



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : de biologie animale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : immunologie moléculaire et cellulaire : oncologie

Intitulé :

Evaluation du profil inflammatoire et histopathologique de l'athérogenèse chez le rat hyperhomocystéinémique implication aux organes lymphoïdes primaires et secondaires

Présenté et soutenu par : Kezih Lamia et Lashab Sana

Le : 02/07/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{elle} Elouar . I (maître de conférence- UFM Constantine).

Rapporteur : Mme Aggoun .C (maître assistante - UFM Constantine).

Examinatrice : M^{elle} Benlatreche. M (maître assistante - UFM Constantine).

*Année universitaire
2014 - 2015*

Remerciements

*Je tiens à remercier tout d'abord 'DIEU 'pour le peu de savoir que J'ai acquis
A travers ce modeste travail, J'adresse mes très sincères remerciements, À Mme «Aggoun
Cherifa» pour son encadrement pendant tout ce semestre ; Les conseils qu'el le m'a prodigués
et ces nombreux encouragements furent très précieux pour l'accomplissement de ces travaux,
Elle n'a jamais compté le temps qu'el le ma accordé.*

*Mes plus vifs remerciements s'adressent à la présidente du jury Melle Elouar Ibtissem
Et au membre de jury Melle Belatrache Moufida a d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer
mon travail.*

*Ensuite, nous remercions naturellement les autres personnes, tous les professeurs et
enseignants qui ont collaboré à ma formation depuis mon premier cycle d'étude jusqu'à la fin
de mon cycle universitaire.*

*Enfin, je remercie ma famille infiniment et plus particulièrement mes parents, mes
Amis et toutes ces personnes qui ont un jour croisé mon chemin et m'ont encouragé à
toujours aller de l'avant.*

LAMIA & SANA

Dédicaces

A vous lumière de ma vie avec vous je partage le plus sacré lien spirituel et

affectif : mes parents

A tous les membres de ma famille : mes sœurs, mes frères

Mes chères tantes, Mes chers oncles

Et toutes mes amies d'études d'option immunologie et oncologie.

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

A tous mes amies, avec qui je passe des bons moments.

LAMIA & SANA

Table des matières:

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction.....1

CHAPITRE 1 : INFLAMMATION ET ORGANES LYMPHOÏDES

1-L'inflammation.....3

1.1-Définition.....3

1.2-Mécanisme de l'inflammation aigue.....4

1.2.1-La phase vasculaire ou vasculo-exudative.....5

1.2.2- La phase cellulaire.....10

1.2.3- La détersion de la réaction inflammatoire11

1.2.4- La réparation.....11

1.3-La protéine C-réactive (CRP) marqueur clé de l'inflammation.....12

2-les organes lymphoïdes.....15

2.1-Les organes lymphoïdes primaires (centraux).....16

2.1.1- La moelle osseuse.....16

2.1.2-Le thymus.....18

2.2-Les organes lymphoïdes secondaires (périphériques) 20

2.2.1- La rate	20
2.2.2-Les ganglions lymphatiques.....	24
2.2.3-Les amygdales.....	26
2.2.4-Les plaques de Peyer.....	27

CHAPITRE 2 : HOMOCYSTEINE ET PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HYPERHOMOCYSTEINEMIE

1-Biochimie de l'homocystéine.....	28
1.1-Définition de l'homocystéine.....	28
1.2-Structure de l'homocystéine.....	28
1.3- Métabolisme de l'homocystéine.....	28
1.4-Les différentes formes physiologiques d'homocystéine circulante.....	30
1.5-les valeurs physiologiques de l'homocystéine.....	31
2-Physiopathologie de l'hyperhomocystéinémie.....	31
2.1-Définition.....	31
2.2-classification.....	31
2.3-Facteurs favorisant l'hyperhomocystéinémie (HH).....	32
3- Mécanisme de la pathogénicité de l'hyperhomocystéinémie	37
3.1- L'intervention du stress oxydatif	38
3.2- Diminution de la production de NO et dysfonction endothélial.....	39
4-Actions physiopathologiques de l'hyperhomocystéinémie.....	39
4-1-Atteintes cardiovasculaires	39

