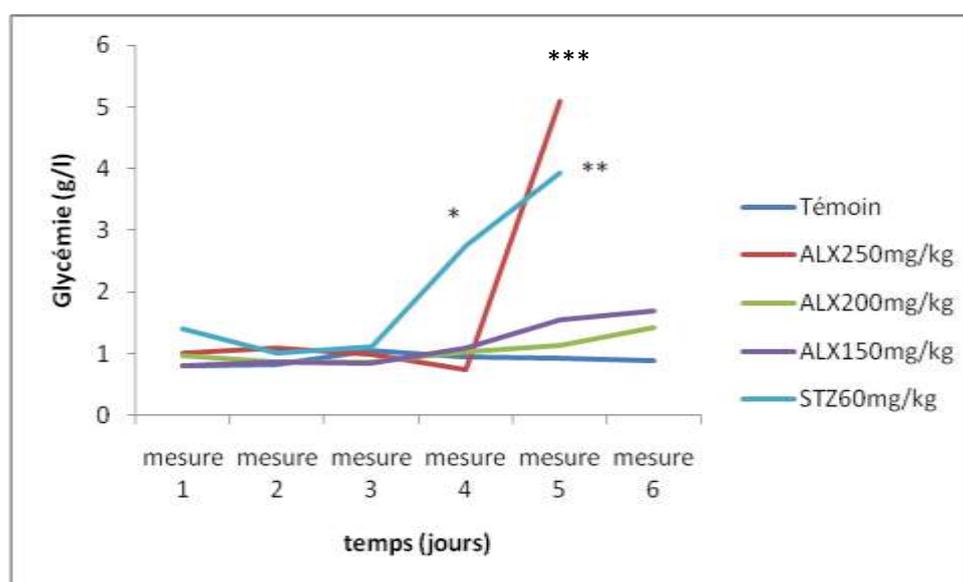


Figure 16 : Variation de la glycémie (g/l) des 5 lots de rats en fonction du temps.

Après analyse de ces résultats, nous constatons pour ce qui concerne les rats témoins aucun changement significatif de la glycémie n'a été remarqué. Celle-ci reste dans la limite normale.

Tandis que pour les 4 autres lots, avant l'injection, la glycémie n'a pas subi de variation significative $p > 0,05$, par contre après l'injection nous avons observé de variations importantes dans la glycémie.

Pour le lot (ALX 250mg/kg) : on observe une diminution non significative de leurs glycémies (0,73g/l), dès 24 heures de l'injection, cette hypoglycémie entraînant la mort de un rat de ce lot. Après ce point on observe une ré-augmentation de la glycémie (5,09g/l).

Cette augmentation est très hautement significative ($p < 0,001$) après 48 heures de l'injection comparée au début de l'étude où les rats n'étaient pas diabétiques.

Pour les lots (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg) l'hyperglycémie non significative ($p > 0,05$) ne s'est exprimée qu'après 72 heures. De l'ordre de (de 0,98 au 1,34 g/l) et (0,80 au 1,69g/l) respectivement.

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que la STZ (60mg/kg) provoquait après 24 heures de son injection, une augmentation significative ($p < 0,05$) de la glycémie (2,75g/l) et une hyperglycémie très significative de (3,94 g) après 48 heures de son injection.

3- Étude des paramètres sanguins

3-1- L'insulinémie

Tableau 8: Variation de l'insulinémie ($\mu\text{u/mL}$) après l'injection chez les 5 lots

Les lots	L'insulinémie($\mu\text{u/mL}$)
Témoins	1,99 \pm 0,00
ALX 250mg/kg	24,25 \pm 55,52
ALX 200mg/kg	2,77 \pm 2,58
ALX 150mg/kg	2,06 \pm 0,18
STZ 60 mg/kg	2,38 \pm 1,97

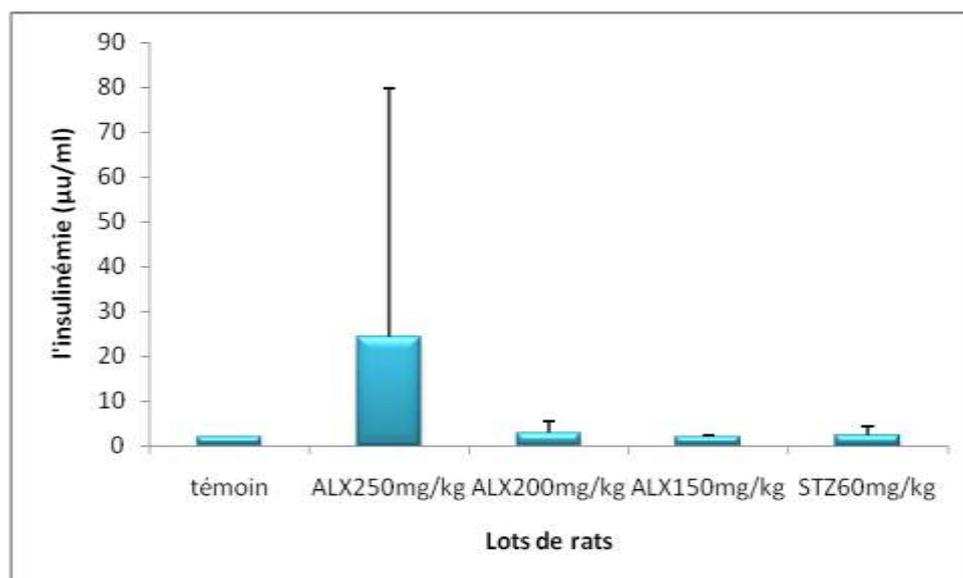


Figure 17 : Variation de l'insulinémie (µu/ml) après l'injection chez les 5 lots.

Nous avons enregistré une augmentation non significative du taux de l'insuline plasmatique, supérieure aux valeurs de lot témoin ($1,99\pm 0,00$ µu/mL), de l'ordre de ($24,25\pm 55,52$ µu/mL et $2,77\pm 2,58$ µu/mL et $2,06\pm 0,18$ µu/mL et $2,38\pm 1,97$ µu/mL) chez les rats des 4 lots (ALX250mg/kg, ALX200mg/kg, ALX150mg/kg et STZ60mg/kg) respectivement.

3-2- Le cholestérol total

Tableau 9 : Variation de la cholestérolémie (g/l) après l'injection chez les 5 lots

LES LOTS	Cholestérol total (g/l)
Témoins	0,56±0,14
ALX 250mg/kg	0,68±0,14
ALX 200mg/kg	1,01±0,33
ALX 150mg/kg	0,75±0,07
STZ 60mg/kg	0,63±0,08

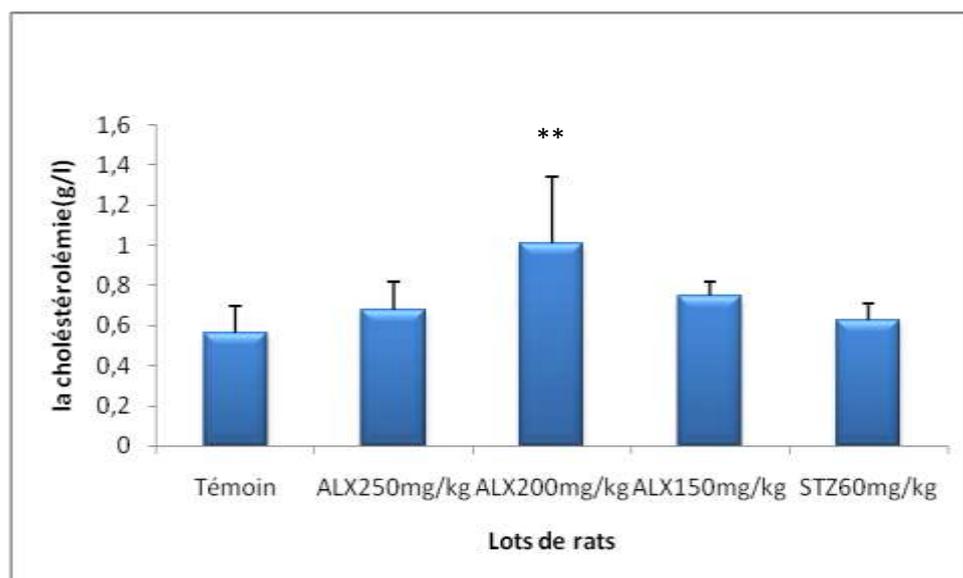


Figure 18: Variation de la cholestérolémie (g/l) après l’injection chez les 5 lots.

Nous avons souligné une augmentation hautement significative de la cholestérolémie chez les rats diabétiques (ALX200mg/kg), de l’ordre de (1,01±0,33g/l) par rapport aux rats normaux (0,56±0,14g/l).

La cholestérolémie des rats des 3 lots diabétiques (ALX250mg/kg, ALX150mg/kg et STZ60mg/kg) a augmenté respectivement de manière non significative ($p > 0.05$) comparativement au lot témoin.

3-3- Triglycerides

Tableau 10 : Variation de Triglycerdémie (g/l) après l’injection chez les 5 lots

Les lots	Triglycerides (g/l)
Témoins	0,66±0,16
ALX 250mg/kg	1,31±0,72
ALX200mg/kg	0,50±0,21
ALX 150mg/kg	0,41±0,14
STZ 60mg/kg	0,64±0,46

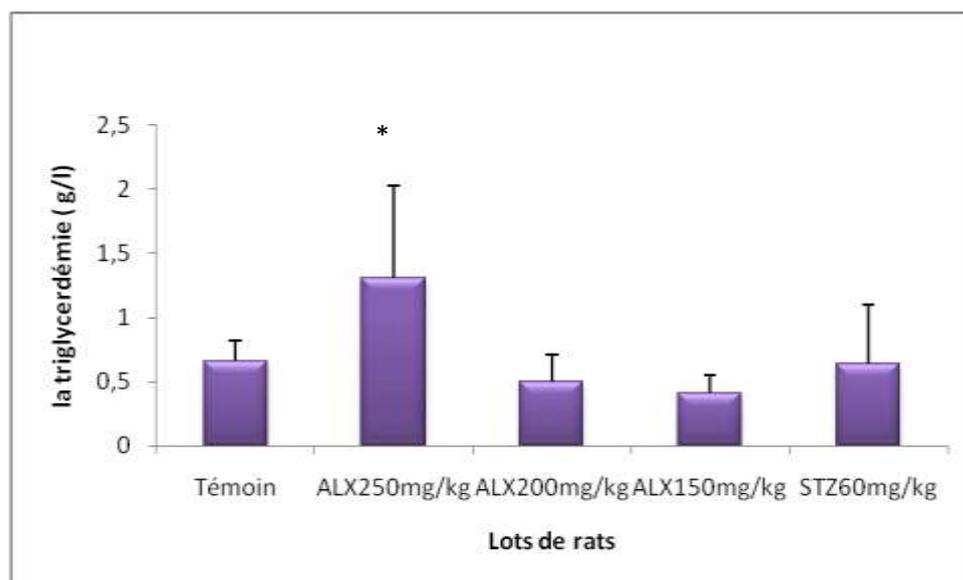


Figure 19: Variation de la triglycérémie (g/l) après l’injection chez les 5 lots.

Les résultats montrent que la triglycérémie des rats de lots diabétiques (ALX250 mg/kg) a augmenté de $1,31 \pm 0,72 \text{ g/l}$ et ce de manière significative ($p < 0,05$) comparativement au lot témoin. Par contre pour les rats diabétiques (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg et STZ60mg/kg) et témoins, nous n’avons remarqué aucun changement significatif de la triglycérémie.

3-4- Protéines totales

Tableau 11 : Variation de la protéinémie (g/l) après l’injection chez les 5 lots.

LES LOTS	Protéines totales(g/l)
Témoins	68,71±2,80
ALX 250mg/kg	66,22±5,79
ALX 200mg/kg	69,16±5,05
ALX150mg/kg	66,06±2,45
STZ 60mg/kg	72,51±4,10

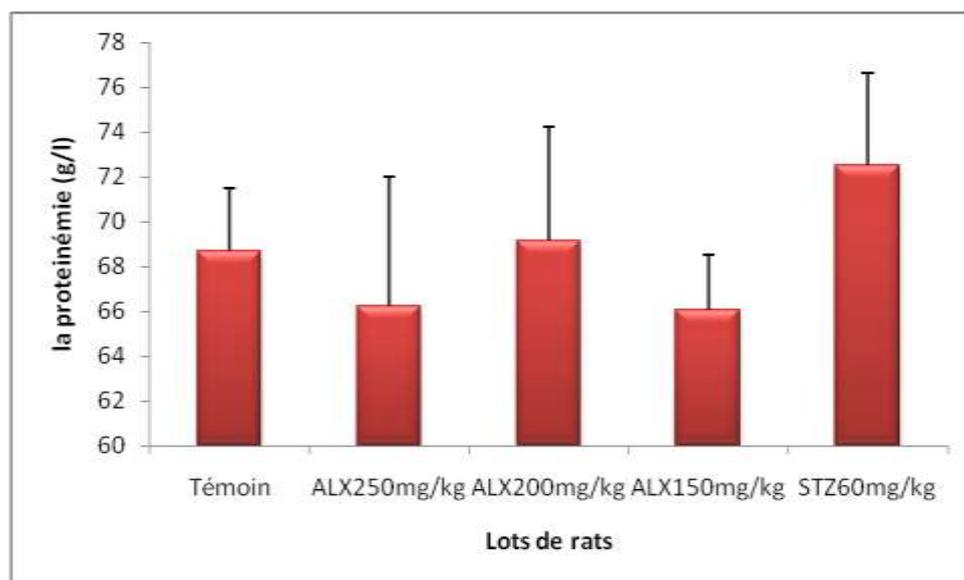


Figure 20: Variation de la protéinémie (g/l) après l’injection chez les 5 lots.

