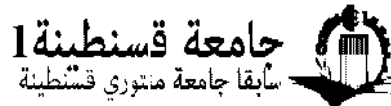




La République Algérienne Populaire et Démocratique



Université Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Animale

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme

Master en Immunologie et Oncologie

**L'effet de l'extrait de *Phoenix dactylifera*
chez les souris soumis à un régime enrichi en
cholestérol**

Présenté par : BENDJABALLAH KHALIDA

Membres de jury :

Présidente : ZERIZER SAKINA

Professeur Université Constantine 1

Examineur : MECHATI CHAHINEZ

Maître Assistante Université Constantine 1

Encadreur : MESSAOUDI SABAR

Maître Assistant Université Constantine 1

2013/2014

Remerciements

Je remercie dieu tout puissant qui nous a donné la force pour réaliser ce modeste travail.

الحمد رب العالمين

Un grand merci aux chers parents sans eux nous n'aurions jamais eu assez de courage pour terminer ce travail

Et si cette concrétisation a vu le jour c'est grâce aux instructions et à l'encadrement professionnel de Monsieur : MASSOUDI SABER merci pour votre aide, votre patience, votre précieux conseils

Je tien a ma profonde gratitudes a tout ceux qui mon aidé de prés ou de loin pour élaborer mon travail

Madame : TEBIBEL SORAYA (CO-ENCADREUR)

Madame : ZERIZER SAKINA

Madame : KAABOUCHE ZAHIA, BELADJILA KHADIDJA AYA et SERAA HICHEM (Labo d'obtention des substances thérapeutiques)

Monsieur : YASSER BOUDHERSA (Ingénieur de Laboratoire de zoologie)

Je remercie aussi tous mes collègues et mes amis

NACER EDDINE, HOUSSEM, SARA, LINA, MOUHEMED, NABIL, SAFIA

Merci mon frère pour tout l'aide que tu as fourni pour moi je t'offre ce travail

J'offre ce travail a tout les personne que j'aime et sur tout qui mon soutenu.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
<i>Chapitre I : L'ENDOTHELIUM VASCULAIRE, L'ATHEROSCLEROSE ET L'INFLAMMATION</i>	
I. L'ENDOTHELIUM VASCULAIRE	
I.1 Structure des artères	3
I.1.1 L'intima ou endothélium	3
I.1.2. La média.....	3
I.1.3. L'adventice	3
I.2. Structure histologique de la paroi artérielle saine.....	5
I.3 Fonctions des artères.....	6
II. L'ATHEROSCLEROSE ET L'INFLAMMATION	
II.1 L'athérosclérose dans l'Histoire.....	7
II.1.1 Histoire de la maladie.....	7
II.1.2. Etymologie.....	7
II.1.3. Histoire naturelle de la maladie humaine.....	7
II.2. Définition	9
II.3. Formation.....	10
II.3.1 Activation endothéliale.....	10
II.3.2. Infiltration lipidique.....	10
II.3.3. Composante inflammatoire.....	10
II.3.4. Capsule fibreuse.....	11
II.3.5. Sclérose.....	11
II.4 Athérosclérose : de la théorie lipidique à l'inflammation	11
II.4.1 Facteurs inducteurs de l'inflammation et de l'athérogenèse	12
II.4.2 La nature de la réponse inflammatoire	13
A. Interactions entre les cellules endothéliales, les monocytes et les lymphocytes T..	13
B. Monocytes et immunité.....	17
C. Les plaquettes	19
II.5 Vulnérabilité de la plaque.....	20
II.5.1 Définition.....	20
II.5.2 Pathophysiologie de la formation de la plaque vulnérable.....	21
II.6 Les cibles de l'inflammation.....	22
II.6.1 Lipoprotéines oxydées.....	22
II.6.2 Dyslipidémie.....	23
II.6.3 Hypertension.....	23
II.6.4Diabète.....	23

II.6.5 Obésité	24
II.6.6 Infection	24
II.7 Biomarqueurs inflammatoires et pathologies cardiovasculaires	24
Description des marqueurs de l'inflammation	25
A. Le fibrinogène	25
B. Les leucocytes	25
C. Les cytokines	25
D. Les molécules d'adhésion	25
E. Les immunoglobulines	26
F. La protéine C-réactive.....	26
 <i>CHAPITRE II : La CRP, actrice dans la pathologie cardiovasculaire</i>	
I.1. Caractères généraux de la CRP.....	27
I.1.1. Le gène.....	27
A. Localisation	27
B. Régulation de l'expression du gène de la CRP.....	27
I.1.2. La protéine.....	28
A. Historique	28
B. Structure primaire.....	28
C. Structures secondaire et tertiaire.....	28
D. Synthèse et localisation.....	29
E. Concentration plasmatique	29
II.2. La CRP, biomarqueur de l'inflammation et du risque cardiovasculaire	30
II.3. Problèmes généraux liés à l'utilisation des biomarqueurs	32
Matériels et méthodes	
1. Matériels	33
1.1. Choix des animaux	33
1.2. Prélèvement sanguin	33
1.3. Prélèvement des organes	33
1.4. Les produits	34
1.5. Equipements.....	34
1.6 Matériel végétal	35
2. Méthodes	36
2.1. Traitement des souris.....	36
2.2. Prélèvement sanguin.....	36
2.3. La dissection	37
2.4. Méthodes de dosage des paramètres biologiques.....	37

A. Dosage du cholestérol total.....	37
B. Dosage des triglycérides	37
C. Dosage des HDL-LDL.....	38
D. Dosage des transaminases.....	38
E. Dosage de la CRP.....	38
Analyse statistique.....	38
Résultats et discussion	
1. Poids et consommation de l'aliment.....	39
1.1 Première expérience.....	39
1.2 Deuxième expérience	40
2. Les résultats du dosage des paramètres biochimiques.....	43
2.1 Le Cholestérol.....	43
2.2 Les Triglycérides.....	44
2.3 L'ASAT.....	45
2.4 L'ALAT.....	46
2.5 L'HDL-c.....	47
2.6 L'LDL-c.....	48
2.7 La CRP	49
3. Les corrélations entre les groupes.....	49
3.1 Corrélation dans le groupe Cholestérol (Cholestérol-Triglycérides).....	50
3.2 Corrélation dans le groupe Cholestérol+ Plante (ASAT-LDL-c)	51
3.3 Corrélation dans le groupe Cholestérol+Plante (ALAT-Cholestérol).....	51
3.4 Corrélation dans le groupe Plante (Cholestérol-HDL-c).....	52
3.5 Corrélation dans le groupe Plante (HDL-c - CRP).....	52
Discussion générale.....	53
conclusion.....	54
Résumé.....	56
Références.....	59
Annexes.....	69

FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des différents tuniques de la paroi vasculaire	4
Figure 2: Histoire naturelle de l'athérosclérose.....	8
Figure 3: Schéma de la structure d'une plaque d'athérosclérose.....	9
Figure 4 : Formation d'une lésion athéromateuse.....	11
Figure 5 : Dysfonction endothéliale dans l'athérosclérose.....	14
Figure 6: Formation de la plaque graisseuse dans l'athérosclérose.....	15
Figure 7 : Effets des LT activés sur l'inflammation de la plaque d'athérome.....	16
Figure 8 : Formation des lésions avancées de l'athérosclérose.....	17
Figure 9 : Plaques fibreuses instables dans l'athérosclérose.....	20
Figure 10 : Promoteur du gène de la CRP.....	27
Figure 11 : Séquence protéique primaire de la protéine C-réactive.....	28
Figure 12 : Structure cristalline de la CRP.....	28
Figure 13 : Fixation de C1q sur le pentamère de CRP.....	29
Figure 14 : Risque relatif de développer une pathologie cardiovasculaire en fonction des biomarqueurs.....	31
Figure 15 : évaluation pondérale des souris des groupes L et N pendant 21 jours.....	39
Figure 16 : l'effet de l'apport du cholestérol sur le régime chez les souris pendant 21 jours.....	40
Figure 17 : évaluation pondérale des souris des groupes Y et A pendant 21 jours.....	41
Figure 18 : l'effet de l'apport du cholestérol et l'extrait de la plante sur le régime chez les souris pendant 21 jours.....	42
Figure 19 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de cholestérol chez les souris. $p = 0.000$	43
Figure 20: l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux des triglycérides chez les souris.....	44
Figure 21 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ASAT chez les souris.....	45
Figure 22 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ALAT chez les souris.....	46
Figure 23 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'HDL-c chez les souris.....	47
Figure 24 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'LDL-c chez les souris.....	48
Figure 25 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de la CRP chez les souris.....	49
Figure 26 : Corrélation dans le groupe Cholestérol (Cholestérol-Triglycérides).....	50
Figure 27 : Corrélation dans le groupe Cholestérol+ Plante (ASAT-LDL-c).....	51
Figure 28 : Corrélation dans le groupe Cholestérol+Plante (ALAT-Cholestérol).....	51
Figure 29: Corrélation dans le groupe Plante (Cholestérol-HDL-c).....	52
Figure 30: Corrélation dans le groupe Plante (HDL-c - CRP).....	52

TABLEAUX

Tableau 1: <i>Caractéristiques idéales d'un marqueur sérique de risque Cardiovasculaire</i>	31
Tableau 2 : <i>les composants de l'aliment des souris (Internet).....</i>	35
Tableau 3: <i>Traitement des souris.....</i>	36
Tableau 4 : <i>Variations de poids des souris pendant les 21 jours.....</i>	42
Tableau 5 : <i>Variations de l'aliment consommé par souris pendant les 21 jours.....</i>	42
Tableau 6 : <i>les corrélations significatives constatées entre les paramètres biochimique.....</i>	50

Abréviations :

AG : Acides gras.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AHA: American Heart Association

CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

Ch: Cholesterol.

CML : Cellules musculaires lisses.

CPAg : Cellules présentatrices d'antigène.

CRP : protéine C-réactive

ELAM : Molécule d'adhésion leucocytaire

HDL : Lipoprotéines de haute densité (High density lipoprotein).

hsCRP : analyse ultrasensible

HTA : Hypertension artérielle.

ICAM : Molécules d'adhésion intercellulaires

LDL : Lipoprotéines de basse densité (low density lipoprotein).

IDM : Infarctus du myocarde

MCV : Maladies cardiovasculaires

MMPs : Metalloprotéases.

NO : Monoxyde d'azote

OMS : Organisation mondiale de la santé.

(OR) : Odds ratios

TG: Triglycérides.

VCAM : Molécules d'adhésions des cellules vasculaires

VLDL: Lipoprotéines de très faible densité (Very low density lipoprotein).



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le terme de maladies cardiovasculaires regroupe les maladies coronariennes (angine de poitrine et infarctus du myocarde), les accidents vasculaires cérébraux (AVC), l'artériopathie des membres inférieurs ainsi que l'insuffisance cardiaque.

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.

Il existe donc les facteurs de risque majeurs, regroupant l'hypertension artérielle (HTA), l'excès de cholestérol et de triglycérides, le tabac, le diabète et l'augmentation du taux plasmatique de la protéine C-réactive (CRP), les facteurs de risque mineurs (sédentarité, stress,...) et les facteurs de risque dits immuables que sont le sexe, l'âge et les facteurs génétiques.

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. Par exemple, le phénomène inflammatoire est capable de s'auto-amplifier en fonction de la susceptibilité génétique de l'individu, de l'environnement [1], [2].

La réaction inflammatoire étant un processus complexe, difficile à décrire et à mesurer de manière objective, il a fallu proposer des biomarqueurs de l'inflammation. Ces molécules qui participent à la réaction inflammatoire doivent répondre à un certain nombre de critères pour être considérées comme telles. Il doit exister une linéarité entre la concentration des biomarqueurs et l'importance du risque et les variations de sa concentration doivent être rapides.

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. Parmi eux, la protéine C-réactive (CRP) semble être le plus puissant biomarqueur de l'inflammation indépendant prédictif du risque cardiovasculaire mais ses effets moléculaires et cellulaires ne sont pas encore clairement définis.

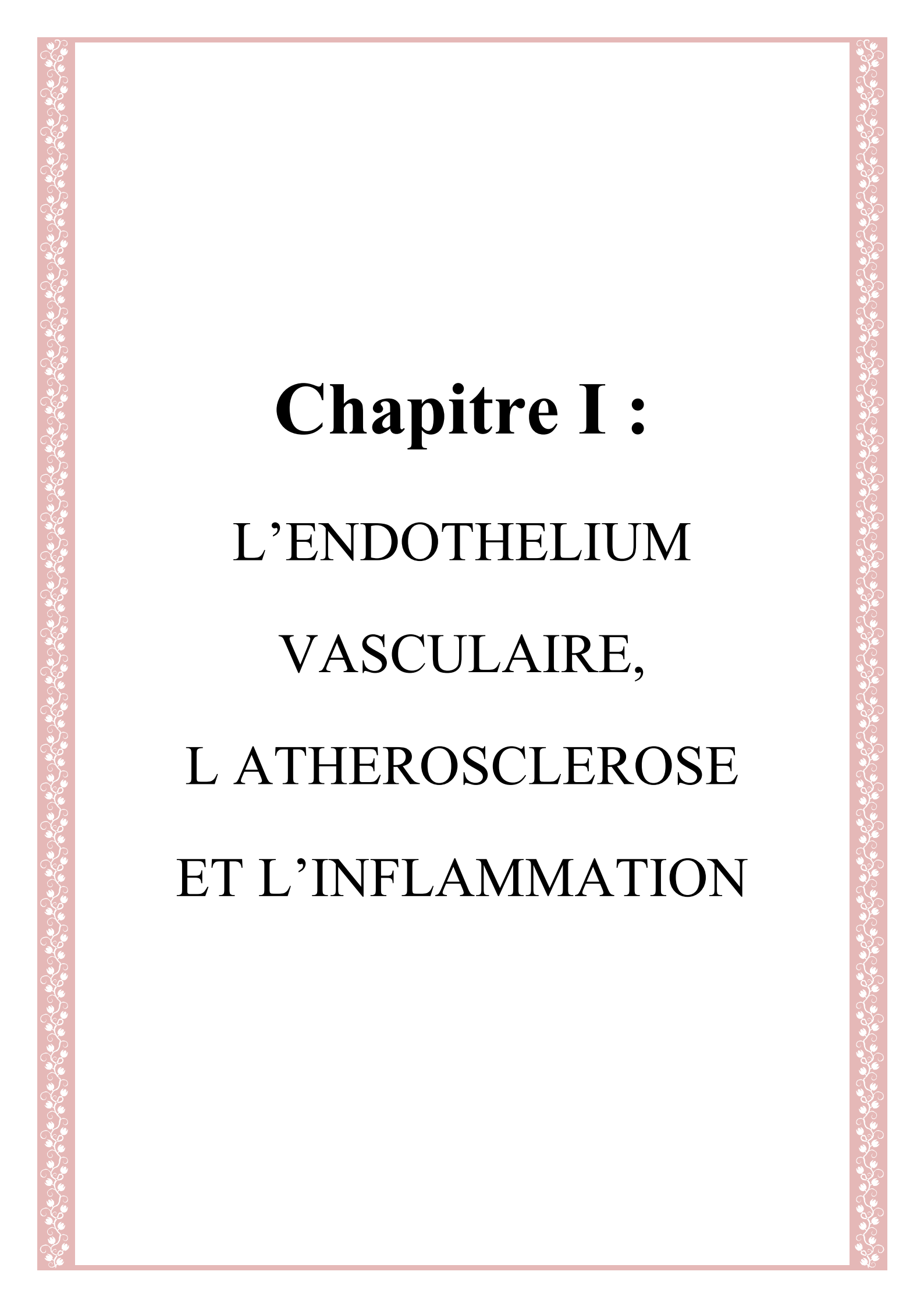
Notre travail se base sur l'utilisation d'un modèle expérimental d'hypercholestérolémie ou d'obésité nutritionnelle pendant une période de 21 jours d'expérimentation, le souris *Mus musculus* soumis à un régime hyperlipidique et hypercalorique, riche en acides gras saturés, provoque une hyperphagie et favorise l'accumulation de tissu adipeux qui conduit à l'obésité.

Les constituants de ce régime ont été choisis afin de mimer les comportements alimentaires observés chez l'Homme.

Dans un premier temps, ce régime est donné aux souris adultes en comparaison avec le régime témoin standard, pour mieux comprendre l'impact de la suralimentation chez les souris. Dans un deuxième temps, le régime ainsi que le régime témoin sont supplémentés d'huile de *Phoenix dactylifera*, et sont donnés aux souris adultes afin de déterminer les effets de du régime hypercholestérolémiant et de l'huile de *Phoenix dactylifera*.

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



Chapitre I :
L'ENDOTHELIUM
VASCULAIRE,
L'ATHEROSCLEROSE
ET L'INFLAMMATION

I. L'endothélium vasculaire

I.1 Structure des artères

La paroi artérielle est constituée de trois couches individualisées, de la lumière à la périphérie (**Figure 1**): l'intima, la média et l'adventice [3].

I.1.1 L'intima ou endothélium

C'est la couche la plus interne, elle est constituée d'une monocouche de cellules endothéliales et d'une base extracellulaire (collagène, glycoprotéines). L'intima joue un rôle majeur d'interface entre le sang et la paroi artérielle. Les cellules endothéliales ont une fonction fibrinolytique, antithrombotique, elles permettent la modulation de la vasomotricité artérielle par la synthèse et la transmission de nombreuses substances vasoactives vers le muscle lisse sous-jacent.

I.1.2. La média

C'est la couche centrale, la plus épaisse de la paroi artérielle. Dans les artères de conductance (aorte) elle est limitée par une lame élastique interne côté luminal et une lame élastique externe et se compose d'une succession de sous-couches délimitées par les lames élastiques. Dans les artères de résistance (mésentérique de 1^{er}, 2^{ème} ordre...), la lame élastique externe est fragmentée ou bien absente. La média est constituée essentiellement d'un type cellulaire prédominant, la cellule musculaire lisse vasculaire. Celle-ci est insérée dans une matrice extracellulaire qu'elle secrète et qui est constituée de fibres d'élastine et de collagène. Les cellules musculaires lisses sont indispensables pour la relaxation et la contraction des artères.

I.1.3. L'adventice

C'est la couche périphérique, constituée de tissu conjonctif (élastine, collagène), de fibroblastes, macrophages, terminaisons nerveuses et vasa vasorum (pour l'apport d'oxygène et nutriments). Les terminaisons nerveuses sont plus nombreuses sur les vaisseaux de faible calibre et musculaire alors que les vasa vasorum sont plus importants dans les artères de gros calibre (>200 µm). Cette couche externe joue un rôle dans la régulation de la vasomotricité en libérant des neurotransmetteurs responsables de signaux divers pour la cellule musculaire lisse. Les fibroblastes sont aussi capables de produire des médiateurs vasoactifs comme le NO ou les anions superoxydes et ainsi d'affecter le tonus vasculaire [4] et[5]

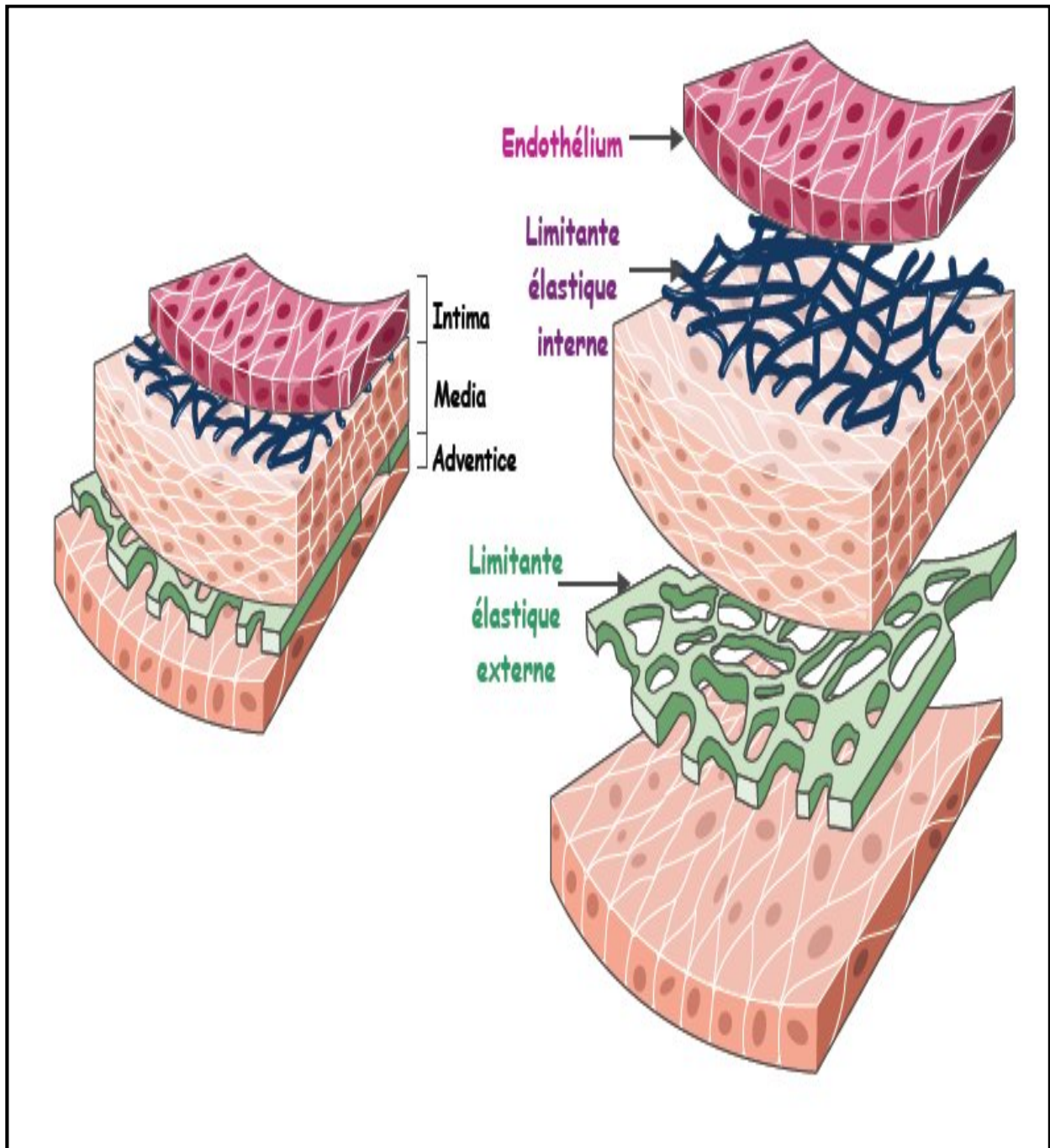


Figure 1 : Représentation schématique des différents tuniques de la paroi vasculaire.[1]

I.2. Structure histologique de la paroi artérielle saine

Avant de considérer le tissu pathologique, intéressons nous à la paroi artérielle saine.

