

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa



Faculté des sciences de la nature et de vie
Département des sciences biologiques de l'environnement

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Projet de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme de Master II en Reproduction et
Biotechnologie Animales

Thème :

**Effet des sulfamides hypoglycémiantes sur la capture de
glucose par les spermatozoïdes et les globules rouges
humains**

Réalisé par : Mme SADAOUI- AIT ABBAS ASSIA

Soutenu le Mercredi 11/06/2014 devant le jury :

Mr : Moali A	Professeur	Président
Mme : Belhadj-kebbi M	M.A.A	Examinatrice
Melle : Ourari M	M.C.B	Examinatrice
Mr : Belmouhoub M	M.A.A	Promoteur
Mr : Iguer ouada M	Professeur	Co-Promoteur

Année universitaire 2013/2014

Remerciements :

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui ma donné la force, le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

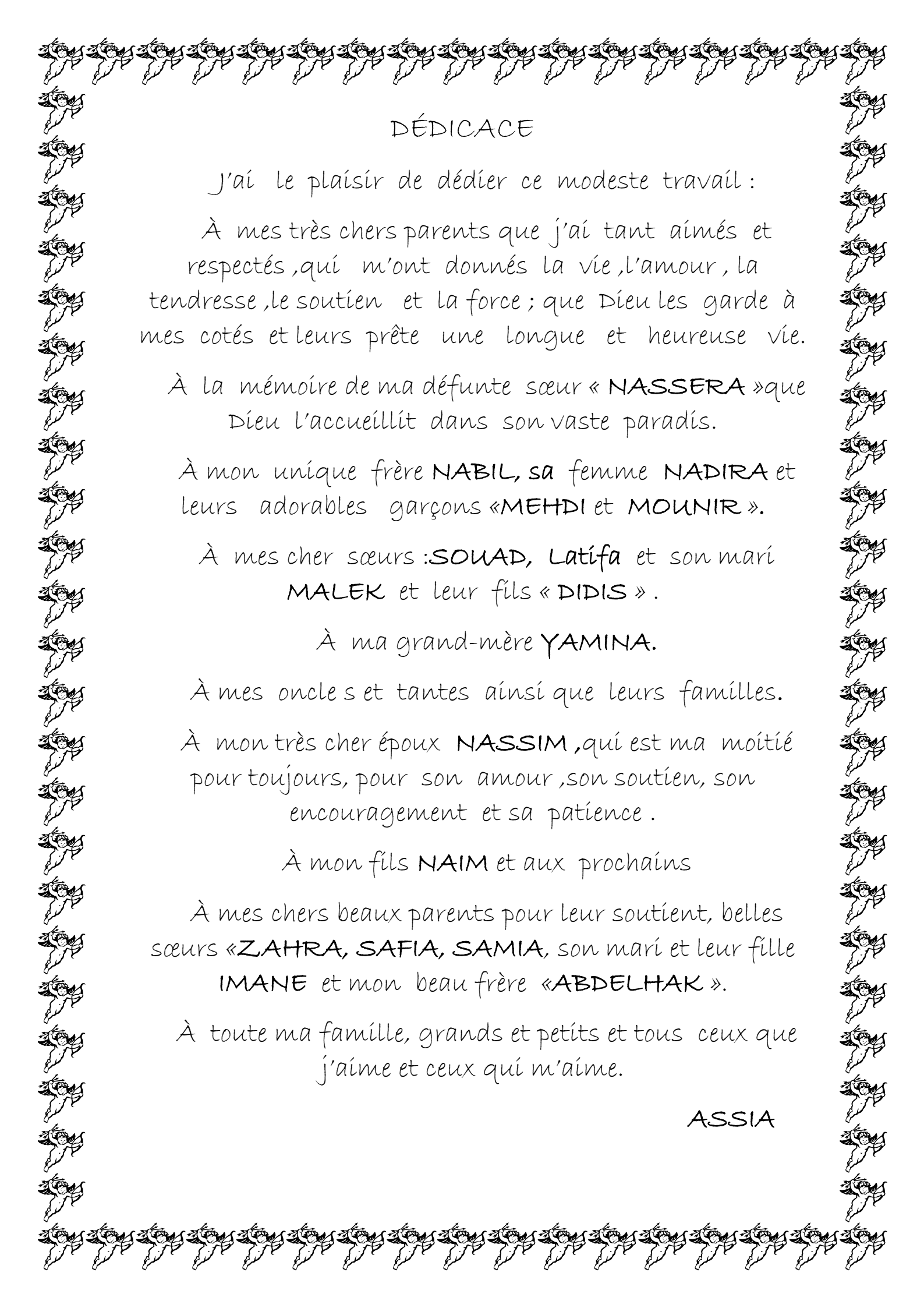
Je tiens à remercier le professeur **IGUER-OUADA M** et Mr **BELMOUHOUBE M** pour leurs précieux conseils aide et orientation. Qu'ils veuillent bien agréer mes profonde et éternelle gratitudes.

Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres de jury qui m'on fait l'honneur de leur présence et d'avoir consacré de leur temps pour l'évaluation de ce modeste travail.

Je tiens à remercier le chef de service du laboratoire d'analyses médicales Dr Moualek de Bejaia, ainsi que tous les fonctionnaires de ce laboratoire ; Qu'il veuille bien recevoir ici l'expression de mes gratitudes et mon profond respect.

Je tiens à remercier mon mari pour son soutien infini, sa compréhension ainsi que sa patience.

Enfin, mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui m'ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail ou qui m'ont encouragé et soutenu à tout moment.



DÉDICACE

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

À mes très chers parents que j'ai tant aimés et respectés, qui m'ont donnés la vie, l'amour, la tendresse, le soutien et la force ; que Dieu les garde à mes cotés et leurs prête une longue et heureuse vie.

À la mémoire de ma défunte sœur « **NASSERA** » que Dieu l'accueillit dans son vaste paradis.

À mon unique frère **NABIL**, sa femme **NADIRA** et leurs adorables garçons « **MEHDI** et **MOUNIR** ».

À mes cher sœurs : **SOUAD**, Latifa et son mari **MALEK** et leur fils « **DIDIS** ».

À ma grand-mère **YAMINA**.

À mes oncles et tantes ainsi que leurs familles.

À mon très cher époux **NASSIM**, qui est ma moitié pour toujours, pour son amour, son soutien, son encouragement et sa patience.

À mon fils **NAIM** et aux prochains

À mes chers beaux parents pour leur soutient, belles sœurs « **ZAHRA**, **SAFIA**, **SAMIA**, son mari et leur fille **IMANE** et mon beau frère « **ABDELHAK** ».

À toute ma famille, grands et petits et tous ceux que j'aime et ceux qui m'aime.

ASSIA

Sommaire

Liste des figures

Introduction.....1

Etude bibliographique

Chapitre I : Le diabète et la régulation de la glycémie

I.1.Généralité sur le diabète.....2

I.1.1.Définition.....2

I.1.2.Classification.....2

I.1.2.1.Les diabètes primaires.....2

I.1.2.1.1.Le diabète de type 1.....2

I.1.2.1.2.Le diabète de type 2.....3

I.1.2.1.3.Le diabète gestationnel.....3

I.1.2.2.Les diabètes secondaires.....3

I.1.3.Traitement de diabète.....3

I.1.3.1.Traitement de diabète type 1.....3

I.1.3.2.Traitement de diabète type 2.....4

I.1.3.2.1.Les glitazones.....4

I.1.3.2.2.Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase.....4

I.1.3.2.3.Les biguanides.....4

I.1.3.2.4.Les sulfamides hypoglycémiantes.....4

I.1.3.2.4.1.Mode d'action des sulfamides hypoglycémiantes5

I.1.4.Les complication du diabète5

I.1.4.1.Les complications chroniques du diabète.....5

I.1.4.1.1.La macroangiopathie diabétique.....6

I.1.4.1.2.La microangiopathie diabétique.....6

I.1.4.2.Les complications aiguës.....6

I.1.4.2.1.Le coma hyperosmolaire.....6

I.1.4.2.2. Le coma hypoglycémique.....	6
I.1.4.2.3.L'acidose lactique.....	7
I.1.4.2.4.Le coma acidocétosique.....	7
I.2.La régulation de la glycémie	7
I.2.1.La régulation hormonale de la glycémie	7
I.2.1.1.L'insuline.....	7
I.2.1.1.1.Effet de l'insuline.....	8
I.2.1.2.Le glucagon	8
I.2.2.La régulation de la glycémie par le foie.....	8
I.3.La régulation du transport du glucose.....	9
I.3.1.Le muscle squelettique.....	9
I.3.2.Le tissu adipeux.....	9

Chapitre II : Les modèles cellulaires utilisés dans cette étude

II.1.Généralités sur les modèles cellulaires utilisés dans cette étude.....	11
II.1.1.Le spermatozoïde.....	11
II.1.2.La régulation hormonale de spermatogenèse.....	12
II.1.2.1.Action des gonadotrophines	12
II.1.2.2.Contrôle de la sécrétion des gonadotrophines.....	12
II.1.3.Transport de glucose dans les spermatozoïdes	12
II.2.Généralité sur les globules rouges	13
II.2.1.Définition	13
II.2.2.La membrane du globule rouge.....	13
II.2.3.Le transport du glucose dans les érythrocytes humains.....	14

Chapitre III : Diabète et infertilité

III.1.Le diabète et l'infertilité.....	15
III.2.L'infertilité.....	16
III.2.1.Définition.....	16
III.2.2.Epidémiologie.....	16
III.2.3.Le diabète et les hormones sexuelles masculines.....	16

Etude expérimentale

I : Matériels et méthodes

I.1.Matériels	17
I.1.1.Spermatozoïde humaine.....	17
I.1.2.Le globule rouge.....	17
I.1.3.Les produits chimiques.....	17
I.1.4.Matériels d'analyse.....	17
I.2.Méthodes.....	17
I.2.1.Effet des sulfamides hypoglycémiant sur la physiologie du spermatozoïdes humains.....	17
I.2.1.1.Préparation des échantillons du sperme.....	17
I.2.1.2.Effets des sulfamides hypoglycémiant sur la mobilité spermatique	18
I.2.1.3.Effets des sulfamides hypoglycémiant sur la capture de glucose par les spermatozoïdes.....	18
I.2.2. Effets des sulfamides hypoglycémiant sur la capture de glucose par les globules rouges	18
I.2.2.1.Préparation des échantillons du sang.....	18
I.2.2.2.Mesure de la quantité de glucose consommée par les globules rouges	18

II : Résultat et discussion

II.1.Effet des sulfamides hypoglycémiant sur la physiologie du spermatozoïde humain.....	20
---	-----------

II.1.1.Influence de la composition du milieu sur la mobilité des spermatozoïdes humain.....	20
II.1.2.Etude de l'effet des sulfamides hypoglycémiants sur la mobilité spermatique	21
II.2.L'effet de sulfamide sur la vitesse curvilinéaire (VCL).....	23
II.3.L 'effet de sulfamide sur la vitesse de progression (VSL).....	23
II.4.L'effet de sulfamide sur la capture de glucose par les spermatozoïdes humains.....	24
II.5.II.5.L'effet de sulfamide sur la capture de glucose par les globules rouges humains.....	26
Conclusion et perspective.....	28
Références bibliographique	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures :

Figure 01 : Représentation schématique de la cellule β dans le diabète de type 2 et mécanisme d'action des sulfonylurées et des glinides (Sherifali D et <i>al.</i> , 2010).....	5
Figure 02: Anatomie du spermatozoïde (Vue de face).....	11
Figure 03 : Sperm Class Analys.....	19
Figure 04 : Influence de la composition du milieu sur la mobilité des spermatozoïdes humains	20
Figure 05 : Effet des sulfamides hypoglycémiant sur la mobilité spermatique	22
Figure 06 : Effet des sulfamides sur la vitesse curviligne des spermatozoïdes humains...	23
Figure 07 : Effet des sulfamides sur la vitesse progressive des spermatozoïdes humain....	24
Figure 08 : Effet des sulfamides sur la consommation de glucose par les spermatozoïdes humain.....	25
Figure 09 : Effet des sulfamides sur la consommation de glucose par les hématies.....	27

Le diabète communément appelé diabète sucré est une maladie métabolique qui se traduit par une hyper glycémie (**Annik et al, 2012**). Cette dernière produit des dommages à long terme avec plusieurs complications.

