



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية عاوم الطبيعة و الحياة

**Département : Biologie Animale**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Immunologie moléculaire et cellulaire: oncologie**

Intitulé :

---

**Etude de l'effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur le statut lipidique chez des souris soumises à un régime hypercholestérolémiant.**

---

**Présenté et soutenu par : GHEDBANE Khawla**

**Le : 05 juin 2016**

**KOUTCHOUKALI Soumaya**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury : TEBIBEL Soraya      Professeur. UFM Constantine.**

**Rapporteur :                      MESSAOUDI Sabar      MAA.                      UFM Constantine.**

**Examinatrice :                      MECHATI Chahinez      MAA.                      UFM Constantine.**

***Année universitaire***  
***2015 - 2016***

## *Remerciement*

*Nous remercions dieu tout puissant qui nous a donné la force pour réaliser ce  
modeste travail.*

*الحمد لله رب العالمين*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre encadreur*

*Mr. **MESSAOUDI Sabar** pour son encadrement, les conseils et son aide tout au  
long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous adressons nos très sincères remerciementsaux membres de jury*

*Mme. **TEBIBEL Soraya** et Mlle. **MECHATI Chahinez** d'avoir accepter d'examiner et  
d'évaluer notre travail.*

*Ensuite, nous remercions vivement tous les professeurs et les enseignants  
qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la  
fin de notre cycle universitaire.*

*Enfin, nous remercions infiniment nos parents, nos familles et nos amis qui  
nous ont aidé.*

*Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre.*

***Khawla et Soumaya***

# Dédicace

*Nous tenons à louer en premier lieu **DIEU** le tout puissant qui nous a donné la  
force et la patience pour mener à bien ce travail*

*Je dédie ce modeste travail à mes **chers parents***

*Pour m'avoir toujours soutenue, Sans vous je ne serais pas ce que je suis  
aujourd'hui*

*A mon très cher frère **zaki***

*A toute ma famille*

*A mon oncle **Nabil** qui me suit tout le long de mon cycle d'étude.*

*A ma belle famille*

*A mon très cher fiancé **Djihad Bik***

*A ma petite princesse **Arridjo***

*A tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre.*

***Soumaya***

# *Dédicace*

*Merci **allah**, pour m'avoir donné la santé, la force nécessaire et le courage pour mener a réalisé ce travail*

*Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde,*

***mes chers parents***

*qui m'ont permis de continuer mes études Dans les meilleures conditions, que dieu les protègent.*

*A **mes très chères sœurs** Pour leur soutien et leur Encouragement.*

*A mon cher frère **AYMEN***

*A toute ma famille*

*A mon cher ami **YOUCEF** pour leur encouragement*

*A tous **mes amis d'études** Pour tous les bons moments passés ensemble*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail*

***khawla***

---

**Liste des abréviations****Liste des figures****Liste des tableaux****Introduction.....1****Chapitre I Lipides et Lipoprotéines****I. Les Lipides.....3****I.1 Fonctions des lipides.....3****I.2 Classification des lipides.....3**

## I.2.1 Les acides gras.....3

## I.2.2 Les stérols.....3

## I.2.3 Les phospholipides.....3

## I.2.4 Les triglycérides.....4

*I.2.4.1 Définition.....4**I.2.4.2 Fonctions.....4*

## I.2.5 Le cholestérol total.....4

*I.2.5.1 Définition.....4**I.2.5.2 Structure.....5**I.2.4.3 Fonctions.....5**A. Structurales.....5**B. Métaboliques.....6**I.2.5.4 Biosynthèse du cholestérol.....6*

---

<b>II. Les apoprotéines.....</b>	<b>6</b>
<b>II.1 Les apoprotéines A. ....</b>	<b>7</b>
<b>II.2 Les apoprotéines B. ....</b>	<b>7</b>
<b>II.3 Les apoprotéines C. ....</b>	<b>8</b>
<b>II.4 L'apoprotéine E.....</b>	<b>8</b>
<b>II.5 L'apoprotéine [a].....</b>	<b>9</b>
<b>III. Les lipoprotéines.....</b>	<b>9</b>
<b>III.1 Les Chylomicrons.. ....</b>	<b>10</b>
<b>III.2 Lipoprotéines de très faible densité (VLDL).. ....</b>	<b>11</b>
<b>III.3 Lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL).....</b>	<b>11</b>
<b>III.4 Lipoprotéines de faible densité (LDL).....</b>	<b>12</b>
<b>III.5 Lipoprotéines de haute densité (HDDL).. ....</b>	<b>12</b>
<b>III.6 Lipoprotéines [a].....</b>	<b>12</b>
<b>IV. Le métabolisme des lipoprotéines.....</b>	<b>13</b>
<b>IV.1 Survol du métabolisme des lipoprotéines.....</b>	<b>13</b>
IV.1.1 La voie des lipides exogènes.....	13
IV.1.2 La voie des lipides endogènes.....	14
IV.1.3 Le transport inverse du cholestérol.....	15
<b>IV.2 La protéine de transfert des esters de cholestérol.....</b>	<b>17</b>

---

**Chapitre II L'athérosclérose et L'athéromatose**

<b>I. L'athérosclérose.....</b>	<b>18</b>
<b>I.1 Histoire de la maladie .....</b>	<b>18</b>
<b>I.2 Etymologie.....</b>	<b>18</b>
<b>I.3 Rappel sur la structure artérielle.....</b>	<b>18</b>
<b>I.4 Histoire naturelle de la maladie humaine.....</b>	<b>19</b>
<b>I.5 Définition et composition.....</b>	<b>21</b>
<b>I.6 Formation.....</b>	<b>22</b>
I.6.1 Activation endothéliale .....	22
I.6.2 Infiltration lipidique.....	22
I.6.3 Composante inflammatoire.....	22
I.6.4. Capsule fibreuse.....	23
I.6.5 Sclérose.....	23
<b>II. L'athéromatose.....</b>	<b>23</b>
<b>II.1 Rupture de la plaque.....</b>	<b>23</b>
<b>II.2 Complications thrombotiques.....</b>	<b>23</b>
II.2.1 La thrombose.....	23
II.2.2 Scénario thrombogène.....	24
<b>II.3 Imprédictibilité de l'athéromatose.....</b>	<b>24</b>
<b>III : La formation et l'évolution de la plaque athéromateuse chez l'homme .....</b>	<b>24</b>
<b>III.1 Description et gradation de la maladie athéromateuse.....</b>	<b>24</b>
III.1.1 La strie lipidique.....	24
III.1.2 La lésion fibrolipidique.....	25
III.1.3 La plaque fibreuse .....	25

---

<b>III.2 Anatomopathologie de l'athérosclérose humaine.....</b>	<b>25</b>
III.2.1 Lésions de type I.....	25
III.2.2 Lésions de type II.....	26
III.2.3 Lésions de type III.....	26
III.2.4 Lésions de type IV.....	27
III.2.5 Lésions de type V.....	28
III.2.6 Lésions de type VI.....	29
<b>IV. Eléments cellulaires au cours de l'athérosclérose.....</b>	<b>31</b>
IV.1 Les cellules endothéliales.....	31
IV.2 Les macrophages.....	31
VI.3 Les lymphocytes T.....	32
IV.4 Les Cellules Musculaires Lisses (CML).....	32
IV.5 Les Plaquettes.....	33
<b>V. Les facteurs de risque cardio-vasculaires.....</b>	<b>33</b>
V.1 Le tabac.....	34
V.2 Facteurs hémodynamiques: hypertension et force de Cisaillement.....	34
V.3 Hyperlipidémie.....	35
V.4 Diabète.....	35

## Matériel et méthodes

<b>I. Matériel.....</b>	<b>36</b>
I.1 Matériel végétal.....	36
I.2 Choix des animaux.....	36
1.1.1 Entretien des animaux.....	36
I.3 Produits utilisés.....	37
I.4 Equipements.....	37



---

<b>II.Méthodes.....</b>	<b>38</b>
<b>II.1 Traitement des souris .....</b>	<b>38</b>
<b>II.2 Prélèvement sanguin .....</b>	<b>38</b>
<b>II.3 La dissection.....</b>	<b>39</b>
<b>II.4 Méthodes de dosage des paramètres biologiques.....</b>	<b>40</b>
II.4.1 Dosage du cholestérol total.....	40
II.4.2 Dosage des triglycérides.....	40
II.4.3 Dosage des HDL-LDL .....	41
II.4.4 Dosage des transaminases .....	41
II.4.5 Dosage de la CRP .....	41
<b>II.5 Analyse statistique.....</b>	<b>42</b>
<b>Résultats et Discussion</b>	
<b>I. Poids et consommation d'aliment.....</b>	<b>43</b>
<b>I.1 Première expérience.....</b>	<b>43</b>
<b>I.2 Deuxième expérience.....</b>	<b>45</b>
<b>II.Résultats d'analyses biochimiques.....</b>	<b>47</b>
<b>II.1 L'ASAT.....</b>	<b>47</b>
<b>II.2 L'ALAT .....</b>	<b>48</b>
<b>II.3 Le cholestérol.....</b>	<b>49</b>
<b>II.4 Les Triglycérides.....</b>	<b>50</b>
<b>II.5 L'HDL-c .....</b>	<b>51</b>
<b>II.6 L'LDL-c.....</b>	<b>52</b>
<b>II.7 La CRP.....</b>	<b>53</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>55</b>
<b>Résumé.....</b>	<b>57</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>60</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>70</b>

## Liste d'abréviation

**AG:** Acide Gras.

**AGPI :** Acide Gras polyinsaturé

**Apo:** Apoprotéine.

**AVC:** accident vasculaire cérébral.

**C:** Carbone.

**CAMs:** Molécules d'adhésion cellulaire.

**CE:** Cellules endothéliales.

**CETP:** Protéine de transfert des esters de cholestérol.

**CL:** Cholestérol libre.

**CM:** Chylomicron.

**CML:** Cellules musculaires lisses.

**CMLV:** Cellule Musculaire Lisse Vasculaire.

**EC:** Esters de cholestérol.

**EG:** EpidermalGrowth Factor.

**ERO:** espèces réactives à l'oxygène

**FGF:** Basic FibroblastGrowth Factor.

**GM-CS:** Granulocyte-Monocyte CSF.

**HDL:** Lipoprotéine de haute densité.

**HL:** Lipase Hépatique.

**INF-  $\alpha$ :** Interféron-  $\alpha$ .

**ICAM-1:** Molécules d'adhésion intercellulaires 1.

**IDL:** Lipoprotéine de densité intermédiaire.

**IGF-1:** Insulin-likeGrowth Factor I.

**IL-:** Interleukine-

**KDa:** Kilo daltons.

**LCAT:** Lécithine:cholestérolacyl transférase.

**LDL:** Lipoprotéine de faible densité.

**LDLox:** LDL oxydées.

- Lp[a]:** Lipoprotéine [a].
- LPL:** Lipase lipoprotéique.
- LRP:** Récepteur apparenté au récepteur des LDL.
- MAC:** Membrane AttackComplex.
- MCP-1:** Monocyte Chemoattractant Protein-1.
- M-CSF:** Monocyte Colony-Stimulating Factor.
- MCV:** Maladies Cardiovasculaires.
- MMP:** Matrix MetalloProteinas.
- NCPs:**Non CollagenBone-associatedProteins.
- NO :** Oxyde nitrique.
- PGI2:** Prostacycline I2.
- PL:** Phospholipides.
- rLDL:** Récepteur des LDL.
- sdLDL:** Particules LDL petites et denses.
- SR:** ScavengerReceptors.
- T:** Facteur Tissulaire.
- TG:** Triglycérides.
- TGFβ:** TransformingGrowth Factor-β.
- TNF:** Tumor necrosis factor alpha.
- TRL:** Lipoprotéines riches en triglycérides.
- VCAM-1:** VascularCellAdhesionMolecule 1.
- VLDL:** Vipoprotéine de très faible densité.
- vWF:** Von Willebrand Factor.

Liste des figures

**Figure.01:**Structure de triglycéride.....4

**Figure.02:**Structure chimique du cholestérol libre.....5

**Figure.03:**Structure des lipoprotéines.....10

**Figure.04:**La voie des lipides exogènes.....14

**Figure.05:**La voie des lipides endogènes.....15

**Figure.06:**Transport inverse du cholestérol.....16

**Figure.07 :**Schéma général de la structure artérielle.....19

**Figure.08:** Histoire naturelle de l'athérosclérose.....20

**Figure.09:** Schéma de la structure d'une plaque d'athérosclérose.....21

**Figure.10:**Lésion d'athérosclérose de type V ou lésion fibroathéromateuses d'une artère coronaire humaine.....29

**Figure.11:**Classification des lésions athéromateuses selon AHA1995.....30

**Figure.12:** L'extrait de la plante.....36

**Figure.13:** Répartition des souris dans les lots.....37

**Figure.14:** Prélèvement sanguin au niveau des sinus rétro-orbital.....39

**Figure.15:** Récupération de sérum après Centrifugation.....39

**Figure.16:** Dissection et séparation des organes.....40

**Figure.17:**Evolution pondérale des souris de l'expérience 1.....44

**Figure.18:**Consommation d'aliment par les souris de l'expérience 1.....44

**Figure.19:**Evolution pondérale des souris de l'expérience 2.....45

**Figure .20:** Consommation d'aliment par les souris de l'expérience 2.....46

**Figure.21:**interaction de cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ASAT chez les souris .....47

**Figure.22:**interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ALAT chez les souris .....48

**Figure.23:**interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de cholestérol chez les souris.....49

**Figure.24:** interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux des triglycérides chez les souris.....50

<b>Figure.25:</b> interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'HDL-c chez les souris.....	<b>51</b>
<b>Figure.26:</b> interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'LDL-c chez les souris.....	<b>52</b>
<b>Figure.27:</b> interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de la CRP chez les souris.....	<b>53</b>

**Liste des tableaux**

**Tableau.01:** composants de l'aliment des souris (ONAB) (Office National du Bétail).....**68**

**Tableau.02:** Traitement des souris.....**38**

# *Introduction*

## Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) constituent un problème majeur de santé publique. Elles sont responsables chaque année du décès de plus de 17 millions, soit 30% de la mortalité mondiale. Les MCV sont associés à plusieurs facteurs de risque cardio-métabolique (dyslipidémie, diabète, hypertension artérielle, obésité, inactivité physique, tabagisme).[1]

En Algérie, comme dans tous les pays, les affections cardiovasculaires occupent une place prépondérante dans la morbi-mortalité.[2]

La dyslipidémie est une pathologie métabolique très fréquente qui est caractérisée par une augmentation des teneurs en triglycérides (TG), en cholestérol total, du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL-c) et une diminution du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-c). Actuellement, il est bien établi que l'hypercholestérolémie contribue au développement de l'athérosclérose. Plus la cholestérolémie est élevée, plus les risques de complications cardiovasculaires augmentent.[3]

Des études cliniques et expérimentales ont révélé que des taux élevés de C-LDL sont associés à l'athérosclérose et à un plus grand risque d'évènements cardiovasculaires. Par ailleurs, plusieurs hypothèses suggèrent que les concentrations du C-HDL exercent un effet antiathérogène, en atténuant l'oxydation des LDL.[4]

De nombreux travaux ont montré que l'athérosclérose peut être induite expérimentalement, en administrant à des animaux des régimes hypercholestérolémiants. En effet, chez les modèles animaux (souris, rats, lapins) comme chez l'homme, un régime riche en cholestérol provoque de nombreuses altérations métaboliques; une hypercholestérolémie sévère, une réponse inflammatoire et un stress oxydatif.

Ce stress est caractérisé par un déséquilibre provoqué essentiellement par une production exagérée des espèces réactives à l'oxygène (ERO), qui sont responsables des altérations biologiques, telles que la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique et un déficit des défenses antioxydantes.

De tout temps, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies. Elles sont utilisées à travers le monde, en médecine traditionnelle, pour leurs activités hypoglycémiantes, hypolipémiante et antioxydante. [5]



Notre étude vise à comprendre l'effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* comme supplément alimentaire riche en acides gras polyinsaturés (favorisant la diminution du développement de l'obésité) sur l'hypercholestérolémie expérimentale induite par le régime hyperlipidique et hypercalorique sur les souris *Mus musculus* pour prévenir l'hypercholestérolémie et ses désordres associés.

Pour cela, différents paramètres seront étudiés: le Cholestérol total, les Triglycérides, les Transaminases hépatiques (ASAT / ALAT), l'HDL-c, l'LDL-c et la CRP.

Notre étude vise aussi à montrer l'effet des différents traitements sur le poids des animaux et leur consommation alimentaire.

# *Chapitre 1*

## I. Les lipides

Les lipides sont des substances organiques hétérogènes apolaires [6], solubles dans les solvants non polaires; éther et le chloroforme. Ils sont constitués d'acides gras à chaîne carbonée plus ou moins longue dont l'estérification des fonctions alcool permet de synthétiser des lipides de composition variée. Les lipides sont séparés en trois sortes de composés: les acides gras, les stérols et les phospholipides.[7]

### I.1 Fonctions des lipides

Les lipides jouent un rôle majeur :

- Structurale des tissus et des vaisseaux, puisqu'ils constituent les membranes cellulaires.
- Énergétique, puisque la  $\beta$  oxydation est une source énergétique majeure.
- Les communications intracellulaires et la signalisation cellulaire puisque de nombreux médiateurs et hormones (stéroïdes) sont des dérivés lipidiques.
- Dans la physiopathologie vasculaire, les lipides et les lipoprotéines jouent un rôle important dans la genèse des lésions d'athérosclérose. [8]

### I.2 Classification des lipides

#### I.2.1 Les acides gras (AG)

Sont des composés de chaînes linéaires de 4 à 24 carbones (C) avec un groupement COOH à l'extrémité. Les AG sont les unités de base de la synthèse lipidique, estérifient le glycérol pour former des mono-, di- ou triglycérides.[9]

#### I.2.2 Les stérols

Les stérols sont des stéroïdes comprenant au moins un groupement OH. Ils sont, pour la plupart, construits sur un noyau à 4 cycles dérivant du noyau cyclo-pentano-per-hydro-phénantrénique.

#### I.2.3 Les phospholipides

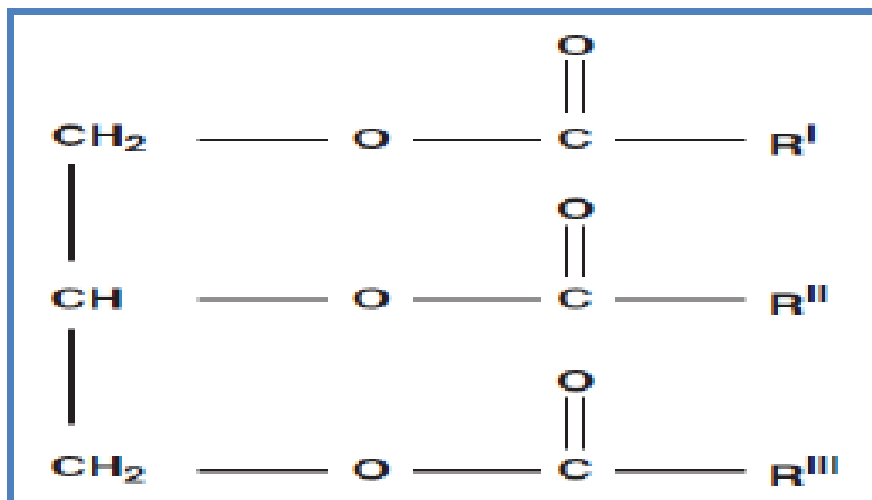
Sont des lipides membranaires qui ont la particularité d'être amphiphiles. Ce sont soit des glycérophospholipides qui sont des di glycérides dont le 3e radical hydroxyle est estérifié par l'acide phosphorique, soit des sphingomyélines où le glycérol est remplacé par la sphingosine qui possède une chaîne grasse très longue.[7]et[9]

## I.2.4 Les triglycérides

### I.2.4.1 Définition

Les triglycérides (ou triacylgycérols) sont des esters d'acides gras et de glycérol (**Figure.01**), se sont des graisses neutres, très hydrophobes. Il existe deux types de triglycérides :

- Les triglycérides simples (homotriglycérides) contiennent le même Acide gras.
- Les triglycérides mixtes (hétéotriglycerides) contiennent deux ou trois acides gras différents.



