

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Glycémies moyennes des rats normoglycémiques traités avec RD01 (3 mg/kg, <i>per os</i>)	25
Figure 2 : Variations de la glycémie après administration de RD02, RD04 et RD05.	28
Figure 3 : glycémies moyennes des rats normoglycémiques traités avec RD02, RD04 et RD05 à 10 mg/kg, <i>per os</i>	31
Figure 4 : Glycémies moyennes des rats en situation d'hyperglycémie traités avec RD02, RD04 et RD05 à 10 mg/kg, <i>per os</i>	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Glycémies (g/L) chez des rats normoglycémiques après administration de l'eau physiologique (10 ml/kg, <i>per os</i>)	24
Tableau II : Glycémies chez des rats normoglycémiques après administration de RD01 (3 mg/kg, <i>per os</i>).....	25
Tableau III : Glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD02 (3 mg/kg, <i>per os</i>).....	26
Tableau IV : Glycémies chez des rats normoglycémiques après administration de RD04 (3 mg/kg <i>per os</i>).....	27
Tableau V : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD05 (3 mg/kg, <i>per os</i>).....	28
Tableau VI : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD02, (10 mg/kg, <i>per os</i>).....	29
Tableau VII : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD04, (10 mg/kg <i>per os</i>).....	30
Tableau VIII : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD05 (10 mg/kg, <i>per os</i>).....	31
Tableau IX : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de l'eau physiologique (10 ml/kg, <i>per os</i>).....	32
Tableau X : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de RD02 (10 mg/kg, <i>per os</i>)	33
Tableau XI : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de RD04, (10 mg/kg, <i>per os</i>)	34
Tableau XII : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de RD05, (10 mg/kg, <i>per os</i>)	35

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	4
I. REGULATION PHYSIOLOGIQUE DE LA GLYCEMIE	5
I.1. Rôle du foie dans le maintien de l'équilibre glycémique	5
I.1.1. La glycogénogenèse	5
I.1.2. La néoglucogenèse	5
I.1.3. La glycogénolyse	6
I.2. Utilisation cellulaire du glucose.....	6
I.2.1. Facteurs hormonaux de la régulation glycémique	6
I.2.1.1. Hormones sécrétées par le pancréas	6
I.2.1.2. Autres hormones hyperglycémiantes	10
I.2.2. Facteurs nerveux de la régulation glycémique	13
I.2.2.1. Le système nerveux orthosympathique.....	13
I.2.2.2. Le système nerveux parasympathique	14
II. MODELES D'ETUDES DU DIABETE DE TYPE 2	15
II.1. Modèle d'insulinorésistance	15
II.2. Diabète induit.....	15
II.2.1. Diabète de type 2 induit à l'alloxane et à la streptozocine.....	16
II.2.2. Modèle d'un régime hypercalorique	17
II.2.3. Modèle d'une alimentation riche en fructose	18
DEUXIEME PARTIE	20
I. MATERIELS ET METHODES	21
I.1. Matériels.....	21
I.1.1. Ligands pharmacologiques	21

I.1.2. Matériels et réactifs de laboratoire.....	21
I.1.3. Matériel animal	21
I.2. Méthodes	22
I.2.1. Essais pharmacologiques	22
I.2.1.1. Principe	22
I.2.1.2. Protocole expérimental	22
II. RESULTATS	24
II.1. Rats normoglycémique	24
II.1.1. Contrôle physiologique.....	24
II.1.1.1. Administration des dérivés stilbéniques et naphtaléniques	24
II.1.2. Rats en situation d'hyperglycémie temporaire :	32
II.1.2.1. Contrôle physiologique.....	32
II.1.2.2. Prévention de l'hyperglycémie temporaire par des dérivés stilbéniques et naphtaléniques.	33
DISCUSSION.....	36
CONCLUSION.....	40
BIBLIOGRAPHIE	43

INTRODUCTION

Le diabète est une maladie endocrinienne qui résulte de troubles de l'insulinorésistance et/ou de la sécrétion d'insuline (déficit ou tarissement). Le résultat est une hyperglycémie permanente nécessitant un traitement médicamenteux.

Le nombre de personnes atteintes de diabète est passé de 108 millions en 1980 à 422 millions en 2014. Entre 2000 et 2016 la mortalité prématuée imputable au diabète a augmenté de 5 %.⁽¹⁾ Cette forte prévalence de survenue du diabète est liée aux variations démographiques (vieillissement de la population), à l'urbanisation accélérée qui a comme corollaire la sédentarisation.

Au Sénégal, la prévalence du diabète était de 10,4 % en 2010 dans une étude menée dans la région de Saint Louis. Dans cette étude, le diabète était associé à l'hypertension artérielle ou à la dyslipidémie dans 87,8 % des cas ; la plupart des sujets diabétiques, environ 62,8 % avaient trois facteurs de risque associés.⁽²⁾

Le traitement du diabète de type 2 fait appel à des médicaments communément appelés antidiabétiques oraux insulinosécréteurs ou améliorant la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline. La pharmacologie des antidiabétiques oraux distingue différentes molécules interagissant avec des cibles appropriées de la régulation du glucose sanguin. Il s'agit essentiellement de médicaments favorisant la sécrétion d'insuline (insulinosécréteurs) comme les sulfonylurées, les glinides, de médicaments qui interagissent par le biais de la voie des incrétines (incrétinomimétiques). D'autres molécules améliorent la sensibilité des tissus périphériques à l'action de l'insuline (biguanides, glitazones) ou s'opposent à l'absorption du glucose (inhibiteurs alpha-glucosidase).

Les molécules antidiabétiques sont utilisées seules (monothérapie) ou en association pour une bonne régulation de la glycémie. Toutefois, des cas d'échecs thérapeutiques ont été notés au cours des traitements associant deux ou trois molécules dans la prise en charge du diabète de type 2.⁽³⁾ C'est ce qui justifie,

l'intérêt de la recherche de molécules présentant une plus grande efficacité dans la régulation du glucose sanguin.

Des travaux antérieurs avaient mis en évidence des propriétés antihyperglycémiantes de molécules de types stilbénique et naphtalénique.(4,5)

La présente étude avait pour objectif, d'évaluer le profil de l'effet sur le glucose de dérivés stilbéniques et naphtaléniques.

Ce présent mémoire comporte deux grandes parties :

- Une première partie consacrée aux généralités sur la régulation de la glycémie et des modèles d'étude du diabète de type 2
- Une deuxième partie portant sur l'étude de l'effet sur le glucose sanguin de molécules stilbéniques et naphtaléniques chez des rats normoglycémiques et sur un test de tolérance au glucose.

PREMIERE PARTIE

I. REGULATION PHYSIOLOGIQUE DE LA GLYCEMIE

I.1. Rôle du foie dans le maintien de l'équilibre glycémique

En dehors de toute régulation nerveuse ou hormonale, il existe une action prépondérante par le biais de trois mécanismes :

I.1.1. La glycogénogenèse

Chaque jour en moyenne, un homme de 70 kg consomme environ 400 g d'hydrates de carbone. Après avoir franchi la barrière intestinale, ces sucres et en particulier le glucose se retrouvent dans la voie sanguine au niveau de la veine porte.

Le glucose qui se rend alors au foie par la veine porte, est capté en grande partie (70 %) par la cellule hépatique. Celle-ci ne possède pas de barrière cellulaire à l'entrée du glucose.

La pénétration transmembranaire de ce sucre se fait donc facilement. A l'inverse du muscle et du tissu graisseux, le contenu en sucres libres à l'intérieur du foie est au moins équivalent au taux présent dans le liquide extracellulaire.

Dans les hépatocytes, le glucose se polymérise par formation de liaisons glucosides pour donner naissance au glycogène (glycogénogenèse). Cette synthèse est sous le contrôle de la glycogène synthétase.(6)

I.1.2. La néoglucogenèse

Le foie intervient également par le biais de la néoglucogenèse dans la régulation de la glycémie en dehors des repas et pendant la nuit. En effet, les hépatocytes produisent du glucose à partir d'autres substances qui circulent dans le sang notamment les acides aminés et lactate : on parle de néoglucogenèse.(7)

La néoglucogenèse est la synthèse de *novo* du glucose à partir de substrats carbonnés non glucidiques : acides aminés, lactate, glycérol et pyruvate.