Les résultats montrent que les concentrations sériques des protéines totales ont été très voisines chez les 5 groupes expérimentaux.

L’étude statistique de ces résultats n’a révélée aucune différence significative ($p > 0,05$).

4-Effets de l’alloxane et la streptozocine sur les paramètres métaboliques

Nous avons étudié les effets de l’alloxane et la streptozocine sur certains paramètres résumés dans le tableau 12. Cette manipulation a été réalisée après isolement des rats témoins et ceux rendus diabétiques individuellement dans des cages métaboliques.

Tableau 12 : Effet d’alloxane et la streptozocine sur les paramètres métaboliques.

Etat des rats	Volume urinaire (ml)	Consommation d’eau (ml)	Consommation de nourriture (g)
Témoins	9,83 ± 6,98	10 ± 6	13,75 ± 1,17
ALX (250mg/kg)	21 ± 3,57	36 ,66 ± 5 ,16	25,33 ± 4,67
ALX (200mg/kg)	21,66 ± 1,96	10 ,66 ± 1,03	11 ± 2,19
ALX (150mg/kg)	21,5 ± 1,51	11 ± 2	13,66 ± 3,66
STZ (60mg/kg)	20 ± 10,95	35 ± 10	18,56 ± 6,20

4-1- Volume urinaire

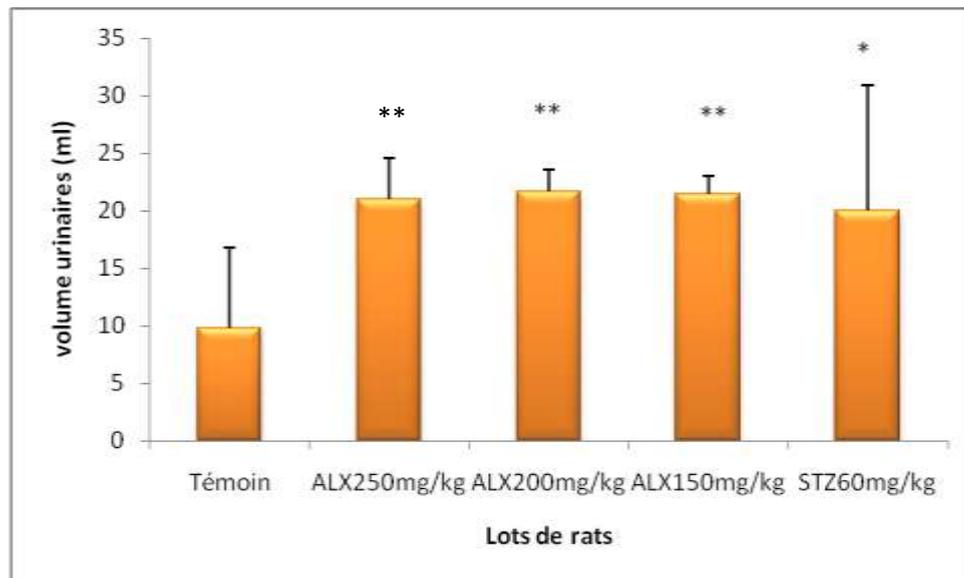


Figure 21 : Variation du volume urinaire (ml) des 5 lots de rats en fonction du temps.

Nous avons souligné une augmentation hautement significative du volume urinaires chez les rats diabétiques (ALX250mg/kg, ALX200mg/kg et ALX150mg/kg) et une augmentation significative chez les rats diabétiques (STZ60mg/kg) par rapport aux rats normaux.

4-2- Consommation d'eau

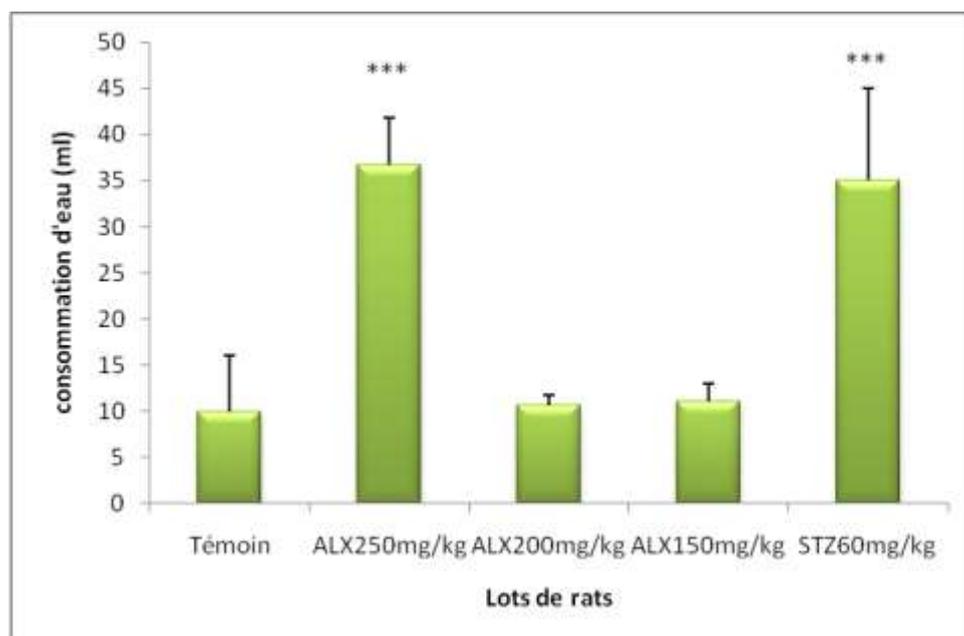


Figure 22: Variation de la consommation d'eau (ml) des 5 lots de rats en fonction du temps.

Les résultats montrent que la consommation d'eau des rats de lots diabétiques (ALX250mg/kg et STZ60mg/kg) a augmenté de manière très hautement significative comparativement au lot témoin, par contre pour les rats diabétiques (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg et STZ60mg/kg), nous n'avons remarqué aucun changement significatif de consommation d'eau.

4-3-Consommation de nourriture

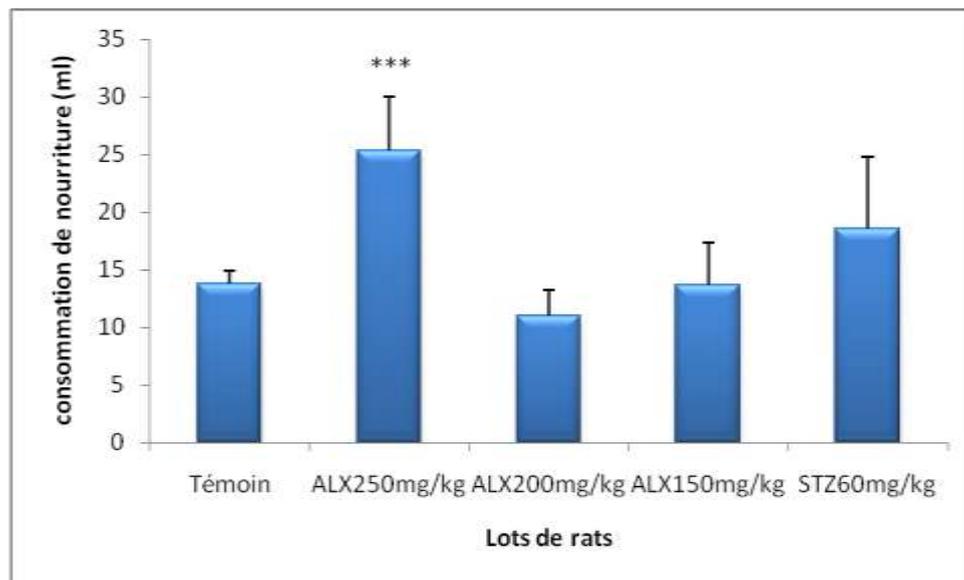


Figure 23 : Variation de la consommation de nourriture (g) des 5 lots de rats en fonction du temps.

Les résultats montrent que la consommation de nourriture des rats de lots diabétiques (ALX 250mg/kg) a augmenté de manière très hautement significative ($p < 0.001$) comparativement au lot témoin par contre pour les rats diabétiques (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg et STZ60mg/kg) et témoins, nous n'avons remarqué aucun changement significatif de la consommation de nourriture.

5-Etude histologique

5-1-Lot témoin

acini

îlots de
langerhans

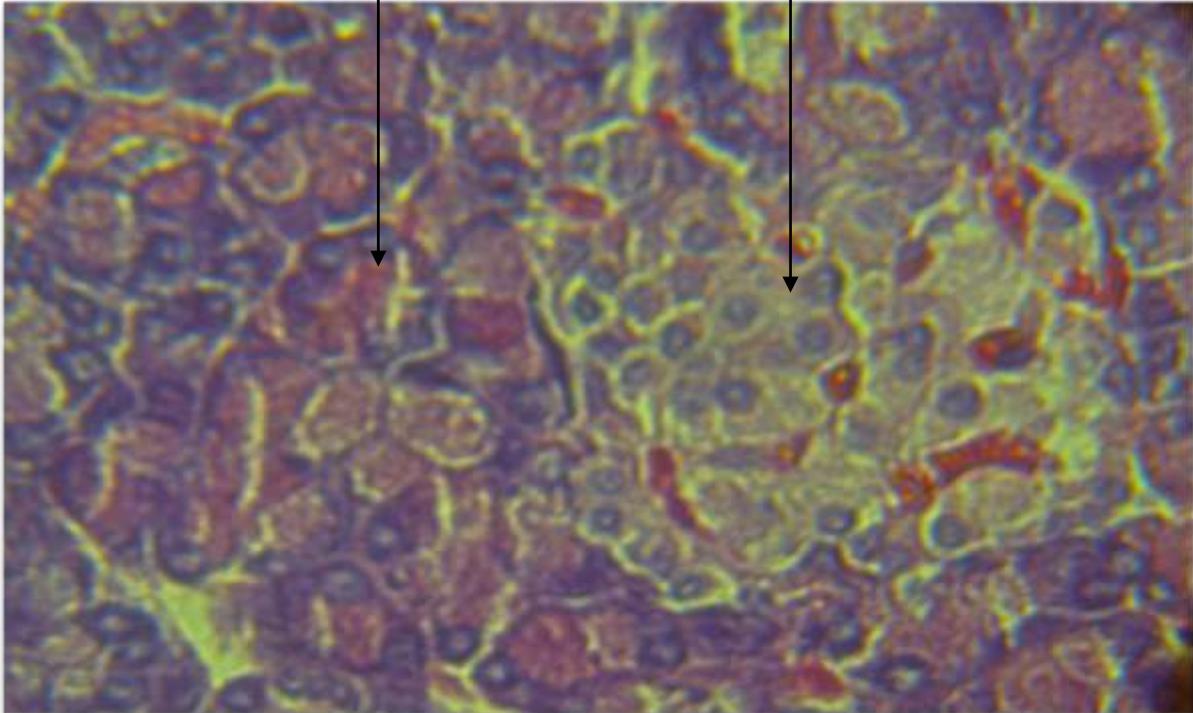


Figure 24 : Tissu pancréatique du rat témoin [Coloration par l'hématoxyline +éosine. (X400s).

5-2- Etude de l'effet d'alloxane sur le pancréas endocrine

5-2-1-Effet de 150mg/kg d'alloxane

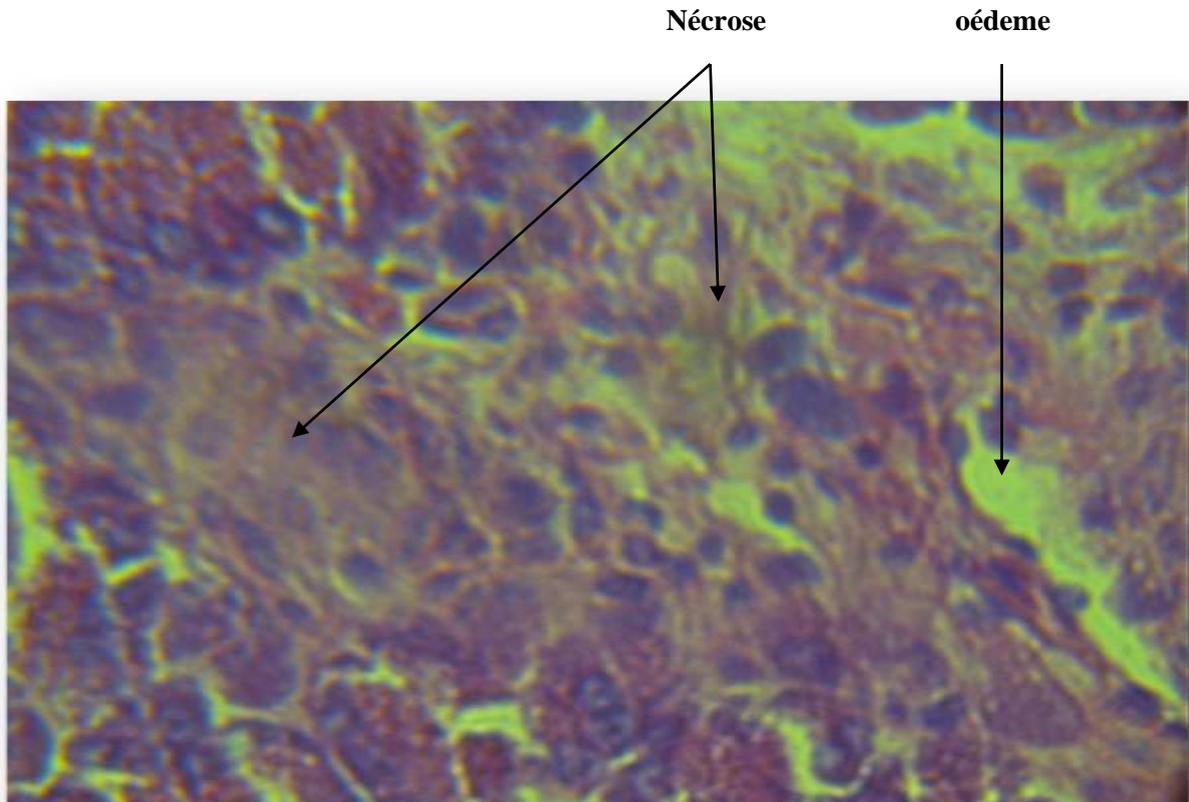


Figure 25 : Tissu pancréatique du rat injecté par 150 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s).