Le tissu qui constitue les parois des artères est composé à 70% d'eau. Il existe quatre grandes catégories de tissus qui la constituent.

➤ *Les muscles* : les cellules musculaires lisses sont des éléments vivants qui se contractent ou s'allongent sous le contrôle neuronal et permettent de changer la géométrie et l'élasticité des tissus. Deux types de muscles peuvent être distingués dans la paroi artérielle : le premier, riche en réticulum endoplasmique, est dominant près de l'intérieur de la paroi et son rôle est la synthèse de substances ; le second contient de nombreux myofilaments et est responsable de l'activité de vasoconstriction et de vasodilatation correspondant à la diminution et à l'augmentation du diamètre de la paroi. La quantité de cellules musculaires lisses par unité de volume croît à mesure que l'on s'éloigne du cœur ; en particulier, les artères de petit diamètre qui sont localisées près des artérioles sont connues sous le nom d'artères *musculaires*. Les artères *élastiques*, qui ont une quantité de cellules musculaires lisses par unité de volume relativement faible, sont plutôt situées proches du cœur.

➤ *L'élastine* : l'élastine est une protéine semblable au caoutchouc (scléroprotéine) synthétisée par les cellules musculaires lisses. Elle se présente sous la forme polymérisée dans les parois des artères, et constitue un réseau de fibres. L'élastine est élastique linéaire avec un module d'élasticité faible et peut supporter de grandes tensions et contraintes (fibres étirées jusqu'à 2,5 fois leur longueur initiale). [6]

➤ *Le collagène* : le collagène est une protéine synthétisée par les cellules musculaires lisses et a l'apparence du nylon. Il existe plusieurs types de collagène, dont le plus commun est le type I. Les molécules de collagène sont liées les unes aux autres et constituent des fibres qui sont beaucoup plus minces que celles de l'élastine (le diamètre des fibres de l'élastine est de l'ordre du μm alors que celui des fibres du collagène est de l'ordre du nm).

Les fibres de collagène, qui sont liées entre elles, donnent au tissu sa résistance mécanique. Le collagène a un comportement non-linéaire : son module augmente avec l'augmentation de la déformation. Habituellement, le collagène est considéré comme le facteur responsable du comportement non-linéaire élastique des tissus, mais les mécanismes exacts de l'augmentation du module de Young avec le taux de déformation ne sont pas entièrement compris. L'hypothèse souvent admise est que les fibres de collagène sont détendues et ne contribuent pas aux propriétés élastiques de la paroi lorsque les déformations sont faibles alors que lorsque la tension augmente (et donc les déformations),

les fibres se mettent en tension et reprennent alors une partie de la charge. Il est probable que le modèle ci-dessus soit inexact, car il est difficile de déterminer s'il existe des connexions entre les fibres d'élastine et de collagène et de conclure sur la nature des liaisons entre les fibres et les cellules musculaires lisses (plutôt de type glissement avec frottement, voir l'article de pour plus de précisions). [7],[8]

On remarque que le ratio de l'élastine par rapport au collagène diminue à mesure que nous nous éloignons du cœur, c'est la raison pour laquelle les artères qui sont plus proches du cœur sont appelées *élastiques* contrairement aux artères *musculaires* qui sont éloignées du cœur.

➤ *Matrice environnante* : les scléroprotéines et les cellules musculaires lisses sont baignées dans un gel amorphe très hydraté. Il se compose de protéoglycanes et est visqueux : il est généralement considéré comme ne contribuant pas aux propriétés élastiques de la paroi.

I.3 Fonctions des artères

C'est sur cette structure en trois couches que reposent de nombreuses fonctions physiologiques dont la principale est d'assurer l'irrigation sanguine des différents organes. Il existe également de nombreuses interactions entre les différentes couches, plus particulièrement entre les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales, mais également avec les éléments du plasma et figurés du sang (plaquettes, globules rouges et blancs...). Selon les secteurs artériels considérés, la structure et l'importance relative de chaque tunique varient et confèrent à ces secteurs des propriétés caractéristiques. Le système artériel est subdivisé en deux grands secteurs, en fonction des propriétés mécaniques et structurales de la paroi artérielle :

- ✚ **les artères de conductance** élastiques, de gros calibre, où la matrice extracellulaire joue un rôle important. Elles opposent une très faible résistance au débit sanguin et ont un rôle hydraulique.
- ✚ **les artères de résistance**: musculaires, de moyen et de petit calibre, où la média est moins organisée et la trame élastique moins importante. Ces artères distribuent le sang en volume et pression adéquate au niveau des capillaires, participant ainsi à la régulation physiologique de la résistance périphérique pré-capillaire.[9]

II. L'ATHEROSCLEROSE ET L'INFLAMMATION:

II.1 L'athérosclérose dans l'Histoire

II.1.1 Histoire de la maladie

Vers 1910, Sir M.A. Ruffer découvrit sur des momies que les habitants de l'Égypte antique (de -3000 à J.-C.) souffraient de lésions artérielles histologiquement identiques et probablement de même incidence que celles observées aujourd'hui. On ne sait pas pourquoi cette maladie, avec de telles caractéristiques actuelles, était si commune dans l'ancienne Égypte. La population suivait un régime alimentaire plutôt frugal et végétal –la viande étant un luxe- mais peut être le stress de la vie quotidienne était-il accablant. Quoiqu'il en soit, ces observations en disent long sur la complexité de l'étiopathogénie de la maladie. [10]

II.1.2. Etymologie

Le mot « athérome » est emprunté du latin *ateroma*, lui-même emprunté au grec « tumeur grasseuse », dérivé de « bouillie de farine » et de « tumeur ». Le médecin romain Celse (début du I^{er} siècle après J.-C.) est le premier à utiliser « athérome » pour désigner la maladie artérielle. Le sens est conservé jusqu'au XIX^{ème} siècle. Puis le mot « athéromatose » apparaît en 1815 lorsque J.Hodgson définit ainsi la dégénérescence grasseuse artérielle. Enfin F. Marchand de Leipzig propose en 1904 le mot « athérosclérose » que nous connaissons aujourd'hui, pour décrire une lésion qui associe sclérose intimale et dégénérescence grasseuse. [11] et [12]

II.1.3. Histoire naturelle de la maladie humaine :

L'athérogenèse commence dès la tendre enfance (**Figure 2**) : des stries lipidiques peuvent être observées chez des nouveaux nés. Les mêmes stries lipidiques peuvent être constatées dans les artères coronaires une dizaine d'années plus tard. Ces stries lipidiques évoluent lentement en zones d'infiltration de l'intima par des macrophages remplis de lipides (esters de cholestérol surtout) qui deviennent des cellules spumeuses.

Avec le temps, on retrouve au niveau de ces zones trois principaux éléments : cellules spumeuses, cellules musculaires lisses (CML) et lipides extracellulaires. A la puberté, environ 65% des adolescents présentent une accumulation substantielle de cellules spumeuses et de CML. L'étendue des stries lipidiques augmente à partir des deuxième et troisième décennies de la vie puis régresse au fur et à mesure que des lésions plus avancées prédominent. L'athérome prévaut vers 30 ans,

caractérisé par de larges zones de lipides extracellulaires qui peuvent déformer l'architecture cellulaire normale [13].

Bien que des stries lipidiques soient observées chez le nouveau né, on ne sait pas si les lésions avancées observées plus tard sont le fruit de l'évolution de ces stries lipidiques ou bien s'il s'agit de lésions néoformées. Quoiqu'il en soit, après 30 ans, les plaques fibreuses d'athérosclérose, distinctes de l'athérome par leur chape fibromusculaire, prédominent. Ces plaques commencent à se compliquer par de la nécrose, des ulcérations, des thromboses, des hémorragies et une minéralisation. Après 40 ans, les manifestations cliniques de l'athérosclérose apparaissent : infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral (AVC), gangrène des extrémités. Elles sont liées à des ruptures ou des érosions de la plaque responsables d'hémorragies et de l'occlusion thrombotique d'une artère. [14]

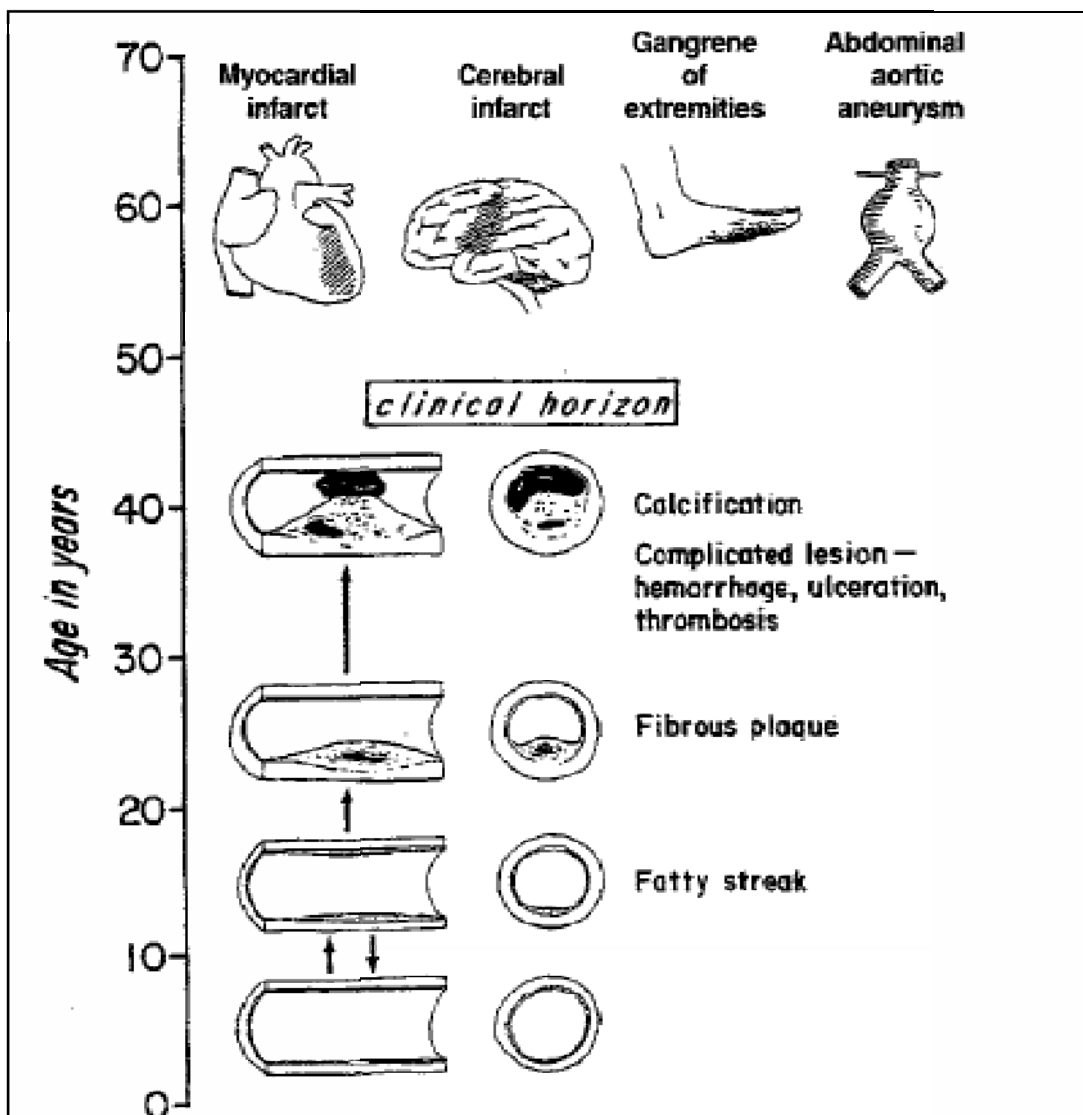


Figure 2 : Histoire naturelle de l'athérosclérose [15]

II.2. Définition

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des artères de moyen et grand calibre, caractérisée par une accumulation de lipides amorphes dans l'espace sous endothélial, lesquels sont contenus sous une chape fibromusculaire. L'ensemble dépôt lipidique - chape forme une plaque responsable d'une sténose plus ou moins importante de la lumière vasculaire. La plaque d'athérosclérose se compose principalement de matrice extracellulaire, de lipides et de cellules, notamment de macrophages, lymphocytes T, cellules endothéliales et cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) [16] (Figure 3).

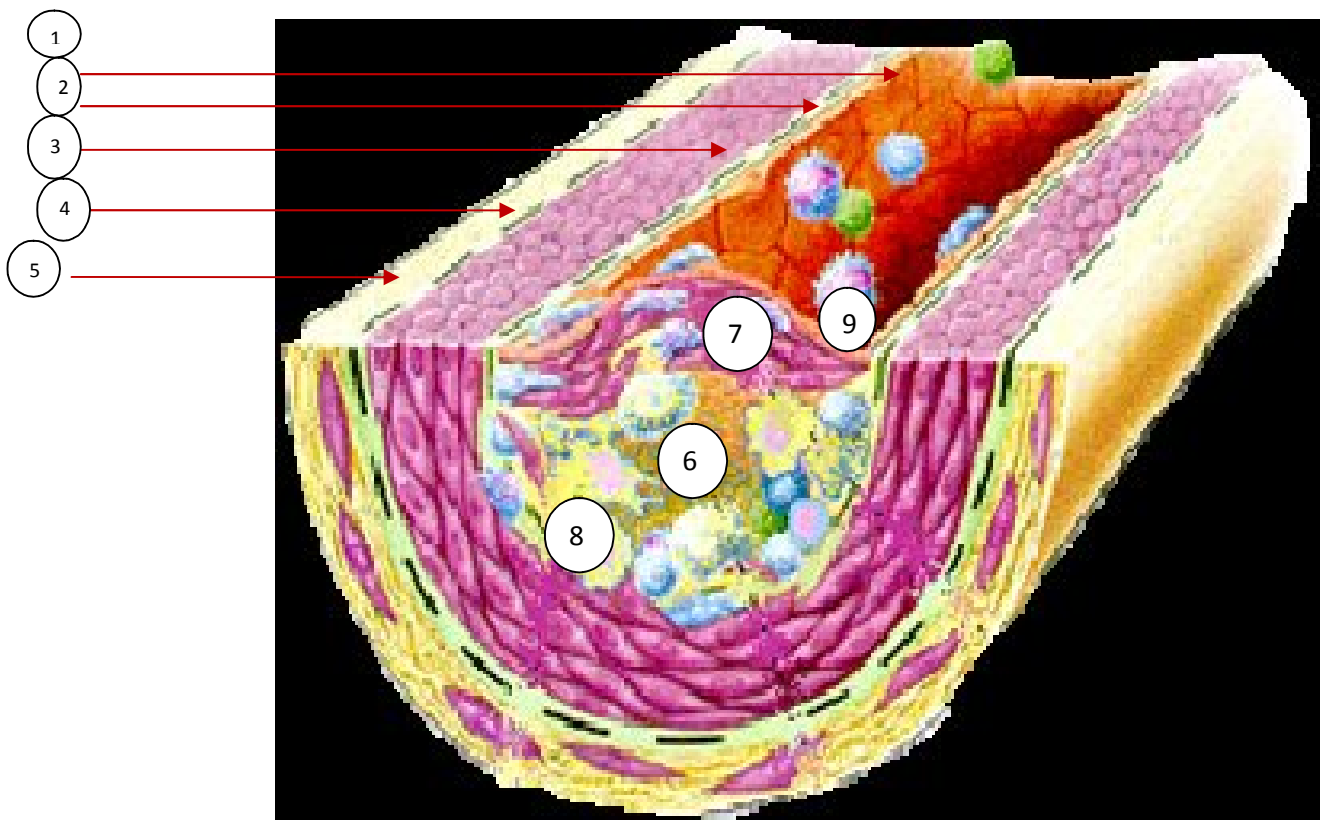


Figure3: Schéma de la structure d'une plaque d'athérosclérose.

Intima 1. Endothélium 2. Membrane limitante interne 3. *Media* 4. Membrane limitante externe 5.

Adventice 6. Noyau lipidique 7. Chape fibromusculaire (CML) 8. Cellule spumeuse 9. Monocyte [14].

II.3. Formation

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

II.3.1 Activation endothéliale

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

La paroi stressée perd également ses propriétés athéroprotectrices naturelles, principalement par diminution de la synthèse du monoxyde d'azote (NO). Il existe aussi des facteurs de risque aggravant les contraintes rhéologiques : hypertension artérielle, hypercholestérolémie, diabète sucré, obésité, tabagisme, infections. [16],[17]et[18]

II.3.2. Infiltration lipidique

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

II.3.3. Composante inflammatoire

Les oxLDL sont reconnus par des récepteurs de l'immunité naturelle à la surface des macrophages : Scavenger Receptors (SR) et Toll Like Receptor (TLR). Les macrophages ainsi activés sécrètent des cytokines chémoattractives pour les monocytes sanguins et se transforment en cellules spumeuses (**Figure4**).

Les lymphocytes T, eux aussi recrutés au sein de la plaque, sont stimulés par les macrophages. Ils sécrètent des cytokines de type 1 (IFN γ , IL1 et TNF β) qui, de même que l'excès lipidique des cellules spumeuses, déclenchent l'apoptose des macrophages.

Un centre nécrotique se constitue ainsi. Les médiateurs et les radicaux libres libérés par les macrophages apoptotiques contribuent à l'entretien et à l'amplification de l'inflammation. [16],[17]et[18]

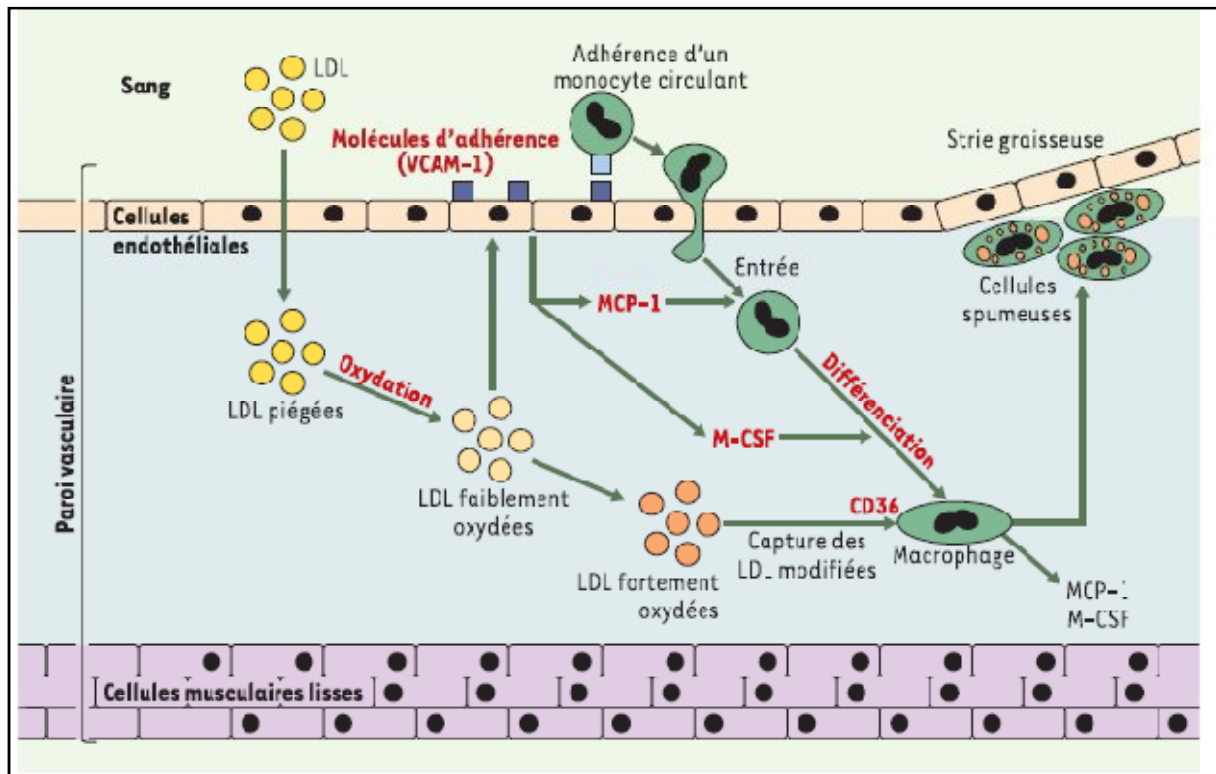


Figure 4 : Formation d'une lésion athéromateuse [19]

II.3.4. Capsule fibreuse

L'endothélium activé et les cellules inflammatoires commandent la différenciation des CMLV de la *media* en cellules sécrétrices. Elles migrent vers l'*intima* où elles prolifèrent et sécrètent des protéines matricielles, constitutives d'une chape de CMLV et de collagène qui « enkyste » et stabilise la lésion [20].

II.3.5. Sclérose

Les plaques avancées présentent une calcification dystrophique à base d'hydroxyapatite et d'une matrice organique de collagène de type I et de NCPs (Non Collagen Bone-associated Proteins). La calcification rend la plaque rigide, peu déformable et susceptible de se rompre. [16],[17]et[18]

II.4 Athérosclérose : de la théorie lipidique à l'inflammation

L'athérosclérose, longtemps associée à un désordre lipidique en raison des concentrations plasmatiques élevées du cholestérol [21] en particulier le LDL-cholestérol (lipoprotéines de faible densité), a été définie comme l'accumulation de lipides à l'intérieur de la paroi artérielle. En réalité, le processus athérogénique est bien plus complexe. En effet,

malgré notre changement de style de vie et l'utilisation de nouvelles approches pharmacologiques pour réduire une concentration plasmatique en cholestérol trop élevée les maladies cardiovasculaires continuent à être la première cause de morbi-mortalité dans le monde.