**Figure.01:** Structure de triglycéride.[10]

### I.2.4.2 Fonctions

- Les TG représentent plus des 90% des apports alimentaires, ce sont les véhicules des vitamines liposolubles (vitamine A, D, E et K) et source d'acides gras polyinsaturés.
- Ils constituent le stocke d'acides gras le plus important de l'organisme localisés essentiellement dans le tissu adipeux.

## I.2.5 Le Cholestérol total

### I.2.5.1 Définition

Le cholestérol est une substance naturelle vitale de l'organisme humain insoluble, appartient à la famille des stérols, il est à 95% intracellulaire et pèse dans le corps humain environ 140 g. [10]

Le cholestérol est présent dans le tissu nerveux, surtout dans la substance blanche, le rein, la peau, le foie, les hématies, les muscles, les intestins et le cœur. [11]

### I.2.5.2 Structure

La molécule du cholestérol comprend quatre cycles notés A, B, C et D (noyau cyclopentano-phenanthrenique), 8 carbones asymétriques (les carbones 3, 8, 9, 10, 13, 14, 17 et 20). (Figure.02)

Le cholestérol possède un groupe hydroxyle –OH sur le carbone 3(C3). Ce groupement constitue donc la partie hydrophile du cholestérol. La fonction OH du cholestérol peut être estérifiée par un acide gras qui rend la molécule totalement insoluble dans l'eau estérifiée par un acide gras qui rend la molécule totalement insoluble dans l'eau.

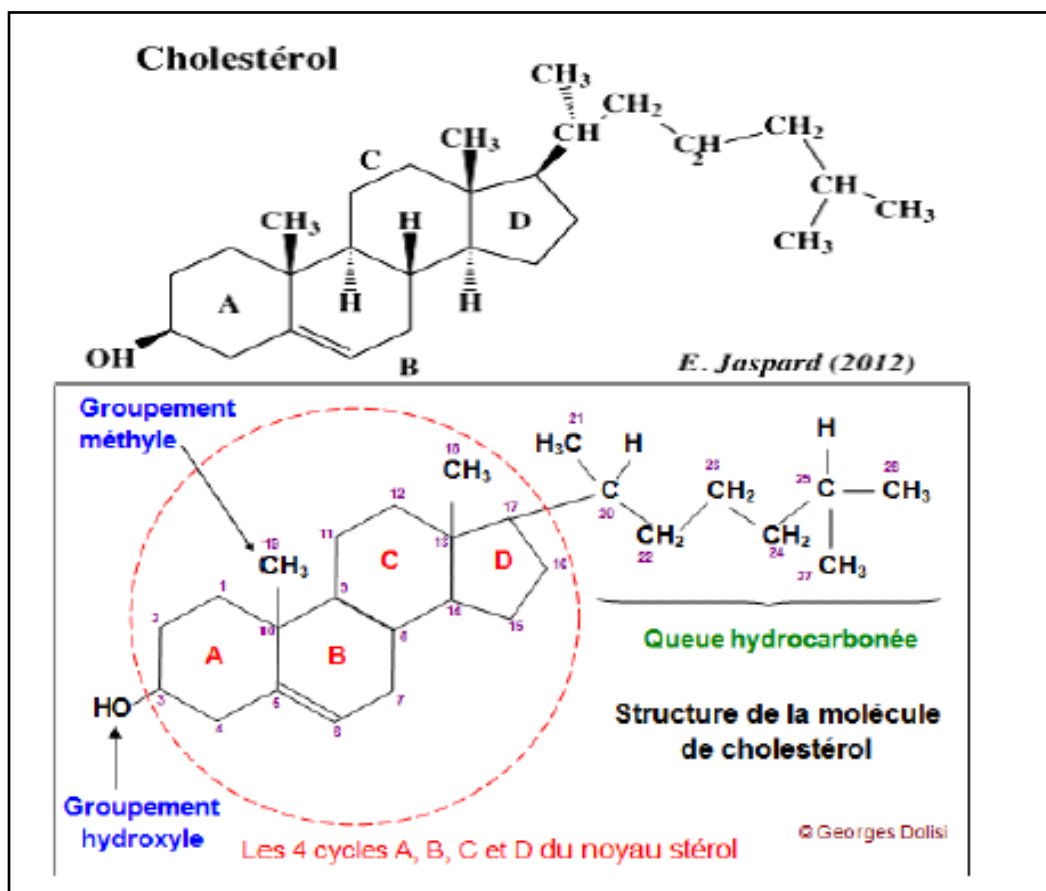


Figure.02: Structure chimique du cholestérol libre. [10]

### I.2.5.3 Fonctions

#### A. Structurales

Le noyau stéroïde du cholestérol est prolongé de la chaîne latérale en C17. Elle s'intercale entre les molécules de phospholipides dans la bicouche lipidique. La tête polaire tournée vers la phase aqueuse externe et la queue non polaire plongée dans la membrane. Le cholestérol dans une biomembrane réduit la fluidité et assure la rigidité.[12]

**B. Métaboliques**

Le cholestérol est le précurseur de la synthèse :

- Des acides biliaires, dans le foie, indispensables à la digestion des lipides.
- Des hormones stéroïdes, dans les organes stéroïdogènes (corticosurrénales, gonades et placenta).
- Du vitamine-D de la peau.

**I.2.5.4 Biosynthèse du cholestérol**

Les besoins de l'organisme en cholestérol (1,2 g/24h) sont couverts par l'alimentation (0,2g) et surtout par la synthèse endogène (1g) qui a lieu dans le foie (les 4/5) dans l'intestin (le 1/5) et un peu dans la peau.[12 et13]

La synthèse du cholestérol est divisée en cinq étapes :

- La synthèse du mévalonate à partir de l'acétyl-CoA.
- La formation d'unités isopréniques à partir de mévalonate par perte de  $\text{CO}_2$ .
- Six de ces unités se condensent pour former le squalène.
- Le squalène se cyclise pour donner naissance à un stéroïde, le lanostérol.

Le cholestérol est formé à partir du lanostérol, a lieu dans les membranes du réticulum endoplasmique et entraîne des changements dans le noyau stéroïde et dans la chaîne latérale.[14]

**II. Les apoprotéines**

Les apoprotéines sont un groupe de protéines spécialisées qui s'associent aux lipoprotéines. Elles déterminent l'identité et le destin métabolique des lipoprotéines auxquelles elles sont attachées. Les apoprotéines couvrent un large spectre de poids moléculaires, de 6.6 à 550 kDa.

La plupart des apoprotéines sont solubles dans l'eau et peuvent s'échanger librement entre les lipoprotéines. Seules les apoprotéines B demeurent fermement liées à leur particule, à partir de sa sécrétion jusqu'à son internalisation pour catabolisme. Certaines apoprotéines sont nécessaires pour interagir avec des récepteurs cellulaires, alors que d'autres agissent comme modulateurs d'enzymes.[15]

## II.1 Les apoprotéines A

Chez l'humain, nous retrouvons principalement en circulation trois types d'apoprotéines A :

- L'apoprotéines A-I, l'apoprotéines A-II et l'apoprotéines A-IV. L'apoprotéines A-I est une protéine de 28.1 kDa et se retrouve principalement au niveau des HDL. Elle est produite par l'intestin et par le foie. Au niveau intestinal, elle est sécrétée avec les CM et elle est transférée au HDL lorsque le CM est hydrolysé. Au niveau du foie, l'apoprotéines A-I est sécrétée sous forme de HDL naissant. [16] et [17]
- L'apo A-II est un dimère de 17.4 kDa, est la deuxième plus abondante protéine des HDL et son principal site de synthèse est le foie. Mise à part sa présence dans les HDL, le rôle de l'apo A-II dans le métabolisme des HDL n'est pas très clair, d'autant plus que cette apo n'est pas présente chez tous les mammifères. [15] et [17]
- L'apo A-IV est une protéine de 46 kDa et est abondamment sécrétée avec les CM, mais on ne la retrouve que peu associée aux résidus de CM, aux VLDL et aux HDL. Contrairement à la plupart des apo, la majeure partie de l'apo A-IV est retrouvée libre en circulation et s'échange librement et rapidement entre les lipoprotéines. L'apo A-IV agirait de concert avec l'apo C-II pour activer la LPL et inhiberait la captation des résidus de CM au niveau du foie. [18]

## II.2 Les apoprotéines B

On retrouve deux formes d'apo B : l'apoB-100, synthétisée par le foie, et l'apoB-48, produite par l'intestin. L'apoB-48 est produite par épissage de l'ARNm du gène de l'apo B et représente 48% de la masse de l'apoB-100. Les apo B ne sont absolument pas solubles dans l'eau en absence de détergents et y forment des agrégats.

Elles restent intimement liées à leur lipoprotéine à partir de son assemblage intracellulaire jusqu'à sa captation et sa dégradation intracellulaire.

L'apoB-100, une protéine de 550 kDa, n'est présente qu'en une seule copie dans laVLDL et, par conséquent, dans ses résidus métaboliques, les IDL et les LDL. L'apoB-100 se lie au rLDL. La mesure de l'apoB-100 est utilisée en clinique et en recherche afin de donner une idée de la quantité de VLDL, IDL et LDL en circulation. Les taux d'apoB-100 à jeun ont été associés au développement des MCV35.

Le taux de sécrétion de l'apoB-100 par le foie est contrôlé à de nombreux niveaux. Les taux d'acides gras libres (FFA) en circulation et captés par le foie jouent un rôle dans la sécrétion de l'apoB-100, car la molécule d'apoB-100 naissante non-lipidée est rapidement dégradée. [19],[20]et [21]

### II.3 Les apoprotéines C

La famille des apo C comprend trois membres de faible poids moléculaire: l'apo CI, l'apo C-II et l'apo C-III. Même si leurs fonctions diffèrent, les trois membres de cette famille partagent la caractéristique de se redistribuer entre les lipoprotéines. En effet, à jeun, la majorité des apo C se retrouvent sur les HDL. Lors de la production de CM par l'intestin ou lors de la production active de VLDL par le foie, les apo C se transfèrent à la surface des TRL. À l'inverse, lorsque le cœur des TRL devient pauvre en TG sous l'action des lipases, les apo C retournent aux HDL. Le foie est le site de synthèse majeur des apo C et l'intestin en synthétise une petite partie.[22]

L'apo C-I est la plus petite des apo C avec un poids moléculaire de 6.6 kDa. L'apo C-I participe au remodelage des HDL en activant la LCAT. L'apo C-II est une protéine de 8.8 kDa. Sa principale fonction est d'activer la LPL, permettant ainsi l'hydrolyse des TG des CM et des VLDL. [23]

L'apo C-III est un peptide de 8.8 kDa et est la plus abondante des apo C dans le plasma humain. Trois isoformes existent dans le plasma, dépendamment du nombre de résidus d'acide sialique présents qui modifient le point isoélectrique de la molécule.

Le rôle exact des différents isoformes dans le métabolisme des lipoprotéines n'est pas encore clair, mais des travaux récents suggèrent que l'apo C-III1 et l'apo C-III2 contribueraient davantage à l'hypertriglycéridémie que l'apo C-III0 et que l'apo C-III2 aurait un rôle à jouer dans la formation des sLDL40.[16]et[18]



## II.4 L'apoprotéine E

L'apo E est un constituant des CM, des résidus de CM, des VLDL, des IDL et de certains HDL, sauf pour les HDL, elle joue un rôle important dans le métabolisme de ces particules en se liant au rLDL. L'apo E est une glycoprotéine de 34.2 kDa et est principalement produite par le foie. Trois isoformes existent couramment dans la population et diffèrent entre elles par le changement d'un seul acide aminé. À la position 112, les apo E3 et E2 possèdent une cystéine, alors que l'apo E4 présente une arginine.

Ainsi, l'apo E4 favorise une augmentation de la cholestérolémie alors que l'apo E2 favorise une augmentation de la triglycéridémie. [24] et [25]

## II.5 L'apoprotéine [a]

L'apo [a] appartient à une famille de protéines impliquées dans la fibrinolyse. Elle est produite par le foie et plus de 95% de l'apo [a] en circulation est associée à une minorité de particules LDL en formant un très fort lien covalent avec l'apoB-100; seule une puissante réduction (qu'on ne peut retrouver en conditions physiologiques) peut briser ce lien. Un des domaines fondamentaux de l'apo [a] est le kringle (du nom d'une pâtisserie scandinave) et ce domaine se retrouve également dans les protéines impliquées dans la fibrinolyse. L'apo [a] est hautement polymorphe et le nombre de kringles varie fortement d'un individu à l'autre. Puisque le kringle est un domaine de 80 acides aminés et que son nombre varie entre 17 et 30 copies selon les individus, cette apo a un poids moléculaire très variable dans la population. L'apo [a] entre en compétition avec le plasminogène pour la lyse des caillots. [26]

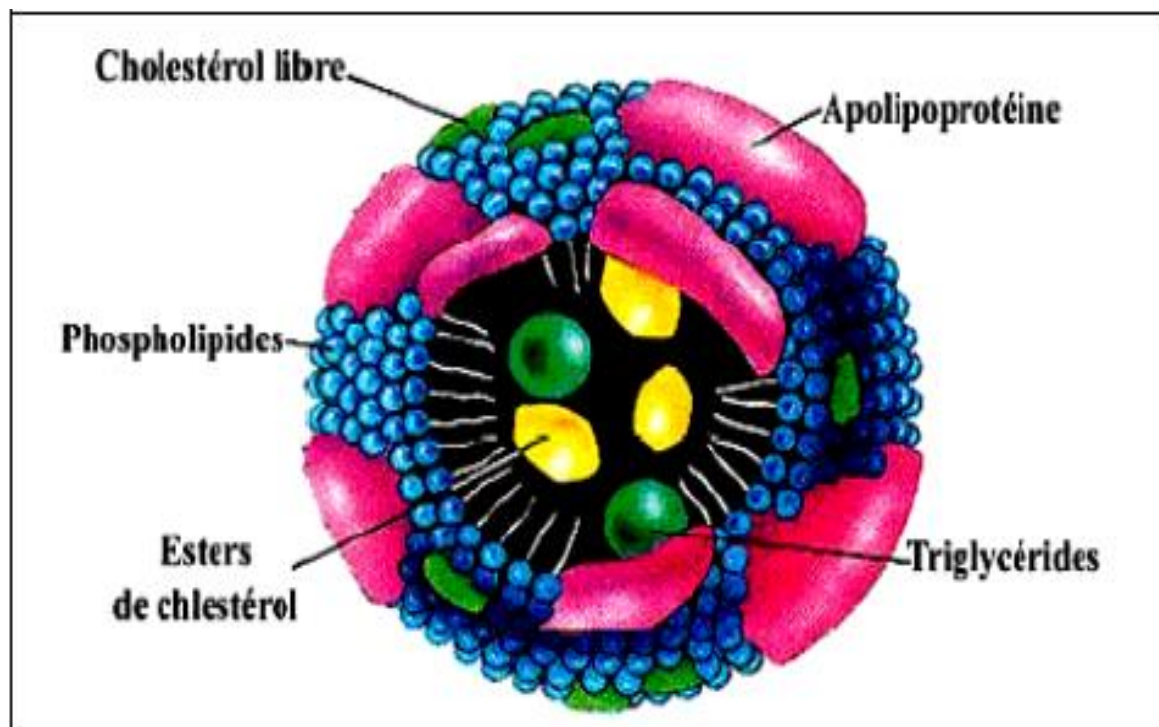
## III. Les lipoprotéines

Comme leur nom l'indique, les lipoprotéines sont composées de lipides et de protéines. Elles sont des particules globulaires de haut poids moléculaire dont la principale fonction est le transport de composés hydrophobes (les lipides) d'un tissu à l'autre, via un milieu hydrophile (le plasma sanguin).

Nous distinguons plusieurs classes de lipoprotéines, qui se différencient sur des bases physico-chimiques (densité, composition) et sur des bases métaboliques. Elles partagent toutes la même structure de base, c'est-à-dire une monocouche de phospholipides (PL) et de cholestérol libre (CL) entourant un cœur fortement hydrophobe composé de TG et d'esters de cholestérol (EC). [27]

Les protéines sont soit fortement liées à la particule et ne peuvent s'en dissocier ou sont faiblement liées et peuvent s'en détacher pour aller s'attacher à d'autres lipoprotéines. Les protéines sont les apo, qui déterminent la fonction et le destin métabolique de la particule, et certaines enzymes, qui agissent sur la particule.

En ordre croissant de densité, nous retrouvons les CM, les VLDL, les IDL, les LDL et les HDL. Les CM et les VLDL sont fréquemment regroupées sous l'appellation de lipoprotéines riches en triglycérides (TRL).[28]



**Figure.03:** Structure des lipoprotéines. [29]

### III.1 Les Chylomicrons

Les CM sont synthétisés par l'intestin et sont responsables du transport des lipides d'origine alimentaire vers les tissus périphériques et le foie. L'apoB-48 est présente en une seule copie et est nécessaire à l'assemblage intracellulaire et à la sécrétion de la particule.

L'apo E est responsable du captage des résidus de CM par le rLDL et le LRP au niveau du foie. L'apo E n'est pas nécessaire pour la captation des résidus par les macrophages des lésions athéromateuses. Les CM produits suite à un repas riche en lipides contiennent typiquement 75-85% de TG, 0.5-2% d'EC, 10-20% de PL (surtout des phosphatidyl cholines), 2% de protéines et 0.5-2% de CL.

L'apo C-II permet à la LPL d'hydrolyser les TG et l'apo A-IV présente facilite cette action. L'apo A-I, l'apo C-III et l'apo A-IV présentes inhibent le captage des résidus par le foie. L'apo C-III a aussi comme rôle d'inhiber la LPL. Les CM sont rapidement transformés en résidus de CM qui présentent environ 30% de la masse originale du CM. [30]

### III.2 Lipoprotéines de très faible densité (VLDL)

Les VLDL sont produites par le foie et servent au transport des lipides depuis le foie vers les tissus périphériques. L'apoB-100 est présente en une seule copie par particule et est absolument nécessaire à son assemblage et à sa sécrétion. Les VLDL contiennent également l'apo E, l'apo C-II et l'apo C-III. Les VLDL sont hétérogènes : la proportion des lipides peut varier d'une particule à l'autre, de même que la composition en apolipoprotéines.

Les TG représentent les principaux lipides présents dans les VLDL avec 55% de la composition du cœur de la particule. [31] et [32]

Les EC sont présents à 12%, le CL à 7%, les PL à 18% et les protéines à 8%. Ces TG ont été nouvellement synthétisés à partir des FFA captés par le foie ou proviennent des différents résidus de lipoprotéines qui ont été retirés de la circulation.

Lorsque la disponibilité des TG est à la baisse, le foie continue de produire des VLDL, mais à un rythme réduit et les VLDL produits sont plus petits et plus denses. [19] et [30]

### III.3 Lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL)

Les IDL sont les résidus métaboliques des VLDL, suite à l'action de la LPL qui a réduit le contenu en TG du cœur de la particule. En conséquence, les apo C, étant hydrosolubles et faiblement attachées aux lipoprotéines, ont alors moins d'affinité pour la particule et s'en détachent pour retourner aux HDL ou aux lipoprotéines plus riches en TG.

Ainsi, les IDL ne contiennent que l'apoB-100 et l'apo E, ce qui les distingue des VLDL et des LDL. Les IDL peuvent être directement captés par le foie ou être converties en LDL par l'action de la HL. Par rapport aux VLDL, les contenus en EC et en protéines sont plus importants (29% et 19%, respectivement), alors que le contenu en TG est à la baisse (23%). Les proportions de CL et de PL demeurent relativement inchangées (9% et 19%, respectivement). [19] et [30]

### III.4 Lipoprotéines de faible densité (LDL)

Les LDL sont les derniers membres de la cascade métabolique des particules contenant l'apoB-100. Ils sont fortement enrichis en EC (42%) et appauvris en TG (6%).

En effet, mêmes si toutes les LDL sont athérogènes, de nombreuses études associent les sdLDL au développement des MCV. Une étude suggère que les grosses LDL ont la même réduction de la capacité de liaison au rLDL que les petites LDL, les LDL de taille moyenne ayant la capacité optimale de liaison au rLDL, probablement à cause de la conformation tridimensionnelle de la molécule d'apoB-100. Les LDL peuvent être caractérisées selon leur densité par ultracentrifugation séquentielle ou analytique ou selon leur taille sur gradient de gel de polyacrylamide. [19],[30] et [31]

### III.5 Lipoprotéines de haute densité (HDL)

Les particules HDL en circulation peuvent être divisées en trois catégories selon leur densité : les HDL naissantes, les HDL2 et les HDL3. Les HDL naissantes ont une forme discoïde stabilisée par les apo. Elles sont sécrétées par le foie et l'intestin et sont dérivées des résidus d'hydrolyse des TRL (CM et VLDL). Leur principal constituant lipidique sont les PL et elles présentent principalement à leur surface l'apo A-I, C-II, C-III et E.