Nécrose de la limite
réticuline

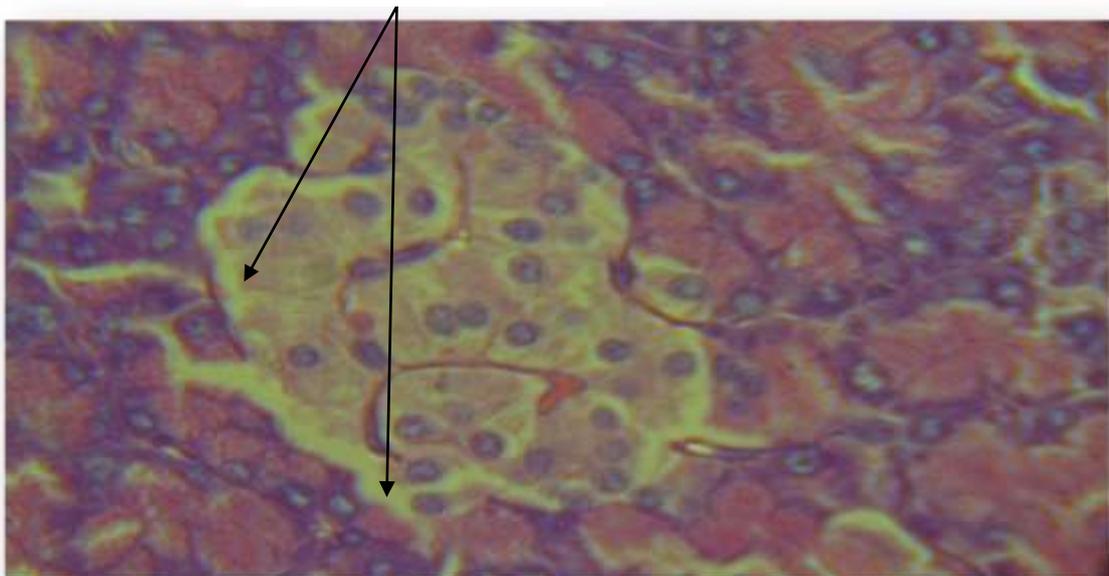


Figure 26 : Tissu pancréatique du rat injecté par 150 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s).

5-2-2-Effet de 200mg/kg d'alloxane

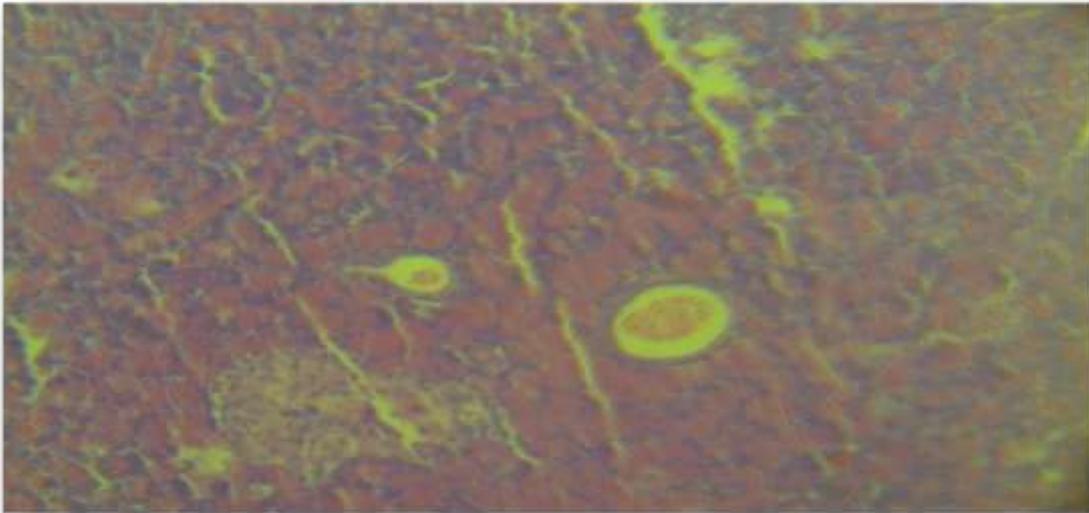


Figure 27 : Tissu pancréatique du rat injecté par 200 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X100s)

**Regroupement des
nouveaux**

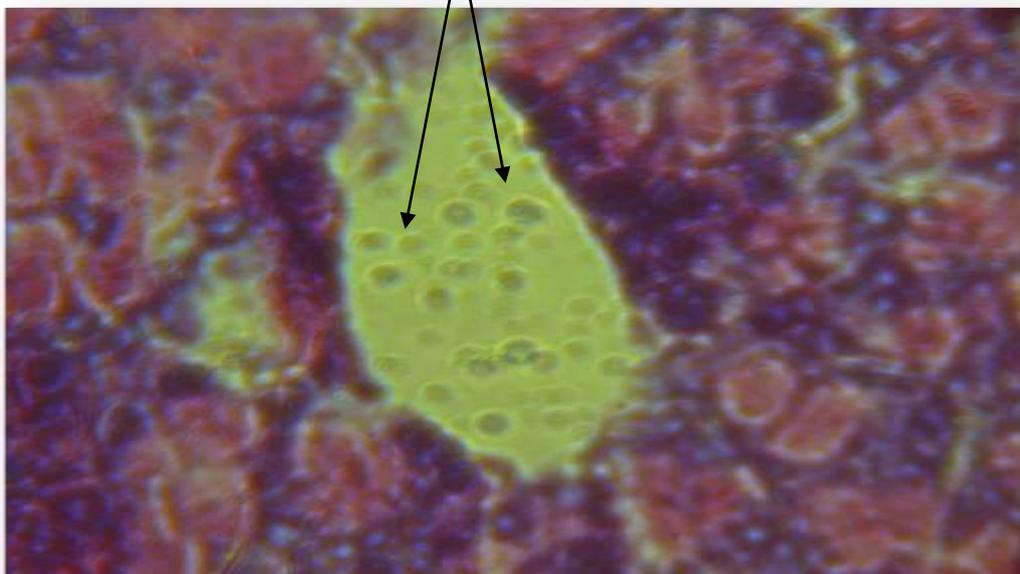


Figure 28: Tissu pancréatique du rat injecté par 200 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s).

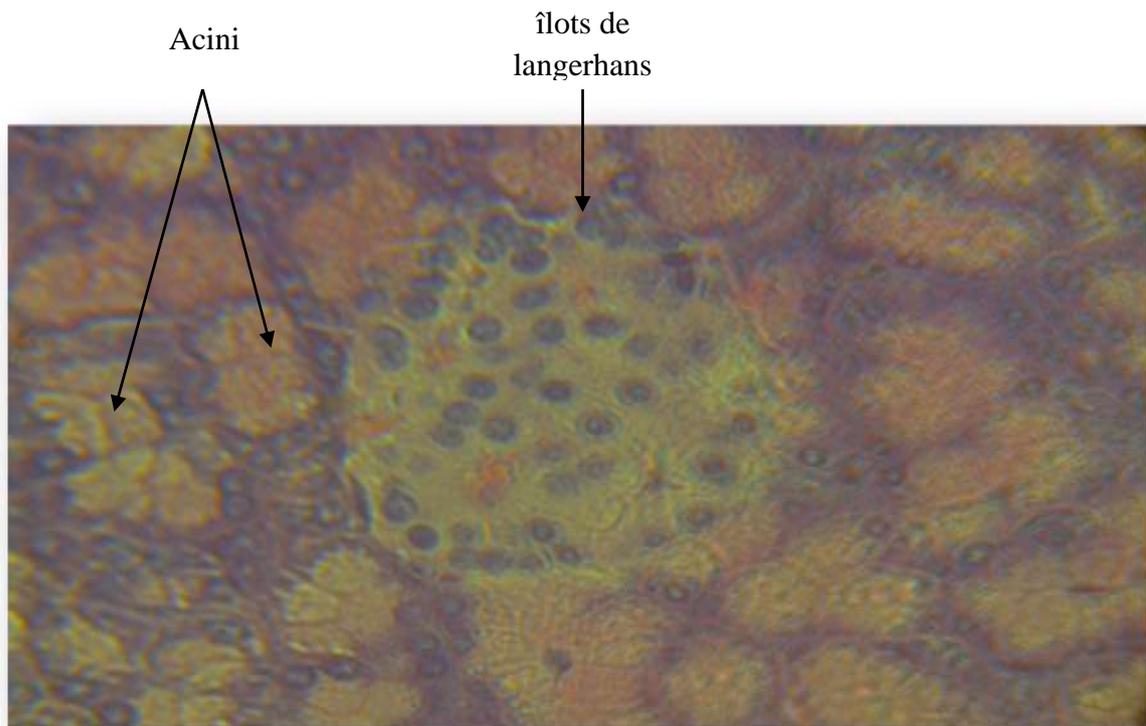


Figure 29 : Tissu pancréatique du rat injecté par 200 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine] (X 400S)

5-2-3-Effet de 250 mg/kg d'alloxane

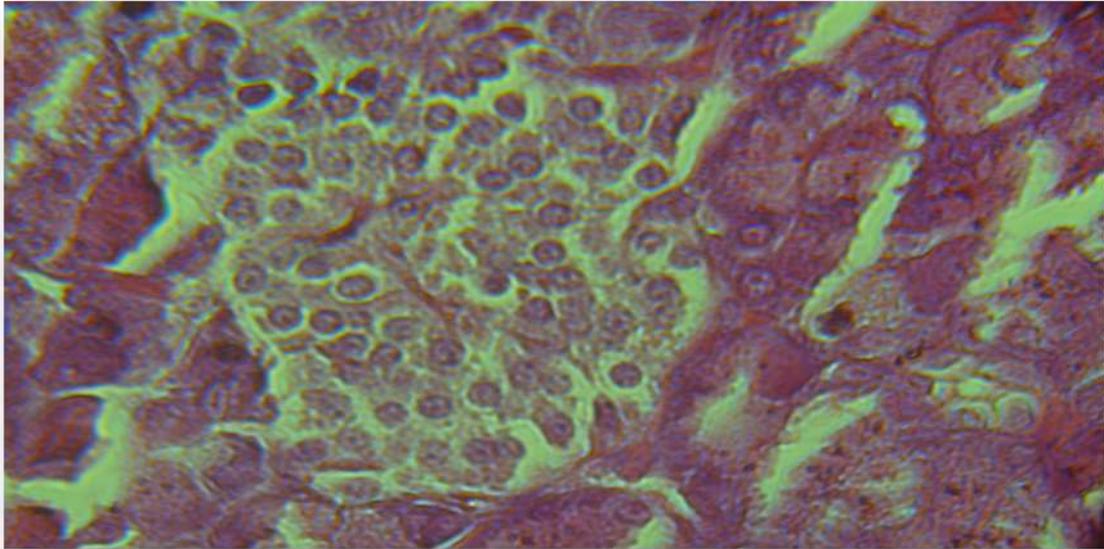


Figure 30 : Tissu pancréatique du rat injecté par 250 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine. (X400s).