En fait, les lésions atherogéniques sont la conséquence de réponses moléculaires et cellulaires spécifiques qui peuvent s'inscrire dans un contexte inflammatoire, et qui apparaissent principalement au niveau des artères musculaires et élastiques de taille moyenne et large et peuvent induire, entre autre, une ischémie cardiaque ou cérébrale conduisant alors à l'infarctus. [22], [23] et [24]

Le type de lésion le plus précoce, appelé aussi , est une lésion purement inflammatoire constituée seulement de macrophages dérivés de monocytes et de lymphocytes T. Elle est retrouvée communément chez les nouveaux nés ainsi que chez les jeunes enfants. Quant aux sujets atteints d'hypercholestérolémie, l'influx de ces cellules est précédé par le dépôt extracellulaire de lipides membranaires et amorphe. [25] ,[26]

II.4.1 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 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. [27].

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 tels que les herpes virus ou *Chlamydia pneumoniae*.

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 (thrombocytes). 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 [28].

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. [29]

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. [30]. [31].

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. [32], [33].

Cette dernière, complexe et avancée, se retrouve couverte d'une chape fibreuse qui protège un corps 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.

II.4.2 La nature de la réponse inflammatoire

A. 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. 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). 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 [34],[35],[36],[37] et [38] (**Figure 5**).

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. 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. [39], [40].

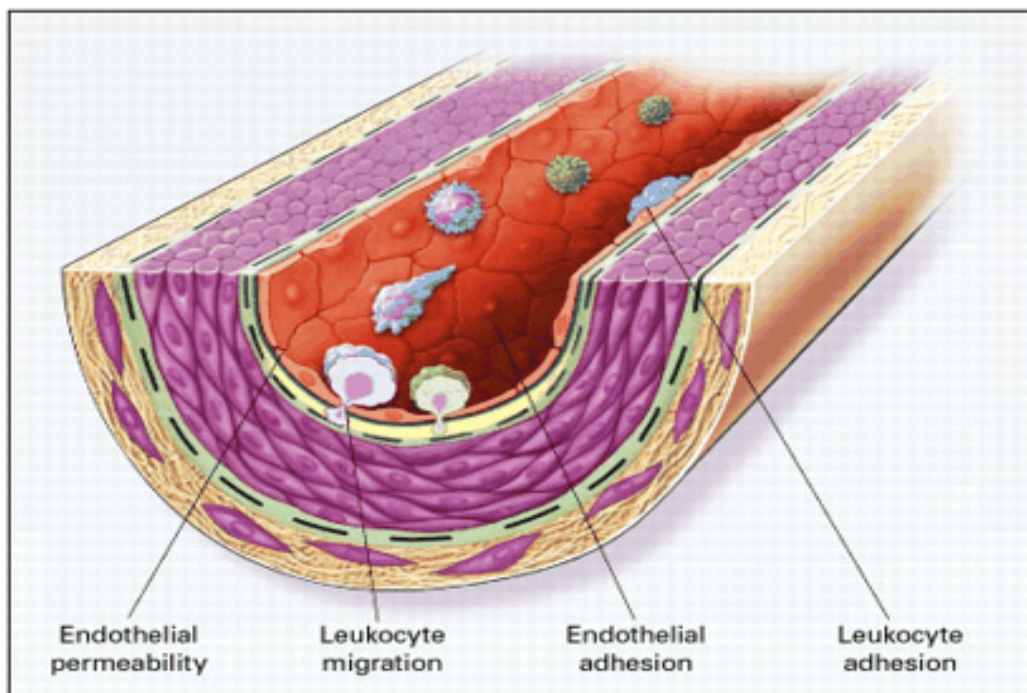


Figure 5: *Dysfonction endothéliale dans l'athérosclérose. [41]*

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.[21]

Les chémokines sont aussi responsables de la chimiotaxie et de l'accumulation des macrophages dans les plaques précoces [41] (**Figure 6**).

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 [35]

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.

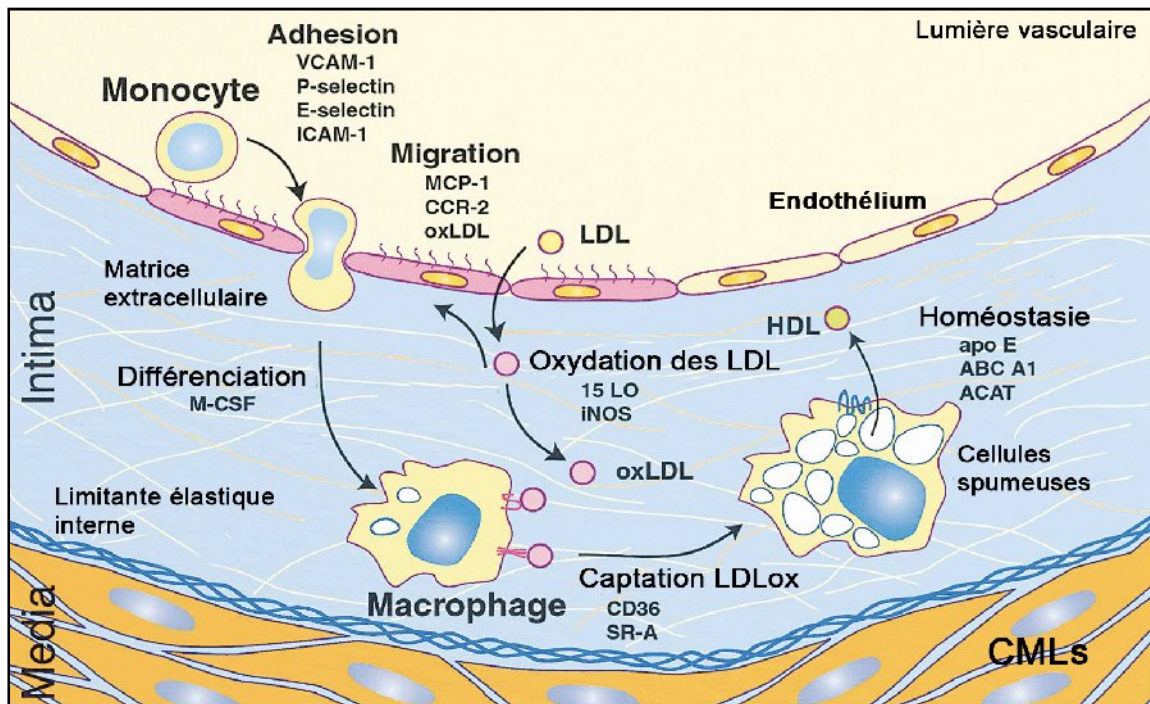


Figure 6: Formation de la plaque graisseuse dans l'athérosclérose. [42]

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 ; ii) l'activation des cellules T médiée par le TNF α , IL 2 et GMCSF ; iii) la formation de cellules spumeuses médiée par les LDL oxydées, le MCSF, le TNF α et IL-1 ; iv) 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 8 comme responsable de l'adhésion et de la migration des leucocytes [21].(figure7)

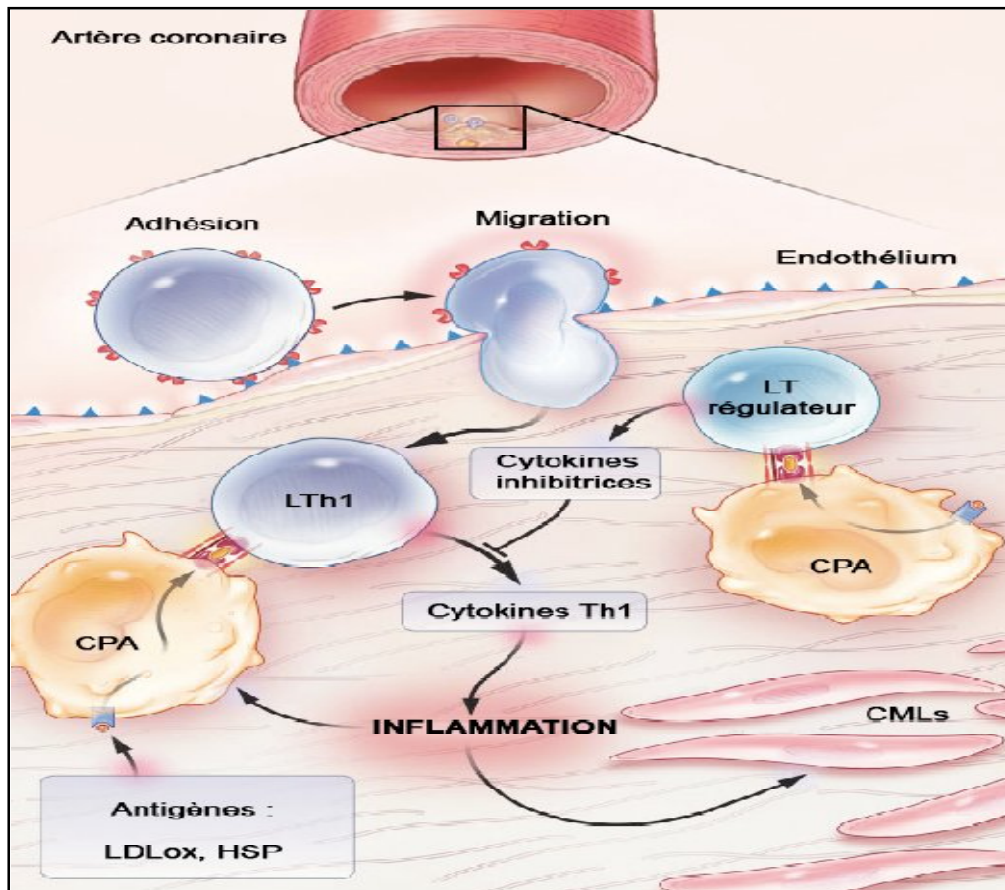


Figure 7 : Effets des LT activés sur l'inflammation de la plaque d'athérome. [43]

Les souris modifiées génétiquement pour le gène Apolipoprotéine E (Apo E $-/-$), soumises à un régime riche en graisses, développent une hypercholestérolémie. L'expression d'ICAM-1 est constitutivement augmentée au niveau des sites susceptibles d'être lésés. En fait, ICAM-1 est présent à la surface endothéliale chez les souris sauvages mais augmente chez les souris ApoE $-/-$. En revanche, VCAM-1 est absent chez les souris sauvages mais elle est présente au niveau des mêmes sites artériels chez les souris déficientes en ApoE [44].

Alors, l'adhésion des monocytes et des cellules T peut apparaître après augmentation d'une ou plusieurs molécules d'adhésion agissant de concert avec les molécules chimiotactiques telles que MCP-1, IL-8 ou les LDL modifiées. Les souris déficientes en ICAM-1, P-sélectine, CD18 ou les 3 à la fois, et soumises à un régime alimentaire riche en lipides, développent seulement de petites lésions athérogéniques, au contraire des souris sauvages. La comparaison des rôles relatifs de ces molécules dans l'inflammation artérielle et microvasculaire peut fournir des indices pour mieux cibler et modifier le processus inflammatoire et alors réprimer l'athérosclérose. [45].

B. 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 (**Figure 10**).

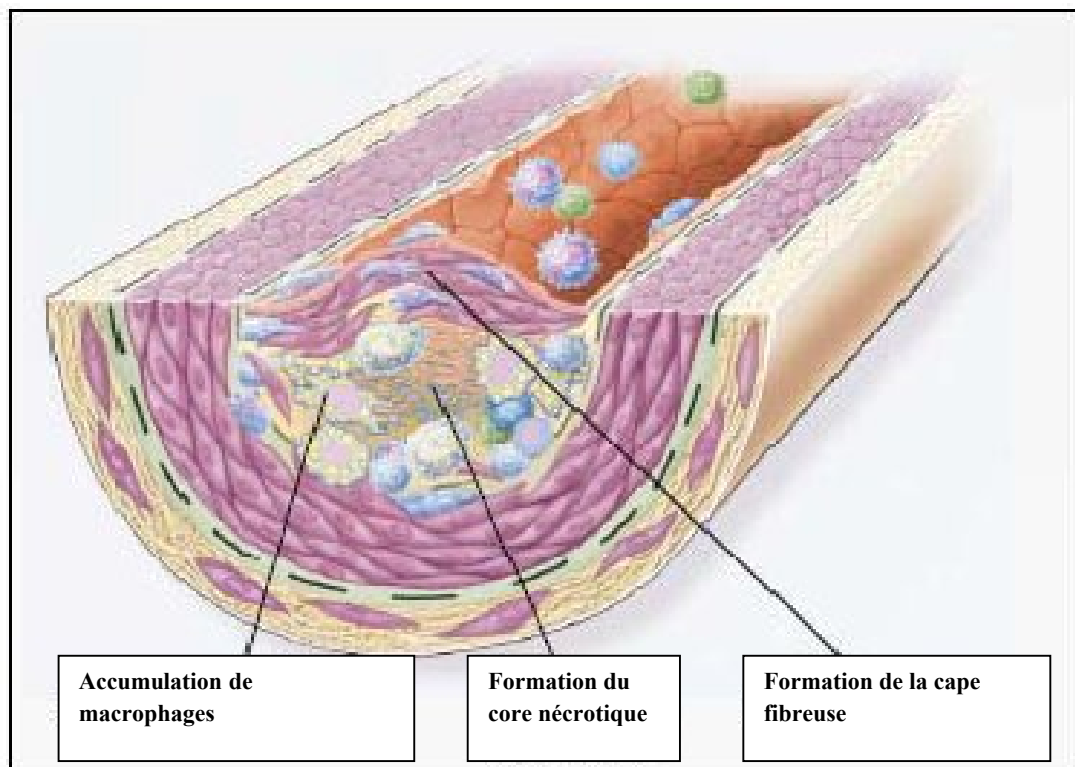


Figure8: Formation des lésions avancées de l'athérosclérose. [41]

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 7 et 8. 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 [21].

Initialement, seules les cellules musculaires lisses semblaient capables de proliférer pendant l'expansion des lésions athérogéniques, mais la réplication des macrophages dérivés du monocyte et des cellules T, est probablement aussi importante (Rosenfeld M.E. and Ross R. 1990). 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.

Les macrophages activés expriment les antigènes d'histocompatibilité de classe II tels que HLA-DR qui leur permet 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. Les cellules T sont activées quand elles se fixent à l'antigène présenté par les macrophages. [46].

Cette activation se traduit par la sécrétion de cytokines dont l'INF 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 [47].

Certaines protéines à savoir HSP-60, 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 [48].

Enfin, une molécule immuno-régulatrice, la CD40 ligand (CD40-L) 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, alors que l'inhibition de CD40 par des anticorps bloquants réduit la formation des lésions chez des souris ApoE ^{-/-} [49].

C. 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 athéroscléroses. 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 [24].

Les plaquettes qui adhèrent à la paroi des vaisseaux dont l'endothélium est endommagé, contribuent au développement des lésions athéroscléroseuses chroniques. 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. 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 agrégant plaquettaire connus, ou bien en leucotriènes capables d'amplifier la réponse inflammatoire. [50].

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.

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 [51].(figure9)

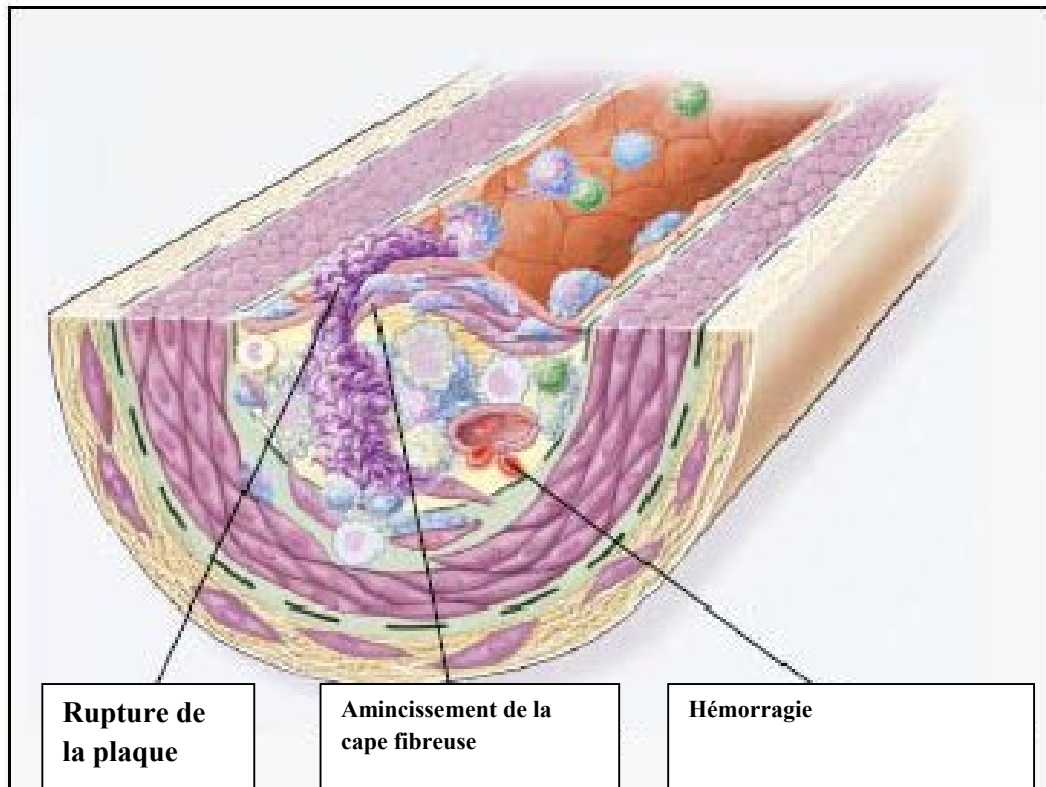


Figure 9: Plaques fibreuses instables dans l'athérosclérose. [41]

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 vaso 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 .[21]

II.5 Vulnérabilité de la plaque

II.5.1 Définition

Le terme de « plaque vulnérable » désigne la plaque athéroscléreuse présentant un risque élevé de thrombose. Les études d'autopsie suggèrent qu'il existe plusieurs types histologiques de plaque vulnérable. Si les caractéristiques systémiques de la maladie sont dominantes, les efforts pour détecter et traiter les plaques vulnérables sont probablement peu efficaces. [52]

Même si peu de plaques vulnérables se développaient, elles pourraient apparaître rapidement, certainement en réponse à un stimulus inflammatoire systémique, et rendrait probablement inutile toute tentative de traitement local.

La présence de plaques dans de nombreux sites artériels, l'implication inflammatoire diffuse observée dans l'arbre coronarien et la présence d'au moins une plaque thrombosée chez la plupart des patients atteints de syndromes coronariens aigus confirment la nature systémique de la maladie [53]. Cependant, il est prouvé que les lésions menant aux manifestations cliniques sont focales. Les cardiologues trouvent généralement qu'une seule localisation est responsable de manifestations coronariennes aiguës.

II.5.2 Pathophysiologie de la formation de la plaque vulnérable

Des progrès considérables dans l'identification des processus cellulaires et moléculaires conduisant à l'athérosclérose et à ses conséquences cliniques, ont été réalisés ces dernières années. Même si le LDL cholestérol joue un rôle central dans le développement de la maladie, il est clairement établi que c'est l'inflammation qui initie les lésions et est probablement responsable de l'activation de la maladie. [54]

Des souris déficientes en ApoE et qui développent des plaques d'athérome de type avancées similaires à celles de patients ont permis de mieux comprendre les observations cliniques. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine diminuent le risque de survenue d'infarctus du myocarde (IDM) chez les patients mais leurs mécanismes d'actions ne sont pas clarifiés. Chez les souris ApoE $-/-$, les concentrations d'angiotensine II sont associés à un risque accru de survenue de plaques vulnérables. Une augmentation du nombre de lymphocytes T-helper de type-1 (Th1) favorise également l'appariation de ce type de plaques, ce qui indique un rôle possible des lymphocytes Th1 dans leur formation. [55].

Les souris ApoE $-/-$ ont également été utilisées pour étudier le mécanisme de recrutement des leucocytes à l'intérieur des plaques fibroathéromateuses. A la fois les protéines PF4 et RANTES jouent un rôle dans le recrutement leucocytaire et le blocage de RANTES mène à une diminution des lésions d'athérosclérose.

L'apoptose, caractéristique prédominante des plaques vulnérables qui entraîne la mort soudaine d'origine coronarienne chez les patients a été étudiée chez ses souris. Les souris ApoE $-/-$ transfectées avec le ligand Fas, qui induit l'apoptose, ont montré plus de signes de vulnérabilité de la plaque (rupture de la plaque, hémorragie intraplaque, dépôt de fer...) que les souris non transfectées. Il y avait 3 fois plus d'apoptose au niveau des enveloppes recouvrant les plaques chez les souris transfectées. [56]

Les études de Michowitz ont rapporté que l'expression du ligand TRAIL (Tumor necrosis factor – related apoptosis-inducing ligand) était augmentée dans les plaques avec core nécrotique à la fois chez les animaux et l'espèce humaine. Le ligand est colocalisé avec des LDL oxydées, suggérant un mécanisme par lequel l'infiltration des LDL pourrait augmenter la mort cellulaire

et par conséquent mener à la formation de cores nécrotiques [57].

Les metalloprotéases (MMP) peuvent dégrader les constituants de la plaque d'athérome. Leur taux de glycosylation est étroitement lié à leur degré d'activation. L'augmentation de l'activité des MMP8 et MMP9 est associée à un phénotype de plaque inflammatoire. La glycosylation des MMP peut donc jouer un rôle dans la rupture de la plaque. [58].