Lors de la maturation des HDL, l'apo E est relâchée vers les TRL et les HDL gagnent l'apo A-II et A-IV, ce qui leur permet d'adopter une forme sphérique. Lors de la production de TRL, les apo C-II et C-III se transfèrent aux TRL et reviennent aux HDL lors de la disparition des TRL. [17] et [30]

### III.6 Lipoprotéines [a] (Lp[a])

La Lp(a) est une lipoprotéine riche en EC qui est associée au développement des MCV et maladies cardiovasculaires. En fait, il s'agit d'une particule LDL modifiée : une molécule d'apo(a) est fixée par un lien disulfure sur la molécule d'apoB-100.

À cause de cette apo supplémentaire, le poids moléculaire et la densité de ces lipoprotéines sont augmentés. L'apo(a) serait synthétisée par le foie indépendamment de la synthèse de l'apoB-100 et serait relâchée en circulation, où elle se grefferait à une LDL.

L'apo(a) se lierait de façon non-covalente à l'apoB-100 des LDL, puis il y aurait formation spontanée du lien disulfure. Ce lien ne peut être défait que par une puissante réduction qu'on ne peut retrouver dans des conditions physiologiques. [30] et [32]

## IV. Le métabolisme des lipoprotéines

### IV.1 Survol du métabolisme des lipoprotéines

Le cholestérol est nécessaire à la rigidité des membranes et à la synthèse des sels biliaires et de certaines hormones, alors que les TG sont une source d'énergie et les phospholipides sont nécessaires aux membranes. Les systèmes de transport existent donc pour s'assurer que les différents tissus obtiennent les lipides dont ils ont besoin.

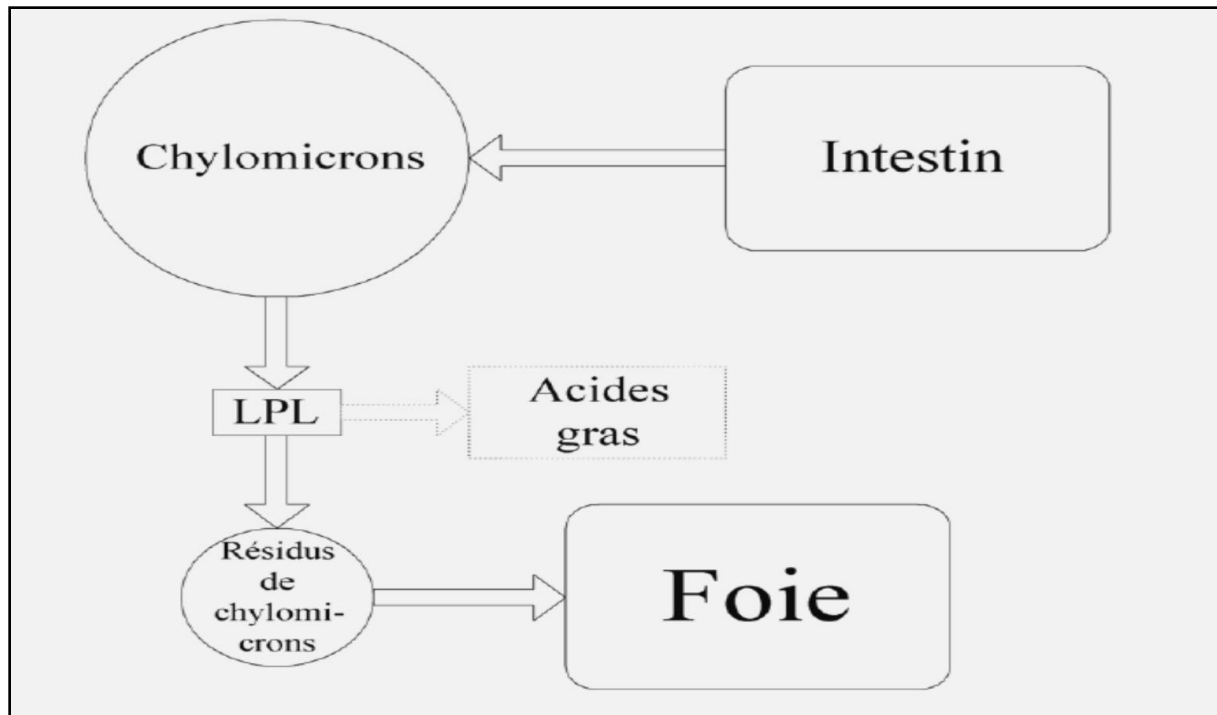
Le métabolisme des lipoprotéines est complexe et fait intervenir de nombreux récepteurs et enzymes. Il peut être divisé en trois parties : la voie exogène (à partir de l'intestin vers les autres tissus), la voie endogène (du foie aux autres tissus) et le transport inverse du cholestérol (des tissus au foie). [33]

#### IV.1.1 La voie des lipides exogènes

La **Figure.04** schématise la voie des lipides exogènes. Sa fonction est d'amener les lipides alimentaires (de provenance exogène) aux tissus pour la production d'énergie, le stockage ou la synthèse de molécules. Les lipides alimentaires sont hydrolysés dans le petit intestin et sont absorbés par les cellules épithéliales intestinales.

Les lipides y seront réestérifiés et seront assemblés à l'aide de l'apo B-48 pour former des CM. L'apo B-48 est nécessaire à la formation des CM et elle est obtenue des premiers 48% de l'apo B-100 par épissage de l'ARN messager. Les CM sont sécrétés dans la lymphe et se retrouvent dans la circulation sanguine. Au niveau des muscles et du tissu adipeux, les TG contenus dans les CM sont hydrolysés en acides gras libres par la lipoprotéine lipase (LPL) pour le stockage ou la production d'énergie. L'apo C-II contenue dans les CM active la LPL, alors que l'apo C-III en diminue l'activité. C'est donc le ratio entre l'apo C-II et l'apo C-III qui déterminera la rapidité à laquelle le CM sera transformé en résidu de CM. Puisque seuls les TG ont été hydrolysés, le résidu sera enrichi en EC et en apo E.

Les résidus de CM sont captés au foie via le R-LDL et la protéine apparentée au R-LDL (LRP). Habituellement, il ne reste que de très bas niveaux de CM en circulation après environ 12 heures suivant un repas. [34],[35]et[36]



**Figure.04:** La voie des lipides exogènes. [34]

#### IV.1.2 La voie des lipides endogènes

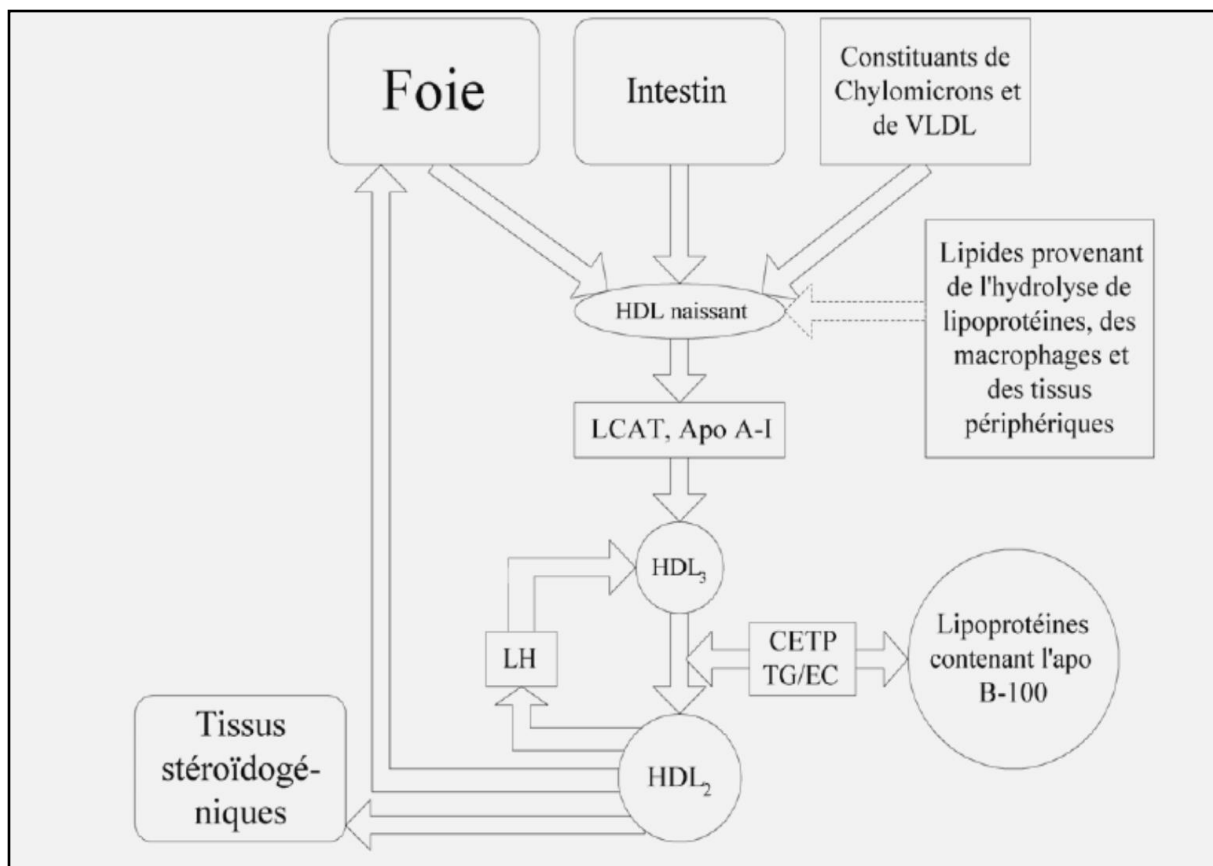
La **figure.05** schématise le transport des lipides endogènes, du foie aux tissus périphériques. Quelques heures suivant un repas, lorsque la quantité de CM en circulation est faible, les besoins en TG des tissus périphériques sont assurés par les lipides synthétisés par le foie ou transitant par celui-ci, qui sont alors acheminés par les VLDL. De la même manière que les CM, les VLDL seront hydrolysées par la LPL dans les capillaires et l'activité LPL sera modulée par le ratio apo C-II/apo C-III. Les acides gras libérés par ces lipases serviront alors de source d'énergie. Les résidus des VLDL, les IDL, subiront l'hydrolyse de leurs TG par l'action de la lipase hépatique (LH), menant ainsi à la particule LDL fortement enrichie en EC. La LH peut aussi hydrolyser les TG restant dans la particule LDL. La lipase endothéliale (LE) est aussi capable d'hydrolyser les TG contenus dans les lipoprotéines contenant l'apo B-100, mais cet aspect de cette lipase n'a été que récemment décrit.

Aussi, en cours de route, les apo des VLDL sont perdues, soit par échange ou soit par libération dans le plasma, et il ne reste alors qu'une seule molécule d'apo B-100, nécessaire au maintien de l'intégrité du LDL. [35]



La HDL reçoit du CL et des EC des autres lipoprotéines lors de leur hydrolyse, mais aussi via le récepteur SR-B1/Cla-1 (présent dans les macrophages, le foie et les tissus stéroïdogéniques) et via le système ABCA-1 (présent dans les macrophages, le foie, les reins, l'intestin et les glandes surrénales). Le CL est alors estérifié par la LCAT. Au fur et à mesure que le HDL reçoit du cholestérol, sa taille augmente, passant de la classe HDL<sub>3</sub> à la classe HDL<sub>2</sub>. Les EC peuvent par la suite être échangés contre des TG entre les HDL et les lipoprotéines contenant l'apo B-100 par l'action de la CETP. Les EC ainsi transférés aux LDL et aux VLDL retourneront alors au foie via le R-LDL.

Le HDL sera capté par un récepteur SR10B1/Cla-1 du foie ou d'un tissu stéroïdogénique auquel il donnera son cholestérol. Il est important de noter que la HDL n'est pas internalisée par SR-B1/Cla-1; après avoir livré ses EC, la HDL se retrouve à nouveau en circulation et redevient disponible pour recevoir des EC. La LH est capable d'hydrolyser les TG contenus dans la HDL. Dans le foie, le cholestérol sera transformé en sels biliaires ou sera directement excrété dans la bile, alors que dans les tissus stéroïdogéniques, le cholestérol sera transformé en hormones stéroïdiennes. [36]



**Figure.06:** *Transport inverse du cholestérol.* [34]



**IV. 2 La protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP)**

La CETP est une glycoprotéine hydrophobe et de masse d'environ 74kDa. Comparativement aux autres protéines plasmatiques et aux apo, cette protéine contient une proportion très élevée d'acides aminés hydrophobes, soit environ 44%.

La CETP est responsable de tous les transferts de lipides neutres dans le plasma (EC, TG et esters de rétinol) et d'une partie des transferts de PL. Dans le plasma, la CETP permet essentiellement le transfert d'EC des HDL vers les lipoprotéines contenant l'apo B-100 (VLDL, IDL et LDL) en échange de TG et, moindrement, d'EC des LDL vers les lipoprotéines riches en TG (TRL) en échange de TG. Il est intéressant de noter que cet échange est approximativement équimolaire. Aussi, plusieurs études ont montré une association entre la CETP et le remodelage des particules LDL. L'ARNm de la CETP est exprimé principalement au niveau du foie, de la rate et du tissu adipeux et il est exprimé à un moindre niveau dans le petit intestin, les reins, les glandes surrénales et le cœur. Chez la plupart des espèces de mammifère, le tissu adipeux est la principale source de CETP, suivi du foie. [37]

# *Chapitre 11*

## I. L'athérosclérose

### I.1 Histoire de la maladie

Vers 1910, Sir M.A. Ruffer découvrit sur des momies que les habitants de l'Égypte antique (de -3000 à J.-C.) souffraient de lésions artérielles histologiquement identiques et probablement de même incidence que celles observées aujourd'hui. On ne sait pas pourquoi cette maladie, avec de telles caractéristiques actuelles, était si commune dans l'ancienne Égypte. La population suivait un régime alimentaire plutôt frugal et végétal – la viande étant un luxe – mais peut-être le stress de la vie quotidienne était-il accablant. Quoiqu'il en soit, ces observations en disent long sur la complexité de l'étiopathogénie de la maladie. [38]

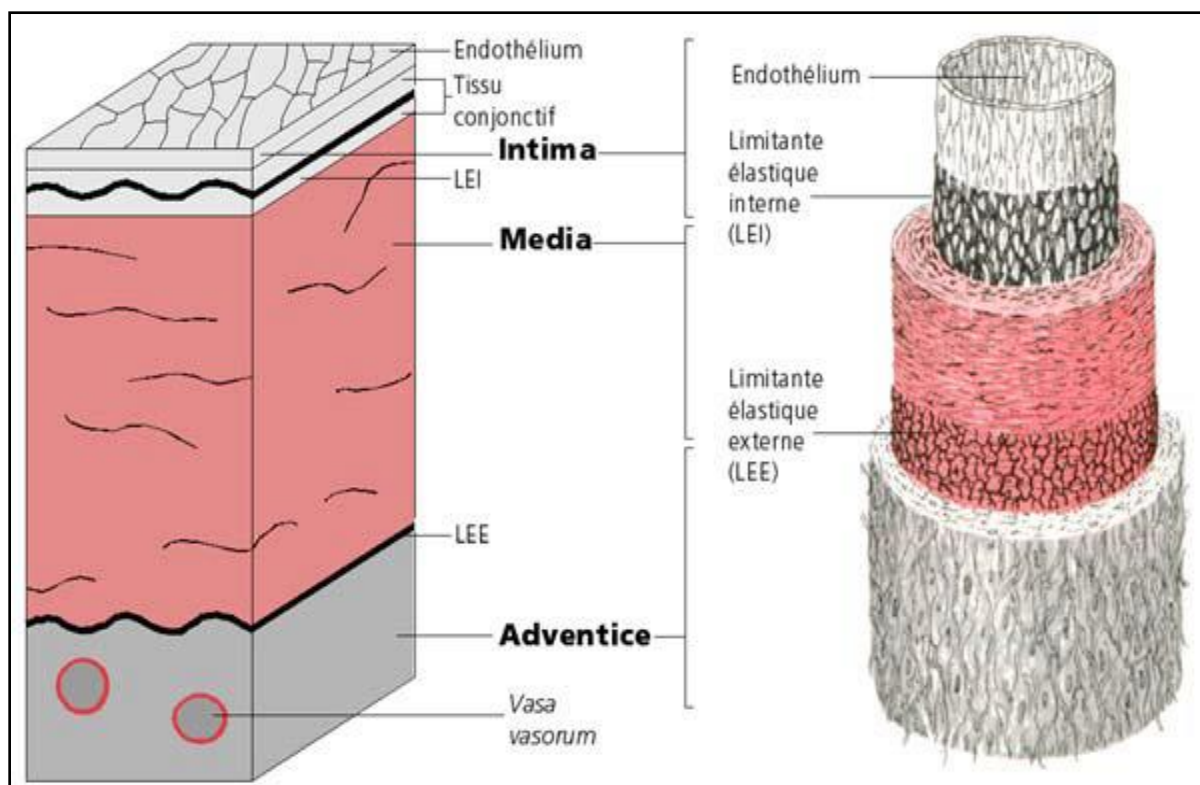
### I.2 Etymologie

Le mot « athérome » est emprunté du latin *ateroma*, lui-même emprunté au grec « tumeur graisseuse ». Le médecin romain Celse (début de l'ère après J.-C.) est le premier à utiliser « athérome » pour désigner la maladie artérielle qu'il observe en *post mortem*. Le sens est conservé jusqu'au XIX<sup>ème</sup> siècle. Puis le mot « athéromatose » apparaît en 1815 lorsque J. Hodgson définit ainsi la dégénérescence graisseuse artérielle. Enfin F. Marchand de Leipzig propose en 1904 le mot « athérosclérose » que nous connaissons aujourd'hui, pour décrire une lésion qui associe sclérose intimale et dégénérescence graisseuse. [39]

### I.3 Rappel sur la structure artérielle

Les artères répondent toutes à un modèle commun d'organisation. Leur paroi est constituée de trois tuniques qui, de l'intérieur vers l'extérieur, sont : l'intima, la media et l'adventice. L'intima est la tunique la plus interne et la plus fine, constituée d'une couche unique de cellules endothéliales et d'une couche sous-endothéliale de tissu conjonctif : la limite élastique interne, où se développe l'athérosclérose. La media est la tunique moyenne, plus épaisse, constituée essentiellement de cellules musculaires lisses.

La limite élastique externe sépare la media de l'adventice. L'adventice est la tunique externe, constituée d'un tissu conjonctif peu organisé. Elle est irriguée par des *vasa vasorum* qui ont un rôle nourricier pour l'adventice elle-même et pour la partie externe de la media. [40] (Figure. 07)



**Figure.07:** Schéma général de la structure artérielle.[41]

#### I.4 Histoire naturelle de la maladie humaine

L'athérogenèse commence dès la tendre enfance (**Figure.08**) : des stries lipidiques peuvent être observées chez des nouveaux nés. Les mêmes stries lipidiques peuvent être constatées dans les artères coronaires une dizaine d'années plus tard. Ces stries lipidiques évoluent lentement en zones d'infiltration de l'intima par des macrophages remplis de lipides (esters de cholestérol surtout) qui deviennent des cellules spumeuses. Avec le temps, on retrouve au niveau de ces zones trois principaux éléments : cellules spumeuses, cellules musculaires lisses (CML) et lipides extracellulaires. A la puberté, environ 65% des adolescents présentent une accumulation substantielle de cellules spumeuses et de CML.