4.2-Atteintes cérébrovasculaire.....	39
--------------------------------------	----

4.3-stéatose hépatique.....	40
-----------------------------	----

CHAPITRE 3 : ASPECTS INFLAMMATOIRES DE L'ATHEROGENESE.....41

1-L'athérogenèse.....	41
-----------------------	----

1.1définition.....	41
--------------------	----

1.2-l'anatomie des vaisseaux sanguins.....	41
--	----

1.3- Les facteurs de risque.....	43
----------------------------------	----

2-Pathogenèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes.....	48
---	----

2.1-les différentes théories de l'athérogenèse.....	48
---	----

2.2-mécanismes pathologiques liés à l'HH au cours de l'athérogenèse.....	50
--	----

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE 4 : MATERIELS ET METHODES.

1-Matériels.....	56
------------------	----

1.1- Matériel biologique.....	56
-------------------------------	----

2. Méthodes.....	57
------------------	----

2.1-Traitement des animaux.....	57
---------------------------------	----

2.2-Etude biochimique.....	57
----------------------------	----

2.3-Hématologie.....	61
----------------------	----

2.4-Étude histologique.....	62
-----------------------------	----

2.5-Analyse statistique.....	68
------------------------------	----

CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

1-Résultats relatifs aux paramètres physiologiques.....	69
--	-----------

1.1-poids de l'aliment consommé.....	69
--------------------------------------	----

1.2-poids des animaux.....	69
2-Résultats relatifs aux paramètres biochimiques.....	71
2.1-bilan lipidique.....	71
2.1.1-le cholestérol total.....	71
2.1.2-les triglycérides.....	71
2.1.3-les HDLc.....	72
2.1.4-les LDLc.....	72
2.2-bilan hépatique.....	74
2.2.1-le taux des ASAT.....	74
2.2.2-le taux des ALALT.....	74
2.3-bilan inflammatoire.....	75
2.3.1-la CRP.....	75
2.3.2-protéines totales.....	76
3-résultats relatifs aux paramètres hématologiques.....	77
3.1-neutrophiles.....	77
3.2-plaquettes.....	77
3.3-lymphocytes.....	78
4-Résultats relatifs à l'étude histologiques.....	79
4.1-histologie aortique.....	79
4.2-histologie cardiaque.....	80

4.3-histologie hépatique.....	82
4.4-histologie splénique.....	83
4.5-histologie thymique.....	85
5-résultats relatifs à l'étude cytologique.....	86
5.1-les frottis périphériques.....	86
5.2-les frottis médullaires.....	88

Liste des tableaux :

Tableau	Identification	Page
1	Rôle de certains composants du système de coagulation dans la réaction inflammatoire :	6
2	Rôle des protéines du complément dans réaction inflammatoire.	7
3	Rôle des médiateurs humoraux et des cytokines dans la réaction inflammatoire	8
4	Différents types de récepteurs scavenger (SRA)	52
5	La composition d'1Kg d'aliment (ONAB)	57

Liste des figures :

Figure	Identification	Page
1	Les différentes étapes de la migration leucocytaire vers les sites d'inflammation	4
2	Les différentes molécules d'adhésion impliquées dans l'interaction entre les leucocytes et l'endothélium	5
3	Présentation microscopique d'un macrophage	9
4	Présentation microscopique d'un neutrophile	10
5	Schéma récapitulatif des différentes phases de l'inflammation aiguë	13
6	Organisation de tissus lymphoïdes	15
7	Les lignées cellulaires produites à partir de la moelle osseuse	16
8	L'anatomie thymique	18
9	La vascularisation de la rate	20
10	Présentation microscopique des pulpes rouges et des pulpes blanches	22
11	Structure de ganglions lymphatique	24
12	Structure de l'homocystéine	28
13	Métabolisme de l'homocystéine	29
14	Les différentes formes physiologiques d'homocystéine circulante	30
15	Production de peroxyde d'hydrogène par oxydation de l'Hcy	38
16	Structure de la paroi artérielle	42
17	Métabolisme exogène et endogène des lipoprotéines	46
18	Représentation schématique de la diversité des lipoprotéines athérogènes	53
19	Genèse de la plaque d'athérosclérose	54
20	Plaque d'athérome mature	55
21	Représentation de la cage des rattes .	56
22	Formulaire Hématologique	61
23	La méthode d'euthanasie	62