Nécrose

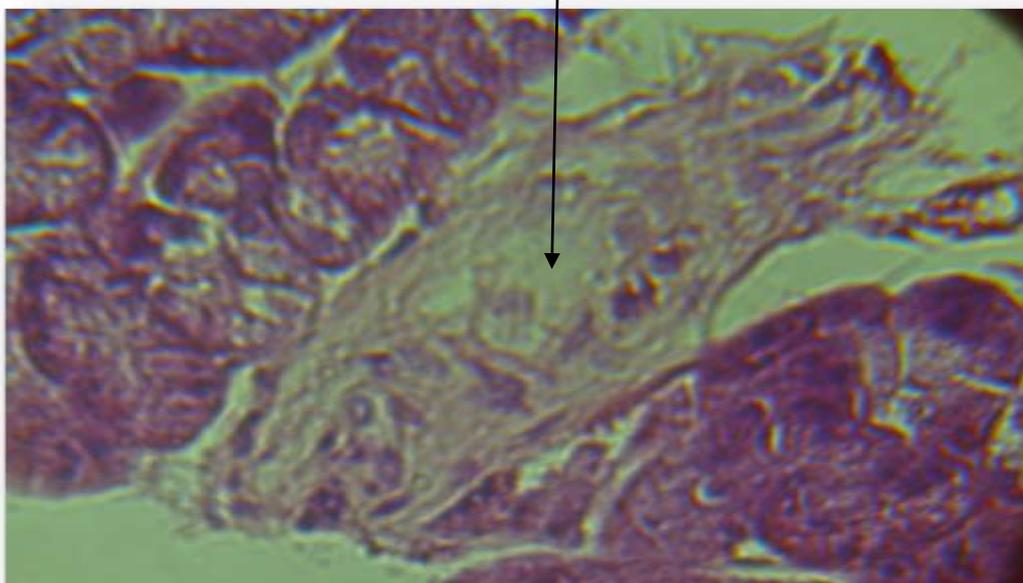


Figure 31 : Tissu pancréatique du rat injecté par 250 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s)

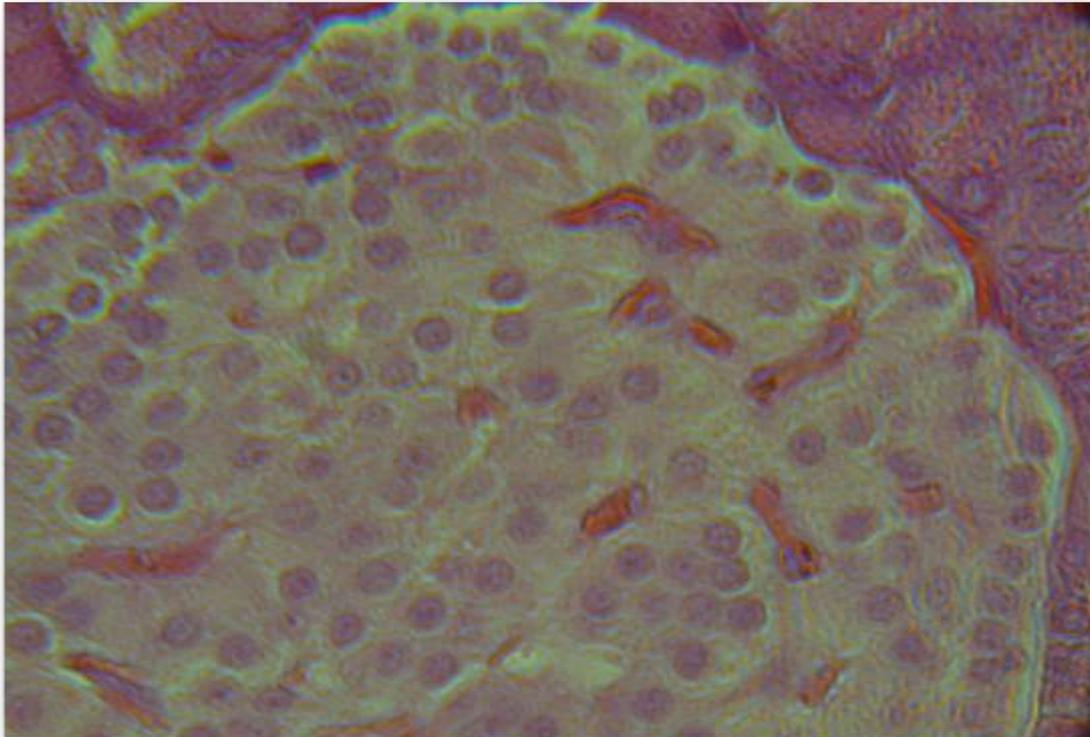


Figure 32 : Tissu pancréatique du rat injecté par 250 mg/kg d'alloxane [Coloration par l'hématoxyline +éosine. (X400s).

5-3- Etude de l'effet de streptozocine sur le pancréas endocrine

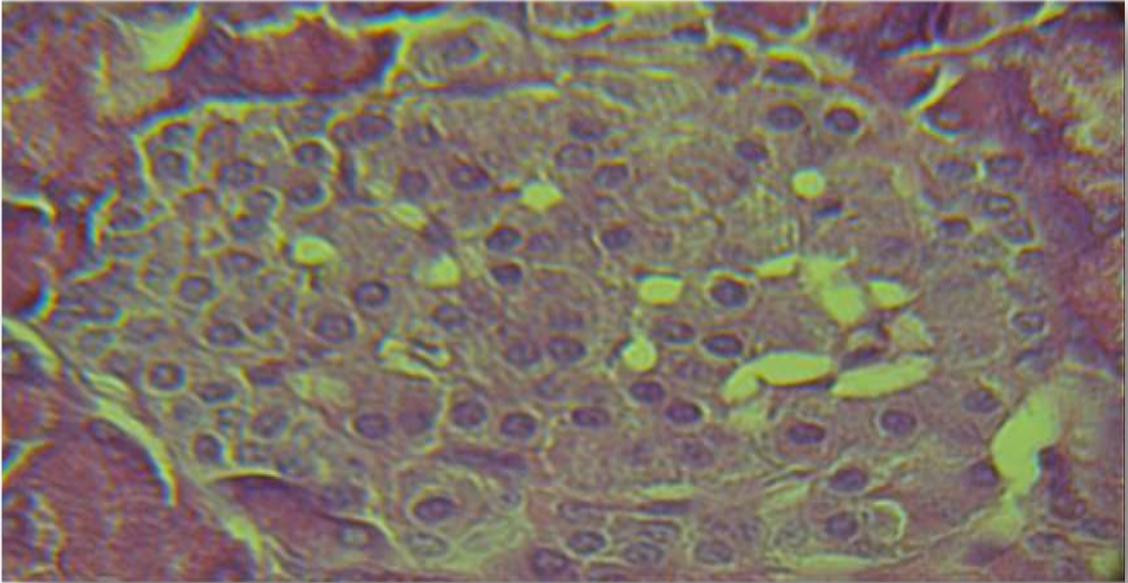


Figure 33: Tissu pancréatique du rat injecté par 60 mg/kg de streptozocine [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s).

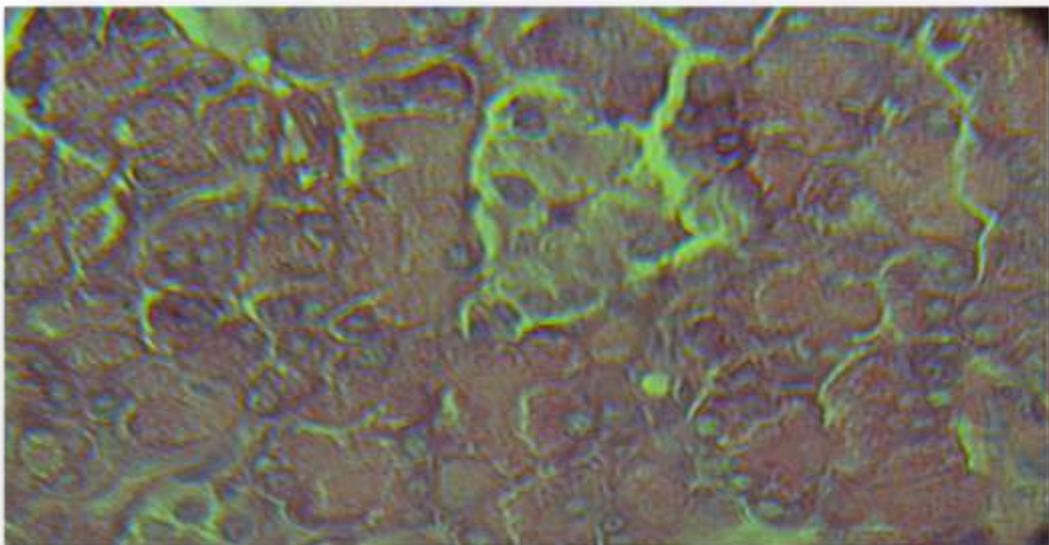


Figure 34: Tissu pancréatique du rat injecté par 60 mg/kg de streptozocine [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s).

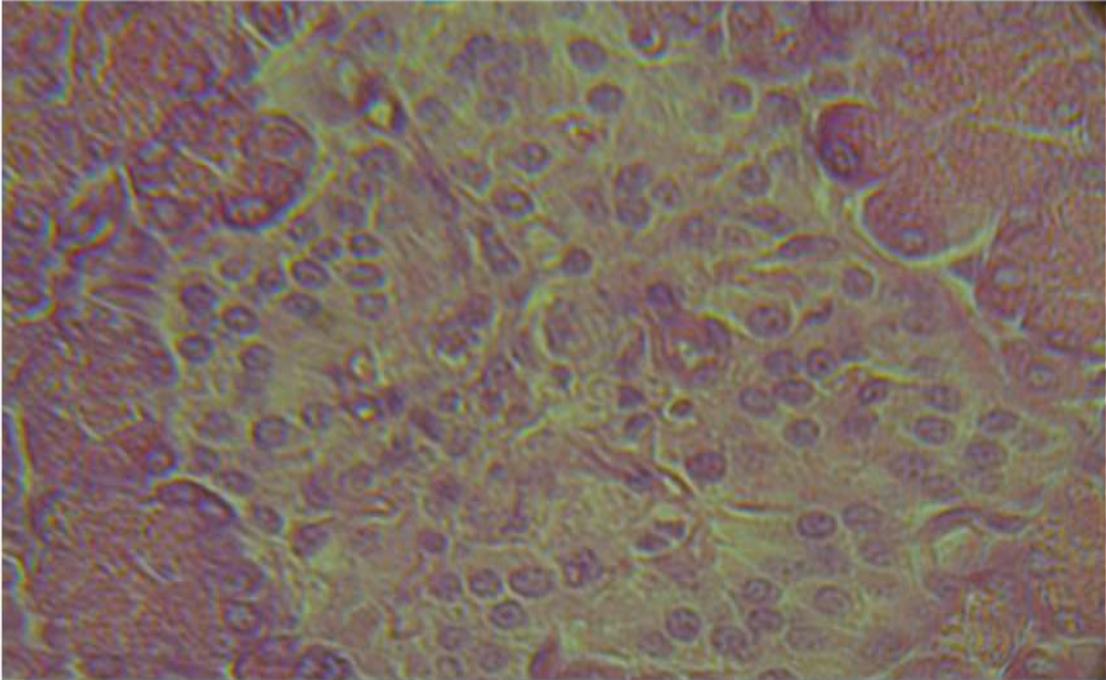


Figure 35: Tissu pancréatique du rat injecté par 60 mg/kg de streptozocine [Coloration par l'hématoxyline +éosine]. (X400s).

Discussion

Le diabète sucré est un groupe de troubles métaboliques caractérisé par une hyperglycémie [84].

Ces troubles métaboliques comprennent l'altération dans le métabolisme des glucides, des graisses et des protéines associées à des carences absolues ou relatives à des sécrétions d'insuline et / ou de l'action de l'insuline [84].

L'induction du diabète expérimental sucré dans des modèles animaux est essentielle pour la promotion de la connaissance et la compréhension des divers aspects de la pathogénie, [95] dont le but final est la mise au point de nouvelles thérapies.

Actuellement, les deux produits chimiques les plus largement utilisés pour induire le diabète expérimental sont l'alloxane et la streptozocine [96].

Jusqu'à 2010 la STZ aurait été utilisée dans 69% dans des modèles animaux de diabète induit chimiquement, alors que l'alloxane a été le deuxième le plus couramment utilisé chimiquement avec 31% [97].

L'alloxane et la streptozocine sont des analogues du glucose toxiques qui s'accumulent préférentiellement dans les cellules β pancréatiques par l'intermédiaire du transporteur du glucose GLUT2. Leurs actions diabétogènes sont dues à la capacité de détruire les cellules β pancréatiques [96].

La principale cause de la mort des cellules β induite par la STZ est l'alkylation de l'ADN par le groupement de nitroso-urée de ce composé, cependant, la production de NO et les espèces réactives de l'oxygène peut également être impliqué dans la fragmentation de l'ADN et d'autres effets délétères de la STZ [3].

L'alloxane provoque le diabète chez les animaux par sa capacité à détruire les cellules bêta productrices d'insuline du pancréas, il inhibe les enzymes thiol-dépendants telles que la glucokinase et l'hexokinase [98].

L'alloxane induit la formation d'espèces réactives de l'oxygène (des radicaux superoxydes, le peroxyde d'hydrogène et des radicaux hydroxyles) [99].

L'action des espèces réactives de l'oxygène avec une augmentation massive simultanée de concentration de calcium cytosolique provoque la destruction rapide de la cellule β [1].

Les résultats obtenus dans notre étude, ont révélé que les injections de l'alloxane (250mg/kg, 200mg/kg et 150mg/kg) provoquent une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) du volume urinaire, d'autre part, l'injection de (60mg/kg de STZ) provoque une augmentation significative ($p < 0,05$) du volume urinaire.

Sachant que le diabète sucré présente trois signes majeurs. Le premier, la polyurie est due à la présence dans le filtrat rénal d'un surcroît de glucose qui a les effets d'un diurétique osmotique, c'est-à-dire qu'il inhibe la réabsorption de l'eau par les tubules rénaux [100].

La polyurie provoque la diminution du volume sanguin et la déshydratation. Cherchant à éliminer l'excès de corps cétoniques, l'organisme excrète aussi de grandes quantités d'électrolytes [100].

En effet, les corps cétoniques ont une charge négative, et ils entraînent avec eux des ions positifs. Notamment du sodium et du potassium. Le déséquilibre électrolytique cause des douleurs abdominales de des vomissements [100].

Le deuxième signe du diabète sucré est la polydipsie, est occasionnée par la déshydratation qui stimule les centres hypothalamique de la soif [100], dans notre étude, nous avons constaté que les injections (ALX 250mg/kg) et (60mg/kg STZ) provoquent une augmentation très hautement significatives ($p < 0,001$) du consommation d'eau.

Enfin, le troisième signe est la polyphagie, une exagération de l'appétit et de la consommation d'aliments, la polyphagie indique que l'organisme ne peut utiliser le glucose dont il est pourtant abondamment pourvu et qu'il puise dans ses réserves de lipides et de protéines pour son métabolisme énergétique [100].