L'étendue des stries lipidiques augmente à partir des deuxième et troisième décennies de la vie puis régresse au fur et à mesure que des lésions plus avancées prédominent. L'athérome prévaut vers 30 ans, caractérisé par de larges zones de lipides extracellulaires qui peuvent déformer l'architecture cellulaire normale.[42]

Quoiqu'il en soit, après 30 ans, les plaques fibreuses d'athérosclérose, distinctes de l'athérome par leur chape fibromusculaire, prédominent. Ces plaques commencent à se compliquer par de la nécrose, des ulcérations, des thromboses, des hémorragies et une minéralisation. Après 40 ans, les manifestations cliniques de l'athérosclérose apparaissent : infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral (AVC), gangrène des extrémités. Elles sont liées à des ruptures ou des érosions de la plaque responsables d'hémorragies et de l'occlusion thrombotique d'une artère. [43]

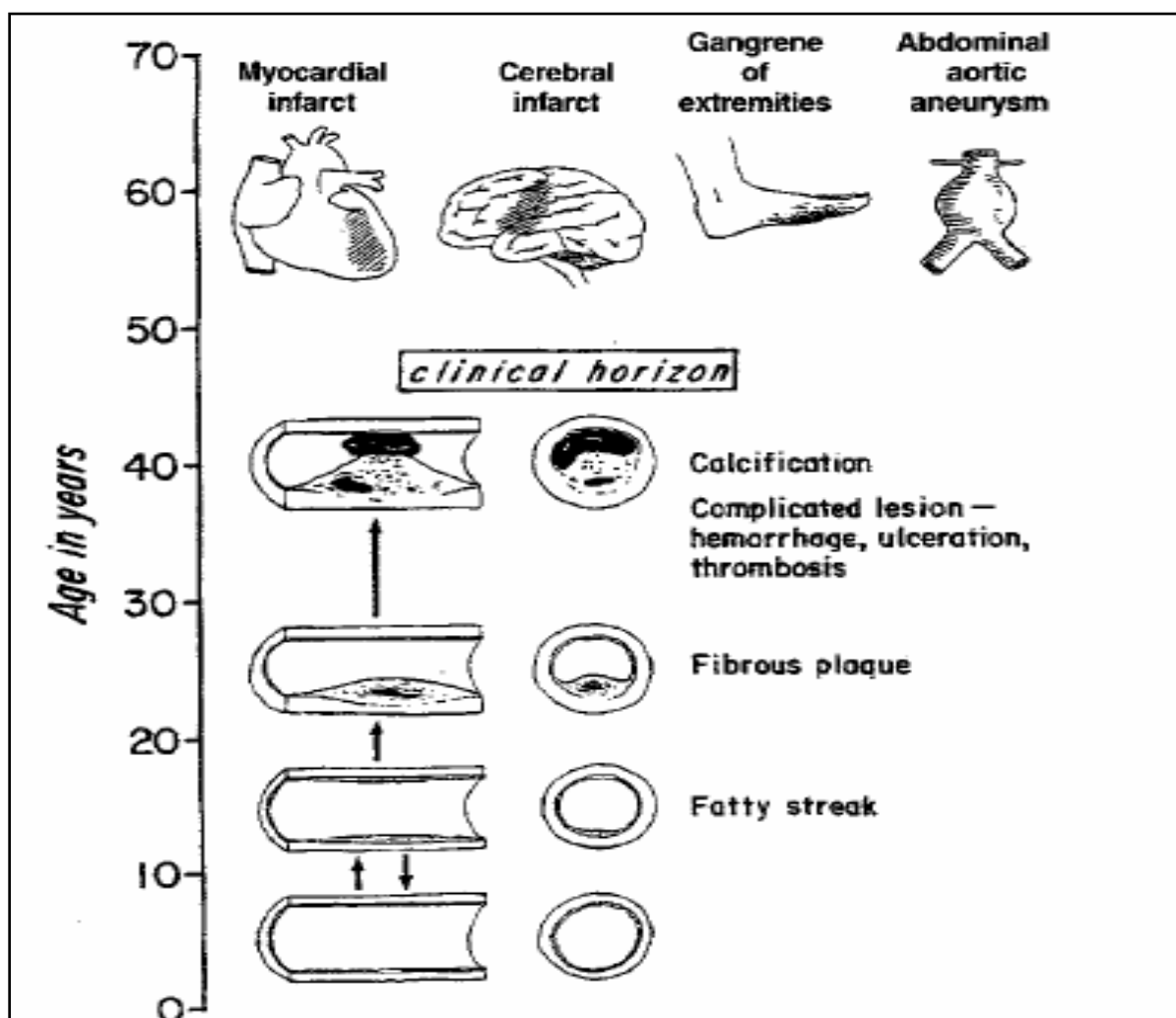
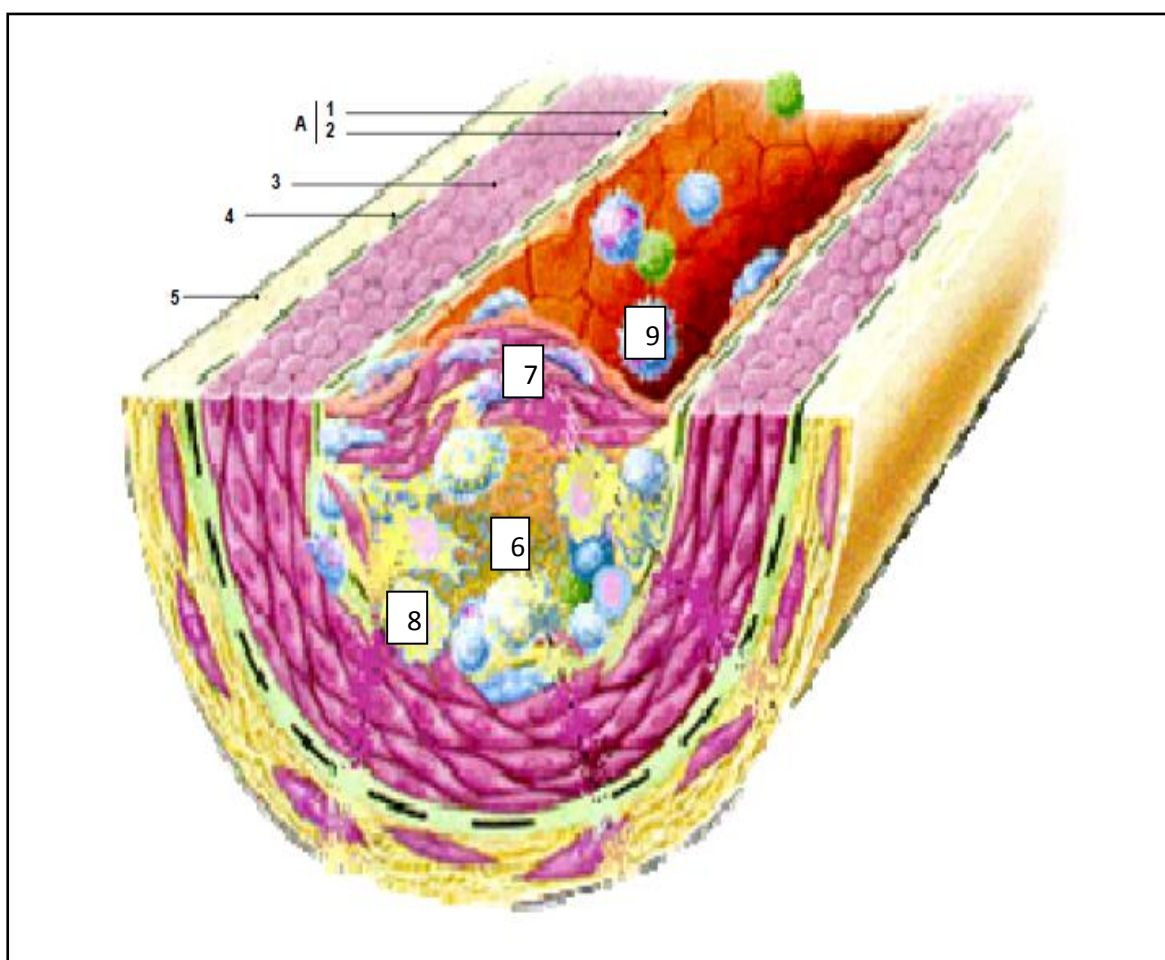


Figure.08: Histoire naturelle de l'athérosclérose. [42]

### I.5 Définition et composition

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des artères de moyen et grand calibre, caractérisée par une accumulation de lipides amorphes dans l'espace sous-endothélial, lesquels sont contenus sous une chape fibromusculaire. L'ensemble dépôt lipidique - chape forme une plaque responsable d'une sténose plus ou moins importante de la lumière vasculaire. La plaque d'athérosclérose se compose principalement de matrice extracellulaire, de lipides et de cellules, notamment de macrophages, lymphocytes T, cellules endothéliales et cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). [44](Figure.09)



**Figure .09** :Schéma de la structure d'une plaque d'athérosclérose

A. Intima 1. Endothélium, 2. Membrane limitante interne 3. Media  
4. Membrane limitante externe 5. Adventice 6. Noyau lipidique 7. Chape  
fibromusculaire (CML) 8. Cellule spumeuse 9. Monocyte. [43]

## I.6 Formation

L'étiologie de cette maladie n'est pas claire et les étapes de son développement sont complexes et intimement intriquées.

### I.6.1 Activation endothéliale

Au niveau des bifurcations artérielles, les turbulences du flux sanguin exercent des forces de cisaillement qui activent l'endothélium. Les cellules endothéliales activées expriment alors des molécules d'adhésion cellulaire (CAMs) de la famille des sélectines (E- et P-sélectines) lesquelles favorisent le chimiotactisme des monocytes et lymphocytes sanguins.

La paroi stressée perd également ses propriétés athéroprotectrices naturelles, principalement par diminution de la synthèse du monoxyde d'azote (NO). Il existe aussi des facteurs de risque aggravant les contraintes rhéologiques : hypertension artérielle, hypercholestérolémie, diabète sucré, obésité, tabagisme, infections. [44]

### I.6.2 Infiltration lipidique

L'activation de l'endothélium entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire. Ceci favoriserait l'infiltration de lipides dans l'espace sous endothélial. Les lipides et les LDL (Low Density Lipoproteins), retenus sous l'effet d'interactions ioniques lipoprotéines / protéines matricielles, subissent alors des modifications oxydatives (oxLDL) et/ou enzymatiques. [45]

### I.6.3 Composante inflammatoire

Les oxLDL sont reconnus par des récepteurs de l'immunité naturelle à la surface des macrophages : Scavenger Receptors (SR) et Toll Like Receptor (TLR). Les macrophages ainsi activés sécrètent des cytokines chémoattractives pour les monocytes sanguins et se transforment en cellules spumeuses.

Les lymphocytes T, eux aussi recrutés au sein de la plaque, sont stimulés par les macrophages. Ils sécrètent des cytokines de type 1 (IFN $\gamma$ , IL1 et TNF $\beta$ ) qui, de même que l'excès lipidique des cellules spumeuses, déclenchent l'apoptose des macrophages. Un centre nécrotique se constitue ainsi. Les médiateurs et les radicaux libres libérés par les macrophages apoptotiques contribuent à l'entretien et à l'amplification de l'inflammation. [46]

### I.6.4 Capsule fibreuse

L'endothélium activé et les cellules inflammatoires commandent la différenciation des CMLV de la *media* en cellules sécrétrices. Elles migrent vers l'*intima* où elles prolifèrent et sécrètent des protéines matricielles, constitutives d'une chape de CMLV et de collagène qui « enkyste » et stabilise la lésion. [47]

### I.6.5 Sclérose

Les plaques avancées présentent une calcification dystrophique à base d'hydroxyapatite et d'une matrice organique de collagène de type I et de NCPs (Non Collagen Bone-associated Proteins). La calcification rend la plaque rigide, peu déformable et susceptible de se rompre. [45] et [46]

## II. L'athérombose

### II.1 Rupture de la plaque

La plaque d'athérosclérose évolue en se fragilisant jusqu'à se rompre. Les macrophages activés sécrètent des protéases, en particulier les MMPs (Matrix Metalloproteinases) qui lysent les éléments matriciels de la chape et l'amincissent localement. On parle de « plaque vulnérable ». L'importance du noyau lipidique et de l'apoptose, l'amincissement local de la chape (épaisseur < 65 µm, chez l'homme), l'étendue de la néovascularisation (à partir du *vasa vasorum*) et la présence d'hémorragie intra plaque caractérisent une plaque vulnérable.

Un deuxième facteur influe sur la rupture, il s'agit des forces physiques exercées sur la plaque, fonction de sa géométrie et des perturbations locales du flux sanguin. [48]

### II.2 Complications thrombotiques

#### II.2.1 La thrombose

La rupture d'une plaque vulnérable conduit dans 70% des cas à la formation d'un thrombus *in situ*. Le thrombus peut être sub-occlusif à occlusif aigu, entraînant alors une manifestation clinique ; sinon il peut être mural asymptomatique. [49]



### II.2.2 Scénario thrombogène

Il est admis que la rupture expose le contenu thrombogène de la plaque aux plaquettes sanguines. Du collagène de type I et III, du Facteur Tissulaire (FT), des oxLDL et du facteur von Willebrand (vWF) sont ainsi extériorisés. Certains facteurs systémiques pro-thrombogènes interviennent également, entre autres, le TF circulant et certains facteurs de risque. [50],[51]et[52]

### II.3 Imprédictibilité de l'athéromatose

Chez l'homme, l'opportunité d'étudier les facteurs responsables d'accidents vasculaires est limitée car l'angiographie coronaire réalisée avant les événements ne saurait identifier préventivement les plaques susceptibles de se rompre. Après l'accident, la coronographie ne peut pas distinguer non plus les plaques rompues des plaques intactes. [53]

L'autopsie fournit des informations détaillées sur la rupture. On ne sait donc pas prédire lorsqu'une plaque d'athérosclérose va entraîner une thrombose. L'abondance des facteurs intrinsèques (composition, géométrie) et extrinsèques (flux sanguin, facteurs de risque) à la plaque sont des éléments de variabilité individuelle de la maladie. Certaines contradictions existent : une thrombose coronaire peut survenir sans rupture (30% font suite à une érosion de la plaque et la rupture d'une plaque ne conduit pas systématiquement à l'occlusion thrombotique de l'artère. De plus, il est clair que la prévention secondaire de l'infarctus reste insuffisante. D'où la nécessité de mettre au point un modèle animal, pour comprendre les mécanismes de la thrombose à partir de la rupture d'une plaque, dans l'espoir d'identifier des marqueurs de prédictibilité et des nouvelles cibles thérapeutiques. [54]

## III. La formation et l'évolution de la plaque athéromateuse chez l'homme

### III.1. Description et gradation de la maladie athéromateuse

La plaque d'athérome a été traditionnellement divisée en 3 catégories selon les caractéristiques morphologiques et la chronologie de la lésion.

### III.1.1 La strie lipidique :

Correspond au stade précoce de la maladie : elle est présente dans l'enfance. L'examen macroscopique montre des bandes jaunes à la surface de l'intima au niveau de bifurcation artérielle. L'examen histologique montre des lymphocytes T et des macrophages riches en lipide : les cellules spumeuses « *foam cells* ». [55]

### III.1.2 La lésion fibrolipidique :

C'est l'étape suivante. On retrouve à l'examen histologique une alternance de couches cellulaires de macrophages et lymphocytes T intercalées avec des couches de CML. L'ensemble est entouré d'une Matrice Extra Cellulaire riche en collagène, fibres élastiques et protéoglycanes. [56]

### III.1.3 La plaque fibreuse :

C'est le stade avancé de la maladie. On retrouve à l'examen macroscopique une réduction du diamètre interne de l'artère provoquant des symptômes cliniques. Il existe un « cœur lipidique » entouré d'une coque fibreuse composée d'un nombre plus ou moins important de CML et de tissu conjonctif principalement représenté par le collagène. Les lésions avec une coque fibreuse épaisse et dense ont tendance à être stables alors que les plaques ayant une coque irrégulière et fine sont jugées instables. [57]

## III.2 Anatomopathologie de l'athérosclérose humaine

En 1995, l'American Heart Association (AHA) a proposé une graduation des lésions athéromateuses humaines basée sur les données histologiques et structurales des plaques. (figure.11)

### III.2.1 Lésions de type I : ou lésions initiales

Ce sont des lésions microscopiques, présentes essentiellement chez les enfants et les adolescents, mais que l'on peut aussi retrouver chez les adultes résistants à l'athérosclérose. Elles sont caractérisées par une infiltration, dans l'intima, de cellules spumeuses d'origine macrophagique. Ces macrophages spumeux isolés sont en petit nombre et ne peuvent être détectés qu'à l'examen microscopique de l'artère. L'accumulation de ces cellules macrophagiques dans l'intima va induire une augmentation nette de l'adhésion de monocytes à l'endothélium et favoriser l'évolution vers le stade II de ces lésions. [58] et [59]

### III.2.2 Lésions de type II : ou stries lipidiques

Contrairement aux lésions de type I dans lesquelles les macrophages spumeux représentent des cellules isolées, les lésions de type II se caractérisent par une accumulation, dans la couche sous-endothéliale de l'intima, des macrophages spumeux, en petit amas, formant des lésions visibles macroscopiquement : les stries lipidiques. En plus des macrophages, certaines cellules musculaires lisses contiennent aussi des dépôts lipidiques, mais les cellules spumeuses d'origine macrophagique prédominent par rapport aux cellules musculaires lisses.

Quelques lymphocytes T sont également détectés dans ces lésions. Les lipides présents sont surtout à l'intérieur des cellules et sont essentiellement de trois types, esters de cholestérol (77 %), cholestérol et phospholipides. Une très faible quantité de lipides se retrouve parfois dispersée à l'extérieur des cellules mais les lésions de type II se caractérisent plutôt par l'absence de lipides extracellulaires.

Ces lésions sont recouvertes par un endothélium qui peut être facilement caractérisé par des marqueurs immunohistochimiques (facteur von Willebrand, CD34). Deux types de lésions de type II sont distingués. Les lésions de type IIa, les plus rares, vont donner naissance aux lésions de type III.

Elles sont caractérisées par la présence de plusieurs couches superposées de cellules musculaires lisses. Les lésions de type IIb contiennent peu de cellules musculaires lisses, ne progressent pas ou progressent seulement chez des sujets avec une concentration plasmatique très élevée de lipoprotéines athérogènes. Ces lésions initiales (type I et II) peuvent être observées avec une incidence élevée, proche de 50 %, chez les sujets de 1 an. Leur fréquence diminue durant l'enfance, puis augmente de nouveau à l'adolescence pour toucher deux tiers des sujets dans la tranche des 10-15 ans.

Leurs potentialités d'évolution vers des lésions de type II dépendront des taux de lipoprotéines plasmatiques et de l'évolution de la tension artérielle. [58]

### III.2.3 Lésions de type III : ou préathéromateuses

Les lésions de type III sont des lésions intermédiaires entre les lésions de type II et les lésions évoluées de type IV. Irréversibles, elles apparaissent entre 10 et 20 ans chez l'homme.

Histologiquement, elles sont caractérisées par des gouttelettes lipidiques extracellulaires, visibles au microscope.

Ces dépôts lipidiques extracellulaires sont identiques aux rares dépôts observés dans les lésions de type II. Mais ils sont plus nombreux et plus localisés.

Ils sont présents à proximité des multicouches de macrophages et de macrophages spumeux, ils remplacent la matrice extracellulaire de protéoglycanes et les fibres et repoussent les cellules musculaires lisses en position intinale. Comme dans les lésions de type II, de nombreuses cellules musculaires lisses intinales contiennent des gouttelettes lipidiques. À ce stade, le core lipidique, caractéristique des lésions évoluées et formé par une accumulation massive et bien délimitée de lipides extracellulaires, n'est pas encore développé. Ces lésions restent toujours infracliniques.

Les lésions évoluées, constituées des lésions de type IV, V et VI, sont des lésions qui entraînent une diminution de la lumière artérielle du fait de l'augmentation de l'épaissement intimal. À ce phénomène de réduction du calibre artériel peuvent se rajouter différents processus comme la rupture de plaque, les hémorragies intraplaques, la formation de thrombus pariétaux qui vont accélérer l'évolution de la lésion. [58] et [59]

#### III.2.4 Lésions de type IV ou athéroma

Ces lésions présentes chez l'homme de 20 à 30 ans, sont caractérisées par une augmentation des pools de vésicules lipidiques extracellulaires. Ceux-ci atteignent la confluence et fusionnent pour former le core lipidique. Ce centre lipidique ou centre athéromateux apparaît comme une zone de moindre cellularité. Celui-ci précède la formation du tissu fibreux et désorganise profondément la structure de l'intima.