Les forces vasculaires et hémodynamiques jouent également un rôle dans la formation et la rupture de plaques athéroscléreuses vulnérables. Plusieurs équipes ont démontré que les régions artérielles soumises à de faibles forces de « cisaillement » étaient prédisposées à la formation de plaques avancées, grâce aux conditions créées qui favorisent la transmigration des lipides et des cellules inflammatoires à l'intérieur de la paroi artérielle. A contrario, des forces de cisaillement plus intenses peuvent provoquer la rupture de la plaque et l'agrégation plaquettaire, conduisant alors à la thrombose.

Il a été rapporté que dans les plaques aortiques humaines, la densité des microvaisseaux est augmentée dans les lésions avec inflammation, hémorragie intraplaque et plaques vulnérables, suggérant que la néovascularisation contribue à la formation et la rupture de la plaque [59].

II.6 Les cibles de l'inflammation

II.6.1 Lipoprotéines oxydées

Pendant plus d'un siècle, on a considéré que les lipides étaient la cause *sine qua non* du développement de l'athérosclérose. Lors de ces 20 dernières années, un modèle plausible reliant lipides et inflammation comme facteurs de l'athérosclérose a émergé. Selon l'hypothèse de l'oxydation, les LDL retenues dans l'intima, par la fixation aux protéoglycanes, subissent des modifications oxydatives [60].

Ainsi, les hydroperoxydes lipidiques, les lysophospholipides, les composés carbonylés sont localisés dans la fraction lipidique de l'athérome. 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. [61].

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 lipoprotéines oxydées *in vitro* qui ont fourni la plupart des preuves reliant lipoprotéines oxydées et inflammation.

II.6.2 Dyslipidémie

D'autres particules lipoprotéiques tels que les VLDL (lipoprotéines riches en triglycérides), les remnants de VLDL (VLDLR), les IDL et la lipoprotéine 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 [62].

II.6.3 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.[63]

II.6.4 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, augmente la production et l'activité des MMP-2 et MMP-9 et active l'endothélium entraînant alors sa dysfonction.

L'hyperglycémie associée au diabète peut mener à la modification de macromolécules par l'ajout de produits de glycation avancés (AGE). En se fixant sur des récepteurs de surface tels que RAGE (récepteur AGE), ces protéines modifiées peuvent augmenter la production de cytokines pro inflammatoires et activer d'autres voies inflammatoires au niveau des cellules endothéliales vasculaires.[64]

II.6.5 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 .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. [65]

II.6.6 Infection

Les agents infectieux fournissent également un stimulus inflammatoire qui accentue l'athérogenèse. 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 [66].

II.7 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.

Ces dernières années, différents groupes ont cherché à savoir si les marqueurs circulants de l'inflammation pouvaient être également des marqueurs de l'athérosclérose. Deux questions se sont alors posées :

- Est-ce que les marqueurs circulants de l'inflammation diffèrent entre les patients atteints d'athérosclérose et ceux en bonne santé ?
- Est-ce que les marqueurs circulants de l'inflammation diffèrent entre les sujets atteints d'une pathologie athéroscléreuse stable et ceux dont la plaque risque de se rompre (syndromes coronariens aigus).

✚ Description des marqueurs de l'inflammation

A. 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 [67].

B. 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.

C. 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.[68]

D. 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

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 [69]

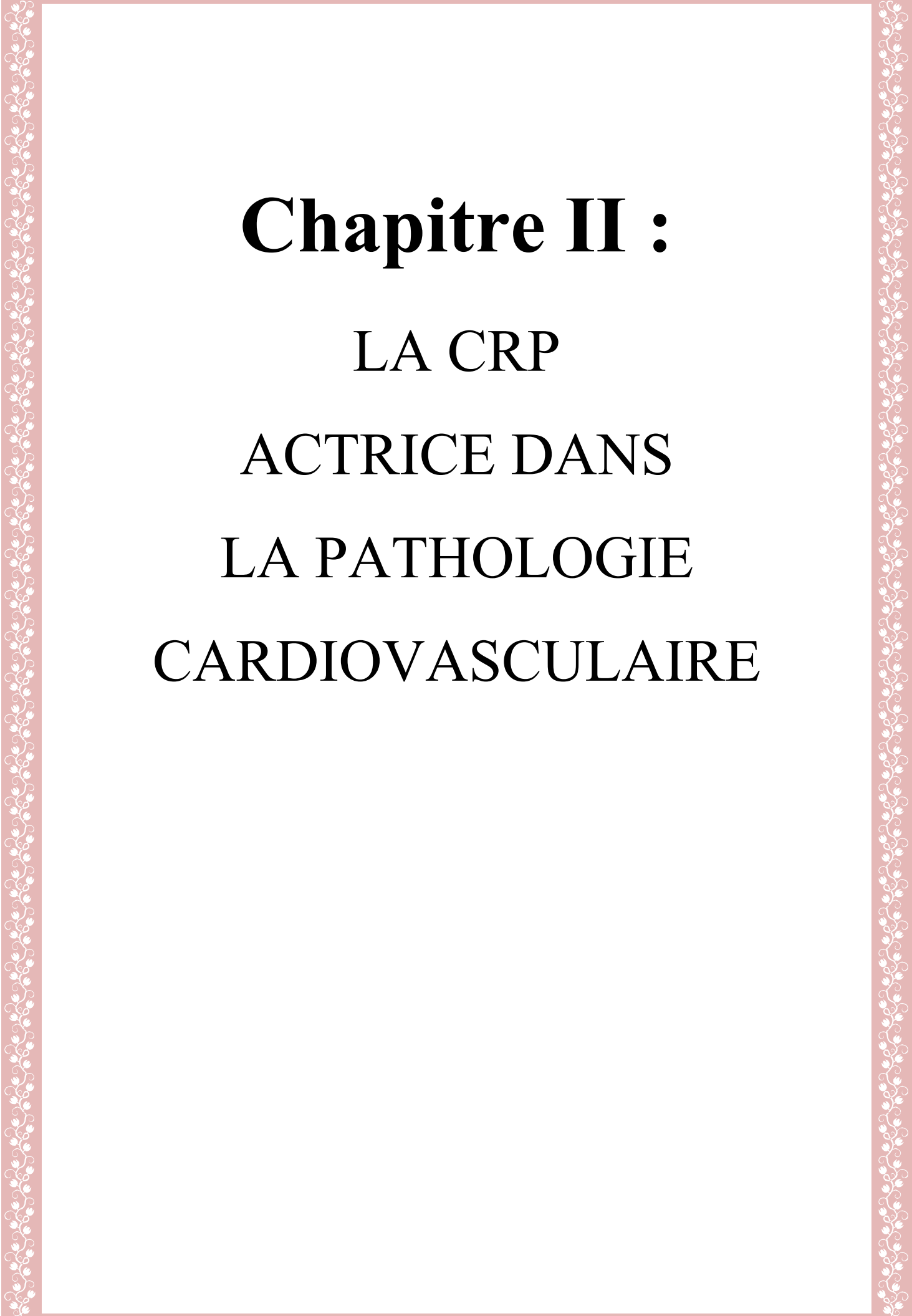
E. Les immunoglobulines

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 ».

F. 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 [70].



Chapitre II :
LA CRP
ACTRICE DANS
LA PATHOLOGIE
CARDIOVASCULAIRE

II. La CRP, actrice dans la pathologie cardiovasculaire

II.1. Caractères généraux de la CRP

II.1.1. Le gène

A. 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. De nombreux polymorphismes de ce gène ont été décrits mais seulement trois ont été associés à une variation de la concentration plasmatique de CRP. Le gène de la CRP génère un ARN de 1631pb. [71]

B. 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 2). 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 β ne le peut qu'en synergie avec l'IL-6. La régulation par l'IL-6 et l'IL-1 β 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. [72]et [73] (figure 10)

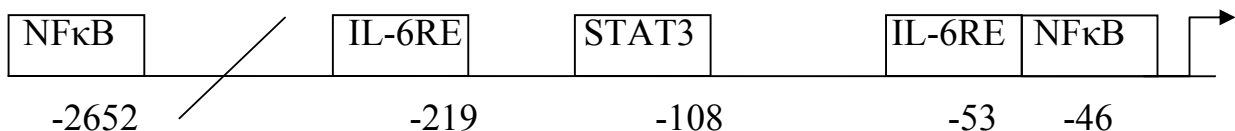


Figure 10 : Promoteur du gène de la CRP.[74]

II.1.2. La protéine

A. Historique

Découverte en 1930 par Tillet 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.

B. Structure primaire

La traduction de l'ARNm issu du gène de la CRP génère une protomère de 224 acides aminés qui a été séquencé. Sa structure primaire est indiquée ci-dessous :

```
1 meklcflvl tslshafgqt dmsrkafvfp kesdtsyvsl kapltkplka fvcilhfyte
61 lsstrgysif syatkrq dne ilifwskdig ysftvggsei lfevpevtva pvhictswes
121 asgivefwvd gkprvrkslk kgytvgaeas iilgqe qdsf ggnfegsqsl vgdignvmw
181 dfvlspdein tiylggpfsp nvl nwralky
```

Figure 11 : Séquence protéique primaire de la protéine C-réactive.[74]

C. Structures secondaire et tertiaire (Figures 12 et 13)

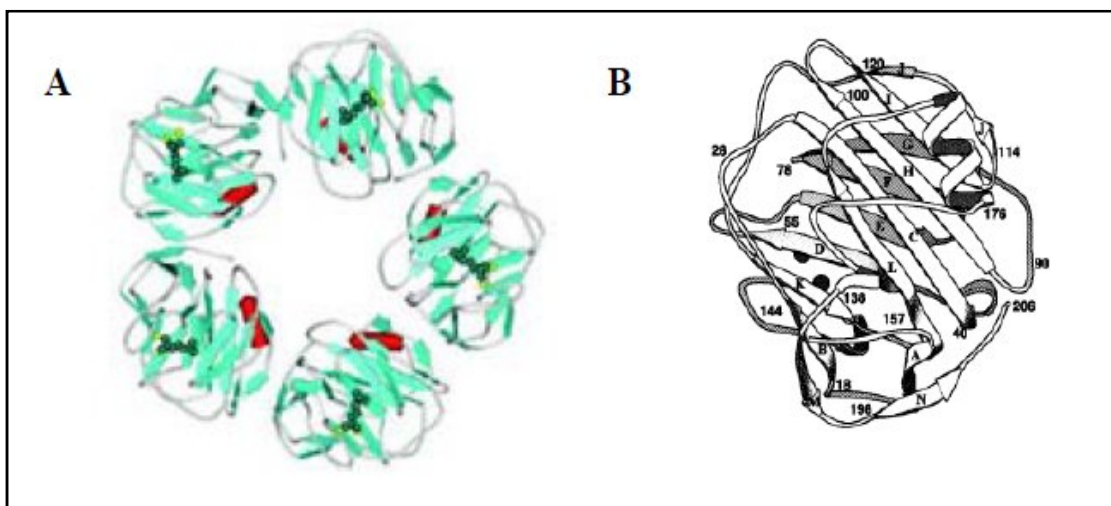


Figure 12 : Structure cristalline de la CRP.[74]

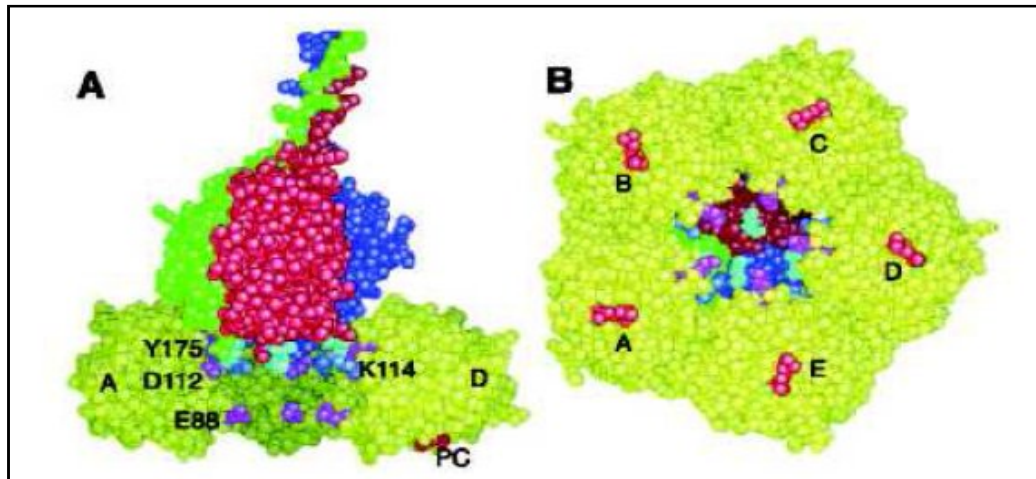


Figure 13 : Fixation de C1q sur le pentamère de CRP [74].

D. 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. La CRP synthétisée par les hépatocytes est de nature pentamérique et les cellules type cellules musculaires lisses, monocytes/ macrophages synthétiseraient de la CRP monomérique.[75]

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 [76]

E. 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. Seules les femmes sous traitement hormonal de substitution présentent une concentration en CRP légèrement plus élevée. Il n'existe pas de variations diurnes de cette concentration [77].

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 [78].

II. 2 La CRP, biomarqueur de l'inflammation et du risque cardiovasculaire

L'utilisation en pratique clinique du dosage de la CRP pour estimer le risque cardiovasculaire semble plus intéressant que celui de la plupart des biomarqueurs de l'inflammation. Pour exemple, il n'existe aucun standard pour mesurer la lipoprotéine a. Quant aux variations circadiennes du fibrinogène, elles rendent sa quantification difficile. Bien que la concentration de l'homocystéine soit reliée à la prédiction du risque cardiovasculaire, les données prospectives sur son utilité prédictive sont encore inconsistantes, tout comme les données prospectives concernant la lipoprotéine. Les capacités prédictives des niveaux plasmatiques de la hsCRP et du fibrinogène s'ajoutent à ceux des concentrations plasmatiques de lipides (cholestérol total, triglycérides, HDL...).

Cependant, il n'est pas clair si la détermination du risque peut être améliorée par la combinaison de mesures additionnelles telles que la lipoprotéine a, l'homocystéine ou des marqueurs fibrinolytiques tels que l'activateur du plasminogène tissulaire ou l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1 (PAI-1).

En effet, l'analyse des marqueurs de prédiction du risque cardiovasculaire dans l'étude « Women's Health Study » a montré que la valeur plasmatique de la CRP-hs était de loin le meilleur marqueur, et lorsque combiné aux taux plasmatiques de cholestérol / cholestérol-HDL, elle fournissait la prédiction la plus puissante du risque cardiovasculaire [79] [80]. **(Figure 14)**

La CRP présente des caractéristiques idéales pour être marqueur de risque, comme l'indique la plupart des critères présentés dans le tableau 1 . En effet, de nombreux travaux démontrent aujourd'hui un rôle biologique de la CRP dans l'athérosclérose. Les concentrations de CRP détectées par analyse ultrasensible (hsCRP) sont associées au risque cardiovasculaire dans les études épidémiologiques prospectives.

L'analyse ultrasensible repose sur une technique immunoturbidimétrique qui s'appuie sur l'agglutination immunologique de particules de latex sur lesquelles sont fixées des anticorps anti-CRP. Cette technique permet de détecter des concentrations de CRP inférieures à 0.1 mg/L . L'hsCRP complète les modèles prédictifs de maladies cardiovasculaires, tels que le score de risque de Framingham. D'autre part, les méthodes de mesure de la CRP sont standardisées. Enfin, les interventions qui diminuent le risque cardiovasculaire diminuent également les concentrations de hsCRP. [81]

Le but principal des programmes de « screening » du risque cardiovasculaire doit être l'identification des individus à haut risque lorsque ceux-ci sont contrôlés par rapport à leur style de vie (tabagisme, exercice, alimentation, pression sanguine...). Il est évident que le respect des recommandations concernant le style de vie est directement relié au risque absolu de développer une pathologie cardiovasculaire. Ainsi, la prise en compte des taux de CRP dans le diagnostic combinée à l'exploration lipidique fournit un outil de prédiction puissant.

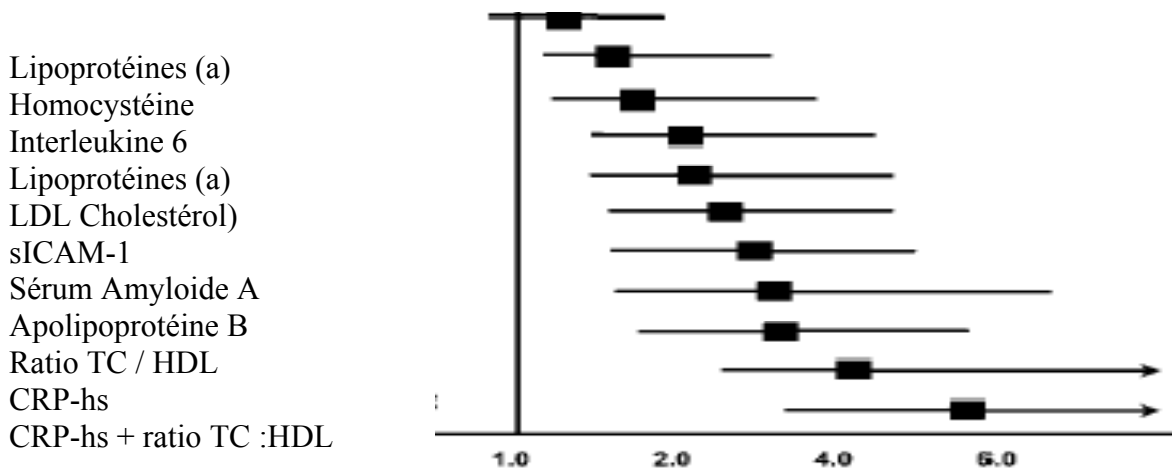


Figure 14: Risque relatif de développer une pathologie cardiovasculaire en fonction des biomarqueurs [80]

Tableau 1: Caractéristiques idéales d'un marqueur sérique de risque Cardiovasculaire [80].

Caractéristiques idéales d'un marqueur sérique de risque cardiovasculaire

1. Présente un lien biologique avec le risque
 2. Prédit les maladies cardiovasculaires en fonction des populations selon des méthodologies de recherches variées (épidémiologique, prospective...)
 3. Agit indépendamment des autres facteurs de risque
 4. Augmente la capacité à prédire la maladie à l'aide du score de risque Framingham
 5. Présente une stabilité biologique relative au cours du temps
 6. Dosable facilement à l'aide de techniques reproductibles et standardisées
 7. Sa concentration varie lors de traitements thérapeutiques
-

Cependant, il faut noter qu'il n'y a aucune évidence que la réduction des taux de CRP réduise les risques d'évènements cardiovasculaires. Toutefois, de nombreuses interventions connues pour réduire le risque cardiovasculaire sont liées à la réduction des taux de CRP, telles que la perte de poids, le régime, l'exercice et l'arrêt de la cigarette. De plus, plusieurs agents pharmacologiques qui réduisent le risque cardiovasculaire influencent également les taux de CRP. Parmi ceux-ci, les statines sont capables de réduire les taux médians de CRP de 15 à 25 % dès 6 semaines après le début de la thérapie.

II.3 Problèmes généraux liés à l'utilisation des biomarqueurs

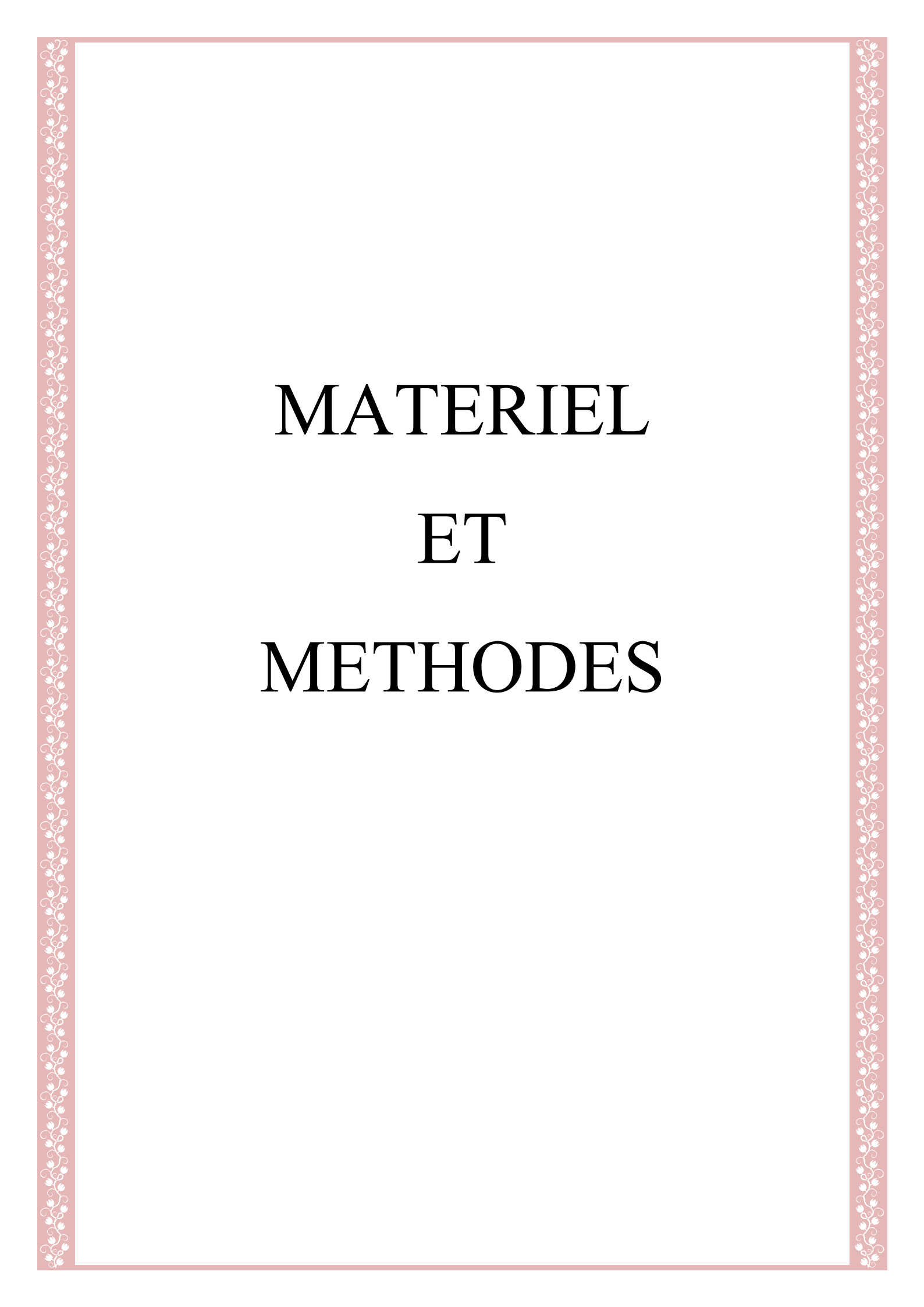
La mise en évidence d'une relation statistique entre la concentration d'un biomarqueur et la survenue d'un événement clinique devient intéressante lorsque le biomarqueur est un facteur de risque indépendant (analyse multivariée). Dans la majorité, mais pas dans toutes les études, les concentrations élevées de CRP sont un facteur de risque indépendant. Cependant, la prédiction du risque de survenue d'un événement clinique est améliorée par l'utilisation de plusieurs biomarqueurs [80].

