



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 علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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 monogyna* sur quelques paramètres biochimiques chez des souris soumises à un régime riche en cholestérol

Présenté et soutenu par : *BOUZID Nesrine*

Le : 05/06/2016

Jury d'évaluation :

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

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

Examinatrice: *HADDAD Souad* (MAA .UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciement

Tout d'abord,

الحمد لله رب العالمين

J'adresse mes remerciements à mon enseignant
MESSAOUDI SABER
qui m'a encadré tout au long de ce mémoire.

Je tiens à remercier le doyen de la faculté des Sciences de la nature et de la vie
le professeur **DEHIMET LAID**.

Un grand merci au chef de département de la Biologie Animale
Monsieur **MADACI BRAHIM**.

Je remercie très sincèrement la responsable du parcours Master II Immunologie moléculaire et
cellulaire : Oncologie
Madame **TEBIBEL SORAYA** ;
qui a toujours su me donner de son temps précieux afin de répondre à mes interrogations.

Je tiens également à remercier tous *mes enseignants* qui m'ont transmis l'étendue de leurs
savoirs durant ce parcours.

Je remercie également les membres de jury :

Madame **TEBIBEL SORAYA** ; Madame **HADDAD SOUAD** et Monsieur **MESSAOUDI
SABAR**

Je remercie madame **MEKROUD HAYET** qui m'a toujours encouragé durant mon parcours
universitaire.

Je remercie tous les personnes qui m'ont aidé et participé à l'élaboration de ce mémoire ;
étudiants, doctorants et ingénieurs de la faculté des Sciences de la nature et de la vie :
**GHEDBANE KHAOULA, KOUTCOUKALI SOUMEYA, MOKHTARI
MOHAMED, BENDJABALLAH MOHAMED, KEHILI HOUSSAM, ZERTAL HASNA,
RAMLI IMENE, BOUDERSA YASSER, BOUDERBANE HANENE, TRIKI AMINA et
AMMAR**

ainsi que l'équipe de l'animalerie de la faculté des Sciences de la nature et de la vie :
Monsieur **AKNI NADJIB** et Madame **BOUALI KARIMA**.

Je remercie également l'équipe de la bibliothèque de la faculté des Sciences de la nature et de
la vie et en particulier : **Madame LAKHEL SALIMA et BOUKHALFA SAMIRA**
pour leur implication dans ma recherche.

Et à la fin je remercie tous mes collègues du département qui m'ont toujours soutenu :
MALIKA, NEDJMA, HOURIA, AMINA, FADILA, HANENE et NADJET.

Dédicace

Je dédie mon mémoire,

A la mémoire de mon très chère *papa*, que dieu le tout puissant a décidé qu'il ne soit pas au prés de moi pour partager le fruit de mes études.

A ma chère *maman* qui a été toujours présente dans toutes les situations, sans elle je ne peux guère arriver jusqu'au la.

A mon chère frère *WASSIM*, mes chère sœurs *AMINA* et *NARDJES YASMINE* qui m'ont soutenu jusqu'au bout.

A mes chère cousines *MAYA*, *DORIA* et *SAFIA*.

A ma chère tante *CHICHA*.

A mon gendre *MOUAD*.

A toute ma famille paternelle et maternelle : les familles *BOUZID* et *NOURI*.

A tous *mes amies* du pré et de loin.

A tous *mes collègues* de la faculté des Sciences de la vie et de la terre et en particuliers ceux du département de la Biologie Animale.

Et Enfin à tous *mes camarades* de la spécialité Master II Immunologie et Oncologie promotion 2016.

Liste des abréviations**Liste des figures****Liste des tableaux**

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre I Anatomie générale de l'aorte

I. Introduction.....	3
II. Histologie de l'aorte	4
II.1 L'intima	4
II.2 La média.....	4
II.3 L'adventice.....	4
III. Composantes structurales de l'artère saine.....	5
III.1 Cellules endothéliales.....	5
III.2 Cellule musculaire lisse (CML).....	6
III.3 Fibroblaste.....	6
IV. La matrice extracellulaire (MEC) de la paroi artérielle saine.....	6
IV.1 Collagènes.....	7
IV.2 Elastine.....	8
IV.3 Les protéoglycannes (PGs).....	8
IV.4 Les glycoprotéines de structure (GPS).....	8

Chapitre II L'athérosclérose

I. L'athérosclérose.....	9
I.1 Définition.....	9
I.2 Epidémiologie.....	9
I.3 Caractéristiques de la paroi vasculaire athéroscléreuse.....	10
II. Facteurs inducteurs de l'inflammation et de l'athérogenèse.....	12
III. La nature de la réponse inflammatoire.....	13

III.1 Interactions entre les cellules endothéliales, les monocytes et les lymphocytes T	13
III.2 Monocytes et immunité	15
III.3 Les plaquettes	17
IV. Les cibles de l'inflammation	19
IV.1 Lipoprotéines oxydées	19
IV.2 Dyslipidémie	19
IV.3 Hypertension	20
IV.4 Diabète	20
IV.5 Obésité	20
IV.6 Infection	21
V. Biomarqueurs inflammatoires et pathologies cardiovasculaires	21
V.1 Description des marqueurs de l'inflammation	21
V.1.1 Le fibrinogène.....	21
V.1.2 Les leucocytes.....	22
V.1.3 Les cytokines.....	22
V.1.4 Les molécules d'adhésion.....	22
V.1.5 Les immunoglobulines.....	22
V.1.6 La protéine C-réactive.....	23

Chapitre III La protéine C-Réactive

I. La protéine C-Réactive	24
I.1 Introduction	24
I.2 Le gène	24
I.2.1 Localisation.....	24
I.2.2 Régulation de l'expression du gène de la CRP.....	25
I.3 La protéine	25
I.3.1 Historique.....	25
I.3.2 Structure.....	26
I.3.3 Formes biologiques de la protéine CRP.....	28

I.3.4 Synthèse et localisation.....	28
I.3.5 Concentration plasmatique.....	29
I.3.6 Récepteurs.....	29
I.4 Fonctions de la CRP.....	31
I.4.1 Opsonisation, activation du complément et phagocytose.....	31
I.4.2 CRP et cholestérol.....	32
I.5 Lien causal entre la CRP et l'athérosclérose.....	37
I.5.1 La CRP et la plaque athéroscléreuse.....	37
I.5.2 Interaction avec les cellules et les composants de la paroi artérielle.....	38
<i>I.5.2.A Les cellules musculaires lisses.....</i>	<i>38</i>
<i>I.5.2.B Les LDL.....</i>	<i>39</i>
<i>I.5.2.C Les cellules endothéliales.....</i>	<i>39</i>
I.6 Interactions avec les cellules circulantes et les composants du sang périphérique.....	41
I.6.1 Les monocytes.....	41
I.6.2 Les neutrophiles.....	42
I.6.3 Le complément.....	42

Matériels et méthodes

I. Matériels.....	44
I.1 Matériel végétal.....	44
I.2 Choix des animaux.....	44
I.3 Produits utilisés.....	46
I.4 Equipements.....	47
II. Méthodes.....	48
II.1 Traitement des souris.....	48
II.2 Prélèvement sanguin.....	49
II.3 dissection.....	50
II.4 Méthodes de dosage des paramètres biologiques.....	51

II.4.1 Dosage du cholestérol total.....	51
II.4.2 Dosage des triglycérides.....	51
II.4.3 Dosage des HDL-LDL.....	51
II.4.4 Dosage des transaminases.....	52
II.4.5 Dosage de la CRP.....	52
II.5 Analyses statistiques	52

Résultats et Discussion

I. Poids et consommation de l'aliment.....	53
I.1 Première expérience.....	53
I.1.1 La variation du poids.....	53
I.1.2 La consommation de l'aliment.....	53
I.2 Deuxième expérience.....	55
I.2.1 La variation du poids.....	55
I.2.2 La consommation d'aliment.....	55
II. Les résultats du dosage des paramètres biochimiques.....	57
II.1 L'ASAT.....	57
II.2 L'ALAT.....	58
II.3 Le cholestérol.....	59
II.4 Les Triglycérides.....	60
II.5 L'HDL-c.....	61
II.6 L'LDL-c.....	62
II.7 La CRP.....	63
Conclusion.....	65
Résumé.....	67
Références bibliographiques.....	70
Annexe.....	82

Liste des abréviations

ABCA1	ATP-binding cassette transporter A1
AHA	American Heart Association
AGPI	Acide gras poly insaturés
ALT	Alanine aminotransférase
Apo E	Apoprotéine
ARNm	Acide ribonucléique messenger
AST	Aspartate aminotransférase
AVC	Accident vasculaire cérébrale
CCR2	CC chemokine receptor 2
CD40	Cluster de différenciation 40
CD40L	Cluster de différenciation
CETP	Protéines de transport des esters de cholestérol
CE	Cellules endothéliales
CML	Cellules musculaires lisses
CPA	Cellules présentatrices d'antigènes
CRP	Protéine C réactive
CXC 2	CXC Chemokine 2
ELAM-1	Endothelial leukocyte adhesion molecule
Fc	Fragment cristallisable
FcγRI	Récepteur I au Fc des immunoglobulines
FcRs	Récepteurs au Fc des immunoglobulines
GOT	Glutamate-oxalo-acetate-transaminase
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor
GMPc	Guanosine monophosphate cyclique
GPS	Glycoprotéines de structure
GPT	Glutamate-pyruvate-transaminase
HDL-c	High density lipoprotein cholesterol
HLA	Humain Leukocyte antigen
HL	Lipase hépatique
HTA	Hypertension artérielle
ICAM-1	Molécules d'adhésion intercellulaires 1

IDL	Intermediate density lipoprotein
IDM	Infarctus du myocarde
IFNγ	Interféron gamma
Ig	Immunoglobuline
IGF I:	Insuline like growth factor I
IL-1	Interleukine-1
IL-2	Interleukine-2
IL-6	Interleukine-6
IL-8	Interleukine-8
ITIM	Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif
LDL	Low density lipoprotein
LDLox	LDL oxydées
LDL-R	LDL récepteur
LEE	Limitante élastique externe
LEI	Limitante élastique interne
LFA-1	Lymphocyte function associated antigen 1
LOX-1	Récepteur membranaire des LDL oxydées
LPS	Lipopolysaccharide
LRP	LDL receptor related protein
L-sélectine	Ligand sélectine
LXR	Liver X receptor
MCP-1	Macrophage Chemotactic Protein 1
MCV	Maladies cardiovasculaires
MCSF	Macrophage colony stimulating factor
MEC	Matrice extra cellulaire
MEK	MAP Kinase Kinase
MGCSF	Macrophage growth colony stimulating factor
MMPs	Metalloproteinase de la matrice
NFκB	Nuclear Factor kappa B
NO	Oxyde nitrique
NOS	Synthases d'oxyde nitrique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONAB	Office National du Bétail

PCh	Phosphorylcholine
PDGF	Platelet derived growth factor
PECAM	Molécules d'adhésion « cellules endothéliales-plaquettes »
PGs	Protéoglycannes
PLTP	Protéines de transfert de phospholipides
PSGL-1	P-Selectin Glycoprotein-1
ROS	Reactive oxygen species
RXR	Retinoid X receptor
SAP	Sérum Amyloid
SR-B1	Scavenger receptor B1
TGF	Transforming Growth Factor
TG	Triglycérides
TNFα	Tumor necrosis factor alpha
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1
VCML	Cellules musculaires des vaisseaux
VLA-4	Very Late Antigen 4
VLDL	Very low density lipoprotein

Liste des figures

Figure.01 : *Schéma de l'aorte*.....3

Figure.02 : *Structure de la paroi artérielle*.....5

Figure.03 : *La matrice extra cellulaire des artères jeunes*.....7

Figure.04 : *Principales causes de décès dans le monde en 2005*.....10

Figure.05 : *Dysfonction endothéliale dans l'athérosclérose*.....14

Figure.06 : *Formation de la plaque graisseuse dans l'athérosclérose*.....15

Figure.07 : *Formation des lésions avancées de l'athérosclérose*.....16

Figure.08 : *Plaques fibreuses instables dans l'athérosclérose*.....19

Figure.09 : *Promoteur du gène de la CRP*.....25

Figure.10 : *Structure moléculaire et morphologie de la CRP humaine*27

Figure.11 : *Les différentes classes de récepteurs aux fragments Fc des immunoglobulines dans l'espèce humaine*.....30

Figure.12 : *Les différentes fonctions associées à la CRP*.....31

Figure.13 : *Influence du cholestérol intracellulaire sur la synthèse des récepteurs ABCA1 et SR-B1*.....34

Figure.14 : *Structure de la CRP avec les sites de fixation possibles à FcγRI et C*.....36

Figure.15 : *Répartition des souris dans les lots*.....44

Figure.16 : *La pesée des souris*.....45

Figure.17 : *enregistrement de la quantité l'aliment consommé*.....45

Figure.18 : *Incorporation de l'extrait de la plante et cholestérol à la farine et formation de boules*.....49

Figure.19: <i>Prélèvement sanguin et récupération du sérum après Centrifugation (3000 tours /15 minutes)</i>	49
Figure.20 : <i>Dissection des souris après anesthésie</i>	50
Figure.21 : <i>Prélèvement d'organe (le foie, le cœur et l'aorte)</i>	50
Figure.22 : <i>Evolution pondérale des souris de la première expérience</i>	54
Figure.23 : <i>Consommation d'aliment par les souris de la première expérience</i>	54
Figure.24 : <i>Evolution pondérale des souris de la deuxième expérience</i>	56
Figure.25 : <i>Consommation d'aliment par les souris de la deuxième expérience</i>	56
Figure.26 : <i>interaction de cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ASAT chez les souris</i>	57
Figure.27 : <i>interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ALAT chez les souris</i>	58
Figure.28 : <i>interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de cholestérol chez les souris</i>	59
Figure.29 : <i>interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux des triglycérides chez les souris</i>	60
Figure.30 : <i>interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'HDL-c chez les souris</i>	61
Figure.31 : <i>interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'LDL-c chez les souris</i>	62
Figure.32 : <i>interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de la CRP chez les souris</i>	63

Liste des tableaux

Tableau.01 : <i>Séquence des différentes étapes de la genèse de la plaque athéroscléreuse</i>	11
Tableau.02 : <i>Produits utilisés</i>	46
Tableau .03 : <i>Equipement utilisé</i>	47
Tableau.04 : <i>Traitement des souris</i>	48

Introduction

Introduction

L'excès de poids est devenu aujourd'hui une importante question de santé publique. Autrefois considérés comme maladie propre aux sociétés occidentales et nombreux pays développés, pays à haut revenu, L'excès de poids augmente de façon spectaculaire dans les pays à faible ou moyen revenu, surtout en milieu urbain. **(OMS 2003).**

L'excès de poids est généralement le résultat d'un déséquilibre entre les calories consommées et les calories dépensées. Les maladies liées à L'excès de poids comprennent les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, certains cancers (sein, prostate et côlon), hypertension, dyslipidémie, accident vasculaire cérébral, maladie du foie, maladies de la vésicule biliaire, l'apnée du sommeil, des problèmes respiratoires [1].

Différentes études épidémiologiques ont mis en évidence qu'il existe bien une relation étroite entre les régimes alimentaires et l'apparition de maladies cardiovasculaires et cancers, il semblerait que les pays les moins touchés par l'obésité soient la Corée et le Japon grands consommateurs de poisson (très riche en acides gras polyinsaturés). Ainsi le régime méditerranéen (à base de légumes, fruits et céréales) diminue le développement du cancer. La richesse de ce régime en AGPI semble être responsable de ses effets. [2].

La probabilité d'apparition d'une maladie cardiovasculaire est liée à un ou à plusieurs facteurs de risque. Ces facteurs sont de différentes origines et sont classés selon leur implication dans la survenue d'une pathologie. L'origine inflammatoire peut provenir des facteurs de risque eux-mêmes, d'une inflammation chronique liée à la polyarthrite rhumatoïde, au lupus érythémateux ou lors d'insuffisance rénale chronique. [3].

Plusieurs marqueurs sont utilisés en pratique clinique, d'autres dans les études cliniques mais très peu de biomarqueurs de l'inflammation répondent à tous ces critères.

L'un de ces marqueurs est la Protéine C – Réactive (CRP), définie en 2003 par les experts comme le biomarqueur de risque cardiovasculaire le plus pertinent d'un point de vue clinique et qui, indépendamment des autres facteurs de risque, peut prédire l'apparition de l'athérosclérose et ses complications. [4].

Notre travail se base sur l'utilisation d'un modèle expérimental d'hypercholestérolémie pendant une période de 18 jours d'expérimentation, les souris *Mus musculus* soumis à un régime hyperlipidique et hypercalorique, riche en acides gras saturés, provoque une hyperphagie et favorise l'accumulation de tissu adipeux qui conduit à l'obésité.

Les paramètres étudiés sont le Cholestérol total, les Triglycérides, les Transaminases hépatiques (ASAT / ALAT), l'HDL-c, l'LDL-c et la CRP.

Notre étude vise aussi à :

- Evaluer l'effet thérapeutique de l'extrait de plante *Crataegus monogyna* sur le taux des transaminases, le profil lipidique.....etc.
- Montrer l'effet des différents traitements sur le poids des animaux et leur consommation alimentaire.

Chapitre I

I. Introduction

L'aorte est la plus grosse artère du corps humain [5]. Il est commun de caractériser l'aorte en deux parties : l'aorte thoracique, qui naît directement après le ventricule Gauche et du quel elle est séparée par la valve aortique, et l'aorte abdominale qui est son prolongement, à partir du diaphragme et jusqu'à la bifurcation des artères fémorales (Figure.01) [6].

Chez les adultes sains, les diamètres aortiques moyens rapportés sont : de **35 à 39 mm** au niveau de la racine, de **25 à 37 mm** au niveau de l'aorte ascendante, de 14 à 29 mm au niveau de l'aorte descendante. Chez un adulte saï au repos, le débit sanguin est en moyenne **6,4 L/min (70-90 ml de sang éjecté par systole pour une moyenne de 65 pulsations/min)**

La pression artérielle oscille en moyenne entre **120 mm Hg** en systole et **70 mm Hg** en diastole. La vitesse du sang dans l'aorte ascendante saine est en moyenne de **40 cm/s**, les valeurs oscillant de **120 cm/s** en systole à des valeurs faiblement négatives en diastole. [7].

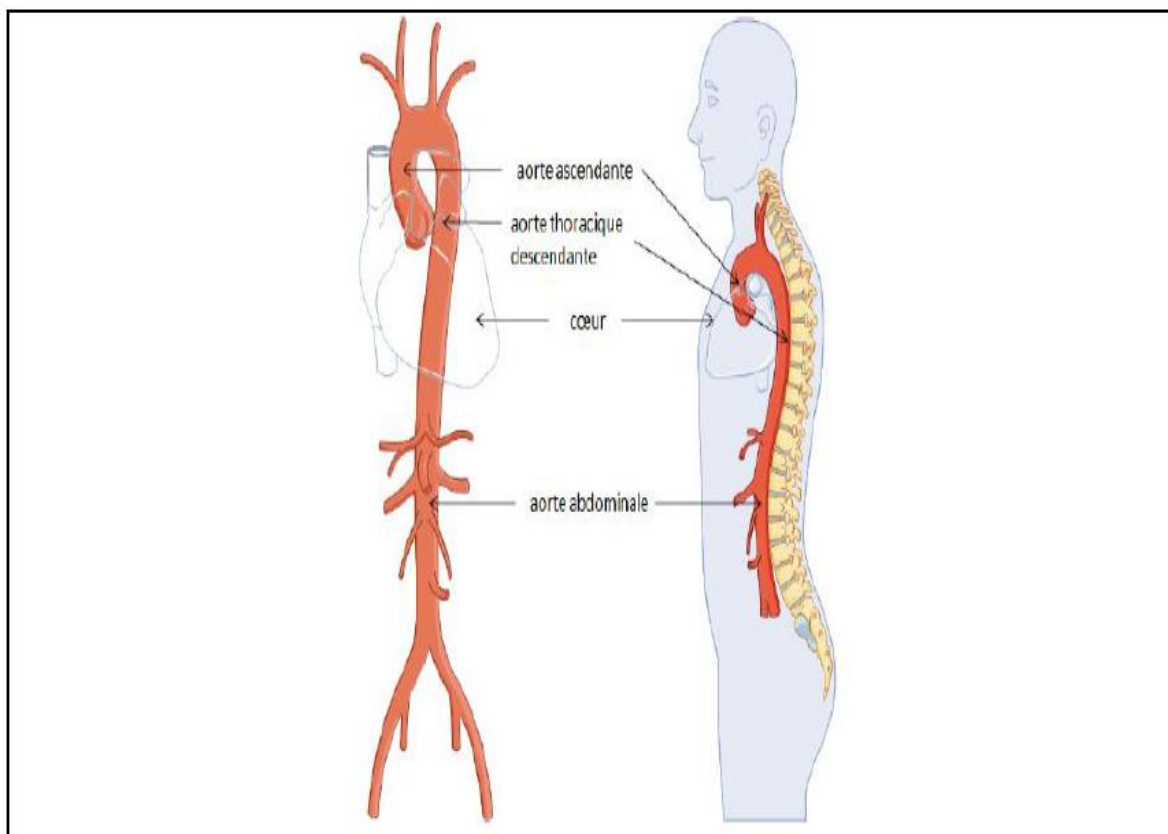


Figure.01 : Schéma de l'aorte (www.orpha.net).

II. Histologie de l'aorte

Les vaisseaux sanguins possèdent tous une architecture de base commune .Ils sont constitués de morphologiquement distinctes, de l'intérieur vers l'extérieur du vaisseau : l'intima, le média et l'adventice (**Figure.02**).

Chacune de ces tuniques est constituée d'un type cellulaire différent et d'une MEC spécifique .l'importance et la complexité de ces trois tuniques dépendent du vaisseau sanguin et peuvent être très importants ou réduites à une simple monocouche cellulaire.les vaisseaux, comme tous les autres organes sont vasculaires et innervés.

II.1 L'intima

L'intima est la partie la plus interne de la paroi, est principalement constituée de l'intérieur vers l'extérieur, d'une monocouche de cellules endothéliales et d'une fine couche de tissu conjonctif appelée lame basale.

Ces cellules endothéliales sont directement en contact avec le sang circulant et donc avec les métabolites, les hormones. **[8]**.

II.2 La média

Le média, partie intermédiaire de la paroi est séparée de l'intima par la limitant élastique interne (LEI) .C'est la partie la plus épaisse de la paroi vasculaire.

Elle contient exclusivement des CML et une MEC constituée majoritairement d'élastine de collagène **[9]**.

Les cellules sont organisées en feuillet et sont parallèles les unes aux autres, sont associées entre elles par une charpente de tissu conjonctif, les CML de la media ont un double rôle, contractile et sécrétoire **[8]**.

La MEC du média contient également du collagène de types I et III et des protéoglycans. De par sa composition cellulaire et matricielle, le média est responsable de la contraction et de l'élasticité vasculaires, d'élastine de collagène. **[10]**.

II.3 L'adventice

L'adventice, partie la plus externe de la paroi est peu ou très présente selon le type de vaisseaux. Son organisation est à peu près la même quelque soit le type de vaisseau.

L'adventice est constituée de fibroblastes et d'un tissu conjonctif lâche, formé de fibres de collagène et de quelques fibres élastiques épaisses.

L'adventice des artères est parcouru par ce système capillaire qui apporte les nutriments à la cellule les plus éloignées de la lumière du vaisseau. Il permet par ailleurs la fixation des vaisseaux aux tissus de voisinage [8].

Des études récentes ont montré que l'adventice est un compartiment capable de détecter les lésions ou dégâts de la paroi vasculaire et contient des cellules pro génitrices pouvant se différencier en CML pour repeupler la média et l'intima [11].