Nous avons noté une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de consommation de nourriture après l'injection d'une dose (250mg/kg d'alloxane), alors que chez les rats diabétiques (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg et STZ 60mg/kg) la moyenne de consommation de nourriture n'a pas été altéré pour des raisons que nous ne pouvons pas expliquer, alors que nous avons la certitude que les rats sont diabétiques.

Dans l'ensemble nos résultats sont en accord avec ceux apportés par [101] [68] [3] [86].

Ces symptômes cliniques sont la conséquence du diabète sucré ce qui témoigne de l'efficacité de l'alloxane et de la streptozocine.

La diminution du poids corporel dans le diabète sucré est généralement attribuée à la stimulation de la gluconéogenèse . En effet l'accélération du catabolisme des protéines et des graisses, entraîne une perte caractéristique de poids du corps après à une augmentation de l'atrophie musculaire et de la perte de protéines tissulaires [86].

Nos résultats mettent en évidence une perte du poids , quoique statistiquement non significative ($p > 0,05$), la diminution à été remarqué après 48 heures de l'injection chez les rats (ALX250mg/kg, STZ60mg/kg) et après 72heures de l'injection chez les rats (ALX200mg/kg, ALX150mg/kg).

Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par [71], qui l'ont constaté sur le diabète induit par l'alloxane, est caractérisée par une perte importante du poids corporel.

Comme d'autres auteurs [3] [102] [103] [104] [91] [105], l'ont signalé avec la STZ est associé à une perte significative du poids corporel par rapport aux témoins normaux.

De même [68], ont eux aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que la perte de poids corporel , peut être due aux actions lipolytiques exercées par les glucocorticoïdes sur le tissu adipeux, en plus de l'accélération de la lipolyse, les glucocorticoïdes potentialisent la protéolyse et stimulent la néoglucogenèse, ces actions métaboliques sont probablement liées à la déficience en insuline qui est une hormone lipogénique .

L'hyperglycémie est la manifestation clinique clé du diabète sucré [106], deux mécanismes fondamentaux qui causerait une hyperglycémie l'ors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogenèse et la glycogénolyse) d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques [107].

L'ALX est connu étant comme un composé diabéto-gène car il induit le DT1, dans vivo en générant des ROS, et sélectivement endommager les cellules β pancréatiques [108].

Les travaux de [46], ont démontré que l'alloxane induit une réponse tétra-phasique, une première phase d'hypoglycémie transitoire jusqu'à 30 min, commence à quelques minutes d'injection de l'alloxane. Cette courte durée hypoglycémique est le résultat d'une stimulation transitoire de la sécrétion d'insuline, et une plus grande disponibilité de l'ATP issue d'un blocus de la phosphorylation du glucose par inhibition de la glucokinase. Cette hypoglycémie transitoire initiale on est absente avec la STZ, donc la STZ n'inhibe pas la glucokinase.

La deuxième phase commence par une augmentation de la concentration de glucose dans le sang, 1 heure après l'administration de l'alloxane, et une diminution de l'insuline plasmatique. Cette première phase hyperglycémique, qui dure généralement 2-4 h, est causée par l'inhibition de la sécrétion d'insuline, donnant une hypoinsulinémie.

La troisième phase, une phase hypoglycémique, se produit typiquement 4-8 h après l'injection de l'alloxane et dure plusieurs heures. Elle peut être si grave, et peut même être mortelle sans l'administration du glucose, cette grave hypoglycémie transitoire est produite par la rupture de la membrane cellulaire et la sécrétion des granules de sécrétion d'insuline.

Ce qui explique l'hypoglycémie non significative ($p>0,05$), enregistré dans notre étude 24 h après l'injection de 250 mg/kg d'ALX, d'autre part, nous avons noté la mort de 1 rat sur 8 à la 24 heures, après l'injection de 250 mg/kg de l'ALX.

La quatrième phase est l'hyperglycémie diabétique permanente. Au niveau cellulaires il ya une dégranulation complète et la perte de l'intégrité des cellules bêta après 12 - 48 h.

C'est ce qui explique l'augmentation observée de la glycémie dans notre étude où nous avons noté une hyperglycémie très hautement significative ($p< 0,001$) après 48 heures d'une injection de 250 mg/kg d'ALX, ainsi que les deux autres doses 200mg/kg et 150mg/kg d'ALX provoquait une hyperglycémie non significative après 72 heures.

Cette hyperglycémie relevée chez nous animaux à été également rapportée par [76] [82] [109] [79], qui précisent que l'alloxane provoque une réduction massive du libération d'insuline par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans, induisant ainsi l'hyperglycémie.

L'induction du diabète expérimental chez le rat, en utilisant la STZ, est très pratique et simple à utiliser. L'injection de STZ conduit à la dégénérescence des cellules β des îlots de Langerhans, cliniquement, les symptômes du diabète sont clairement observés chez les rats dans les 2-4 jours après l'injection intraveineuse ou intra-péritonéale de 60 mg/kg de STZ [110].

L'injection intra-péritonéale de 60 mg/kg de STZ provoque la destruction sélective partielle des cellules β des îlots de Langerhans. Elle induit une réponse tri-phasique : élévation aiguë de la glycémie entre la première et la deuxième heure (en rapport avec une glycolyse intense du stress), puis une hypoglycémie profonde de la 7ème à la 10ème

heure (libération de l'insuline par les cellules β en voie de lyse), puis diabète sucré durable ; entraînant une hyperglycémie chronique et une altération du métabolisme lipidique et protéique, résultante d'un défaut de la sécrétion d'insuline [101].

Nos résultats montrent que l'injection de (60mg/kg STZ) provoque une hyperglycémie ($2,75\pm 2,15$) significative ($p < 0,05$) après 24 heures, 48 heures après une augmentation hautement significatives ($P < 0,01$) du taux de glucose ($3,94\pm 2,77$).

D'autres auteurs [86], expliquent ce mécanisme par une toxicité directe sur les cellules β , aboutissant à une nécrose après 48 à 72 heures et provoque une hyperglycémie permanente.

Le contrôle de l'homéostasie énergétique fait appel à des corrélations hormonales et nerveuses complexes dans lesquelles l'insuline occupe une place prépondérante et unique à certains égards. Aucun des trois grands métabolismes (glucidique, lipidique, protéique) n'échappe au contrôle de l'hormone, qui les oriente dans le sens de l'anabolisme et s'oppose aux effets cataboliques de nombreux autres facteurs. Très schématiquement, l'insuline favorise la mise en réserve de glucose sous forme de glycogène dans le foie et dans le muscle, stimule le stockage des lipides dans le tissu adipeux blanc et contribue fortement à la rétention protéique dans tous les tissus. Mais c'est certainement dans le métabolisme glucidique que le rôle de l'insuline est le plus remarquable et le plus caractéristique. L'insuline est le seul facteur hypoglycémiant face à l'arsenal copieux des hormones et des neurotransmetteurs hyperglycémiant [16].

L'importance de son rôle ressort également de sa conservation remarquable au cours de l'évolution et de son expression quasi universelle, puisqu'on la retrouve, non seulement chez les mammifères, mais aussi chez les insectes, les oiseaux, les reptiles, les amphibiens et les poissons, même les plus primitifs [16].

Le déficit insulinaire est à l'origine du diabète sucré, dont l'augmentation considérable de la prévalence correspond aujourd'hui à un problème majeur de santé publique. À l'opposé, sa surproduction ou sa sécrétion exagérée conduisent à des syndromes hypoglycémiques mettant en péril à brève échéance la survie des sujets qui en sont atteints [16].

Dans notre étude on a constaté que les 3 doses d'alloxane provoquent une hyperinsulinémie non significative par rapport au lot témoin. ALX250mg/kg ($24,25\pm 55,52$), ALX200mg/kg ($2,77\pm 2,58$), ALX150mg/kg ($2,06\pm 0,18$), témoin ($1,99 \pm 0,00$).

Cette hyperinsulinémie est accompagnée par une hyperglycémie, comme il a été décrit auparavant, nos constatations sont en accord avec [111], qui mettent en évidence une

dépolarisation de la membrane cellulaire de cellules β pancréatiques en présence d'alloxane. Ceci, à son tour, ouvre les canaux calciques voltage-dépendants et provoqué la libération d'insuline. Utilisant le pancréas d'un rat perfusé il a été constaté que l'induction de la sécrétion d'insuline par l'alloxane était indépendante de la présence de glucose dans le milieu de perfusion.

Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux enregistrés par [76], qui indiquent que une dose de 150 mg/kg d'alloxane provoque après 15 jours une diminution significative de taux d'insuline plasmatique, qu'indique que l'alloxane détruit efficacement la cellule β du pancréas, qui à son tour diminue l'insuline plasmatique. Cela peut être dû à la durée du traitement qu'ils ont choisi (15jours), alors que nous avons travaillé sur 72 heures.

Egalement une dose de 60 mg/kg de STZ ; provoque une hyperinsulinémie non significative ($2,38 \pm 1,97$) par rapport au lot témoin.

Selon [112], l'hyperglycémie chronique est à l'origine d'une insulino-résistante, d'une diminution d'autophosphorylation du récepteur de cette hormone, récemment démontré, elle active l'expression de la protéine kinase C , protéine responsable de la déphosphorylation du récepteur de l'insuline.

En revanche il à été souligné par [113], que une diminution significative du taux sérique basal d'insuline après l'injection de STZ. Cela peut être dû également à la duré du traitement qui a été de 4 semaines.

D'autres travaux [3] [84] [114] [115] [104] [91] [105] , montrent que la STZ provoque une réduction massive de la libération d'insuline par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans .

Donc après ces résultats, notre duré d'expérimentation est insuffisante, pour avoir une hypoinsulinémie, et que cette hyperinsulinémie est transitoire et particulier à ce moment, jusqu'a où l'ALX et la STZ peut provoquait une destruction sélective et irréversible des cellules β pancréatique.

Les lipides jouent un rôle important dans la pathogenèse du diabète sucré [84]. Le niveau des lipides sérique est généralement élevé dans le diabète, et une telle élévation représente un facteur de risque de maladie coronarienne [84].

La carence en insuline ou de la résistance à l'insuline est associée à des symptômes hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie [79]. Dans notre étude on a constaté qu'un traitement d'alloxane, a provoqué une augmentation non significative de la cholestérolémie des rats des deux lots diabétiques (ALX250mg/kg, ALX150mg/kg.), et une augmentation hautement significative de la cholestérolémie chez les rats diabétiques (ALX200mg/kg).

De même, dans notre étude nous avons constaté que l'alloxane (250mg/kg), provoque une augmentation significative de taux des triglycérides. Nos résultats sont en accord avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par [116] [117] [97].

D'autres auteurs [117] [1] [79], suggèrent que la forte concentration anormale des lipides sériques observée chez les sujets diabétiques, est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras à partir des tissus adipeux puisque l'insuline inhibe la lipase hormonosensible.

Par ailleurs [101], rapporte que la carence en insuline ou l'insulinorésistante peut être responsable d'une hyperlipidémie, car l'insuline, à une action inhibitrice sur la 3-hydroxy-3-méthyle glutaryl coenzyme A reductase (HMG-COA reductase), une enzyme clé dans la biosynthèse du cholestérol.

D'autres auteurs [1], ont indiqué que le glucagon, les catécholamines et d'autres hormones accélèrent la lipolyse responsable de l'hyperlipidémie marquée qui caractérise l'état diabétique. L'hyperlipidémie est donc considérée comme une conséquence de l'action de complexe d'hormones lipolytiques sur les dépôts graisses.

Notre étude révèle ; qu'une injection de 60mg/kg de STZ à provoquer une légère augmentation non significative de la cholestérolémie. Par contre la triglycéridémie reste pratiquement constante.

Nos résultats sont en accord avec [68], qui ont constaté que, la triglycéridémie et la cholestérolémie chez les rats reste constante après une semaine de l'injection de 45mg/kg de STZ.

En revanche d'autres auteurs [103], ont montré des changements importants, dans le métabolisme des lipides ; dans le sérum des diabétiques, et suggèrent que l'augmentation des triglycérides et du cholestérol total chez les rats diabétiques par STZ, peuvent être induits en raison du manque d'insuline.

De même [113], suggèrent que la carence en insuline chez les animaux diabétiques par la STZ provoque une répartition marquée des graisses, augmentant ainsi la mobilisation des acides gras libres à partir des dépôts périphériques sous l'action des hormones lipolytiques (glucagon, et des catécholamines).

L'insuline est un facteur physiologique, qui joue un rôle important dans le maintien de l'équilibre des protéines, car non seulement stimule l'absorption des acides aminés et la synthèse des protéines, mais aussi inhibe la dégradation des protéines [79].

Les résultats obtenus dans notre étude, n'ont révélé aucune différence de la protéinémie entre les quatre groupes diabétiques et le groupe témoin.

Ces résultats ne concordent pas avec ceux [113] [79] [104] [92], qui ont constaté une diminution significative de la protéinémie.

[113], où ils suggèrent que la diminution du taux de protéines totales peut être due à plusieurs raisons, comme une augmentation du taux de conversion des acides aminés en glucose, diminution de l'absorption des acides aminés et une augmentation du taux de conversion des acides aminés glycoyènes à CO₂ et H₂O.

De même [113], indiquent qu'un autre groupe de chercheurs qui ont expliqué la diminution du taux des protéines totales par la diminution de la quantité, de la disponibilité de ARNm, la réduction de la synthèse des protéines ribosomales en raison de la carence en insuline.

On interprète cette différence par le fait, que nous ne sommes pas donné le temps suffisant pour mieux voir les conséquences de l'hyperglycémie sur les autres fonctions physiologiques et sur l'altération des autres métabolismes, notamment lipidique et protidique qui sont intimement liés au métabolisme glucidique.