Les associations statistiques entre concentrations des biomarqueurs sont le résultat d'études épidémiologiques. Les valeurs des odds ratios (OR) sont faibles (entre 1 et 2) . Néanmoins, ces valeurs de OR ne permettent pas l'utilisation de l'information fournie par la concentration d'un biomarqueur pour décider de la pertinence d'un traitement pour un patient donné. [82]

La pertinence clinique d'un biomarqueur est renforcée si sa biologie est comprise et si ceci permet la mise en évidence d'une relation causale entre le biomarqueur et la physiopathologie de la pathologie. En l'occurrence, de nombreux travaux essayent de répondre à cette question concernant la CRP, à savoir si elle est juste marqueur de risque ou bien médiateur de l'athéromatose .

Enfin, l'intérêt clinique est amélioré lorsque la concentration du biomarqueur peut être utilisée pour la titration des doses de médicaments utilisés pour traiter la pathologie en question ou ses complications. Pour exemple, l'analyse des données issues de l'étude PROVE-IT (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy) a montré que, indépendamment des concentrations de LDL ($< 70\text{mg/dL}$), les patients traités aux statines dont les concentrations de hsCRP étaient les plus faibles ($< 2\text{mg/L}$), avaient de meilleures chances de survies que ceux dont les concentrations étaient élevées ($> 2\text{mg/L}$) [83].

Ainsi, les données accumulées sur la capacité des concentrations plasmatiques de la hsCRP à prédire le risque cardiovasculaire, complétées par les données de mesures lipidiques, ont conduit à des recommandations, établies par l'AHA (American Heart Association) et le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (). Ces recommandations stipulent que la mesure de la hsCRP est logique pour estimer le risque cardiovasculaire dans le cadre de la prévention primaire coronarienne et en particulier, chez les individus à risque. [84].



MATERIEL

ET

METHODES

Matériel et méthode

Dans chaque expérimentation les souris sont subies à des traitements différents.

- Les animaux ont été pesés chaque 2 jours à la même heure (9h 30) pendant les 21 jours de traitement.
- L'aliment consommé a été enregistré quotidiennement.
- Le poids des souris a été enregistré 1 /2 Jours.

1. Matériel

1.1. Choix des animaux

Dans ce travail, nous avons utilisé des souris mâles (28 souris), du genre (*Mus*), espèce (*Mus musculus*), âgées (de 2, 5 à 3 mois), ayant un poids entre 14 g et 28 g.

Les animaux 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 UMC 1, à une température de 25 à 30°C, un taux d'humidité entre 45 et 60% et une photopériode de 12 heures le jour et 12 heures la nuit. Afin d'éviter les variabilités inter-sexe, l'étude est réalisée sur les mâles.

Durant la période de cette expérimentation, les souris sont alimentées avec l'aliment et de l'eau de robinet à volonté (les composants de l'aliment sont présentés dans le **tableau 02**. Les animaux sont séparés et répartis en 4 lots suivant le régime consommé.

1.2. Prélèvement sanguin

A la fin de l'expérimentation, le sang, prélevé au niveau des sinus caverneux, est collecté dans des tubes héparines pour faire les dosages au niveau de laboratoire d'analyses médicales **IBN SINA** à CONSTANTINE (www.ibnsina-dz.com).

1.3 Prélèvement des organes

Les animaux sont sacrifiés, le foie est prélevé pour l'étude d'autres paramètres. Le foie, le cœur et l'aorte sont prélevés pour l'étude histologique.

1.4. Les produits utilisés

- Cholestérol (jaune d'œuf +graisse animale)
- Chloroforme
- Formol 10%
- Méthanol
- Eau distillée
- Na Cl

1.5 Equipements

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

Tableau. 02 : les composants de l'aliment des souris (ONAB)

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%

1.6 Matériel végétal

L'extraction de l'huile de la plante *Phoenix dactylifera* a été réalisée au niveau de laboratoire de d'Obtention des Substances Thérapeutique Département de Chimie – Université Constantine 1.

2. Méthodes

2.1. Traitement des souris

Notre étude a été réalisée sur un groupe de 28 souris réparties en 4 lots (**tableau 03**).

Tableau 03: *Traitement des souris.*

Groupe expérimental	Traitement	Nombre d'animaux	La durée de l'expérience	Dose quotidienne
L	Témoin (Farine)	6	21 jours	0,12 g / 6 souris
Y	Farine + Plante	6	21 jours	0,002 ml /souris
N	Farine+Cholestérol	8	21 jours	0,03 à 0,04g/souris
A	Farine+ Cholestérol + Plante	8	21 jours	0,002 ml /souris et 0,03 à 0,04 g/souris.

- Les doses du cholestérol et de la plante sont calculées selon le poids des souris de chaque lot ($17\text{g} \times 3 \text{ fois/j} \times 2 = 102 \text{ g/kg/j}$) pour le cholestérol et ($0,12 \text{ ml/kg/j}$) pour l'extrait de la plante.
- Le cholestérol incorporé à la farine, est administré sous forme de boules (poids de chaque boule = 0,2 g pour chaque dose).
- Après 21 jours de traitement, le sang et les organes sont prélevés, (le sang pour le dosage du cholestérol, les triglycérides, TGO, TGP, HDL, LDL et la CRP) et les organes (foie, cœur et aorte) pour la détermination d'autres paramètres et pour l'étude histologique.

2.2. 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 héparines pour le dosage du cholestérol, les triglycérides, ALAT, ASAT, HDL, LDL et la CRP.

2.3. La dissection

La dissection a été réalisée à la fin des expérimentations dans le but de faire des coupes histologiques. Elle comporte les étapes suivantes :

- Incision cutanée
- Incision musculaire
- Ouverture de la cage abdominale.
- Prélèvement des pièces :

Les organes prélevés pour cette étude (le foie, le cœur et l'aorte) sont bien débarrassés de tout tissu adjacent, sont ensuite placés dans des boîtes de Petri contenant de formol 10% (PH 7,4) et sont coupés en fragments .

2-4 Méthodes de dosage des paramètres biologiques

Tous les paramètres biologiques ont été déterminés par les techniques habituelles utilisées dans le laboratoire en utilisant l'automate (Cobas 6000) et le spectrophotomètre:

A. Dosage du cholestérol total

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A) au niveau 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 cholesterone 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.

B. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides sériques et tissulaires se fait 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.

C. Dosage des HDL-LDL

Pour le HDL- cholestérol : la technique utilisée est celle de la précipitation par le 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 : le calcul

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

D. 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 $\lambda=340\text{nm}$.

E. Dosage de la CRP

Dans notre étude le dosage de la CRP s'est effectué selon le test immuno turbidimétrique sur l'auto analyseur Cobas Intégra 400 plus (Roche). Ce test mesure de très faibles concentrations CRP dans des échantillons de sérum.

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 afin de classer les moyennes deux à deux. Cette analyse est réalisée grâce à un logiciel SPSS, version 20.0 Les différences sont considérées significatives à $P < 0,05$.



RESULTATS

ET

DISCUSSION

1. Poids et consommation de l'aliment

1.1 Première expérience

L'objectif de cette expérience est d'évaluer l'effet du cholestérol sur le poids des souris et la consommation de l'aliment :

➤ Variation du poids

Afin de déceler l'effet du régime enrichi en cholestérol sur le poids corporel, l'évolution de ce poids chez les deux lots de souris est représenté dans la **figure15** et le **tableau 04**.

Dans le groupe (L= Farine), le poids entre les 3 semaines est de (16,32g) (21,23g) et (24,2g) respectivement. Donc, il existe une augmentation non significative du poids des souris $p>0,05$.

Dans le groupe (N= Farine+cholestérol) le poids entre les 3 semaines est de (24,15g) (26,40g) et (26,6g) respectivement ; ces résultats montrent qu'il existe une augmentation significative du poids des souris $p<0,05$.

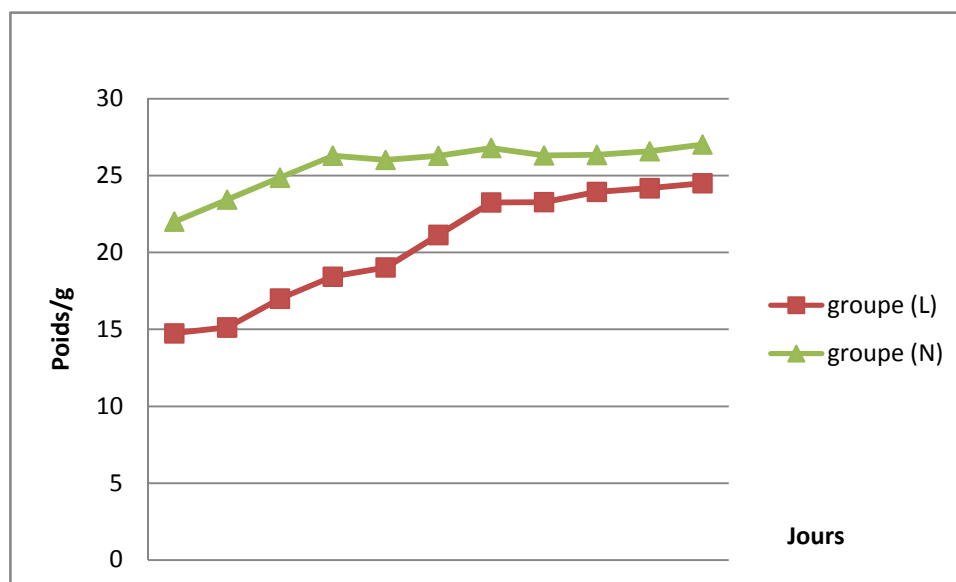


Figure 15 : évaluation pondérale des souris des groupes L et N pendant 21 jours.

Dans notre expérimentation, le régime induit une obésité chez les souris causé par une hyperphagie. L'élévation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité par accumulation du tissu adipeux. Il peut expliquer l'augmentation du poids corporel chez les souris consommant le régime, ce qui confirme nos résultats qui sont en accord avec les travaux précédents (**ARMITAGE JA et al.,**).

Le poids corporel des souris sous régime hypercholestérolémiant, devient significativement plus élevé que celui des souris sous régime témoin.

L'augmentation du poids chez les souris nourries au régime hypercholestérolémiant est associé à l'augmentation du poids du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, confirmant

les propriétés obésogènes du régime hypercholestérolémiant. Cette obésité est associée à des altérations des métabolismes glucidique, lipidique et protéique similaires à celles observées au cours de l'obésité humaine (KOPELMAN PG (2000)).

➤ **La consommation d'aliment :**

Dans le groupe (L=Farine), la consommation de l'aliment entre les 3 semaines est de (104,92g) (112,14g) et (132,14g) respectivement. On constate qu'il existe une augmentation significative du poids des souris $p < 0,05$.

Dans le groupe (N= Farine+cholestérol), la consommation de l'aliment entre les 3 semaines est de (155,14g) (188g) et (165,85g) respectivement. On a trouvé qu'il n'existe pas une augmentation significative du poids des souris $p > 0,05$. (Figure 16) (Tableau05)

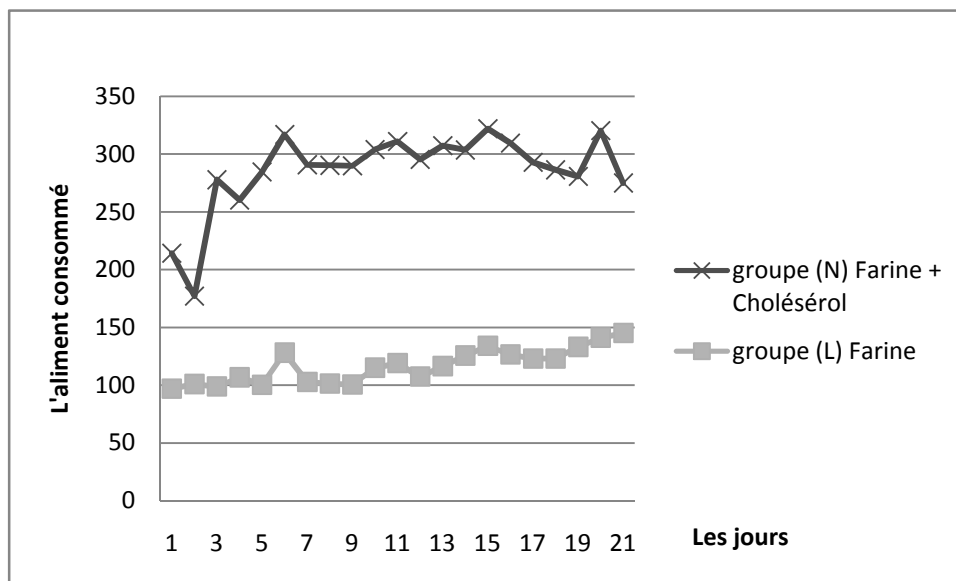


Figure 16: l'effet de l'apport du cholestérol sur le régime chez les souris pendant 21 jours.

Les principaux déterminants de la densité énergétique d'une consommation alimentaire sont les lipides. Ces derniers forment un élément ayant le plus d'impact sur la satiété et la prise de poids. Il est bien établi qu'une alimentation à haute densité énergétique, riche en lipides comme le régime hypercholestérolémiant diminue la satiété et la sensation de faim et augmente le poids corporel. L'absorption intestinale des lipides est donc majorée chez les rats sous régime hypercholestérolémiant. Il apparaît clairement que ce régime induit chez les souris témoins une hyperphagie et une meilleure capacité de rétention des protéines et des lipides, favorisant une croissance pondérale importante (MICHALIK L et al.,)

1.1.2 Deuxième expérience

L'objectif de cette expérience est d'évaluer l'effet de l'extrait de plante sur le poids des souris et la consommation de l'aliment :

➤ Variation du poids

Dans le groupe (Y= Farine+Plante), le poids entre les 3 semaines est de (20,07g) (24,15g) et (25,11g) respectivement. Donc, il existe une augmentation significative du poids des souris $p < 0,05$.

Dans le groupe (A= Farine+cholestérol+Plante) le poids entre les 3 semaines est de (23,78g) (25,76g) et (26,13g) respectivement, ces résultats montrent qu'il existe une augmentation significative du poids des souris $p < 0,05$. (**Figure17**) (**Tableau 04**).

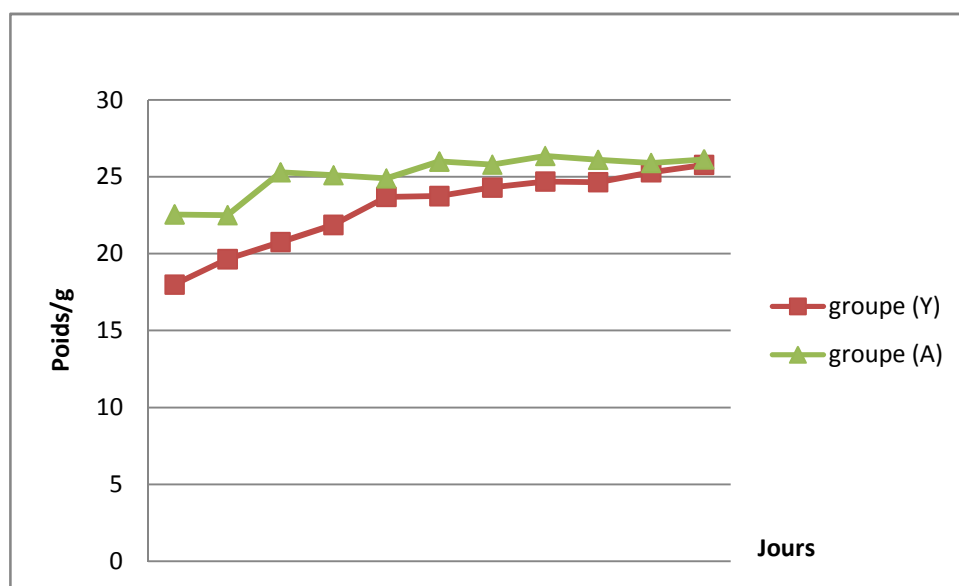


Figure 17 : évaluation pondérale des souris des groupes Y et A pendant 21 jours

➤ La consommation d'aliment

Dans le groupe (Y=Farine+ Cholestérol), la consommation de l'aliment entre les 3 semaines est de (143,5g) (177,5g) et (169,42g) respectivement. On constate qu'il existe une diminution significative du poids des souris $p < 0,05$.

Par contre, dans le groupe (A= Farine+cholestérol), la consommation de l'aliment entre les 3 semaines est de (185,08g) (209,71g) et (223g) respectivement. On constate qu'il n'existe pas une augmentation significative du poids des souris $p > 0,05$. (**Figure 18**) (**Tableau05**)

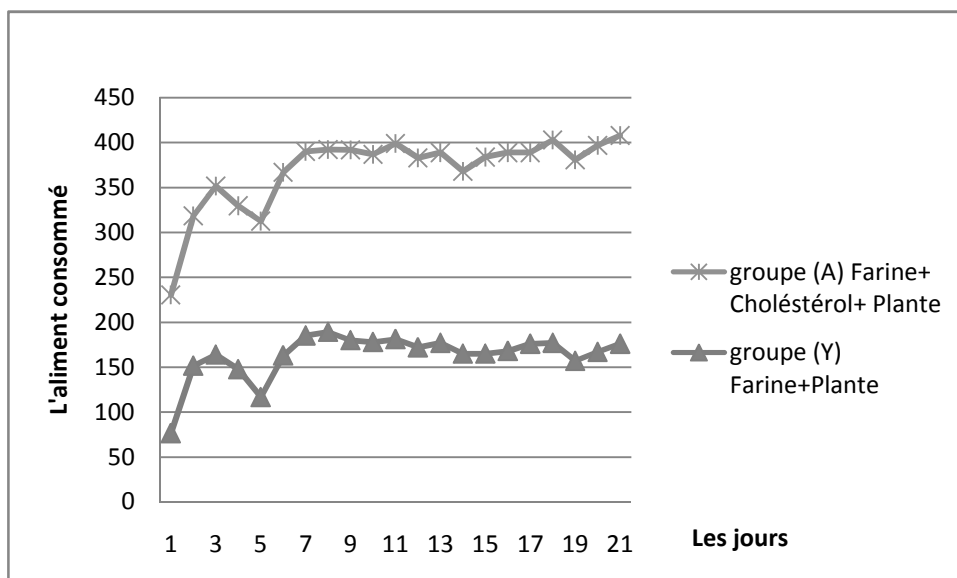


Figure 18 : l'effet de l'apport du cholestérol et l'extrait de la plante sur le régime chez les souris pendant 21 jours

Tableau 04 : Variations de poids des souris pendant les 21 jours

Poids g	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
groupe (L)	14,75	15,13	17	18,43	19,03	21,14	23,25	23,28	23,94	24,18	24,5
groupe (Y)	18	19,65	20,76	21,88	23,7	23,75	24,31	24,7	24,66	25,3	25,78
groupe (N)	22,01	23,44	24,87	26,3	26,02	26,29	26,8	26,31	26,35	26,58	27,02
groupe (A)	22,56	22,51	25,3	25,11	24,9	26	25,8	26,36	26,11	25,91	26,14

Tableau 05 : Variations de l'aliment consommé par souris pendant les 21 jours

jours/ l'aliment consom mé (g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
groupe (L) Farine	97	101	98,8	106,7	100,2	112,8	110,2	110,1,3	110,5	111,5	119	110,7	111,6,4	111,5	111,4	112,6,5	111,3	112,3	111,3	114,1	114,5
groupe (Y) Farine+Plante	76,4	151,6	164	147,7	116,6	116,3	118,5	118,9,3	1180	117,8	1181,2	117,2	117,7	116,5	116,5	116,8	117,6	117,7	115,7	116,7	117,6
groupe (N) Farine + Cho	117,2	76	179	153,4	118,4	118,9	118,8	118,9	1189,3	118,9	1192	118,8	119,1	117,8	117,8	118,3	117,0	116,3,4	114,7	117,8	117,0
groupe (A) Farine+ Cho+ Plante	154	167	187,6	182	119,6	120,4	120,5	120,3	1212	120,9	1218	121,1	121,2	122,3	122,9	122,1	122,3	122,6	122,4	123,0	123,2

2. Les résultats du dosage des paramètres biochimiques

2.1 Le Cholestérol

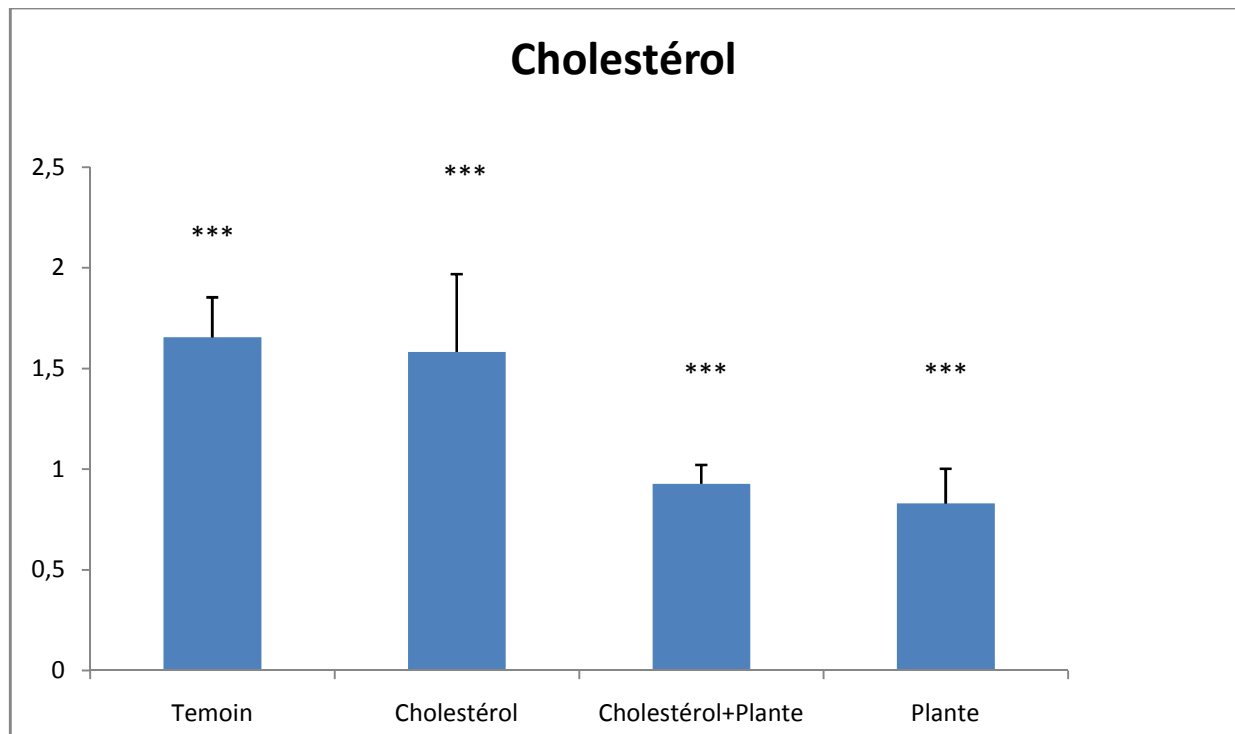


Figure19 : *l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de cholestérol chez les souris. $p = 0.000$*

- ❖ Le taux du cholestérol du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement ($1,65 \pm 0,19$ g/l) et ($1,58 \pm 0,38$ g/l) (**Figure 19**).
- ❖ Le taux du cholestérol du groupe Plante et Cholestérol+ Plante sont respectivement ($0,92 \pm 0,09$ g/l) et ($0,83 \pm 0,17$ g/l) (**Figure19**).