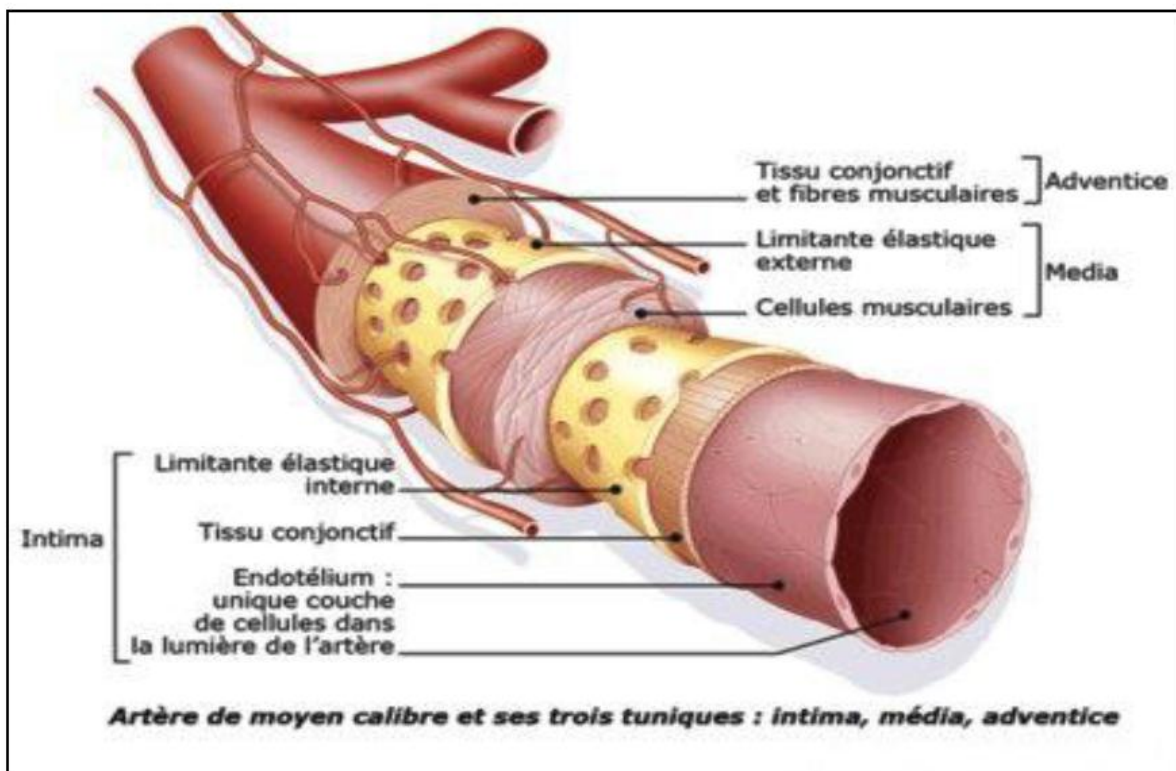


Figure.02 : Structure de la paroi artérielle. (<http://www.sanofi.fr>).

III. Composantes structurales de l'artère saine

III.1 Cellules endothéliales

Les cellules endothéliales forment une monocouche qui tapisse la face luminale des artères et exercent un rôle essentiel dans plusieurs fonctions physiologiques. Elles constituent une surface anti-thrombotique en inhibant la coagulation et induisant la fibrinolyse : la synthèse d'activateur tissulaire de plasminogène (t-PA), de thrombomoduline et de prostacycline (PGI₂), qui est un puissant inhibiteur de l'aggrégation plaquettaire, lui confère ses propriétés anti-coagulantes. [12].

III.2 Cellule musculaire lisse (CML)

Les CML sont multifonctionnelles. Elles contrôlent le tonus artériel (équilibre vasoconstriction/vasodilatation). La régulation de ce tonus artériel s'effectue principalement selon deux modalités : signaux peptidiques (angiotensine II...) et nerveux (système sympathique). D'autre part, les CML sont les principales cellules qui élaborent la matrice extracellulaire (MEC) de la média et de l'intima. Les CML participent à la stabilisation et à l'adaptation de la paroi artérielle en réponse aux contraintes et aux lésions mécaniques, par hypertrophie et par hyperplasie. Enfin, des résultats accumulés suggèrent que les CML jouent un rôle central dans l'homéostasie de la paroi artérielle en la protégeant de l'inflammation et de la protéolyse.

III.3 Fibroblaste

Les fibroblastes sont principalement localisés à l'adventice de l'artère. Leur rôle primordial est la synthèse des éléments de la MEC et notamment les collagènes et l'élastine. Les fibroblastes expriment de manière constitutive du Facteur Tissulaire, un activateur de la voie extrinsèque de la coagulation, limitant ainsi l'extravasation sanguine lors des ruptures de la paroi artérielle. [13].

IV. La matrice extracellulaire (MEC) de la paroi artérielle saine

La MEC est un assemblage de macromolécules (de nature protéique et glucidique) qui lient entre elles des cellules homologues ou hétérologues et les organisent en tissus (seuls les êtres unicellulaires n'ont pas de MEC).

La MEC est plus ou moins importante et de composition très différente selon le tissu considéré où les compositions macromoléculaires et les architectures structural de la matrice extracellulaires sont typiquement et spécifiquement pour chaque tissu : le derme et les tendons sont presque exclusivement constitués de matrice extracellulaire, le cerveau en contient très peu.

Les macromolécules de la MEC sont regroupées en quatre catégories : les collagènes, les protéoglycanes, l'élastine et les glycoprotéines de structure. La proportion de chacun de ces éléments est très variable selon le tissu considéré. **(Figure.03).** [14].

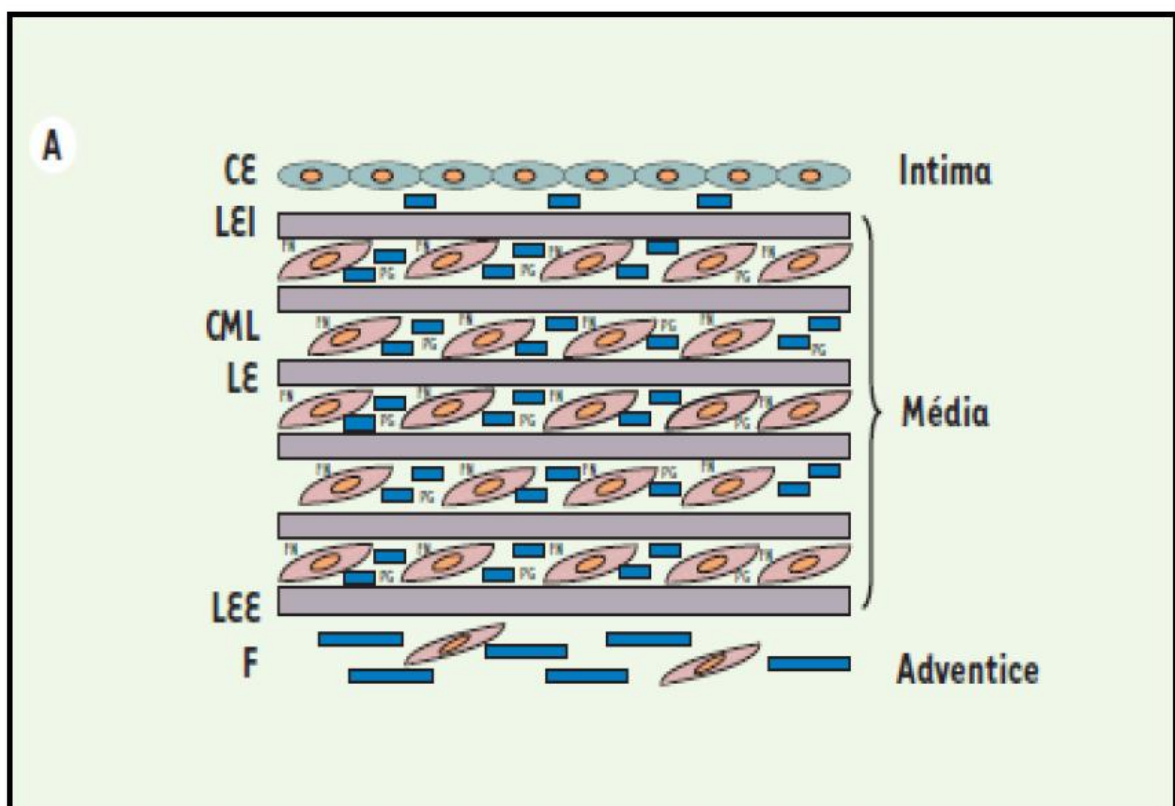


Figure.03 : *La matrice extra cellulaire des artères jeunes.* [14].

IV.1 Collagènes

Les collagènes de types I et III, de structure fibrillaire, sont présents dans toute la paroi vasculaire où ils représentent environ 80-90% des collagènes totaux. Ils sont synthétisés par les fibroblastes et les cellules musculaires lisses.

Dans l'intima, les cellules endothéliales synthétisent du collagène de type III. Le collagène de type I, le plus abondant, assure le support structural du vaisseau, le collagène de type III est impliqué dans l'élasticité et l'extensibilité de la paroi. Une mutation sur le gène codant pour le collagène de type I chez la souris est associée à des ruptures létales des vaisseaux. Le collagène de type V est localisé autour des CML et près des membranes basales qui régulent la migration, la croissance et la différenciation cellulaire.

Le collagène de type IV est spécifique des membranes basales soutenant les cellules endothéliales et entourant les CML des vaisseaux. [15].

IV.2 Elastine

L'élastine est une protéine fibreuse formée essentiellement d'acides aminés hydrophobes. Elle représente le composant majoritaire des fibres élastiques (70-90%) qui jouent un rôle primordial dans l'élasticité et l'extensibilité de la paroi artérielle. La teneur en élastine dans les vaisseaux est directement proportionnelle aux forces de pression exercées sur ces vaisseaux: les artères proches du coeur sont riches en élastine; à l'inverse, les vaisseaux soumis à des pressions plus faibles sont riches en collagènes.

L'élastine est synthétisée par les cellules endothéliales, les CML et les fibroblastes. Dans les CML, les contraintes mécaniques, le GMPc (Guanosine monophosphate cyclique), les glucocorticoïdes, le TGF augmentent la synthèse d'élastine. [15].

IV.3 Les protéoglycannes (PGs)

Les PGs contrôlent la perméabilité tissulaire et les mouvements des ions à cause de leur forte charge électrostatique négative. Leur localisation à l'interface membrane plasmique/MEC leur permet de contrôler l'intégrité structurale des tissus et d'influencer de nombreuses fonctions cellulaires comme la croissance, la différenciation, l'adhésion et la migration. Enfin, de par leur aptitude à former des complexes avec les autres molécules de la MEC, les PGs sont considérés comme essentiels pour le dépôt de la matrice synthétisée par les CML vasculaires.

IV.4 Les glycoprotéines de structure (GPS)

Elles sont caractérisées par une grande insolubilité et leur rôle est d'assurer la cohésion entre les membranes cellulaires et la MEC. [16].

Chapitre II

I. L'athérosclérose

I.1 Définition

L'athérosclérose est de loin la première cause de mortalité dans les pays développés, et à l'origine de la plupart des maladies cardio-vasculaires. Certains auteurs prévoient d'ailleurs qu'elle pourrait conserver ce palmarès pendant au moins vingt ans. Pathologie dont la définition est anatomopathologique, elle ne se manifeste qu'au bout de plusieurs années d'évolution infra clinique. Mieux comprendre ses mécanismes, reste donc capital.

La définition de l'AHA (American Heart Association) en 2007 est la suivante : « L'athérosclérose vient des mots grecs « athero » (pâte - colle) et « sclerosis » (dureté). Il s'agit du processus par lequel des substances grasses, cholestérol, produits de dégradation cellulaire, calcium et d'autres composants viennent s'accumuler dans l'intima artériel. Cette accumulation est appelée « plaque ». Elle affecte aussi bien les artères de gros et moyens calibres. Le durcissement des artères apparaît souvent avec l'âge » (<http://www.americanheart.org>).

I.2 Epidémiologie

Les conséquences cliniques de la formation de plaques d'athérome se manifestent à différents niveaux. Elles sont responsables d'affections aiguës ou chroniques **[17]**:

- de cardiopathies ischémiques dues à l'athérosclérose des artères coronaires ;
- d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) dus à l'athérosclérose des artères à visée encéphalique ;
- d'artérites dues, dans 90% des cas, à l'athérosclérose des artères des membres inférieurs.
- ou d'ischémies aiguës des membres.

Aussi, l'athérosclérose peut toucher toutes les artères, et entraîner des manifestations ischémiques chroniques ou aiguës.

Parmi les 58 millions de morts estimés dans le monde en 2005, 17.5 millions sont les conséquences directes des maladies cardiovasculaires. Elles représentent 30% de la mortalité totale suivies par le cancer (7.6 millions de morts) et les maladies chroniques respiratoires (4.1 millions) (**Figure.04**). (**OMS 2007**).

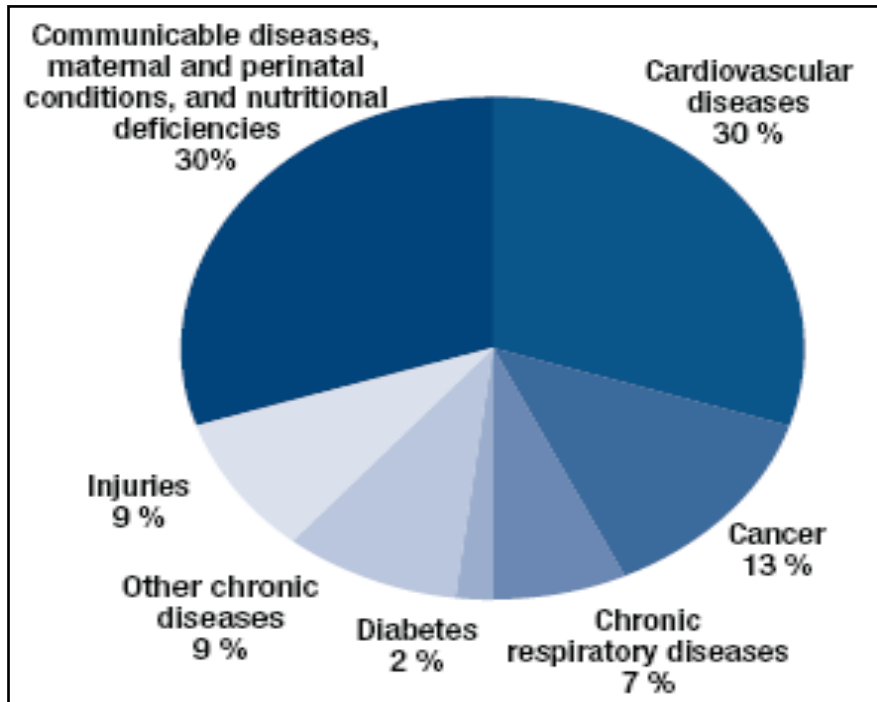


Figure.04 : Principales causes de décès dans le monde en 2005 (OMS 2007).

I.3 Caractéristiques de la paroi vasculaire athéroscléreuse

D'après les plus récentes descriptions anatomopathologiques, la plaque d'athérosclérose apparaît comme une lente métamorphose de l'intima artériel. H.C. STARY a proposé en 1994 une séquence des différentes étapes de la genèse de la plaque, en divisant cette évolution en sept stades (**Tableau.01**) :

- un épaissement fibromusculaire de l'intima, présent dès la vie fœtale, se charge durant l'enfance et l'adolescence, de cellules spumeuses (**stade I**).
- des stries lipidiques, dépôts longitudinaux de couleur jaunâtre, apparaissent (**stade II**).
- le centre de l'athérome se constitue (**stade III**) progressivement par accumulation de lipides dans et hors des cellules : c'est le cœur lipidique ou centre athéromateux, véritable point de départ de la plaque chez le jeune adulte.
- ce cœur lipidique va progressivement se couvrir d'une chape fibreuse ou fibromusculaire, constituée de cellules musculaires lisses de la média, de protéines extracellulaires, collagène, élastine et protéoglycanes, de facteur de croissance qui va entretenir cette formation (**stades IV et V**).

- le phénomène d'athérogenèse étant installé, il peut se maintenir pendant plusieurs années, jusqu'à ce que la lumière de l'artère soit diminuée de 50%, voire davantage (**stade VI**). A ce stade, le sang artériel peut pénétrer dans l'athérome et en augmenter brutalement le volume.
- la plaque athéromateuse peut se calcifier la rendant alors plus ou moins rigide (**stade VII**). [18].

Tableau.01 : Séquence des différentes étapes de la genèse de la plaque athéroscléreuse.

TYPE LESIONNEL	TERME PROPOSE	DESCRIPTION
I	Macrophages spumeux isolés	Macrophages spumeux isolés dans l'intima. Absence de lipides extracellulaires.
II	Strie lipidique	Couches de macrophages spumeux .Cellules musculaire lisses dans l'intima chargées de lipides.Fines particules lipidiques extracellulaires disséminées.
III	Préathérome	Modifications de types II associées à de multiples dépôts lipidiques extracellulaire formant de petits agrégats.
IV	Athérome	Modifications de types II associées à de multiples dépôts lipidiques extracellulaires massifs et confluents(noyau lipidique).
V	Plaque athéroscléreuse	Modifications de type IV associées à des dépôts massifs de collagène(chape fibreuse) recouvrant le noyau lipidique(type Va),avec calcifications(type Vb).
VI	Plaque athéroscléreuse compliquée	Modifications de type V avec rupture de la chape fibreuse(VIa), hémorragie intraplaque (VIb) ou thrombose(VIc)
VII	Plaque fibreuse	Epaissement massif de l'intima par sclérose collagène :lipides intra-et extracellulaires absents ou présents en quantité négligeable

II. Facteurs inducteurs de l'inflammation et de l'athérogenèse

Les nombreuses observations physiopathologiques cliniques et précliniques ont conduit à définir le « *dysfonctionnement endothélial* » comme la première étape de l'athérosclérose [19]. Chaque lésion caractéristique de l'athérosclérose représente un stade différent dans le processus inflammatoire chronique artériel. Si ce dernier devient excessif, la lésion devient alors avancée et complexe. De nombreuses causes peuvent expliquer le stress endothélial conduisant alors à l'athérosclérose, telles que les LDL élevés et modifiés, l'obésité, les radicaux libres créés par la fumée de cigarette, l'hypertension, le diabète, les altérations génétiques, les concentrations d'homocystéine plasmatique élevées mais aussi l'infection par des microorganismes.

L'endothélium des vaisseaux sanguins se sert du NO pour déclencher le relâchement de sa tunique de muscle lisse, provoquant ainsi une vasodilatation et un accroissement du débit sanguin et une diminution de l'agrégation des plaquettes sanguines. Ce mécanisme est indispensable à la préservation de l'endothélium. Si cette synthèse de NO se révèle insuffisante, le risque de présenter une maladie cardio-vasculaire augmente [20]. Cette dysfonction endothéliale, résultante de différentes agressions, entraîne des réponses compensatoires qui altèrent les propriétés homéostatiques de l'endothélium. Sa perméabilité augmente et l'adhérence vis-à-vis des leucocytes et plaquettes s'accroît, avec en parallèle, le développement des propriétés pro coagulantes et la synthèse des molécules vaso-active, cytokines et facteurs de croissance. Si la réponse inflammatoire ne neutralise pas ou n'élimine pas les agents générateurs de ce stress, ce processus peut continuer indéfiniment.

Alors, la réponse inflammatoire stimule la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses qui forment alors une lésion intermédiaire au niveau de la région inflammatoire, et si ces réponses persistent, cela peut entraîner un épaississement de la paroi artérielle compensée par un remodelage afin que la lumière du vaisseau ne soit pas altérée. [21].

Quant aux cellules inflammatoires, les granulocytes sont rarement présents pendant l'athérogenèse. En effet, la réponse inflammatoire est médiée principalement par les macrophages dérivés du monocyte et les lymphocytes T à chaque étape de la maladie. L'inflammation continue résulte en une augmentation du nombre de macrophages et de lymphocytes qui migrent du sang vers la lésion athérogénique. [22].

L'activation de ces cellules mène au relargage d'enzymes hydrolytiques, de cytokines, de chemokines et de facteurs de croissance pouvant induire des dommages supplémentaires et éventuellement conduire à la nécrose. L'accumulation cyclique des cellules mononucléaires, la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses et la formation de tissus fibreux mènent à un agrandissement et à une restructuration de la lésion. Cette dernière, complexe et avancée, se retrouve couverte d'une chape fibreuse qui protège un core lipidique et un tissu nécrotique. Faute de pouvoir compenser éternellement par une dilatation, la lésion athérogénique peut alors envahir la lumière artérielle et altérer le flux sanguin. [23].

III. La nature de la réponse inflammatoire

III.1 Interactions entre les cellules endothéliales, les monocytes et les lymphocytes T

Les sites artériels de morphologies spécifiques, tels que les branches, les bifurcations et les courbes entraînent des altérations du flux sanguin comme un cisaillement endothélial et une turbulence accrue [24]. L'endothélium surexprime alors des molécules spécifiques responsables de l'adhérence, la migration et l'accumulation de monocytes et de lymphocytes T. Ces molécules d'adhésion qui agissent comme des récepteurs pour les glycoconjugués et les intégrines présentes sur les monocytes et les lymphocytes T, incluent plusieurs sélectines, des molécules d'adhésion intercellulaires (ICAM) et des molécules d'adhésions des cellules vasculaires (VCAM) [25]. Les molécules associées à la migration des leucocytes à travers l'endothélium telles que les molécules d'adhésion « cellules endothéliales-plaquettes » (PECAM) agissent en conjonction avec des molécules chimiotactiques générées par l'endothélium, les cellules musculaires lisses et les monocytes. On retrouve parmi ces molécules MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1), l'ostéopontine ainsi que les LDL modifiées capables d'attirer les monocytes et les cellules T au niveau de la paroi artérielle. [26]. (Figure.05).

La nature du flux sanguin au niveau des sites vasculaires apparaît essentielle dans le développement des lésions. En effet, les changements de flux altèrent l'expression des gènes qui possèdent des éléments de réponse aux contraintes de cisaillement. Par exemple, les gènes codant pour ICAM-1, la chaîne β de PDGF et le facteur tissulaire dans les cellules endothéliales, sont pourvus de ces éléments de réponse et leur expression est augmentée par les contraintes de cisaillement [27].

En outre, les altérations du flux sanguin semblent être critiques dans la détermination des sites artériels susceptibles de développer des lésions. En effet, le roulement et l'adhérence des monocytes et des cellules T sont prédominants au niveau de ces sites, résultat de la surexpression des molécules d'adhésion à la fois dans les cellules endothéliales et les leucocytes. [28].

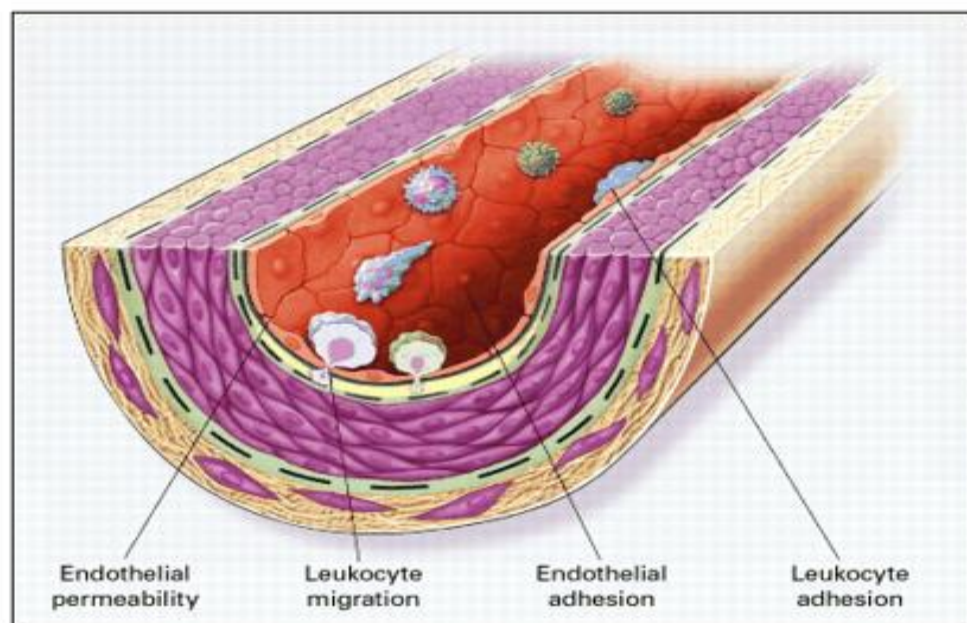


Figure.05 : *Dysfonction endothéliale dans l'athérosclérose* [28].

Les changements les plus précoces qui précèdent la formation des lésions athérogéniques prennent place dans l'endothélium. Ces changements incluent une augmentation de la perméabilité endothéliale aux lipoprotéines et autres constituants plasmatiques médiée par l'oxyde nitrique, la prostacycline, le PDGF, l'angiotensine II et l'endothéline, ainsi que la surexpression membranaire des molécules d'adhésion leucocytaires telles que la L-sélectine, les intégrines et PECAM-1. D'autres modifications apparaissent telles que la surexpression des molécules d'adhésion endothéliale E-sélectine, P-sélectine, ICAM-1 et VCAM-1. Enfin, la migration des leucocytes vers la paroi artérielle est médiée par les LDL oxydées, MCP-1, IL-8, PDGF, MCSF et l'ostéopontine [29].

Les chémokines sont aussi responsables de la chimiotaxie et de l'accumulation des macrophages dans les plaques précoces. L'activation des monocytes et des cellules T mène à la sur expression de récepteurs à leur surface, tels que les molécules « mucin-like » qui fixent les sélectines, les intégrines qui se fixent aux molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines et des récepteurs qui interagissent avec des molécules chimiotactiques.

Ces interactions « Récepteurs – Ligands » activent alors les cellules mononucléaires, induisent la prolifération cellulaire et participent au développement des réponses inflammatoires au niveau des sites lésés. [30]. (Figure.06).