L'observation des coupes histologiques des pancréas des rats témoins, a permis d'observer une structure normale de pancréas, ce qu'il est divisé en lobules par des cloisons de tissu conjonctif, les lobules sont composées en grande partie des cellules exocrines appelés acini.

Au sein du tissu exocrine du pancréas, les îlots de Langerhans ont été intégrés, formant la composante endocrine du pancréas, les cellules des îlots ont une couleur plus claire, que

les cellules des acini, les îlots sont de tailles différentes et de forme ronde, contiennent plusieurs types des cellules et sont richement vascularisées, les cellules sont des cellules de forme polygonales et avec des noyaux réguliers.

La majorité des cellules des îlots sont formées par les cellules β , qui sont responsables de la production d'insuline, l'épuisement des cellules β va donc se traduire par une carence en insuline qui conduit à un trouble en glucides, des protéines et de métabolisme des graisses par l'hyperglycémie résultante [117].

L'alloxane et la streptozocine sont les substances les plus courantes pour induire le diabète sucré [118].

Chez le lot des rats diabétiques, 72 heures après l'injection d'une dose unique de 150mg/kg d'alloxane, on note des cellules endocrines qui présentent un œdème avec un cytoplasme clarifié, diminution de taille des cellules endocrines et une nécrose cytoplasmique importante laissant que le noyau, nous avons observé aussi une nécrose de la limite réticulaire dans certains îlots. Des résultats similaires ont été rapportés par [119] [73] [120] [117], qui ont indiqué chez les rats du groupe diabétique par injection d'alloxane, les îlots dégénéralent et rétrécissent en taille. D'autres auteurs [119], ont indiqué que la surface spécifique du tissu des îlots est devenue fortement réduite en raison de ces processus nécrotiques, et l'analyse a montré que l'alloxane a un effet sélectif sur la cellule β des îlots de Langerhans.

Pour le lot diabétique traité par (200mg/kg) d'alloxane, l'histologie du pancréas après 72 heures d'injection montre ; qu'il y a une réduction de la taille des îlots, la nécrose est plus importante que la précédente (ALX150mg/kg), avec un regroupement des noyaux, et une quasi absence de la limite cellulaire ou réticulaire.

Alors qu'après 48 heures d'injection d'une unique dose d'alloxane de 250mg/kg, l'observation des coupes histologiques du pancréas endocrine a permis d'observer une diminution de nombre et de la taille des îlots, pas de limite réticulaire, nous avons observé aussi une nécrose cytoplasmique et nucléaire importante, avec un œdème. L'examen histologique révèle aussi des modifications nucléaires avec clarification, des résultats similaires ont été rapportés par [118] [121] [122], ils ont indiqué que chez les rats diabétiques, l'alloxane entraîne des changements nécrotiques sévères des îlots pancréatiques, changements nucléaires, réduction relative de la taille et du nombre des îlots.

Les changements pathologiques observés dans le présent travail a été expliqué par [122], qui a déclaré que l'action de l'alloxane dans le pancréas, est précédée de son absorption rapide par les cellules β , qui constitue donc une des caractéristiques importantes qui déterminent la diabétogénicité de l'alloxane, un autre aspect concerne la formation d'espèces réactives de l'oxygène, qui est précédée par la réduction d'alloxane dans la cellule β du pancréas, sa réduction a lieu en présence de différents agents réduisant, depuis l'alloxane présente une forte affinité pour les SH composés contenant cellulaires, le glutathion réduit (GSH), la cystéine et groupes sulfhydryle liés aux protéines (y compris SH contenant des enzymes) sont très sensibles à son action.

L'alloxane et le produit de sa réduction l'acide dialurique, établissent un cycle d'oxydo-réduction avec la formation des radicaux superoxydes. Ces radicaux subissent dismutation de peroxyde d'hydrogène. Par la suite, les radicaux hydroxyles hautement réactifs sont formés par la réaction fenton, l'action des espèces réactives de l'oxygène avec une augmentation massive simultanée en concentration de calcium cytosolique provoque la destruction rapide des cellules β .

La STZ est l'agent diabétogène le plus couramment utilisé dans les animaux de laboratoire pour induire le diabète de type 1 [123].

L'histologie du pancréas endocrine des rats Wistar soumis à la streptozocine (60 mg/kg), après 48 heures, révèle une conservation cellulaire d'îlots endocrines, une légère nécrose cytoplasmique avec un noyau régulier.

Des observations presque similaires rapportées par [123] [114], qui ont indiqué que l'injection de STZ provoque des changements dégénératifs et nécrotiques, avec rétrécissement des îlots de Langerhans.

Les changements pathologiques observés dans le présent travail s'expliquent par les travaux de [124], qui proposent que la STZ est absorbée par les cellules β pancréatiques grâce à la transporteur GLUT 2 où elle provoque la mort de cellules β par fragmentation de l'ADN par la fraction nitroso-urée.

Trois grandes voies associées à la mort de la cellule sont les suivantes: (i) la méthylation de l'ADN, conduisant à l'activation de l'enzyme nucléaire poly ADP-ribose synthétase, dans le cadre du mécanisme de réparation cellulaire et donc à un appauvrissement

de NAD⁺; (ii) la génération de radicaux libres en tant que peroxyde d'hydrogène et (iii) et enfin la production d'oxyde nitrique.

Nous avons observé dans nos coupes histologiques des rats (ALX250mg/kg, ALX200mg/kg, ALX150mg/kg et STZ60mg/kg), que dans certains cas la structure cellulaire resté normale. Ceci pourrait indiquer que la destruction n'est pas toujours complète, expliquant ainsi l'absence d'hyperglycémie chez certains rats.

Ainsi, les observations montrent, que seules les cellules des îlots de Langerhans sont détruites alors que les acini sont intacts.

Conclusion

Et

Perspectives

Notre travail a bien mis en évidence à l'instar des auteurs ayant travaillé sur le même sujet, des dérèglements importants suite à l'action de la STZ et l'alloxane .

Les deux modèles expérimentaux de diabète que nous avons utilisés démontrent bien que cette maladie possède des traits pathologiques complexes et diversifiés.

L'alloxane comme la streptozocine entraîne l'installation d'un syndrome diabétique se caractérisant par une polyphagie, une polyurie, une polydipsie et une chute de poids et les rats présentent un tableau caractérisé par

- Une hyperglycémie .
- Une hyperinsulinémie.
- Une hypercholestérolémie.
- Une hypertriglycéridémie chez les rats (ALX250mg/kg) .

Par contre nous avons noté que les 2 composés n'ont aucune action sur la protéinémie .

Notre étude a démontré que l'action de la STZ est beaucoup plus précoce que celle de l'alloxane.

L'observation microscopique de coupes de pancréas montre que seules les cellules des îlots de Langerhans sont détruites alors que les acini sont intacts. Les troubles sont comparables à une pancréatectomie sauf qu'il n'y a pas de troubles digestifs.

En outre , l'étude histologique de pancréas endocrine révèle que plus on augmente les doses d'alloxane (150 , 200 ,250)mg/kg, plus la nécrose est importante et s'étendra du cytoplasme jusqu'au noyau . Ainsi l'influence de l'alloxane (250mg/kg) sur le pancréas endocrine est plus importante que la stz (60mg/kg) .

Cette étude reste préliminaire et plus superficielle, donc, elle nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Même des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer les mécanismes régissant l'effet diabétogène de l'alloxane comme celui de la streptozocine.

Notre travail aurait été complet par une étude d'immunofluorescence qui nous aurait permis de cibler et de certifier ainsi sur nos animaux l'effet électif de l'alloxane et de la streptozocine sur les cellules β .

*Références
bibliographiques*

- 1 . Haribabu T., Divakar K., Divakar G . Evaluation of anti-diabetic activity of Lycopene and its synergistic effect with Metformin hydrochloride and Glipizide in Alloxan induced diabetes in rats. Sch. Acad. J. Pharm. 2013; 2(2):119-124.
2. Tanko Y ., Yerima M., Mahdi MA., Yaro AH., Musa KY., Mohammed A. Hypoglycemic Activity of Methanolic Stem Bark of *Adansonia digitata* Extract on Blood Glucose Levels of Streptozocin-Induced Diabetic Wistar Rats. International Journal of Applied Research in Natural Products. 2008., 1(2) : 32-36.
- 3 . Hajzadeh M ., Rajaei Z., Ghamami G., Tamiz A. The effect of salvia officinalis leaf extract on blood glucose in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacologyonline*. 2011 ; 1: 213-220 .
- 4 . [En ligne].
[<http://epatras.economie.fgov.be/DisplayPDF/ExtraData/FR/91/9889.pdf>].(Consulté le 18/06/2014).
- 5 . Etuk, E., Muhammed, B. Evidence Based Analysis of Chemical Method of Induction of Diabetes Mellitus in Experimental Animals. ASIAN J. EXP. BIOL.SCI. 2010; 1 (2): 331-336.
6. Wattiez A ., Dupuis A ., Courteix C . Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse . Douleur analg. 2012 ; 25:38-45 .
- 7 . Papin J . Bases moléculaires des défauts sécrétoirs des cellules β -pancréatiques lors de la glucotoxicité . These de Doctorat , université bordeaux 1 . 2009.
- 8 . Christophe Porcher . Physiologie des régulations. [En ligne].[<http://biologie.univ-mrs.fr>]
(Consulté le 24/6/2014).
- 9 . Dahmani O ., Belcaid A., Elazzouzi O., Elhami H. La fonction exocrine du pancréas.Q.29.
- 10 . Stolokowski J. Endocrinologie des vertébrés . Librairie vuibert . Paris . 1969 . 40 P .
- 11 . Dadoune J P. Histologie . Flammarion médecine sciences . Paris . 1990 . 309 p .
- 12..DuBois A., Gomet A. Régénération des îlots de langerhans, au cours de la correction du diabète expérimental du rat par bréphoplastie pancréatique.Zeitschrif fur zellforschung.1961 ;53 :481-491 .
- 13.Hastoy B . Structure et dynamique fonctionnelle du domaine transmembranaire de la protéine SNARE VAMP2 lors de l'exocytose. These de Doctorat , université bordeaux 1 . 2011.
- 14 . SAMBO M H . Etude du traitement traditionnel du diabete par une recette et les ecorces de tronc de *Manilkara multinervis* Dub (Sapotaceae) . These de Doctorat. Université de Bamako. 2005.

- 15 . Amadou A. Étude d'une recette traditionnelle,des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* hosch et de *Uapaca togoensis* pax utilisées dans le traitement du diabète. These de Doctorat. Université de Bamako. 2006.
- 16 . Magnan C ., Ktorza A . Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. EMC-Endocrinologie .2005 ;2 : 241–264.
- 17 . Ladouri A., Harkouk Y . Effet du décocté de *Zygophyllum album* Coss sur le diabète et le stress oxydant associé. These de Doctorat.université d'alger . 2012.
- 18 . Ning LI. Un stress oxydatif transitoire endommage la machinerie mitochondriale induisant une dysfonction persistante de la cellule bêta pancréatique. These de Doctorat. Université de Genève . 2009.
- 19 .Fousseiny D. Problématique de la prise en charge du diabète sucré chez les sujets du 3ème âge dans les unités créés au compte de l'approche Steps Wise à bamako et kati. These de Doctorat. Université de Bamako.2009 .
- 20 . Drouin P ., Blickle J F ., Charbonnel B., Eschwege E ., Guillausseau P J ., Plouin P F ., et al . Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critère . Diabetes & Metabolism Paris.1999 ; 25 : 72-83.
- 21 . Brian L., Meale Y ., Gloria L. Ocampo. Diabetes mellitus and periodontal disease. Periodontology 2000. 2007; 44: 127–153.
- 22 . Rodier M. Définition et classification du diabète. Endocrinologie - CHU – Nîmes. 2001 ; 25 ; 2 :91-93 .
- 23 . Spinas G.A., Lehmann R. Diabète sucré : diagnostic, classification et pathogénese. *Abteilung Endokrinologie und Diabetologie*.2001 ;20 :519-525.
- 24 . Cicolella A ., Nalbone G ., Laot-Cabon S. Evaluation du lien entre environnement chimique , obésité et diabète (Projet ECOD). la Fédération Nationale de la Mutualité Française. 2012.
- 25 . Jaïdane H ., Goffard A., Gharbi j ., Hober d .Vers une meilleure compréhension de la relation entre entérovirus et diabète de type 1 . *Virologie* 2008, 12 (3) : 187-200.
- 26 . Gillespie KM ., Bingley p. The Mechanisms Underlying Beta Cell Replication in Type 1 diabetes.SOCS PhD Scholarship Application .2012.
- 27 . Raverot G. Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. Hippocrate. Paris.. Ongagna J.C., Sapin R. Diabète de type 1 et autoimmunité.*biotribune*.2004 ; 9 :42-43.