Les réactions de la néoglucogenèse sont les mêmes chez les animaux, les végétaux, les champignons et les micro-organismes. La néoglucogenèse utilise essentiellement des enzymes cytosoliques de la glycolyse.(7)

I.1.3. La glycogénolyse

A l'inverse de la formation du glycogène, du glucose peut être libéré par le foie à partir de son glycogène (glycogénolyse). Sous l'influence d'une phosphorylase active (phosphorylase b-kinase), le glycogène est dégradé en glucose-1 phosphate (G-1-P). Le G-1-P est transformé en glucose 6 phosphate qui peut-être hydrolysé rapidement en glucose libre sous l'action de la glucose 6 phosphatase. Le débit de production de glucose par le foie, chez un homme adulte est d'environ 10 g par heure.(6)

I.2. Utilisation cellulaire du glucose

I.2.1. Facteurs hormonaux de la régulation glycémique

I.2.1.1. Hormones sécrétées par le pancréas

La mise en jeu alternée ou simultanée d'hormones, les unes hyperglycémiantes et les autres hypoglycémiantes, permet donc un ajustage précis et relativement rapide du glucose sanguin. De nombreuses glandes participent à ce mécanisme. Le pancréas endocrine occupe de loin une place prépondérante parmi les glandes endocrines participant au phénomène de glycorégulation. En effet, le pancréas sécrète deux hormones importantes que sont l'insuline, considérée pour le moment comme la seule hormone réellement hypoglycémiant et le glucagon, une hormone hyperglycémiant.

- Le pancréas endocrine

Les cellules endocrines du pancréas, productrices d'hormones, sont groupées en multiples îlots, appelés les îlots de Langerhans. Il y aurait environ un million d'îlots dans le pancréas d'un Homme normal.

Les techniques d'immunofluorescence indirecte ont permis de mettre en évidence dans chaque îlot trois types de cellules :

- Les cellules α qui contiennent du glucagon ;
- Les cellules β qui contiennent de l'insuline ;
- Les cellules δ qui contiennent de la somatostatine.

- L'insuline

L'insuline est produite dans les cellules β qui constituent 75 % des îlots de Langerhans du pancréas. Les cellules α sécrètent le glucagon, les cellules δ la somatostatine.

L'insuline est synthétisée sous forme d'une chaîne polypeptidique unique : la prépro-insuline qui se transforme en pro-insuline qui elle-même, sous l'influence de protéases appelées furines, donne l'insuline et le peptide C (C pour connecting, car reliant les deux chaînes A et B) lié à deux atomes de zinc. L'insuline est stockée dans les granules sous forme d'un polymère, probablement un hexamère.

Sur un fond de sécrétion continue d'environ 40 μg à jeun, il y'a également des augmentations de sécrétion liées aux repas. A ces variations, se superposent des pointes de sécrétion de type pulsatile. Le but du traitement substitutif par l'insuline exogène est de se rapprocher de la courbe de sécrétion physiologique.

Le principal stimulant de la sécrétion d'insuline est le glucose, il provoque une libération biphasique, un effet immédiat de courte durée et un effet prolongé.

Les canaux jonctionnels, en permettant le passage d'ions, de métabolites, de messagers secondaires d'une cellule à l'autre, jouent un rôle important pour synchroniser sa sécrétion.

La stimulation de la sécrétion d'insuline par le glucose nécessite plusieurs étapes :

- Pénétration dans la cellule β pancréatique.
- Phosphorylation par une glucokinase présente dans les cellules β suivie d'une métabolisation avec synthèse d'ATP dont la concentration intracellulaire augmente. Cette augmentation d'ATP entraîne la fermeture des canaux potassiques dépendant de l'ATP et donc l'arrêt de la sortie de potassium. Le résultat est une dépolarisation à l'origine de l'ouverture des canaux calcium voltage-dépendants. L'entrée de calcium favorise la formation du couple calcium-calmoduline nécessaire à l'exocytose des granules de stockage de l'insuline.(8)

- Le glucagon

La régulation de la glycémie, compte tenu de l'apport alimentaire discontinu et des besoins variables de l'organisme, nécessite des mécanismes de régulation complexes. Le glucagon y participe en ayant des effets opposés à ceux de l'insuline.

Le glucagon est une hormone polypeptidique hyperglycémiant, secrétée par les cellules α du pancréas et des cellules intestinales, qui a été découverte peu de temps après l'insuline.

Le glucagon est formé d'une seule chaîne de 29 acides aminés. Sa sécrétion est inhibée par le glucose et la somatostatine et stimulée par les acides aminés.

Sa demi-vie plasmatique est de quelques minutes car il est hydrolysé dans de nombreux tissus y compris le foie. Une sécrétion excessive de glucagon est observée chez certains diabétiques.

Le glucagon stimule les récepteurs spécifiques liés aux protéines Gs à l'adényl cyclase qui est activée, ce qui entraîne une augmentation du taux de l'AMPcyclique, responsable de ses effets physiologiques.

Le glucagon a un effet hyperglycémiant parce qu'il augmente la transformation du glycogène en glucose et inhibe parallèlement la synthèse du glycogène à partir du glucose. Il peut être utilisé dans le traitement d'urgence des comas hypoglycémiques en attendant l'administration du glucose.

Le glucagon est indiqué essentiellement dans le traitement des hypoglycémies dues à l'insuline. Il s'administre par voie intraveineuse, intramusculaire ou sous cutanée. Son effet est rapide et de courte durée, moins d'une demi-heure, d'où la nécessité de compléter son administration par celle du glucose.(8)

- La somatostatine

Hormone initialement extraite de l'hypothalamus, la somatostatine a été retrouvée dans les cellules δ tout au long du tractus digestif, surtout dans l'antre et le fundus gastrique, et dans le pancréas. Ce tétra décapeptide inhiberait entre autres, toutes les sécrétions hormonales digestives, notamment la sécrétion de gastrine, d'insuline et de glucagon, par l'intermédiaire d'une interaction avec l'AMPcyclique. Il diminue le débit splanchnique et participerait à la modulation de la prise alimentaire. Son action est locale. Quelques cas de somatostatine, associant un diabète et des diarrhées ont été rapportés.

La somatostatine est une hormone qui est utilisée en gastroentérologie. Sa composition chimique est celle d'un peptide, une suite de 14 acides aminés. On appelle code génétique, la règle qui permet de traduire en peptide un gène situé dans l'ADN d'une cellule. Sur l'ADN, chaque ensemble de 3 nucléotides, appelé codon, code pour un et un seul acide aminé. En revanche plusieurs codons différents peuvent coder pour le même acide aminé.

La sécrétion de somatostatine est :

- Activée au niveau pancréatique par le glucagon, une déficience en insuline, la sécrétine, la gastrine, la bombésine, le VIP (vasoactive intestinal peptide) et la cholécystokinine. L'élevation du taux de glucose sanguin ou d'acides aminés stimule également la libération de somatostatine par les cellules δ , l'activation du récepteur β adrénnergique. Au niveau du système nerveux central, la somatostatine est régulée par des neurotransmetteurs et des changements ioniques de la membrane cellulaire. Une dépolarisation stimule sa sécrétion par une réaction dépendante des échanges transmembranaires de sodium et de calcium.
- Inhibée par l'acétylcholine, les endorphines, la substance P, la glutamine, le VIP, la dopamine et la noradrénaline. Au niveau stomacal et intestinal, l'acide gamma amino-butyrique (GABA), libéré par les terminaisons nerveuses intrinsèques, diminue également la synthèse de somatostatine. Au niveau hypothalamique, le neuropeptide Y (NPY) synthétisé par les interneurones des noyaux arqués, est capable de moduler la synthèse de cette hormone mais aussi du GNRH (Gonadotrophine Releasing Hormone), qui est également synthétisé au niveau intestinal.(9)

I.2.1.2. Autres hormones hyperglycémiantes

- Corticoides :

Le cortisol est une hormone glucocorticoïde de la famille des corticostéroïdes, synthétisée à partir du cholestérol, et sécrétée par les glandes corticosurrénales. Le cortisol a des propriétés hyperglycémiantes et lipolytiques, et stimule le catabolisme protéique. Il a aussi une action anti-inflammatoire, en inhibant la

production et les effets des cytokines pro-inflammatoires (TNF, et interleukines 1 et 6), en diminuant la production de facteurs chimiques inflammatoires, et en favorisant la production et la circulation sanguine d'acteurs anti-inflammatoires. Le stress provoqué par une hypoglycémie va déclencher la sécrétion de cortisol *via* l'excitation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (voie corticolibérine CRH, puis corticotrophine ACTH). Contrairement à l'adrénaline, la sécrétion de cortisol se fait à retardement et de façon étalée durant les heures qui suivent le stress engendré. A noter que la sécrétion de cortisol démarre en dessous de 0,60 g/L de glucose, contre 0,65 g/L pour la sécrétion de glucagon, d'hormones de croissance, et de catécholamines.(10)

Une fois dans le sang, le cortisol va être transporté par des protéines porteuses CBG et l'albumine dans une moindre mesure. Seul le cortisol sous forme libre peut entrer en action, et étant un stéroïde donc liposoluble, il va directement pénétrer dans les cellules pour aller se fixer au complexe « glucocorticoïde récepteur (GR)+ protéine HSP + protéine immunophilin », situé dans le cytoplasme. Une HSP est une protéine protégeant la cellule des agressions et du stress, comme les radicaux libres. Cette fixation détache de ce complexe, les protéines chaperonnes immunophilines et HSP, activant ainsi le GR. L'ensemble cortisol+ GR migre dans le noyau cellulaire, où il se lie à des HRE (Élément de Réponse à l'Hormone) de l'ADN, modulant alors la transcription génétique, ce qui aura ultérieurement une incidence sur un grand nombre de processus physiologiques intracellulaires.