Les cellules musculaires lisses et les fibres de la matrice extracellulaire sont très dispersées par les particules lipidiques. Des dépôts de calcium apparaissent, ainsi que des capillaires qui bordent le core lipidique.

Les macrophages, les cellules spumeuses macrophagiques et les lymphocytes sont plus concentrés à la surface de la lésion, mais la zone entre le core lipidique et la surface endothéliale reste la couche de protéoglycanes du sous-endothélium normal, même si elle est infiltrée par des cellules inflammatoires et des cellules gorgées de lipides.

Ces lésions vont pouvoir évoluer soit vers la plaque fibreuse (type V), soit vers la plaque rompue (type VI). [58] et [59]

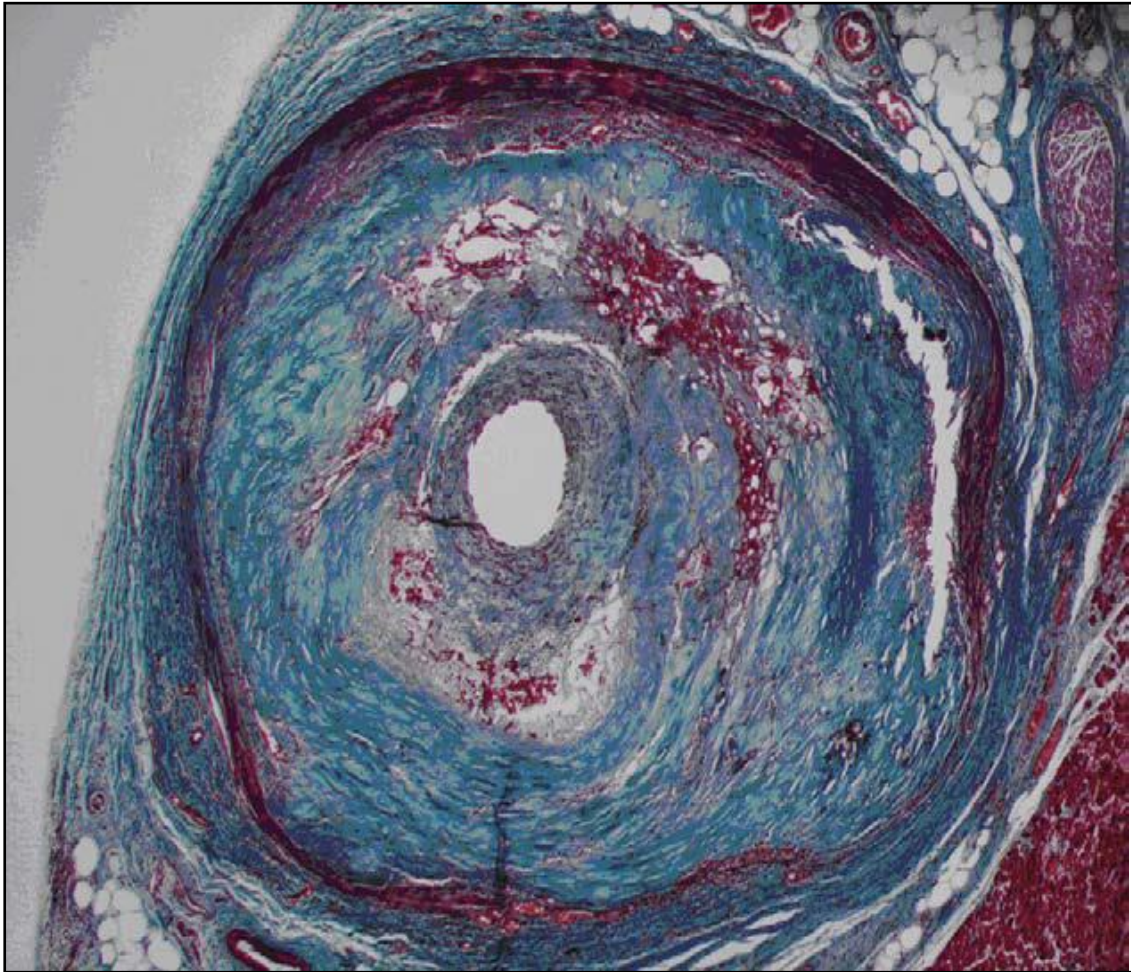
### III.2.5 Lésions de type V :ou fibroathéromateuses

La lésion de type V et la lésion typique d'athérosclérose correspondent à la définition de l'OMS. Ces lésions apparaissent après 40 ans. Elles sont caractérisées par la production de tissu fibreux dans l'intima. Le tissu fibreux est riche en fibres de collagène et en cellules musculaires lisses riches en réticulum endoplasmique granuleux. Ce tissu fibreux qui entoure le centre nécrotique forme la chape fibreuse.

Cette lésion peut être caractérisée par plusieurs centres lipidiques recouverts par une épaisse chape fibreuse. Elle correspond à une lésion de type Va et peut présenter des calcifications qui s'accumulent de façon préférentielle dans les centres nécrotiques. La chape fibreuse est toujours très présente. Ce sont les lésions de type Vb.

Enfin, la lésion peut être essentiellement fibreuse ; la réaction fibrotique constituée de cellules musculaires lisses et de matrice extracellulaire domine la lésion, le centre nécrotique et les cellules inflammatoires et les lipides disparaissant de ce type de lésion. Ce sont des lésions de type Vc.

Ces lésions de type V entraînent généralement une sténose artérielle, sans retentissement pour un vaisseau comme l'aorte, mais capables d'induire une sténose significative pour des artères comme les coronaires ou les artères carotidiennes [58] et[59](Figure.10).



**Figure.10:** Lésion d'athérosclérose de type V ou lésion fibroathéromateuses d'une artère coronaire humaine (coloration trichrome Masson, amplification :  $4 \times 10$ ). [59]

### III.2.6 Lésions de type VI: dites compliquées

La survenue de la plaque compliquée est une étape importante dans l'évolution de l'athérosclérose, car elle va être responsable de la grande majorité des événements aigus. Elle survient généralement après 40 ans. Ces lésions suivent les lésions de type IV ou V et peuvent présenter plusieurs aspects.

Les lésions de type VIa se caractérisent par l'apparition de fissures à la surface de la lésion. Les lésions de complications peuvent se limiter à une simple perte de la couche endothéliale. Les fissures peuvent également être superficielles, correspondant aux lésions récemment décrites d'érosion des plaques avec une simple perte de substance superficielle.

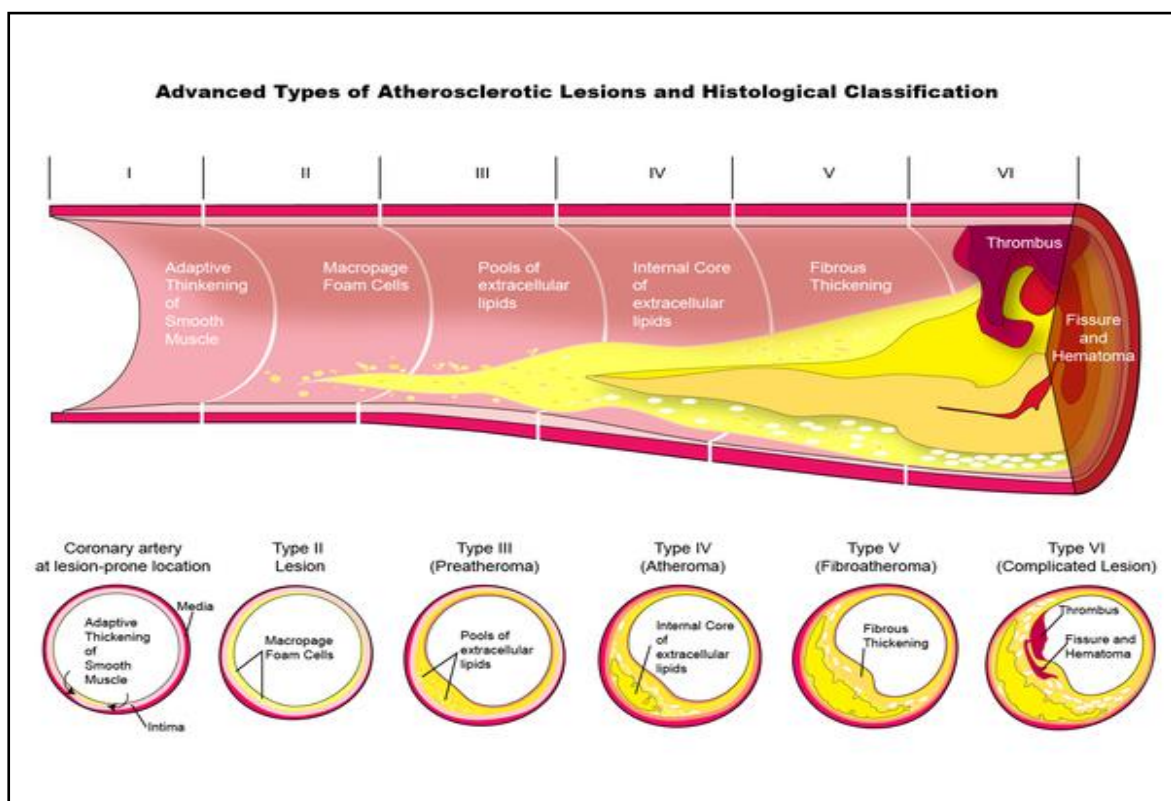
Mais la fissuration peut être plus profonde, atteignant le centre nécrotique permettant le relargage de gouttelettes lipidiques dans le sang circulant, emportant parfois la totalité de la plaque, et perforant de façon exceptionnelle la média pour donner des faux anévrysmes.

Les lésions de type VIb se caractérisent par l'apparition d'une hémorragie ou d'un hématome intraplaque. [60]

La survenue de ces hémorragies se produit essentiellement à partir de la rupture de néovaisseaux sous l'effet des contraintes hémodynamiques.

Les lésions de type VIc se caractérisent par l'apparition d'une thrombose. Le contact du sang circulant avec le sous-endothélium et le contenu du centre nécrotique permet l'initiation du processus thrombotique avec l'adhésion et l'agrégation des plaquettes sanguines et la formation d'un thrombus pariétal. Si la thrombose survient dans des artères de moyen calibre, elle peut être rapidement occlusive. [61]

Cela est exceptionnel dans les artères de gros calibres. Dans le cas contraire, en l'absence de thrombus occlusif, l'incorporation dans la plaque athéroscléreuse du thrombus qui suit la fissuration de la plaque va contribuer au resserrement de la lumière artérielle et à l'évolution de la plaque. [62] ; [63]et[64]



**Figure.11:** Classification des lésions athéromateuses selon AHA(1995).

## IV. Eléments cellulaires au cours de l'athérosclérose

### IV.1 Les cellules endothéliales

La dysfonction des cellules endothéliales est un événement initial conduisant à la formation de la plaque athéromateuse. Les cellules endothéliales ont plusieurs fonctions incluant la régulation de la coagulation, le contrôle de la perméabilité et l'échange de fluide et/ou molécules entre le plasma et la paroi artérielle. Le tonus vasculaire est modulé par la production et la sécrétion d'oxyde nitrique (NO), prostacycline (PGI<sub>2</sub>), endothéline et d'angiotensine II par l'endothélium. Les cellules endothéliales produisent et secrètent également un nombre important de facteurs de croissance et de cytokines.

La dysfonction endothéliale apparaît précocement au cours de l'athérogénèse malgré l'absence de rupture de l'intégrité de l'endothélium. Une de ces manifestations est l'atteinte du transport du LDL-oxydé à travers l'endothélium aboutissant à l'accumulation de LDL-oxydé en sous-intimal. Ces LDL-oxydés altèrent le métabolisme du NO induisant une vasoconstriction anormale et une augmentation de l'adhérence et de l'agrégation plaquettaire à la surface endoluminale de l'endothélium. [65]

Au stade précoce de l'athérosclérose, on observe une production importante par les cellules endothéliales de molécules d'adhésion inter cellulaire telles que ICAM-1, Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) et Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecule (PECAM). Ces molécules favorisent l'adhérence de cellules inflammatoires telles que lymphocytes et monocytes, ainsi que les plaquettes à la surface de l'endothélium. [66]

Sous stimulation, les cellules endothéliales secrètent de nombreuses cytokines et facteurs de croissance tels que Platelet-derived Growth Factor (PDGF), basic Fibroblast Growth Factor (FGF), Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF $\beta$ ), Insulin-like Growth Factor I (IGF-1) et l'Interleukine 7 (IL7). L'ensemble aboutit à l'attraction et à la prolifération de CML et de cellules inflammatoires. [67]

### IV.2 Les macrophages

Les macrophages sont observés au stade précoce de la maladie athéromateuse. Leur rôle normal est la présentation antigénique aux lymphocytes T. Ils sont issus de l'adhérence des monocytes circulants du sang à la surface de l'endothélium puis à leur migration dans l'espace sous endothélial où ils se différencient en macrophages. En phagocytant le LDL oxydé, ils se transforment en cellules spumeuses (ou *foam cells*).



Ainsi activées, elles produisent des cytokines stimulant les cellules endothéliales à produire plus de chémoattractant vis à vis des monocytes circulants du sang. L'ensemble aboutit à un rétrocontrôle positif. Parmi les facteurs de croissance et cytokines produites par les *foamcells*, on retrouve Monocyte Colony-Stimulating Factor (M-CSF), Granulocyte-Monocyte CSF (GM-CSF), PDGF, Epidermal Growth Factor (EGF), FGF, TGF, Vascular Endothelial Cell Growth Factor (VEGF), Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1). [65]

### VI.3 Les lymphocytes T

Malgré la présence de lymphocytes T au sein des plaques athéromateuses, leur rôle reste non élucidé. Ces cellules produisent des chémo-attractants et des cytokines, tels Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interféron- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), GM-CSF et IL-2, capables de stimuler et d'activer les CML et les macrophages au sein de la plaque. La présence de lymphocytes polyclonaux de type CD4 et CD8 suggère une part immunologique dans la genèse de l'athérosclérose ; ces lymphocytes T sont présentes sous forme activées car elles expriment un taux élevé de Récepteur à l'IL2 et IFN- $\alpha$ . [70] De plus, l'initiation et la progression de la maladie athéromateuse pourraient être dues en partie à l'activation du complément. Cette activation du complément se fait par la voie classique, par dépôt de complexe immun au sein de la paroi artérielle ou par création d'un complexe anticorps-antigène, ou par une autre voie indépendante des anti-corps. Le cholestérol est un activateur potentiel du complément.

Cette activation du complément aboutit à la production de molécules pro-inflammatoires telles que C5a et C3a, modifiant la perméabilité membranaire et activant le recrutement des leucocytes, ainsi que la production de MAC (Membrane Attack Complex). Ce dernier, dont la présence au sein de la coque fibreuse de la plaque a déjà été démontrée (Rus et al 1986), stimule la production et la sécrétion de nombreux facteurs de croissance tels que FGF, PDGF, MCP-1, de cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-8) ou de molécules d'adhésion (P-selectine, ICAM-1) par les CML et les cellules endothéliales. [69]

#### **IV.4 Les Cellules Musculaires Lisses (CML)**

Elles sont normalement localisées au niveau de la média. Au cours de l'athérogenèse, il existe une migration des CML dans l'intima provoquant un épaissement de celle-ci.

Cette migration est sous le contrôle d'au moins 20 différents chémo-attractants sécrétés par les cellules endothéliales, les plaquettes, les macrophages et les CML eux-mêmes.

La prolifération des CML au sein de l'intima participe au rétrécissement de la lumière artérielle au cours de l'athérosclérose. On retrouve 2 phénotypes. La forme « contractile » où les cellules sont riches en myofilaments dans le cytosol ; elles régulent le tonus pariétal de l'artère. Après stimulation, ces cellules peuvent se transformer en un phénotype « sécrétant », où il existe une disparition des myofilaments au profit d'un important réticulum endoplasmique et d'appareil de Golgi. Ce phénotype est capable de produire et de sécréter une grande quantité de cytokines, de facteurs de croissance ainsi que des éléments de MEC dont le collagène. [70]

#### **IV.5 Les Plaquettes**

L'adhésion et l'agrégation plaquettaire apparaissent au stade précoce de l'athérosclérose. Outre la formation de thrombus directement responsable des complications thrombo-emboliques au cours de l'athérosclérose, les plaquettes produisent des facteurs de croissance et des molécules vaso-actives telles que PDGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , EGF, IGF-1, Thromboxane A<sub>2</sub>, sérotonine et les P-sélectine.

Ces molécules sont responsables du recrutement et de l'activation des CML et des leucocytes. L'importance des plaquettes au cours de la formation de l'athérosclérose a été démontrée par des expérimentations *in vivo*. Des modèles expérimentaux chez le lapin et le cochon ont montré que la création de thrombopénie ou la mutation du facteur von Willebrand diminuaient la formation d'athérome après régime riche en cholestérol. [71]

### **V. Les facteurs de risque cardio-vasculaires**

Le traumatisme de la cellule endothéliale joue un rôle pivot dans le développement de la maladie athéromateuse. L'ensemble des facteurs de risques cardio-vasculaires sont intriqués dans la pathogénie de ces traumatismes.

### **V.1 Le tabac**

Même si le tabac est un facteur de risque indépendant indiscutable de l'athérosclérose, son mode d'action reste obscur. La fumée de cigarette ainsi que la nicotine provoquent un gonflement des cellules endothéliales associé à la formation de bulles, un œdème sous endothélial, un élargissement des jonctions entre les cellules endothéliales et un épaississement de la membrane basale de l'endothélium. La nicotine stimule l'apoptose des cellules endothéliales avec une diminution de la réplication. Outre son action directe sur l'endothélium, la nicotine élève le taux plasmatique des lipoprotéines de façon réversible à l'arrêt de l'intoxication, stimule la production de prostaglandine qui crée un déséquilibre entre les prostacyclines et le thromboxane A<sub>2</sub>. Ce déséquilibre stimule l'agrégation et l'adhérence plaquettaire à la surface de l'endothélium. Le tabagisme inhibe aussi la production de NO modifiant la vasomotricité, la prolifération des VCML et l'adhésion des plaquettes et des macrophages. [72]

### **V.2 Facteurs hémodynamiques : hypertension et force de cisaillement**

L'analyse de l'endothélium des patients hypertendus montre un œdème des CE, une prolifération des CML, un épaississement de la membrane basale, une accumulation de fibrine dans l'espace sous-endothélial et une accumulation de fibronectine au niveau de la MEC. Il existe aussi une augmentation des taux de PDGF et de TGF- $\beta$  favorisant ainsi la prolifération des CML et une altération du métabolisme du NO probablement liée à une insensibilité des CE des patients hypertendus à l'acétylcholine. De plus la sévérité de la dysfonction des CE semble liée au degré de la pression artérielle et cette dysfonction est le résultat de l'hypertension et non la cause. L'athérosclérose s'observe spécifiquement dans les vaisseaux directement soumis à la pression artérielle, et ainsi ne s'observe dans les veines lorsque celles-ci sont « artérialisées » au cours de la réalisation des pontages artériels. De plus, l'athérome s'observe plus spécifiquement au niveau des bifurcations artérielles ainsi que sur les plicatures suggérant que les forces hémodynamiques ont un effet direct sur l'athérogenèse. Les zones à faible force de cisaillement telles que la bifurcation carotidienne sont des zones de prédilection pour le développement des plaques d'athérome. [73]

### V.3 Hyperlipidémie

L'action délétère des lipoprotéines se fait par l'oxydation du LDL cholestérol après sa capture par les CE. La forme oxydée du LDL cholestérol inhibe la sécrétion de NO et stimule la production de cytokines et de facteurs de croissance. De plus, cette forme est chémo-attractante pour les monocytes et stimule leur adhésion à la surface des CE. [74]

### V.4 Diabète

Une étude a montré la mauvaise relaxation des artères de patients diabétiques. Il existe une augmentation de l'endothéline et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, vasoconstricteurs reconnus, chez ces patients. Les mécanismes en jeu sont variés. L'insuline et le glucose sont deux facteurs indépendants de croissance des CML, or leurs taux sont élevés chez les diabétiques de type II. Il a été montré aussi qu'un taux élevé de glucose stimule la production de collagène de type IV et de fibronectine et des enzymes impliquées dans l'anabolisme du collagène par les CE. Ce mécanisme contribue à l'épaississement de la membrane basale et à l'excès de MEC observés au cours de l'athérosclérose. Une forte dose de glucose provoque une accélération de l'apoptose cellulaire et une baisse de la réplication sur les CE in vitro. [75]

*Matériel*

*et*

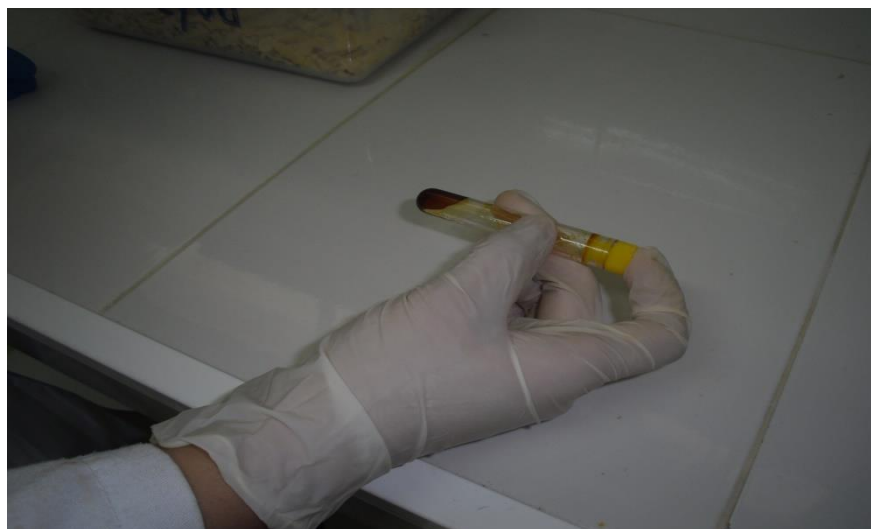
*Méthodes*

### Matériel et méthodes

#### I. Matériel

##### I.1 Matériel végétal

L'extraction de *Crataegus azarolus* a été réalisée au niveau de laboratoire d'obtention des Substances Thérapeutiques, département de Chimie – Université des Frères Mentouri Constantine (**Figure.12**).