Le diabète a été associé à des troubles de la reproduction chez les hommes et les femmes (**Amaral et al, 2008**). Des altérations de la reproduction male ont été largement signalées chez des personnes atteintes de diabète (**Scarno et al, 2006**). Environ 90 % des patients diabétiques ont des troubles de la fonction sexuelle y compris une diminution de la libido, l'impuissance et l'infertilité. (**Cameron et al, 1990**).

Le diabète peut affecter la fonction reproduction male à plusieurs niveaux en raison de ses effets sur le contrôle endocrinien de la spermatogenèse elle-même ou par l'altération de l'érection et l'éjaculation (**Agbaje et al, 2007**).

Chez les hommes touchés par le diabète insulino dépendant, les spermatozoïdes ont des défauts structuraux graves, la mobilité est significativement plus faible et la capacité moindre à pénétrer les œufs (**Baccetti et al, 2002**).

Une autre étude a démontré que le glucose améliore de manière significative la mobilité des spermatozoïdes et leur capacitation (**Andrew et al, 2001**).

La présente étude consiste à étudier l'effet des sulfamides hypoglycémisants sur l'utilisation de glucose par deux types cellulaires, à savoir le globule rouge et le spermatozoïde humain ainsi que l'amélioration de la mobilité de ce dernier. À côté des autres modèles cellulaires déjà utilisés dans l'étude du diabète, ces deux types de cellules peuvent servir d'un modèle pour l'étude de l'effet d'éventuelles molécules antidiabétiques, notamment l'effet insulinosécréteur.

I.1.Généralité sur le diabète

I.1.1.Définition

Le diabète est défini par un désordre métabolique, caractérisé par une présence d'une hyperglycémie chronique accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiques. Cette maladie est associée à l'incapacité de l'organisme à produire et/ou utiliser correctement l'insuline (**American Diabète Association 2004**). L'insuline est en effet la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme (**Sapin et Dimangeat2001**). Elle inhibe la glycogénolyse et la néoglucogenèse tout en stimulant la glycogenèse (**Chang 2004**). L'hyperglycémie chronique s'accompagne de complication apparaissant à long terme. Ce trouble métabolique entraîne souvent des modifications fonctionnelles et structurales permanentes et irréversibles des cellules du corps, notamment celles du système vasculaire, conduisant au développement d'entités cliniques bien définies appelées « complications du diabète » qui typiquement concernent l'œil, le rein, les systèmes nerveux et cardiovasculaire (**Hasslett et al., 2005**). De nombreuses études ont démontré qu'ont pourrait retarder ou empêcher la survenue des complications liées au diabète par un diagnostic précoce et une prise en charge thérapeutique et médicale adéquate (**Entred, 2010**).

I.1.2.Classification

La classification du diabète a longuement été revue et révisée depuis sa première classification en 1979 (**SpinasRL, 2001**). Finalement, l'Association Américaine du Diabète (ADA) a proposé de nouveaux critères de diagnostic ainsi qu'une nouvelle classification selon laquelle le diabète est primaire ou secondaire (**Diabète Care 1997**).

I.1.2.1. Les diabètes primaires

On distingue trois types de diabète : le diabète type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel (**diabètes Care 2008**).

I.1.2.1.1. Le diabète de type 1

Appelé aussi diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, c'est une maladie majoritairement auto-immune, elle est le résultat de la destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. La destruction des cellules β conduit à une carence quasi complète de

l'insuline (Calop et al., 2008).

I.1.2.1.2. Le diabète de type 2

Autrement appelé diabète non insulino-dépendant correspond à l'insulinorésistance périphérique ou à la diminution de l'insulinosécrétion. Ce type de diabète est le résultat de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs de l'environnement, il s'accompagne comme le diabète de type 1 d'un risque de complications microvasculaires et rénales, mais sa gravité tient surtout à la survenue de complications cardiovasculaires, ces dernières sont la principale cause de décès des patients diabétiques de type 2 (Bush et Pignet, 2001).

I.1.2.1.3. Diabète gestationnel

Ou diabète de grossesse, il survient au cours de la grossesse, surtout pendant le 2^{ème} ou le 3^{ème} trimestre où les besoins en insuline sont beaucoup plus importants qu'en temps normal, certains facteurs tels les hormones de croissance et placentaires diminuent l'action de l'insuline (London et al., 2009).

I.1.2.2. Les diabètes secondaires

Souvent appelés diabètes spécifiques puisqu'ils sont liés à une cause bien définie. Ces causes peuvent être de nature génétique, comme le diabète MODY (Maturity Onset Diabetes Of the Young), et affecter la fonction des cellules β . Le diabète secondaire peut aussi être découlé de l'évolution d'une autre maladie, tels que les maladies endocrines (Syndrome de Cushing, hyperthyroïdie), les maladies du pancréas (pancréatite, cancer du pancréas) et les maladies du foie (cirrhose, hépatite C). Certains médicaments comme les corticoïdes peuvent aussi induire ce type de diabète (Jenkins et Campbell, 2004).

I.1.4. Traitement de diabète

I.1.4.1. Traitement de diabète type 1

Le traitement du diabète insulino-dépendant repose sur l'insulinothérapie (Grimaldi, 2000), la petite injection sous cutanée d'insuline répétée est plus efficace qu'une seule injection assez forte, un taux persistant et stable d'insuline couvrant l'état de jeune et des pics d'insuline

pour faire face aux besoins spéciaux créés par les repas. Ce traitement peut s'effectuer aussi par implantation d'appareils libérant de l'insuline et greffe de tout le pancréas ou des îlots de pancréas (OMS, 1985).

I.1.4.2. Traitement de diabète type 2

I.1.4.2.1.1. Les glitazones (thiazolidinediones)

Diminuent l'insulino-résistance au niveau du foie, du muscle squelettique et du tissu adipeux ou elle joue un rôle principal en stimulant la différenciation adipocytaire (Derfoufi et al., 2010).

I.1.4.2.1.2. Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

C'est une enzyme qui se trouve dans l'intestin grêle, elle transforme les polysaccharides en monosaccharide. L'inhibition de cette enzyme ralentit la digestion des glucides et diminue leur absorption, en aboutissant à une baisse des glycémies post prandiales (Fagherazzi-Pagel, 2002).

I.1.4.2.1.3. Les biguanides

Ont un effet anti-hyperglycémiant, ne stimulent pas la sécrétion d'insuline mais réduisent la production hépatique de glucose en inhibant la néoglucogenèse et la glycogénolyse. Au niveau musculaire ils augmentent la sensibilité à l'insuline, et au niveau intestinal ils retardent l'absorption du glucose (Cheng et al., 2005, halimi et al., 2008).

I.1.4.2.1.4. Les sulfamides hypoglycémiant

Appelés aussi les sulfonylurées, ils ont été les premiers antidiabétiques oraux (ADO) disponibles (1954). Les sulfamides hypoglycémiant sont fortement liés aux protéines plasmatiques. Selon leur polarité et leur liposolubilité, l'on distingue les sulfamides de première génération de ceux de seconde génération (glibenclamide, gliclazide, glipizide) qui sont apparus au début des années 1970 (Virally et al., 2007), ils sont doués de propriétés hypoglycémiantes plus puissantes.

I.1.4.2.1.4.1. Mode d'action des sulfamides hypoglycémiant

Les sulfamides hypoglycémiant stimulent la sécrétion d'insuline sans influencer sa synthèse ils se lient à un récepteur spécifique SUR1 présent sur la membrane des cellules bêta-pancréatiques (Ashcroft FM, Gribble FM 1999). Il en résulte un afflux de calcium dans le cytoplasme des cellules bêta-pancréatiques qui induit l'exocytose des vésicules contenant l'insuline d'une façon similaire à celle observée après stimulation par le glucose (figure 1). La fixation des sulfamides hypoglycémiant aux récepteurs SUR ferme les canaux K_{ATP}, ce qui entraîne une dépolarisation de la membrane plasmique, l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants, l'entrée du calcium, l'exocytose des grains et la libération d'insuline (fig1). (Melander A1996, Ilarde A et Tuck M ,1994).

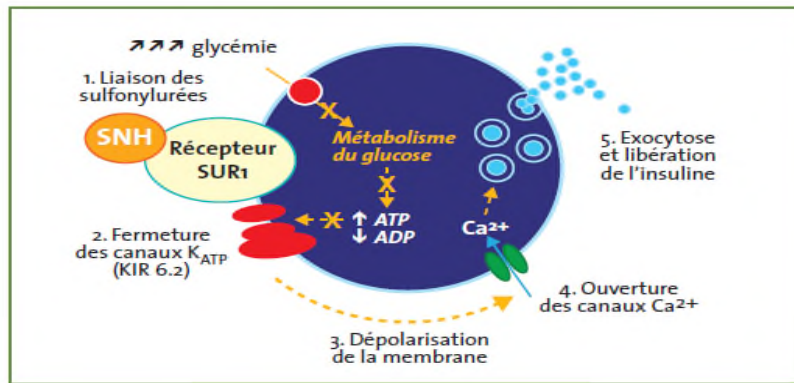


Figure 01 : Représentation schématique de la cellule β dans le diabète de type 2 et mécanisme d'action des sulfonurées et des glinides (Sherifali D et *al.*, 2010).

I.1.5. Les complications du diabète

Le diabète conduit fréquemment à l'apparition de deux sortes de complications : aiguës et chroniques.

I.1.5.1. Les complications chroniques du diabète

Les complications sont liées à l'hyperglycémie chronique et aux facteurs de risques cardio-vasculaires associés (Stratton et *al.*, 2000). Elles sont nombreuses et touchent plusieurs organes, suite à une micro ou macro-angiopathie. Cependant, certains patients sont protégés malgré un mauvais contrôle glycémique (Raccah, 2004).

I.1.5.1.1. La Macroangiopathie diabétique

L'athérosclérose est devenue la première cause de décès des diabétiques, Il s'agit de complications macrovasculaires ; une atteinte des artères de calibre supérieur à 200 μm . Le diabète est associé à une athérosclérose apparaissant généralement de manière précoce. La macroangiopathie s'aggrave quand le diabète est associé à une hypertension artérielle et une dys-lipidémie (**Chevenne, 2004**).

I.1.5.1.2. La Microangiopathie diabétique

La Microangiopathie touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de diamètre inférieur à 30 μm). Elle associe une modification structurale de la lame basale endothéliale à une augmentation de la perméabilité pariétale à l'origine de la fuite des protéines plasmatiques (**Duron et Heurtier, 2005**). Elle concerne indifféremment tous les tissus et organes, mais ses manifestations cliniques ne deviennent sensibles qu'au niveau des fibres nerveuses (neuropathie), des microvaisseaux rénaux (néphropathie) et rétiniens (rétinopathie) (**Geoffroy, 2005**).

I.1.5.2. Les complications aiguës

I.1.5.1.2.1. Le coma hyperosmolaire

Est dû à une perte hydrique ou hyperglycémie prolongé suffisante pour entraîner une déshydratation et insuffisance rénale fonctionnelle, qui provoque une rétention sodée et une élévation importante du seuil rénale du glucose (**Menon et Ribeiro, 2012**).