24	Incision de la peau	62
25	ouverture de la partie abdominale	62
26	Prélèvement des organes	62
27	Réalisation des macro-coupes	63
28	Prélèvement du sang à partir de la veine cave inférieur	66
29	Ponction au niveau de l'épiphyse de l'os du fémur	66
30	Frottis périphériques colorés par le MG	67
31	Frottis médullaires colorés par le MG	67
32	Frottis périphériques colorés par le Giemsa	67
33	Frottis médullaires colorés par le Giemsa	67
34	Frottis périphériques après coloration MGG	67
35	Frottis médullaire après coloration MGG	67
36	Variation de la consommation alimentaire des lots C et M	68
37	Variation pondérale des lots C et M	69
38	le taux représentant le cholestérol total des lots C et M	70
39	le taux des triglycérides des lots C et M	70
40	Taux des HDLc chez les lots C et M.	71
41	Taux des LDLc chez le lot C et M.	71
42	Taux plasmatique des ASAT chez les lots C et M	73
43	Taux des ALAT chez les lots C et M.	73
44	Le taux représentant la CRP sérique des lots C et M.	74
45	Le taux représentant le taux sérique des protéines totales chez les lots C et M.	75
46	Taux des neutrophiles chez les lots C et M	76
47	Taux des plaquettes chez les lots C et M	76
48	Taux des lymphocytes chez les lots C et M	77
49	Histologie aortique des lots C et M	78
50	Histologie cardiaque des lots C et M	81
51	Histologie hépatique des lots C et M	82

52	Histologie splénique des lots C et M	84
53	Histologie thymique des lots C et M	85
54	Frottis périphériques des lots C et M	87
55	Frottis médullaires des lots C et M	89

Liste des abréviations :

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ALAT : Alanine Amino Transférase

Apo : Apolipoprotéine

ASAT : Aspartate Amino Transférase

B12 : vitamine B12.

B6 : vitamine B6.

B9 : vitamine B9.

BHMT : Bétaïne-Homocystéine Méthyltransférase.

CBS : Cystathionine B-Synthase CBS

CE : Cellules Endothéliales.

CML : Cellules Musculaires Lisses.

CRP : C Reactive Protein.

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques.

EDTA : Acide Éthylène Diamine Tétracétique

EGF : Epidermal Growth Factor.

eNOS : NOS endothélial.

ERO : Espèces Réactive De L'oxygène.

ET-1 : Endotholine-1

FGF : Fibroblast Growth Factor.

GPx : Gluthation Peroxydase.

HA : Acide Homocystéique

Hcy : Homocystéine.

Hcy-t : Homocystéine Totale.

HDL : High Density Lipoproteins

HH : Hyperhomocystéinémie.

HO-1 : HèmeOxygénase -1.

ICAM-1 : Immunoglobulin-Like Cell Adhesion Molecule.

IDL : Intermediate Density Lipoproteins

IL-6 : Interleukine6.

LDL :Low Density Lipoproteins

LDLc : Low Density Lipoproteins Cholesterol.

LDLox : LDL oxydés..

M-CSF :Monocyte-Colony Stimulating Factor

MEC :MatriceExtracellulaire .

MGG :May- Grunewald Giemsa

MICI :Maladies Inflammatoires Chroniques De L'intestin.

MS : Méthionine Synthase.

MTHFR :Méthylène Tétrahydrofolate Réductase.

NMDA : N-Méthyl-D-Aspartate

NO :MonoxydeD'azote.

PAF : Platelet Activated Factor

PDF :Produits De Dégradation De La Fibrine.

PDGF : Platelet Derived Growth Factor

PN :Polynucléaire

PNN :PlynucléairesNeutophiles.