La présence de cortisol dans une cellule implique également l'activation de la cortisone. Cette dernière est également sécrétée par les corticosurrénale, à des quantités 7 fois inférieures au cortisol, puis sera stockée dans les cellules. L'arrivée de cortisol active l'enzyme 11 bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 qui est responsable de l'activation de la cortisone en cortisol, ce qui accroît davantage la concentration intracellulaire de glucocorticoïdes actifs.

Du fait de la variété de leurs indications, les corticoïdes sont fréquemment prescrits, en médecine générale comme en milieu hospitalier. Certaines études laissent supposer que 0,5 % de la population générale en bénéficie un jour ou l'autre. Pourtant, à côté des effets bénéfiques anti-inflammatoires puissants, leurs effets indésirables sont nombreux, en particulier sur le métabolisme glucidique. Comme le soulignent les recommandations de la Haute Autorité de la santé en France concernant le diabète de type 2, « les corticoides ont un effet hyperglycémiant dépendant de la dose, réversible et transitoire, qu'ils soient administrés par voie orale, intraveineuse, intramusculaire ou interarticulaire ». Les Services d'Urgence et de Diabétologie accueillent d'ailleurs fréquemment des patients présentant une hyperglycémie majeure voire un coma hyperosmolaire alors qu'ils sont traités depuis peu par des corticoïdes pour une pathologie aiguë. Tous les effets des glucocorticoïdes sur le métabolisme du glucose concourent en effet à une hyperglycémie. Ils augmentent la production hépatique de glucose, notamment en augmentant la disponibilité des précurseurs de la néoglucogenèse et en stimulant la sécrétion de glucagon. Ils sont aussi à l'origine d'une insulinorésistance musculaire en diminuant l'utilisation périphérique du glucose et son oxydation. Enfin, ils ont un effet toxique direct sur la cellules β .(11)

- Hormones thyroïdiennes :

L'hyperthyroïdie peut-être associée à une élévation modérée de la glycémie et les anciennes études montrent qu'il existe une augmentation de la production hépatique de glucose après administration de la T3.(12) Les travaux récents effectués par une équipe hollandaise montrent une régulation hypothalamique de la production hépatique du glucose (PHG). La réalisation de sympathectomie et de parasympathectomie chez des rats euthyroïdiens et hyperthyroïdiens démontre que seule la sympathectomie réduit l'augmentation de la PHG liée à l'hyperthyroïdie.

Le lien avec une action hypothalamique a été évoqué puisqu'il a été objectivé la présence de récepteurs TR α au niveau du noyau paraventriculaire hypothalamique (NPV). L'injection de la T3 dans le NPV entraîne une PHG mais celle-ci est limitée en cas de sympathectomie. Ainsi, il semble exister encore une fois, une action hypothalamique *via* le système nerveux sympathique.(13)

I.2.2. Facteurs nerveux de la régulation glycémique

I.2.2.1. Le système nerveux orthosympathique

Depuis les travaux de Claude Bernard (1849) sur l'action hyperglycémante de la piqûre expérimentale du plancher du IV^e ventricule chez le chien, il est admis que le système nerveux central puisse exercer une influence sur le métabolisme des sucres. Cette hyperglycémie paraissait liée à la sécrétion d'adrénaline par les surrénales et à son effet sur le foie : stimulation de l'adénylate cyclase membranaire et formation d'AMP cyclique.

Cependant les médullo-surrénales ne sont pas indispensables à cette élévation glycémique qui se produit en une quinzaine de minutes.

A partir des centres stimulés, ce sont bien des influx descendants qui sont à l'origine de l'action hyperglycémante.

L'influence du SN sympathique sur la glycorégulation passe par l'intermédiaire d'éléments cibles comme le pancréas. Sous l'influence des catécholamines, le pancréas freine sa sécrétion d'insuline et augmente sa sécrétion de glucagon. Ces deux actions couplées tendent à éléver nettement la glycémie. Il en résulte une meilleure utilisation du glucose plasmatique par les tissus non-insulino dépendants comme le cerveau.

L'adrénaline et la noradrénaline n'inhibent la sécrétion d'insuline qu'à une concentration glucosée élevée.(6)

I.2.2.2. Le système nerveux parasympathique

L'effet insulino-sécréteur du nerf vague avait été affirmé très tôt grâce à des expériences de circulation croisée chez le chien.

Il a confirmé avec des techniques de dosage radio-immunologiques réalisés *in vitro*, que l'acétylcholine est responsable de la libération d'insuline.(6)

La vagotomie aiguë chez le rat diminue le taux de dépôt de glycogène après une charge de glucose, et l'activation de l'innervation parasympathique du foie entraîne une augmentation de la synthèse de glycogène et maintient la réduction du glucose libéré par le foie.(14,15) Comme l'hyperglycémie améliore la synthèse du glycogène dans le foie, ces résultats suggèrent également que celle-ci peut être stimulée par le vague.

Une injection I.V de glucose entraîne une augmentation de l'activité efférente dans la branche hépatique du nerf vague chez le rat.(16)

Contrairement à l'effet du glucose, l'administration d'insuline et de 2-désoxy-D-glucose supprime l'activité efférente. La réduction constante de l'activité après l'administration d'insuline est associée à une chute de la glycémie, ce qui suggère qu'il est du à l'effet hypoglycémiant de l'insuline. L'effet du 2-désoxy-D-glucose pourrait être expliqué par l'inhibition de l'utilisation intracellulaire de glucose dans le cerveau.(11, 12) Ces observations indiquent que les changements de la concentration de glucose sanguin sont médiés en partie par l'innervation efférente vagale du foie.(16)

II. MODELES D'ETUDES DU DIABETE DE TYPE 2

II.1. Modèle d'insulinorésistance

Ainsi des souris C57BL/6j ont été nourries avec un régime riche en graisses (58 %) ou un régime normal (11 %). Le poids corporel était plus important après la première semaine, dans le groupe soumis à une alimentation riche en graisses. La glycémie circulante a augmenté après une semaine de régime hypercalorique et est restée élevée à un niveau d'environ 1mmol/L tout au long de la période d'étude (12 mois). En revanche l'insuline circulante a augmenté progressivement.(19)

L'administration intraveineuse de glucose a révélé une réponse insulinique associée à une intolérance marquée au glucose après une semaine.

Chez ces souris l'administration d'un inhibiteur de dipeptidylpeptidase (DPPIV) (0,3 mg/ml, *per os*) pendant une semaine a induit une amélioration de la tolérance au glucose et une sécrétion d'insuline importante dans les deux lots de souris.

II.2. Diabète induit

Le diabète de type 2 (DT2) peut être induit expérimentalement par des agents chimiques ou par un régime alimentaire hypercalorique. Outre le facteur de coût, ces modèles sont devenus très populaires ces dernières années en raison de la ressemblance avec la pathogénèse du diabète chez l'homme. Aucun modèle ne présente la physiopathologie complète du DT2. Cependant, il existe des modèles de rongeurs qui présentent l'une ou les deux caractéristiques pathogènes majeures du DT2, à savoir la résistance à l'insuline et, par la suite, le développement d'un dysfonctionnement des cellules bêta pancréatiques.