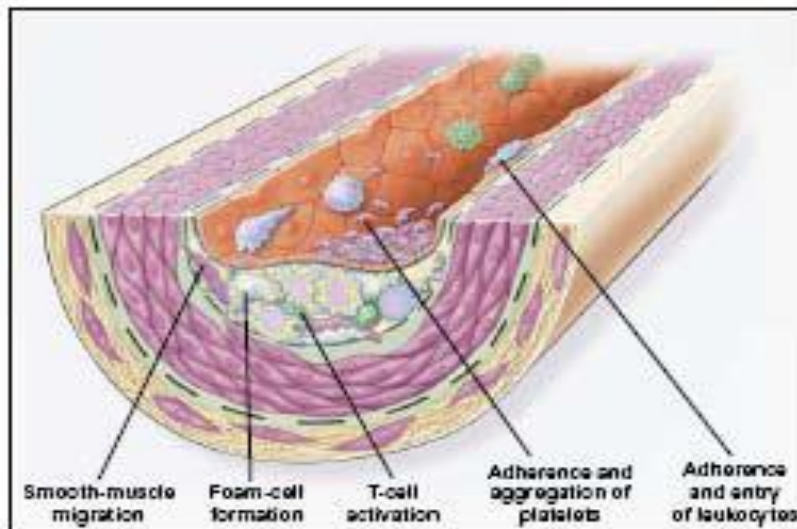


Figure.06 : Formation de la plaque graisseuse dans l'athérosclérose [30].

Les plaques graisseuses initiales sont constituées de monocytes chargés en lipides, de macrophages (cellules spumeuses), de lymphocytes T et plus tard par des cellules musculaires lisses (CML). Les étapes impliquées dans ce processus sont : i) la migration des CML stimulée par PDGF, FGF-2 et TGF- β) l'activation des cellules T médiée par le TNF α , IL- 2 et GMCSF) la formation de cellules spumeuses médiée par les LDL oxydées, le MCSF, le TNF α et IL-1) l'adhérence et l'agrégation des plaquettes stimulées par les intégrines, la sélectine P, la fibrine, le facteur tissulaire, le thromboxane A2 et les facteurs décrits dans la figure 3 comme responsable de l'adhésion et de la migration des leucocytes [29].

III.2 Monocytes et immunité

Le monocyte, précurseur du macrophage dans tous les tissus, est acteur à chaque phase de l'athérogenèse. Les macrophages dérivés du monocyte sont des cellules présentatrices d'antigène (CPAg) qui secrètent des cytokines, chimiokines, facteurs de croissance, metalloprotéases et autres enzymes hydrolytiques. L'invasion continue, la survie et la prolifération des cellules mononucléaires au niveau des lésions, dépendent en partie de facteurs tels que le MCSF et le MGCSF (pour les monocytes) et IL-2 (pour les lymphocytes).

L'exposition continue au MCSF permet au macrophage de survivre *in vitro* et de se multiplier au sein des lésions. En revanche, les cytokines inflammatoires telles que l'IFN γ (interféron γ) activent les macrophages et sous certaines conditions stimulent l'apoptose. Si cela apparaît *in vivo*, les macrophages forment des cores nécrotiques caractéristiques des lésions avancées et complexes. [31]. (Figure.07).

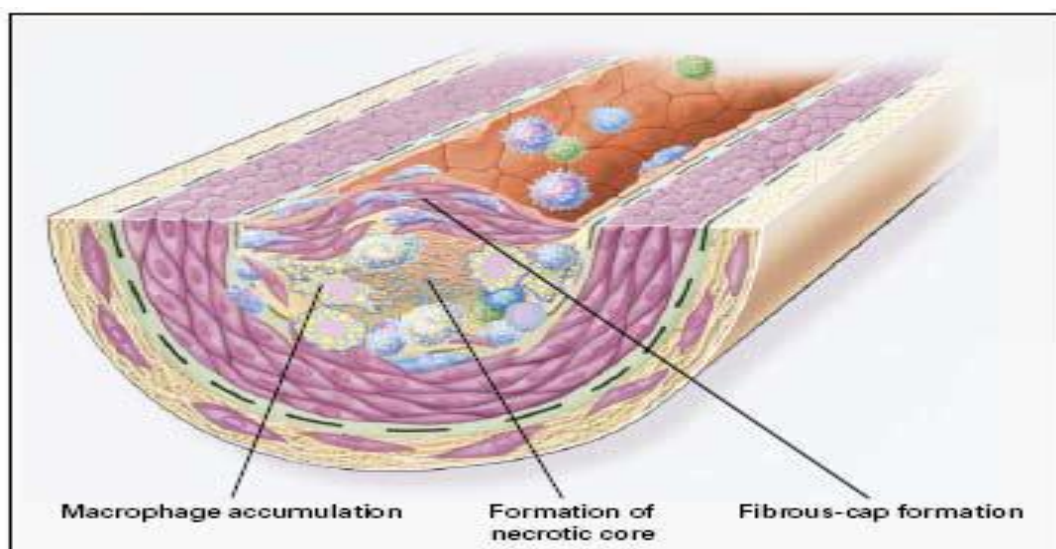


Figure.07 : Formation des lésions avancées de l'athérosclérose[31].

Lorsque les plaques graisseuses progressent pour devenir plus complexes, elles tendent à former une chape fibreuse qui recouvre la lésion de la lumière. Cela représente un type de cicatrisation fibreuse en réponse au traumatisme. La chape fibreuse recouvre un mélange de leucocytes, lipides et débris, qui peuvent former un core nécrotique. Ces lésions s'étendent par l'intermédiaire de l'adhésion et pénétration leucocytaire continue, toujours causées par les mêmes facteurs que ceux listés en figures 3 et 4. Les facteurs principaux associés à l'accumulation de macrophages incluent le MCSF, MCP-1 et les LDL oxydées. Le core nécrotique est le résultat de l'apoptose et nécrose, de l'activité protéolytique augmentée et de l'accumulation de lipides [29].

Initialement, seules les cellules musculaires lisses semblaient capables de proliférer pendant l'expansion des lésions athérogéniques, mais la réplification des macrophages dérivés du monocyte et des cellules T, est probablement aussi importante.

La capacité des macrophages à produire des cytokines (TNF- α , IL-1 et TGF- β), des enzymes protéolytiques (en particulier des métalloprotéases) et des facteurs de croissance (PDGF et IGF I) peut-être essentielle dans le rôle de ces cellules à promouvoir à la fois des dommages et des réparations qui accompagnent la progression de la lésion [32]. **(Figure.06)**.

Les macrophages activés expriment les antigènes d'histocompatibilité de classe II tels que HLA-DR qui leur permettent de présenter les antigènes aux lymphocytes T. C'est pourquoi, il n'est pas surprenant que les réponses immunes médiées par les cellules puissent être impliquées dans l'athérogenèse puisqu'à la fois les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ sont présents dans les lésions à toutes les étapes [33]. Les cellules T sont activées quand elles se fixent à l'antigène présenté par les macrophages. Cette activation se traduit par la sécrétion de cytokines dont l'IFN γ et les TNF α et β qui amplifient ainsi la réponse inflammatoire. Les cellules musculaires lisses au niveau des lésions présentent également des molécules HLA de classe II à leur surface, supposées être induites par l'INF γ et peuvent aussi présenter des antigènes aux cellules T. L'un des antigènes possible peut-être les LDL oxydées produits par les macrophages [34].

Certaines protéines à savoir, peuvent aussi contribuer à l'auto-immunité, du fait de leurs nombreuses fonctions dont l'assemblage, le transport intracellulaire et la prévention de la dénaturation protéique. Ces protéines peuvent être hautement exprimées dans les cellules endothéliales et participer aux réponses immunes [35].

Enfin, une molécule immuno-régulatrice, la CD40 ligand (CD40-L) [36], ainsi que son récepteur le CD40, peuvent être exprimés, *in-vivo*, par les macrophages, les cellules T, l'endothélium et les cellules musculaires lisses dans les lésions athérogéniques.

L'activation du système immunitaire semble être lié à la surexpression de CD40-L et CD40. D'autre part, le CD40-L induit la sécrétion de IL-1 β par les cellules vasculaires amplifiant ainsi la réponse inflammatoire (Schonbeck U. *et al.* 1997a), alors que l'inhibition de CD40 par des anticorps bloquants réduit la formation des lésions chez des souris ApoE [37].

III.3 Les plaquettes

En l'absence de dommages, les plaquettes sont essentielles dans le maintien de l'intégrité vasculaire et la protection contre l'hémorragie spontanée via la réparation de l'endothélium.

Elles jouent également un rôle dans le développement de syndromes coronariens aigus, dans l'apparition de dommages cérébrovasculaires et dans la formation et l'extension de

plaques athéroscléreuses. En effet, les plaquettes activées peuvent s'accumuler sur les parois artérielles et recruter des plaquettes additionnelles au sein du thrombus en expansion.

L'adhésion plaquettaire et la thrombose sont ubiquitaires lors de l'initiation et la génération des lésions de l'athérosclérose chez les animaux et humains [38]. **(Figure.06).**

Les plaquettes qui adhèrent à la paroi des vaisseaux dont l'endothélium est endommagé, contribuent au développement des lésions athéroscléreuses chroniques [39]. Ces plaquettes activées relarguent leurs granules qui contiennent des cytokines et des facteurs de croissance, qui ensemble avec la thrombine, contribuent à la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses et des monocytes [40]. En outre, l'activation des plaquettes mène à la formation d'acide arachidonique libre qui peut être transformé en thromboxane A₂, l'un des plus puissants vasoconstricteurs et agrégants plaquettaires connus, ou bien en leucotriènes capables d'amplifier la réponse inflammatoire.

La rupture de la plaque d'athérome et la thrombose sont des complications des lésions avancées qui mènent à des syndromes coronariens instables ou à l'infarctus du myocarde [41]. **(Figure.08).**

L'un des composants essentiels des plaquettes est le récepteur aux glycoprotéines IIb/IIIa qui appartient à la superfamille des intégrines des récepteurs des molécules d'adhésion et apparaît à la surface des plaquettes pendant l'activation plaquettaire et la formation du thrombus. Ces récepteurs ont une fonction homéostatique essentielle et leurs antagonistes empêchent la formation de thrombus chez les patients qui ont eu un infarctus du myocarde [42].

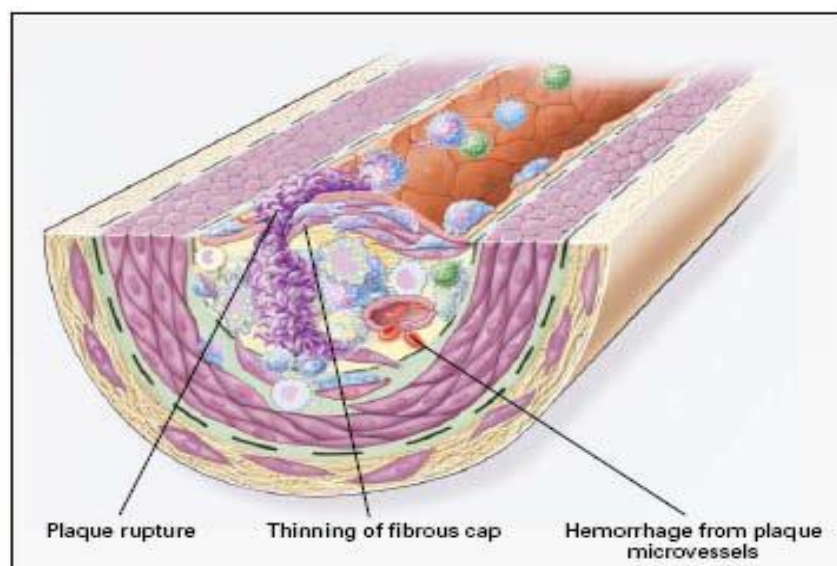


Figure.08 : *Plaques fibreuses instables dans l'athérosclérose*[42].

La rupture de la chape fibreuse peut rapidement mener à la thrombose. Elle apparaît habituellement à des sites où la chape fibreuse qui recouvre la lésion avancée est plus fine. La raison de cet amincissement de la chape fibreuse est due à l'influx continu et à l'activation des macrophages qui sécrètent des metalloprotéases (MMPs) et d'autres enzymes protéolytiques au niveau de ces sites. Ces enzymes causent la dégradation de la matrice qui peut conduire à l'hémorragie depuis les *vasorum* ou la lumière de l'artère. Cela résulte alors en la formation d'un thrombus et par conséquent à l'occlusion de l'artère [29].

IV. Les cibles de l'inflammation

IV.1 Lipoprotéines oxydées

Selon l'hypothèse de l'oxydation, les LDL retenues dans l'intima, par la fixation aux protéoglycanes, subissent des modifications oxydatives. Ainsi, les hydroperoxydes lipidiques, les lysophospholipides, les composés carbonylés sont localisés dans la fraction lipidique de l'athérome [43]. Ces lipides modifiés peuvent induire l'expression de molécules d'adhésion, chimiokines, cytokines pro-inflammatoires et autres médiateurs de l'inflammation au niveau des macrophages et des cellules de la paroi vasculaire. La partie « apoprotéine » des particules lipoprotéïques peut subir des modifications dans la paroi artérielle, rendant alors celles-ci antigéniques. Les particules sont alors capables de stimuler les cellules T activant, par conséquent, la réponse immunitaire.

Bien qu'attractive, et argumentée par un nombre important d'expériences, l'hypothèse d'un lien étroit entre les LDL oxydées et l'athérosclérose continue encore à être approfondie.

En effet, l'analyse chimique des différents types de lipides modifiés et de protéines extraites à partir d'athérome humain ne correspondent pas forcément aux composants dérivés de lipoprotéïnes oxydées *in vitro* qui ont fourni la plupart des preuves reliant lipoprotéïnes oxydées et inflammation. [44].

IV.2 Dyslipidémie

D'autres particules lipoprotéïques tels que les VLDL (lipoprotéïnes riches en triglycérides), les VLDLR, les IDL et la lipoprotéïne Lp(a) ont un potentiel athérogène. Ces particules peuvent subir les mêmes modifications oxydatives que les LDL.

De plus, certaines expériences suggèrent que les VLDL beta peuvent elles-mêmes activer les fonctions inflammatoires des cellules endothéliales vasculaires [45].

IV.3 Hypertension

L'hypertension est l'un des facteurs de risque principal de l'athérosclérose. Tout comme pour l'athérosclérose, l'inflammation peut contribuer à la physiopathologie de l'hypertension fournissant alors le lien physiopathologique entre ces deux maladies. L'angiotensine II (Ang II), en plus de ces propriétés vasoconstrictrices, peut conduire à l'inflammation de l'intima.

Par exemple, Ang II induit la production de l'anion superoxyde depuis les cellules endothéliales artérielles et les cellules musculaires lisses. Ang II peut également augmenter l'expression chez les CML des cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-6 et MCP-1 ainsi que de la molécule d'adhésion VCAM-1 sur les cellules endothéliales. [46].

IV.4 Diabète

Le diabète est un autre facteur de risque de l'athérosclérose, tout aussi important. La glucotoxicité, qui dépend de l'évolution du métabolisme glucidique à partir des voies glycolytiques, peut conduire à la formation de produits glucidiques via les voies de synthèse du sorbitol, de l'hexosamine, et des produits AGE (produits de glycation avancés). Ces voies augmentent le stress oxydatif et/ou bloquent l'action de l'insuline. D'autre part, un défaut génétique du récepteur à l'insuline peut conduire à la dysfonction endothéliale.

De plus, même en l'absence de résistance à l'insuline, l'hyperglycémie active la voie de synthèse de l'hexosamine chez les cellules endothéliales, ce qui affecte la production de NO et active l'endothélium entraînant alors sa dysfonction. [47].

IV.5 Obésité

L'obésité prédispose non seulement à la résistance à l'insuline et donc au diabète, mais contribue aussi à la dyslipidémie athérogénique. En effet, des concentrations élevées d'acides gras libres provenant de la graisse viscérale enrichissent le foie et stimule la synthèse des VLDL par les hépatocytes. L'élévation des VLDL peut diminuer le taux de cholestérol-HDL en augmentant les échanges de HDL vers les VLDL par la protéine de transfert cholesteryl esterase. Le tissu adipeux peut alors synthétiser des cytokines tels que TNF α et IL-6. De cette façon, l'obésité elle-même induit l'inflammation et potentialise l'athérogenèse. Les études épidémiologiques de See et al. [48]. axées sur l'association des différentes mesures de

surpoids et d'obésité avec l'athérosclérose confirment que l'obésité contribue à la mortalité cardiovasculaire via le développement de l'athérosclérose.

IV.6 Infection

Les agents infectieux fournissent également un stimulus inflammatoire qui accentue l'athérogenèse [49]. Les infections aiguës peuvent altérer l'hémodynamique, la coagulation et les systèmes fibrinolytiques précipitant alors les événements ischémiques. Les infections extravasculaires chroniques (gingivite, prostatite, bronchite...) peuvent augmenter la production extravasculaire de cytokines inflammatoires et par conséquent accélérer l'évolution de lésions athéroscléreuses. La plupart des plaques d'athérome humaines montrent des signes d'infection d'agents microbiens tels que *Chlamydia pneumoniae*. Cette bactérie, présente dans la plaque artérielle, peut relarguer du lipopolysaccharide (LPS) qui est une endotoxine et des protéines « heat shock » qui peuvent stimuler la production de médiateurs pro-inflammatoires chez les cellules endothéliales vasculaires, les CML et les leucocytes infiltrés dans la paroi. [50] et [51].

V. Biomarqueurs inflammatoires et pathologies cardiovasculaires

Un nombre important de maladies inflammatoires, telles que l'arthrite rhumatoïde ou la maladie de Crohn, sont associés à des taux élevés de composés circulants, tels que la protéine C-réactive, le fibrinogène, les immunoglobulines et d'autres protéines de la phase aiguë de l'inflammation. D'autre part, l'hyperlipémie n'étant présente que dans moins de 50% chez les patients qui ont développé un IDM, et étant donné le rôle essentiel des médiateurs inflammatoires dans l'athérogenèse et la physiopathologie de la vulnérabilité de la plaque d'athérome, l'attention s'est focalisée sur les concentrations plasmatiques de ces marqueurs inflammatoires (biomarqueurs) et leurs capacités à prédire un risque accru à développer une pathologie cardiovasculaire.

V.1 Description des marqueurs de l'inflammation

V.1.1 Le fibrinogène

Cette protéine est synthétisée par le foie. Ses effets hémostatiques augmentent la viscosité sanguine et l'adhésion des leucocytes. Sa sécrétion est régulée par un grand nombre de cytokines. Ce marqueur de l'inflammation est élevé chez les sujets en bonne santé mais qui héritent d'un risque pour l'infarctus du myocarde [52].

V.1.2 Les leucocytes

La phase la plus précoce de formation de la plaque est marquée par l'infiltration de leucocytes dans la paroi artérielle. Les leucocytes sont produits par la moelle osseuse et participent à la synthèse de nombreuses cytokines inflammatoires et des anticorps. Les cytokines affectent elles-mêmes le nombre de cellules dans le sang périphérique. Le nombre de leucocytes est statistiquement associé à différents facteurs de risque cardiovasculaire tels que le tabagisme, l'obésité et la pression sanguine. [53].

V.1.3 Les cytokines

Les principales cytokines pro-inflammatoires sont les interleukines IL-1, IL-6 et TNF- α . TNF α est une cytokine circulante multifonctionnelle sécrétée des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses aussi bien que des macrophages. Cette cytokine joue un rôle majeur dans la cascade de stimulation et d'activation d'autres cytokines. Quant aux autres cytokines pro-inflammatoires IL-1 et IL-6, ce sont des cytokines pleïotropiques à effets variés (reliés à l'inflammation, la défense de l'organisme et l'infiltration tissulaire) .

IL-6 est un médiateur clé de la réponse aiguë de l'inflammation et le déterminant principal de la production de CRP [54].

V.1.4 Les molécules d'adhésion

L'adhésion des leucocytes circulants à l'endothélium et leur transmigration à l'intérieur de la paroi artérielle est une étape précoce dans la formation de l'athérosclérose. Ces étapes sont dépendantes d'une cascade d'évènements médiée par une famille de molécules d'adhésion exprimées à la surface des cellules endothéliales vasculaires [55]. La molécule 1 d'adhésion cellulaire vasculaire, la molécule d'adhésion intracellulaire (ICAM-1), la molécule d'adhésion leucocytaire (ELAM-1) et le récepteur E-selectin sont exprimés à la surface des cellules endothéliales, cellules musculaires lisses et macrophages tissulaires.

Ces molécules d'adhésion induisent le roulement des monocytes et lymphocytes à leurs surfaces, ainsi que la fixation et la migration transendothéliale de ces cellules sanguines [56].

V.1.5 Les immunoglobulines

Elles sont sécrétées par les lymphocytes B activés et font parti de la réponse immunitaire humorale suite à l'agression de microorganismes. Les IgG, IgA et IgM sont sécrétés à partir des lymphocytes activés et participent en fonction du temps de réponse à la fonction de « mémoire immune ». [57].

V.1.6 La protéine C-réactive

La CRP est une protéine pentamérique synthétisée dans le foie. Sa principale action est d'activer le complément et de bloquer les infections. Les principaux stimuli de la sécrétion de la CRP sont IL-1 et IL-6. Les niveaux circulants de la CRP sont reliés à un grand nombre de facteurs de risques cardiovasculaires tels que l'obésité, la fumée de cigarette, le fibrinogène, le cholestérol-HDL, la pression sanguine, le taux de triglycérides, le diabète, aux apolipoprotéines B et inversement aux taux de cholestérol-HDL à la fois chez les enfants et les adultes. D'autre part, l'augmentation de la température au niveau de plaques coronariennes instables évaluées par un cathéter thermogénique invasif est corrélée à des concentrations élevées de CRP [58].

Chapitre III

I. La protéine C-Réactive

I.1 Introduction

La Protéine C –Réactive est un membre de la famille protéique des pentraxines qui inclue la protéine Sérum Amyloid (SAP), un constituant de tous les dépôts amyloïdes. Chez l’homme et d’autres espèces animales, la CRP est une protéine plasmatique dont la concentration augmente de manière rapide et importante en réponse à une infection ou un dommage tissulaire. La CRP, liée au Ca^{2+} , se fixe spécifiquement à la phosphorylcholine (PCh), constituant de nombreuses bactéries et polysaccharides fongiques, ainsi qu’à la plupart des membranes cellulaires biologiques [59]. En effet, la CRP a été découverte et nommée en raison de sa réactivité avec les résidus PCh de C-polysaccharide, l’acide teichoïque de *Streptococcus pneumoniae* [60]. La CRP se fixe également sur certains constituants nucléaires qui ne contiennent pas de PCh, tels que les petites particules ribonucléiques [61]. La CRP complexée au ligand est reconnue par C1q et stimule efficacement la voie classique d’activation du complément humain [62]. La CRP complexée peut aussi éliciter des réponses des cellules phagocytaires à travers la fixation aux récepteurs FcγRI et FcγRII [63]. Cette capacité à reconnaître des agents pathogènes et à médier leur élimination en activant la voie du complément et en recrutant les cellules phagocytaires, fait de la CRP un constituant important de la première ligne de défense innée de l’hôte. D’autre part, la protéine apparaît jouer un rôle dans la clairance des cellules hôtes apoptotiques et nécrotiques, permettant ainsi une restauration de la structure et de la fonction des tissus endommagés.

Cependant, comme d’autres éléments liés à l’immunité, la CRP n’a pas seulement des effets protecteurs mais peut développer des effets potentiellement nocifs. Ainsi, la CRP est impliquée directement dans l’athérogenèse [63], et dans la médiation des dommages tissulaires dans l’infarctus du myocarde [65].

I.2 Le gène

I.2.1 Localisation

Le gène de la CRP a été cartographié dans l’espèce humaine sur le bras court du chromosome 1 entre 1q21 et 1q23. Il est constitué de 1913 bases et ne contient qu’un seul intron [5]. De nombreux polymorphismes de ce gène ont été décrits mais seulement trois ont été associés à une variation de la concentration plasmatique de CRP [6]. Le gène de la CRP génère un ARN de 1631pb.

I.2.2 Régulation de l'expression du gène de la CRP

Le promoteur du gène de la CRP contient plusieurs éléments de réponse à l'interleukine-1 beta (IL-1 β) et à l'interleukine 6 (IL-6) (**Figure.09**). L'expression du gène de la CRP dans les hépatocytes est influencée par deux cytokines pro-inflammatoires que sont l'interleukine-1 beta (IL-1 β) et l'interleukine 6 (IL-6). L'IL-6 seule est capable d'activer l'expression du gène de la CRP alors que l'IL-1 ne le peut qu'en synergie avec l'IL-6.

La régulation par l'IL-6 et l'IL-1 fait intervenir différents facteurs de transcription que sont C/EBP β , C/EBP δ (ou NF-IL-6 beta), et STAT3. L'IL-1, quant à elle, permet la fixation de Rel p50 sur le site NF κ B en position -46 ou -2652. C/EBP β et C/EBP δ peuvent interagir avec deux éléments de réponse à l'IL-6 (IL-6RE) présents dans le promoteur du gène de la CRP et centrés en position -53 et -219. STAT3 est capable de se fixer en position -108 et de favoriser la synthèse du gène de la CRP. [9].