SAM: S-Adénosylméthionine.

SO : Stress Oxydatif.

TG : Triglycerides

TGF- β : Tumor Growth Factor beta.

TNF : Tumor Necrosis Factor.

VCAM 1 : Vascular Cell Adhesion Molecule

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor.

VLA-4 : Very Late Antigen 4

VLDL : Very Low Density Lipoproteins

De nos jours, les concepts de l'hyperhomocystéinémie (HH) et athérogenèse sont largement répandus dans la communauté scientifique traitant les facteurs de risque cardiovasculaires.

McCully a été le premier à rapporter en 1969, la présence de lésions athéromateuses chez les patients ayant une concentration élevée d'Hcy. Il avait émis l'hypothèse de l'existence d'un lien physiopathologique entre l'HH et la genèse de l'athérosclérose.

L'athérogenèse est le processus physiopathologique aboutissant à la genèse de l'athérosclérose qui est une maladie inflammatoire caractérisée par un épaississement de la paroi artérielle la plus proche de la lumière contenant de nombreuses cellules musculaires lisses (CML) anormales, des macrophages et des lymphocytes, des dépôts de cholestérol et d'autres graisses à la fois dans ces cellules et dans le milieu extracellulaire et des couches denses de matrice de tissu conjonctif (Eric *et al.*, 2013).

L'Hcy est un acide aminé soufré intermédiaire dans le métabolisme de la méthionine découvert en 1933 par Du Vigneaud (Guilland *et al.*, 2003). C'est une molécule pro oxydante qui devient, à des niveaux élevés, néfaste à l'intégrité des vaisseaux sanguins (Piertziket Brônstrup., 1997)

Des études expérimentales ont montré que l'homocystéine et les lipides sont toxiques non seulement au niveau des cellules vasculaires mais aussi au niveau des hépatocytes. (Devlinet *al.*, 2006 ; Obeidet *al.*, 2009).

Rollandet *al.*, (1995), ainsi que d'autres travaux (Yagisawaet *al.*, 2004 ; Chwatkoet *al.*, 2007), ont rapporté que l'administration chronique d'un excès de méthionine provoque chez différents modèles animaux (porc, rat, gerbille, lapin et souris respectivement) un état d'hyperhomocystéinémie plus ou moins prononcé, ce qui ouvre la possibilité d'étudier les répercussions d'une HH expérimentale sur les paramètres biochimiques plasmatiques et sur l'histologie des différents tissus.

Dans le cadre de ce présent travail, nous nous sommes attelé à étudier l'effet d'un état d'hyperhomocystéinémie induit chez le rat, sur le développement de l'athérogenèse d'une part, et

afin d'explorer d'autre partle processus inflammatoire et d'autant plus les répercussions sur le système immunitaire.

Le manuscrit est scindé en deux parties ; une partie bibliographique et l'autre expérimentale, la première y consiste en un rappel bibliographique comportant trois chapitres :

1. Inflammation et organes lymphoïdes.
2. Homocystéine et physiopathologie de l'hyperhomocystéinémie.
3. Aspect inflammatoire de l'athérogenèse.

La seconde partie est une étude expérimentale comportant les chapitres ; matériels et méthodes, résultats et discussions.

Enfin, nous clôturons le manuscrit par une conclusion générale avec des références bibliographiques.

1-L'inflammation :

1.1-Définition :

L'inflammation est une réponse physiologique à toute une série de stimulus, tel que les infections et les lésions tissulaires ; En général une réponse inflammatoire a un début rapide et s'étend sur une courte période. L'inflammation aiguë est généralement accompagnée d'une réponse systémique connue sous le nom de réponse de la phase aiguë caractérisée par une rapide modification du taux de diverses protéines plasmatiques ; Dans certaines maladies une activation immunitaire persistante peut conduire à une inflammation chronique qui a souvent des conséquences pathologiques (Thomas J. Kindt *et al.*, 2008).