II.2.1. Diabète de type 2 induit à l'alloxane et à la streptozocine (stz)

L'alloxane a été utilisé pour la première fois en 1943 pour induire le DT2 chez les animaux par Goldner et Gomori.(20) C'est un dérivé d'acide urique qui détruit sélectivement les cellules bêta-pancréatiques par des mécanismes de stress oxydatif.(21) Cependant, l'utilisation de l'alloxane de nos jours est significativement plus faible que celle de la STZ, en raison de sa moindre efficacité et de certains effets secondaires avérés chez les animaux (lésions hépatiques et rénales). La STZ, en revanche, est un antibiotique naturel produit par l'espèce bactérienne *Streptomyces achromogenes*.(22) C'est un analogue structural de la N-acétyl glucosamine qui agit comme un puissant agent alkylant, qui entraîne une perturbation du transport du glucose, de l'activité glucokinase ainsi que la dégradation de plusieurs brins d'ADN.(23) Au fil des décennies, diverses combinaisons ont été utilisées pour développer des modèles animaux en utilisant la STZ ou l'alloxane ; y compris l'injection unique de STZ à dose élevée (> 65 mg/kg de poids corporel). Les injections multiples de STZ à faible dose (< 35 mg/kg de poids corporel) ou sa combinaison avec des régimes riches en graisses. Il est cependant connu qu'une injection unique de STZ à forte dose (> 60 mg/kg de poids corporel) entraîne une destruction massive des cellules bêta-pancréatiques, plus caractéristique du DT1, alors que des doses intermédiaires d'injections de STZ, entre 40 et 55 mg / kg de poids corporel, provoquent seulement une altération partielle des mécanismes de sécrétion d'insuline observée dans le DT2.(24) Une dose unique inférieure à 35 mg / kg de poids corporel chez des rats nourris avec un régime commercial normal ne provoque généralement aucun effet hyperglycémique.(24) La STZ est généralement injectée par voie intrapéritonéale à des dosages variables chez les rats (35–65 mg / kg de poids corporel) et les souris (100 à 200 mg / kg de poids corporel). Par contre, l'alloxane est administrée à la dose de 40 à 200 mg / kg de poids corporel aux rats et 50 à 200 mg / kg de poids

corporel chez les souris.(25) Ces modèles sont généralement caractérisés par une hyperglycémie à jeun ou non, une baisse des taux d'insuline sérique avec une hyperlipidémie. Cependant, la résistance à l'insuline est souvent absente de ces modèles. En raison de cette limitation, bien que ces modèles ne puissent pas être considérés comme des modèles appropriés pour le DT2, ils peuvent être utilisés pour le criblage des molécules insulino-sécrétrices.

II.2.2. Modèle d'un régime hypercalorique

L'approche consistant à nourrir les animaux avec un régime riche en graisses pour l'induction du DT2 a été décrite pour la première fois à la fin des années 1980.(26) Par la suite, un certain nombre de chercheurs ont utilisé cette approche pour développer des modèles de rongeurs de DT2 en utilisant différentes souches de souris ou de rats et différentes quantités de calories alimentaires provenant des graisses. L'obésité est l'un des principaux facteurs de développement du DT2. Elle se développe généralement lorsque les rongeurs sont nourris avec un régime riche en graisses (40 à 60 % des calories totales). Plusieurs chercheurs ont développé ce modèle en utilisant des souris C57BL / 6 J.(26,27) Cependant, il est à noter que ce modèle présente une résistance à l'insuline mais sans défaillance des cellules bêta-pancréatiques, et que la résistance à l'insuline dans la souche C57BL / 6 J est compensée par une prolifération marquée des cellules bêta-pancréatiques.

Les modèles de régime riche en graisses sont généralement caractérisés par un surpoids, une obésité, une tolérance au glucose altérée et une résistance à l'insuline. Lorsqu'un régime riche en graisses est utilisé chez les rongeurs pour induire une résistance à l'insuline, il est important de commencer à nourrir les animaux à un plus jeune âge (6 à 8 semaines), car il a été démontré que c'est l'âge le plus propice pour développer l'obésité.(28) Les souris C57BL / 6J sont généralement nourries avec un régime contenant 40 à 60 % de calories provenant de la graisse, soit

environ huit fois plus de graisses que celle des souris témoins pendant 8 à 16 semaines. Bien que certaines des caractéristiques diabétiques aient été notées juste après 4 semaines, cependant une durée plus longue de l'alimentation en graisses améliore les caractéristiques de résistance à l'insuline, une altération de la tolérance au glucose révélant un profil lipidique anormal et une hyperglycémie légère à modérée. Le degré d'hyperglycémie dépend en grande partie du type et de la quantité de graisses et de la durée de l'alimentation, il faut une période considérablement plus longue (16 semaines) pour développer une hyperglycémie à jeun.(19,28)

II.2.3. Modèle d'une alimentation riche en fructose

Zavaroni et coll. (29) et Tobey et colhl. (30) ont d'abord démontré que l'alimentation au fructose chez le rat induisait des symptômes d'hypertriglycéridémie, d'hyperinsulinémie et de résistance à l'insuline. Pour développer le DT2, l'apport calorique dans les régimes alimentaires contenait entre 35 et 72 % de fructose dans l'alimentation, ou 10 à 15 % de solutions de fructose dans l'eau de boisson ad libitum pendant 2 à 12 semaines (31). Dai et coll. (31) ont démontré que des rats nourris avec une solution de fructose (5 à 10 %) présentaient une augmentation dépendante de la dose de l'apport hydrique, rappelant la polydipsie chez les diabétiques de type 2. De plus, au cours de la période de 14 semaines, ces rats ont connu une prise de poids progressive. Leur expérience a également révélé que nourrir une solution de fructose à 10 %, l'équivalent d'environ 52,5 % de calories dans un régime, dans de l'eau potable pendant 1 semaine ou plus, est propice pour développer une complication secondaire courante du DT2 connue sous le nom d'hypertension avec une augmentation de la pression artérielle systolique de 20 à 25 mmHg.

Benado et coll. (32) ont nourri une concentration variable de fructose (0 à 45 %) dans leur régime alimentaire pendant une période de 28 jours afin d'étudier leurs effets sur les taux de lipides chez des rats SD (Sprague-Dawley) normaux. Leur régime alimentaire comprenait à la fois des niveaux de graisses et de glucides reflétant ceux généralement observés dans un régime américain moyen. Les niveaux de fructose variaient entre 0, 10, 20 et 45 %. Leurs résultats n'ont indiqué aucune différence significative dans le cholestérol total, le cholestérol non HDL et les triglycérides chez les rats nourris au fructose à 10 %. Toutefois, des différences significatives dans les groupes 20 % et 45 % ont été observées par rapport au groupe contrôle (0 % fructose). Un gain moyen significatif de poids corporel n'a cependant été noté que dans le groupe nourri à 45 % de fructose. La consommation de fructose à des niveaux «normaux», c'est-à-dire 10 % de l'apport énergétique, n'a produit aucun effet indésirable sur les niveaux de lipides, ce qui pourrait être dû à la durée plus courte de l'expérience.

La prévalence du surpoids, de l'obésité suivie de la résistance à l'insuline et du diabète chez les américains est largement associée à la consommation de quantités plus élevées de fructose, en particulier à partir de glucides simples, de boissons gazeuses et de sirop de maïs à haute teneur en fructose.(32) Il a également été rapporté que l'alimentation à long terme d'un régime riche en fructose provoque une hyperlipidémie qui est directement liée au développement de la résistance à l'insuline, la première pathogenèse majeure du T2D.(33,34) La recherche indique que le fructose est plus hyperlipidémique que le glucose et l'amidon en raison de son métabolisme unique et que les régimes riches en fructose augmentent considérablement les taux de cholestérol total grâce à une augmentation des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et des lipoprotéines de basse densité (LDL)) chez le rat.(32)

Le fructose peut donc être utilisé comme inducteur du DT2, mais la principale limitation de ce modèle est qu'il faut une période de temps assez longue pour induire la pathogenèse majeure du T2D, pouvant limiter l'utilisation de ce modèle en expérimentation dans le criblage de molécules anti-diabétiques.

DEUXIEME PARTIE

I. MATERIELS ET METHODES

I.1. Matériels

I.1.1. Ligands pharmacologiques

Les ligands pharmacologiques utilisés sont des dérivés de synthèse du stilbène (RD01, RD02) et du naphtalène (RD04, RD05).

I.1.2. Matériels et réactifs de laboratoire

❖ Matériels

- Tubes secs
- Pipettes pasteur en verre
- Bechers (100 à 400 ml)
- Balance de précision ORMA, modèle bc (poids maximal : 100 g)
- Mortier, pilon

❖ Réactifs

- Bandelettes réactives de type Accu-check
- Sérum physiologique à 0,9 %
- Tween 80

I.1.3. Matériel animal

Des rats de souche wistar ont été utilisés. Ils ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie, sous la lumière le jour et l'obscurité la nuit.

Les rats ont été pesés, numérotés et gardés dans des cages tapissées de copeaux de bois. Ils ont été nourris deux fois avec l'aliment « KHONTE » de NMA Dakar, composé de maïs, de tourteaux d'oléagineux, de co-produits de céréales. Ils ont eu un accès libre à l'eau.

I.2. Méthodes

I.2.1. Essais pharmacologiques

I.2.1.1. Principe

L'action des molécules sur la glycémie a été évaluée chez des rats de souche wistar.

L'évolution de la glycémie a été suivie pendant 4 heures chez des rats normoglycémiques et 180 minutes sur le test de tolérance au glucose.

Les prélevements de sang ont été effectués au niveau du sinus rétro-orbitaire des rats. La glycémie a été déterminée à l'aide d'un glycomètre (Accu-Chek).