I.1.5.1.2.2. Le coma hypoglycémique

L'hypoglycémie correspond à une baisse anormale du glucose sanguin, ces causes sont : excès d'utilisation d'insuline ou de sulfamide, activité physique intense, interaction médicamenteuses, saut d'un repas etc. Elle est marquée par des sueurs, palpitations, tremblement, sensation faim peut survenir brutalement et mène à un coma hypoglycémique (**Sarles, 1986, Menon et Ribeiro, 2012**).

I.1.5.1.2.3. L'acidose lactique

Est une acidose métabolique organique due à une accumulation d'acide lactique par augmentation de sa production et diminution de son utilisation (Ichai et al., 2011).

I.1.5.1.2.4. Le coma acidocétosique

Est une élévation excessive de l'acidité du sang due à une augmentation des corps cétoniques et dont la physiopathologie est liée à deux anomalies : une insulino-pénie, et une élévation des hormones de contre régulation (Rodier, 2001).

I.2.La régulation de la glycémie

Le glucose est la source d'énergie principale des cellules. Il est métabolisé dans la plupart des cellules du corps pour former des molécules d'adénosine triphosphate (ATP), nécessaires à de nombreux processus cellulaires. Les molécules de glucose sont distribuées aux cellules via la circulation sanguine. Il est donc essentiel que la glycémie soit maintenue à des niveaux relativement constants se situant entre 4 et 6 mmol (valeur à jeun). Cette glycémie est régulée par plusieurs mécanismes et organes. Le pancréas sécrète l'insuline qui permet l'absorption du glucose par les muscles et le tissu adipeux. Le foie, par contre, est capable de produire et sécréter du glucose ou, au contraire, de l'emmagasiner dépendamment des taux de glycémie dans le sang (Liang B)

I.2.1.La régulation hormonale de la glycémie

Il existe deux principales hormones sécrétées par le pancréas qui régulent différemment la glycémie.

I.2.1.1. L'insuline

Jusqu'à aujourd'hui, l'insuline est la seule hormone hypoglycémiante pancréatique connue à pouvoir abaisser les taux de glucose sanguin. La synthèse et la sécrétion d'insuline sont deux événements indépendants l'un de l'autre. En effet, l'insuline est synthétisée, à tout moment, par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas à partir d'une molécule précurseur, la pro-insuline. Cette dernière subit de nombreuses modifications post-traductionnelles dans le réticulum endoplasmique. Sous l'action de nombreuses endopeptidases spécifiques, la partie centrale de la

pro-insuline, peptide C, est clivée pour générer l'insuline mature : soit 51 acides aminés repartis en deux chaînes, reliées par des ponts disulfures, l'insuline mature est incorporée dans des vésicules de sécrétion avec le peptide C au niveau de l'appareil de Golgi (**Capeau J, 2003**).

I.2.1.1.1.Effet de l'insuline

L'action de l'insuline a pour but de diminuer l'hyperglycémie postprandiale (hormone hypoglycémisante). Pour atteindre cet objectif, elle active la voie de la PI3K/AKT. Ceci résulte en l'activation de la translocation du transporteur Glut 4 du compartiment membranaire intracellulaire vers la surface de la membrane plasmique et la captation du glucose dans les muscles squelettiques et les tissus adipeux. De plus, l'insuline favorise l'utilisation du glucose en stimulant phosphorylation oxydative mitochondriale des muscles squelettiques, ce qui résulte en l'augmentation de la production de l'ATP (**Stump CS et al., 2003**).

I.2.1.2.Glucagon

L'autre hormone qui régule l'homéostasie du glucose est le glucagon. Cette hormone est sécrétée par les cellules α du pancréas et possède des propriétés antagonistes de l'insuline. Constitué d'un polypeptide de 29 acides aminés, le glucagon est relâché lorsque le taux de glucose sanguin baisse de façon significative dans l'organisme. Son action se fait surtout durant le jeûne en se liant sur ses récepteurs spécifiques au niveau du foie. Elle stimule la glycogénolyse et la néoglucogenèse pour libérer le glucose vers la circulation sanguine et ainsi augmenter la glycémie (**Jiang GZB, 2003, Aronoff SL, 2004**).

I.2.2. La régulation de la glycémie par le foie

Le foie est le principal organe de réserve et de production de glucose. Par sa localisation, le foie est le premier organe à recevoir le glucose absorbé par l'intestin et il l'emmagasine sous forme de glycogène (glycogénogenèse). Cela permet de prévenir les fluctuations de la glycémie sanguine suite à une prise alimentaire (**Baynes J.D.M, 2004**). D'autre part, lorsque la glycémie baisse durant le jeûne, par exemple, le foie produit du glucose soit à partir du glycogène (glycogénolyse) soit par la synthèse de novo à partir des composés non glucidiques (néoglucogenèse).

I.3. La régulation du transport du glucose

Le glucose est une molécule hydrophile qui ne peut pas traverser la bicouche lipidique des membranes par simple diffusion. Il lui faut donc des protéines de transport membranaires appelées GLUT qui va assurer son transfert dans la circulation sanguine vers le milieu intracellulaire des tissus périphériques, dépendamment du gradient de concentration. Les GLUTs sont composés de 12 domaines transmembranaires et comprennent environ 500 acides aminés (**Bell et al., 1993**). Il existe plusieurs isoformes dont la fonction, la spécificité du substrat (type d'hexose) et la cinétique diffèrent de même que l'expression tissulaire. GLUT4 a été démontré comme le transporteur prédominant au niveau du muscle squelettique et du tissu adipeux. Il joue donc un rôle important dans l'homéostasie du glucose.

I.3.1. Le muscle squelettique

Est le tissu majeur de l'organisme. Il constitue près de 45% de la masse corporelle chez l'homme. C'est pourquoi près de 80% du glucose circulant utilisé ou métabolisé est capté par les muscles squelettiques (**Walberg H, 2001**). Cette captation est assurée par l'activité des GLUT4 qui sont mobilisés sous l'action de l'insuline et de la contraction musculaire. Il y a alors translocation du transporteur du milieu cytoplasmique (site de stockage à l'état basal) vers la surface des membranes des myocytes (**Aledo et al., 1997**). Par ailleurs, la translocation induite par l'exercice et la contraction musculaire fait intervenir d'autres médiateurs intracellulaires, tels que le calcium, le monoxyde d'azote et la protéine kinase C (**Nesher et al, 1985-Richter et al., 1987**).

I.3.2. Le tissu adipeux

Constitue lui aussi un important site d'absorption du glucose. Sa captation sanguine se fait aussi via la translocation des Glut 4 qui sont moins présents dans ce tissu que dans le muscle squelettique (**Lauralee,2006**). La translocation des GLUT4 dans les adipocytes n'est pas régulée uniquement par la voie de la PI3K. Une nouvelle voie CAP/Cbl de la protéine TC 10 récemment découverte, stimule aussi sa translocation vers la surface membranaire (**Saltiel ARetKahnCR, 2001**) maximisant ainsi la captation du glucose insulino-dépendante dans le tissu adipeux (**Bauman,et al2000, Chiang et al.,2001**). La modulation de l'activité des transporteurs de glucose, GLUT4, est gravement altérée chez les insulino-résistants et chez les diabétiques. Cela a pour conséquence une diminution de la captation et de l'utilisation du glucose par les tissus

périphériques. Il y a alors un surplus de glucose accumulé dans le sang qui a pour effet d'augmenter la glycémie (**Litherland GJHE et HundalHS ,2001**).

II.1. Généralités sur les modèles cellulaires utilisés dans cette étude

II.1.1. Le spermatozoïde (Who,2000) (Figure 02)

Il provient de la différenciation des spermatides. Le spermatozoïde est une cellule dont la complexité n'a été bien révélée que par la microscopie électronique. Le spermatozoïde a une longueur de 60µm environ, on lui distingue les parties suivantes :

- **La tête** : contient le noyau cellulaire haploïde et a une longueur de 3 à 5µm, vu d'en haut elle a une forme ovale, vu de profil elle a la forme d'une poire dont la partie effilée porte l'acrosome à la manière d'un capuchon.
- **Le col** : est court et réalise la jonction entre la tête et la pièce intermédiaire ; il présente une articulation autour de laquelle les parties adjacentes sont mobiles, le col est l'origine du flagelle.
- **La pièce intermédiaire**: d'une longueur d'environ 6µm et relativement épaisse : elle contient déjà le filament axial autour duquel s'enroule un filament spiral, des mitochondries et un cytoplasme.
- **La pièce principale** : est formée au centre par le complexe filamenteux axial, les fibres denses et tout autour une gaine fibreuse ; elle est formée aussi d'une membrane cytoplasmique.
- **La pièce terminale** : comprend le complexe filamenteux axial et entourée par la membrane cytoplasmique.

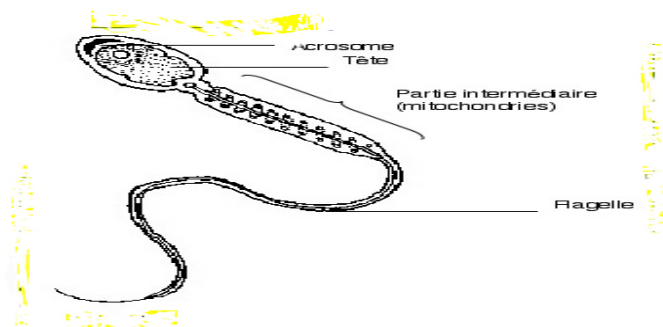


Figure 02: Anatomie du spermatozoïde (Vue de face).

II.1.2. La régulation hormonale de la spermatogenèse**II.1.2.1. Action des gonadotrophines**

□ **La FSH** : Hormone stimulateur de follicule est responsable du déclenchement et du maintien de la spermatogenèse. Pour un bon déroulement de la spermatogenèse, la FSH agit sur les tubes séminifères par l'intermédiaire des cellules de Sertoli et agit directement sur les multiplications goniales ; elle est l'hormone hypophysaire qui a une action principale sur la spermatogenèse.

□ **La LH** : Hormone lutéale agit aussi sur la spermatogenèse mais de façon indirecte ; son action principale se passe sur les cellules de LEYDIG en donnant la testostérone. La FSH associée à la LH entraînent la production par la cellule de Sertoli d'une protéine appelée ABP (androgen binding protein) qui liée aux androgènes, permet le maintien d'une concentration élevée d'androgène dans les tubes séminifères nécessaire à la poursuite de la méiose et de la spermiogénèse.

II.1.2.2. Contrôle de la sécrétion des gonadotrophines

Ce contrôle résulte de mécanismes complexes encore mal élucidés.

□ **La GNRH** ou **LHRH** (Gonadotrophine libérant l'hormone) d'origine hypothalamique assure le contrôle principal.

□ **La LH** est contrôlée par le taux de testostérone et de dihydrotestostérone. La testostérone agit au niveau central en diminuant la fréquence des pulsations sécrétoires de LHRH (le feed back négatif). En ce qui concerne la FSH, c'est une hormone d'origine tubulaire appelée inhibine qui est responsable du feed back négatif entre FSH et activité spermatogénétique.