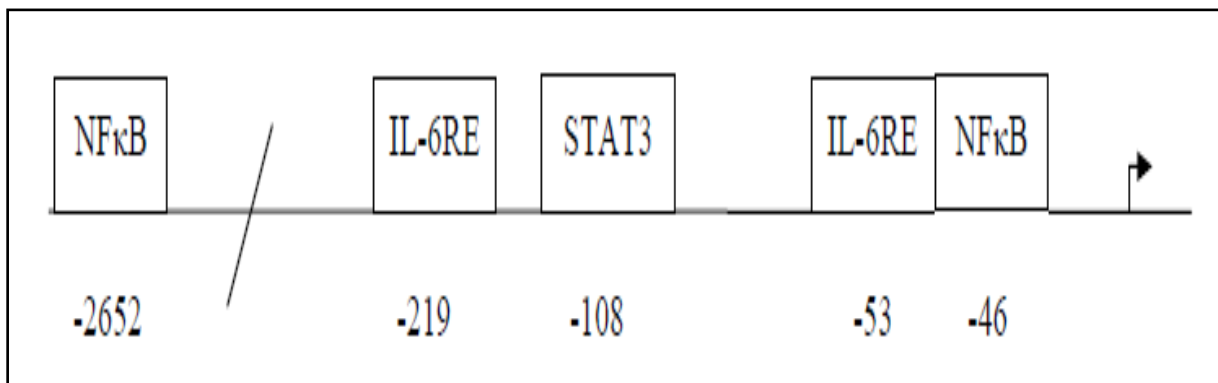


Figure.09 : Promoteur du gène de la CRP [14].

I.3 La protéine

I.3.1 Historique

Découverte en 1930 par Tillett et Francis, la protéine C-réactive (CRP) a été isolée à partir de sérums de patients atteints d'une infection par *Streptococcus pneumoniae*. Elle tient son nom de la réactivité qu'elle exerce vis-à-vis du polysaccharide C contenu dans la paroi cellulaire des pneumocoques [10].

I.3.2 Structure

La structure de la CRP a été déterminée par cristallographie aux rayons X à une résolution de 3 Å [66]. Comme la SAP, la CRP est constituée de 5 protomères associés de manière non covalente arrangés symétriquement autour d'un pore central (**Figure.09**).

Le protomère est constitué de 206 acides aminés (aa) repliés en 2 feuillets β antiparallèles avec une topologie aplatie. La structure est très similaire à celle de la SAP bien que certaines propriétés caractérisent chaque protéine.

Les données de microscopie électronique [67]. et de cristallographie indiquent que tous les protomères de la CRP pentamérique ont la même orientation. Ainsi, la molécule présente deux faces, une face dite de « reconnaissance » constituée de 5 sites de fixation à la phosphocholine et aux ions Ca^{2+} et une face dite « effectrice » constituée des sites de fixation à C1q et probablement aux récepteurs Fc. Deux régions d'acides aminés de la CRP ont été identifiées comme essentielles à la fixation sur les récepteurs Fc γ RI : la séquence LLGGPS homologue de la séquence (234 - 239) de l'IgG₁ humain et la séquence ALPAPI (327 – 333). Cette séquence d'acides aminés (175 à 185) de la CRP forme la pointe d'une longue fente profonde au sein de chaque protomère au niveau de la face effectrice (**Figure.10**).

Les autres sous-unités de la (**Figure.10**).montrent des résidus autour de cette fente jouant un rôle important dans l'interaction avec C1q et les récepteurs Fc. La modélisation de la fixation de la CRP à C1q a prédit que chaque domaine globulaire de C1q fixe un pentamère de CRP au niveau du pore central de la face effectrice [68].

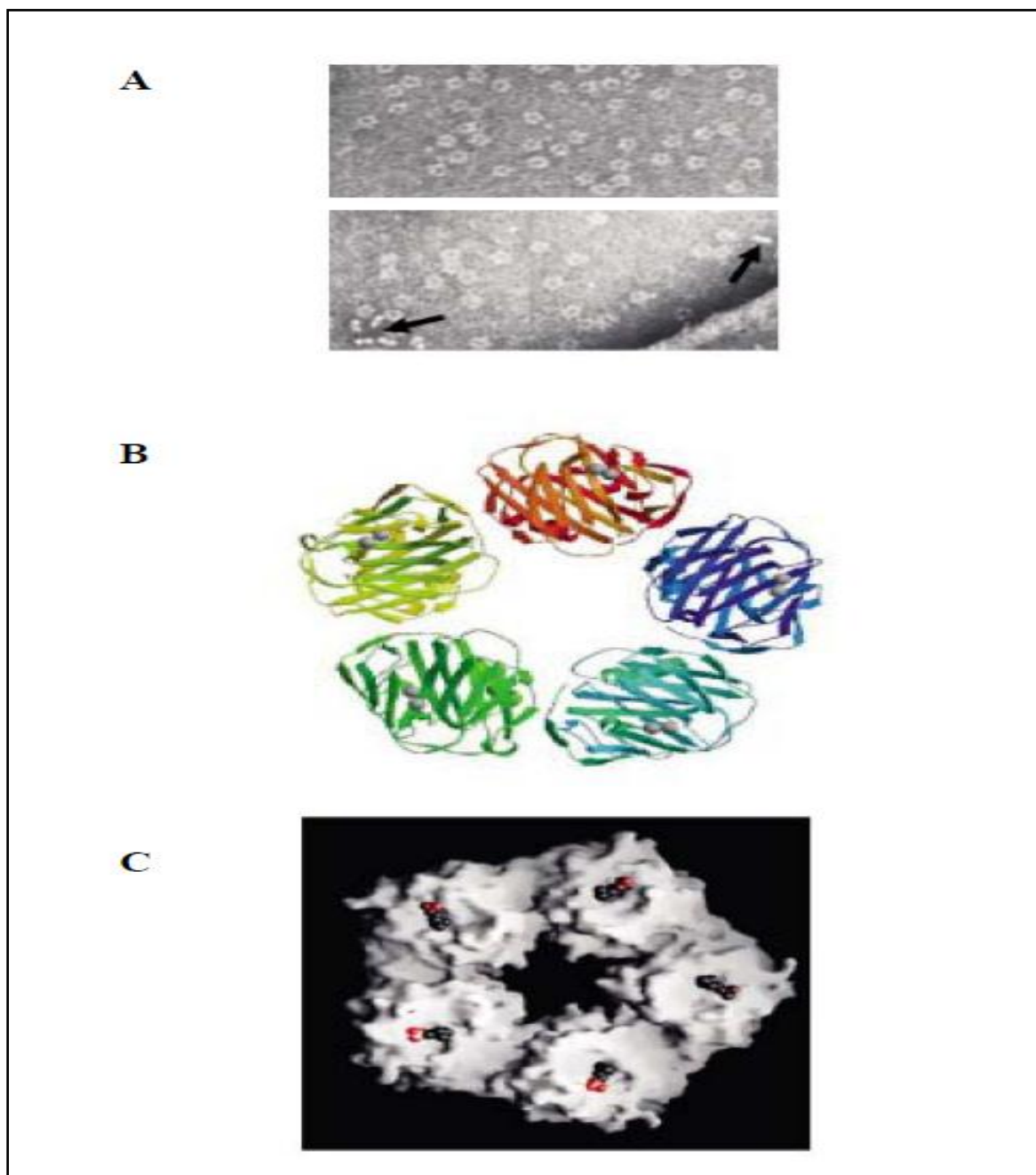


Figure.10 : *Structure moléculaire et morphologie de la CRP humaine*

A : Photographie en microscopie électronique de la forme pentamérique typique.

B : Diagramme de la structure cristalline, montrant les plis de lectine et les 2 atomes de Ca^{2+} (sphères) au niveau du site de fixation du ligand de chaque protomère.

C : Modèle dans l'espace de la molécule de CRP avec une molécule de phosphocholine localisée dans le site de fixation du ligand de chaque protomère [69].

I.3.3 Formes biologiques de la protéine CRP

La CRP peut être présente sous forme cyclique pentamérique (CRP native) prédominante au niveau plasmatique ou sous forme monomérique (CRP modifiée) située préférentiellement dans les tissus. Il existe également des formes intermédiaires conformationnellement altérées ou agrégées et différemment glycosylées.

Il semblerait malgré tout que la forme monomérique soit associée à une réponse proinflammatoire alors que la forme pentamérique favoriserait la résolution de l'inflammation. Leurs activités respectives sont variables et la CRP monomérique est responsable d'un nombre plus important d'effets biologiques en comparaison à la CRP pentamérique.

Seule la CRP monomérique semble capable d'activer les cellules endothéliales et les neutrophiles. Khreiss et al, ont démontré que la CRP sous forme monomérique en contact avec des cellules augmentait la libération d'IL-8 et de MCP-1 ainsi que l'expression de VCAM-1, ICAM-1 et E-selectine par l'intermédiaire de CD16 (Fc gamma RIII). Ces observations ont également été effectuées avec la CRP pentamérique mais à des temps beaucoup plus tardifs correspondant au moment de la cinétique *in vitro* où l'on observe la dissociation de la CRP pentamérique en monomères. [92].

Après plusieurs études sur des neutrophiles, il apparaît que la CRP monomérique induit la libération d'IL-8 ainsi que la formation de NO via le récepteur CD16 et non via le récepteur CD32. L'effet est également observé avec la CRP pentamérique mais toujours après des durées plus importantes de contact. Il a également été décrit une diminution de la L-selectine et une augmentation de CD11b liée à la CRP monomérique, cette régulation passant par une voie Ras/Raf/MEK.

Il est tout de même défini quelques activités propres à la CRP pentamérique telles que la fixation à la phosphocholine ou/et au calcium[27].

I.3.4 Synthèse et localisation

La CRP est synthétisée principalement dans le foie par les hépatocytes et est ensuite libérée au niveau plasmatique. Il a également été décrit une synthèse de la CRP par les cellules musculaires lisses et les macrophages au niveau des lésions athéromateuses mais aussi par les neurones, les macrophages alvéolaires, les lymphocytes ainsi que dans le rein [90].

La CRP synthétisée par les hépatocytes est de nature pentamérique et les cellules type cellules musculaires lisses, monocytes/ macrophages synthétiseraient de la CRP monomérique.

La CRP présente dans la paroi sous forme monomérique proviendrait donc soit de ces cellules soit d'une dissociation de la CRP « hépatique » ou des deux. La protéine est détectable dans l'intima des artères, sous sa forme pentamérique ou monomérique dans les vaisseaux sanguins associés à des tissus sains mais également dans les phases précoces de l'athérogénèse où elle s'accumule avec la progression des lésions [64].

I.3.5 Concentration plasmatique

Chez un individu sain, la concentration plasmatique basale en CRP est inférieure à 1mg/L et est indépendante du sexe, de l'âge, du niveau de cholestérol, de la pression sanguine, du diabète, du tabagisme mais des informations contradictoires sont rapportées quant au taux basal de CRP entre les différents groupes ethniques [85]. Seules les femmes sous traitement hormonal de substitution présentent une concentration en CRP légèrement plus élevée [85]. En cas d'infection ou d'inflammation, cette valeur peut être augmentée de manière transitoire d'un facteur 1000 ce qui explique sa dénomination de protéine de la phase aiguë de l'inflammation. Chez les individus présentant un risque de développer un accident vasculaire, les concentrations de CRP ne sont que peu augmentées par rapport à la normale mais cette élévation est conservée durant plusieurs mois voire plusieurs années [85].

I.3.6 Récepteurs

Hormis quelques travaux assez anciens, de nombreux auteurs s'accordent à dire que la CRP interagit avec les récepteurs aux fragments Fc des immunoglobulines (FcγR) mais l'existence d'un récepteur spécifique à la CRP n'est pas exclu. Il existe trois catégories de récepteurs FcγR, activateur ou répresseur selon la sous-classe et dont la localisation varie selon le type cellulaire (Figure.11). [89]. Aucun récepteur à la CRP n'a été caractérisé sur les cellules musculaires lisses et une seule étude démontre la présence de FcγRII sur des cellules endothéliales bovines.

A l'aide de lignées cellulaires exprimant de manière différentielle ces différents récepteurs ou à partir de cellules transfectées avec un ou plusieurs de ces récepteurs, il a été démontré que la CRP pouvait interagir avec les récepteurs FcγRI avec une faible affinité et FcγRIIa avec une forte affinité [89].

Un polymorphisme pour le récepteur FcγRIIa a été décrit en position 131 [89]. Il a été noté une baisse de la fixation de la CRP sur ce récepteur chez les homozygotes H131-H131 alors que cette fixation reste élevée pour les génotypes H131-R131 et R131-R131. Cette observation a été très récemment contredite [89]. Malgré ces résultats controversés, une association a été démontrée entre la présence de l'allèle H131 et une protection contre l'athérosclérose [89].

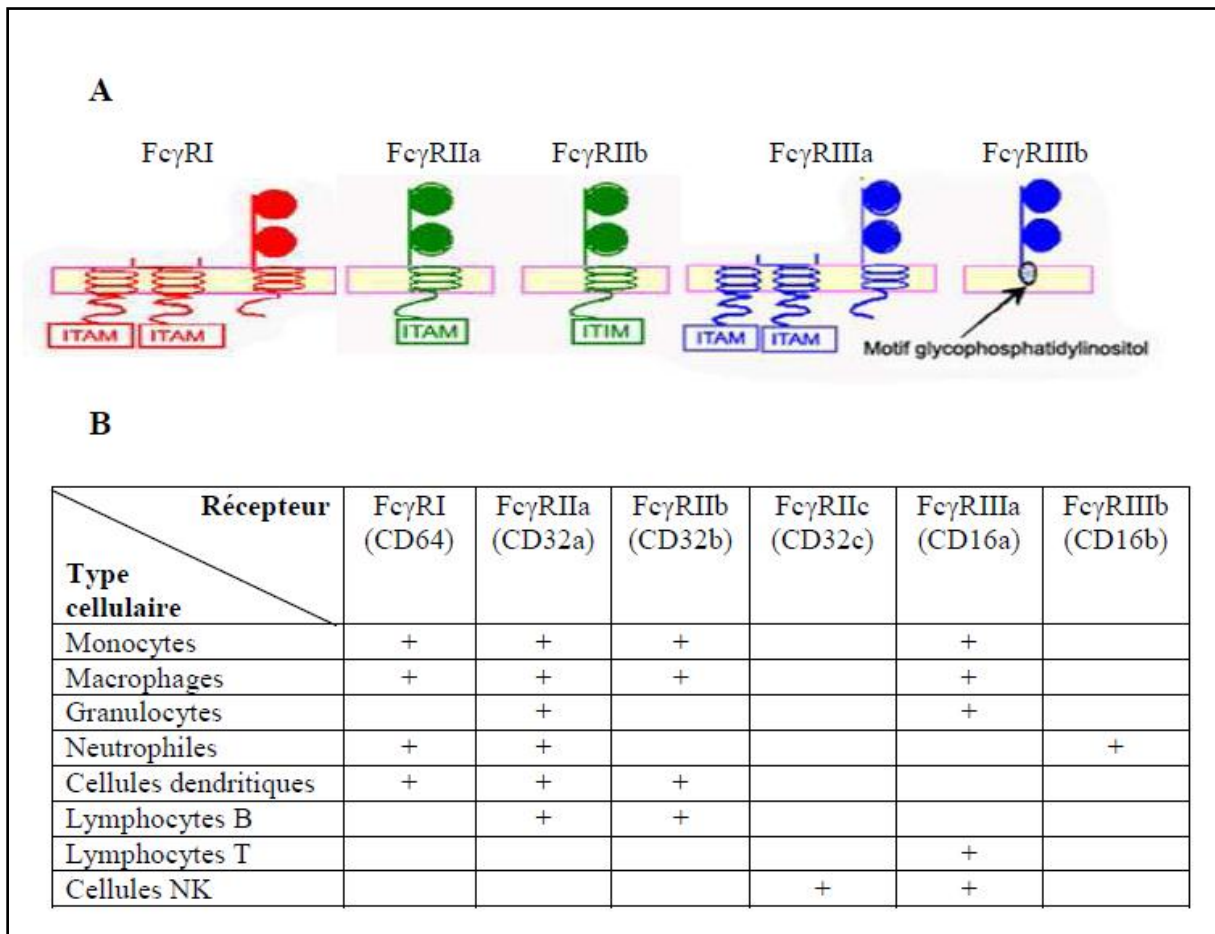


Figure.11 : Les différentes classes de récepteurs aux fragments Fc des immunoglobulines dans l'espèce humaine. [89].

A : Différences structurales des différentes classes de récepteurs. Le récepteur FcγRIIb est qualifié d'inhibiteur de par la présence d'un motif ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) au niveau de sa chaîne de transduction

B : Répartition des différentes classes de récepteurs selon le type cellulaire. Les + indiquent la présence du type de récepteur sur le type cellulaire correspondant. (d'après <http://www.ucl.ac.uk/~regfjxe/FcR.gif>).

I.4 Fonctions de la CRP

I.4.1 Opsonisation, activation du complément et phagocytose

La CRP joue un rôle important dans la médiation de la phagocytose. Elle peut se comporter comme un facteur opsonisant des phospholipides des parois bactériennes et des membranes des cellules apoptotiques ou nécrotiques. D'autres ligands de la CRP tels que la phosphoryléthanolamine (PE), certains polycations, la chromatine et les histones, la fibronectine et la protéine de surface A de *Staphylococcus aureus* ont été caractérisés. [81].

La CRP peut opsoniser les débris nucléaires et la chromatine mais aussi les parois de bactéries pathogènes et les membranes de cellules endommagées ou en apoptose. Elle peut alors activer le système du complément et/ou interagir avec des cellules phagocytaires pour provoquer la lyse des bactéries ou des cellules. La CRP monomérique est capable d'activer le complément de manière plus efficace que la CRP sous forme pentamérique et est également capable de fixer les LDL natifs et modifiés. (Figure.12)

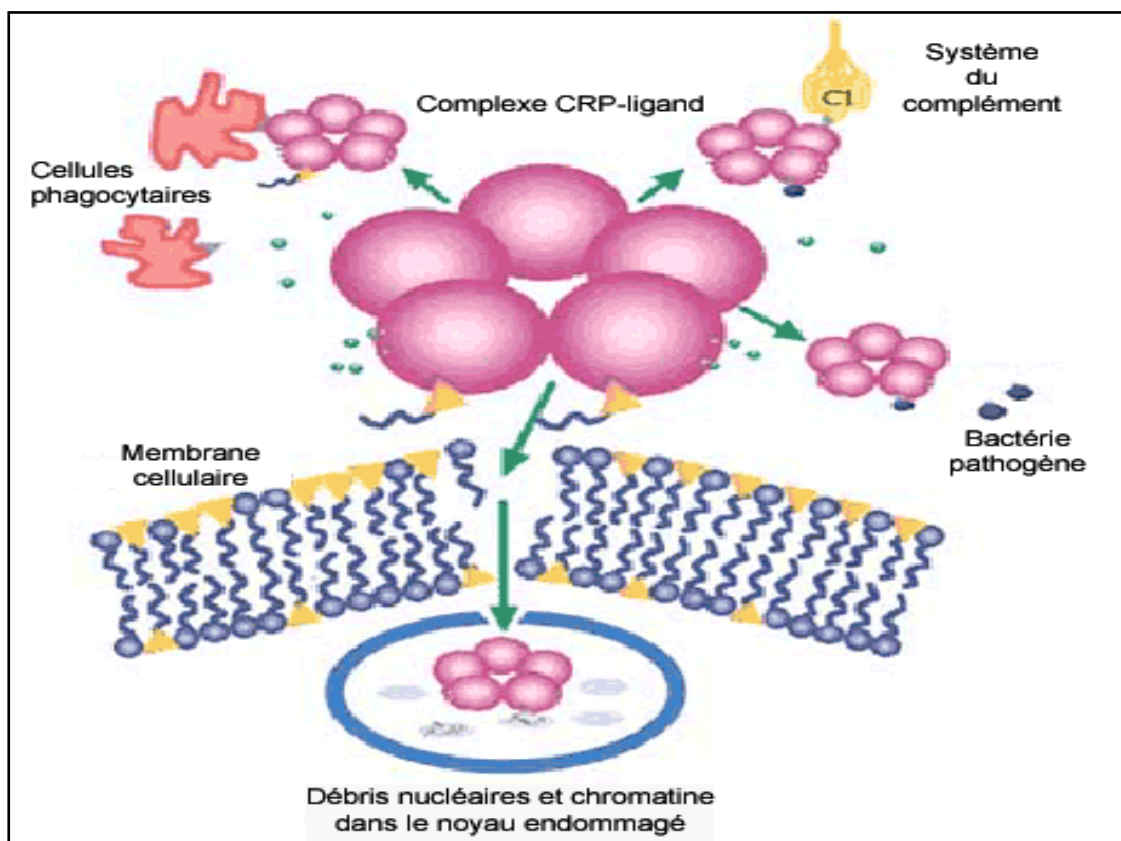


Figure.12 : Les différentes fonctions associées à la CRP. [81].

I.4.2 CRP et cholestérol

Les lipides jouent un rôle central dans le fonctionnement de l'organisme en participant à diverses fonctions telles que le maintien de l'intégrité des membranes cellulaires, le métabolisme énergétique, la croissance cellulaire ou la synthèse d'hormones stéroïdes. De par leur hydrophobicité, les lipides sont empaquetés dans des particules particulières appelées lipoprotéines permettant ainsi leur transport dans les fluides biologiques tels que le sang [81]. Ces particules sont constituées de trois couches : un cœur hydrophobe composé d'ester de cholestérol, d'acides gras libres et de triglycérides ; une enveloppe de phospholipides et de cholestérol et une couche externe contenant diverses protéines.

Les lipoprotéines sont séparées en 5 classes selon leur diamètre, leur densité, leur mobilité électrophorétique et leur composition. On distingue donc par ordre décroissant de diamètre, les chylomicrons, les VLDL (lipoprotéine de très faible densité), les IDL (lipoprotéine de densité intermédiaire), les LDL (lipoprotéine de faible densité) communément décrits comme "mauvais" cholestérol et les HDL (lipoprotéine de haute densité) comme "bon" cholestérol.

Parmi les protéines de la couche externe figurent les apolipoprotéines ou apoprotéines (apo), spécifiques de chaque sous-classe de lipoprotéines et intervenant aussi bien lors des interconversions des lipoprotéines que dans la reconnaissance cellulaire dans le cadre du métabolisme du cholestérol. Il existe deux courants de cholestérol dans l'organisme : la voie impliquant les chylomicrons, VLDL, IDL et LDL qui transportent le cholestérol des organes (foie, intestins) vers les tissus et cellules périphériques et le transport inverse du cholestérol impliquant les HDL pour le transport du cholestérol des cellules périphériques vers le foie.

Les VLDL, synthétisées dans le foie et formées à partir du cholestérol d'origine endogène, incorporent l'apoprotéine apoB100 et sont ainsi préparées au transport de triglycérides et de cholestérol du foie vers les autres tissus. Ils restent cependant dans un état inactif jusqu'à ce qu'ils captent apoE et apoC2 cédés par les HDL. ApoC2 est capable d'activer une enzyme appelée lipoprotéine lipase (LPL) au niveau des capillaires sanguins et permet ainsi la transformation de VLDL en IDL par hydrolyse de triglycérides qui seront absorbés par le tissu adipeux ou par les muscles adjacents. Environ la moitié des IDL formés sont recaptés directement par le foie via un récepteur reconnaissant apoB [81]. Les triglycérides des IDL restants sont hydrolysés par une autre enzyme, la lipase hépatique (HL) générant ainsi des LDL.

Environ 75% des LDL sont captés par le foie via les récepteurs spécifiques de apoB, 24% sont distribués dans les autres tissus et 1% des LDL sont retirés de la circulation par des cellules présentant des récepteurs "éboueurs" (CD36 et SR-A). Ces récepteurs reconnaissent la forme apoB oxydée présente lorsque les LDL persistent trop longtemps dans la circulation. [81].

Par la voie exogène, les acides biliaires et le cholestérol issus du foie ainsi que les lipides provenant de l'alimentation forment les chylomicrons dans l'intestin. Ils portent à leur surface les mêmes apoprotéines apoE et apoC2 que les VLDL plus une variante d'apoB intestinale (apoB48). Ils se transforment en résidus de chylomicrons par perte de triglycérides après hydrolyse de la LPL au niveau des capillaires sanguins. Les résidus de chylomicrons, enrichis en apoE, sont ensuite directement recaptés par le foie via les récepteurs reconnaissant apoE et via des récepteurs apparentés aux récepteurs des LDL, les LRP (LDL receptor related protein) et sont catabolisés par la HL au sein des hépatocytes [81].