L'inflammation aiguë:

Elle se manifeste par quatre symptômes définis : douleur, tuméfaction, rougeur et augmentation de la chaleur locale. Elle correspond à une succession de phénomènes vasculaires qui se déroulent au niveau du site d'infection. Mise en jeu, entretenue et amplifiée par une cascade de réaction, médiée par un large panel de messagers diffusibles, elle aboutit généralement à l'élimination de l'agresseur et à la réparation des tissus lésés lorsqu'il y a eu une plaie, dans un délai qui n'excède pas 48 heures (Jean-Pierre Come, 2013).

L'inflammation chronique:

Certains micro-organismes sont capables d'échapper à la clairance par le système immunitaire ; par exemple, parce qu'ils possèdent des composants de leur paroi cellulaire qui leur permettent de résister à la phagocytose. De tels pathogènes induisent souvent une réponse inflammatoire chronique qui se traduit par une lésion tissulaire importante (Thomas J. Kindt *et al.*, 2008).

1.2-mécanisme de l'inflammation aigue :

1.2.1-La phase vasculaire ou vasculo-exudative :

Les stimulus spécifiques (antigène étranger ,auto-antigène,complexe immun) et non spécifique (allergènes physiques :micro-cristaux,traumatisme ;chimique :métaux,solvants, médicaments ;biologiques :déjections d'acariens,venins,pollen) déclenchent une vasodilatation , un afflux du sang corrélatif de l'ouverture des sphincters précapillaires (congestion)et une exsudation plasmatique .

L'augmentation de l'apport sanguin permet de drainer vers les sites de l'infection les leucocytes et des protéines sériques, dans un deuxième temps l'œdème inflammatoire corrélatif de l'exsudation favorise l'apport local de médiateurs chimiques et de moyens de défense (immunoglobulines ,facteurs de coagulation, élément du complément),dilue des toxines accumulées dans la lésion ,limite le foyer inflammatoire par une barrière de fibrine (formée à partir du fibrinogène) en évitant ainsi la diffusion de micro-organismes infectieux, et ralentit le courant circulatoire par hémocoagulation ,ce qui favorise la phase cellulaire initiée par la diapédèse leucocytaire, celle-ci est déterminée par la liaison de molécules complémentaires des leucocytes et des endothéliums(Fig. 1), les cellules déjà présentes ou infiltrées vont-elles mêmes libérer des médiateurs chimiques qui vont entretenir et amplifier l'inflammation(Tab.1).

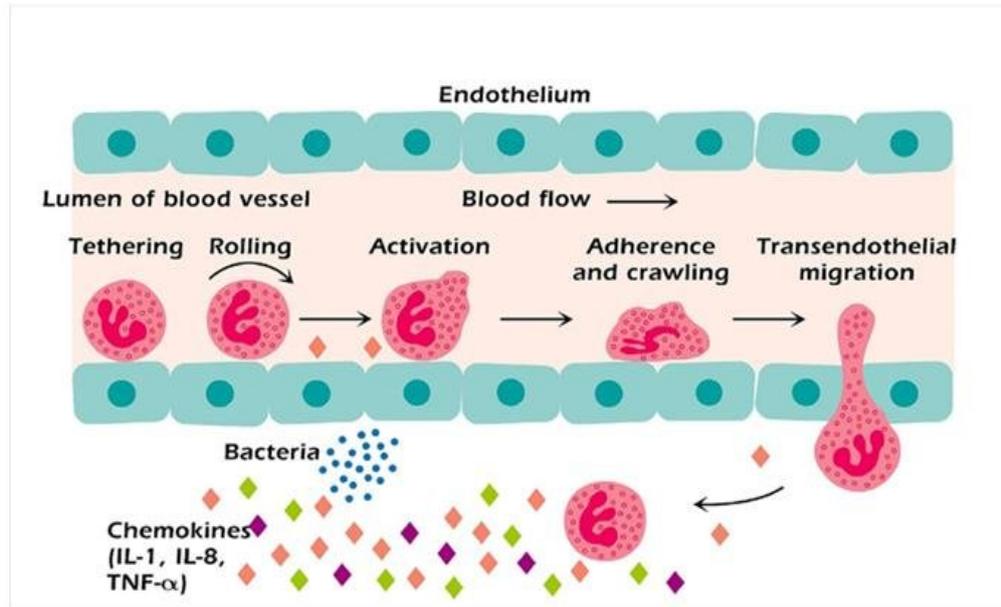


Figure. 1 : les différentes étapes de la migration leucocytaire vers le site inflammatoire
(Willy,2015)