II.1.3. Transport de glucose dans les spermatozoïdes

Une étude intéressante a pris en compte à la fois l'activité et la localisation de GLUT8 (Schürmann *et al.*, 2002). Ces auteurs ont trouvé la protéine dans les tissus humains

(Doege et al., 2000) et ils ont fait remarquer qu'il est principalement exprimé dans le testicule. Ils ont également constaté que l'expression de GLUT8 pourrait être liée à l'activité gonadotrophines (Doege et al., 2000). Schürmann et ses collègues ont constaté que GLUT8 est présent dans les spermatozoïdes chez l'homme et la souris mature, avec un signal intense dans la membrane acrosomique et un plus faible dans la région post-acrosomal et la queue. Enfin, les auteurs ont introduit un concept qui a été plus tard approfondi et ils étaient en accord avec les résultats obtenus par d'autres, comme Rigau et al., 2002, à savoir que les spermatozoïdes présentent un cloisonnement de l'activité glycolitique. Cette compartimentation pourrait s'expliquer par la localisation différente des transporteurs de fructose et de glucose, qui pourrait être stratégiquement situé à proximité de la voie intérieure métabolique. D'autre part, Gomez et ses collaborateurs, (2006) ont étudié à la fois l'expression et la localisation du même transporteur chez la souris pendant la spermatogenèse, et ont confirmé les résultats de Schürmann et al., (2002) concernant la localisation acrosomal de GLUT8.

La localisation intracellulaire de GLUT8 est semblable à celui de GLUT4 sensible à l'insuline, et il a en effet été décrit que l'insuline pourrait produire une translocation de GLUT8 à la membrane plasmique de blastocystes (Carayannopoulos MO et al., 2000).

Des études ont montré que le glucose est nécessaire au fonctionnement de sperme, et il doit être métabolisé par les spermatozoïdes afin d'assurer la phosphorylation de la tyrosine qui se produit au cours de capacitation (Urner Fet al., 2003)

II.1.2.généralité sur les globules rouges

II.1.2.1.Définition

Le globule rouge ou érythrocyte aussi hématie, est une cellule dépourvue de noyau elle a la forme d'un disque biconcave d'un diamètre d'environ 7,5µm, sa durée de vie est d'environ 120 jours. Il est constitué d'une membrane, qui délimite un cytoplasme.

II.1.2.2.La membrane du globule rouge

La membrane érythrocytaire comporte une bicouche lipidique constituée de cholestérol, des sphingolipides et des phospholipides (Mohandas et Gallagher, 2008). Les protéines principales intrinsèques de la membrane du globule sont :

- ✓ **La protéine bande 3** est une glycoprotéine de 929 acides aminés elle traverse la membrane plasmique par 12 ou 14 hélices alpha transmembranaires (**Lodish, 2000**)
- ✓ **Le transporteur de glucose (GLUT1)** est une protéine transmembranaire ancrée dans la membrane plasmique. Ce transporteur fait des interactions avec la bande 3 d'un côté et avec un réseau cytosquelettique via les protéines dématine et l'adducine de l'autre côté (**Mohandas et Gallagher, 2008**).

II.1.2.3. Le transport du glucose dans les érythrocytes humains

Le transport du glucose s'effectue uniquement par le système de diffusion facilitée du glucose (**Garret et Grisham, 2000**). Le transporteur de glucose des globules rouges humains (GLUT1) est une glycoprotéine de 492 résidus, très conservée (98% d'homologie entre le rat et l'homme), le transport de glucose se fait par liaison du glucose à la protéine de côté externe de la membrane, suivie d'un changement de conformation qui fermerait le premier site tout en exposant le deuxième. Le glucose se dissocierait alors de la protéine après avoir traversé la membrane. Le transporteur de glucose fournit donc le moyen d'équilibrer des concentrations en glucose de part et d'autre de la membrane de globule sans perte concomitante de petites molécules ou d'ions (**Lodish et al., 2005**).

III.1. Le diabète et l'infertilité

L'occurrence de trouble de la reproduction dans les mâles diabétiques est étudiée largement. Plusieurs études expérimentales ont démontré différents genres de dysfonctionnements de l'appareil reproducteur mâle, structurellement et fonctionnellement dans les cas de diabète (**O'Neill J et al., 2010; Ricci G et al., 2009**).

Le diabète peut affecter les fonctions reproductrices masculines aux niveaux multiples comprenant ses effets néfastes sur la commande endocrinienne de la spermatogenèse et/ou en altérant la construction et l'éjaculation (**Petroianu A et al., 2009**). Ricci et autres ont constaté que le diabète insulino-dépendant (type 1), est accompagné d'un volume réduit de sperme, de vitalité et de mobilité diminuées des spermatozoïdes, mais aucun changement de la viscosité séminale (**Ricci G et al., 2009**).

Un autre travail de l'université de la Reine a indiqué qu'un niveau élevé du sucre dans le sang peut affecter la qualité du sperme et diminue donc les potentiels masculins de fertilité (**Agbaje IM et al., 2007**). Il y a quelques confirmations indiquant des taux plus élevés d'infertilité chez les hommes diabétiques, en comparaison à des hommes en bonne santé (**Joao RS et al., 2009**). Le diabète est associé avec un dysfonctionnement érectile avec la perte de libido (**Virally M et al., 2007 ; O'Neill J et al., 2009**), morphologie anormale du sperme et niveaux bas des gonadotrophines et testostérone dans le plasma (**Ficher M et al., 1984**).

L'évidence clinique et expérimentale suggère que les paramètres spermatiques sont changés chez les patients ou les animaux présentant le diabète (**Sandro et al., 2012**). Chez les hommes affectés par le diabète insulino-dépendant, les spermatozoïdes ont des défauts structuraux graves avec une motilité sensiblement inférieure.

III.2.L'infertilité

III.2.1.Définition

C'est la difficulté ou l'incapacité d'un couple à concevoir un enfant, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) la définit par l'absence de grossesse chez les couples en âge de procréer au bout de 24 mois de rapports sexuels réguliers non protégés (OMS 2003-2004).

III.2.2.Epidémiologie

Dans 80% des cas, il suffit de six mois pour voir le désir de grossesse aboutir. Pour les 20% des cas restants, on parle d'hypofertilité avec un couple sur deux qui obtiendra une grossesse dans les 36 mois. Seul 5% des couples sont dits infertiles.

Dans le monde, on estime qu'il y a 80 millions de personnes infertiles représentant un couple sur dix (Brzakowskia M et al., 2009).

III.2.3.Le diabète et les hormones sexuelles masculines

L'activité sexuelle est assurée grâce à la testostérone, un faible taux de testostérone, conduit à la diminution de la libido, érection dysfonctionnée. Le diabète pourrait être une des causes les plus fréquentes d'hypogonadisme qui affecte la production de la testostérone (Barrett, 1990).

Bien qu'on lui suggère que le diabète puisse affecter plusieurs paramètres de la fertilité masculine comme l'érection, le volume de sperme, le compte de sperme et le niveau de la testostérone, mais le rapport entre les paramètres de sperme et le diabète standard est encore controversés (Cohen J, 1977 ; Cohen J, Palmer R, 1979).

I.1.Matériel

I.1.1. Spermatozoïdes humain

Les spermatozoïdes utilisés dans ce travail sont des spermatozoïdes humains obtenus à partir de personnes effectuant des spermogrammes. Les échantillons proviennent d'un laboratoire d'analyses médicales sises dans la ville de Bejaia. Seuls les spermogrammes de bonne qualité sont retenus lors de cette étude.

I.1.2 .Les globules rouges humain

Les échantillons de sang proviennent du même laboratoire d'analyses médicales. Ils proviennent tous de personnes saines.

I.1.3. Les produits chimiques

Les sulfamides hypoglycémiantes (Glibenclamide, 5mg), un antidiabétique fabriqué par la firme SAIDAL, ce médicament a été acheté d'une pharmacie dans la ville de Bejaia.

Le réactif de dosage de glucose (glucose oxydase) fabriqué par la firme Spinreact, a été acheté d'un point de vente de produits chimiques au niveau de la ville de Bejaia.

Les autres réactifs chimiques tels que le NaCl, Glucose et autres proviennent de Chemopharma.

I.1.4.Matériels d'analyse

L'analyse de la mobilité spermatique été réalisé par le SCA (sperm class analyser), c'est un analyseur automatique de la qualité spermatique (Figure 3).

I.2.Méthodes

I.2.1.Effet des sulfamides hypoglycémiantes sur la physiologie du spermatozoïde humain

I.2.1.1.Préparation des échantillons du sperme

Après 30 minutes de liquéfaction, le sperme a été dilué à 50% par une solution isotonique (NaCl à 0,9%). Un volume de 500µl du sperme dilué a été réparti sur plusieurs tubes secs, auxquels différentes doses de sulfamide (0, 33, 66, 132,165µg/ml) ont été ajoutées. Ensuite un volume de 100µl de solution de glucose a été ajouté à chaque échantillon pour obtenir une concentration finale de 3mg/ml de glucose.

I.2.1.2. Effet des sulfamides hypoglycémiantes sur la mobilité spermatique

Après l'ajout de la solution glucosée aux différents échantillons du sperme, ces derniers ont été incubés à une température de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant toute la durée de l'expérience. Les paramètres de mobilité spermatique ont été mesurés à l'aide d'un analyseur informatique du sperme (Sperm Class Analyzer), à savoir le pourcentage de mobilité, la vitesse curvilinéaire en $\mu\text{m/s}$ (VCL) et la vitesse progressive en $\mu\text{m/s}$ (VSL). L'analyse a été répétée chaque une heure durant toute l'expérience.

I.2.1.3. Effet des sulfamides hypoglycémiantes sur la capture du glucose par les spermatozoïdes

La quantité de glucose consommée par les spermatozoïdes sous l'effet des sulfamides a été mesurée par une méthode colorimétrique. En effet, un volume de $150\mu\text{l}$ de chaque échantillon a été centrifugé à 2330 r.p.m pendant 10 minutes. Après centrifugation, un volume de $10\mu\text{l}$ du surnageant obtenu a été ajouté à un volume de 1ml du réactif de dosage du glucose (glucose oxydase). Après 15 minutes d'incubation à une température ambiante de ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$), la quantité de glucose présente dans le mélange réactionnel (surnageant + réactif) a été détectée par mesure de l'absorbance à 520nm.

I.2.2. Effet des sulfamides hypoglycémiantes sur la capture de glucose par les globules rouges

I.2.2.1. Préparation des échantillons du sang

Les échantillons du sang ont été préparés à partir d'un sang frais. Le sang a été centrifugé pendant 10 minutes à 3000 r.p.m, le volume du surnageant a été remplacé par le même volume d'une solution de NaCl (0,9%).

Le mélange a été réparti dans 3 tubes secs, auxquels différentes doses du sulfamide ont été ajoutées (0, 33,66 $\mu\text{g/ml}$), ensuite un volume de $100\mu\text{l}$ de solution glucosée a été ajouté à chaque échantillon pour obtenir une concentration finale de 33 $\mu\text{g/ml}$ de glucose.

I.2.2.2. Mesure de la quantité de glucose consommée par les globules rouges

Après l'incubation des différents échantillons du sang à une température ambiante ($25\pm 3^{\circ}$), un volume de $150\mu\text{l}$ de chaque échantillon a été centrifugé à 3000rpm pendant 10 minutes. La mesure de la quantité de glucose consommée par les spermatozoïdes a été

effectuée par la même méthode citée précédemment (consommation de glucose par les spermatozoïdes).