Les HDL ont une fonction propre dans le transport inverse du cholestérol des cellules périphériques vers le foie. Trois mécanismes distincts régulent la sortie de cholestérol stocké à l'intérieur du foie et des macrophages :

- La voie du transporteur ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) : présent au niveau du foie, de l'intestin et des membranes des macrophages, ce transporteur est l'accepteur préférentiel de apoA-1, pauvre en lipides et qui déclenche l'efflux de cholestérol cellulaire et de phospholipides. Cet efflux permet de former des pré-HDL ayant incorporé apoA-1 et qui deviennent sphériques et matures (HDL3). Après estérification du cholestérol par la lécithine-cholestéro-acyl-transférase (LCAT) ils deviennent des HDL2 plus gros et plus denses.
- La voie du récepteur "éboueur" SR-B1 (scavenger receptor B1) : cette voie est apoA-1 indépendante et permet le passage de cholestérol libre de la cellule vers les HDL matures.
- La diffusion passive : comme son nom l'indique, cette voie d'efflux du cholestérol s'effectue directement à travers les membranes cellulaires sans intervention de récepteurs ni de facteurs régulateurs externes [81].

Les voies ABCA1 et SR-B1 sont modulées par la concentration intracellulaire en cholestérol. Une augmentation intracellulaire en cholestérol se traduit par une augmentation de la synthèse des récepteurs X du foie (LXR : liver X receptor) qui, dimérisés aux récepteurs X aux rétinoïdes (RXR : retinoid X receptor), activent la synthèse des récepteurs ABCA1 et SR-B1, ce qui facilite l'efflux de cholestérol vers le milieu extracellulaire (**Figure.13**).

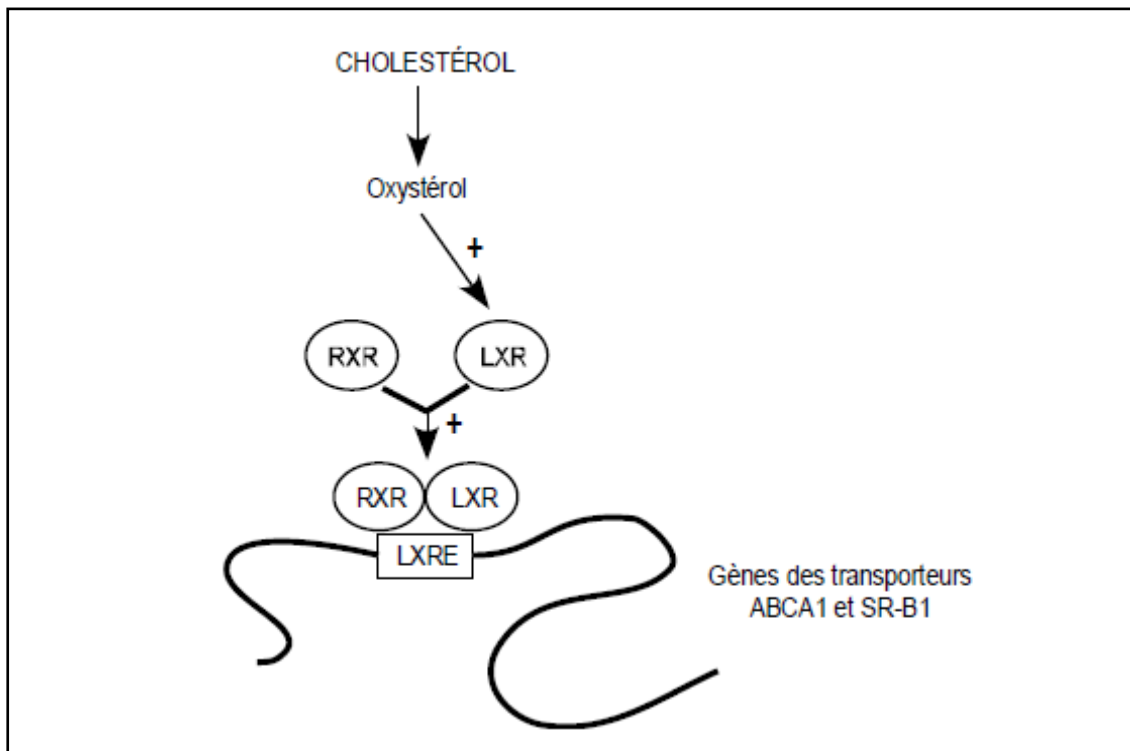


Figure.13 : Influence du cholestérol intracellulaire sur la synthèse des récepteurs ABCA1 et SR-B1. [81].

Les oxystérols formés à partir du cholestérol intracellulaire activent la synthèse de LXR qui se dimérise alors avec RXR. Ce complexe se fixe sur son élément de réponse (LXRE : liver X response element) présent dans la zone de régulation des gènes des transporteurs ABCA1 et SR-B1. Les protéines transporteurs formées seront transférées au niveau des membranes cellulaires où elles pourront accomplir leur fonction et ainsi diminuer la quantité de cholestérol intracellulaire.

Les HDL2 ainsi formés passent dans la circulation et échangent leur cholestérol estérifié par des triglycérides cédés par les VLDL et IDL et ce, à l'aide de protéines de transport des esters de cholestérol (CETP) et de protéines de transfert de phospholipides (PLTP).

Les triglycérides des HDL2 ainsi formés sont hydrolysés par la HL convertissant les HDL2 en HDL3 accepteurs de cholestérol intracellulaire. Alternativement, le cholestérol estérifié des HDL2 peut être délivré au foie par l'intermédiaire des récepteurs SR-B1 présents à la surface des hépatocytes aboutissant également à la formation de HDL3. Enfin, les HDL2 peuvent être catabolisés directement par le foie.

La CRP interagit directement avec ce système. Elle est capable de se lier aux LDL et aux VLDL mais semble fixer de manière préférentielle des formes particulières de LDL telles que les LDL oxydées, ou modifiées de manière enzymatique [81]. Le complexe ainsi formé peut induire et réguler la cascade du complément. Il est maintenant clairement défini que les LDL modifiées de manière enzymatique (E-LDL) sont capables de déclencher la cascade du complément de deux manières distinctes. La première, CRP dépendante, se produit en présence de faibles concentrations de E-LDL, probablement lors des phases précoces de l'athérosclérose.

La cascade du complément est alors stoppée avant la formation du complexe d'attaque membranaire C5b-9. La seconde, indépendante de la CRP mais en présence de fortes concentrations en E-LDL, se produirait à des stades avancés de la pathologie lors de l'accumulation des E-LDL dans la lésion. Le complexe CRP/LDL peut également induire la fonction phagocytaire des macrophages et ainsi favoriser leur transformation en cellules spumeuses lors de l'évolution de la plaque d'athérome (**Figure.14**). [70].

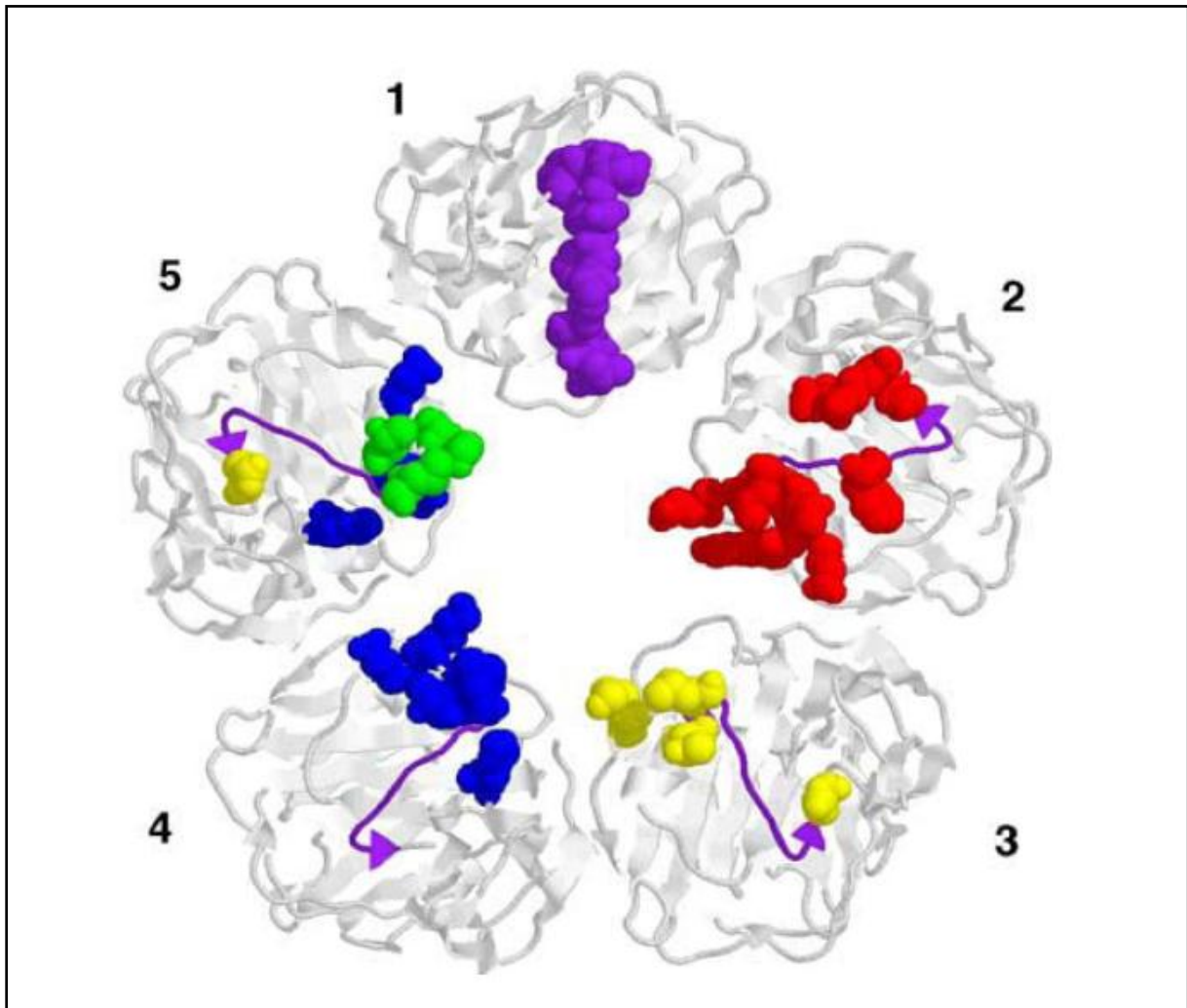


Figure.14 : Structure de la CRP avec les sites de fixation possibles à FcγRI et C1q [70].

Le pentamère de CRP est représenté avec les résidus d'acides aminés 175 – 185 (violet) sous forme tridimensionnelle au niveau de la sous-unité 1 et sous forme de flèche dans les autres sous-unités. Sur la sous-unité 3, les résidus d'acides aminés (jaune) sont directement impliqués dans la fixation au récepteur FcγR. Le site de fixation à C1q envisagé est indiqué sur la sous-unité 4 (bleu). La sous-unité 5 présente à la fois les résidus des sous-unités 3 et 4 et de nouveaux résidus (vert) importants pour la fixation à la fois de C1q et de FcγR [70].

I.5 Lien causal entre la CRP et l'athérosclérose

Des preuves évidentes soulignant le rôle de la CRP dans l'athérogenèse ne cessent de s'accumuler depuis quelques années, mais il est encore difficile d'attribuer des fonctions spécifiques à la CRP car son action va dépendre aussi bien du type cellulaire avec lequel elle va interagir que la forme ou la structure sous laquelle elle se présentera.

I.5.1 La CRP et la plaque athéroscléreuse

En 1985 et pour la première fois, a été mis en évidence la présence de la CRP dans les lésions athéroscléreuses [71]. En effet, elle a été extraite et quantifiée à partir de l'intima aortique humain athéroscléreux. Mais, lors de la tentative par Rowe et al. de localiser la CRP dans des lésions athéroscléreuses, aucune CRP n'a pu être mise en évidence. [72].

L'équipe de Jan Torzewski a mis en évidence pour la première fois en 1998 la co-localisation de la CRP avec le fragment C5b-9 du complément par marquage immunohistochimique dans une quinzaine de lésions athéroscléreuses précoces (lésions initiales) et plus tardives, présentes dans des artères coronaires humaines.

La majorité des cellules graisseuses sous la paroi endothéliale montrait un marquage positif de la CRP mais aucune co-localisation avec les protéines du complément n'a été mise en évidence. Ces données suggèrent que la CRP peut promouvoir la formation de lésions athéroscléreuses en activant le système du complément et être impliqué dans la formation des cellules graisseuses.

L'analyse immunohistochimique de lésions athéroscléreuses naissantes a montré que le dépôt de la CRP dans la paroi artérielle précédait l'infiltration monocytaire et que la CRP était chimiotactique pour les monocytes humains [64]. Les récepteurs spécifiques de la CRP (CRP-R) ont été également mis en évidence dans les monocytes infiltrants et les cellules graisseuses. Puisque les cellules graisseuses marquent positivement en fluorescence aussi bien pour la CRP que son récepteur spécifique (CRP-R), la CRP pourrait participer à la formation des cellules spumeuses en opsonisant les particules lipidiques.

La co-localisation de la CRP avec des LDL dégradés de manière enzymatique (ELDL) a été démontrée dans des lésions athéroscléreuses précoces [73].

Récemment, l'analyse quantitative de l'ARNm en RT-PCR a révélé l'augmentation de la CRP de 10 fois dans le tissu artériel aortique athéromateux par rapport à un tissu artériel normal [74].

Les études *in-vivo* effectuées sur des souris déficientes en apolipoprotéines E (Apo E^{-/-}) (qui développent spontanément une hypercholestérolémie et des lésions artérielles [75].et surexprimant la CRP humaine transgénique ont montré que la CRP humaine accélérât la progression des lésions athéroscléreuses aortiques. Cette progression était accompagnée d'une augmentation de la CRP et du fragment C3 du complément dans les lésions athéroscléreuses suggérant une activation du complément par la CRP.

La formation de la plaque athéroscléreuse fait intervenir une multitude de partenaires cellulaires et moléculaires. De nombreuses études axées sur les effets de la CRP avec les cellules de la paroi vasculaire, ont été menées ces dernières années aboutissant à de nouvelles hypothèses sur le rôle de la CRP [76].

I.5.2 Interaction avec les cellules et les composants de la paroi artérielle

I.5.2.A Les cellules musculaires lisses

Le rôle des cellules musculaires lisses (CML) dans l'athérogenèse est de mieux en mieux documenté. La fonction majeure des cellules musculaires lisses de la paroi artérielle est d'assurer le tonus vasculaire grâce à leurs propriétés contractiles et élastiques. Les cellules musculaires humaines exposées à la CRP voient l'expression génique et protéique pour le récepteur à l'angiotensine 1 augmentée ainsi que leurs prolifération et migration [77]. En effet, les effets *in-vivo* de la CRP sur les CML après un dommage vasculaire passent par une prolifération et une migration accrues des CML, accompagnés de la production de protéines matricielles dans le neo-intima. En accord avec ces données, la CRP peut activer des protéines kinases intra-cellulaires responsables du processus de prolifération.

D'autre part, la CRP augmente l'expression de la NO synthase inducible (NOS2) conduisant à l'augmentation locale du NO, du stress oxydatif et par conséquent de l'inflammation [78].

Enfin, dans un plan plus intégratif, Sternik *et al.* ont démontré que la CRP pouvait induire la relaxation de vaisseaux humains indépendamment de l'endothélium [79]. Cette vasorelaxation induite par la CRP est atténuée lorsque des inhibiteurs des canaux ioniques au potassium sont utilisés. Ceci suggère donc, que la CRP peut exercer un effet relaxant sur les CML via les canaux ioniques K.

1.5.2.B Les LDL

Les LDL sont des lipoprotéines, qui à fortes concentrations, jouent un rôle essentiel dans le développement de l'athérosclérose. Les données thérapeutiques issues des essais effectués avec ou sans statines ont démontré le lien causal direct existant entre les LDL et l'athérosclérose. L'interaction de la CRP avec les LDL peut partiellement éclairer ces mécanismes d'action qui induisent cette pathologie cardiovasculaire.

Les LDL n'existent pas seulement sous leur forme native dans la paroi vasculaire. En effet, des enzymes présentes dans la paroi vasculaire peuvent modifier la structure des LDL (ELDL), telles que la trypsine, le cholestérol estérase et la neuraminidase. Les E-LDL sont présents en grandes quantités avec les LDL oxydés, dans les plaques athérosclérotiques. La modification enzymatique des LDL donne aux E-LDL la capacité de fixer la CRP. Le complexe E-LDL-CRP voit alors sa capacité augmentée de convertir le facteur C3 et d'activer le complément. Dans des conditions acides retrouvées au sein des plaques, la capacité du complexe E-LDL-CRP à convertir C3 est largement accrue [80].

D'autre part, la pré-incubation de la CRP avec la phosphatidylcholine empêche la fixation des E-LDL sur la CRP, ce qui suggère que les E-LDL interagissent avec la CRP au niveau du même site de reconnaissance que les ligands provenant des microorganismes. Une des caractéristiques importantes de cette interaction est que l'avidité de fixation des E-LDL est proportionnelle à la quantité de cholestérol non estérifié à la surface des particules de LDL. Ceci est la première démonstration que le cholestérol peut se fixer à la CRP, ce qui fournit un mécanisme expliquant la rétention de la CRP au sein de la plaque athéroscléreuse et dans l'interaction avec les LDL [81].

1.5.2.C Les cellules endothéliales

Le développement des plaques athéroscléreuses fait suite à plusieurs perturbations de l'endothélium, au niveau du futur site de développement de la plaque, incluant la perte de vasoréactivité, l'expression de molécules d'adhésion et la sécrétion de molécules chémo-attractantes. Les modèles de cultures tissulaires utilisant des monocouches endothéliales suggèrent que la CRP entraîne exactement les mêmes types de perturbations.

La capacité vasodilatatrice d'une artère est un outil clinique utilisé pour évaluer « la santé vasculaire ». Il est probable que l'un des changements les plus précoces détectable dans une artère avant la formation de la plaque est la perte de la vasodilatation médiée par le NO.

Or, les données *in vitro* montrent que la CRP diminue l'expression de eNOS dans les cellules endothéliales ainsi que la production du NO et de la cGMP. D'un point de vue clinique, les concentrations de CRP mesurés chez les patients corréleront étroitement avec la perte de vasodilatation médiée par le NO ce qui appuie les résultats expérimentaux obtenus *in-vitro*. D'autre part, la CRP *in-vitro* inhibe la fonction endothéliale à participer à l'angiogenèse [82].

Le traitement des cellules endothéliales par la CRP à des concentrations variant de 5 à 50 mg/L augmente l'expression des molécules d'adhésion E-selectin, ICAM-1 et VCAM-1.

L'incubation à long terme (>24 heures) induit l'expression aux niveaux les plus élevés de ces molécules. Cette observation était sérum dépendante et non médiée par les LDL, même si le cofacteur sérique n'a pas encore été identifié [83].

Quand les monocytes activés par la CRP interagissent avec une monocouche endothéliale, l'expression de molécules d'adhésion au monocyte augmente sur la cellule endothéliale, en particulier CD31 et CD11b. Alors que cet effet conduit à une augmentation de l'adhérence, il n'est pas suivi d'une augmentation de la migration à travers la couche endothéliale. Le traitement des cellules endothéliales à la CRP induit également un phénotype pro-thrombotique avec l'augmentation de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1) qui est l'inhibiteur principal de la fibrinolyse.

L'une des étapes clés lors de l'athérogenèse reste le recrutement du monocyte à l'intérieur de la paroi vasculaire. MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), un puissant chemoattractant monocyttaire, est le médiateur clé de cette étape dans l'athérogenèse. La déficience en MCP-1 ou de son récepteur CCR-2 inhibe le développement des plaques athéroscléreuses chez les souris hypercholestérolémiques alors que les cellules endothéliales exposées à la CRP augmentent leur production de MCP-1 d'un facteur 5 à 10 [84].

L'étroite relation entre la CRP et l'IL-6 est confirmée par les données cliniques qui suggèrent que les concentrations sériques d'IL-6 et de la CRP sont liées et associées à l'athérogenèse [85]. Chez les souris atteintes d'hypercholestérolémie responsable de l'athérosclérose, le traitement par l'IL-6 augmente de manière dramatique son développement. Cependant, les cellules endothéliales exposées à 25 mg/L de CRP augmentent leur sécrétion d'IL-6 et de l'endothéline-1 plus de 5 fois. Ainsi, ces données suggèrent fortement que la CRP circulante ou locale peut induire la sécrétion d'IL-6 dans les cellules endothéliales.

L'IL-6 et la CRP collaborent pour induire des changements locaux au sein de l'endothélium et mener un rétrocontrôle positif qui amplifie la production hépatique de la CRP et l'inflammation systémique.

Une étude récente démontre que la CRP exerce un effet délétère sur la survie, la différenciation et la fonction des cellules pro-génitrices des cellules endothéliales, ayant pour conséquence des effets négatifs sur la réparation des vaisseaux et sur la néo vascularisation des tissus ischémiques [86].

La CRP humaine recombinante, à des concentrations connues pour prédire une maladie cardiovasculaire, est responsable d'une multitude d'effets sur la biologie endothéliale favorisant alors un phénotype pro-inflammatoire et pro-athérosclérotique. Cependant, il a été montré également que la CRP pouvait réguler des protéines inhibitrices du complément et protéger les cellules endothéliales d'un endommagement cellulaire médié par le complément. Cela suggère donc qu'une balance proathérogénique et antiathérogénique des effets de la CRP sur la paroi vasculaire joue sur le développement de l'athérosclérose [87].

I.6 Interactions avec les cellules circulantes et les composants du sang périphérique

I.6.1 Les monocytes

Les monocytes sanguins sont les premières cellules requises dans le développement de la plaque athéroscléreuse. En effet, après activation de l'endothélium, les monocytes circulants ralentissent aux abords de la cellule endothéliale pour venir « rouler » sur elle. Par un processus de diapédèse, le monocyte migre à travers l'endothélium dans la région sous endothéliale de l'artère. Le monocyte se différencie alors en macrophage tissulaire.

Mieux comprendre l'interaction de la CRP avec ces deux types cellulaires est essentiel afin de montrer que la CRP est une cause première de l'athérosclérose. Alors que la CRP entraîne indirectement l'accumulation des monocytes en sur-exprimant des récepteurs d'adhésion aux cellules endothéliales ainsi que la molécule chimio-attractante MCP-1, la CRP agit aussi directement sur les monocytes à chaque stade de la formation de la plaque athéroscléreuse [84].

Le marquage de la CRP, permet de la localiser avec les monocytes-macrophages surtout dans les lésions avancées. Les études *in vitro* suggèrent que cette co-localisation n'est pas qu'une coïncidence.

Alors que la fixation de la CRP sur les récepteurs Fc aux immunoglobulines est assez bien acceptée, des données récentes ont montré l'existence d'un récepteur de surface unique pour la CRP [88].

Dans les monocytes humains fraîchement isolés, la CRP soluble induit une migration chimiotactique importante. Cette migration est bloquée si les monocytes sont pré-incubés auparavant avec la CRP ou des anticorps anti CRP-R. Ces mêmes monocytes sanguins périphériques, qui présentent alors à leur surface la CRP, circulent à l'intérieur de la paroi vasculaire [64].

En conditions inflammatoires aiguës, au niveau du site de l'infection, la fixation de la CRP sur des ligands bactériens entraîne l'opsonisation du pathogène, le « cross-link » des cellules phagocytaires répondantes et le développement de la phagocytose [89]. *In vitro*, les ligands de la CRP peuvent être de différentes natures, des lipoprotéines contenant l'apoB, LDL, VLDL ou des sites de fixation à la PCh Ca^{2+} dépendant. Il est fortement probable que la préincubation des LDL *in vitro* avec la CRP induise les macrophages dérivés des monocytes à phagocyter les LDL et à devenir des cellules graisseuses [90]. Il s'agit du lien critique entre le monocyte circulant en cours d'adhésion et la cellule phagocytaire mature (macrophage) retrouvée dans l'espace sous-endothélial.

I.6.2 Les neutrophiles

Parmi les composants cellulaires de la phase aiguë de l'inflammation, les neutrophiles sont parmi les premières cellules leucocytaires à migrer dans les tissus envahis par des pathogènes ou initiateurs du traumatisme inflammatoire. Il a été démontré que la CRP native inhibe la chimiotaxie des neutrophiles [91]. Ces données sont confirmées par l'étude de Khreiss et al. effectuée sur des plaquettes sanguines et neutrophiles en présence de différentes isoformes de la CRP. La CRP native inhibe l'activation plaquettaire et empêche la capture plaquettaire par les neutrophiles, alors que la CRP monomérique présente des activités pro thrombotiques puissantes. La perte de la symétrie pentamérique de la CRP, résultant en la formation de CRP monomérique, conduit à la sécrétion d'IL-8 chez les neutrophiles via l'activation de NFkB et de AP-1 [92].