I.2.1.2. Protocole expérimental

❖ Essais chez des rats normoglycémiques

Des lots de rats ont été confectionnés puis mis à jeun pendant 12 heures.

Un premier prélèvement de sang au temps T_0 a été effectué chez les rats avant l'administration de produit. Les molécules ou l'eau physiologique ont été administrées *per os*, des prélèvements de sang ont été effectués toutes les heures pendant 4 heures.

- Lot contrôle : eau physiologique (10 **ml/kg, per os**)
- Lot 1 : **RD01 (3 mg/kg, per os)**
- Lot 2 : **RD02 (3 mg/kg, per os)**
- Lot 3 : **RD04 (3 mg/kg, per os)**
- Lot 4 : **RD05 (3 mg/kg, per os)**
- Lot 6 : **RD02 (10 mg/kg, per os)**
- Lot 7 : **RD04 (10 mg/kg, per os)**

❖ **Essais chez des rats en situation d'hyperglycémie provoquée par voie orale (test de tolérance au glucose)**

Les animaux ont été sélectionnés puis répartis en plusieurs lots :

- Lot 1 : (contrôle), eau physiologique à la dose de 10 **ml/kg, per os** ;
- Lot 2 : RD02 (10 **mg/kg, per os**)
- Lot 3 : RD04 (10 **mg/kg, per os**)

Les rats ont été mis à jeun pendant 12 h. Au temps $T_{-90\text{ min}}$, un prélèvement de sang a été effectué. Les rats ont été ensuite gavés avec RD02, RD04 ou de l'eau physiologique. Au temps T_0 , un prélèvement de sang a été effectué puis chaque rat a été gavé avec du glucose (4 **g/kg, per os**). L'évolution de la glycémie a été suivie toutes les 30 min pendant 2 h.

II. RESULTATS

II.1. Rats normoglycémique

II.1.1. Contrôle physiologique

L'administration *per os* de l'eau physiologique à la dose de 10 ml/kg ne modifie pas la glycémie de base des rats normoglycémiques. Le glucose sanguin reste en effet stable au bout de 4 heures d'observation (**0,89±0,05 g/L vs 0,98±0,05 g/L**), (n=5).

(Tableau I, figure 1)

Tableau I : Glycémies (g/L) chez des rats normoglycémiques après administration de l'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*).

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R₁	0,83	0,88	0,92	0,98	0,95
R₂	0,79	0,85	0,82	0,87	0,85
R₃	0,89	0,94	0,96	0,99	0,95
R₄	1,08	1,12	1,17	1,11	1,19
R₅	0,87	0,93	0,97	1,02	0,99
Moyenne	0,89	0,94	0,96	0,99	0,98
ESM	0,05	0,04	0,05	0,03	0,05

II.1.1.1. Administration des dérivés stilbéniques et naphtaléniques

❖ Administrtrion de RD01 (3 mg /kg, *per os*)

L'administration de RD01 à la dose de 3 mg/kg, ne modifie pas de façon significative la glycémie de base. On note une faible variation du glucose sanguin allant de 0,80±0,06 à 0,78±0,02 et 0,83±0,02 respectivement aux temps T_{2H} et T_{4H}. (n=3). **(Tableau II, figure 1)**

Tableau II : Glycémies chez des rats normoglycémiques après administration de RD01 (3 mg/kg, *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R ₁	0,81	0,75	0,81	0,86	0,82
R ₂	0,7	0,76	0,75	0,75	0,87
R ₃	0,89	0,9	0,78	0,79	0,8
Moyenne	0,80	0,80	0,78	0,80	0,83
ESM	0,06	0,05	0,02	0,03	0,02

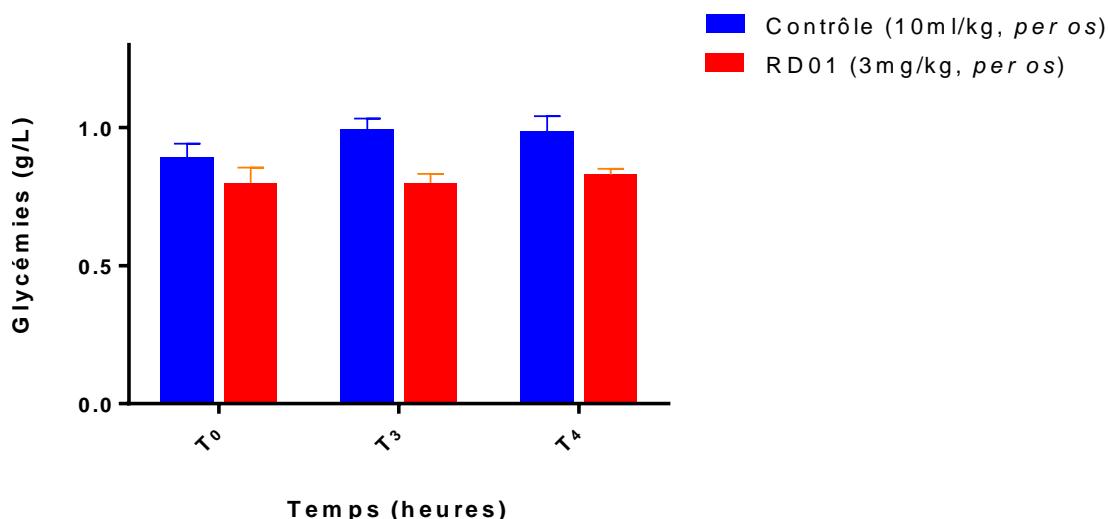


Figure 1 : Glycémies moyennes des rats normoglycémiques traités avec RD01 (3 mg/kg, *per os*)

❖ **Administration de RD02 (3 mg /kg, *per os*)**

L'administration de RD02 (3 mg/kg, *per os*) s'associe à une baisse significative de la glycémie. En effet, le glucose sanguin varie de $0,89 \pm 0,02$ à $0,65 \pm 0,04$ g/L. Cette variation est de $0,24 \pm 0,05$ g/L au bout de 4 heures d'observation. La différence est significative. ($p < 0,05$; $n=5$) (Tableau III, figure 2)

Tableau III : Glycémies chez des rats normoglycémiques après administration de RD02 (3 mg/kg, *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R ₁	0,84	0,78	0,7	0,62	0,68
R ₂	0,92	0,94	0,78	0,74	0,73
R ₃	0,95	0,79	0,68	0,66	0,53
R ₄	0,84	0,85	0,76	0,68	0,63
R ₅	0,9	0,78	0,75	0,7	0,7
MOYENNE	0,89	0,83	0,73	0,68	0,65
ESM	0,02	0,03	0,02	0,02	0,04

❖ **Administration de RD04 (3 mg /kg, *per os*)**

L'administration de RD04 (3 mg/kg, *per os*) s'associe à une tendance vers une baisse de la glycémie. En effet le glucose varie de $0,73 \pm 0,02$ à $0,62 \pm 0,02$ entre T₀ et T_{2H}. (n=4) (Tableau IV ; figure 2)

Tableau IV : Glycémies chez des rats normoglycémiques après administration de RD04 (3 mg/kg *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R ₁	0,74	0,63	0,62	0,6	0,6
R ₂	0,71	0,62	0,62	0,58	0,68
R ₃	0,68	0,69	0,67	0,61	0,72
R ₄	0,77	0,73	0,55	0,67	0,77
MOYENNE	0,73	0,67	0,62	0,62	0,69
ESM	0,02	0,03	0,02	0,02	0,04

❖ **Administration de RD05 (3 mg /kg, *per os*)**

RD05 (3 mg/kg, *per os*) induit une baisse de la glycémie qui varie de $0,87 \pm 0,02$ g/L à $0,71 \pm 0,02$ g/L, soit une variation de $0,19 \pm 0,02$ g/L qui est significative au bout de 2 heures d'observation.

Le pic de l'effet hypoglycémiant est obtenu à T_{2h} ($0,71 \pm 0,02$ g/L) (**Tableau V** ; **figure 2**).