**Figure.12:** *l'extrait de Crataegus azarolus.*

##### I.2 Choix des animaux

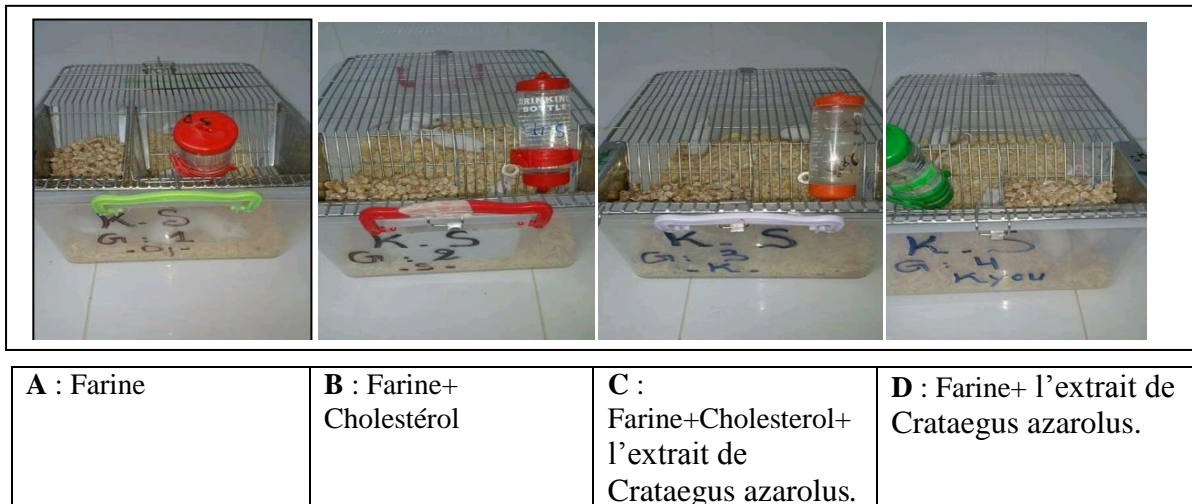
L'expérience est réalisée sur des souris mâles (28 souris), du genre (*Mus*), espèce (*Mus musculus*), âgées (de 2, 5 à 3 mois), ayant un poids entre 18g et 20g. Afin d'éviter les variabilités inter-sexe, l'étude est réalisée sur les mâles.

##### I.2.1 Entretien des animaux

Les souris sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage au niveau de l'animalerie du département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine et ils ont été soumises à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie durant une semaine :

- Une température de 25 à 30°C, un taux d'humidité entre 45 et 60% et une photopériode de 12heures jour et 12 heures nuit.

- Durant la période d'expérimentation, les souris sont alimentées avec l'aliment ONAB sous forme de granules (**Tableau.01 voir les annexes**) et de l'eau de robinet à volonté. Les animaux sont séparés et répartis en 4 lots suivant le régime administré (**Figure.13**).



**Figure 13** : Répartition des souris dans les lots.

- Les animaux sont pesés toujours à la même heure (9h 30) pendant les 18 jours de traitement.
- La quantité des ingesta (la quantité d'aliment consommé) a été enregistrée quotidiennement.

### I.3 Produits utilisés

- Cholestérol [jaune d'œuf +graisse animale (du mouton)]
- Chloroforme
- Formol 10%
- Eau distillée
- Na Cl

### I.4 Equipements

- Balance de précision
- Trousse de dissection
- Centrifugeuse
- Tubes héparinés
- Tubes Eppendorfs

## II. Méthodes

### II.1 Traitement des souris

Afin de réaliser notre expérience les 28 souris mâles sont réparties en 4 lots et chacun ont soumis à un régime (**Tableau.02**).

**Tableau.02** :*Traitement des souris.*

Groupe expérimental	Traitement	Nombre d'animaux	Durée de l'expérience	Dose quotidienne
<b>A</b>	Témoin (Farine)	7 souris	18jours	0,1 g / souris
<b>B</b>	Farine+Cholestérol	7 souris	18jours	0,03 à 0,04g/souris
<b>C</b>	Farine+ Cholestérol + l'extrait de Crataegus azarolus.	7 souris	18jours	0,004 ml (extrait du fruit) /souris et 0,03 à 0,04g(Cholestérol) /souris
<b>D</b>	Farine + l'extrait de Crataegus azarolus.	7 souris	18jours	(0,004-0.005) ml /souris

➤ Les doses du cholestérol et l'extrait de Crataegus azarolus sont calculées par rapport au poids des souris de chaque lot soit :  $(17g \times 3 \text{ fois/j} \times 2 = 102 \text{ g/kg/j})$  pour le cholestérol et  $(0,18ml/kg/j)$  pour l'extrait de Crataegus azarolus.

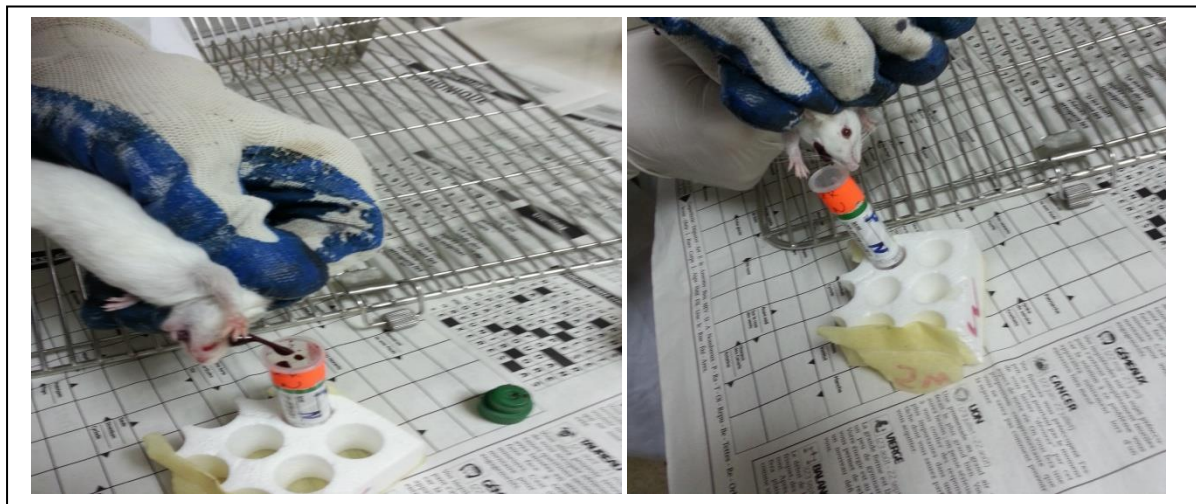
➤ Le cholestérol incorporé à la farine, est administré sous forme de boules (le poids de chaque boule = **0,1 g** pour chaque dose).

### II.2. Prélèvement sanguin

➤ Chaque étape de traitement a été suivie d'un prélèvement sanguin pour l'évaluation de certains paramètres biologiques. Le sang est prélevé au niveau des sinus rétro-orbital des souris (**Figure.14**). le sang obtenu a été directement mis dans des tubes héparines.



Ensuite, le sang est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré dans des Tubes Eppendorfs (**Figure.15**), pour faire les dosages biochimiques au niveau de laboratoire d'analyses médicales **Ibn Sina** à CONSTANTINE.



**Figure.14:** *Prélèvement sanguin au niveau des sinus rétro-orbitaux.*



**Figure.15:** *Récupération de sérum après Centrifugation.*

### II.3. La dissection

Après anesthésie au chloroforme, les animaux sont disséqués pour l'étude histologique, les organes prélevés et pesés (le foie, le cœur et l'aorte) sont bien débarrassés de tout tissu adjacent, lavés, et ensuite placés dans des boites de pétrie contenant de l'eau physiologique. et sont coupés en fragments et directement sont conservés dans des tubes remplis par le formol dilué à 1/10 (PH 7,4) (**Figure.16**).



**Figure.16:** *Dissection et séparation des organes.*

### **II.4 Méthodes de dosage des paramètres biologiques**

Tous les paramètres biologiques sont déterminés par les techniques habituelles utilisées dans le laboratoire en utilisant l'automate (**COBAS 6000**) et le spectrophotomètre.

#### **II.4.1 Dosage du cholestérol total**

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A) sur du sérum. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et acides gras.

Le cholestérol libre produit et celui préexistant est oxydé par une enzyme cholestérol oxydase en  $\Delta^4$  cholestérone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge. La concentration quinonéimine colorée mesurée à 510 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon.

#### **II.4.2 Dosage des triglycérides**

Le dosage des triglycérides sériques et tissulaires se réalise entièrement par voie enzymatique par l'action d'une lipase selon la méthode colorimétrique enzymatique (kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A).

Les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras grâce à des lipases. Une suite de réaction aboutit à la formation du peroxyde d'hydrogène qui en présence de la peroxydase et d'un chromogène donne un composé coloré, la quinonéimine.

La concentration en quinonéimine est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présents dans l'échantillon. La concentration en TG est déterminée à une longueur d'onde  $\lambda=500$  nm.

### II.4.3 Dosage des HDL-LDL

Pour le HDL- cholestérol, la technique utilisée est celle du chlorure de magnésium qui va précipiter les LDL et les VLDL ; le HDL cholestérol est alors dosé dans le surnageant par la même technique enzymatique que le cholestérol total. La valeur normale est  $>0,45$  g/l.

Pour le LDL- cholestérol, la formule est la suivante :

$$\text{LDL c} = \text{CT} - [(\text{TG} \div 5) + \text{HDL c}]$$

### II.4.4 Dosage des transaminases

Les transaminases sont déterminées par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit, Chronolab, System).

L'alanine aminotransférase (ALT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate-transaminase (GPT). (ALT) catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda=340$ nm.

L'aspartate aminotransférase (AST) est une transaminase, également connue sous le nom de glutamate-oxalo-acetate-transaminase (GOT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda=340$ nm.

### II.4.5 Dosage de la CRP

Le dosage de la CRP s'est effectué selon le test immunoturbi dimétrique sur l'auto analyseur BS 300. Ce test mesure de très faibles concentrations CRP dans des échantillons de sérum.

### II.5 Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test de Tukey pour classer les moyennes deux à deux, grâce à un logiciel SPSS, version 20.0.

La comparaison ou la corrélation est considérée, selon la probabilité (p), comme suit :

- Non significative si  $p > 0,05$ .
- Significative (\*) si  $p < 0,05$ .
- Hautement significative (\*\*) si  $p < 0,01$ .
- Très hautement significative (\*\*\*) si  $p < 0,001$ .

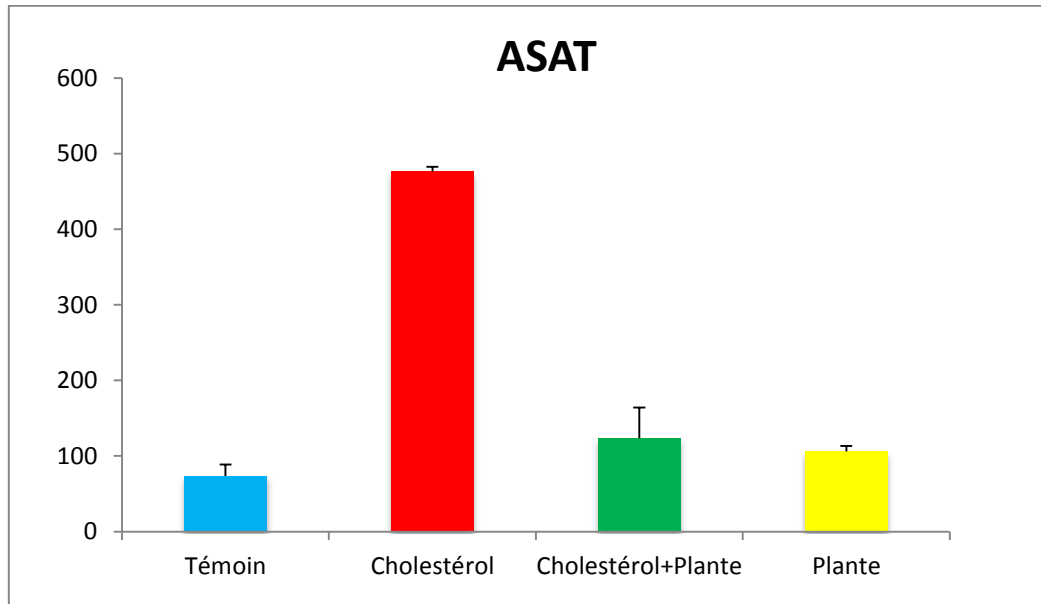
*Résultats*

*et*

*Discussion*

## II. Résultats d'analyses biochimiques

### II.1 L'ASAT

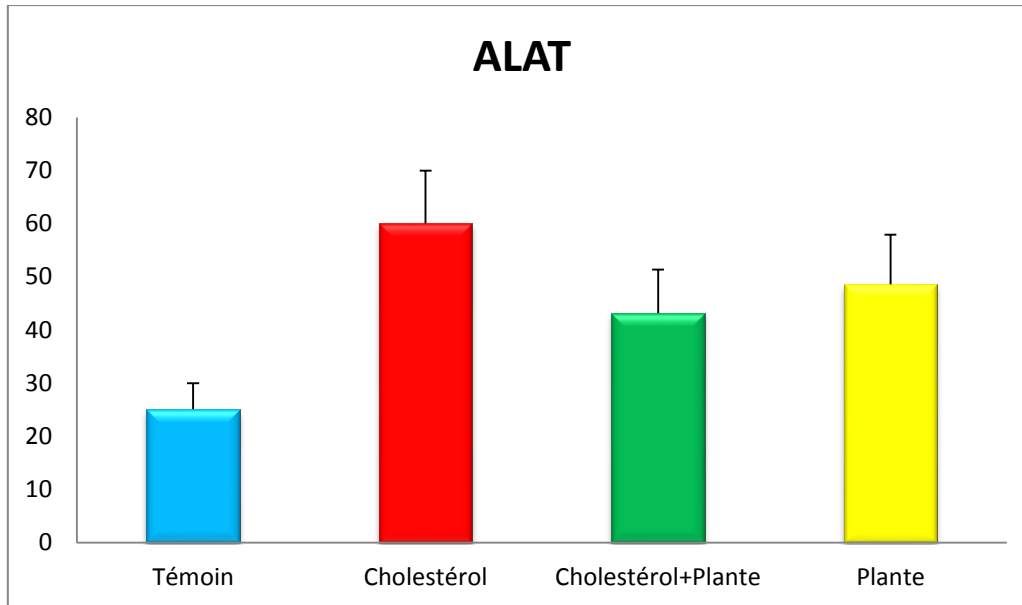


**Figure.21** : interaction de cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ASAT chez les souris.

Le taux de l'ASAT des groupes [Témoin (A), Cholestérol (B), Cholestérol+Plante (C) et Plante (D)] sont respectivement (73,36±15,21UI/l) ,(476,52±6,43UI/l),(123,37±40,85UI/l) et (106,22±6,91UI/l) (**Figure.21**).

La comparaison des résultats obtenus montre que le taux de l'ASAT du groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont très hautement significative avec  $p < 0,001$  ( $p = 0,000$ ).

## II.2 L'ALAT

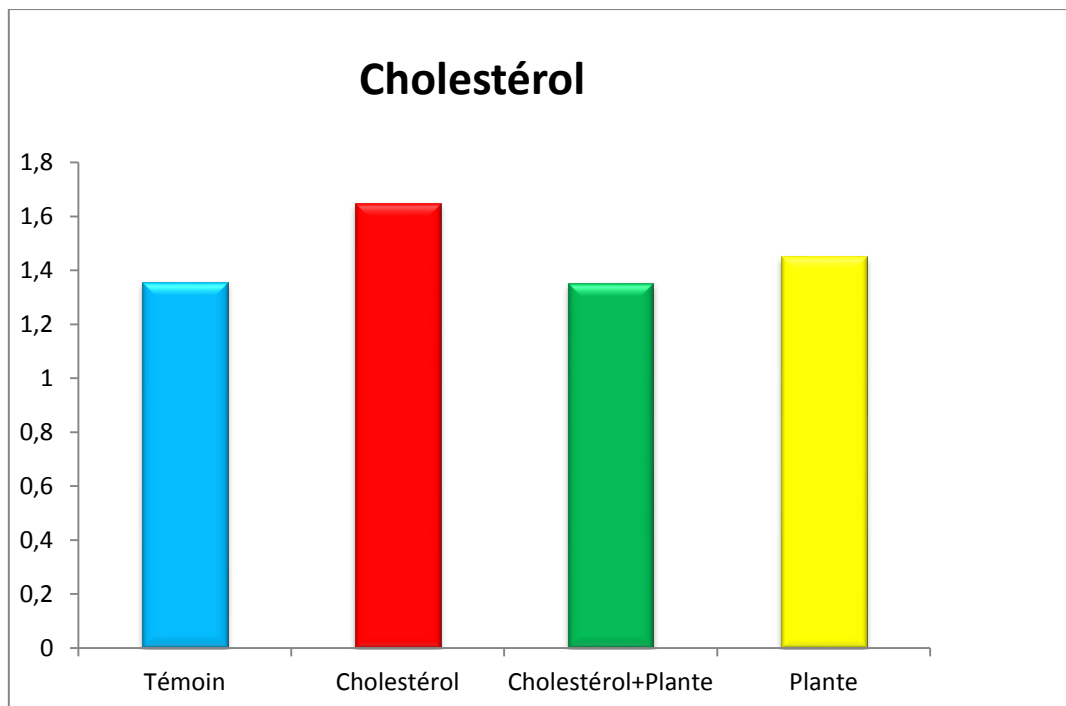


**Figure .22** : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ALAT chez les souris.

Le taux de l'ALAT des groupes [Témoin (A), Cholestérol (B), Cholestérol+Plante (C) et Plante (D)] sont respectivement (25,1±4,86UI/l) , (60,02± 9,96UI/l) ,(43,16±8,18UI/l) et (48,6±9,33UI/l) (**Figure.22**).

La comparaison des données obtenues montre que le taux de l'ALAT du groupe Cholestérol a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont très hautement significatifs avec  $p < 0,001$  ( $p = 0,000$ ).