I.6.3 Le complément

Alors que l'activation du complément est reconnue aujourd'hui pour jouer un rôle important dans les dommages aigus tissulaires, son rôle dans l'état inflammatoire chronique observé dans l'athérosclérose est moins clair. Des facteurs de la cascade du complément, dans sa phase initiale, ont été en premier identifiés dans des lésions athéroscléreuses vasculaires avancées [93].

Les cellules inflammatoires, en présence de chaque composant de la voie classique d'activation du complément et de la CRP, reflètent la présence d'une maladie artérielle localisée [74].

L'un des premiers rôles physiologiques identifiés pour la CRP est sa capacité à activer la voie du complément. Quand un ligand se fixe à une sous-unité de la CRP, cela induit un changement structural de la CRP, révélant une fente dans le côté opposé de cette sous-unité. Cette fissure fixe efficacement le C1q, l'active directement ainsi que la cascade classique du complément. Cette capacité de la CRP à activer le complément est accrue en présence de membrane cellulaire modifiée par des radicaux libres *in vitro*. Ces données suggèrent qu'au niveau de sites inflammatoires dans les tissus, ce mécanisme soit essentiel dans l'activation du complément. [94].

Matériel

et

Méthodes

I. Matériel

I.1 Matériel végétal

L'extraction de l'huile du fruit *Crataegus monogyna* a été réalisée au niveau de laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques, département de Chimie, université des Frères Mentouri- Constantine.

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 19 et 21 g.

Les souris sont maintenues 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, à une température de 25 à 30°C, un taux d'humidité entre 45 et 60% et une photopériode de 12 heures jour et 12 heures nuit. Afin d'éviter les variabilités inter-sexe, l'étude est réalisée sur les mâles.

Durant la période d'expérimentation, les souris sont alimentées avec l'aliment ONAB sous forme de granulés (**Tableau 01 . Voir annexes**) et de l'eau de robinet à volonté. Les souris sont séparées et réparties en 4 lots suivant le régime administré. (**Figure.15**) et (**Tableau.04**).

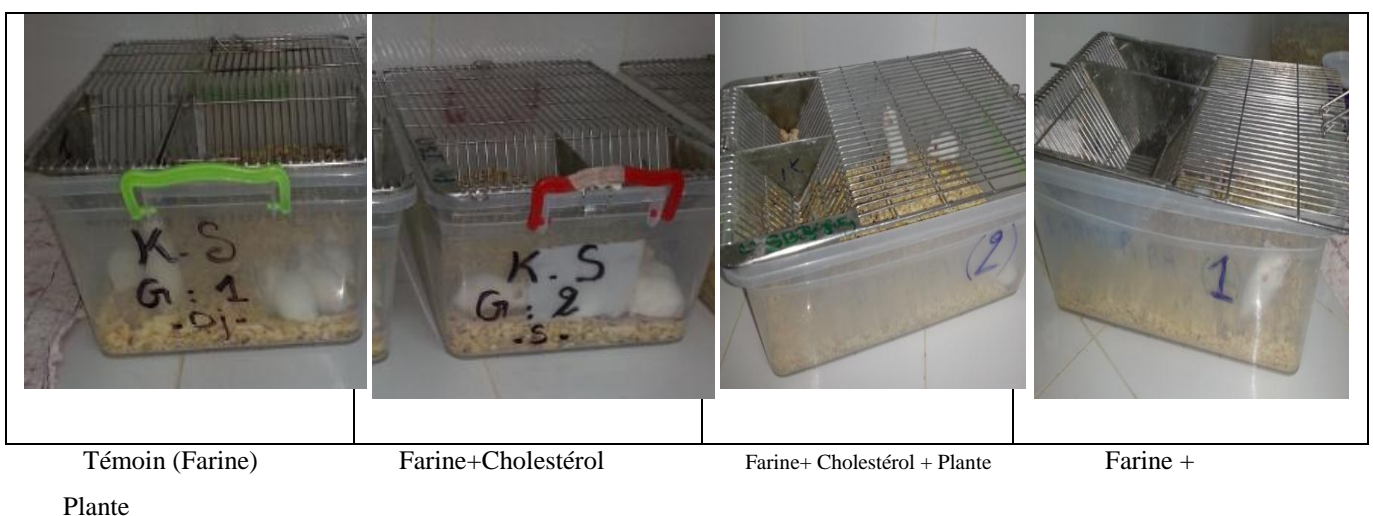


Figure.15 : Répartition des souris dans les lots.

- Les souris sont pesées chaque jour à la même heure (9h30) pendant les 18 jours de traitement (**Figure.16**).



Figure.16 : La pesé des souris.




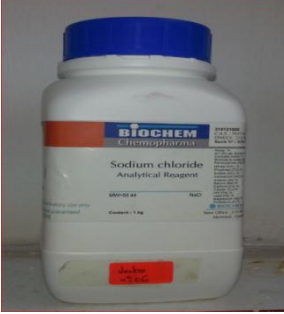

- La quantité des ingesta (la quantité l'aliment consommé) a été enregistrée quotidiennement (**Figure.17**).



Figure.17 : enregistrement de la quantité l'aliment consommé.






I.3 Produits utilisés

Tableau.02 : Produits utilisés.

<p>Cholestérol (jaune d'œuf +graisse animale)</p>	
<p>Chloroforme</p>	
<p>Formol 10%</p>	
<p>Na Cl</p>	
<p>Eau distillée</p>	

I.4 Equipements

Tableau.03 : *Equipements utilisés.*

Balance de précision	
Cloche	
Trousse de dissection	
Tubes héparinés + Tubes Eppendorfs	
Centrifugeuse	

II. Méthodes

II.1 Traitement des souris

Notre étude comporte un groupe de 24 souris mâles réparties en 4 lots (**Figure.15**) et (**Tableau 02**).

Tableau.04 : *Traitement des souris.*

Groupe expérimental	Traitement	Nombre d'animaux	Durée de l'expérience	Dose quotidienne
F	Témoin (Farine)	7	18 jours	0,1 g / souris
FC	Farine+Cholestérol	7	18 jours	0,03 à 0,04g/souris
FCP	Farine+ Cholestérol + Plante	7	18 jours	0,004 à 0.005 ml (extrait de plante) /souris et 0,03 à 0,04g(Cholestérol) /souris.
FP	Farine + Plante	7	18 jours	(0,004 à 0.005) ml /souris

- Les doses du cholestérol et l'extrait de la plante 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 $(0,18 \text{ ml/kg/j})$ pour l'extrait de la plante(Figure).
- Le cholestérol et l'extrait de la plante sont incorporés à la farine, sont administré sous forme de boules (le poids de chaque boule = 0,1 g pour chaque dose) (**Figure.18**).

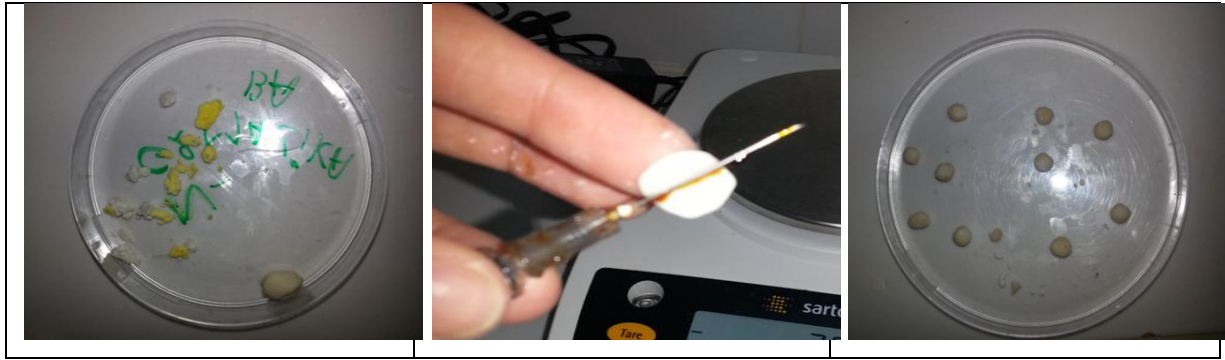


Figure.18 : *Incorporation de l'extrait de la plante et cholestérol à la farine et formation de boules.*

II.2 Prélèvement sanguin

Chaque étape de traitement a été suivie d'un prélèvement sanguin au niveau des sinus veineux des souris. Le sang a été prélevé dans des tubes héparinés et récupération du sérum après Centrifugation dans des tubes Eppendorfs (**Figure.19**), pour but de faire des dosages pour les paramètres suivants :cholestérol, triglycéride, HDL,LDL,ASAT,ALAT,CRP au niveau du laboratoire d'analyses médicales *IBN SINA* à CONSTANTINE.

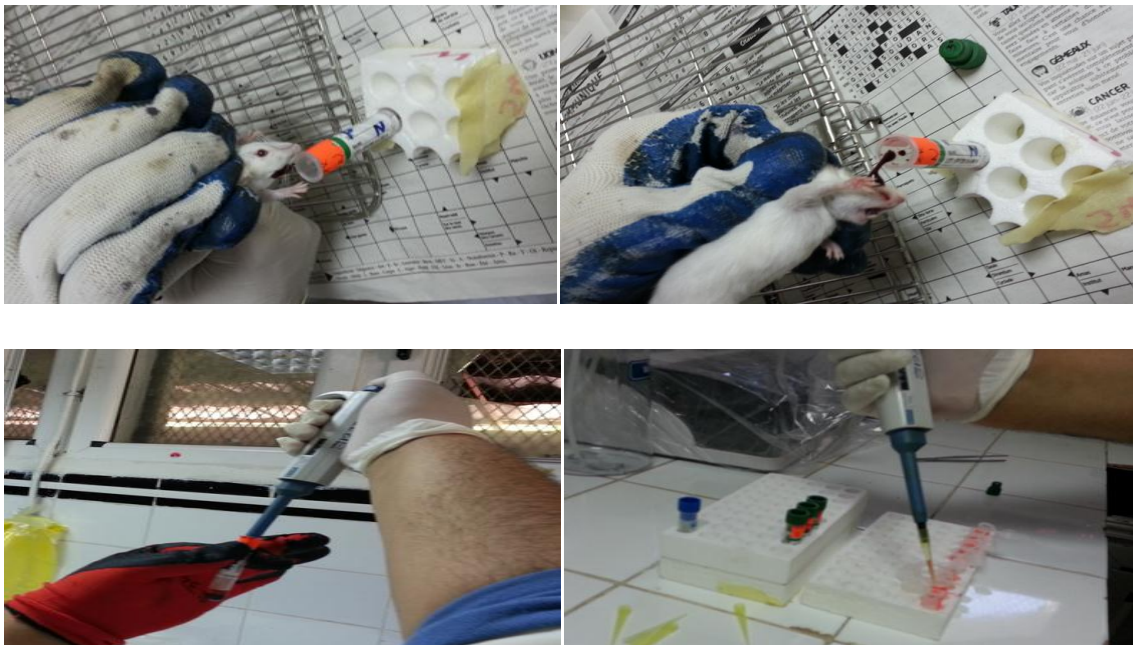


Figure.19: *Prélèvement sanguin et récupération du sérum après Centrifugation (3000 tours /15 minutes).*

II.3 La dissection

Après anesthésie au chloroforme, les souris sont disséquées (**Figure.20**).



Figure.20 : Dissection des souris après anesthésie.

Pour l'étude histologique, les organes prélevés et pesés (le foie, le cœur et l'aorte) sont bien débarrassés de tout tissu adjacent, sont ensuite placés dans des boîtes de Pétri contenant du formol 10% (PH 7,4) et sont coupés en fragments (**Figure.21**).

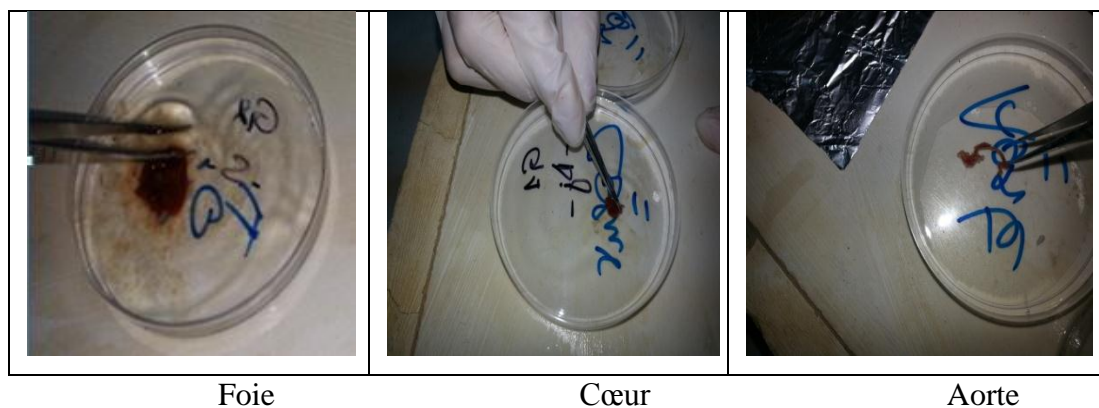


Figure.21 : Prélèvement d'organe (le foie, le cœur et l'aorte).

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 Δ^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' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340\text{nm}$.

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' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340\text{ nm}$.

II.4.5 Dosage de la CRP

Le dosage de la CRP s'est effectué selon le test immuno turbidimétrique 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 :

- 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

I. Poids et consommation d'aliment

L'objectif de cette expérimentation est d'évaluer l'effet du cholestérol sur l'évolution du poids des souris et la consommation de l'aliment.

I.1 Première expérience

I.1.1 La variation du poids

L'évolution pondérale pour le groupe témoin (F) de la première à la troisième semaine ($22,24 \pm 0,74\text{g}$, $24,28 \pm 0,16\text{g}$ et $26,23 \pm 0,54\text{g}$) respectivement indique qu'il y a une différence très hautement significative du poids des souris entre les trois semaines ($p=0,00$) (**Figure.22**).

Le test Tukey, indique qu'il y a une augmentation hautement significative ($p=0,001$) du poids des souris entre la première et la troisième semaine (S1 et S3) et entre S2 et S3 ($p=0,001$).

Pour le groupe (FC), la variation du poids de la première à la troisième semaine ($25,42 \pm 0,56\text{g}$, $27,12 \pm 0,32\text{g}$ et $27,56 \pm 0,22\text{g}$) respectivement montre qu'il y a une différence très significative du poids des souris entre les trois semaines ($p<0,05$) (**Figure.22**).

Le test Tukey, révèle une augmentation significative ($p=0,021$) du poids des souris entre S1 et S3.

I.1.2 La consommation de l'aliment

Les résultats de la consommation d'aliment par le groupe (F) de la première à la troisième semaine ($61,33 \pm 9,95\text{g}$, $75,33 \pm 18,55\text{g}$ et $90,83 \pm 8,88\text{g}$) respectivement montrent qu'il existe une différence très significative entre les trois semaines ($p<0,05$) (**Figure.23**).

Pour le groupe (FC), la consommation d'aliment de la première à la troisième semaine ($89,83 \pm 6,08\text{g}$, $108,5 \pm 9,18\text{g}$ et $133 \pm 14,75\text{g}$) respectivement indique aussi qu'il y a une différence significative ($p<0,05$) entre les trois semaines (**Figure.23**).

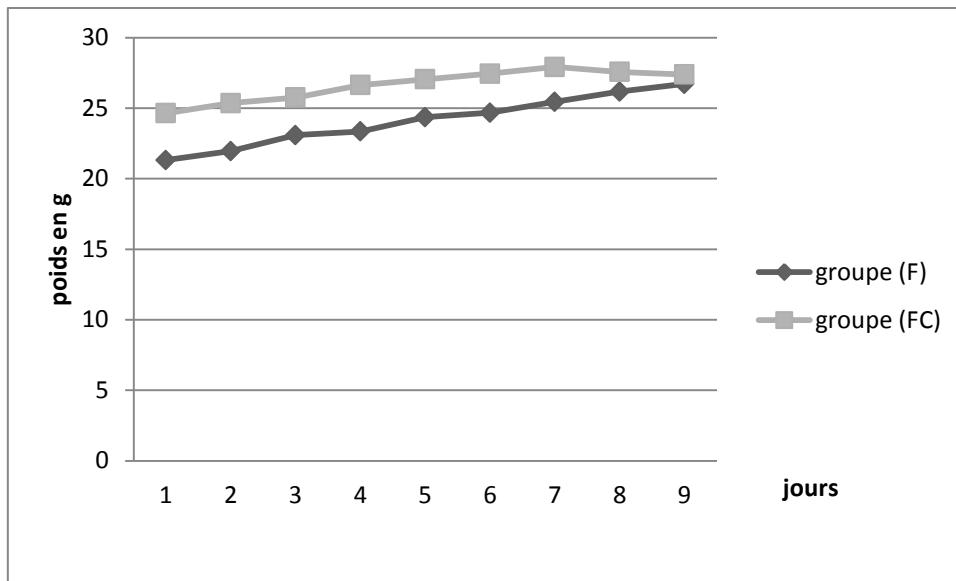


Figure.22 : Evolution pondérale des souris de la première expérience.

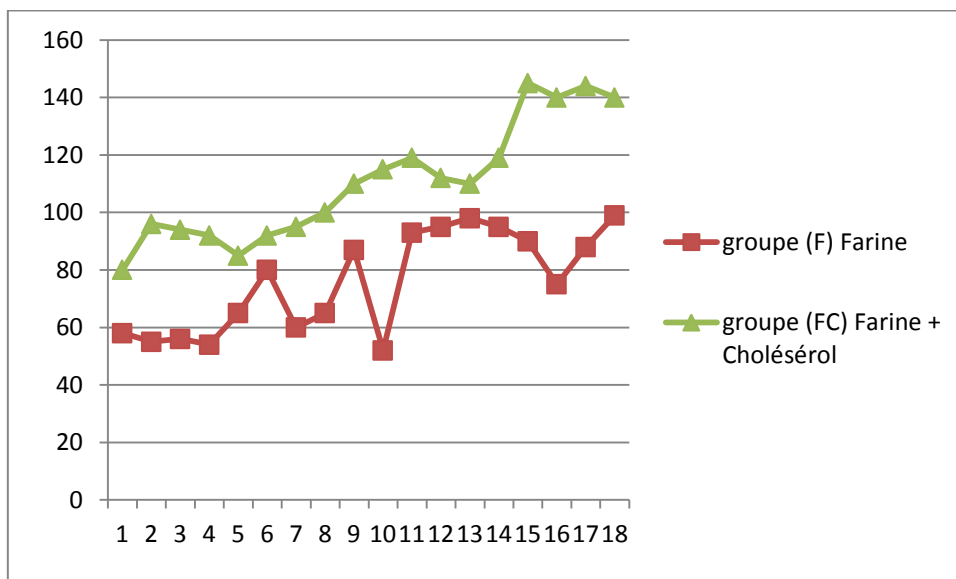


Figure.23 : Consommation d'aliment par les souris de la première expérience.

I.2 Deuxième expérience

I.2.1 La variation du poids

Pour le groupe (FCP), l'évolution pondérale de la première à la troisième semaine ($27,61 \pm 1,66g$, $27,1 \pm 0,23g$ et $27,68 \pm 0,09g$) respectivement montre qu'il n'y a pas une différence significative du poids ($p > 0,05$) entre les trois semaines (**Figure.24**)

Pour le groupe (FP), la variation du poids de la première à la troisième semaine ($27,88 \pm 2,15g$, $29,77 \pm 0,28g$ et $29,52 \pm 1,21g$) respectivement indique aussi qu'il n'existe pas une différence significative du poids des souris entre les trois semaines ($p > 0,05$) (**Figure.24**).

I.2.2 La consommation d'aliment

Pour le groupe (FCP), les résultats de la consommation d'aliment de la première à la troisième semaine ($69,33 \pm 12,01g$, $83,6 \pm 15,37g$ et $55,83 \pm 7,35g$) respectivement montrent qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre S1 et S2 (**Figure.25**).

Par contre, la consommation d'aliment par le groupe (FP) de la première à la troisième semaine ($61,5 \pm 15,52g$, $61,38 \pm 10,02g$ et $43,5 \pm 11,5g$) respectivement indique qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre S2 et S3 (**Figure.25**).

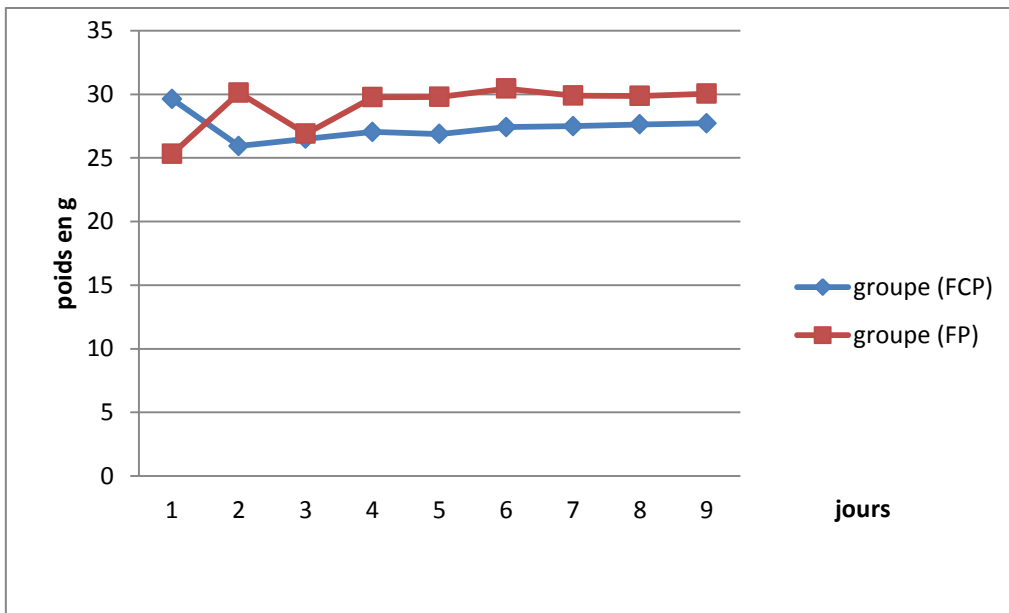


Figure.24 : Evolution pondérale des souris de la deuxième expérience.

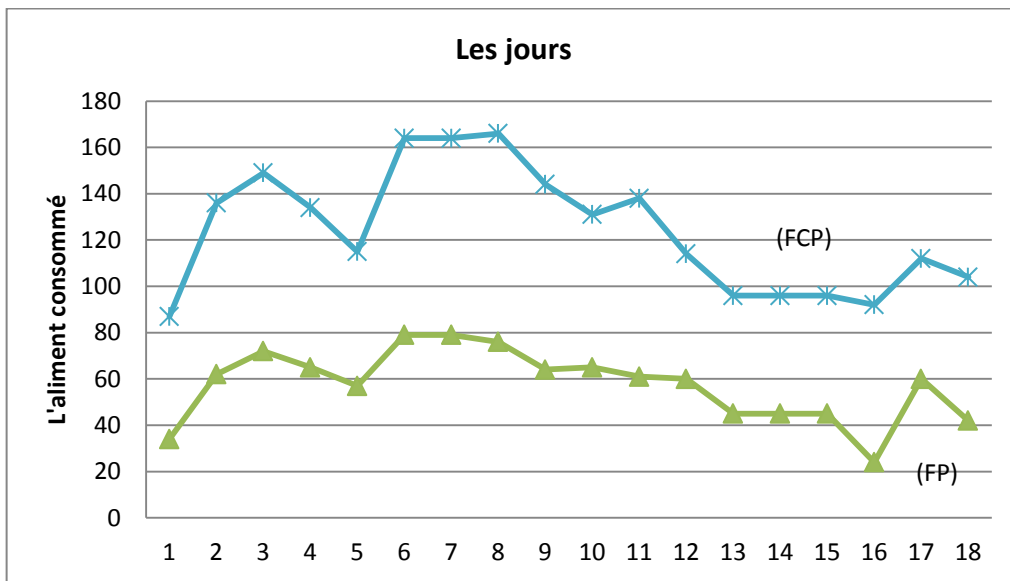


Figure.25 : Consommation d'aliment par les souris de la deuxième expérience.

Nos résultats ont montré qu'il y a une augmentation du poids des souris dans tous les groupes, mais pas de manière significative. L'étude de (Zerizer, 2006)[95] a rapporté une augmentation du poids des souris traités pendant 18 jours. Nous pouvons conclure qu'il existe une relation entre l'hypercholestérolémie et le poids de la souris.

En ce qui concerne la consommation d'aliment, les résultats ont montré que la consommation d'aliment dans le groupe Cholestérol a considérablement augmenté et diminué de manière significative chez les souris traitées par l'extrait de la plante *Crataegus monogyna*.