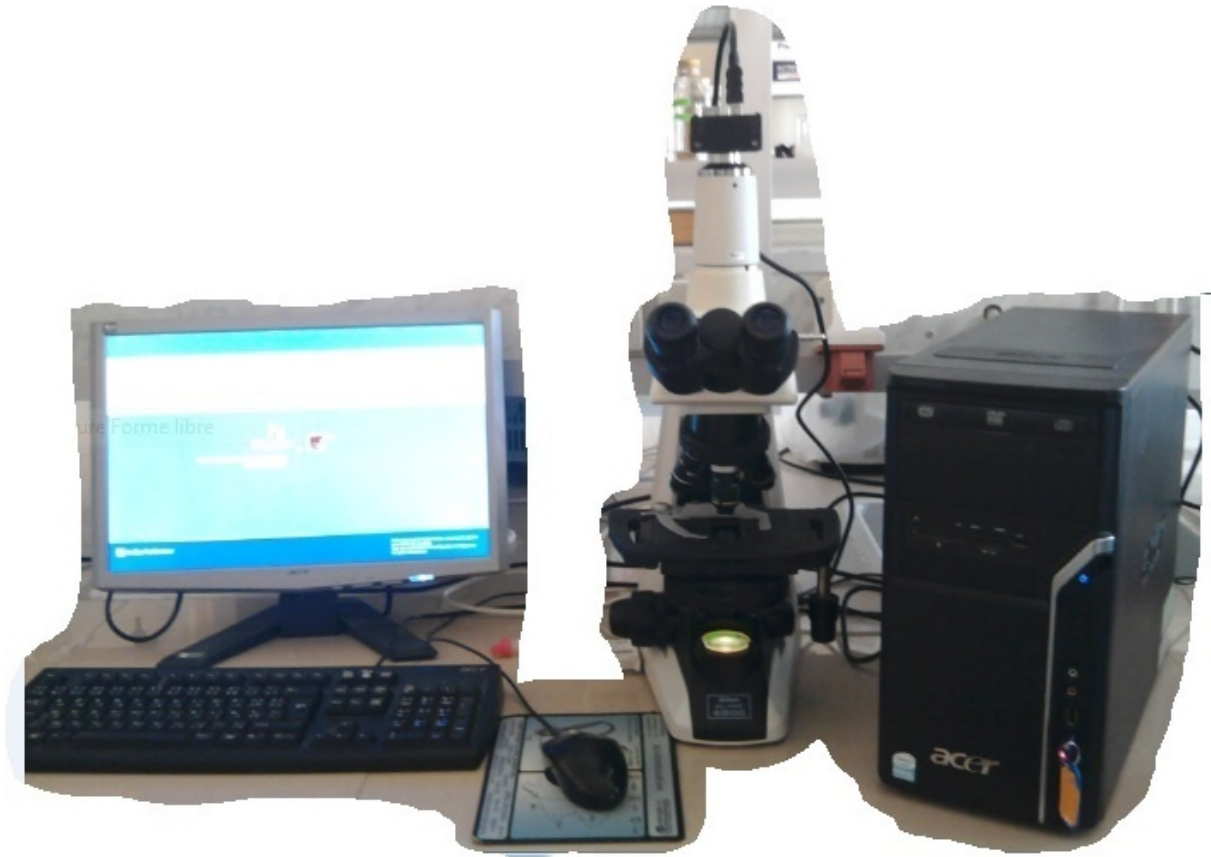


Figure 03 : Analyseur informatique du sperme.

II.1.Effet des sulfamides hypoglycémiants sur la physiologie du spermatozoïde humain

L'effet des sulfamides hypoglycémiants sur l'amélioration de la mobilité des spermatozoïdes humains, la VCL, la VSL et la consommation de glucose par ce type cellulaire est représenté sur les figures suivantes.

II.1.1.Influence de la composition du milieu sur la mobilité des spermatozoïdes humains

D'après la **figure 04**, nous constatons à T0 que le pourcentage de mobilité dans l'échantillon traité par les sulfamides hypoglycémiants et glucose dépasse largement celui observé dans les autres échantillons (sans sulfamides, sans glucose). Après 1 heure d'incubation, la mobilité reste toujours meilleure dans l'échantillon traité par les sulfamides et glucose, cependant l'amélioration de la mobilité dans cet échantillon n'est pas aussi considérable que celle observée dans les autres échantillons.

La plus considérable amélioration de la mobilité après 1 heure d'incubation a été observée dans l'échantillon traité par le glucose seul.

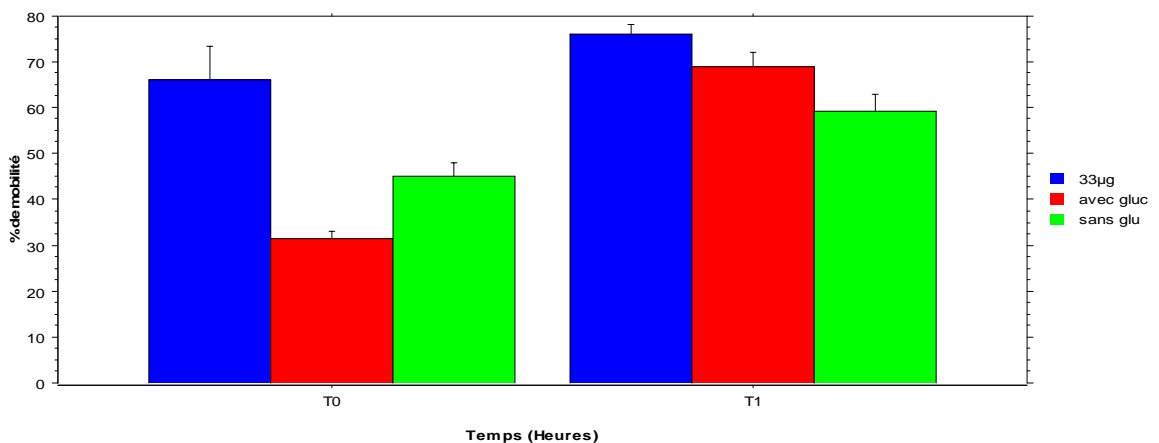


Figure 04 : Influence de la composition du milieu sur la mobilité des spermatozoïdes humains

33µg : 33µg/ml sulfamide+33µg/ml glucose; avec glucose : milieu avec glucose et sans sulfamide ; sans glucose : milieu sans glucose et sans sulfamide ; T0 : avant incubation ;

T1 : après 1 heure d'incubation.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± ES.

D'après le résultat obtenu, nous pouvons suggérer que les sulfamides hypoglycémisants améliorent la mobilité spermatique en présence de glucose par plusieurs mécanismes ; l'un des mécanismes les plus probables est l'augmentation de l'utilisation de glucose par les spermatozoïdes.

Notant aussi, que la mobilité spermatique est relativement faible dans le milieu sans glucose, ce qui confirme que les spermatozoïdes humain, comme les autres cellules de l'organisme utilisent le glucose pour leur bon fonctionnement.

II.1.2. Étude de l'effet des sulfamides sur la mobilité des spermatozoïdes humains

La figure 05 montre l'effet des sulfamides hypoglycémisants sur la mobilité des spermatozoïdes humain. D'après la figure nous pouvons constater qu'avant l'incubation des échantillons (T0), le pourcentage des spermatozoïdes mobiles est presque le même pour tous les échantillons (entre 46-52%). Le pourcentage de mobilité reste relativement stable dans l'échantillon non traité par les sulfamides (48-52%) tout au long de l'expérience. Cependant, les échantillons du sperme traités par de différentes doses de sulfamides présentent des variations considérables dans leur mobilité.

Les échantillons du sperme traités par les doses 33, 66, 132 μ g/ml de sulfamide montrent une augmentation similaire dans le pourcentage de mobilité durant les 2 premières heures d'incubation. Après 2 heures d'incubation, le pourcentage de mobilité a connu une diminution dans tous les échantillons traités, avec une diminution considérable dans l'échantillon traité par la dose de 132 μ g/ml de sulfamide.

Le pourcentage de mobilité dans l'échantillon du sperme traité par une dose de 165 μ g/ml de sulfamide, a connu une chute dès la première heure de l'incubation.

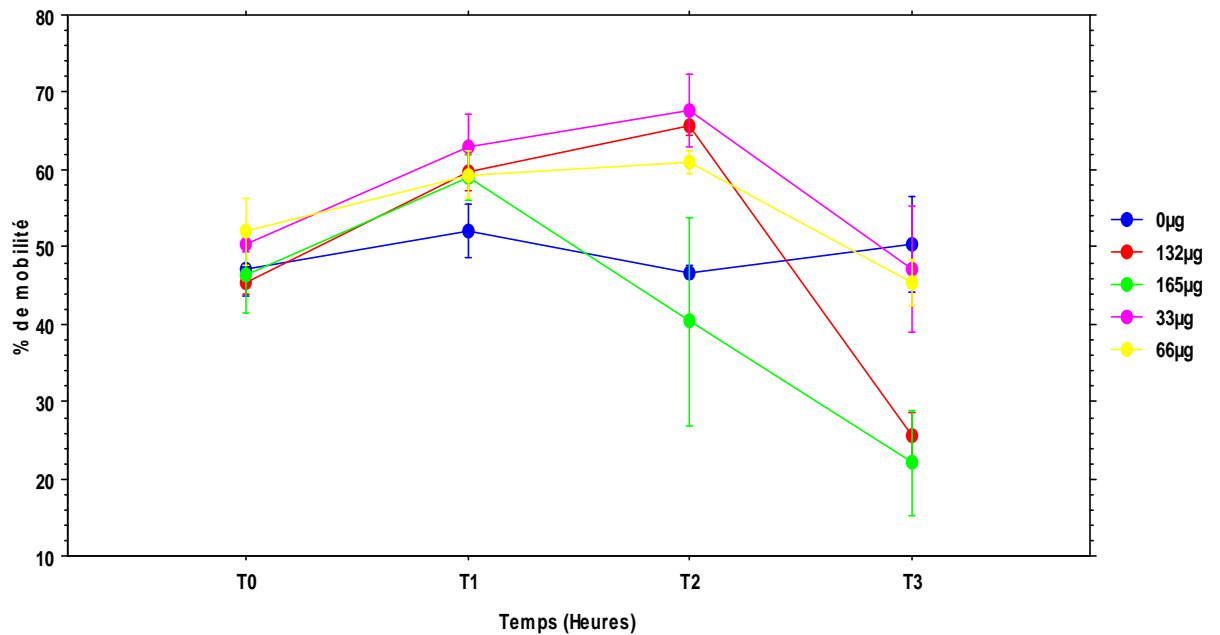


Figure 05 : Effet des sulfamides hypoglycémiant sur la mobilité spermatique.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm ES.

L'amélioration dans la mobilité spermatique observée lors de ce test, est due probablement à une consommation accrue de glucose, comme il a été signalé précédemment, l'entrée de glucose à quantité importante dans la cellule améliore la synthèse de l'ATP, qui est utilisée essentiellement dans les mouvements du flagelle du spermatozoïde, cela se traduit par une mobilité meilleure. Notant également que la relation dose/effet n'a pas été obtenue lors de cette expérience, autrement dit, la mobilité devient plus importante avec la diminution de la dose du médicament ajouté aux échantillons, ce qui reviendrait à l'effet toxiques des sulfamides à doses élevées sur le spermatozoïde.

II.2.L'effet des sulfamides sur la vitesse curvilinéaire (VCL)

La variation de la vitesse curviligne des spermatozoïdes(VCL), sous l'effet de différentes doses de sulfamide et en présence de glucose est illustrée sur la figure suivante.