La comparaison des données montre que les taux de cholestérol dans les groupes (Témoin et Cholestérol) ont des valeurs élevées par rapport aux autres groupes (Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats sont très hautement significatifs avec $p = 0.000$. Donc notre plante a un effet hypocholestérolémiant chez les souris traités.

Il y a une libération des acides gras libres qui seront oxydés au niveau du foie en acétylcoenzyme A. La baisse de l'activité de la lipoprotéine lipase, l'épuratrice des lipides provoque l'hyperlipidémie.

2.2 Les triglycérides

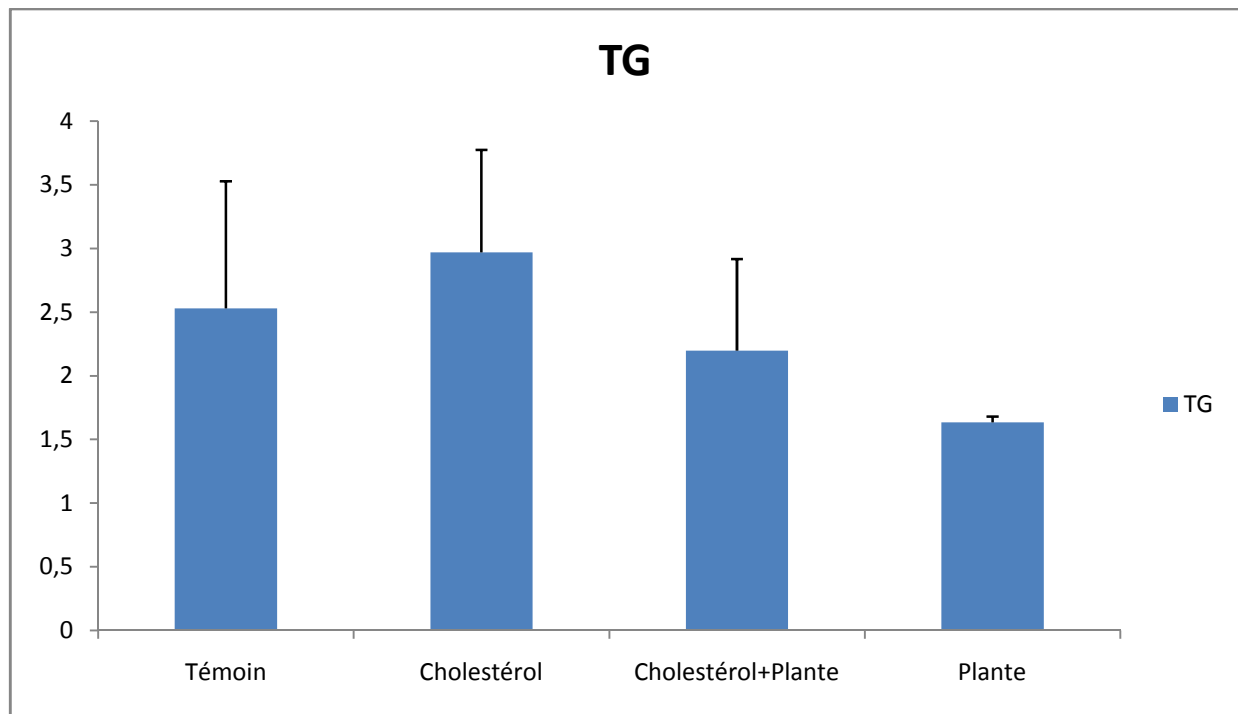


Figure 20 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux des triglycérides chez les souris.

- ❖ Le taux des triglycérides du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement ($2,53\pm 0,99$ g/l) et ($2,97\pm 0,8$ g/l) (**Figure 20**).
- ❖ Le taux des triglycérides du groupe Plante et Cholestérol+ Plante sont respectivement ($2,19\pm 0,72$ g/l) et ($1,63\pm 0,04$ g/l) (**Figure 20**).

La comparaison des données montre que le taux des triglycérides du groupe Cholestérol a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats non significatifs $p > 0.05$.

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.

La relation entre les TG et le risque cardiovasculaire est largement dépendante de l'effet d'autres facteurs de risques.

2.3 L'ASAT

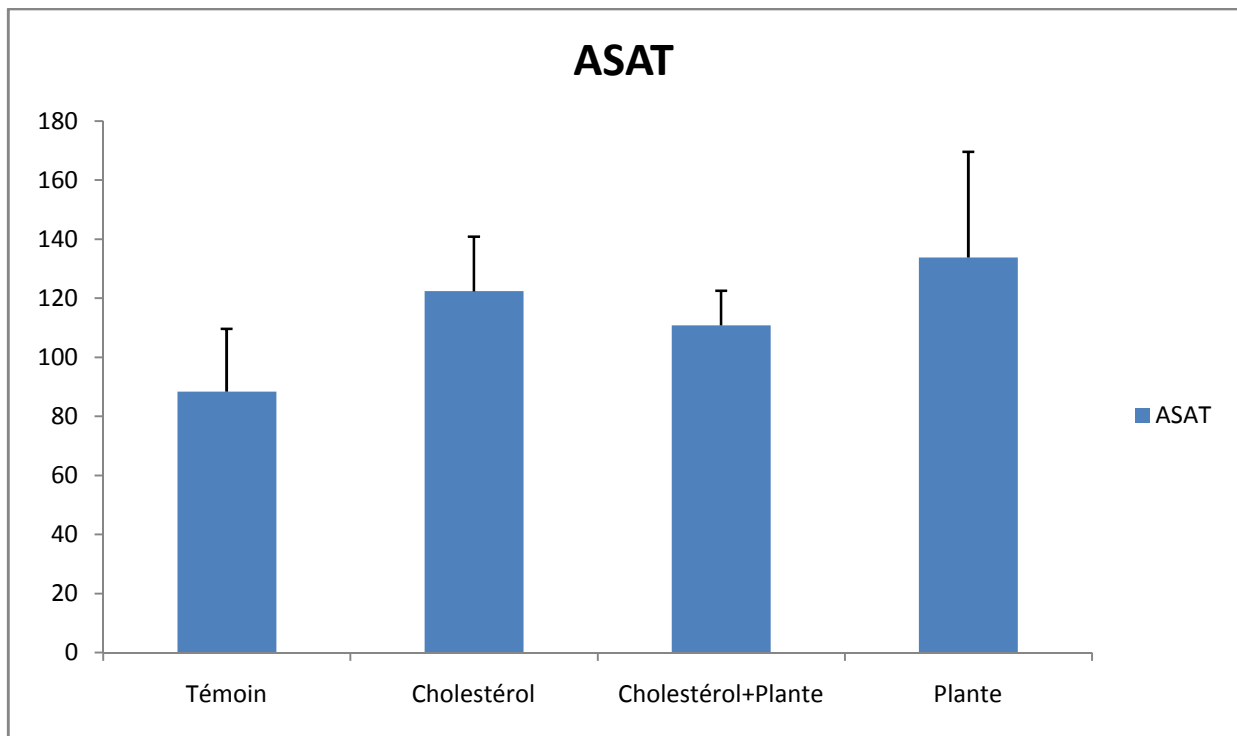


Figure 21 : l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ASAT chez les souris.

- ❖ Le taux de l'ASAT du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement (88,37±21,26 UI/l) et (122,4±15,52 UI/l) (**Figure 21**).
- ❖ Le taux de l'ASAT du groupe Plante et Cholestérol + Plante sont respectivement (110,85±11,73 UI/l) et (133,80±35,83 UI/l) (**Figure21**).
- ❖ La comparaison des données montre que le taux de l'ASAT des groupes (Cholestérol et Plante) ont des valeurs élevées par rapport aux autres groupes (Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats non significatifs $p > 0.05$.

2.4 L'ALAT

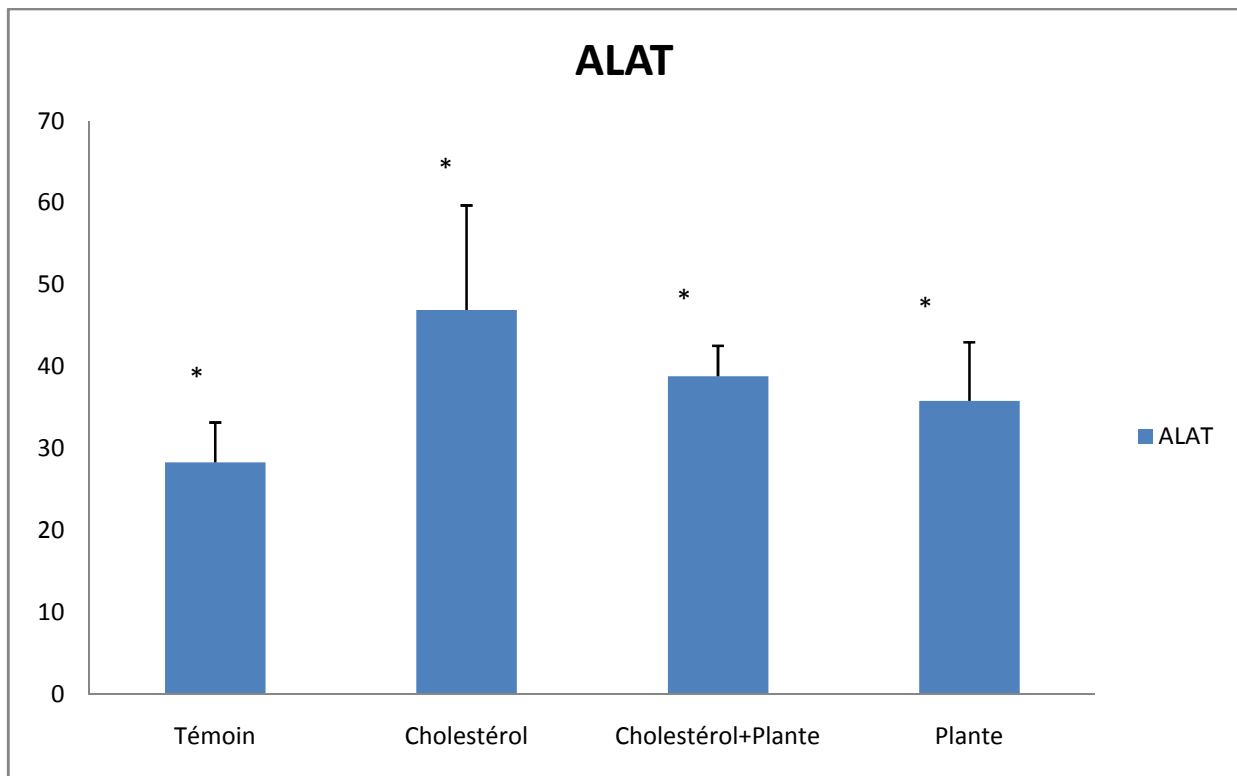


Figure 22 : *l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'ALAT chez les souris.*

- ❖ Le taux de l'ALAT du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement (28,35±4,86 UI/l) et (46,95±12,76 UI/l) (**Figure 22**).
- ❖ Le taux de l'ALAT du groupe Plante et Cholestérol+ Plante sont respectivement (38,85±3,74 UI/l) et (35,85±7,17 UI/l) (**Figure22**).

La comparaison des données montre que le taux de l'ALAT du groupe Cholestérol a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats non significatifs $p > 0.05$.

2.5 L'HDL-c

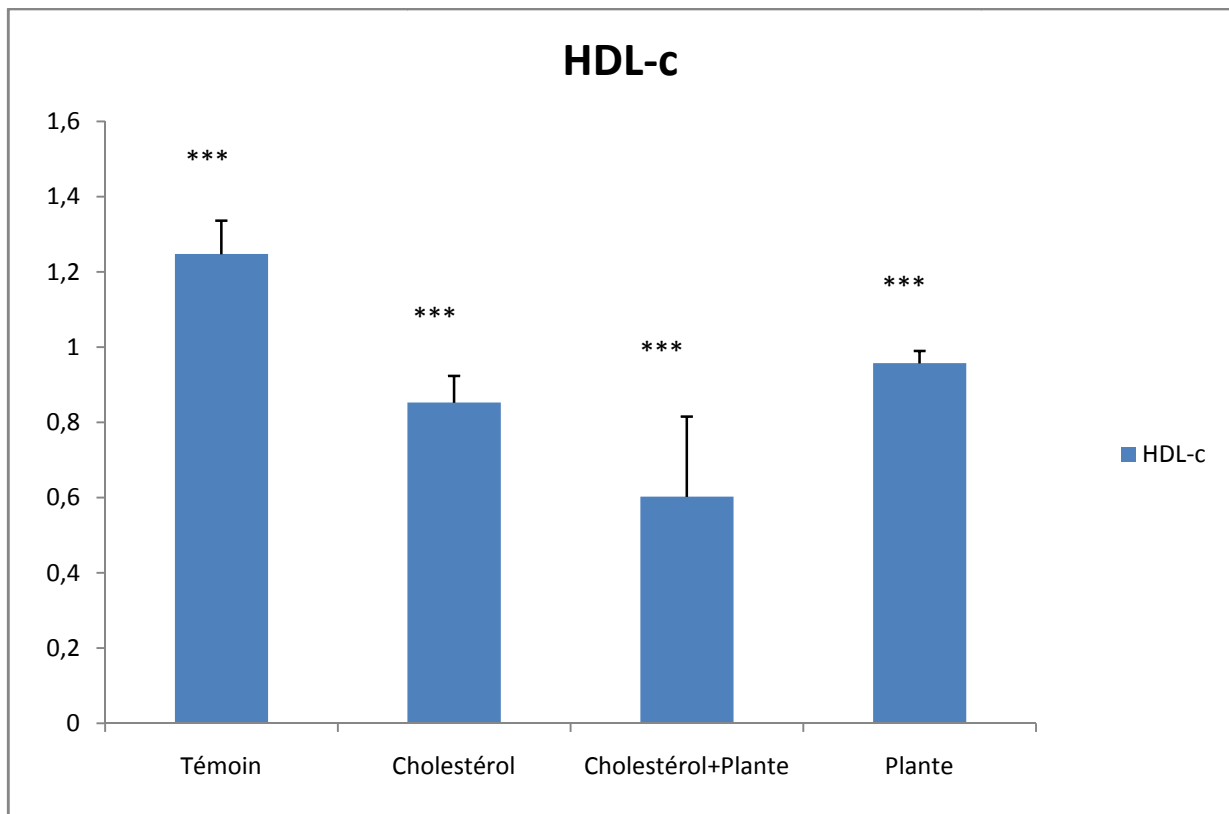


Figure 23 : *l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'HDL-c chez les souris.*

- ❖ Le taux de l'HDL-c du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement ($1,24 \pm 0,08$ g/l) et ($0,85 \pm 0,07$ g/l) (**Figure 23**).
- ❖ Le taux de l'HDL-c du groupe Plante et Cholestérol+ Plante sont respectivement ($0,60 \pm 0,21$ g/l) et ($0,95 \pm 0,03$ g/l) (**Figure 23**).

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

Rôle : transport reverse du cholestérol des tissus extra-hépatiques vers le foie. Elles peuvent provenir de différentes voies : les HDL naissantes ou les HDL métabolisées par d'autres lipoprotéines (VLDL).

2.6 L'LDL-c

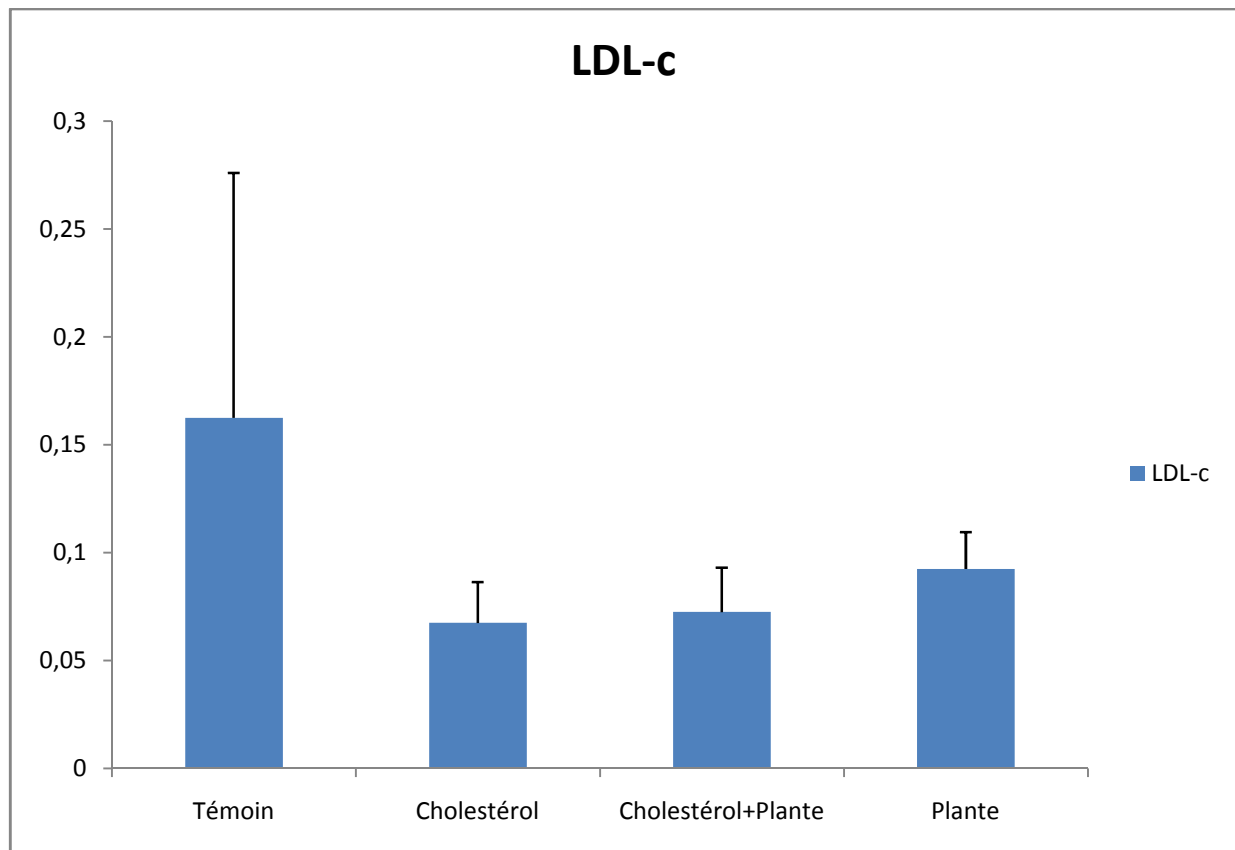


Figure 24 : *l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de l'LDL-c chez les souris.*

- ❖ Le taux de l'LDL-c du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement ($0,16 \pm 0,11$ g/l) et ($0,06 \pm 0,01$ g/l) (**Figure 24**).
- ❖ Le taux de l'LDL-c du groupe Plante et Cholestérol+ Plante sont respectivement ($0,07 \pm 0,02$ g/l) et ($0,09 \pm 0,01$ g/l) (**Figure24**).

La comparaison des données montre que le taux de l'LDL-c du groupe Témoin a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Cholestérol, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats non significatifs $p > 0.05$.