Tableau V : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD05 (3 mg/kg, *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R₁	0,84	0,9	0,59	0,73	0,75
R₂	0,84	0,76	0,67	0,69	0,63
R₃	0,89	0,89	0,75	0,74	0,68
R₄	0,91	0,9	0,71	0,72	0,8
MOYENNE	0,87	0,86	0,71	0,72	0,72
ESM	0,02	0,03	0,02	0,02	0,04

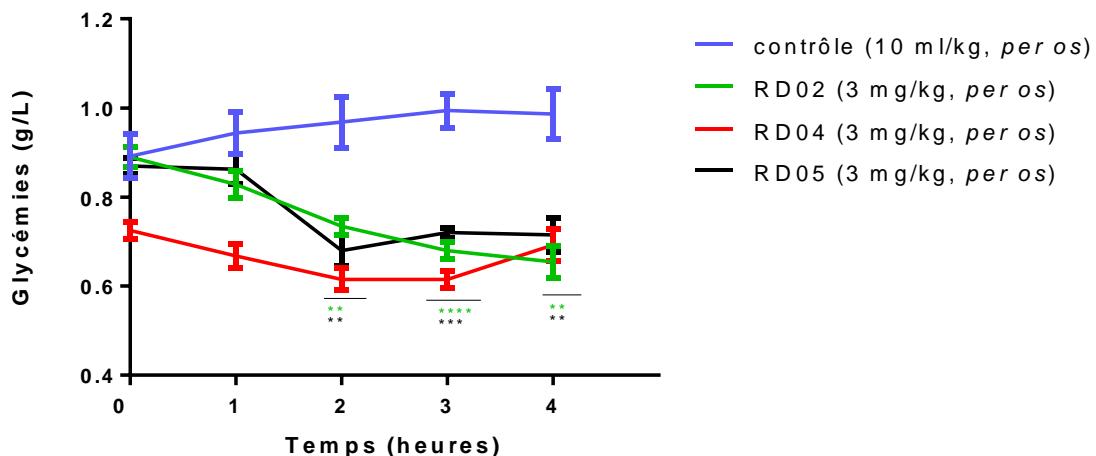


Figure 2 : Variations de la glycémie après administration de RD02, RD04 et RD05.

❖ Administrtrion de RD02 (10 mg /kg, *per os*)

L'administration de RD02 (10 mg/kg, *per os*) ne s'associe pas à une baisse de la glycémie. La variation du glucose sanguin est de $0,73 \pm 0,03$ à T₀ vs $0,77 \pm 0,01$ à T_{4h} (Tableau VI ; figure 3) (n=3).

Tableau VI : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD02 (10 mg/kg, *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R ₁	0,72	0,73	0,65	0,67	0,76
R ₂	0,69	0,6	0,69	0,64	0,79
R ₃	0,79	0,71	0,68	0,7	0,77
Moyenne	0,73	0,68	0,67	0,67	0,77
ESM	0,03	0,04	0,01	0,01	0,01

❖ **Administration de RD04 (10 mg/kg, *per os*) chez des rats normoglycémiques**

L’administration de RD04 (10 mg/kg, *per os*) montre une tendance vers une baisse non significative de la glycémie (0,68±0,04 vs 0,78±0,05) (**ns, n=4**) (**Tableau VII ; figure 3**)

Tableau VII : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD04 (10 mg/kg, *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R₁	0,71	0,62	0,62	0,67	0,66
R₂	0,76	0,65	0,61	0,67	0,71
R₃	0,72	0,78	0,75	0,81	0,87
R₄	0,91	0,78	0,74	0,73	0,73
Moyenne	0,78	0,71	0,68	0,72	0,74
ESM	0,05	0,04	0,04	0,03	0,04

❖ **Administrtrion de RD05 (10 mg /kg, *per os*) chez des rats normoglycémiques**

RD05 (10 mg/kg, *per os*) induit une baisse transitoire de la glycémie ($0,73 \pm 0,05$ g/L vs $0,87 \pm 0,04$ g/L), soit une variation de $0,14 \pm 0,05$ avec un retour de la glycémie vers la ligne de base au bout de 3 heures (**Tableau VIII ; figure 3**).

Tableau VIII : Variations de la glycémie chez des rats normoglycémiques après administration de RD05 (10 mg/kg, *per os*)

Temps (h)	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Rats					
R ₁	0,8	0,68	0,57	0,59	0,64
R ₂	0,82	0,77	0,7	0,79	0,69
R ₃	0,97	0,9	0,7	0,87	0,73
R ₄	0,81	0,84	0,84	0,78	0,83
R ₅	0,96	0,78	0,86	0,84	0,83
Moyenne	0,87	0,79	0,73	0,77	0,74
ESM	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04

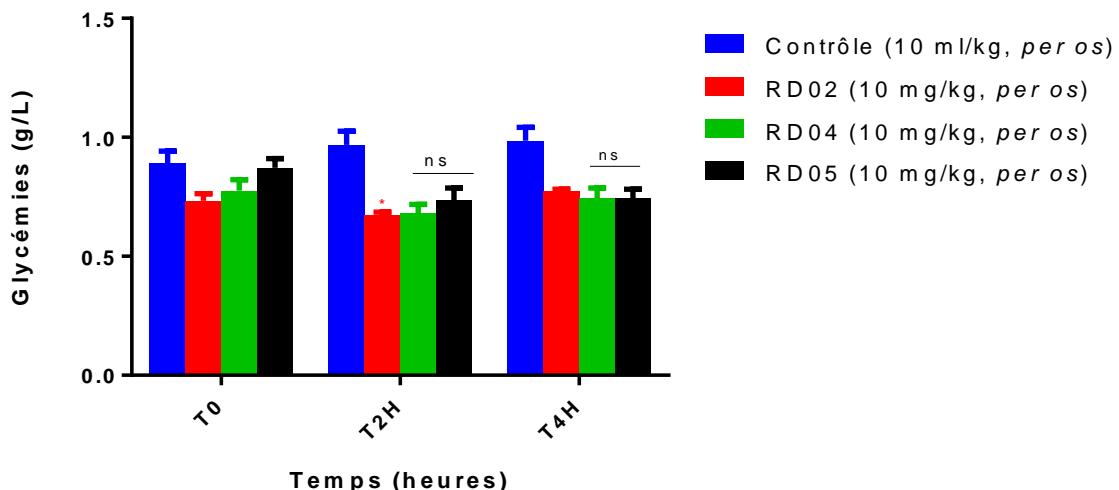


Figure 3 : Glycémies moyennes des rats normoglycémiques traités avec RD02, RD04 et RD05 à la dose de 10 mg/kg, *per os* ns= non significatif vs valeur de base.

II.1.2. Rats en situation d'hyperglycémie temporaire :

II.1.2.1. Contrôle physiologique

Chez des rats prétraités à l'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*), l'administration *per os* de glucose à la dose de 4 g/kg, entraîne une augmentation significative de la glycémie. En effet, le pic hyperglycémique apparaît à $T_{30\text{min}}$ après gavage des rats au glucose. La glycémie est de $2,02 \pm 0,02$ g/L à $T_{30\text{min}}$ vs $0,97 \pm 0,04$ g/L à T_0 , soit une variation de 1,05 g/L. (Tableau IX ; figure 4)

Tableau IX : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de l'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*)

Temps					
(min)	T_{-90}	T_0	T_{30}	T_{60}	T_{90}
Rats					
R_1	0,85	0,99	2,08	1,96	1,95
R_2	0,96	1,08	1,99	2,06	2,04
R_3	0,84	0,86	2,05	1,89	1,86
R_4	0,95	0,96	1,97	1,99	1,96
Moyenne	0,9	0,97	2,02	1,97	1,95
ESM	0,03	0,05	0,03	0,04	0,04

II.1.2.2. Prévention de l'hyperglycémie temporaire par des dérivés stilbéniques et naphtaléniques.

❖ Administration de RD02 (10 mg/kg, *per os*)

RD02 (10 mg/kg, *per os*) prévient de façon significative l'hyperglycémie temporaire induite par le glucose. Dans le groupe traité avec RD02, la glycémie est de $0,81 \pm 0,08$ g/L vs $2,02 \pm 0,02$ g/L, à $T_{30\text{ min}}$ ($p < 0,05$) (Tableau X ; figure 4)

Tableau X : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de RD02 (10 mg/kg, *per os*)

Temps (min)	T_{-90}	T_0	T_{30}	T_{60}	T_{90}
Rat					
R₁	0,72	0,77	0,97	0,99	1,09
R₂	0,8	0,69	0,75	0,85	1,18
R₃	0,98	0,74	0,7	1	0,86
Moyenne	0,83	0,73	0,81	0,95	1,04
ESM	0,08	0,02	0,08	0,05	0,10

❖ Administration de RD04 (10 mg/kg, *per os*)

La prévention de l'effet hyperglycémiant temporaire observé dans le groupe traité avec RD04 (10 mg/kg, *per os*) est identique à l'effet celui préalablement observé avec RD02. À $T_{30\text{min}}$, la glycémie est de $1,19 \pm 0,05$ g/L vs $2,02 \pm 0,02$ g/L dans le groupe contrôle ($p < 0,05$; $n=5$). (Tableau XI ; figure 4)

Tableau XI : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de RD04 (10 mg/kg, *per os*)

Temps (min)	T ₋₉₀	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀
Rat					
R₁	0,72	0,77	1,19	1,22	1,54
R₂	0,89	0,84	1,4	1,32	1,18
R₃	0,85	0,88	1,32	1,19	1,3
R₄	1,1	1,11	1,12	1,37	1,34
R₅	1,11	0,94	0,9	1,17	1,53
MOYENNE	0,93	0,91	1,19	1,25	1,38
ESM	0,08	0,06	0,09	0,04	0,07

❖ **Administration de RD05 (10 mg/kg, *per os*)**

Dans le groupe traité avec RD05 (10 mg/kg, *per os*), la prévention de la glycémie est moins importante que celle observée dans les groupes RD02 et RD04.