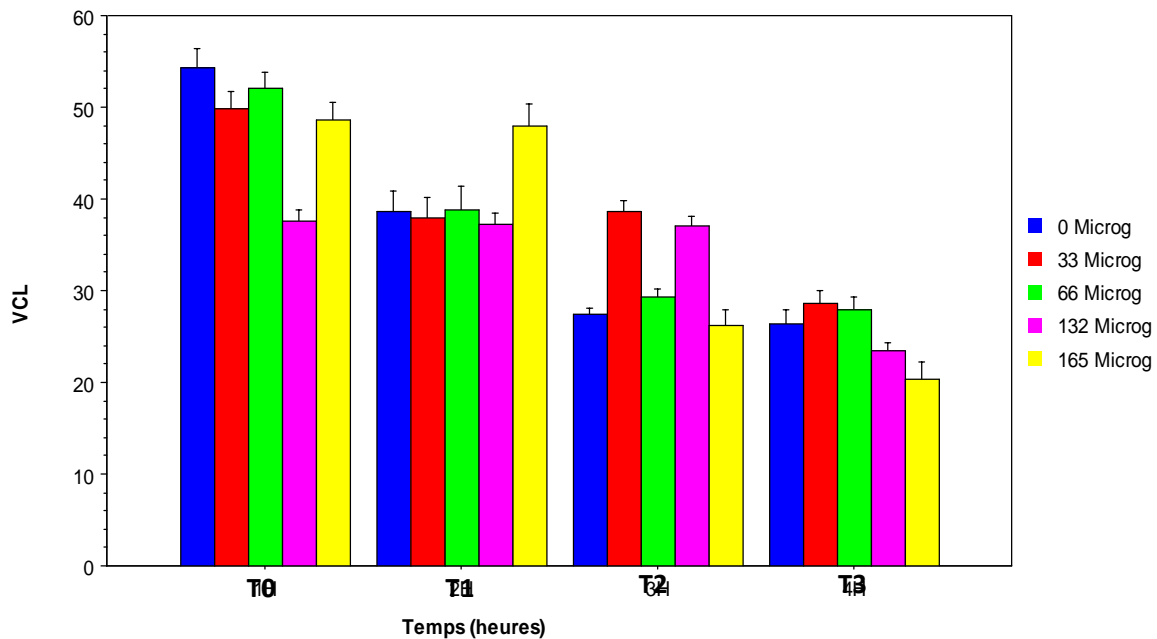


Figure 06 : Effet des sulfamides sur la vitesse curviligne des spermatozoïdes humains

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm ES.

Nous constatons d'après cette figure, qu'après 1 heure d'incubation, la dose la plus élevée de sulfamide semble avoir le meilleur effet sur la VCL, puis la valeur de cette vitesse diminue considérablement après 2 heures d'incubation. L'effet des doses 33 μ g/ml et 132 μ g/ml, a été observé après 2 heures d'incubation. Tandis que l'effet de la dose 66 μ g/ml n'a été observé jusqu'à 3 heures d'incubation.

II.3. L'effet des sulfamides sur la vitesse progressive (VSL)

La figure 07 montre l'effet des sulfamides hypoglycémiant sur la variation de la vitesse progressive des spermatozoïdes humain.

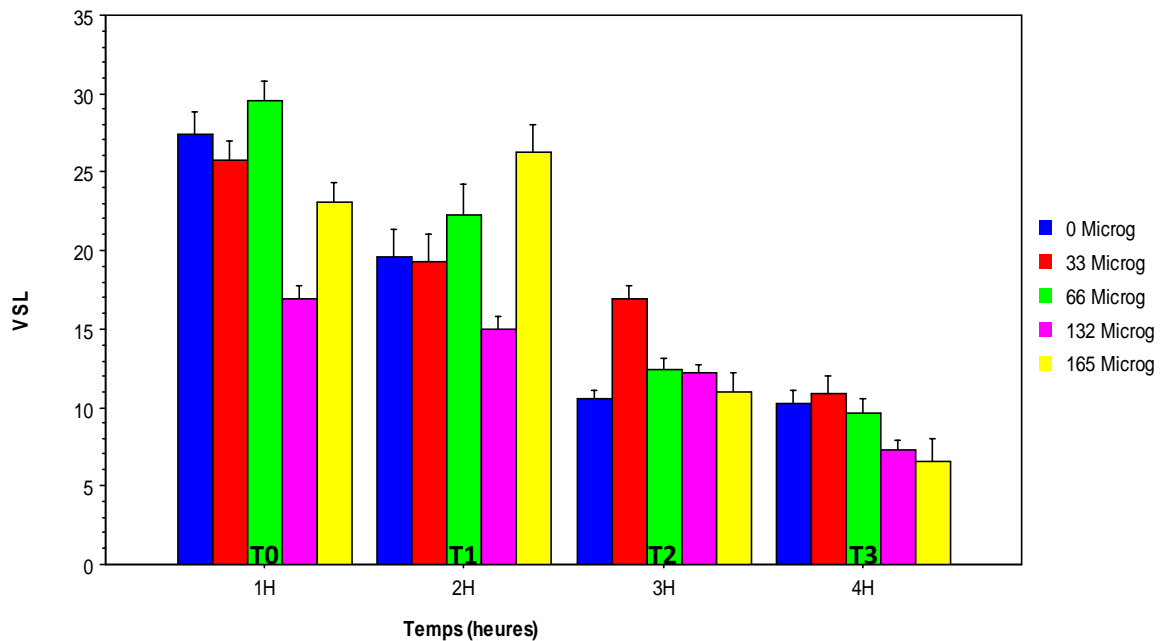


Figure 07 : Effet des sulfamides sur la vitesse progressive des spermatozoïdes humain.

L'effet des sulfamides sur la VSL des spermatozoïdes est presque similaire à celui observé sur la VCL (figure 06), ce qui confirme qu'il existe une relation entre ces deux types de vitesses, et l'activation de la mobilité spermatique est accompagnée souvent par une amélioration dans les différents types de vitesses.

L'amélioration dans les vitesses des spermatozoïdes traités avec des doses tolérées de sulfamides, est en partie une amélioration dans la mobilité spermatique. Cela veut dire que ces molécules médicamenteuses agissent sur le métabolisme énergétique de ce type de cellules.

II.4.L'effet de sulfamide sur la capture de glucose par les spermatozoïdes

humaines :

L'utilisation du glucose est nécessaire pour soutenir la mobilité et la capacitation des spermatozoïdes humains (Kimberly et al, 2010). La figure suivante montre les résultats obtenus sur la capture de glucose par les spermatozoïdes humains sous l'effet des sulfamides hypoglycémiants. Les valeurs de l'absorbance sont inversement proportionnelles à la consommation de glucose par les cellules.

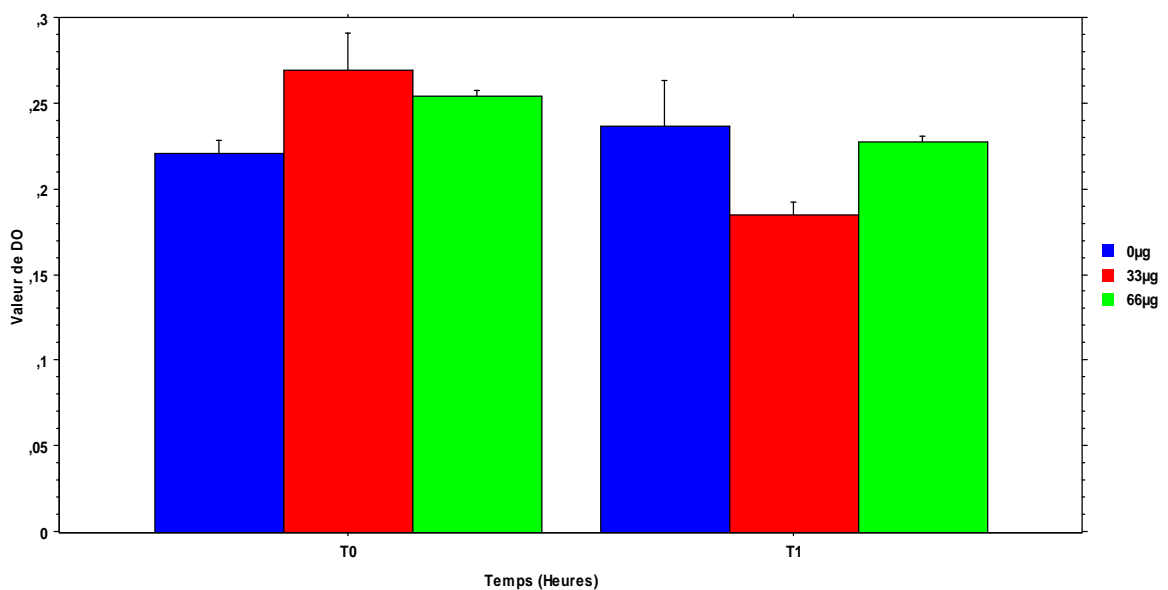


Figure 08 : Effet des sulfamides sur la consommation de glucose par les spermatozoïdes humain.

Après une heure d'incubation (T1), nous avons constaté une consommation importante de glucose dans l'échantillon qui contient 33µg/ml de sulfamides par rapport à l'échantillon qui contient une dose de 66µg/ml, où la valeur de l'absorbance a légèrement diminuée, ce qui signifie une consommation modérée de glucose. L'échantillon de sperme sans médicament n'a pas montré une diminution dans la valeur de l'absorbance, cela veut dire que la quantité de glucose consommée par les spermatozoïdes est très faible, voire négligeable.

D'après le résultat obtenu, le glucose entre massivement dans les spermatozoïdes traités par les sulfamides hypoglycémiants, ce qui nous laisse suggérer que cet

antidiabétique améliore la consommation de glucose par ce type de cellules. Néanmoins ce médicament n'est pas connu par cet effet de stimulation de la consommation de glucose par les cellules de l'organisme, mais plutôt par son effet insulinosécréteur.

En effet l'amélioration de la mobilité et de la vitesse spermatique observées dans les résultats précédents est due à la consommation importante de glucose par les spermatozoïdes traités par les sulfamides hypoglycémiantes. Une fois entré dans la cellule, le glucose est complètement dégradé, et une grande quantité de l'ATP sera produite, cette dernière est utilisée directement dans les mouvements du flagelle du spermatozoïde.

Vu leur pouvoir insulinosécréteur, les sulfamides hypoglycémiantes peuvent aussi contribuer dans la sécrétion de l'insuline par le spermatozoïde, ainsi la régulation autocrine de la consommation de glucose par cette cellule peut avoir lieu. De même **Aquila et ses collaborateurs en 2005**, ont démontré expérimentalement que les spermatozoïdes humains contenus dans l'éjaculat, contiennent des ARNm de l'insuline, et que cette dernière est sécrétée dans le milieu extracellulaire par un mécanisme similaire à celui observé dans les cellules β pancréatique. En effet la cellule spermatique, lorsque elle se trouve dans un milieu riche en glucose, elle fait appel à cette régulation autocrine par l'insuline, cette dernière stimule notamment les transporteurs de glucose (GLUT8) qui sont majoritairement exprimés sur la membrane des spermatozoïdes, ce qui accélère la capture de glucose et sa dégradation intracellulaire.

II.5.L'effet de sulfamide sur la capture de glucose par les globules rouges humains

La figure suivante illustre l'action des sulfamides hypoglycémiantes sur la capture de glucose par les globules rouges.