### II.3 Le cholestérol



**Figure .23:**interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de cholestérol chez les souris.

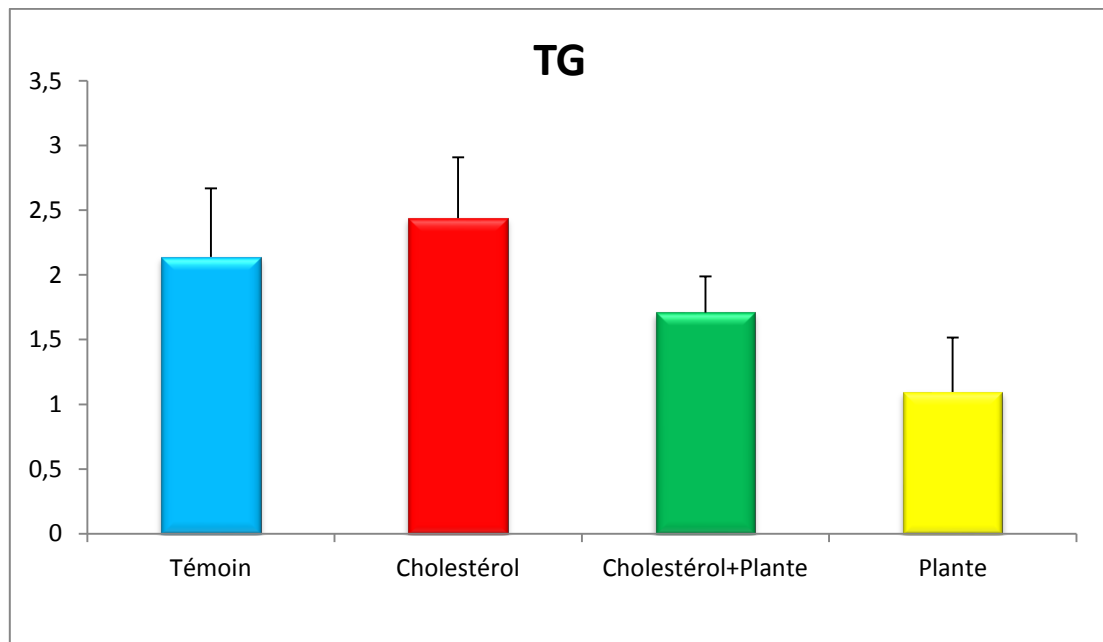
Le taux de Cholestérol des groupes [Témoin (A), Cholestérol (B), Cholestérol+Plante (C) et Plante (D)] sont respectivement  $(1,33 \pm 0,13 \text{ g/l})$ ,  $(1,65 \pm 0,13 \text{ g/l})$ ,  $(1,35 \pm 0,11 \text{ g/l})$  et  $(1,45 \pm 0,09 \text{ g/l})$  (**Figure.23**).

La comparaison des données montre que le taux du cholestérol dans le groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont significatifs avec  $p < 0.05$  ( $p = 0,05$ ).

Nous suggérons qu'il y a une libération des acides gras libres (Cholestérol) qui seront oxydés au niveau du foie en «Acétylcoenzyme A » ce qui provoque l'hyperlipidémie chez le groupe Cholestérol.



## II.4 Les Triglycérides



**Figure.24:** *interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux des triglycérides chez les souris.*

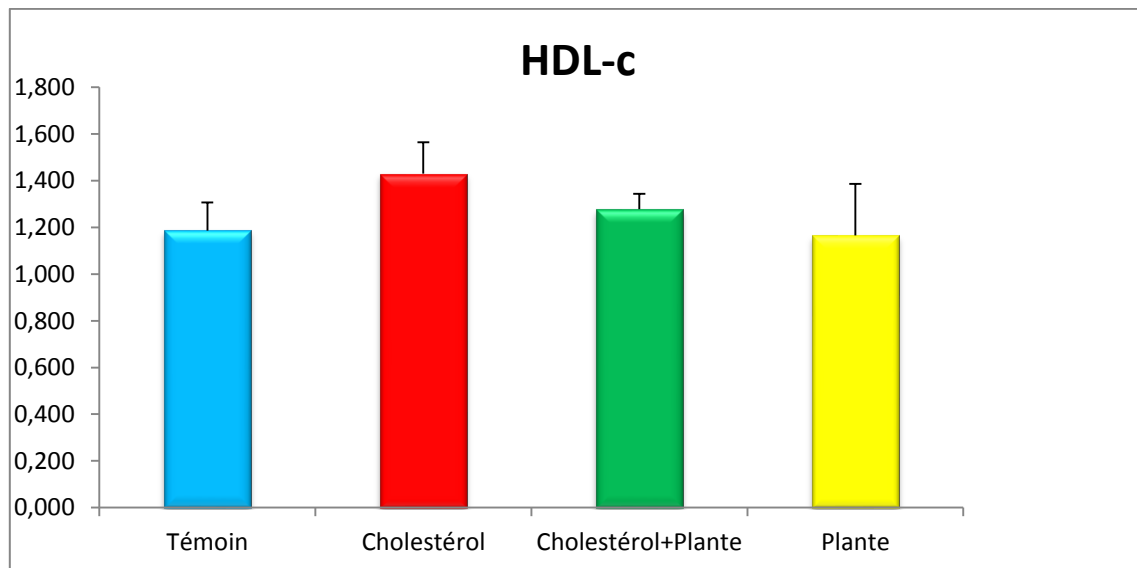
Le taux de TG des groupes[ Témoin (A), Cholestérol (B),Cholestérol+Plante (C) et Plante (D) ] sont respectivement (2,14±0,52g/l) ,(2,44±0,46g/l) ,( 1,70±0,28g/l) et (1,10±0,46g/l) (**Figure.24**).

La comparaison de nos données montre que le taux des triglycérides du groupe Cholestérol est plus élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont hautement significatifs avec  $p < 0,01$  ( $p = 0,01$ ).

Cette hypertriglycéridémie est expliquée, d'une part, par l'augmentation de la production hépatique des VLDL et, d'autre part, par la réduction du catabolisme des VLDL par diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase.

Les différentes études épidémiologiques associent l'hypertriglycéridémie à l'augmentation du risque coronarien. Notre étude concorde avec ces différentes études. (**Tselmin S et al (2013) [77]**).

## II.5 L'HDL-c



**Figure.25:** interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'HDL-c chez les souris.

Le taux de l'HDL des groupes [ Témoin (A), Cholestérol (B), Cholestérol+Plante (C) et Plante (D) ] sont respectivement  $(1,18 \pm 0,12 \text{g/l})$ ,  $(1,43 \pm 0,13 \text{g/l})$ ,  $(1,27 \pm 0,06 \text{g/l})$  et  $(1,16 \pm 0,22 \text{g/l})$  (**Figure.25**).

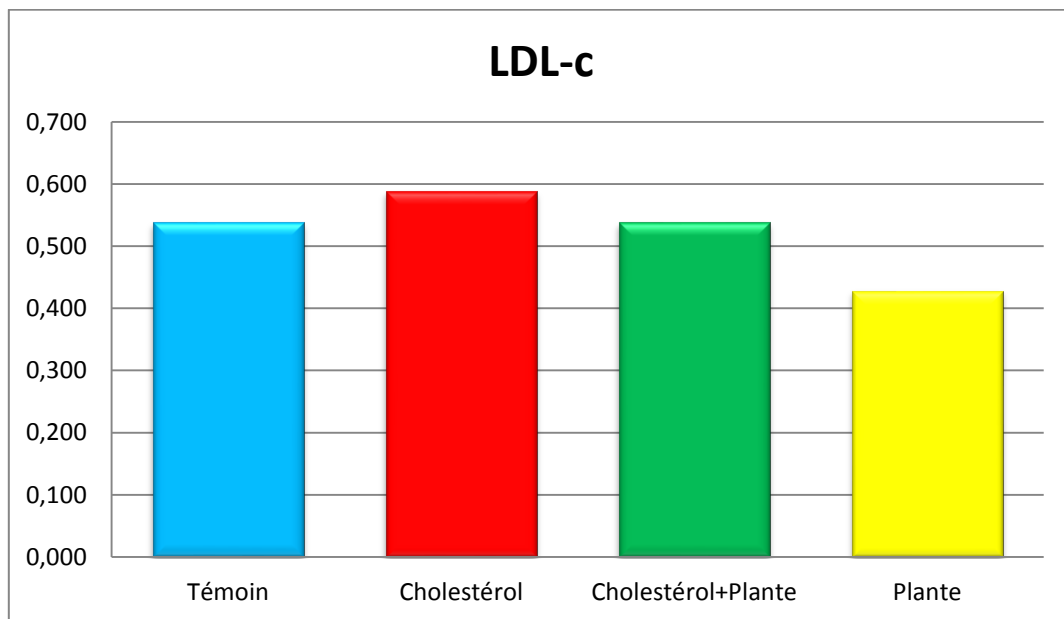
La comparaison des données montre que les taux de l'HDL-c du groupe Cholestérol est plus élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont Non significatifs avec  $p > 0,05$  ( $p = 0,47$ ).

Les résultats du traitement par la dose élevée de Cholestérol présentent une augmentation significative du taux des transaminases, des LDL, du cholestérol, des TG mais non significative du HDL.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Tselmin S et al. (2013) [77]**. Cependant, ces résultats diffèrent des autres études **Amrane M et al. (2012) [78]**.

D'après l'étude d'Obeid et al. (2009)[79], l'augmentation de cholestérol dans le plasma est associée d'une part, à la diminution du métabolisme des HDL et d'autre part, à la distribution des lipides plasmatiques et tissulaires.

### II.6 L'LDL-c



**Figure.26:** interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'LDL-c chez les souris.

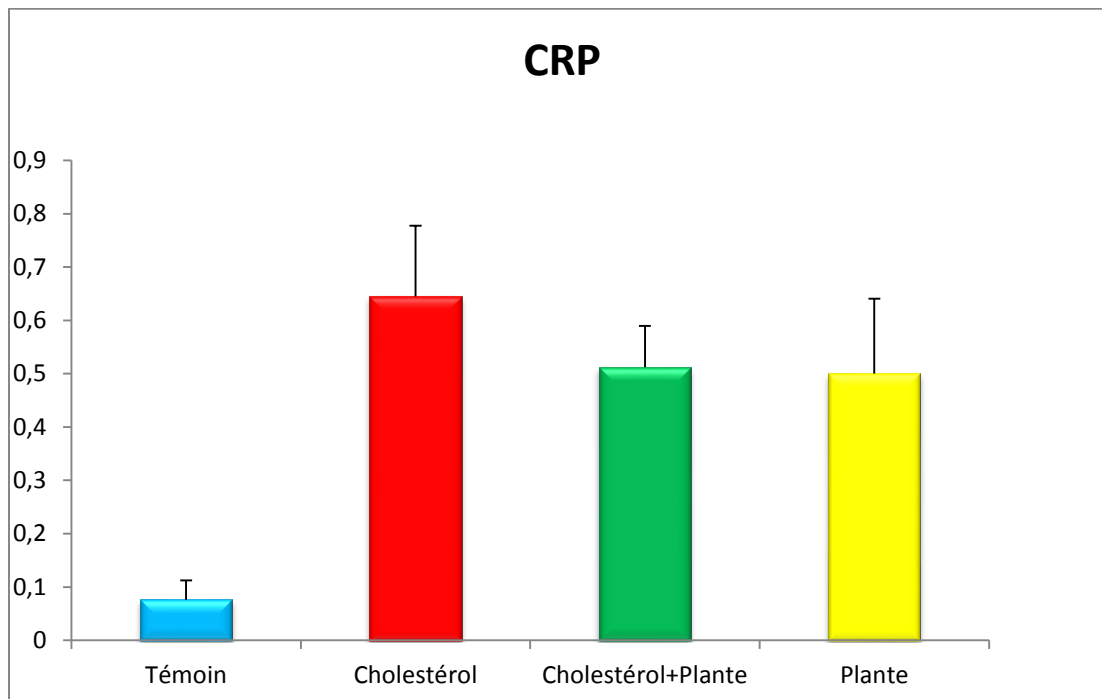
Le taux de l'LDL des groupes [ Témoin (A), Cholestérol (B), Cholestérol+Plante (C) et Plante (D) ] sont respectivement (0,12±0,10g/l) , (0,58±0,30g/l) ,( 0,58±0,30g/l) et (0,42±0,08g/l) (**Figure.26**).

La comparaison de nos résultats montre que le taux de l'LDL-c du groupe Cholestérol a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont significatifs avec  $p < 0.05$  ( $p = 0,04$ ).

Les LDL sont majeures au niveau de la circulation (60% des lipoprotéines circulantes) et transportent 70 % du cholestérol circulant.

L'augmentation des LDL semble lier à leur peroxydation par les radicaux libres générés par l'hypercholestérolémie car, cette peroxydation inhibe la reconnaissance des LDL oxydés par leurs récepteurs natifs **Laporte F. (2000) [80]**.et par conséquent, leur augmentation dans le plasma.

### II.7 La CRP



**Figure.27:** *interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de la CRP chez les souris.*

Le taux de la CRP des groupes [ Témoin (A), Cholestérol (B),Cholestérol+Plante (C) et Plante(D)] sont respectivement (0,07±0,03g/l) ,(0,64±0,13g/l),(0,51±0,07g/l)et (0,05±0,14g/l) (**Figure.27**).

La comparaison des données montre que le taux de la CRP du groupe Cholestérol a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont très hautement significatifs avec  $p < 0,001$  ( $p = 0,000$ ).

La CRP est caractérisée par une augmentation rapide de sa concentration dans le sérum pendant la phase de l'inflammation. Celle-ci peut atteindre 1000 fois son taux basal [81].

Nous avons constaté une augmentation dans la concentration de la protéine C-réactive chez les souris administrée par une dose élevée de cholestérol par rapport au groupe Témoin. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'initiation d'un processus inflammatoire.

Dans le groupe administré par la dose du cholestérol et traité par l'extrait de *Crataegus azarolusa* abaissé les taux plasmatiques de la CRP. Cette différence est interprétée par le fait que *Crataegus azarolus* pourrait contenir des composés possédant des propriétés anti inflammatoires.

# *Conclusion*

### Conclusion

L'objectif principal de notre travail est de clarifier les effets d'une dose élevée de cholestérol sur quelques paramètres biochimiques (Cholestérol total, TG, HDL, LDL, ASAT, ALAT et CRP) chez les souris *Mus musculus* et d'explorer l'effet thérapeutique de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur les anomalies causées par la dose élevée de cholestérol.

Nous avons respecté la voie métabolique, et pour cette raison, nous avons administré aux animaux une dose élevée de cholestérol pendant 18 jours, dans le but d'induire une hypercholestérolémie.

Le poids des animaux ainsi que leur ingesta ont été considérés dans ces expériences pour apprécier l'état physiologique des animaux, notamment l'effet des différents traitements sur le poids des souris.

Nous avons dosé le cholestérol comme indicateur principal de l'hypercholestérolémie et les transaminases (ASAT et ALAT) en tant que marqueurs pour certaines maladies cardiaques et hépatiques. Nous avons aussi réalisé un bilan lipidique (TG, HDL et LDL). Enfin, Comme marqueur d'inflammation on a dosé la CRP.

Nos résultats montrent que le régime induit une hyperphagie chez les souris du groupe Cholestérol avec une élévation significative du poids par une accumulation des lipides dans le tissu adipeux, comparés aux autres groupes.

Cette modification est observée chez les souris avec une augmentation des teneurs plasmatiques des Cholestérol, Triglycérides, HDL, LDL et aussi des sécrétions hépatiques des Transaminases (ASAT et ALAT) et des biomarqueurs de l'inflammation cardiovasculaire telle que la CRP.

La supplémentation en extrait de *Crataegus azarolus* confirme l'influence bénéfique des AGPI sur le poids corporel avec réduction de la lipogenèse.

Toutes ces anomalies ont été plus ou moins corrigées par l'extrait de *Crataegus azarolus* mais malheureusement, avec une moindre efficacité; cela peut être expliqué par l'insuffisance de dose administrée aux animaux. Donc, l'ingestion de ce fruit semble avoir un intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

À la lumière de ces résultats très intéressants, on voit comme perspectives d'avenir :

- Pour mieux évaluer le pouvoir thérapeutique de l'extrait de *Crataegus azarolus*, on cherche l'efficacité de ses molécules bioactives *in vivo* et *in vitro* en développant des essais de culture cellulaire pour comparer les résultats et réfléchir à la préparation de substances thérapeutiques plus efficaces.
- Déterminer la quantité efficace et exacte de l'extrait de *Crataegus azarolus* en l'associant avec la supplémentation de différents types d'antioxydants d'origines végétales (fruits et légumes), comme moyen de lutte contre les complications associées à l'obésité.



# *Résumés*

### Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet du cholestérol et l'extrait de *Crataegus azarolus* sur le poids des souris et la consommation de l'aliment et sur quelques paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT et ALAT) et les marqueurs d'inflammation comme la CRP.

Dans ce but, les souris *Mus musculus*, reçoivent un régime standard ou un régime enrichi ou bien non en extrait de *Crataegus azarolus* pendant 18 jours.

Nos résultats montrent que le régime hypercholestérolémiant induit une hyperphagie et une obésité chez les souris sous régime hypercholestérolémiant comparées aux témoins.

L'augmentation de la masse grasse est accompagnée de modifications notables avec une augmentation très hautement significative des teneurs plasmatiques d'ASAT, ALAT, et CRP avec ( $p=000$ ), l'augmentation des TG est hautement significative mais elle est non significative pour l'HDL.

L'effet bénéfique de *Crataegus azarolus* est marqué par une diminution de la production de cholestérol total, TG, LDL, ASAT, ALAT et CRP.

En conclusion, l'extrait de *Crataegus azarolus* a des effets bénéfiques sur le statut redox et présente un intérêt nutritionnel.

**Mots clés:** Athérosclérose, régime hyperlipidique, extrait de *Crataegus azarolus*, paramètres biochimiques et la CRP.

كان الهدف من دراستنا تقييم تأثير الكولسترول ومستخلص ثمرة الزعرور الشائع (الأصفر) على وزن الفئران واستهلاك الغذاء و بعض القياسات البيوكيميائية (الكولسترول الكلي والدهون الثلاثية، HDL-C، LDL-c، AST و ALT) وعلامات الالتهاب مثل CRP.

لهذا الغرض تم اعتماد نظام غذائي متعارف عليه أو اتباع نظام غذائي المخصب أولا بمستخلص ثمرة الزعرور الشائع لمدة 18 يوما للفئران .

نتائجنا تظهر أن النظام الغذائي المفرط بالكوليستيرول يدفع إلى فرط الأكل والبدانة لدى الفئران مقارنة مع النظام الغذائي الغير المفرط بالكوليستيرول .

وبرافق هذه الزيادة في كتلة الدهون تغييرات كبيرة مع زيادة كبيرة معبرة جدا في مستويات البلازما من ALT ، ASAT و CRP مع (p = 000)، زيادة كبيرة معبرة أيضا في ا لدهون الثلاثية، ولكن لم تكن للنتائج دلالة على HDL-C. يتم وضع علامة على الاثر المفيد لمستخلص ثمرة الزعرور الشائع في انخفاض إنتاج الدهون الثلاثية ، ASAT, LDL, ALAT و CRP.

في الختام، نستخلص أن مستخلص ثمرة الزعرور الشائع له آثار مفيدة في حالة الأكسدة والفائدة الغذائية الحالية.

**كلمات البحث :** تصلب الشرايين، وارتفاع حمية الدهون، مستخلص ثمرة الزعرور الشائع، القياسات البيوكيميائية و CRP.

### Summary

The aim of our study was to evaluate the effect of cholesterol and the extract of *Crataegus azarolus* on the weight of the mice and the food consumption and some biochemical parameters (total cholesterol, triglycerides, HDL-c, LDL -c, AST and ALT) and inflammation markers like CRP.

For this purpose, the mouse *Mus musculus*, receive a standard diet or a diet enriched or not in *Crataegus azarolus* extract for 18 days.

Our results show that the cholesterol-lowering diet-induced hyperphagia and obesity in mice in hypercholesterolemic diet compared to controls

The increase in fat mass is accompanied by significant changes with a very highly significantly increased plasma levels of AST, ALT, and with CRP ( $p = 000$ ), increased TG is highly significant but is not significant for HDL.

The beneficial effect of *Crataegus azarolus* is marked by a decrease in total cholesterol production, TG, LDL, AST, ALT and CRP.

In conclusion, the *Crataegus azarolus* extract has beneficial effects on the redox status and present nutritional interest.