En effet, à T_{30min}, la glycémie est de 1,30±0,04 g/L vs 2,02±0,02 g/L dans le groupe contrôle. Cette différence reste toutefois significative, 0,41±0,23. (**p<0,05** ; **n=5**)

(Tableau XII ; figure 4)

Tableau XII : Variations de la glycémie chez des rats en situation d'hyperglycémie après administration de RD05 (10 mg/kg, *per os*)

Temps					
(min)	T₋₉₀	T₀	T₃₀	T₆₀	T₉₀
Rat					
R₁	0,98	0,79	1,49	0,96	0,82
R₂	0,83	0,81	1,39	0,96	1,04
R₃	1,04	1,06	1,01	1,09	1,14
Moyenne	0,95	0,89	1,30	1,00	1,00
ESM	0,06	0,09	0,15	0,04	0,09

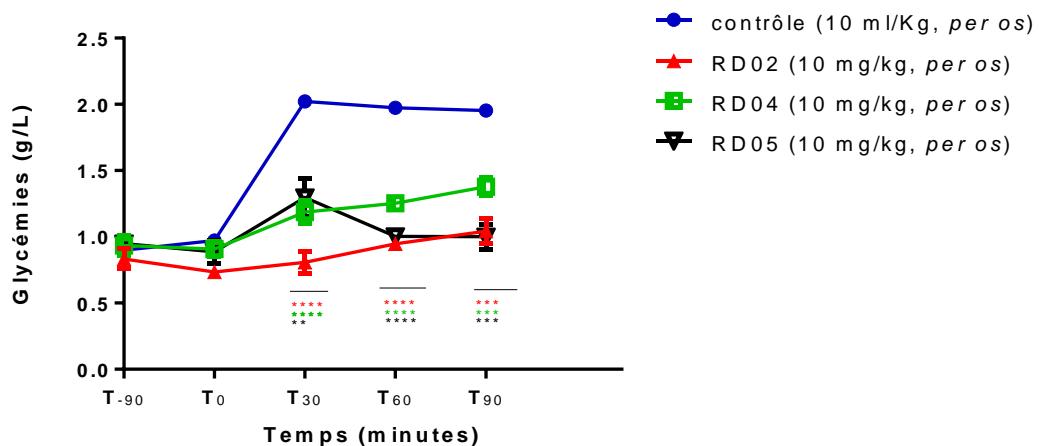


Figure 4 : Glycémies moyennes des rats en situation d'hyperglycémie traités avec RD02, RD04 et RD05 à 10 mg/kg, *per os*.

DISCUSSION

Cette étude avait pour but d'évaluer l'effet sur le glucose sanguin de molécules dérivées du naphtalène (RD01, RD02) et du stilbène (RD04 et RD05). Les expériences ont été réalisées chez des rats normoglycémiques pour la mise en évidence éventuelle d'une action hypoglycémante et sur le test de tolérance au glucose dans l'optique de caractériser d'éventuelles molécules exclusivement antihyperglycémiantes.

Chez des rats normoglycémique, à une dose faible, RD02, RD04 et RD05 induisent une hypoglycémie significative, suggérant la mise en jeu éventuelle d'une sécrétion d'insuline par ces molécules ou d'une action directe probable sur le récepteur de l'insuline. Cette dernière, en stimulant son récepteur au niveau des cellules musculaires squelettes, favorise une augmentation de la captation du glucose par un mécanisme mettant en jeu une augmentation de l'expression membranaire du transporteur de glucose de type Glut-4. Ce mécanisme met en jeu une activation de la phosphatidyl-inositol-kinase (PI3K) et de la protéine AKT.(35)

Des travaux antérieurs avaient mis en évidence l'intérêt des dérivés du stilbène et du naphtalène dans la régulation de la glycémie, en améliorant soit la sécrétion d'insuline, ou en diminuant l'insulino-résistance des tissus périphériques. En effet, la shikonine est une naphtoquinone dérivée d'une plante chinoise appelée *Lithospermum erythrorhizon*, qui induit une augmentation de la captation du glucose, mettant en jeu une expression plus importante du transporteur de glucose Glut-4 à la surface des membranes. Cet effet s'associe à une augmentation du calcium intracellulaire.(36)

Des résultats similaires sur la régulation de la glycémie ont été également rapportés avec l'acide 3,4-dihydroxy-cinnamique (DHH105), un dérivé d'un naphtalène ethylester. En effet, DHH105 mime l'action de l'insuline sur son récepteur.

La stimulation du récepteur de l'insuline par DHH105 s'associe à une augmentation de l'expression du transporteur de glucose Glut-4 par un mécanisme mettant en jeu l'activation de PI₃K et la protéine AKt.(5)

Dans la présente étude, l'effet sur le glucose sanguin des dérivés du naphtalène et du stilbène pourrait mettre en jeu une augmentation de la captation de glucose dépendante de son transporteur Glut-4. A l'instar des dérivés du stilbène et du naphtalène présentant un intérêt dans la régulation de la glycémie, l'action hypoglycémiant de RD02, RD04 et RD05 pourrait mettre en jeu le récepteur de l'insuline. Cette hypothèse de mécanisme d'action pourrait être étayée par l'évaluation de l'effet sur le glucose sanguin des dérivés du stilbène et du naphtalène sur des modèles d'étude du diabète de type 1. De façon inattendue, à une dose relativement plus élevée, les dérivés du naphtalène et du stilbène (RD02, RD04 et RD05) ne modifient pas la glycémie de base des rats normoglycémiques. On observe toutefois dans les mêmes conditions, une action antihyperglycémiant de RD02, RD04 et RD05 sur un test de tolérance au glucose. Si ces résultats devaient se vérifier, l'action antihyperglycémiant des dérivés stilbéniques et naphtaléniques sur ce test, passerait par un mécanisme autre que la sécrétion d'insuline.

La metformine et les thiazolidinediones sont des molécules exclusivement antihyperglycémiantes utilisées dans le traitement du diabète de type 2. Ces molécules diminuent en effet l'insulinorésistance des tissus périphériques par un mécanisme mettant en jeu une signalisation aboutissant à l'activation par phosphorylation de l'AMP kinase. Le résultat est une meilleure accumulation de glucose dans les tissus cibles, suite à l'augmentation de l'expression membranaire du transporteur du glucose Glut-4.(37,38)

Le resvératrol, un dérivé du stilbène favorise la captation du glucose au niveau des cellules musculaires squelettiques par un mécanisme mettant en jeu l'activation de l'AMP kinase et l'augmentation de l'activité intrinsèque du transporteur du glucose Glut-4.

Dans la présente étude, les dérivés du silbène et du naphtalène sont antihyperglycémiants sur le test de tolérance au glucose, dans des conditions d'absence d'une hypoglycémie chez des rats normoglycémiques. Ces observations suggèrent en effet, une action des molécules testées au sein des tissus périphériques. Si cette hypothèse est confirmée, les dérivés du naphtalène et du stilbène (RD02, RD04 et RD05) agiraient à des doses relativement élevées sur l'insulino-résistance des tissus périphériques, par un mécanisme pouvant mettre en jeu l'activation de l'AMP kinase à l'instar du mécanisme de l'effet antihyperglycémiant de la metformine et des thiazolidinediones.

Des expériences complémentaires seraient nécessaires pour élucider le mécanisme antihyperglycémiant des dérivés du stilbène et du naphtalène tant au plan fonctionnel qu'au plan cellulaire.

CONCLUSION

Des travaux antérieurs avaient mis en évidence l'intérêt expérimental de dérivés naphtaléniques et stilbéniques dans divers modèles d'étude de pathologies. En effet, des études avaient rapporté des propriétés anticancéreuses, cardiovasculaires et antidiabétiques de molécules stilbéniques et naphtaléniques.

La présente étude avait pour objectif de mettre en évidence les effets sur le glucose sanguin de dérivés du naphtalène (RD01, RD02) et du stilbène (RD04, RD05).