II. Les résultats du dosage des paramètres biochimiques

II.1 L'ASAT

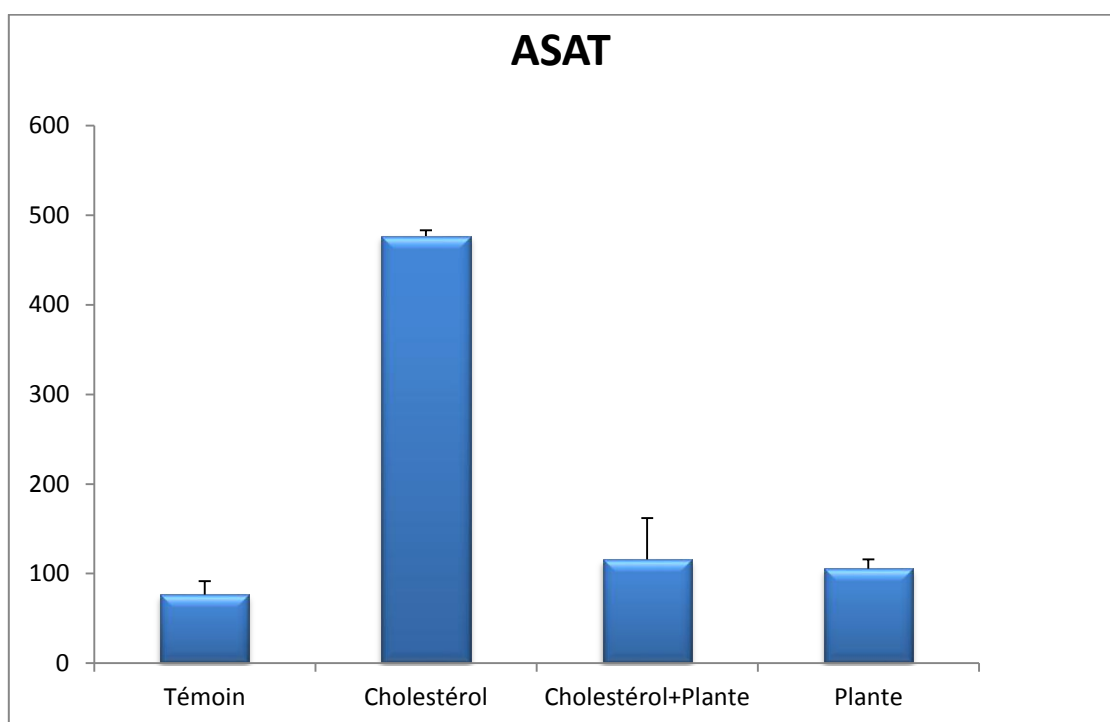


Figure.26 : interaction de cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ASAT chez les souris.

Le taux de l'ASAT des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+ Plante) sont respectivement $(76,42 \pm 15,21 \text{ UI/l})$, $(476,52 \pm 6,43 \text{ UI/l})$, $(105,52 \pm 10,44 \text{ UI/l})$ et $(115,84 \pm 46,19 \text{ UI/l})$ (**Figure.26**).

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, Plante et Cholestérol+Plante), ces résultats sont très hautement significatifs avec $p < 0,001$.

II.2 L'ALAT

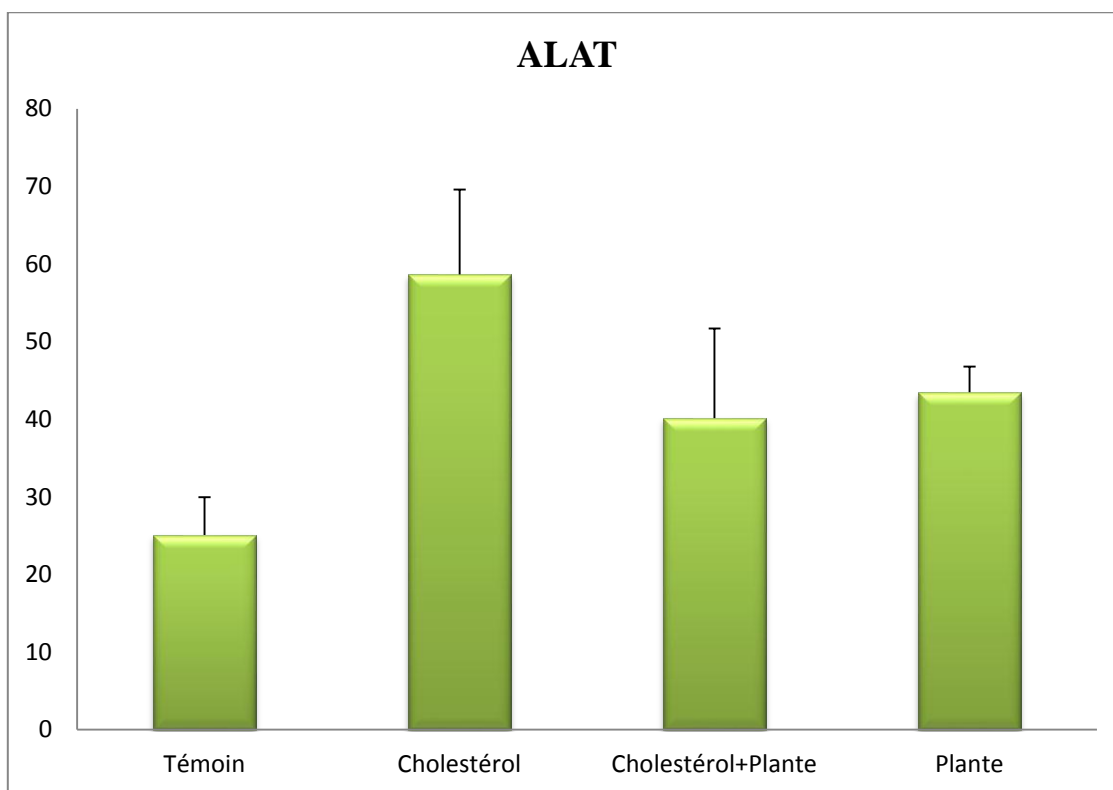


Figure.27 : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ALAT chez les souris.

Le taux de l'ALAT des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+ Plante) sont respectivement $(25,10 \pm 4,86 \text{ UI/l})$, $(58,65 \pm 10,94 \text{ UI/l})$, $(43,50 \pm 3,26 \text{ UI/l})$ et $(40,14 \pm 11,57 \text{ UI/l})$ (**Figure.27**).

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, Plante et Cholestérol+Plante), ces résultats sont très hautement significatifs avec $p = 0,000$.

II .3 Le cholestérol

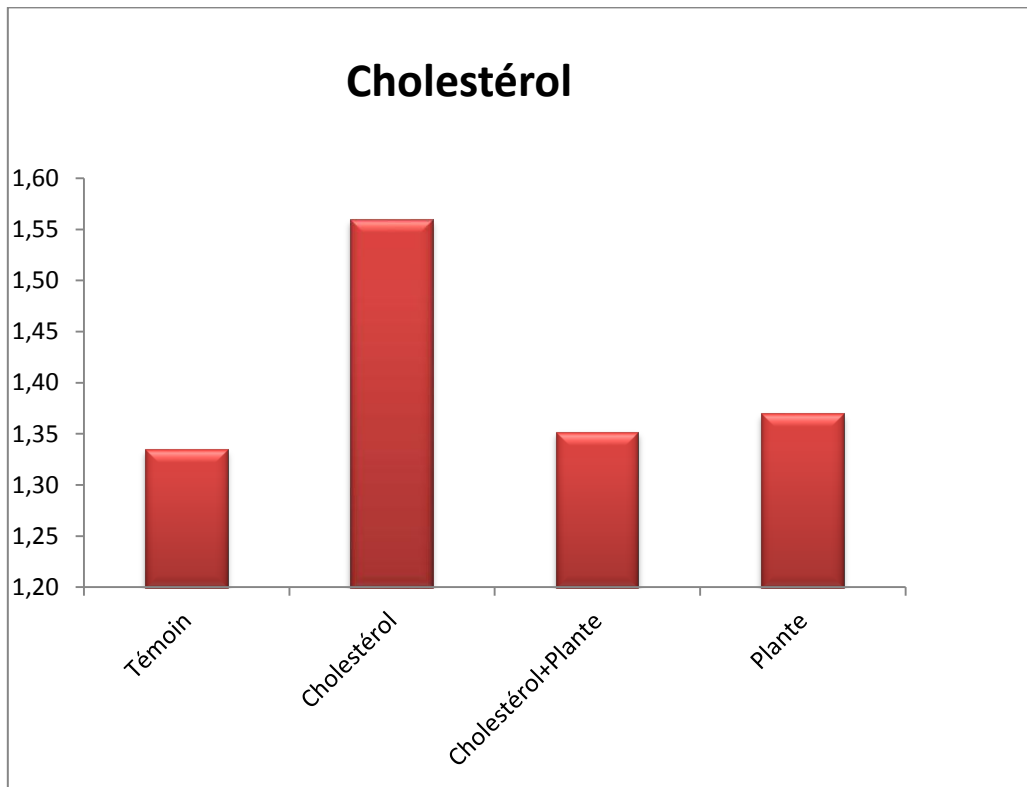


Figure.28 : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de cholestérol chez les souris.

Le taux du cholestérol des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+ Plante) sont respectivement $(1,34 \pm 0,14 \text{g/l})$, $(1,56 \pm 0,08 \text{g/l})$, $(1,37 \pm 0,06 \text{g/l})$ et $(1,35 \pm 0,11 \text{g/l})$ (**Figure.28**).

La comparaison des données montre que le taux du cholestérol dans le groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Plante et Cholestérol+Plante), ces résultats sont significatifs avec $p=0.02$.

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

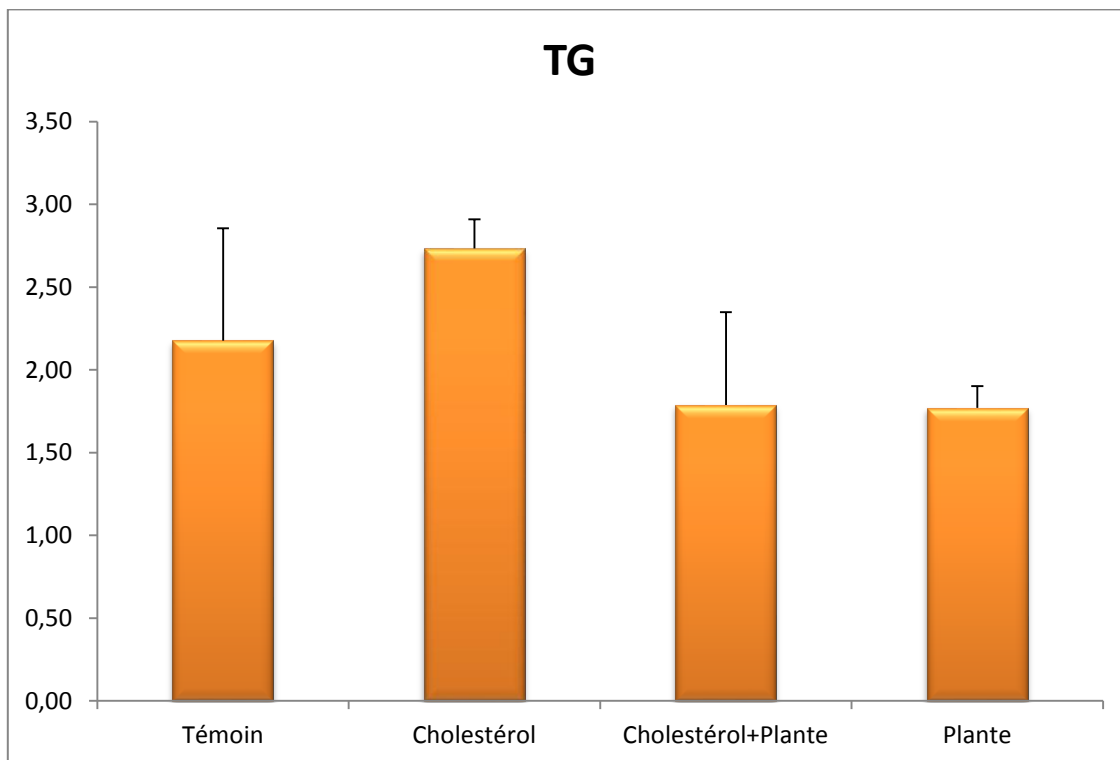


Figure.29 : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux des triglycérides chez les souris.

Le taux des triglycérides des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+Plante) sont respectivement ($2,18 \pm 0,67$ g/l) , ($2,73 \pm 0,17$ g/l), ($1,77 \pm 0,13$ g/l) et ($1,79 \pm 0,56$ g/l) (**Figure.29**).

La comparaison de nos données montre que le taux des triglycérides du groupe (Cholestérol) est plus élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Plante et Cholestérol+Plante), ces résultats sont non significatifs avec $p=0.33$.

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 et l'hypertriglycéridémie constitue un facteur de risque. (**Volanakis J.E 1971**).

II.5 L'HDL-c

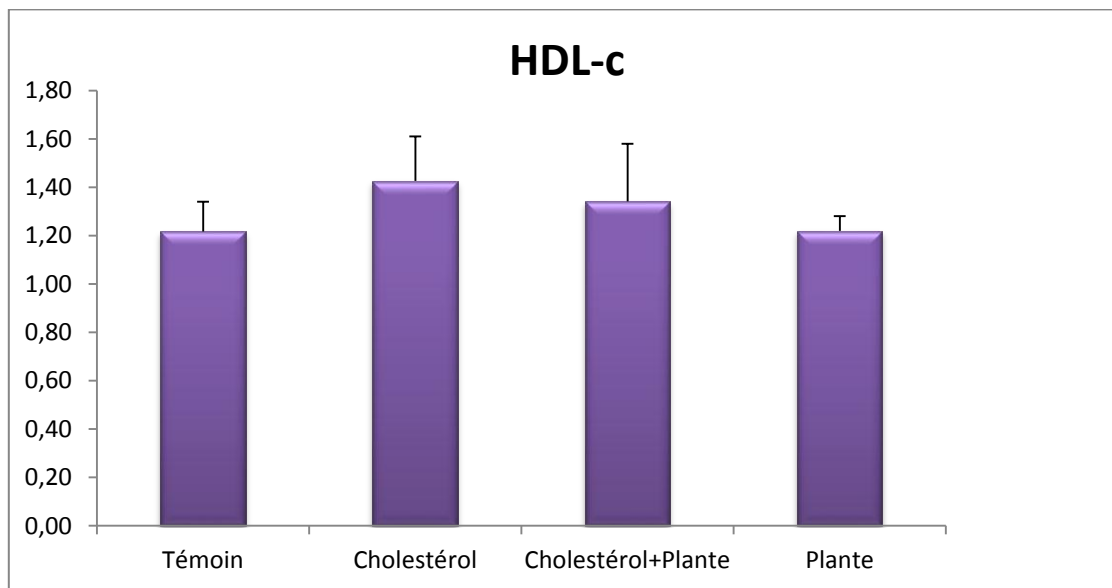


Figure.30 : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'HDL-c chez les souris.

Le taux de l'HDL-c des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+ Plante) sont respectivement (1,22±0,12 g/l) , (1,43±0,18 g/l), (1,22±0,06 g/l) et (1,34±0,23 g/l) (**Figure.30**).

La comparaison des données montre que les taux de l'HDL-c des groupes (Témoin et Plante) sont plus basses par rapport aux autres groupes (Cholestérol et Cholestérol+Plante), ces résultats sont non significatifs avec p=0.36.

Contrairement à leur plus grande contrepartie, HDL principalement délivre le cholestérol vers le foie pour être métabolisé et excrété ou réduite. C'est aussi l'hypothèse que les HDL sont capables de déloger les molécules de cholestérol à partir des athéromes dans les parois des artères (**Huang et Sumpio, 2008**).

Ces résultats suggèrent une relation probable entre hypercholestérolémie et hyperlipidémie. Nos résultats ne sont pas accord avec les études de (**LEE MJ et al, 2002**). (96)

II.6 L'LDL-c

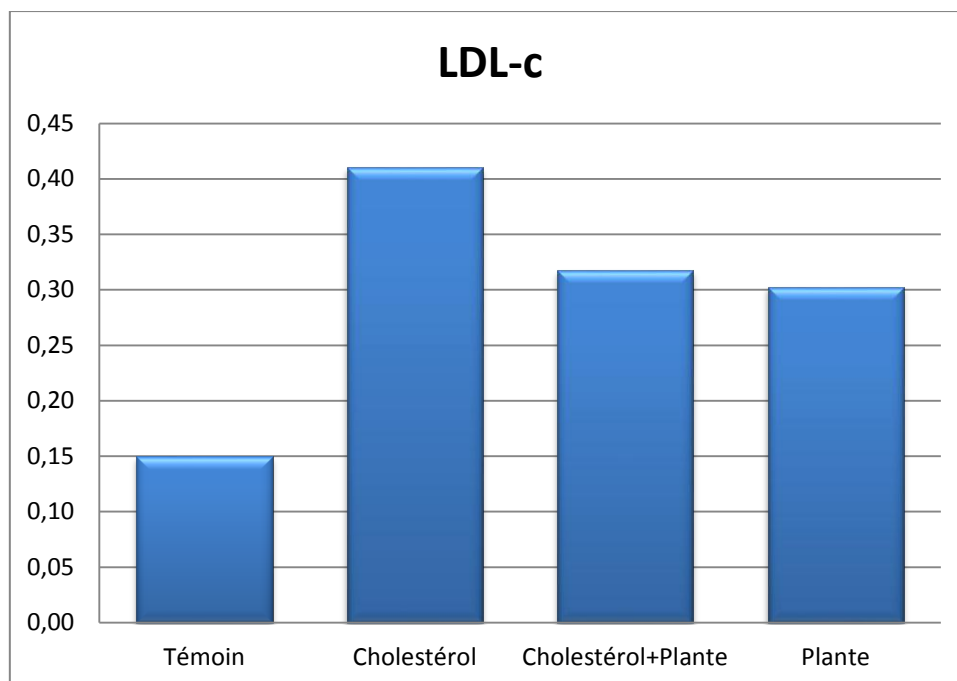


Figure.31 : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'LDL-c chez les souris.

Le taux de l'LDL-c des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+ Plante) sont respectivement (0,15±0,14g/l) , (0,41±0,26g/l) , (0,30±0,16 g/l) et (0,32±0,12g/l) (**Figure.31**).

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, Plante et Cholestérol+Plante), ces résultats sont non significatifs avec $p=0.10$.

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

L'hypercholestérolémie a provoqué une augmentation importante du taux de cholestérol total, de triglycérides et de LDL-C ce qui indique un changement de la perméabilité des cellules hépatiques. Le traitement par l'extrait de *Crataegus monogyna* a corrigé les anomalies structurelles observées dans les niveaux de cholestérol total, de triglycérides et de LDL-c. Nos résultats ont confirmé la conclusion de l'étude EUROLIVE .

L'augmentation des niveaux de LDL est un facteur de risque majeur pour les maladies cardiovasculaires (Obeid R.2009). [97]. Car ils facilitent le transport du cholestérol dans les artères. L'oxydation du cholestérol LDL ox LDL, a contribué à la formation des cellules spumeuses et, par conséquent inhibe la régression des macrophages provenant des plaques.

II.7 La CRP

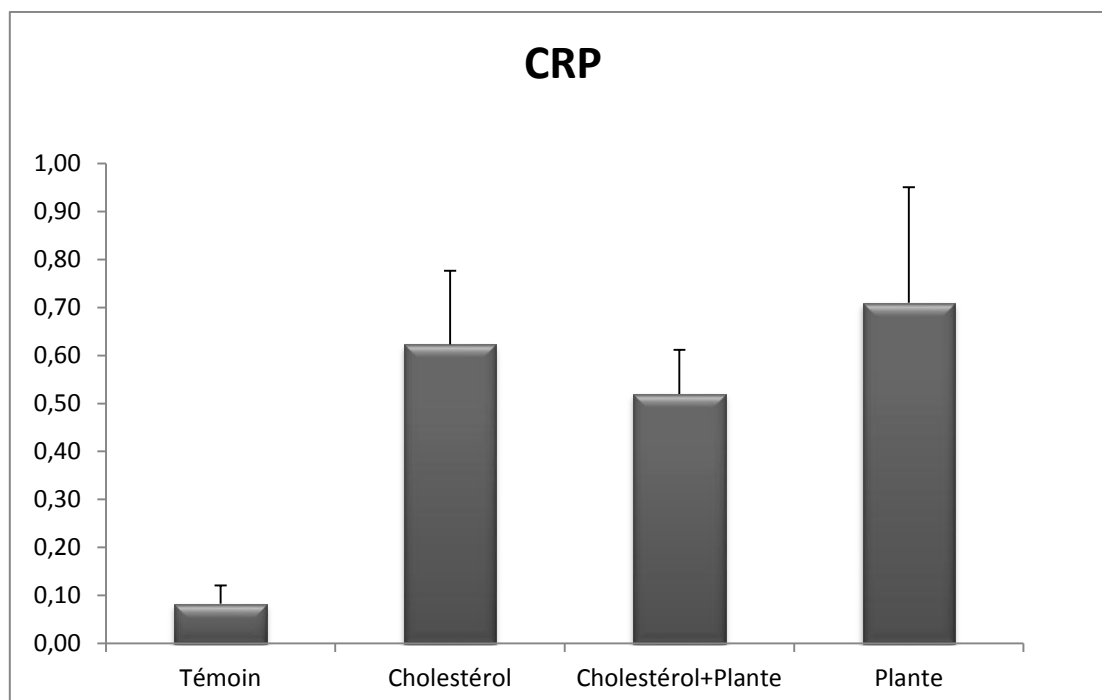


Figure.32 : interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de la CRP chez les souris.

Le taux de la CRP des groupes (Témoin, Cholestérol, Plante et Cholestérol+ Plante) sont respectivement (0,08±0,03 mg/l) , (0,62±0,15 mg/l), (0,71±0,24 mg/l) et (0,52±0,09 mg/l) (Figure.32).

La comparaison des données montre que le taux de la CRP des groupes (Cholestérol et Plante) ont une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin et Cholestérol+Plante), ces résultats sont très hautement significatifs avec $p=0.000$

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.

Nous avons constaté une augmentation dans la concentration de la protéine C-réactive (CRP) chez les souris administrées 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 l'extrait de *Crataegus monogyna* a abaissé les taux plasmatiques de la CRP. Cette différence est interprétée par le fait que *Crataegus monogyna* pourrait contenir des composés possédant des propriétés anti inflammatoires.

Conclusion

CONCLUSION

Bien que de grands progrès aient été réalisés ces 20 dernières années pour prévenir l'athérosclérose, celle-ci reste toujours la principale cause de mortalité dans les pays industrialisés. Les stratégies actuelles, qui visent avant tout à modifier les paramètres lipidiques plasmatiques, n'apportent pas de solution thérapeutique à l'ensemble des patients.

Des études plus approfondies des mécanismes physiologiques impliqués sont donc à poursuivre pour proposer de nouvelles approches médicamenteuses.

L'intérêt de nouveaux produits hypocholestérolémiants, qui vont difficilement concurrencer les statines, réside dans la possibilité de les administrer avec ces dernières, de façon à atteindre les valeurs recommandées de cholestérolémie.

Malgré leur complexité, le métabolisme du cholestérol et le mécanisme d'athérogenèse sont une source riche de cibles moléculaires étudiées pour développer de nouveaux médicaments contre l'athérosclérose.

Les travaux qui en découlent devraient contribuer à diminuer l'impact négatif des maladies cardiovasculaires sur la longévité, non seulement dans les pays industrialisés, mais également dans le reste du monde, car ces maladies n'ont pas de limites socio-économiques ou géographiques.

Dans notre étude, nous avons déterminé les effets du régime (hypercalorique et hyperlipidique) et de la supplémentation en extrait de fruit *Crataegus monogyna*, sur le poids corporel et les changements métaboliques (paramètres biochimiques ; Cholestérol, Triglycérides, HDL, LDL, ASAT, ALAT et la CRP) par l'utilisation d'un modèle expérimental d'hypercholestérolémie nutritionnelle, les souris *Mus musculus*.

Nos résultats montrent que le régime induit chez le groupe (Cholestérol) une hyperphagie 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 du Cholestérol, Triglycérides, HDL-c, LDL-c aussi des sécrétions hépatiques des Transaminases (ASAT et ALAT) et des biomarqueurs de l'inflammation cardiovasculaire.

Cette étude a démontré aussi que l'extrait de *Crataegus monogyna* a des effets bénéfiques sur le métabolisme lipidique postprandial. Cet effet bénéfique est très marqué chez les souris obèses avec des résultats très hautement significatifs ($p = 000$).

Ce travail mérite d'être approfondi pour le même axe de recherche pour obtenir plus de données et de déterminer une dose efficace et exacte de l'extrait de *Crataegus monogyna*, en l'associant avec la supplémentation de différents types d'antioxydants d'origines végétales (fruits et légumes), comme moyen de lutte contre les complications de l'obésité.

Nous devons évaluer de nombreux sujets dans les travaux futurs:

- Nous allons développer la culture de cellules endothéliales dans le but d'explorer la relation entre l'hypercholestérolémie et la dysfonction endothéliale du niveau moléculaire.