28. Abner L.N. Immunologic and genetic factors in type 1 diabetes. *Biol Chem.* 2002;277: 43545-43548.
29. Ongagna J.C., Sapin R. Diabète de type 1 et autoimmunité. *biotribune*. 2004 ; **9** :42-43.
30. Pugliese A., Eisenbarth G.S. Type 1 diabetes mellitus of man: genetic susceptibility and resistance. *Adv Exp Med Biol*. 2004; **552**: 170-203.
31. Brian L. Mealey, DDS, MS. Periodontal disease and diabetes A two-way street. American Dental Association. 2006, 137 :265-315 .
32. Benammar E. L'insulinothérapie chez les diabétiques de type 2 . These de Doctorat. Université Joseph. 2009.
33. Guillaume L. L'âge moyen de découverte du diabète de type 2 diffère significativement selon la catégorie sociale. These de Doctorat . . Université Paris 7 .2004.
34. Jeanrenaud C., Dreyer G . Les coûts directs médicaux du diabète une estimation pour le canton de Vaud. Institut de recherches économiques Université de Neuchâtel. 2012.
35. Wright S., Keele CA., Neil E. Physiologie appliquée à la médecine. 2ème Edition Flammarion-Sciences, Paris. 1980.
36. Glauser D. Patterns d'expression des gènes dans la cellule β du pancréas : rôle des gènes de réponse précoce dans l'intégration temporelle des stimuli métaboliques. These de doctorat. Université de Genève. 2007 .
37. Sudha MJ. Study of hypoglycemic effect of *Murraya koenigii* leaf extract in streptozotocin induced diabetic rats. These de doctorat. Université de Mangalore .2012.
38. Alimentation et nutrition humaines . [En ligne] [<http://books.google.dz/>] (Consulté le 15/11/ 2013).
- 39: Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* , 2001 ;50: 536-546.
40. Lunzen S .alloxan and streptozotocin diabetes.[EN ligne] [http://www.saw-leipzig.de/forschung/projekte/zeitstrukturen-endokriner-systeme/endokrinologieiii/endo_07-lenzen.pdf] (Consulté le 25/12/ 2012).
41. Grankvist K., Marklund SL., Taljedal IB. CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochem. J.* 1981; 199: 393-398.

- 42 . Etuk EU. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 2010, 1(2): 130-134.
- 43 . Lenzen S., Tiedge M., Jorns A., Munday R. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan.1996.
- 44 . Hashemi M., Dostar Y., Rohani S., Saraji A ., Bayat M . Influence of Aloxanes on the Apoptosis of Pancreas B-Cells of Rat. *World Journal of Medical Sciences* . 2009 ; 4 (2): 70-73.
- 45 . Lenzen S., Freytag S., Panten U. Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme. *Mol Pharmacol*. 1988; 34:395-400.
- 46 . Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* .2008 ; 51:216–226.
47. Ankur R., Shahjad A. Alloxan induced diabetes : mechanism and effects. *International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*. 2012; 3(2) :819-823.
- 48 .Watkins D., Cooperstein SJ., Lazarow A. Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro. 1964.
49. Akbarzadeh A., Norouzian D., Mehrabi MR., Jamshidi SH., Farhangi A ., Verdi A., et al. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2007 ; 22 (2) : 60-64.
- 50: [EN ligne] [<http://www.goldbio.com>] (Consulté le 19/06/ 2014).
51. Emre Y. Influence de la protéine découplante mitochondriale UCP2 sur lasignalisation et le métabolisme des macrophages.These de doctorat. Université paris 5. 2007 .
- 52 .Alejandro D. Bolzán., Martha S., Bianchi. Genotoxicity of Streptozotocin. *Mutation Research* . 2002 ;512 : 121–134.
- 53 . [En ligne] [www.webcrawler.com/ Ads [American Heritage Dictionary](#)] (Consulté le 25/01/ 2014).

54. [En ligne] [<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.27273.html>] (Consulté le 014 /08/2014).
- 55 . [En ligne] [http://shoppers-healthcare-portal-a88a1f4b.s3.amazonaws.com/AgilityUGC/5ecb80e5-c9c2-4c4e-a960-ba057394058c/FR_PM00021302_2013.PDF] (Consulté le 19 /06/2014).
- 56 . Anderson T., Schein PS., McMenamin MG., Cooney DA. Streptozotocin Diabetes: Correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *Journal of clinical investigation*. 1974; 54:672-677.
57. Povoski SP., McCullough PJ., Zhou W., Bell RH. Induction of diabetes mellitus in Syrian Golden Hamster using stored equilibrium solutions of streptozotocin. *American association for laboratory animal science*. 1993; 43(4):310-314.
- 58 . Crouch R., Kimsey G., Priest DG., Sarda A., Buse MG. Effect of streptozotocin on erythrocyte and retinal superoxide dismutase. *Diabetologia*. 1978; 15:53-57.
- 59 . Aughstee AA. An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. *J of Electron Microscopy*. 2000; 49(5):681-690.
60. Chen V., Ianuzza CD. Dosage effect of streptozotocin on rat tissue enzyme activities and glycogen concentration. *Can J Physiol Pharmacol*. 1981; 60: 1251-1256.
- 61 .Szkudelski T., Szkudelska K. Streptozotocin induces lipolysis in rat adipocytes in vitro. *Phys Res*. 2002; 51:255-259.
- 62 . Junod A., Lambert AE., Stauffacher W., Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J of Clinical Investigation*. 1969; 48:2129-2139.
- 63 .Robbins MJ., Sharp RA., Slonim AE., Burr IM. Protection against streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase. *Diabetologia*. 1980; 18:55-58.
- 64 .Gandy SE., Buse MG., Crouch RK. Protective role of superoxide dismutase against diabetogenic drugs. *American society for clinical investigation*. 1982; 70: 650-658.
- 65.Rajasekaran S., Sivagnanam K., Subramaniam S. Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacological Reports*. 2005; 57: 90-96.
- 66 .Jarrin M., Sánchez H., Fernández P., García-Layana A., López M. Streptozotocin Induced Diabetes in Wistar Rat: Is it a Good Model of Diabetic Retinopathy?. *Invest Ophthalmol*. 2002;43.

- 67 . Soltésova D ., Herichova I. On the mechanisms of diabetogenic effects of alloxan and streptozotocin. DMEV. ROCNIK. CISLO. 2011; 14 :130-138.
- 68 . Omari N., Dahmani-ait akli Y ., Labrousse F ., Hadj bekkouche F., Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 2011 ; 80 : 907 – 938.
- 69 . [En ligne] [http://www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Vol2/rats.pdf] (Consulté le 27 /06/2014).
- 70 . Livingston Raja N., Sundaranathavalli S., Jeya Ananthi J., Nirmaladevi J., Kumarappan C., Kumaraguruparan P ., Yaseen K. Antihyperglycaemic activity of aqueous extract of *vinca rosea linn* in alloxan induced diabetic rats. *Pharmacologyonline* .2008 ;3: 354-362 .
- 71 . Auroba M ., Nibras N . Study Antidiabetic Effect of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Alloxan Induced Diabetic Rats. Iraqi Journal of Veterinary Medicine. 2010; 34(1) :165-170.
- 72 . Pribac1 G., Craciun C., Szoke-Nagy T., Simeoni I., Lang C., Rosioru C., et al. Comparative ultrastructural study of pancreatic beta cells from diabetic rats treated with fenugreek seed flour or ganoderma. *Annals of RSCB*. 2007; XVI(1) :62-80 .
- 73 . Venkat Rao N., Benoy K., Hemamalini K, Shanta Kumar S.M., Satyanarayana S. Antidiabetic activity of root extracts of *tragia involucrata*. *Pharmacologyonline*. 2007 ; 2: 203-217 .
- 74 . Kumar Middhaa S., Talambedu Usha A., RaviKiran T. Influence of *Punica granatum L.* on region specific responses in rat brain during Alloxan-Induced diabetes . *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012 :S905-S909 .
- 75 . Natarajan P., Thangathirupathi A., Ramarajan S., Jaya S., Bellamkonda H., Gollapalli L. Preliminary study of antidiabetic activity of methanolic extract of *pavetta indica linn in* diabetic rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2013 ; 6 :131-133.
- 76 . Karthik D., Vijayakumar R., Pazhanichamy K., Ravikumar S. A proteomics approach to identify the differential protein level in cardiac muscle of diabetic rat. Paper in Press. 2014 ;61:1-9 .
- 77 . Ragab SS., Tahan NR., Afify ., E.A., El-fiky A A.H. Effet of glucosamine on the healthy status of diabetic rats. *Journal of biology, agricultures and healthcare*. 2013; 3(3):94-100.

78. Rajesh kannan V.,Stalin rajasekar G., Rajesh P., Balasubramaman V., Ramesh N.,King Solomon E.,et al. Antiabetic activity on ethanolic extracts of fruits of terminalia chebula retz .Am.J.DrugDiscou.deu.2012:1-8.
79. Daisy P., Kanakappan S ., Rajathi M. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Clitoria ternatea* Linn. in alloxan-induced diabetic rats. Afr. J. Microbiol. Res.2009 ; 3 (5) : 287-291.
- 80 .Figueroa-Valverde L., Diaz-Cedillo F., Lopez-Ramos M., Garcia-Cervera E., Pool-Gomez E., Cardena-Arredondo C., Ancona-Leon G. Glibenclamide-pregnenolone derivative has greater hypoglycemic effects and biodistribution than glibenclamide-OH in alloxan-rats. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2012; 156(2):122–127.
- 81 . Onyije F M ., Avwioro O G. Effect of Ethanolic Extract of *Bauhinia Monandra* Leaf on the liver of Alloxan Induced Diabetic Rats. *J Phys Pharm Adv* 2012 ; 2(1): 59-63 .
- 82 . Kumar Tiwari B ., Kumar D., Abidi A B ., Rizvi S I. Efficacy of Composite Extract from leaves and Fruits of medicinal plants used in traditional diabetic therapy against oxidative Stress in Alloxan-Induced diabetic Rats. *ISRN Pharmacology*.2014 :1-7.
- 83 .Ahmed F., Urooj A. Antihyperglycemic activity of ficus glomerata stem barck in streptozotocin-induced diabetic rats.Global journal of pharmacologie.2008;2(3):41-45.
- 84 . Daisy P., Feril G., Jeeva K. Hypolipidemic and hepatoprotective effects of cassia auriculata linn barck extracts on streptozotocin induced diabetics in male wister albinos rats. *Asian J Pharm Clin Res*.2013 ; 6 (2) : 43-48 .
- 85 .Tanko Y., Okasha M A., Saleh M I A., Mohammed A., Yerima M., Yaro A H., Isa A I. Anti-Diabetic Effect of Ethanolic Flower Extracts of *Newbouldia laevis* (Bignoniaceae) on Blood Glucose Levels of Streptozocin-Induced Diabetic Wistar Rats. *Res. J. Med. Sci.* 2008; 2 (2): 62-65.
86. Daisy P., Feril G., KANI J. Evaluation of antidiabetic activity of various extracts of cassia auriculata linn. Bark on streptozotocin induced diabetic wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci*.2012. 4 (4):312-318.
- 87 . Jung J A ., Kim Y W., Cheon Y W., Kang S R. Effects of the Diabetic Condition on Grafted Fat Survival: An Experimental Study Using Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.*Archives of plastic surgery*.2014;41(3):241-247.
- 88 . Miyamoto K., Khosrof S., Bursell S.E., Rohan R., Murata T.,Allen C., et al. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin-induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* .1999 ;. 96 : 10836–10841 .

- 89 . Krishnan .K., Vijayalakshmi N R., Helen A. Methanolic extract of costus igneus (N.E.Br.) alleviates dyslipidemia in diabetic rats . *Asian J Pharm Clin Res.*2011; 4, :154-157.
- 90 . Baydas G., Canatan H., Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozocin-induced diabetes mellitus.*J. Pineal Res.* 2002; 32:225–230.
91. Saini S., Sharma S., Antidiabetic effect of helianthus annuus L seeds ethanolic extract in streptozotocin-nicotinamides induced type 2 diabetes mellitus. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2013 ; 5(2) :382-387 .
- 92 . Sivajothi V., Dey A., Jayakar B., Rajkapoor.**Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats.**2006; B / IJPR. 2008; 7 (1): 53-59.
- 93 . Ragbeetli C., Ceylan E. Effect of Streptozotocin on Biochemical Parameters in Rats. *Asian J. Chem.*2010 ; 22(3) :2375-2378 .
- 94 . Alaa Al-Khalifa., M.Sc.a., Thazhumpal Chacko Mathew., M.Sc., Ph.D., F.R.C.Path.,a,b, ,Naji S. Al- Zaid, B.Sc., Ph.D.d, Elizabeth Mathew, B.Sc.a,and Hussein M. Dashti, M.D., Ph.D., F.I.C.S., F.A.C.S. Therapeutic role of low-carbohydrate ketogenic diet in diabetes. A. Al-Khalifa et al. / *Nutrition* .2009 ;25 : 1177–1185 .
- 95 . Abu Abeeleh M., Bani Ismail Z .,Alzaben K R., Abu-Halaweh S A., Al-Essa., Jaafar Abuabeeleh M K., Alsmady M M. Induction of Diabetes Mellitus in Rats Using Intraperitoneal Streptozotocin: A Comparison between 2 Strains of Rats. *European Journal of Scientific Research.*2009 ; 32 (3) :398-402 .
- 96 . Pinheiro L S., Dutra de Melo1 A., Andreazzi A E., de Caires Júnior L C., Costa M B ., González Garcia R M. Protocol of Insulin Therapy For Streptozotocin-Diabetic Rats Based on a Study of Food Ingestion and Glycemic Variation. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 2011 ; 38 (2) :117-127 .
- 97 . Maqsood A., Zaman F., Tanveer S., Zabta M. Antidiabetic and Hypolipidemic Effects of *Aqueous Methanolic* Extract of *Acacia Nilotica* Pods in Alloxan-Induced Diabetic Rabbits. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 2008 ; 35 (1) :29-34 .
- 98 . Jo¨ rns A., MundayR., Tiedge M ., Lenzen S. Comparative toxicity of alloxan, N-alkylalloxans and ninhydrin to isolated pancreatic islets *in vitro*. *Journal of Endocrinology* .1997; 155 : 283–293 .
- 99 . Duncan M., Matheka A., Morris Kitua., A Faraj., O Alkizim. A. Peculiar glycemic patterns in alloxaninduced diabetes animal model. Matheka et al. *Afr. J. Pharmacol. Ther.* 2012 ; 1(1): 30-34.