Les tests ont été réalisés chez des rats normoglycémiques et sur un test de tolérance au glucose. Chez des rats normoglycémiques, RD01(3 mg/kg, *per os*) est sans effet sur la glycémie de base ($0,83 \pm 0,02$ g/L vs $0,80 \pm 0,06$ g/L) (ns, n=3), alors que son analogue structural, le RD02 est hypoglycémiant ($0,65 \pm 0,04$ g/L vs $0,89 \pm 0,02$ g/L) ($p < 0,05$, n= 5). Dans les mêmes conditions expérimentales, RD04 et RD05 (dérivés stilbéniques), induisent une tendance vers une baisse de la glycémie. En effet le glucose sanguin varie respectivement de $0,73 \pm 0,02$ g/L à $0,62 \pm 0,04$ g/L et $0,87 \pm 0,02$ à $0,72 \pm 0,04$ g/L. Toutefois, à une dose plus élevée, les dérivés du naphtalène et du stilbène sont sans effet chez des rats normoglycémiques alors qu'ils s'opposent à l'hyerglycémie temporaire au cours d'un test de tolérance au glucose. La variation du glucose sanguin est respectivement $0,07 \pm 0,07$ g/L, $0,28 \pm 0,12$ g/L ; $0,41 \pm 0,23$ g/L pour RD02, RD04 et RD05 vs $1,05 \pm 0,56$ g/L dans le groupe contrôle. Ces résultats suggèrent la mise en évidence de mécanismes d'action différents entre l'initiation de l'effet hypoglycémiant à faible dose et le caractère antihyperglycémiant de ces mêmes molécules à des doses plus élevées.

L'hypothèse d'un mécanisme d'action différent selon les doses utilisées, permet de conclure à l'existence éventuelle de propriétés insulinosécrétices en particulier pour RD02, et une action directe au niveau des tissus périphériques, mettant en jeu probablement une baisse de l'insulinorésistance par une augmentation de la captation de glucose par les dérivés stilbéniques et naphtaléniques utilisés à des doses relativement élevées (RD02, RD04, RD05).

L'utilisation de modèles appropriés à l'étude de l'action des dérivés du stilbène et du naphtalène sur l'insulinorésistance des tissus périphériques permettrait à terme d'étayer cette hypothèse. Il serait également opportun d'évaluer l'effet sur le glucose sanguin des dérivés du naphtalène et du stilbène sur un modèle de diabète de type 2 caractérisé par des troubles de la sécrétion d'insuline.

BIBLIOGRAPHIE

1. WHO_NMH_NVI_16.3_fre.pdf [Internet]. [cité 5 juill 2021]. Disponible sur: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204875/WHO_NMH_NVI_16.3_fre.pdf;jsessionid=93FCF69F2BF4CFB5BB2352DFBC745269?sequence=1
2. Mbaye M-N, Niang K, Sarr A, Mbaye A, Diedhiou D, Ndao M-D, et al. Aspects épidémiologiques du diabète au Sénégal : résultats d'une enquête sur les facteurs de risque cardiovasculaire dans la ville de Saint-Louis. Médecine Mal Métaboliques. 1 déc 2011;5(6):659- 64.
3. Quels sont les médicaments du diabète de type 2 ? [Internet]. VIDAL. [cité 26 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/metabolisme-diabete/diabete-type-2/medicaments.html>
4. Ito-Nagahata T, Kurihara C, Hasebe M, Ishii A, Yamashita K, Iwabuchi M, et al. Stilbene analogs of resveratrol improve insulin resistance through activation of AMPK. Biosci Biotechnol Biochem. 2013;77(6):1229- 35.
5. Kim W, Khil LY, Clark R, Bok SH, Kim EE, Lee S, et al. Naphthalenemethyl ester derivative of dihydroxyhydrocinnamic acid, a component of cinnamon, increases glucose disposal by enhancing translocation of glucose transporter 4. Diabetologia. 2006;49(10):2437- 48.
6. Macabie J, Orsetti A. La digestion, le pancréas, la régulation de la glycémie. Bréal, Paris, 1985, 158 p.
7. Mirouzo J, Renard E. Le diabète, son traitetement et ses complications. 2004. 246- 51p.
8. Insuline – Métabolisme [Internet]. Pharmacorama. 2016 [cité 5 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/hormones-cytokinesantigenes-anticorps/medicaments-glycemie-regulation-comportement-alimentaire/insuline-metabolisme/>

9. La somatostatine - exobiologie.info [Internet]. studylibfr.com. [cité 5 févr 2021]. Disponible sur: <https://studylibfr.com/doc/996237/la-somatostatine---exobiologie.info>
10. Dalle H, Garcia M, Ledent T, Do T-T-H, Buyse M, Denis R, et al. Rôle du récepteur des glucocorticoïdes adipocytaire dans la lipodystrophie induite par la corticostérone. *Ann Endocrinol*. 2016;77(4):294.
11. Labrousse-Lhermine F. service de diabétologie, maladies métaboliques et nutrition. Edition Masson, Paris, 2003, 237p.
12. González CR, Martínez de Morentin PB, Martínez-Sánchez N, Gómez-Díaz C, Lage R, Varela L, et al. Hyperthyroidism differentially regulates neuropeptide S system in the rat brain. *Brain Res*. 2012;1450:40- 8.
13. Dimitriadis G, Baker B, Marsh H, Mandarino L, Rizza R, Bergman R, et al. Effect of thyroid hormone excess on action, secretion, and metabolism of insulin in humans. *Am J Physiol*. 1985;248(5 Pt 1):E593-601.
14. Mondon CE, Burton SD. Factors modifying carbohydrate metabolism and effect of insulin in perfused rat liver. *Am J Physiol*. 1971;220(3):724- 34.
15. Lautt WW, Wong C. Hepatic parasympathetic neural effect on glucose balance in the intact liver. *Can J Physiol Pharmacol*. 1978;56(4):679- 82.
16. Nijima A. Blood glucose levels modulate efferent activity in the vagal supply to the rat liver. *J Physiol*. 1985;364:105- 12.
17. Brown J. Effects of 2-deoxyglucose on carbohydrate metabolism: review of the literature and studies in the rat. *Metabolism*. 1962;11:1098- 112.
18. Smith GP, Epstein AN. Increased feeding in response to decreased glucose utilization in the rat and monkey. *Am J Physiol*. 1969;217(4):1083- 7.
19. Winzell MS, Ahrén B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 3:S215-219.

20. ALLOXAN DIABETES IN THE DOG1 | Endocrinology | Oxford Academic [Internet]. [cité 3 févr 2021]. Disponible sur: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/33/5/297/2773788>
21. Rerup CC. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol Rev.* 1970;22(4):485- 518.
22. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 2005;22(4):359- 70.
23. Bolzán AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res.* 2002;512(2- 3):121- 34.
24. Barrière DA, Noll C, Roussy G, Lizotte F, Kessai A, Kirby K, et al. Combination of high-fat/high-fructose diet and low-dose streptozotocin to model long-term type-2 diabetes complications. *Sci Rep.* 2018;8(1):424.
25. Islam MS, Loots DT. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2009;31(4):249- 61.
26. Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes.* 1988;37(9):1163- 7.
27. Kobayashi M, Ohno T, Tsuchiya T, Horio F. Characterization of diabetes-related traits in MSM and JF1 mice on high-fat diet. *J Nutr Biochem.* 2004;15(10):614- 21.
28. Reuter TY. Diet-induced models for obesity and type 2 diabetes. *Drug Discov Today Dis Models.* 2007;4(1):3- 8.
29. Zavaroni I, Sander S, Scott S, Reaven GM. Effect of fructose feeding on insulin secretion and insulin action in the rat. *Metabolism.* 1980;29(10):970- 3.
30. Tobey TA, Mondon CE, Zavaroni I, Reaven GM. Mechanism of insulin resistance in fructose-fed rats. *Metabolism.* 1982;31(6):608- 12.

31. Dai S, Todd ME, Lee S, McNeill JH. Fructose loading induces cardiovascular and metabolic changes in nondiabetic and diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 1994;72(7):771- 81.
32. Benado M, Alcantara C, de la Rosa R, Ambrose M, Mosier K, Kern M. Effects of various levels of dietary fructose on blood lipids of rats. *Nutr Res.* 2004;24(7):565- 71.
33. Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev.* 2006;27(7):762- 78.
34. Barnes KM, Miner JL. Role of resistin in insulin sensitivity in rodents and humans. *Curr Protein Pept Sci.* 2009;10(1):96- 107.
35. Klip A. The many ways to regulate glucose transporter 4. *Appl Physiol Nutr Metab Appl Nutr Metab.* 2009;34(3):481- 7.
36. Öberg AI, Yassin K, Csikasz RI, Dehvari N, Shabalina IG, Hutchinson DS, et al. Shikonin increases glucose uptake in skeletal muscle cells and improves plasma glucose levels in diabetic Goto-Kakizaki rats. *PloS One.* 2011;6(7):e22510.
37. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest.* 2001;108(8):1167- 74.
38. Fryer LGD, Parbu-Patel A, Carling D. The Anti-diabetic drugs rosiglitazone and metformin stimulate AMP-activated protein kinase through distinct signalling pathways. *J Biol Chem.* 2002;277(28):25226- 32.