**Keywords:** Atherosclerosis, high fat diet, the *Crataegus azarolus* extract, biochemical parameters and CRP.

*Références*

*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

### Références Bibliographiques

[1].**Capewell S., Ford E., Croft J., et al . (2010).** Cardiovascular risk factor trends and potential for reducing coronary heart disease mortality in the United States of America. *W Health Organ.*, 88 : 120- 130.

[2].**Berrouiguet A., Benyoucef M., Meguenni K.& Brouri M.(2009).**Prevalence of cardiovascular risk factor : A survey at Tlemcen( Algeria).*J Epidémiol .*, 3 :313-319.

[3].**Abd El-GHanny M., Magda K., El-Shaer F. &Maaly Y.(2007).**Therapeutic Effect of Some Fat Soluble Vitamins on Hyperlipidemic Rats.*J Home Eco, Minufia Univ.*,17 :31-42.

[4].**Ferretti G., Bacchetti T., Masciangelo S., & Bertoli E.(2009).**High-density lipoproteins : the guardian angel of the cell membrane.*J Nutr Metab.*,2 :93-96.

[5].**Nasar M., Jarrari A., Subhani T., Shetty B. & Shakeel F. (2009).**Antioxidant status of atorvastatin in hypercholesterolemic patients. *J Chem Soc.*, 74 :1063-1073).

[6]. **Murray., Bender., Botham., et al. (2013).** Transport et stockage des lipides, in : *Biochimie de Herper.* 5ed, de boeck. 246.

[7]. **Feillet F. (2000).** Adaptation métabolique a la malnutrition: modèle des lipides, de la cobalamine, de la riboflavine et des acides organiques dans la malnutrition protéino énergétique de l'enfant et dans l'anorexie mentale. Thèse de doctorat. Université Nancy 1.

[8]. **Robert S., Anne N. S. (2007).** Lipides et vaisseaux, in : *Biologie et pathologie du cœur et de vaisseaux*, John Libbey Eurotext, Paris. 299-304.

## Références bibliographiques

---

- [9]. **Wémeau J. L. (2014).** Endocrinologie, Diabète, Métabolisme et Nutrition pour le Praticien, Métabolisme des lipides. France, Elsevier Masson. 469–474
- [10]. **Christiann M. (2006).** Biochimie structurale et métabolique. 3e éd. De Boeck. 152.
- [11]. **Claverie I., Panet M. (2008).** Biochimie, Cahiers Du Preparateur En Pharmacie. 2e ed. porphyre. 26.
- [12]. **Philippe C., Philippe G., Dominique B. R., et al. (2010).** Les dyslipidémies héréditaires. France, Elsevier Masson SAS. 425: 73-85.
- [13]. **Robert k. M., David A., et al. (2013).** Biochimie De Herper. De boack, 2e ed. 254.
- [14]. **Requier E. (2011).** la levure de riz rouge, son impact sur le cholestérol et sa toxicité. Thèse de doctorat en médecine-pharmacie. Université de Rouen,
- [15]. **Haffner SM, Foster DM, Kushwaha RS, et al.(1984).** Retarded chylomicron apolipoprotein-B catabolism in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic subjects with lipaemia. *Diabetologia*. 26:349-54.
- [16]. **Mamo JC, Hirano T, Sainsbury A, et al.(1992).** Hypertriglyceridemia is exacerbated by slow lipolysis of triacylglycerol-rich lipoproteins in fed but not fasted streptozotocin diabetic rats. *BiochimBiophysActa*. 1128:132-8.
- [17]. **Duez H, Lamarche B, Uffelman KD, et al.(2006).** Hyperinsulinemia is associated with increased production rate of intestinal apolipoprotein B-48-containing lipoproteins in humans. *Arterioscler.ThrombVasc Biol*. 26:1357-63.
- [19]. **Tremblay AJ, Lamarche B, Cohn JS, et al.( 2006).** Effect of ezetimibe on the in vivo kinetics of apoB-48 and apoB-100 in men with primary hypercholesterolemia. *ArteriosclerThrombVasc Biol*. 26:1101-6.
- [20]. **Bilz S, Wagner S, Schmitz M, et al.(2004).** Effects of atorvastatin versus fenofibrate on apoB-100 and apoA-I kinetics in mixed hyperlipidemia. *J LipidRes*. 45:174-85.

## Références bibliographiques

---

- [21]. **Myerson M, Ngai C, Jones J, et al.(2005).**Treatment with high-dose simvastatin reduces secretion of apolipoprotein B-lipoproteins in patients with diabetic dyslipidemia. *J Lipid Res.* 46:2735-44.
- [22]. **Watts GF, Barrett PH, Ji J, et al.(2003).** Differential regulation of lipoprotein kinetics by atorvastatin and fenofibrate in subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes.* 52:803-11.
- [23].**Forster LF, Stewart G, Bedford D, et al.( 2002).** Influence of atorvastatin and simvastatin on apolipoprotein B metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis.* 164:129-45.
- [24].**Schaefer EJ, McNamara JR, Shah PK, et al.( 2002).**Elevated remnant-like particle cholesterol and triglyceride levels in diabetic men and women in the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care.*25:989-94.
- [25]. **Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Fruchart JC, et al.(1999).** 3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase inhibitors reduce serum triglyceride levels through modulation of apolipoprotein C-III and lipoprotein lipase. *FEBS Lett.* 452:160-4.
- [26].**Martin G, Duez H, Blanquart C, et al.(2001).**Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPAR $\alpha$  and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest.* 107:1423-32.
- [27]. **Cohn J, Wagner D, Cohn S, et al.(1990).**Measurement of very low density and low density lipoprotein apolipoprotein (Apo) B-100 and high density lipoprotein Apo A-I production in human subjects using deuterated leucine. Effect of fasting and feeding. *J Clin Invest.* 85:804-11.
- [28]. **Aguilar-Salinas CA, Hugh P, Barrett R, et al.(1997).**A familial combined hyperlipidemic kindred with impaired apolipoprotein B catabolism. Kinetics of apolipoprotein B during placebo and pravastatin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 17:72-82.
- [29]. **Rachid S., Hassan T. (2007).**Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose : de la biochimie à la physiopathologie. *Les technologies de laboratoire.* 2: 4-11.



## Références bibliographiques

---

- [30]. **Cuchel M, Schaefer EJ, Millar JS, et al.(1997).** Lovastatin decreases de novo cholesterol synthesis and LDL Apo B-100 production rates in combined-hyperlipidemic males. *ArteriosclerThrombVasc Biol.* 17:1910-7.
- [31]. **Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al.(1995).** Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation.* 91:2488-96.
- [32]. **Redgrave, T. G.,( 1999).** Chylomicrons, London : Arnold, Hodder Headline Group, 31-54.
- [33]. **Packard, C. J. and Shepherd, J.(1999).** Physiology of the lipoprotein transport system : an overview of lipoprotein metabolism, London : Arnold, Hodder Headline Group, 17-30.
- [34]. **Gagné, C. and Gaudet, D.(1997).** Les dyslipoprotéïnémies : L'approche clinique, Québec : 157p.
- [35]. **Broedl, U. C., Maugeais, C., Millar, J. S., et al (2004).** Endothelial Lipase Promotes the Catabolism of ApoB-Containing Lipoproteins, *Circ.Res.*
- [36]. **Pownall, H. and Gotto, A. M., Jr.(1999).** Structure and dynamics of human plasma lipoproteins, New York : Oxford University Press Inc. 3-15.
- [37]. **Jiang, X. C., Moulin, P., Quinet, E., et al (1991).** Mammalian adipose tissue and muscle are major sources of lipid transfer protein mRNA, *J.Biol.Chem.* 266:4631-4639.
- [38]. **PAGE I. H.(1954).** Atherosclerosis; an introduction. *Circulation.* 10(1): p. 1-27.
- [39]. **COTTET J. and LENOIR M.( 1992).** Two thousand years of historical study on the words atheroma, atheromatosis, atherosclerosis, arteriosclerosis. *Bull AcadNatl Med.* 176(9): p. 1385-90; discussion 1390-1.
- [40]. **VASTESAEGER M. M. and DELCOURT R.(1962).** The natural history of atherosclerosis. *Circulation.* 26: p. 841-55.

## Références bibliographiques

---

[41]. **KAHLE W., LÉONHARDT H. and PLATZER W.(1990).** Anatomie. Tome 2, viscères - 2 éd, ed. 2, Paris: Flammarion Médecine-Sciences.

[42].**CEFALU W. T. and WAGNER J. D.(1979).**Aging and atherosclerosis in human and nonhuman primates. . Age. 20: p. 15-28.

[43].**ROSS R. and GLOMSET J. A.(1976).**The pathogenesis of atherosclerosisN Engl J Med, 295(7): p. 369-77.

[44].**FUSTER V., MORENO P. R., FAYAD Z. A. CORTI R. and BADIMON J. J.(2005)** Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. J Am Coll Cardio.46(6): p. 937-54.

[45]. **HANSSON G. K .(2005).**Inflammation, atherosclerosis, and coronaryarterydisease. N Engl J Med, 352(16): p. 1685-95.

[46].**LIBBY P., RIDKER P. M. and MASERI A.(2002).**Inflammation and Atherosclerosis. Circulation. 105: p. 1135-1143.

[47]. **CULLEN P., BAETTA R., BELLOSTA S., et al .(2003).**Rupture of the atherosclerotic plaque: does a good animal model exist? ArteriosclerThrombVascBiol. 23(4): p. 535-42.

[48].**VAN DER WAL A. C., BECKER A. E., VAN DER LOOS C. M. and DAS P. K.(1994)** Site ofintimal rupture or erosion of thrombosedcoronaryatherosclerotic plaques is characterized byan inflammatoryprocessirrespective of the dominant plaque morphology. Circulation. 89(1): p. 36-44.

[49]. **BURKE A. P., KOLODGIE F. D., FARB A., WEBER D. K., MALCOM G. T., SMIALEK J.and VIRMANI R.(2001).**Healed plaque ruptures and suddencoronarydeath: evidencethatsubclinical rupture has arole in plaque progression. Circulation. 103(7): p. 934-40.

[50].**GAWAZ M., LANGER H. and MAY A. E.(2005).**Platelets in inflammation and atherogenesis. J Clin Invest. 115(12): p. 3378-84.

## Références bibliographiques

---

- [51]. **ROBBIE L. and LIBBY P.(2001)**. Inflammation and atherothrombosis. *Ann N Y Acad Sci*.947: p. 167-79; discussion 179-80.
- [52]. **RUGGERI Z. M.(2002)** .Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*. 8(11): p. 1227-34.
- [53].**LUTGENS E., VAN SUYLEN R. J., FABER B. C., et al (2003)**.Atherosclerotic plaque rupture: local or systemicprocess? *ArteriosclerThrombVascBiol*. 23(12): p.2123-30.
- [54].**REKHTER M. D.(2002)**.How to evaluate plaque vulnerability in animal models of atherosclerosis?*CardiovascRes*. 54(1): p. 36-41.
- [55].**Stary HC.(1989)**.Evolution and progression of atheroscleroticlesions in coronaryarteries ofchildren and youngadults. *Atherosclerosis*;9(Suppl 1) :19-32.
- [56]. **Ross R.(1995)**.Cellbiology of atheroscleroticis. *AnnuRev Physiol*:57 :791-804.
- [57].**Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al .(1995)**.A definition of advanced types of Atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from theCommittee on VascularLesions of the Council on Atherosclerosis. *Circulation*:92 :1355-74.
- [58].**Stary HC, Chandler B, Glagov S, Guyton JR, InsullW,Rosenfeld ME, et al.(1994)**. A definition of initial fattystreak, andintermediatelesions of atherosclerosis.*Arterioscler Thromb*;14:840–56.
- [59].**Stary HC, Chandler B, Dinsmore RE, Fuster V, GlagovS,Insull W, et al.(1995)**. A definition of advanced types of atheroscleroticlesions and a histological classification of atherosclerosis.*ArteriosclerThrombVasc Biol*;15:1512–31.
- [60].**Farb A, Burke AP, Tang AL, Liang TY, Mannan P, SmialekJ,et al.(1996)**.Coronary plaque erosionwithout rupture intoalipidcore. A frequent cause of coronarythrombosis in suddencoronary death.*93*:1354–63.
- [61].**Virmani R, Burke AP, Farb A.(2001)**.Suddencardiacdeath. *Cardiovasc Pathol*;10:211–8.

## Références bibliographiques

---

- [62]. **Ben-Horin S, Bardan E, Barshack I, Zaks N, Livneh A.(2003).**Cholesterolcrystalembolization to the digestive system:characterization of a common, yetoverlookedpresentationof atheroembolism. *Am J Gastroenterol*; 98.
- [63]. **Eggebrecht H, Oldenburg O, Dirsch O, Haude M, BaumgartD, Welge D, et al.(2000).**Potential embolization by atherosclerotic debris dislodged from aortic wall during cardiac catheterization: histological and clinical findings in 7,621 patients. *Catheter Cardiovasc Interv*;49:389–94 [see comments].
- [64].**Tunick PA, Kronzon I.(2000).**Atheromas of the thoracic aorta:clinical and therapeutic update. *J Am Coll Cardiol*;35:545–54.
- [65].**Flavahan NA.( 1992).**Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction : potential mechanisms underlying reduction in ERDF/nitric oxide activity. *85 :1927-1938.*
- [66]. **Springer TA.(1990).**Adhesion receptors of the immune system. *Nature*;346 :425-434.
- [67].**Berliner JA, Territo MC, Sevanian A, Ramin S, Kim JA, Bamshad B, Esterson M, Fogelman AM.(1990).**Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest*;85 :1260-6.
- [68].**Hansson GK, Holm J, Jonasson L.(1989).**Detection of activated T lymphocytes in the human atherosclerotic plaque. *Am J Pathol*;135 :169-75.
- [69].**Torzewski J, Bowyer DE, Waltenberg J, Fitzsimmons C.(1997).**Processes in atherogenesis: complement activation. *Atherosclerosis*;132 :131-8.
- [70].**Corson MA, Berk BC.**Growth factors and the vessel wall. *Heart Dis Stroke*;24 :166-70.
- [71].**Aaronson SA.(1991).**Growth factors and cancer. *Science*;254 :1146-53.
- [72].**Moore S, Freidman RJ, Singal DP, Gauldie J, Blajchman MA, Roberts RS.(1976).**Inhibition of injury induced thromboatherosclerotic lesions by anti-platelet serum in rabbits. *Thromb Haemost* ;35 :70-81.

## Références bibliographiques

---

- [73].Fuster V, Bgowie EJW, Lewis JC, Fass DN, Owen CA Jr, Brown AL.(1978).Resistance to atherosclerosis in pigs with von Willebrand's disease : spontaneous and high-cholesterol diet-induced atherosclerosis. *J Clin Invest*;61 :722-30.
- [74].Asmussen I, Kjeldsen K.(1975).Intimal ultrastructure of human umbilical arteries. Observations on arteries from newborn children of smoking and nonsmoking mothers. *Circ Res*. ;36:579-89.
- [75].Boutet M, Bazin M, Turcotte H, Lagacé R.(1980).Effects of cigarette smoke on rat thoracic aorta. *Artery*.7:56-72.
- [76].Zerizer S., Naimi D., Benchaïbi Y., Hamdi R. et Heikal O. (2008).Hyperhomocysteinemia and cardiovascular diseases in Algeria people. *BULL. NRC. Egypt* 33(5) : 481-493.
- [77].Tselmin S., Rodionov R.N., Müller G., et al. (2013).Homocysteine in lipoprotein apheresis patients – Retrospective data analysis in apheresis center of a university hospital. *Atherosclerosis Supplements* 14 : 123-128.
- [78].Amrane M., Houcher Z., Begag S., et al. (2012).Influence of retinopathy on plasma concentrations of total homocysteine and other biochemical parameters in Algerian patients with type 2 diabetes mellitus. *Pteridines* 23 (3): 96-103.
- [79].Obeid R. et Wolfgang H. (2009).Homocysteine and lipids : S-Adenosylmethionine as a key intermediate. *FEBS Letters* 583 : 1215-1225.
- [80].Laporte F. (2000).Les récepteurs membranaires des LDL oxydées : leur rôle dans l'athérogenèse. *Néphrologie*, 21(7) : 327-328.
- [81].Zerbato M. (2009). Thèse de docteur en pharmacie intérêt du dosage par Micro méthode de la protéine C réactive au cabinet de pédiatrie p : 34.

# *Annexes*

**Tableau.01** : composants de l'aliment des souris (ONAB) (Office National du Bétail).

<b>Protéines</b>	<b>15%</b>
<b>Lipides</b>	<b>2,5%</b>
<b>Cellulose</b>	<b>8%</b>
<b>Humidité</b>	<b>13%</b>
<b>Vitamine A</b>	<b>150.000 UI</b>
<b>Vitamine D3</b>	<b>200.000 UI</b>
<b>Vitamine E</b>	<b>3 mg</b>
<b>Fer</b>	<b>6 mg</b>
<b>Cu</b>	<b>1,2 mg</b>
<b>Zn</b>	<b>14,400 mg</b>
<b>Cobalt</b>	<b>60 mg</b>
<b>Mn</b>	<b>10,800 mg</b>
<b>Iode</b>	<b>150 mg</b>
<b>Sélénium</b>	<b>300 mg</b>
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	<b>1%</b>
<b>Phosphore</b>	<b>0,8%</b>

## 2. Calcule de la dose

- La dose de l'extrait de *Crataegus azarolus*

$$\begin{array}{l}
 0,18 \text{ ml} \longrightarrow 1000\text{g} \\
 X \text{ ml} \longrightarrow \text{poids de souris (g)} \\
 \text{La dose de l'extrait de } Crataegus \text{ azarolus} = \frac{0,18 \times \text{poids de souris}}{1000} \text{ ml}
 \end{array}$$

- La dose de cholestérol

$$\begin{array}{l}
 17,5 \text{ g (jaune d'œuf)} \longrightarrow 60000\text{g} \\
 X \longrightarrow \text{poids de souris (g)}
 \end{array}$$

$$\text{La dose de cholestérol} = \frac{17,5 \times \text{poids de souris}}{60000} \text{ g} \times 3 \text{ fois /jour} \times 2 \text{ fois.}$$

### 3.Préparation des solutions

➤ **Préparation de Nacl :**

9g                      →                      1000 ml eau distillée

➤ **Préparation de formol**

10 ml (formol) jusqu'à 37 ml eau distillée.



**Titre : Etude de l'effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur le statut lipidique chez des souris soumises à un régime hypercholestérolémiant.**

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en  
Immunologie moléculaire et cellulaire : Oncologie**

### Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet du cholestérol et l'extrait de *Crataegus azarolus* sur le poids des souris et la consommation de l'aliment et sur quelques paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT et ALAT) et les marqueurs d'inflammation comme la CRP.

Dans ce but, les souris *Mus musculus*, reçoivent un régime standard ou un régime enrichi ou bien non en extrait de *Crataegus azarolus* pendant 18 jours.

Nos résultats montrent que le régime hypercholestérolémiant induit une hyperphagie et une obésité chez les souris sous régime hypercholestérolémiant comparées aux témoins.

L'augmentation de la masse grasse est accompagnée de modifications notables avec une augmentation très hautement significative des teneurs plasmatiques d'ASAT, ALAT, et CRP avec ( $p=000$ ), l'augmentation des TG est hautement significative mais elle est non significative pour l'HDL.

L'effet bénéfique de *Crataegus azarolus* est marqué par une diminution de la production de cholestérol total, TG, LDL, ASAT, ALAT et CRP.

En conclusion, l'extrait de *Crataegus azarolus* a des effets bénéfiques sur le statut redox et présent un intérêt nutritionnel.

**Mots clés :** Athérosclérose, régime hyperlipidique, extrait de *Crataegus azarolus*, paramètres biochimiques et la CRP.

**Laboratoire de recherche :** *Ethnobotany-Palynology and Ethnopharmacology-Toxicology Laboratoire.*

### Jury d'évaluation :

<b>Présidente du jury :</b>	<b>TEBIBEL Soraya</b>	<b>(Professeur. UFM Constantine).</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>MESSAOUDI Sabar</b>	<b>(MAA. UFM Constantine).</b>
<b>Examinatrice:</b>	<b>MECHATI Chahinez</b>	<b>(MAA .UFM Constantine).</b>

**Date de soutenance : 05/06/2016**