Résumé

ملخص

إن الهدف من دراستنا هو تقييم اثر تعزيز الحماية العامة و الحماية الغنية بالدهون و الحريات بواسطة الـ (AGPI) باستعمال مستخلص الزعرور احادي المدقة على الوزن الحي و بعض المؤشرات الكيموحيوية (الكوليسترول الكلي، الغليسيريدات الثلاثية، HDL-C، LDL-C، ASAT و ALAT).

في حالة الافراط، ارتفاع الكوليسترول يعتبر عامل خطر مستقل عن تصلب الشرايين، قد يسبب أضرار خلوية و جزيئة جسيمة.

الفرنان من نوع *فأر المنازل* استفادوا امن حماية عامة و حماية غنية او لا بمستخلص الزعرور احادي المدقة و ذلك خلال 18 يوما.

نتائجنا تظهر أن الحماية الغنية بالكوليسترول تسبب شراهة الأكل و سمنة عند الفرنان تحت حماية غنية بالكوليسترول مقارنة بالفرنان الشاهدة.

في هذه الدراسة قمنا بقياس مؤشرات الدهون (الكوليسترول الكلي، HDL، LDL، الغليسيريدات الثلاثية) و نشاط الترانسامينات (TGP، TGO) و CRP عند الفرنان. و بعد أخذ جرعة مرتفعة من L-مثنونين عن طريق الفم، و تخريب هذا الأخير أنتج فانضا من الكوليسترول في البلازما الدموية، و الذي بدوره أدى الى زيادة جد معتبرة لكل من ALAT و ASAT ولكن غير معتبرة بالنسبة ل HDL و TG و LDL و مع ذلك فان الفرنان المعالجة بالكوليسترول و مستخلص الزعرور احادي المدقة أظهرت انخفاضاً معتبراً في نسبة ALAT، ASAT، الكوليسترول، TG، LAL و CRP و لكن غير معتبرة بالنسبة ل HDL ، اذن الزيت المستخلص من الزعرور احادي المدقة له اثار مفيدة على حالة الأوكسدة و ذو قيمة غذائية معتبرة.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أظهرت أن مستخلص الزعرور احادي المدقة يمكن أن يعتبر كمصدر طبيعي من أجل الوقاية و علاج أمراض القلب و الشرايين.

كلمات المفتاح: ارتفاع الكوليسترول ، مستخلص الزعرور احادي المدقة، التهاب و CRP

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer les effets d'enrichissement en AGPI du régime standard et du régime (hyper lipidique et hypercalorique) par l'extrait de *Crataegus monogyna* sur le poids vif et sur quelques paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT et ALAT) et les marqueurs d'inflammation ; la CRP.

En cas d'excès, l'hypercholestérolémie, considérée comme un facteur de risque indépendant d'athérosclérose, peut causer énormément d'altérations moléculaires et cellulaires.

Des souris *Mus musculus*, ont reçu le régime standard ou le régime enrichi ou non par l'extrait de *Crataegus monogyna* pendant 18 jours.

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

Dans cette étude, nous avons dosé les paramètres lipidiques (cholestérol total, LDL, HDL, triglycérides), l'activité des transaminases (TGO et TGP) et la CRP chez des souris.

Après administration orale de la dose élevée de L-méthionine, la dégradation de cette dernière produit un excès de cholestérol dans le plasma sanguin, qui est à son tour cause une augmentation très hautement significative de l'ASAT, ALAT et la CRP mais non significative pour les TG, HDL et LDL.

Cependant, les souris traitées par le cholestérol avec l'extrait de *Crataegus monogyna*, ont montré une diminution significative de l'ASAT, ALAT, cholestérol, TG, LDL et la CRP mais non significative pour l'HDL. Donc, l'huile de *Crataegus monogyna* a des effets bénéfiques sur le statut redox et présente un intérêt nutritionnel.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'extrait de *Crataegus monogyna* peut être considéré comme une source naturelle pour prévenir et traiter les maladies cardiovasculaires.

Mots clés : Hypercholestérolémie, extrait de *Crataegus monogyna*, inflammation et la CRP.

Abstract

The aim of our work is to evaluate providing effects with AGPI of a standard diet and a (hyperlipidic and hypercaloric diet) using the extract from *Crataegus monogyna* on the living weight and on some biochemical parameters (total cholesterol, triglycerids, HDL-c, LDL-c, ASAT and ALAT) and inflammation markers; the CRP.

In the case of excess, hypercholesterolemia is considered as a risk factor independent from atherosclerosis, can cause huge molecular and cellular alterations.

Mus musculus mice, have received the standard diet or the provided diet or not with *Crataegus monogyna* extract during 18 days.

Our results demonstrate that hypercholesterolemiant diet induces a hyperphagy and obesity in mice under hypercholesterolemiant diet comparing to control mice.

In this study, we have dosed lipidic parameters (total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides), transaminase activity (TGO and TGP) and CRP in mice.

After oral inoculation of high doses of L-methionine, the degradation of this latter produces and excess of cholesterol in plasma of the blood, which is the reason for a high significant increase of ASAT, ALAT and the CRP, but non significant for TG, HDL and LDL.

However, treated mice with cholesterol and the extract of *Crataegus monogyna* show a significant decrease of ASAT and ALAT, cholesterol, TG, LDL, and the CRP but non significant for HDL. So, *Crataegus monogyna* oil has beneficent effects on redox status and present a nutritional interest.

Obtained results in this study show that *Crataegus monogyna* can be considered as a natural source to prevent and treat cardiovascular diseases.

Key words: Hypercholesterolemia, *Crataegus monogyna*, inflammation and CRP.

Références

Bibliographiques

- [1] **AILHAUD et GUESNET.(2004)**. Development of white adipose tissue. In : Bray AG, eds. Handbook of Obesity : Etiology and Pathophysiology, Second Edition. New York : Marcel Dekker, Inc: 481-514.
- [2] **KIM SW, MOON SJ, POPKIN BM (2002)**. The nutrition transition in South Korea. Am J of Clin Nut. 71 : 44-53.
- [3] **Lowbeer, C., et al. (2002)**. Elevated cardiac troponin T in peritoneal dialysis patients is associated with CRP and predicts all-cause mortality and cardiac death. Nephrol Dial Transplan 17(12): 2178-83.
- [4] **Cesari M et al. (2003)**. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. Circulation 108 (19):2317-2322.
- [5] **Gray H. (1918)**.Anatomy of the human body .Lea & Febiger in **Lau Sylvie. (2014)**. Stent pour limiter la dilatation progressive de l'aorte. Dipolme de Maitrse, Université de Montréal.
- [6] **Johnston K W, Rutherford R B, Tilson M D, Shah DM, Hollier L, Stanley J C.(1991)**. Suggested standards for reporting on arterial aneurysms; *Journal of vascular surgery* , **13** : 452-58.
- [7] **Ganong W. (2005)**.Physiologies médical .De Boeck supérieur .in **Lau Sylvie. (2014)**. Stent pour limiter la dilatation progressive de l'aort. Dipolme de Maitrse, Université de Montréal.
- [8] **Alexander W R, Schlant R C, Fuster V O, Rourke R A, Roberts R, Sonnenblick E H. (1998)**." Hurst 's the heart, arteries and veins». 9 th edition. Mc Graw-Hill Health Professional Division, New York. In **Lepetit H. (2005)**. Métalloprotéinases de la matrice extracellulaire dans le remodelage vasculaire en pathologie humaine. Thèse de doctorat, Université Paris XIII.

[9] **Wolinsk H, Glagovs (1967)**. Alamellar unit of aortic medial structure and function in mammals. *Circ. Res* ; **20**: 99-111 in **Laurent S (1997)**. Physiopathologie du remodelage artériel dan l'hypertension artérielle, *m/s*; **13**:6-7.

[10] **Pugsley MK, tabrizchi R .(2000)**. The vascular system. Ar over view of structure and function. *J Pharmacol toxical methods* ; **44**:333-40. **In Moreau S (2010)**. Modification de la matrice entra cellulaire dans la rigidité arterielle. Thèse de doctorat, une université de Montréal.

[11] **Sten mark KR, Davie N, Frid M, Geras imovs Kaya E , Das M.(2006)** .Role of the adventitia in pulmonary vascular remodeling. *Physiology (Bethesda)*; **21**:134-45. **In Moreau S (2010)**. Modification de la matrice entra cellulaire dans la rigidité artérielle. Thèse de doctorat, université de Montréal.

[12] **Braquet, P., P.E. Chabrier, and F. Clostre.(1994)**. Les fonctions de l'endothélium. *Presse Médicale*. 1994 ;23:225-227.

[13] **Schwartz SM, DeBlois D, O'Brien ERM.(1995)**. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Cir Res* 1995;77:445-465.

[14] **Jacob P. (2006)**. Matrice extracellulaire et vieillissement vasculaire. *M/S* ; **22** : 273-8.

[15] **Robins, S.P., and C. Farquharson. (1995)**. Connective tissue components of the blood vessel wall in health and disease. *In: Vascular Pathology*. Eds Stehbens WT, Lie JT. Chapman & Hall Medical , London : 89-127

[16] **Fosang, A.J., and T.E. Hardingham. Matrix proteoglycans. (1996)**.*In:Extracellular matrix*. Ed Comper WD. Harwood academic publishers, Melbourne, Australia; 2:200-230.

[17] **Giral P. (1998)**. Athérome: anatomie pathologique, physiopathologie, épidémiologie et facteurs de risque, prévention. *Rev.Prat*. **48**, 99-106.

- [18] **Stary H.C. (1994).** Changes in components and structure of atherosclerotic lesions developing from childhood to middle age in coronary arteries. *Basic Res. Cardiol.* 89 Suppl 1, 17-32.
- [19] **Davignon J. and Ganz P. (2004).** Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 109, III27-III32.
- [20] **Giannotti G. and Landmesser U. (2007).** Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. *Herz* 32, 568-572.
- [21] **Glagov S., Weisenberg E., Zarins C.K., Stankunavicius R. and Kolettis G.J. (1987).** Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N.Engl.J.Med.* 316, 1371-1375.
- [22] **Virmani R., Kolodgie F.D., Burke A.P., Farb A. and Schwartz S.M. (2000).** Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20, 1262-1275.
- [23] **Raines E.W. and Ross R. (1996).** Multiple growth factors are associated with lesions of atherosclerosis: specificity or redundancy? *Bioessays* 18, 271-282.
- [24] **Danesh J., Collins R. and Peto R. (1997).** Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 350, 430-436.
- [25] **Springer T.A. (1994).** Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 76, 301-314.
- [26] **Giachelli C.M., Lombardi D., Johnson R.J., Murry C.E. and Almeida M. (1998).** Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. *Am.J.Pathol.* 152, 353-358.
- [27] **Mondy J.S., Lindner V., Miyashiro J.K., Berk B.C., Dean R.H. and Geary R.L. (1997).** Platelet-derived growth factor ligand and receptor expression in response to altered blood flow in vivo. *Circ.Res.* 81, 320-327.

- [28] Nakashima Y., Raines E.W., Plump A.S., Breslow J.L. and Ross R. (1998). Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* **18**, 842- 851.
- [29] Ross R. (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N.Engl.J.Med.* 340, 115- 126.
- [30] Boring L et al. (1997). Impaired monocyte migration and reduced type 1 (Th1) cytokine responses in C-C chemokine receptor 2 knockout mice. *J.Clin.Invest* 100, 2552-2561.
- [31] Hynes R.O. and Wagner D.D. (1997). Genetic manipulation of vascular adhesion molecules in mice. *J.Clin.Invest* 100, S11-S13.
- [32] Rosenfeld M.E. and Ross R. (1990). Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis* **10**, 680-687.
- [33] Hansson G.K., Libby P., Schonbeck U. and Yan Z.Q. (2002). Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ.Res.* **91**, 281-291.
- [34] Folcik V.A., Aamir R. and Cathcart M.K. (1997). Cytokine modulation of LDL oxidation by activated human monocytes. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* **17**, 1954- 1961.
- [35] Wick G et al. (1997). Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *FASEB J.* **11**, 1199-1207.
- [36] Hollenbaugh D et al, (1995). Expression of functional CD40 by vascular endothelial cells. *J.Exp.Med.* **182**, 33-40.
- [37] Mach F., Schonbeck U., Sukhova G.K., Atkinson E. and Libby P. (1998). Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. *Nature* **394**, 200-203.
- [38] Ross R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* **362**, 801-809.
- [39] Davi G. and Patrono C. (2007). Platelet activation and atherothrombosis. *N.Engl.J.Med.* **357**, 2482-2494.

- [40] **Gawaz M., Langer H. and May A.E. (2005).** Platelets in inflammation and atherogenesis. *J.Clin.Invest* **115**, 3378-3384.
- [41] **Davies M.J. (1990).** A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. *Circulation* **82**, II38-II46.
- [42] **Badimon J.J et al. (1997).** Thrombosis triggered by severe arterial lesions is inhibited by oral administration of a glycoprotein IIb/IIIa antagonist. *Eur.J.Clin.Invest* **27**, 568-574.
- [43] **Witztum J.L. and Berliner J.A. (1998).** Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr.Opin.Lipidol.* **9**, 441-448.
- [44] **Stemme S., Faber B., Holm J., Wiklund O., Witztum J.L. and Hansson G.K. (1995).** T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **92**, 3893-3897.
- [45] **Dichtl W et al. (1999).** Very low-density lipoprotein activates nuclear factor kappaB in endothelial cells. *Circ.Res.* **84**, 1085-1094.
- [46] **Griendling K.K., Ushio-Fukai M., Lassegue B. and Alexander R.W. (1997).** Angiotensin II signaling in vascular smooth muscle. New concepts. *Hypertension* **29**, 366-373.
- [47] **Federici M. and Lauro R. (2005).** Review article: diabetes and atherosclerosis—running on a common road. *Aliment.Pharmacol.Ther.* **22 Suppl 2**, 11-15.
- [48] **See R et al. (2007).** The association of differing measures of overweight and obesity with prevalent atherosclerosis: the Dallas Heart Study. *J.Am.Coll.Cardiol.* **50**, 752-759.
- [49] **Libby P., Egan D. and Skarlatos S. (1997).** Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* **96**, 4095-4103.

- [50] **Dessein P.H., Joffe B.I. and Stanwix A.E. (2004).** High sensitivity C-reactive protein as a disease activity marker in rheumatoid arthritis. *J.Rheumatol.* **31**, 1095-1097.
- [51] **Ayada K., Yokota K., Kobayashi K., Shoenfeld Y., Matsuura E. and Oguma K. (2007).** Chronic infections and atherosclerosis. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* **1108**, 594-602.
- [52] **Margaglione M et al. (2000).** C-reactive protein in offspring is associated with the occurrence of myocardial infarction in first-degree relatives. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* **20**, 198-203.
- [53] **Van Snick J. (1990).** Interleukin-6: an overview. *Annu.Rev.Immunol.* **8**, 253-278.
- [54] **Heinrich P.C., Castell J.V. and Andus T. (1990).** Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem.J.* **265**, 621-636.
- [55] **Munro J.M. and Cotran R.S.(1988).** The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab Invest* **58**, 249-261.
- [56] **Luscinskas F.W et al. (1994).** Monocyte rolling, arrest and spreading on IL-4 activated vascular endothelium under flow is mediated via sequential action of Lselectin, beta 1-integrins, and beta 2-integrins. *J.Cell Biol.* **125**, 1417-1427.
- [57] **Mendall M.A., Patel P., Ballam L., Strachan D. and Northfield T.C. (1996).** C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* **312**, 1061-1065.
- [58] **Stefanadis C et al. (2000).** Heat production of atherosclerotic plaques and inflammation assessed by the acute phase proteins in acute coronary syndromes. *J.Mol.Cell Cardiol.* **32**, 43-52.
- [59] **Volanakis J.E. and Kaplan M.H. (1971).** Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* **136**, 612-614.

- [60] Tillet W.S. and Francis T. (1930). Serological reactions in pneumonia with a non protein somatic fraction of pneumococcus. *J.Exp.Med.* **52**, 561-571.
- [61] Pepys J. and Longbottom J.L. (1971). Antigenic and C-substance activities of related glycopeptides from fungal, parasitic and vegetable sources. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.* **41**, 219-221.
- [62] Kaplan M.H. and Volanakis J.E. (1974). Interaction of C-reactive protein complexes with the complement system. I. Consumption of human complement associated with the reaction of C-reactive protein with pneumococcal C-polysaccharide and with the choline phosphatides, lecithin and sphingomyelin. *J.Immunol.* **112**, 2135-2147.
- [63] Bharadwaj D., Stein M.P., Volzer M., Mold C. and Du Clos T.W. (1999). The major receptor for C-reactive protein on leukocytes is fcgamma receptor II. *J.Exp.Med.* **190**, 585-590.
- [64] Torzewski M et al. (2000). C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc.Biol.* **20**, 2094-2099.
- [65] Griselli M et al. (1999). C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J.Exp.Med.* **190**, 1733-1740.
- [66] Shrive A.K et al. (1996). Three dimensional structure of human C-reactive protein. *Nat.Struct.Biol.* **3**, 346-354.
- [67] Roux K.H., Kilpatrick J.M., Volanakis J.E. and Kearney J.F. (1983). Localization of the phosphocholine-binding sites on C-reactive protein by immunoelectron microscopy. *J.Immunol.* **131**, 2411-2415.
- [68] Agrawal A., Cha-Molstad H., Samols D. and Kushner I. (2001). Transactivation of C-reactive protein by IL-6 requires synergistic interaction of CCAAT/enhancer binding protein beta (C/EBP beta) and Rel p50. *J.Immunol.* **166**, 2378-2384.

- [69] **Pepys M.B. and Hirschfield G.M. (2003).** C-reactive protein: a critical update. *J.Clin.Invest* **111**, 1805-1812.
- [70] **Marnell L., Mold C. and Du Clos T.W. (2005).** C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation. *Clin.Immunol.* **117**, 104-111.
- [71] **Vlaicu R., Rus H.G., Niculescu F. and Cristea A. (1985).** Immunoglobulins and complement components in human aortic atherosclerotic intima. *Atherosclerosis* **55**, 35-50.
- [72] **Rowe I.F et al. (1985).** Immunohistochemical studies of C-reactive protein and apolipoprotein B in inflammatory and arterial lesions. *J.Pathol.* **145**, 241-249.
- [73] **Bhakdi S et al. (2004).** Possible protective role for C-reactive protein in atherogenesis: complement activation by modified lipoproteins halts before detrimental terminal sequence. *Circulation* **109**, 1870-1876.
- [74] **Yasojima K., Schwab C., McGeer E.G. and McGeer P.L. (2001).** Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am.J.Pathol.* **158**, 1039-1051.
- [75] **Zhang S.H., Reddick R.L., Piedrahita J.A. and Maeda N. (1992).** Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* **258**, 468-471.
- [76] **Paul A et al. (2004).** C-reactive protein accelerates the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* **109**, 647-655.
- [77] **Wang C.H et al. (2003).** C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation* **107**, 1783-1790.
- [78] **Hattori Y., Matsumura M. and Kasai K. (2003).** Vascular smooth muscle cell activation by C-reactive protein. *Cardiovasc.Res.* **58**, 186-195.

- [79] **Sternik L et al. (2002).** C-reactive protein relaxes human vessels in vitro. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* **22**, 1865-1868.
- [80] **Bhakdi S., Torzewski M., Klouche M. and Hemmes M. (1999).** Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* **19**, 2348-2354.
- [81] **Taskinen S., Kovanen P.T., Jarva H., Meri S. and Pentikainen M.O. (2002).** Binding of C-reactive protein to modified low-density-lipoprotein particles: identification of cholesterol as a novel ligand for C-reactive protein. *Biochem.J.* **367**, 403-412.
- [82] **Verma S et al. (2002).** A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* **106**, 913-919.
- [83] **Pasceri V., Willerson J.T. and Yeh E.T. (2000).** Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* **102**, 2165-2168.
- [84] **Pasceri V., Cheng J.S., Willerson J.T. and Yeh E.T. (2001).** Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* **103**, 2531-2534.
- [85] **Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E. and Rifai N. (2000).** C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N.Engl.J.Med.* **342**, 836-843.
- [86] **Verma S et al. (2004).** C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation* **109**, 2058-2067.
- [87] **Li S.H et al. (2004).** C-reactive protein upregulates complement-inhibitory factors in endothelial cells. *Circulation* **109**, 833-836.

- [88] **Zhong W et al. (1998).** Effect of human C-reactive protein on chemokine and chemotactic factor-induced neutrophil chemotaxis and signaling. *J.Immunol.* **161**, 2533-2540.
- [89] **Mold C., Gresham H.D. and Du Clos T.W. (2001).** Serum amyloid P component and C-reactive protein mediate phagocytosis through murine Fc gamma Rs. *J.Immunol.* **166**, 1200-1205.
- [90] **Zwaka T.P., Hombach V. and Torzewski J. (2001).** C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* **103**, 1194-1197.
- [91] **Ahmed N., Thorley R., Xia D., Samols D. and Webster R.O. (1996).** Transgenic mice expressing rabbit C-reactive protein exhibit diminished chemotactic factor-induced alveolitis. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* **153**, 1141-1147.
- [92] **Khreiss T., Jozsef L., Potempa L.A. and Filep J.G. (2005).** Loss of pentameric symmetry in C-reactive protein induces interleukin-8 secretion through peroxynitrite signaling in human neutrophils. *Circ.Res.* **97**, 690-697.
- [93] **Hansson G.K., Holm J. and Kral J.G. (1984).** Accumulation of IgG and complement factor C3 in human arterial endothelium and atherosclerotic lesions. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand.[A]* **92**, 429-435.
- [94] **Klegeris A., Singh E.A. and McGeer P.L. (2002).** Effects of C-reactive protein and pentosan polysulphate on human complement activation. *Immunology* **106**, 381-388.
- [95] **Zerizer S. (2006).** Hyperhomocysteinemia, B vitamins and atherogenesis. Clinical and experimental studies. *Thèse de doctorat d'Etat, Option : Physiologie animale. Univ. Constantine 1* : 33-34.
- [96] **LEE MJ, POPKIN BM, KIM S (2002).** The unique aspects of the nutrition transition in South Korea: the retention of healthful elements in their traditional diet. *Public health Nutrition.* **5**:197- 203.

[97] **Obeid R. et Wolfgang H. (2009).** Homocysteine and lipids : S-Adenosylmethionine as a key intermediate. *FEBS Letters* 583 : 1215-1225.

Annexes

A- Calcule de la dose

- ❖ La dose de l'huile de la plante *Crataegus monogyna* :

0,18 ml → 1000g

X ml → poids de souris (g)

$$* \text{La dose de l'huile de la plante} = \frac{0,18 \times \text{poids de souris}}{1000} \text{ ml}$$

- ❖ La dose de cholestérol :

17 g (jaune d'œuf) → 60000g

Y → poids de souris (g)

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

B- Préparation des solutions

- ❖ Préparation de Nacl :

9g (Nacl) → 1000 ml eau distillée

- ❖ Préparation de formol :

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

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

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

Titre : Etude de l'effet de l'extrait de *Crataegus monogyna* sur quelques paramètres biochimiques chez des souris soumises à un régime riche en cholestérol**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 les effets d'enrichissement en AGPI du régime standard et du régime (hyperlipidique et hypercalorique) à l'extrait de *Crataegus monogyna* sur le poids vif et sur quelques paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT et ALAT) et les marqueurs d'inflammation ; la CRP.

En cas d'excès, l'hypercholestérolémie, considérée comme un facteur de risque indépendant d'athérosclérose, peut causer énormément d'altérations moléculaires et cellulaires.

Des souris *Mus musculus*, ont reçu le régime standard ou le régime enrichi ou non en extrait de *Crataegus monogyna* pendant 18 jours.

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

Dans cette étude, nous avons dosé les paramètres lipidiques (cholestérol total, LDL, HDL, triglycérides), l'activité des transaminases (TGO et TGP) et la CRP chez des souris.

Après administration orale de la dose élevée de L-méthionine, la dégradation de cette dernière produit un excès de cholestérol dans le plasma sanguin, qui est à son tour cause une augmentation très hautement significative de l'ASAT, ALAT et la CRP mais non significative pour les TG, HDL et LDL .

Cependant, les souris traitées par le cholestérol avec l'extrait de *Crataegus monogyna*. montrent une diminution significative de l'ASAT, ALAT, cholestérol, TG, LDL et la CRP mais non significative pour l HDL. Donc, l'huile de *Phoenix dactylifera* a des effets bénéfiques sur le statut redox et présente un intérêt nutritionnel.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'extrait de *Crataegus monogyna* peut être considéré comme une source naturelle pour prévenir et traiter les maladies cardiovasculaires.

Mots clés : Hypercholestérolémie, extrait de *Crataegus monogyna* , inflammation et la CRP.

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

Jury d'évaluation :

Présidente du jury :	TEBIBEL Soraya	(Professeur. UFM Constantine).
Rapporteur :	MESSAOUDI Sabar	(MAA. UFM Constantine).
Examinatrice:	HADDAD Souad	(MAA .UFM Constantine).

Date de soutenance : 05/06/2016