- 100 . Maried E ., N . Anatomie et physiologie humaines . édition du renouveau pédagogique inc . Canada . 4ème édition . 1999 . 618 P .
- 101 . Azzi R. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ;Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*)et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. These de Doctorat , université Tlemcen . 2013.
- 102 . Kanter M. Protective Effects of Thymoquinone on β -cell Damage In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Tip Arařtırmaları Dergisi*.2009 ; 7 (2) :64 -70 .
- 103 . Asad M., Aslam M., Munir T A., Nadeem A. Effect of acacia nilotica leaves extract on hyperglycaemia, lipid profile and platelet aggregation in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2011;23(2) : 3-7 .
- 104 . Luke U O., Ebong P E.,Eyong E U., Robert A E., Ufot S U., Egbung G E . Effect of ethanolic root and twig extracts of vernonia amygdalina (ETIDOT) on liver function parameters of streptozotocin induced hyperglycaemic and normal wistar rats. *European Scientific Journal* October. 2013 ; 9(30) : 199 – 211 .
- 105 . Kaur G., Kamboj P., Kalia A N. Antidiabetic and anti-hypercholesterolemic effects of aerial parts of *Sida cordifolia* Linn. on Streptozotocin-induced diabetic rats. *INDIAN J NAT PROD RESOUR*.2011 ; 2(4) : 428-434.
- 106 . Prakasam A., Sethupathy S., Pugalendi KV. Antiperoxidative and Antioxidant Effects of *Casearia Esculenta* Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.*yale journal of biology and medicine*.2005; 78 : 15 - 23.
- 107 . Shirwaikar A., Rajendran K., Dinesh Kumar C., Bodla R. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*.2004; 91 : 171 - 175.
- 108 . Yuping Li ., Takeki H ., Kiichiro T ., Noboru N., Zbigniew G., Taichi K., et al. Suppressive effects of natural reduced waters on alloxan-induced apoptosis and type 1 diabetes mellitus . *Cytotechnology* .2012 ; 64:281–297 .
- 109 . Djomeni P D D., Tédong L., Asongalem E A., Dimo T., Sokeng S D., Kamtchouing P . Hypoglycaemic and antidiabetic effect of root extracts of ceiba pentandra in normal and diabetic rat. *Afr. J. Trad. CAM* .2006; 3 (1): 129 – 136.
- 110 . Aldo A., Rossini., Arthur A., Liket., William L., Chick., et al. Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.1977 ;74(6) : 2485-2489 .

- 111 . Szkudelski T.,Kandulska k.,Okulicz M .Alloxan in vivo does not only exert deleterious effects on pancreatic β cells.physiol.Res.1998;47:343-346.
- 112 . Medjdoub H. Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. These de Doctorat , université Tlemcen . 2013.
- 113 . Sayed M., Rawi,Iman M., Dawlat M .,Sayed A. Biochemical changes in experimental diabetes before and after treatment with *mangifera indica* and *psidium guava* extracts. *Int J Pharm Biomed Sci* 2011, 2(2) : 29-41 .
- 114 . Mehmet K . Protective Effects of Thymoquinone on β -cell Damage In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Tip Arařtırmaları Dergisi*. 2009 ;7 (2) :64 -70.
- 115 . Ugarte M., Brown M., Katherine A., Hollywood., Garth J.,Cooper., et al. Metabolomic analysis of rat serum in streptozotocin-induced diabetes and after treatment with oral triethylenetetramine (TETA). *Genome Medicine* . 2012 ;4:35 ;1-15 .
- 116 . Negrs S ., Chirita C ., Morosan E., Arsene A L . Experimental pharmacological model of diabetes induction with aloxan in rat. *FARMACIA*. 2013; 61, 2 :313-323.
- 117 . Sanadhya I., Lobo V., Bhot M., Varghese J., Chandra N. Antidiabetic activity of *anthocephalus* indicus a rich fruits in alloxan induced diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci*.2013; 5(2): 519-523.
- 118 . Abunasef S K M . Effect of juniper on the structure of islets of langerhans in alloxan induced diabetic rats: histological and immunohistochemical study. *. TITE EGYPTIAN JOURNA L OF FIISTOLOGY*.2006 ; 29(2) : 193 – 204.
- 119 . Fayzieva Z., Khakimov Z. Influence of glycorazmulin on the parameters of carbohydrate metabolism in alloxane diabetes.*Medical and Health Science Journal, MHSJ*.2010; 3 : 5-8.
- 120 . Sedigheh A., Jamal M S., Mahbubeh S., Somayeh K., Mahmoud R K., Azadeh A. et al. Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) on alloxan-induced diabetic rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*.2011 ; 5(23) ; 2620-2626.
- 121 . Hashemnia M., Oryan A., Hamidi AR., Mohammadalipour A. Blood glucose levels and pathology of organs in alloxan-induced diabetic rats treated with hydro-ethanol extracts of *Allium sativum* and *Capparis spinosa*. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*. 2012 ; 6(21) :1559-1564 .
- 122 . Nermeen M., Shaffie., Fatma A., Morsy., Amina G., Hafiza A. Sharaf. Effect of Caway, Coriander and Fennel on the structure of Kidney and Islets of Langerhan in Alloxan-Induced Diabetic Rats:Histological and Histochemical Study. *Researcher* . 2010; 2 (7) :27-40 .

Références bibliographiques

123 . Jamal Ali Hmza A., Omar E., Adnan A., Muhamed T. Osman. *Nigella sativa* Oil Has Significant Repairing Ability of Damaged Pancreatic Tissue Occurs in Induced Type 1 Diabetes Mellitus. *Global J. Pharmacol.*2013 ; 7 (1): 14-19 .

124 . Sobrevilla V., Boone-Villa J., Aguilar V D., Román-Ramos C N., Vega-Ávila R., Campos-Sepúlveda E., et al . Effect of varying dose and Administration of Streptozotocin on Blood Sugar in MaleCD1 MICE . *Proc. West. Pharmacol. Soc.*2011 ; **54**: 5-9 .

Résumé

L'alloxane et la streptozocine sont des produits chimiques diabétoènes les plus importants.

L'objectif principal de notre travail est de clarifier l'effet comparatif de l'alloxane et de la streptozocine sur quelques paramètres biochimiques (la glycémie, l'insulinémie, le cholestérol total, les triglycérides, les protéines totales) et sur la structure histologique du pancréas endocrine chez les rats blancs à un diabète expérimental pendant (2 – 3 jours).

L'injection intrapéritonéale de 250 mg/kg d'alloxane provoque une hypoglycémie après 24h suivie par une hyperglycémie très hautement significative (5g/l), une hypertriglycérdémie significative, une hyperinsulinémie et une hypercholestérolémie non significative. Le traitement par une dose de 200mg/kg d'alloxane présente une hyperglycémie et une hyperinsulinémie non significatives et une augmentation hautement significative du taux de cholestérol après 72h. Alors qu'une dose de 150 mg/kg d'alloxane provoque une hyperglycémie, une hyperinsulinémie et une hypercholestérolémie non significatives après 72h. Les résultats du traitement de stz (60 mg/kg) provoquent une hyperglycémie significative après 24 h, une hyperinsulinémie et une hypercholestérolémie non significatives alors que les autres paramètres sanguins (triglycérdémie, protéinémie) reste similaires au lot témoin.

Ainsi, L'histologie du pancréas endocrine montre des régions nécrosées plus importantes chez les rats traités par l'alloxane que ceux traités par la stz.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'alloxane et la stz entraînent des signes stables du diabète (polyphagie, une polyurie, une polydipsie, une chute de poids corporel, une hyperglycémie) avec des effets différents.

Mots clés : Alloxane, diabète expérimentale, pancréas endocrine, streptozocine.

ملخص

الألوكسان والستربتوزوسين هما من المواد الكيميائية المحدثة للسكري الأكثر أهمية.

الهدف الرئيسي من عملنا هو توضيح التأثير المقارن بالأوكسان وبالستربتوزوتوسين على بعض القياسات البيوكيميائية (الجلوكوز، الأنسولين، الكوليسترول، ثلاثي الغليسريد، البروتين) في الدم والبنية النسيجية للبنكرياس ذو الإفراز الداخلي في الفئران البيضاء لمرض السكري التجريبي (2-3 أيام).

جرعة 250مغ/كغ من الألوكسان تسبب إنخفاض لنسبة السكر في الدم بعد 24 ساعة ومن ثم إرتفاع مهم جدا في نسبة السكر في الدم (5غ/ل)، إرتفاع غير هام لنسبة الأنسولين و الكوليسترول في الدم، إرتفاع هام لثلاثي الغليسريد في الدم بعد مرور 48 ساعة، وجرعة 200مغ/كغ من الألوكسان تسبب إرتفاع غير هام لنسبة السكر والأنسولين في الدم وإرتفاع هام لنسبة الكوليسترول في الدم بعد مرور 72 ساعة، وجرعة 150 مغ/كغ من الألوكسان تسبب إرتفاع غير هام لنسبة السكر والأنسولين والكوليسترول في الدم بعد مرور 72 ساعة، بينما حقن جرعة (60 مغ/كغ) من الستربتوزوسين تسبب إرتفاع هام لنسبة السكر في الدم بعد مرور 24 ساعة من الحقن، وإرتفاع غير هام لنسبة الأنسولين والكوليسترول في الدم بينما تبقى المكونات الأخرى (ثلاثي الغليسريد، البروتين) في الدم ثابتة.

كل من الألوكسان والستربتوزوسين يسبب تنخر في البنكرياس ذو الإفراز الداخلي ولكن تأثير الألوكسان يكون أكثر أهمية من تأثير الستربتوزوسين.

النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة أن ألوكسان والستربتوزوسين يسببان علامات مستقرة لمرض السكري (زيادة في الأكل، بوال، عطاش، إنخفاض وزن الجسم، إرتفاع السكر في الدم) ولكن تأثير كل جرعة من الألوكسان والستربتوزوسين مختلف.

الكلمات الرئيسية: الألوكسان، البنكرياس ذو الإفراز الداخلي، الستربتوزوسين، السكري التجريبي.

Abstract :

The streptozotocin and alloxan are the most prominent diabetogenic chemical agents.

The objective of the present work was undertaken to clarify the comparative effect of alloxan and streptozotocin on some biochemical parameters (glycemia, Insulin, total cholesterol, triglyceridemia, total proteins) and on histological structure of the endocrine pancreas in white rats with experimental diabetes during (2 - 3 days).

The intraperitoneal injection of 250 mg / kg of alloxan causes after 24 h, hypoglycemia followed by a very high significant hyperglycemia (5 g / l), a significant hypertriglyceridemia, hyperinsulinemia and hypercholesterolemia wasn't significant. The treatment with a dose of 200 mg / kg of alloxan showed a hyperglycemia and hyperinsulinemia but not significant and the level of cholesterol was increased high significantly after 72h. While a dose of 150 mg / kg of alloxan caused ; after 72h, hyperglycemia and hyperinsulinemia, hypercholesterolemia but not significant. The results of treatment with STZ (60 mg / kg) showed a significant hyperglycemia after 24 h, hyperinsulinemia and hypercholesterolemia non significant however the other blood parameters (triglyceridemia, proteinemia) had a similar levels in contrast to control group.

Histological sections of the endocrine pancreatic showed a large necrotic regions in rats treated with alloxane than those treated with stz.

The results obtained in this study showed that the treatment with alloxan and stz causes stable symptoms of diabetes (polyphagia, polyuria, polydipsia, a fall in body weight, hyperglycemia) with different effects.

Key words : Alloxan, experimental diabetes, endocrine pancreas, streptozotocin.

Nom : BOUHOUCHE

Prénom : IBTISSEM

Thème : Etude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins.

Résumé :

L'alloxane et la streptozocine sont des produits chimiques diabétoènes les plus importants.

L'objectif principal de notre travail est de clarifier l'effet comparatif de l'alloxane et de la streptozocine sur quelques paramètres biochimiques (la glycémie, l'insulinémie, le cholestérol total, les triglycérides, les protéines totales) et sur la structure histologique du pancréas endocrine chez les rats blancs à un diabète expérimental pendant (2 – 3 jours).

L'injection intrapéritonéale de 250 mg/kg d'alloxane provoque une hypoglycémie après 24h suivie par une hyperglycémie très hautement significative (5g/l), une hypertriglycérdémie significative, une hyperinsulinémie et une hypercholestérolémie non significative. Le traitement par une dose de 200mg/kg d'alloxane présente une hyperglycémie et une hyperinsulinémie non significatives et une augmentation hautement significative du taux de cholestérol après 72h. Alors qu'une dose de 150 mg/kg d'alloxane provoque une hyperglycémie, une hyperinsulinémie et une hypercholestérolémie non significatives après 72h. Les résultats du traitement de stz (60 mg/kg) provoquent une hyperglycémie significative après 24 h, une hyperinsulinémie et une hypercholestérolémie non significatives alors que les autres paramètres sanguins (triglycérdémie, protéinémie) reste similaires au lot témoin.

Ainsi, L'histologie du pancréas endocrine montre des régions nécrosées plus importantes chez les rats traités par l'alloxane que ceux traités par la stz.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'alloxane et la stz entraînent des signes stables du diabète (polyphagie, une polyurie, une polydipsie, une chute de poids corporel, une hyperglycémie) avec des effets différents.

Mots clés : Alloxane, diabète expérimentale, pancréas endocrine, streptozocine.

Directeur de recherche : BOUDAH A

Président : Mr . NECIB Y

Professeur. Université Constantine 1 .