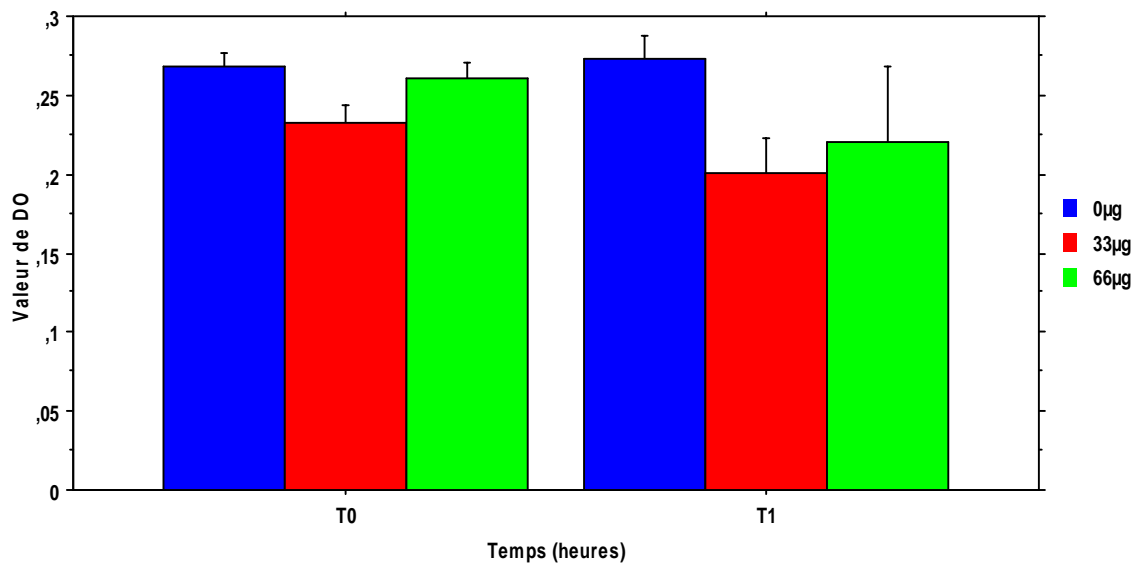


Figure 09 : Effet des sulfamides sur la consommation de glucose par les hématies

À partir des résultats obtenus, nous constatons qu'après une heure d'incubation les sulfamides agissent sur l'utilisation de glucose par les hématies avec la dose 33 µg/ml plus que la dose de 66 µg/ml. L'échantillon qui ne contient pas le médicament (0 µg/ml) montre une diminution dans la consommation de glucose.

Cette différence dans la consommation de glucose par les hématies, en présence et en absence des sulfamides hypoglycémiantes, montre que ces médicaments ont contribué dans l'entrée de glucose dans ce type de cellules. Les sulfamides qui ne sont pas connus par l'amélioration de la consommation de glucose par les cellules de l'organisme, semblent avoir un effet sur les hématies. Le mode d'action par lequel cette molécule médicamenteuse agit sur le globule rouge n'est pas clair, mais la stimulation des transporteurs de glucose de type 1 (GLUT1), qui sont majoritairement exprimés sur les hématies reste le mode d'action le plus probable.

Conclusion et perspectives

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que :

Après les tests effectués afin de montrer l'effet de sulfamide sur la capture de glucose par le spermatozoïde et le globule rouge humains, il s'est avéré que le sulfamide améliore la mobilité des spermatozoïdes en stimulant la capture et l'utilisation de glucose par les cellules spermatiques à travers les transporteurs membranaires de glucose (GLUT). Ces molécules médicamenteuses agissent sur le métabolisme énergétique de spermatozoïde.

L'amélioration de la mobilité et de la vitesse spermatique observée dans les résultats précédents est due à la consommation importante de glucose par les spermatozoïdes

Ceci est vérifié aussi par la progression des vitesses des spermatozoïdes et la VCL. Aussi ce médicament a contribué dans l'entrée de glucose dans l'hématie.

Nous pouvons conclure également, que le mode d'action le plus probable par lequel cette molécule médicamenteuse agit sur le globule rouge est par la stimulation des transporteurs de glucose de type 1 (GLUT1), qui sont majoritairement exprimés sur les hématies.

En effet la cellule spermatique, lorsque elle se trouve dans un milieu riche en glucose, elle fait appelle à cette régulation autocrine par l'insuline, ce qui accélère la capture de glucose et sa dégradation intracellulaire.

Les sulfamides hypoglycémiant agissent aussi bien sur les transporteurs non insulino-dépendants (GLUT1) que sur les transporteurs insulino-dépendants (GLUT 8)

L'ensemble de ces résultats obtenus constitue une première étape dans la recherche d'éventuelles molécules biologiques à effet antidiabétique notamment insulinosécréteur en se basant sur les travaux **d'Aquila et al., 2005**.

Annexes

Matériels utilisé lors de l'expérimentation

- Agitateur (VELP Scientifica).
- Cellule de Makler.
- Centrifugeuse (SIGMA 1-14).
- Eau physiologique (Nacl).
- Glibenclamide 5mg.
- Les embouts de pipettes en polypropylène.
- Microscope assisté par ordinateur SCA.
- Micropipettes (10, 200,1000µl).
- Réactif (glucose).
- Spectrophotomètre (UNICO 1200).
- Tubes secs.
- Tubes Eppendorf.
- Vortex (VELP Scientifica).



Centrifugeuse SIGMA 1-14



Spectrophotomètre UNICO 1200

Références bibliographiques

- A-

- **A, Alberti LR, Antonio M, de Melo B, de Almeida LM(2009).** Relation between diabetes mellitus and male fertility. *Einstein* 2009; 7: 407-410.
- **. Agbaje IM, Rogers DA, McVicar CM, McClure N, Atkinson AB, Mallidis C, et al(2007).** Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum Reprod* 2007; 22: 1871-1877.
- **Aledo M N J,Lavoi L,Volchuk A,Kellet SP,Klip A and HundalHS(1997).** Identification and characterization of two distinct intracellular Glut 4 pools in rat skeletal muscle: evidence for an endosomal and an insulin-sensitive Glut4 compartment. *Biochem J*;325:727-32.
- **Aquila S, Gentile M,Middea E, Catalano S, and Ando S(2005)** `Department of Pharmaco-Biology (Faculty of Pharmacy) (S.A., E.M.), Department of Cell Biology (M.G., S.A.), and Centro Sanitario (S.C.), University of Calabria, 87030 Arcavacata di Rende, Autocrine Regulation of Insulin Secretion in Human Ejaculated Spermatozoa *Endocrinology* 146(2):552–557.
- **America Diabetes Association(2004).** Medical Management of type 2diabete.5th Alexandria, VA.
- **Annick M.,Lecok Q et Jourdain-Menninger D.,2012.** Evaluation de la prise en charge du diabète. Inspection générale des affaires sociales, Tom 1Rapport,033p.
- **Aronoff SL(2004).** Glucose Métabolisme and régulation : Beyond Insulin and Glucagon. *Diabetes spectrum* ; 17 :183-90.
- **Ashcroft FM, Gribble FM (1999) .** ATP-sensitiveK⁺ channels and insulin secretion : theirrole in health and disease. *Diabetologia*, 1999 ; 42 : 903-919
- **A Spinas RL (2001).** Diabète sucré diagnostic, classification et pathogènes. curriculum forum Med Suisse. N20 : 519-25.

- B-

- **Baccetti B, La Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F, De LeoV** 2002 Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamopituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum Reprod* 17:2673–2677

- **Baumann CA ,Ribon V,Kanzaki M,Thurmond DC,Mora S,Shigmatsu S et al(2000).**CAP defines a second signaling pathway required for insulin-stimulated glucose transport. *Nature* 2000 Sep 14;**407(6801):**202-7.
- **Baynes J (2004).**Glucose homeostasis and fuel. *Medical Biochemist*; 2ed.243-66.
- **Bell GI,BurantCF,TakedaJ,GouldGW(1993).**Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters.*American Society for Biochemistry and molecular biology* ,1993Sep15;268(26):19161-4.
- **Boudera Z (2008).**Le diabète de type 1Chez l'enfant, généralités diagnostique et traitement .5eme cours régional de FMC. Diabète et maladies métaboliques .sétif.Algerie.
- **Bouziane K,Touhami M (2006)** Aspect clinique et génétique du diabète de type 1 chez l'enfant de l'ouest Algérien,3eme congrès Magrébine d'endocrinologie diabétique Alger, In Boudiba et mimouni Z S (1008) Améliorer la prévention et les soins du diabète ,A Diabète Voice vol 53,N2 :19-211.
- **Bush B S, Pignet M (2001).** Le diabète de type 2.Médecine Nucléaire. Imagerie fonctionnelle et métabolisme.vol 25(2) :103-14.

- C-

- **Calop J,Linat S,Frnandez C(2008).**pharmacie clinique et thérapeutique.3eme edition.Masson,Elsevier Masson Paris. PP.41 7427.
- **Capeau J (2003).**Voies de signalisation de l'insuline/science 2003 ; **19** :834-9.
- **Carayannopoulos,M.O.,Chi,M.M.Y.,Cui,Y.,Pingsterhaus,J .M.,Mc.Knight,R.A., Mueckler,M.,...&Moley,K.H.(2000).**GLUT 8 is a glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose uptake in the blastocyst.proceedings of the National Academy of Sciences,97(13),7313-7318.
- **Carneiro M Dumont C(2009).**Maladies de Biermer chez une adolescente diabétique. *Archive pédiatrie* vol 16(4) : 357-59.
- **Cheng,A.Y&Fantus,I ,G(2005).**Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabete mellitus. *Canadian Medical Association journal*, 172(2),213-226.
- **Chiang SH,Bauman CA,Kanzaki M,Thurmond DC,Watson RT,Neudauer CL et al (2001).**Insulin stimulated Glut 4translocation requires the cap dependant activation of TC 10*Nature* .2001 Apr 19;**410(6831):**944-8.
- **Cohen J(1977).** Les stérilités et hypofertilités masculines. Paris – Masson 1977.

- **Cohen-J, PALMER R(1979)**. Stérilité masculine abrégée de stérilité conjugale.Paris – Masson; 1979).
- **CollartF(2003)**.Insuffisance rénale, protéinurie et néphropathie diabétique .Rev Med. Brux ,4 :257-62.

-D-

- **Derfoufi S.,Meddah B.,Ramli Y.et Cherrah Y.,(2010)**.Actualité dans le traitement médicamenteux du diabète de de type .L'officinal,**81**:16-26.
- **Dubois LD et Tsimsit J(2000)**.Diabète de type 1 et environnement. Médecine/Science ; **16** :1045-50.
- **Dubois LD(2010)**.Progrès physiopathologique dans le diabète de type 1.Revue de praticien. Vol 60 :165-69.
- **Drouin P et al(2000)**.Diagnostique et classification du diabète sucré: les nouvelles critères. Diabète et métabolisme, hors série, vol 26, mars 2000,7-18.
- **Doege H.,Schurmann A.,Bahrenberg g.,Brauers A.,et Joost Hg(2000)**.Glut 8,a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity.journal of biological Chemistry,275(21),16275-16280.
- **Blickle JF.,Charbonnel B.,Eschwege E.,Guillausseau PJ.,Plouin PE.,**

-E-

- F-

- **Fagherazzi-Paggel H(2002)**.Actualité sur le diabète type 2.Dossier de synthèse documentaire, Institut de l'information scientifique et technique70P.
- **Esmat Mangoli1 M.Sc., Ali Reza Talebi2 Ph.D., Morteza Anvari1 Ph.D., Majid Pourentezari1 M.Sc(2013)**. Effects of experimentally-induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice Iran J Reprod Med Vol. 11. No. 1. pp: 53-60, January 2013.
- **Ficher M, Zuckerman M, Fishkin RE, Goldman A, Neeb M, Fink PJ, et al (1984)**. Do endocrines play an etiological role in diabetic and non-diabetic sexual dysfunction? *J Androl* 1984; 5: 8-16.
- **FriedmanS,VillaG,ChristineM,(1996)**.diabète insulino-dépendant,sterss et trouble psychiatrique .Encycl. Med Chir .EMC.Psychitrie 37-665 :10.