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

2.7 La CRP

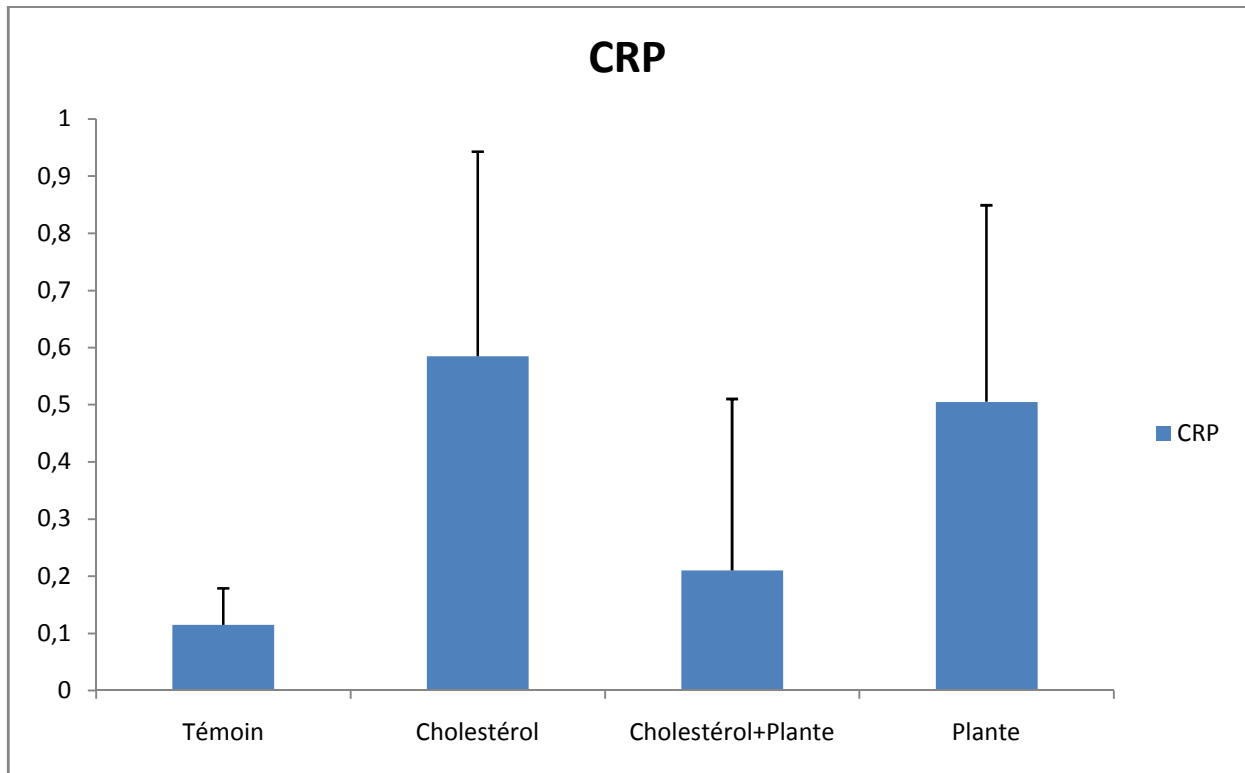


Figure 25 : *l'interaction de Cholestérol et de l'extrait de la plante sur le taux de la CRP chez les souris.*

- ❖ Le taux de la CRP du groupe Témoin et Cholestérol sont respectivement ($0,11 \pm 0,06$ mg/l) et ($0,58 \pm 0,35$ mg/l) (**Figure 25**).
- ❖ Le taux de la CRP du groupe Plante et Cholestérol+ Plante sont respectivement ($0,50 \pm 0,35$ mg/l) et ($0,21 \pm 0,06$ mg/l) (**Figure 25**).

La comparaison des données montre que le taux de la CRP du groupe Témoin a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Cholestérol, Cholestérol+Plante et Plante), ces résultats non significatifs $p > 0,05$.

3. Les corrélations entre les groupes

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés seulement aux corrélations significatives ($p < 0,05$). Les différentes corrélations qui ont été révélées sont représentées dans le **tableau 5** et les (**Figures 26, 27, 28,29 et 30**).

Tableau 05 : les corrélations significatives constatées entre les paramètres biochimiques.

Groupe étudié	Paramètres biochimiques	Type de corrélation	Coefficient (r)	Probabilité (p)
Cholestérol	Ch et TG	Négative	- 0,951*	0,04
Cholestérol+Plante	ASAT et LDL	Positive	0,967*	0,03
Cholestérol+Plante	ALAT et Cho	Positive	0,977*	0,02
Plante	HDL et Cho	Négative	-0,969*	0,03
Plante	HDL et CRP	Positive	0,970*	0,03

* La corrélation est significative au niveau 0,05.

3.1 Corrélation dans le groupe Cholestérol (Cholestérol-Triglycérides)

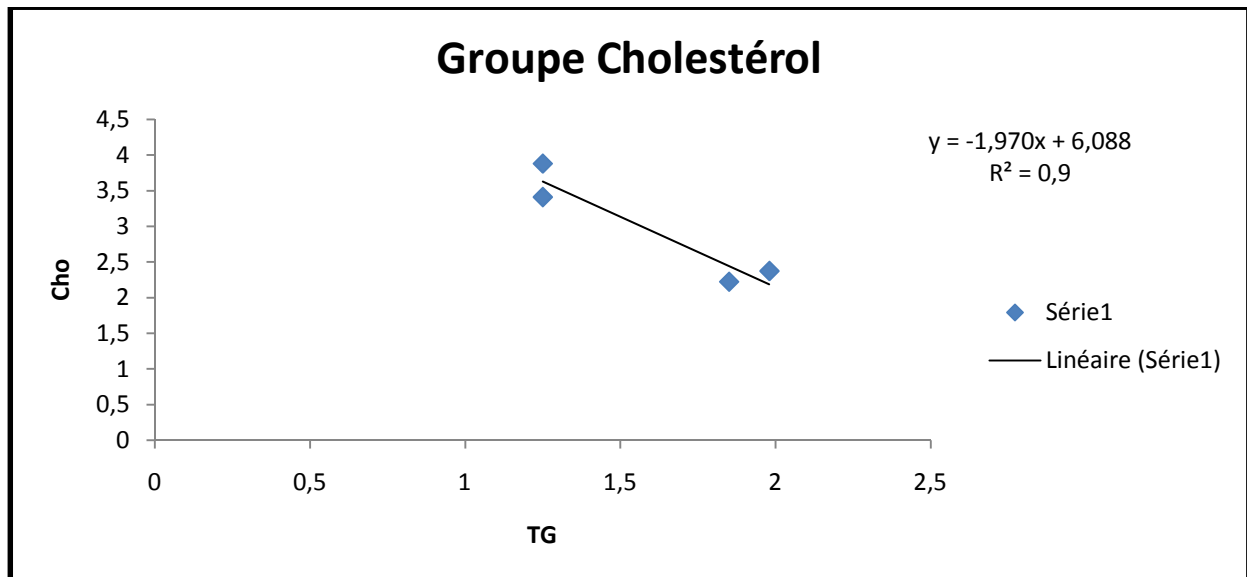


Figure 26 : Corrélation dans le groupe Cholestérol (Cholestérol-Triglycérides)

La comparaison entre le taux de Cholestérol et les Triglycérides montre qu'il y'a une corrélation négative avec $p = 0,04$. Donc l'augmentation de taux de Cholestérol est associée avec une diminution de taux des Triglycérides.

3.2 Corrélation dans le groupe Cholestérol+ Plante (ASAT-LDL-c)

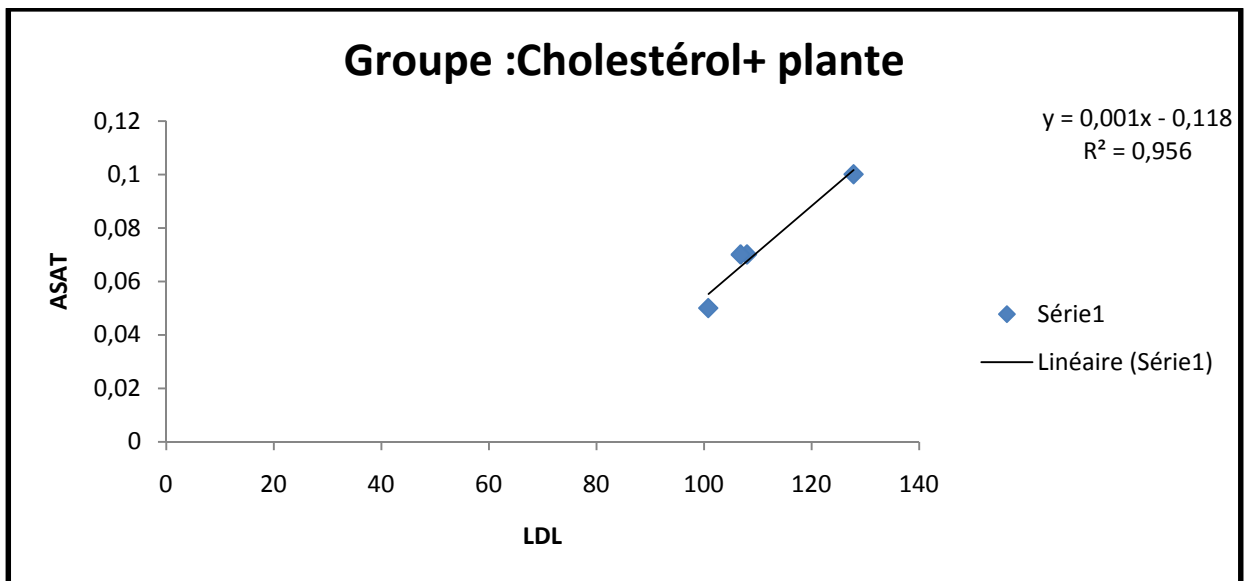


Figure 27 : Corrélation dans le groupe Cholestérol+ Plante (ASAT-LDL-c)

La comparaison entre le taux d'ASAT et l'LDL-c montre qu'il y'a une corrélation positive avec $p = 0,03$. Donc l'augmentation de taux de l'ASAT hépatique est accompagnée avec une augmentation de l'LDL-c.

3.3 Corrélation dans le groupe Cholestérol+Plante (ALAT-Cholestérol)

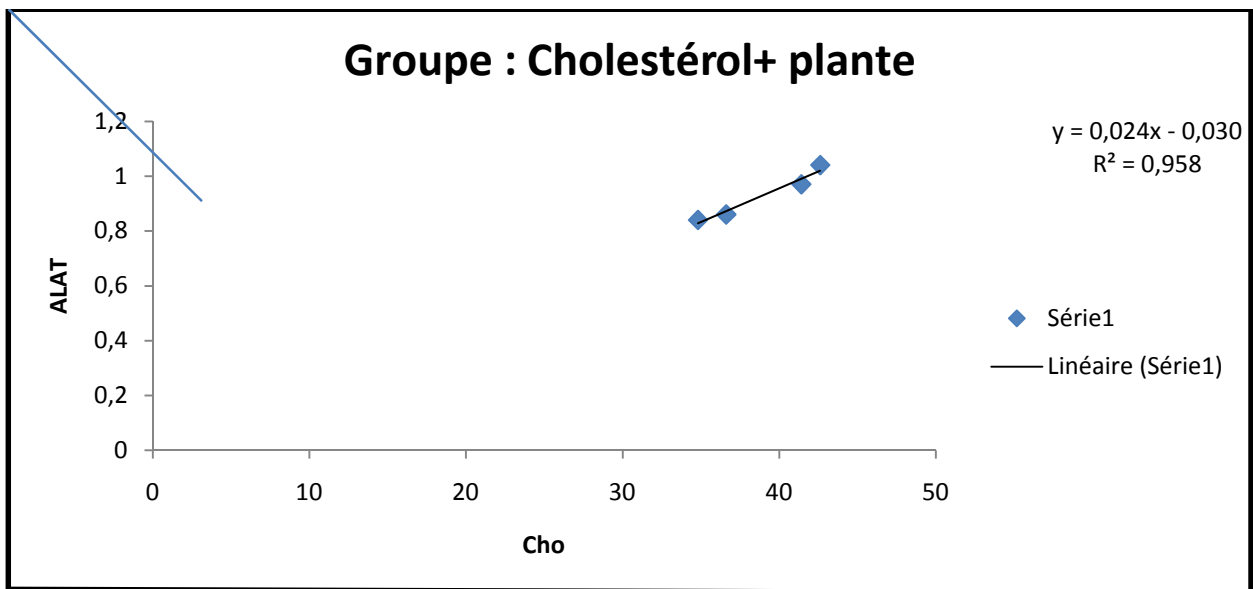


Figure 28 : Corrélation dans le groupe Cholestérol+Plante (ALAT-Cholestérol)

La comparaison entre le taux d'ALAT et le Cholestérol montre qu'il y a une corrélation positive avec $p = 0,02$. Donc l'augmentation de taux de l'ALAT hépatique est accompagnée avec une augmentation de Cholestérol.

3.4 Corrélation dans le groupe Plante (Cholestérol-HDL-c)

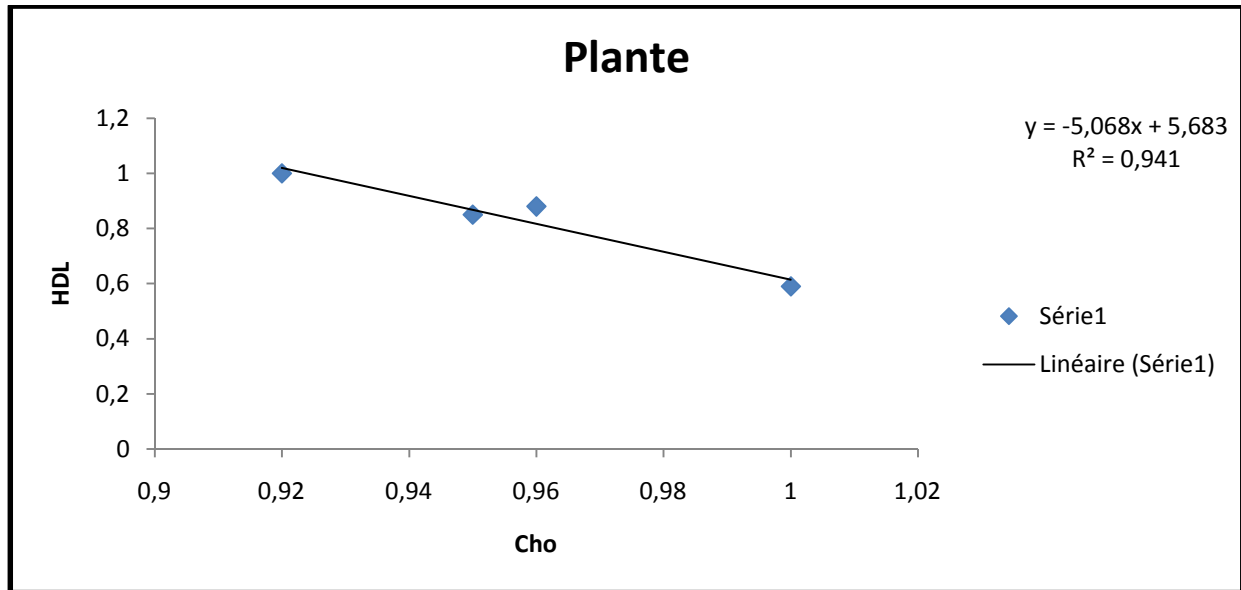


Figure 29: Corrélation dans le groupe Plante (Cholestérol-HDL-c)

La comparaison entre le taux de Cholestérol et l'HDL-c montre qu'il y'a une corrélation négative avec $p = 0,03$. Donc l'augmentation de taux de Cholestérol est associée avec une augmentation de l'HDL-c.

3.5 Corrélation dans le groupe Plante (HDL-c - CRP)

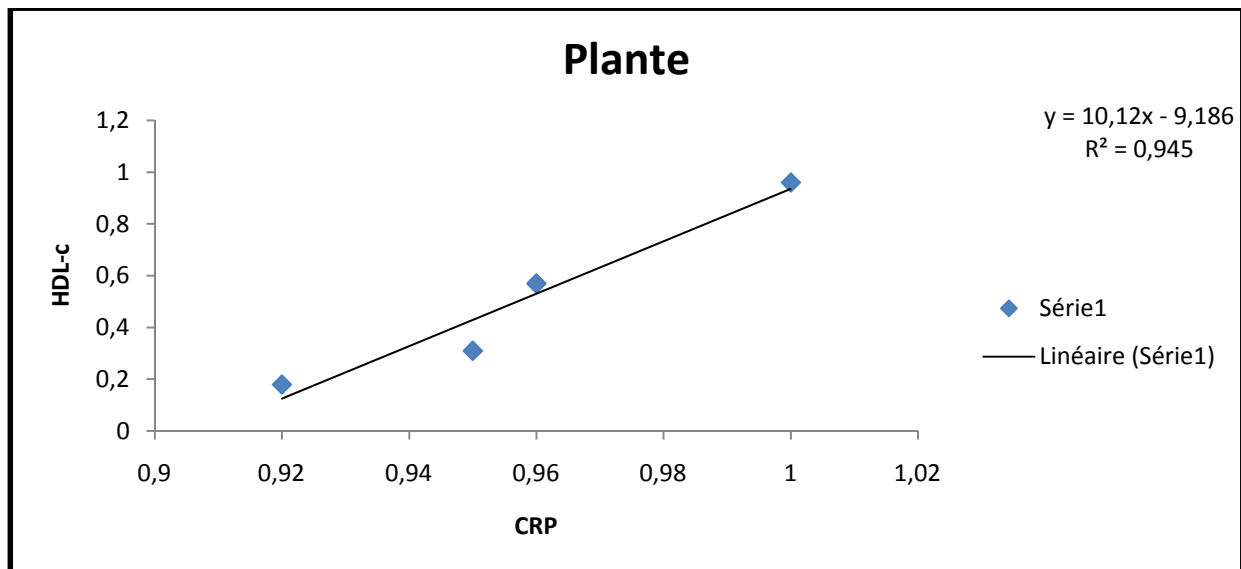


Figure 32: Corrélation dans le groupe Plante (HDL-c - CRP)

La comparaison entre le taux de l'HDL-c et de la CRP montre qu'il y a une corrélation positive avec $p = 0,03$. Donc l'augmentation de taux de la CRP est associée avec une augmentation de l'HDL-c.

Discussion générale

Dans notre travail, la supplémentation du régime en l'huile de *Phoenix dactylifera* entraîne une légère perte de poids chez les témoins, mais elle provoque une importante chute de poids chez les souris obèses.

Le régime témoin supplémenté en huile de *Phoenix dactylifera* ne montre pas de grandes variations significatives du poids corporel, chez les souris comparées aux souris sous régime témoin normal. Par contre, les souris obèses nourries au régime supplémenté en huile de *Phoenix dactylifera* ont un poids corporel très significativement plus faible que celui des souris obèses sous régime. En effet, l'augmentation de la teneur en acides gras polyinsaturés conduit à une diminution de la masse grasse. Selon **SHIROUCHI B et al.**, cette perte de masse grasse est induite par une diminution de la prolifération des préadipocytes et de l'adiposité. Tout d'abord, ces acides gras polyinsaturés ont amélioré le poids corporel. Par la suite, l'apport en AGPI a réduit la lipogenèse

Nos résultats montrent que le régime hypercholestérolémiant enrichi en huile de *Phoenix dactylifera* induit une évolution meilleure du poids corporel. De même, la composition corporelle est modifiée et se traduit par une diminution du tissu adipeux blanc, observée au cours du sacrifice.

D'après (**PARRISH CC et al.**) ces travaux vont dans le même sens que nos résultats. Dans le tissu adipeux, il existe des précurseurs des adipocytes (ou préadipocytes) qui ne demandent qu'à se différencier en adipocytes, s'ils rencontrent des situations favorables de stimulation, encore mal identifiées. Les recherches sur la dynamique d'accumulation de la masse grasse montrent d'une part l'augmentation du nombre d'adipocytes, et d'autre part, la synthèse et le stockage (lipogenèse) de ces graisses dans ces cellules qui vont alors s'hypertrophier. Enfin, un processus de déstockage des graisses (lipolyse) existe, mais il est de moins en moins stimulé chez les sédentaires.

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. Des médicaments anti-athéromateux qui empêcheraient l'accumulation de cholestérol ou diminueraient l'inflammation directement au niveau de la paroi vasculaire pour réduire efficacement l'athérogenèse.

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 et éviter la toxicité observée à des doses élevées de statines.

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 huile de *Phoenix dactylifera*, sur le poids corporel et les changements métaboliques (paramètres biochimiques ; Cholestérol, Triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT, ALAT et la CRP) par l'utilisation d'un modèle expérimental d'hypercholestérolémie nutritionnelle, les souris *Mus musculus* adultes.

Nos résultats montrent que le régime induit une hyperphagie chez les souris 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.

La supplémentation en huile de *Phoenix dactylifera* et du régime confirme l'influence bénéfique des AGPI sur le poids corporel avec réduction de la lipogenèse. Au niveau des organes, l'huile de *Phoenix dactylifera* diminue significativement le poids moyen du tissu adipeux chez les obèses.

En outre, l'huile de *Phoenix dactylifera* réduit les lipides plasmatiques et tissulaires (foie, muscle, intestin, tissu adipeux) confirmant l'effet bénéfique, hypolipidémiant (sauf pour les triglycérides enrichis en AGPI qui ont tendance à s'accumuler dans le foie) et hypocholestérolémiant (cholestérol) de l'huile de *Phoenix dactylifera*. Cet effet bénéfique est très marqué chez les souris obèses avec des résultats très hautement significatifs ($p = 000$).

Nos données montrent aussi que l'huile de *Phoenix dactylifera* a entraîné une diminution de la production des biomarqueurs de l'inflammation tel que la CRP et agit sur les marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques en limitant le taux d'oxydation des lipoprotéines.

Ce type d'expériences nous a amené à conclure les effets bénéfiques de l'huile de *Phoenix dactylifera* (les AGPI) sur la réduction du développement excessif du tissu adipeux (obésité) avec effets favorables sur le poids corporel et certains paramètres métaboliques.