- G-

- **Garret R.H.et Grisham C.M.,(2000).**1ère Ed,De Boeck Université.Bruxelle,297-299p.
- **Geoffrey K(2005).**Role des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangéales rénales en réponse au produit avancés de glycation (AGE) : implication dans le développement de la néphropathie diabétique. thèse doctorat en biochimie, Université Paris 7Denis Didero3 1-97.
- **Gomez,O.,Romero,A.,Terrado, J.,et Mesonero,J,E.(2006).**Differential expression of glucose transporter GLUT 8 during mouse spermatogenesis.Reproduction,131(1),63-70.
- **Grimaldi A (2000).**Question d'internat, Diabétologie .Faculté de médecine Pierre Marie Curie .Paris. France : 2-142.

- H-

- **Halimi S,Debaty I,Villaret L,et Muller M(2008b).**New therapies for type 2 diabetes:What place for incretin-based agents and rimonabant compared to the previous ones.La revue de médecine interne/fondée par la société national française de médecine interne,29(11),881.
- **HasslettE, EdwinRBoonR, ColledjNR, HunterJ, AA(2005).**DavidsonMedecine interne principe et pratique, traduit de19eme ed anglaise ed maloine ISBN 2-224-02789-3P578-682.

- I-

- **Ichai C,Quintard H,& Orban JC(Eds)(2011).**Désordre métabolique et réanimation de la physiopathologie au traitement .Springers Paris
- **Ilarde A, Tuck M (1994).** Treatment of non insulin-dependent diabetes mellitus and its complications A state of the art review. Drugs and Aging 1994;4:470-91

-J-

- **Jenkins, A. B., Campbell, L. V. (2004).** The genetics and pathophysiology of diabetes mellitus type II. *J. Inherit. Metab. Dis.* P : 331-347.

- **Joao RS, Amaral S, Oliveira P(2009).** Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive species. *Bentham science* 2009; 4: 1573-3993.
- **JohnstonSL, Openshaw PMJ(2001).** The protective effect of childhood infections .*BMJ*, vol322(7283):376-77.
- **Jiang .GZB (2003).** Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol endocrinal*; **284(4)**:E671-8.

- K-

- **Kekreja A, Macharem NK(2002).** NKT Cells and type 1 diabetes and the hygiene hypothesis to explain the rising incidence rate diabetes. *Technology & therapeutics*; **4(3)**:323-33.
- **KnipM, VirtanenS, SeppaK, LionenJ, et al(2010).** Dietary intervention in infancy and later signs of Beta-cell Autoimmunity. *N.Eng J Med*;363:1900-8.
- **Korrison HK, Zierath JR, Kane S, Krook A, Lienhard GE, Wallberg-Henriksson H(2005).** Insulin stimulated phosphorylation of the AKT substrate AS 160 is impaired in skeletal muscle of type 2 diabetic subject. *Diabetes* 2005 Jun; **54(6)**:1692-7.
- **KumarV, ColinsT, RobbinsSL(2005).** Pathologie basis of disease saunders

- L-

- **Lampiao et al (2010).** Insulin stimulate Glut 8 expression in human spermatozoa *J Bio sci tech* 1(2).90-93.
- **Langlois A(2008).** Optimisation de revascularisation des ilots pancréatiques au cours de la transplantation, approche génétique ou pharmacologique ? Thèse Doctorat en science de la vie et santé .Université louis Pasteur .Strasbourg .France.
- **Lauralee Cherwood Al(2006).** Physiologie humaine .Université EDB, Editor 2006.
- **La vignera Sandro, Rosita Condorelli, Enzo Vicari, Rosario D'Agata, and Aldo E(2012).** Calogero Journal of Andrology, Vol. 33, No. 2, March/April 2012 Copyright E American Society of Andrology Diabetes Mellitus and Sperm Parameters.
- **Litherland GJHE, Hundal HS (2001).** Intracellular signaling mechanisms regulating glucose transport in insulin-sensitive tissues. *Mol Member biol.*2001; **18(3)**:195-204.
- **Lodish., Baltimore., Berk., Zipursky., Matsudaira. et Darnell.,(2000).** Biologie moléculaire de la cellule. 3^{ème} Ed, De Boeck Université. Italie, 621P.

- **Lodish Berk.,Matsudaira.,Kaiser.,Krieger.,Sckot.,Zipursky.et Darnell.,(2000) .** Biologie moléculaire de la cellule.3ème Ed,De Boeck Université.Bruxelle,249P.
- **London MB SC et al (2009).**Eunice Kennedy Shriver National Instituted of child Health and Human Development Maternal- fetal Medicine Units Network N Engl J Med.2009;1;**361(14)**:1339-48.
- **Liang B.** General Anatomy and Physiology Available from <http://www.wisc-online.com/objects> /view object.aspx? ID=AP 15004.

- M-

- **Marc Foretz NT,Bruno Guigas,Sandrine Horman,Christophe Beauloye,Fabrizio Andreelli,Luc Bertrand,Benoit violet(2006).**Régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK. Une nouvelle voie thérapeutique pour le traitement des maladies métaboliques et cardiaque .Médecine/Science.2006 ,**22** :381-8.
- **Mc pheeS,Ganong WF,** Pathophysiologie of Desease an introduction to clinical.Medecine.Lange Medical Books,2006.
- **Melander A(1996).** Oral anti-diabetic drugs : an overview. Diabetic Medicine 1996;13:S143-S147
- **Menon E,Ribeiro C,2012.**les comas diabétiques .urgence.1141-1156.
- **Mohandas N et Gallagher P.G.,(2008).**Red cell membrane past, present and future blood.American Society of Hematology,112,3939-3942.
- **Mourad Naimi EVO(2008) .**Facteur de transcription Foxo1.Une passerelle nucléaire entre métabolisme et mitogenèse.Medecine/science.**24** :635-9.

- N-

- **Nesher R,Karl IE,Kipis DM(1985).**Dissociation of effects of insulin and contraction on glucose transport in rat epitrochlearis muscle Am J physiol.1985 Sep;**249** (3Pt 1):C 226-32.

-O-

- **. OMS(2003-2004).** Présentation de l'infertilité. Serono 2003-2004 :1-2.

- **O'Neill J, Czerwiec A, Agbaje I, Glenn J, Stitt A, McClure N, et al.** Differences in mouse models of diabetes mellitus in studies of male reproduction. *Int J Androl* 2010; 33: 709-716.
- **Organisation Mondiale de la Santé(OMS) 1985.**Le diabète sucré. Genève, 1-123.

-P-

- **PETER J,(1991).** Fécondation. L'obstétrique actuelle. Dictionnaire des termes de médecine 27emeédition Maloine; Paris; 1991 : 412-435, 780.
- **Postic C,Dentin R,Girard J (2004).** Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab.Nov*; **30(5)**:398-408.

- Q-

-R-

- **Raccah D.,2004.**Epidimiologie et physiopathologie des complications degenerative du diabète sucré.EMC-Endocrinologie,1,29-42.
- **. Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M(2009).** Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. *Andrologia* 2009; 41: 361-368.
- **Richter EA,Cleland PJ,Rattigan S,Clark MG(1987).**Contraction associated translocation of protein kinase C in rat skeletal muscle.FEBS lett.1987Jun 15:**217(2)**:232-6.
- **RobinsonR(2001).**The fetal origins of adult disease MBJ.322(7283):375-76.
- **Rodier M(2001).**Définition et classification du diabète Médecine Nucléaire –Imagerie fonctionnelle et métabolique vol 25-N°2 :5-93.

-S-

- **Schurmann,A.,Axer ,H.,Scheepers,A.,Doege,H.,et Joost,H,G,(2002).**The glucose transport facilitator GLUT 8is predominantly associated with the acrosomal region of mature spermatozoa.*Cell and tissue research*,307(2),237-242.
- **Saltiel AR,Kahn CR(2001).**Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism.*Nature*2001Dec 13;**414(6865)**:799-806.

- **Sapin R, demangeat C (2001).** Aspect analytique des dosages d'insuline, peptide C, proinsuline et glucagon. Médecine nucléaire Imagerie fonctionnelle et métabolique vol 25, N°2 :73-79.
- **Sarles H, (1986).** Contribution à l'étude des pancréatites A propos de 4 cas. thèse, Médecine n°98, Casablanca.
- **Sherifali D, Nerenberg K, Pullenayegum E et al.** The effect of oral antidiabetic agents on A1C Levels. A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, 2010 ; 33 : 1 859-1 864.
- **Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, Turner RC et al (2001).** UKPDS SO: Risk factor for incidence and progression of retinopathy in type II diabetes over 6 year from diagnosis : *diabetologia* 44:713-22.
- **Stuebe A (2007).** Allaitement et diabète; bienfaits et besoin spécifique .Diabète voice. Vol 52 N1 :26-29.
- **Stump CS, Short KR, Bigelow ML, Schimke JM, Mair KS (2003).** Effect of insulin on human skeletal muscle mitochondrial ATP production, protein synthesis and RNA transcripts *Proc Natl Acad sci USA*. 2003; jun 24; **100(13)**:7996-8001.

- T -

- **Tielmans A, Laloi-Michelin M, Coupaye M et al. (2007).** Actualités dans le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Presse Med*, 2007 ; 36 : 269-278.

- U -

- **Urner F & Sakkas D (2003).** Protein phosphorylation in mammalian spermatozoa. *Reproduction*, 125(1), 17-26.

- V -

- **Violette B, Atlan C, Conte D, Raccah D, Simonim G (2006).** Diabète sucré de type 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte .Complication, Endocrinologie nutrition. Faculté de médecine de Marseille 1-45.
- **Virally M, Blicke JF, Girard J et al. (2007).** Type 2 diabetes mellitus : epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes Metab*, ;33 : 231-244.

-W-

- **Who,(2000)** (WORLD HEALTH ORGANISATION). Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Edition Cambridge university press; 2000.
- **Woods A,Johnstone SR,Dickerson K,Leiper FC,Fryer LG,Neumann D et al(2003)**.LKBI is the upstream Kinase in the AMP activated protein kinase cascade.Curr Biol.2003Nov 11:**13(22)**:2004-8.
- **Woods A,Dickerson K,Heath R,Hong SP,Momcilovic M,Johnstone SR et al(2005)**.Ca²/calmodulin-dependent protein kinase-beta acts upstream of AMP activated protein kinase in mammalian cells.Cel Metab 2005Jul:**2(1)**:21-33

-Y-

- **Yong J(2011)**.Endocrinologie diabétologie et maladie métabolique.2eme Ed, Elsevier Masson. Paris 242-245P.

Résumé

L'objectif du présent travail est d'étudier l'effet des sulfamides hypoglycémiants sur la capture de glucose par les spermatozoïdes et les globules rouges humains.

Le sulfamide est un antidiabétique oral, dont il stimule la sécrétion de l'insuline sans influencer sa synthèse par les cellules β du pancréas.

Plusieurs tests ont été réalisés sur des échantillons du sperme et du sang humains.

Nos résultats montrent que le sulfamide améliore la mobilité spermatique, la VCL et la VSL en incitant l'entrée de glucose dans les cellules, ainsi que la consommation de glucose par les hématies et cela par la stimulation de ces transporteurs (GLUT 1).

Mot clés : Diabète, spermatozoïdes, globules rouges, transport de glucose, sulfamides hypoglycémiants.

Summary

The objective of this work is to study the effect of the sulphamides hypoglycémiants on the capture of glucose by the human spermatozoa and red globules.

The sulphamide is an antidiabetic an oral examination, of which it stimulates the secretion of insulin without influencing its synthesis by the cells β pancreas.

Several tests have summers carried out on samples of human sperm and blood.

Our results shows that the sulphamide improves spermatic mobility, the VCL and the VSL in incentive the entry of glucose in the cells, as well as the consumption of glucose by red blood corpuscle and that by the stimulation of these conveyers (GLUT 1).

Key word: Diabetes, spermatozoa, globules red, transport of glucose, sulphamides hypoglycémiants.