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'huile de *Phoenix dactylifera* 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.

RESUMES

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'huile de *Phoenix dactylifera* 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. Des souris *Mus musculus*, ont reçu le régime standard ou le régime enrichi ou non en huile de *Phoenix dactylifera* pendant 21 jours. Nos résultats montrent que le régime hypercholestérolémiant induit une hyperphagie et une obésité chez les souris sous régime hypercholestérolémiant comparées aux rates témoins. L'augmentation de la masse grasse est accompagnée de modifications notables avec une augmentation très hautement significative des teneurs plasmatiques de cholestérol, ALAT et HDL-c avec (p=000). Les taux des Triglycérides, LDL-c, ASAT et la CRP sont réduits au niveau du plasma, mais augmentés au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux chez les souris obèses. L'effet bénéfique de l'huile de *Phoenix dactylifera* est marqué par une diminution de la production des triglycérides. Donc, l'huile de *Phoenix dactylifera* a des effets bénéfiques sur le statut redox et présente un intérêt nutritionnel.

Mots clés : athérosclérose, régime hypercholestérolémiant, souris *Mus musculus*, huile de *Phoenix dactylifera*, paramètres biochimiques, CRP.

كان الهدف من دراستنا لتقييم آثار الاحماض الدسمة العديدة غير مشبعة من النظام الغذائي والنظام الغذائي المشبع عالي الدسم (نسبة عالية من الدهون والسعرات الحرارية العالية) وكذلك تأثير مستخلص زيت البلح (*Phoenix dactylifera*) (الدقلة) على وزن الجسم وبعض القياسات البيوكيميائية (الكولسترول الكلي والدهون الثلاثية، HDL-C، LDL-C، AST و ALT) وعلامات للالتهابات مثل CRP. لهذا الغرض تعرض الفئران من جنس *Mus musculus* لنظام غذائي عادي و اخر مشبع بالدسم و اخر ايضا مع مستخلص زيت نبات *Phoenix dactylifera*. نتائجا تظهر أن النظام الغذائي الناجم عن فرط أكل الكولسترول ادت الى زيادة وزن الفئران في النظام الغذائي المشبع بالدهون مقارنة بالأنظمة الغذائية الأخرى. ويرافق هذه الزيادة في كتلة الدهون عن طريق تغييرات كبيرة و زيادة كبيرة في مستويات كل من الكولسترول في البلازما، HDL-C و ALAT مع (p = 000). الاثر الايجابي لزيت مستخلص البلح هو تخفيض معدلات الدهون الثلاثية TG، LDL-C، AST و CRP في البلازما ولكن زيادة في الكبد والعضلات والأنسجة الدهنية في الفئران السمينية. لقد تم وضع علامة على تأثير مفيد من مستخلص زيت البلح و هذا بانخفاض في إنتاج الدهون الثلاثية TG. في الختام، مستخلص زيت البلح له آثار مفيدة على حالة الأكسدة ويحتوي على قيمة غذائية.

Phoenix، مستخلص زيت *Mus musculus*، الكلمات المفتاحية: تصلب الشرايين، النظام الغذائي المشبع بالدسم CRP، القياسات البيوكيميائية و *dactylifera*.

Summary

The objective of our work is to evaluate the effects of enrichment in PUFAS of the standard speed and the engine speed (high fat and caloric) to the oil of Phoenix *dactylifera* on body weight and on some biochemical parameters (total cholesterol, triglycerides, HDL-C, LDL-c, AST and ALT) and markers of inflammation as the CRP. For this purpose, the mouse *Mus musculus*, receive the standard speed or the regime enriched or not with oil of Phoenix *dactylifera* during 21 days. Our results show that the hypercholestérolémiant regime misled a overeating and obesity in mice under regime hypercholestérolémiant compared to misfire witnesses. The increase in fat mass is accompanied by notable changes with an increase very highly significant levels of plasma cholesterol, ALAT and HDL-c with (p= 000). The rates of Triglycerides, LDL-c, AST and the CRP are reduced to the level of the plasma, but increased to the level of the liver, muscle and adipose tissue in mice obese. The beneficial effect of the oil of Phoenix *dactylifera* is marked by a decrease in the production of triglycerides. In conclusion, the oil of Phoenix *dactylifera* has beneficial effects on the redo status and presents a nutritional interest.

Key words: atherosclerosis, hypercholestérolémiant regime, mouse *Mus musculus*, oil of *Phoenix dactylifera*, biochemical parameters and the CRP.



REFERENCES

1. **Friedland, J.S., et al., (2002)** Differential regulation of MMP-1/9 and TIMP-1 secretion in human monocytic cells in response to Mycobacterium tuberculosis. *Matrix Biol.*,**21**(1): 103-10.
2. **Libby, P., D. Egan, and S. Skarlatos, (1997)** Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation*, **96**(11): 4095-103.
3. **Mulvany M.J., Aalkjaer C., (1999)** Structure and function of small arteries. *Physiol Rev.*, (70:921-61).
4. **Gutterman D.D., (1999)** Adventitia-dependent influences on vascular function. *Am J Physiol.*, (277:H1265-1272).
5. **Rey FE.Li X.C., Carretero OA., Garvin JL and pagano PJ., (2002)** Perivascular superoxide anion contributes to impairment of endothelium-dependent relaxation: role of gp91(phox). *Circulation* (106:2497-2502).
6. **Hayashi K., Holzapfel G. A., (2003)** "Mechanical properties of soft tissues and arterial walls," in *Biomechanics of soft tissue in cardiovascular system*, , Eds. New York: Springer, (15–64).
7. **Wolinsky H., et S. Glagov.,(1964)** "Structural Basis For The Static Mechanical Properties Of The Aortic Media," *Circ Res*, (14, pp. 400-13),.
8. **Kalita P., et R. Schaefer.,(2008)**"Mechanical Models of Artery Walls," *Arch Comput Methods Eng*, (15, 1-36).
9. **Stéphanie DAL-ROS., (2009)** Dysfonction endothéliale et pathologies cardiovasculaires : Rôle du stress oxydant et effet protecteur des polyphénols végétaux.Thèse de Doctorat ; Université de Strasbourg.France.
10. **PAGE I. H., (1954)** Atherosclerosis; an introduction. *Circulation.*, **10**(1): 1-27).
11. **COTTET J., and LENOIR M., (1992)** Two thousand years of historical study on the words atheroma, atheromatosis, atherosclerosis, arteriosclerosis. *Bull Acad Natl Med.*, (**176**(9): 1385-90) discussion 1390-1.

- 12. VASTESAEGER M. M., and DELCOURT R., (1962)** The natural history of atherosclerosis. *Circulation*, (**26**: 841-55).
- 13. CEFALU W. T., and WAGNER J. D., (1997)** Aging and atherosclerosis in human and nonhuman primates,. (**20**: 15-28).
- 14. ROSS R., and GLOMSET J. A.,(1976)** The pathogenesis of atherosclerosis *N Engl J Med*,(**295**(7): 369-77).
- 15. CEFALU W. T., and WAGNER J. D., (1997)** Aging and atherosclerosis in human and nonhuman primates. (**20**: 15-28).
- 16. FUSTER V., MORENO P. R., FAYAD Z. A., CORTI R. and BADIMON J. J., (2005)** Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol*,(**46**(6): 937-54).
- 17. HANSSON G. K.,(2005)** Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*, (**352**(16): 1685-95).
- 18. LIBBY P., RIDKER P. M. and MASERI A., (2002)** Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation* (**105**: 1135-1143).
- 19. Evans M., Roberts A., Rees A., (2002)** The future direction of cholesterol-lowering therapy. *Curr Opin Lipidol* (**13**: 663-9).
- 20. CULLEN P., BAETTA R., BELLOSTA S., BERNINI F., CHINETTI G., CIGNARELLA A., VON ECKARDSTEIN A., EXLEY A., GODDARD M., HOFKER M., HURT-CAMEJO E., KANTERS E., KOVANEN P., LORKOWSKI S., MCPHEAT W., PENTIKAINEN M., RAUTERBERG J., RITCHIE A., STAELS B., WEITKAMP B. and DE WINTHER M., (2003)** Rupture of the atherosclerotic plaque: does a good animal model exist? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,. (**23**(4): 535-42).
- 21. Ross R. (1999)** Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N.Engl.J.Med.*(**340**, 115-126).

- 22. Shepherd J., Cobbe S.M., Ford I., Isles C.G., Lorimer A.R., MacFarlane P.W., McKillop J.H. and Packard C.J. (1995)** Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N.Engl.J.Med.*(**333**, 1301-1307).
- 23. Rosamond W., Flegal K., Friday G., Furie K., Go A., Greenlund K., Haase N., Ho M.,Howard V., Kissela B., Kittner S., Lloyd-Jones D., McDermott M., Meigs J., Moy C., Nichol G., O'Donnell C.J., Roger V., Rumsfeld J., Sorlie P., Steinberger J., Thom T., Wasserthiel-Smoller S. and Hong Y. (2007)** Heart disease and stroke statistics—2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* (**115**: 69-171).
- 24. Ross R., (1993)** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* (**362**, 801-809).
- 25. 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 :1**, 17-32).
- 26. Napoli C., D'Armiento F.P., Mancini F.P., Postiglione A., Witztum J.L., Palumbo G. and Palinski W. (1997)** Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J.Clin.Invest* (**100**, 2680-2690).
- 27. Davignon J. and Ganz P. (2004)** Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*(**109**, III27-III32).
- 28. Giannotti G. and Landmesser U. (2007)** Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. *Herz* (**32**, 568-572).
- 29. 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).

30. 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).

31. van der Wal A.C., Das P.K., Bentz v.d.B., van der Loos C.M. and Becker A.E. (1989) Atherosclerotic lesions in humans. In situ immunophenotypic analysis suggesting an immune mediated response. *Lab Invest* (**61**, 166-170).

32. Yasuda O., Fukuo K. and Ogihara T. (2001) [Roles of growth factors and cytokines in atherosclerosis]. *Nippon Rinsho* (**59: 2**, 586-590).

33. Falk E., Shah P.K. and Fuster V. (1995) Coronary plaque disruption. *Circulation* (**92**, 657-671).

34. Danesh J., Collins R. and Peto R. (1997) Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* (**350**, 430-436).

35. Springer T.A. (1994) Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* (**76**, 301-314).

36. Muller W.A., Weigl S.A., Deng X. and Phillips D.M. (1993) PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J.Exp.Med.* (**178**, 449-460).

37. 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).

38. Rajavashisth T.B., Andalibi A., Territo M.C., Berliner J.A., Navab M., Fogelman A.M. and Lusis A.J. (1990) Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. *Nature* (**344**, 254-257).

39. Nagel T., Resnick N., Atkinson W.J., Dewey C.F., Jr. and Gimbrone M.A., Jr. (1994) Shear stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells. *J.Clin.Invest*(**94**, 885-891).

40. 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).

41. Boisvert W.A., Santiago R., Curtiss L.K. and Terkeltaub R.A. (1998)

A leukocyte homologue of the IL-8 receptor CXCR-2 mediates the accumulation of macrophages in atherosclerotic lesions of LDL receptor-deficient mice. *J.Clin.Invest* (101, 353-363).

42. Glass C.K., Witztum J.L. (2001) Atherosclerosis. the road ahead. *Cell.*;(104(4):503-16).

43. Hansson G.K.(2005) Mechanisms of disease - Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.*;(352:1685–1695).

44. 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).

45. Hynes R.O. and Wagner D.D. (1997) Genetic manipulation of vascular adhesion molecules in mice. *J.Clin.Invest* (100, S11-S13).

46. 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).

47. 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).

48. Wick G., Romen M., Amberger A., Metzler B., Mayr M., Falkensammer G. and Xu Q.(1997)

Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *FASEB J.* (11, 1199-1207).

49. 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).

50. Davi G. and Patrono C. (2007) Platelet activation and atherothrombosis. *N.Engl.J.Med.* (357, 2482-2494).

51. Badimon J.J., Meyer B., Feigen L.P., Baron D.A., Chesebro J.H., Fuster V. and Badimon L. (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).

52. Waxman S., Ishibashi F. and Muller J.E. (2006) Detection and treatment of vulnerable plaques and vulnerable patients: novel approaches to prevention of coronary events. *Circulation* (114, 2390-2411).

53. Goldstein J.A., Demetriou D., Grines C.L., Pica M., Shoukfeh M. and O'Neill W.W. (2000) Multiple complex coronary plaques in patients with acute myocardial infarction. *N.Engl.J.Med.* (343, 915-922).

54. Duff G.W., Libby P., Ordovas J.M. and Reilly P.R. (2006) The future of living well to 100. *Am.J.Clin.Nutr.* (83, 488S-490S).

55. Mazzolai L., Duchosal M.A., Korber M., Bouzourene K., Aubert J.F., Hao H., Vallet V., Brunner H.R., Nussberger J., Gabbiani G. and Hayoz D. (2004) Endogenous angiotensin II induces atherosclerotic plaque vulnerability and elicits a Th1 response in ApoE^{-/-} mice. *Hypertension* (44, 277-282).

56. Zadelaar A.S., der Thusen J.H., Boesten L.S., Hoeben R.C., Kockx M.M., Versnel M.A., Van Berkel T.J., Havekes L.M., Biessen E.A. and van Vlijmen B.J. (2005) Increased vulnerability of pre-existing atherosclerosis in ApoE-deficient mice following adenovirus-mediated Fas ligand gene transfer. *Atherosclerosis* (183, 244- 250).

57. Michowitz Y., Goldstein E., Roth A., Afek A., Abashidze A., Ben Gal Y., Keren G. and George J. (2005) The involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in atherosclerosis. *J.Am.Coll.Cardiol.* (45, 1018-1024).

58. Sluijter J.P., Pulskens W.P., Schoneveld A.H., Velema E., Strijder C.F., Moll F., de Vries J.P., Verheijen J., Hanemaaijer R., de Kleijn D.P. and Pasterkamp G. (2006)

Matrix metalloproteinase 2 is associated with stable and matrix metalloproteinases 8 and 9 with vulnerable carotid atherosclerotic lesions: a study in human endarterectomy specimen pointing to a role for different extracellular matrix metalloproteinase inducer glycosylation forms. *Stroke* (37, 235-239).

59. Moreno P.R., Purushothaman K.R., Fuster V., Echeverri D., Trusczyńska H., Sharma S.K., Badimon J.J. and O'Connor W.N. (2004) Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation* (110, 2032-2038).

60. Williams K.J. and Rodriguez W.V. (1998) Atherosclerosis: cell biology and lipoproteins. *Curr.Opin.Lipidol.* (9, 511-513).

61. Witztum J.L. and Berliner J.A. (1998) Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr.Opin.Lipidol.* (9, 441-448).

62. Dichtl W., Nilsson L., Goncalves I., Ares M.P., Banfi C., Calara F., Hamsten A., Eriksson P. and Nilsson J. (1999) Very low-density lipoprotein activates nuclear factor-kappaB in endothelial cells. *Circ.Res.*(84, 1085-1094).

63. 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).

64. Federici M. and Lauro R. (2005) Review article: diabetes and atherosclerosis—running on a common road. *Aliment.Pharmacol.Ther.* (22 :2, 11-15).

65. See R., Abdullah S.M., McGuire D.K., Khera A., Patel M.J., Lindsey J.B., Grundy S.M. and de Lemos J.A. (2007) The association of differing measures of overweight and obesity with prevalent atherosclerosis: the Dallas Heart Study. *J.Am.Coll.Cardiol.* (50, 752-759).

66. Kol A., Bourcier T., Lichtman A.H. and Libby P. (1999) Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. *J.Clin.Invest* (103, 571-577).

- 67. Margaglione M., Cappucci G., Colaizzo D., Vecchione G., Grandone E. and Di Minno G. (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).
- 68. Papanicolaou D.A., Wilder R.L., Manolagas S.C. and Chrousos G.P. (1998)** The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann.Intern.Med.* (128, 127- 137).
- 69. Gerszten R.E., Lusinskas F.W., Ding H.T., Dichek D.A., Stoolman L.M., Gimbrone M.A., Jr. and Rosenzweig A. (1996)** Adhesion of memory lymphocytes to vascular cell adhesion molecule-1-transduced human vascular endothelial cells under simulated physiological flow conditions in vitro. *Circ.Res.* (79, 1205-1215).
- 70. Stefanadis C., Diamantopoulos L., Dernellis J., Economou E., Tsiamis E., Toutouzas K., Vlachopoulos C. and Toutouzas P. (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).
- 71. Brull, D.J., et al., (2003)** Human CRP gene polymorphism influences CRP levels: implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, (23(11): 2063-9).
- 72. Majello, B., et al., (1990)** Constitutive and IL-6-induced nuclear factors that interact with the human C-reactive protein promoter. *Embo J.*, (9(2): 457-65).
- 73. Cha-Molstad, H., et al., (2000)** The Rel family member P50 mediates cytokine-induced C-reactive protein expression by a novel mechanism. *J Immunol.*, (165(8): 4592-7).
- 74. Black, S., I. Kushner, and D. Samols,(2004)** C-reactive Protein. *J Biol Chem.*, (279(47): 48487-90).
- 75. Jabs, W.J., et al., (2003)** The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo. *Eur J Immunol.*, (33(1): 152-61).

- 76. Hatanaka, K., et al., (1995)** Immunohistochemical localization of C-reactive protein-binding sites in human atherosclerotic aortic lesions by a modified streptavidin-biotin-staining method. *Pathol Int*, (45(9): 635-41).
- 77. Meier-Ewert, H.K., et al., (2001)** Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem*, V:47(3): p. 426-30. Zahedi, K., et al., (1989) Binding of human C-reactive protein to mouse macrophages is mediated by distinct receptors. *J Immunol*, (142(7): 2384-92).
- 78. Ridker, P.M., et al., (1999)** Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation*, (100(7): 713-6).
- 79. 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).
- 80. Ridker P.M. (2003)** Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* (107, 363-369).
- 81. Kimberly M.M., Vesper H.W., Caudill S.P., Cooper G.R., Rifai N., Dati F. and Myers G.L. (2003)** Standardization of immunoassays for measurement of high-sensitivity C-reactive protein. Phase I: evaluation of secondary reference materials. *Clin.Chem.* (49, 611-616).
- 82. Ridker P.M. and Cook N. (2004)** Clinical usefulness of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham Risk Scores. *Circulation* (109, 1955-1959).
- 83. Ridker P.M., Cannon C.P., Morrow D., Rifai N., Rose L.M., McCabe C.H., Pfeffer M.A. and Braunwald E. (2005)** C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N.Engl.J.Med.* (352, 20-28).

- 84. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W., Anderson J.L., Cannon R.O., III, Criqui M., Fadl Y.Y., Fortmann S.P., Hong Y., Myers G.L., Rifai N., Smith S.C., Jr., Taubert K., Tracy R.P. and Vinicor F. (2003)** Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* (107, 499-511).
- 85. ARMITAGE JA, TAYLOR PD, POSTON L (2005).** Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J Physiol.* (565: 3-8).
- 86. KOPELMAN PG (2000).** L'obésité comme un problème médical. *Nature.* (404 : 635-643) .
- 87. MICHALIK L, DESVERGNE B, WAHLI W (2000).** Les bases moléculaires de l'obésité : vers de nouvelles cibles thérapeutiques ? *médecine/sciences* (16 : 1030-1039).
- 88. BOUANANE S, BENKALFAT NB, BABA AHMED FZ, MERZOUK H, SOULIMANE MOKHTARI N, MERZOUK S, GRESTI J, TESSIER CH, NARCE M (2009).** Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in cafeteria fed obese rats and their offspring. *Clin Sci.* (116: 669 – 680).
- 89. SHIROUCHI B, NAGAO K, INOUE N, OHKUBO T, HIBINO H, YANAGITA T (2007).** Effect of dietary omega 3 phosphatidylcholine on obesity-related disorders in obese Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *J Agric Food Chem.*(55:71-76).
- 90. PARRISH CC, PATHY DA, ANGEL A (1990).** Dietary fish oils limit adipose tissue hypertrophy in rats. *Metabolism.* (39 : 217-219).

ANNEXES

A. Calcule de la dose :

- La dose de l'huile de *Phoenix dactylifera* :

$$\begin{array}{l} 0,12 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad 1000\text{g} \\ X \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad \text{poids de souris (g)} \end{array}$$

$$\text{La dose de l'huile de la plante} = \frac{, \times}{\text{ml}}$$

- La dose de cholestérol

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

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

B. Préparation des solutions :

Préparation de Nacl :

$$9\text{g} \quad \longrightarrow \quad 1000 \text{ ml eau distillée}$$

C .Préparation de formol :

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

Nom : BENDJA BALLAH
Prénom : KHALIDA

Encadreur : MESSAOUDI
SABAR

Titre : L'effet de l'extrait de Phoenix dactylifera chez les souris soumis a un régime enrichi en cholestérol

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme :
Master en Immunologie et 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'huile de Phoenix dactylifera sur le poids corporel et sur quelques paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT et ALAT) et les marqueurs d'inflammation comme la CRP.

Dans ce but, les souris Mus musculus, reçoivent le régime standard ou le régime enrichi ou non en huile de Phoenix dactylifera pendant 21 jours.

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

L'augmentation de la masse grasse est accompagnée de modifications notables avec une augmentation très hautement significatifs des teneurs plasmatiques de cholestérol, ALAT et HDL-c avec (p=000).

Les taux des Triglycerides, LDL-c, ASAT et la CRP sont réduits au niveau du plasma, mais augmentés au niveau du foie, muscle et du tissu adipeux chez les souris obèses. L'effet bénéfique de l'huile de Phoenix dactylifera est marqué par une diminution de la production des Triglycérides.

En conclusion, l'huile de Phoenix dactylifera a des effets bénéfiques sur le statut redox et présente un intérêt nutritionnel.

Mots clés : Athérosclérose, régime hypercholestérolémiant, souris Mus musculus, huile de Phoenix dactylifera, paramètres biochimiques et la CRP.

Date de soutenance : 03/Juillet /2014