La diapédèse leucocytaire est donc l'adhérence des leucocytes aux cellules endothéliales fait d'abord intervenir des sélectines : E-sélectine et P-sélectine sur les endothéliums et L-sélectine sur les leucocytes. Les sélectines se lient par leur domaine lectine à des formes sialylées d'oligosaccharides Sialyl- Lewis^x. Il en résulte une adhésion brève et faible qui ne permet pas le passage trans-endothélial mais un roulement des leucocytes à la surface endothéliale, rapidement d'autres molécules sont exprimées et permettent une adhésion solide des leucocytes à la surface de l'endothélium. Il s'agit de l'interaction entre les molécules d'adhérence endothéliales appartenant à la super famille des immunoglobulines (ICAM-1 et VCAM -1) et les intégrines présentes sur les leucocytes activés par des cytokines (exemples : LFA-1 pour les polynucléaires, ICAM-1 et VLA-4 pour les lymphocytes et VCAM-1 à la surface endothéliale). A la phase de passage trans-endothélial, d'autres molécules d'adhésion interviennent (par exemple PECAM-1 ou CD31) permettant la migration cellulaire à la surface de la matrice extra- cellulaire (Fig.2).

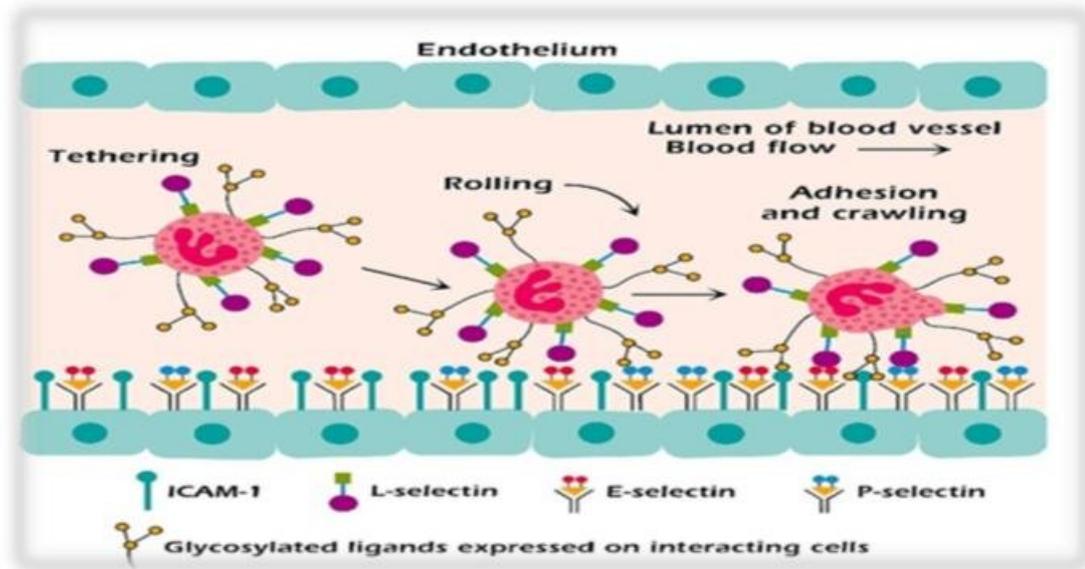


Figure. 2: Les différentes molécules d'adhésion impliquées dans l'interaction entre les leucocytes et l'endothélium (Willy,2015).

Trois systèmes principaux sont mis en jeu suite à la pénétration du pathogène : les systèmes de la coagulation, du complément et des kinines. Ils génèrent alors des composés actifs.

■ *le système de la coagulation :*

Ce système est activé s'il y a eu lésions vasculaire ou suite à la présence de nombreux microorganismes. Le facteur de Hageman le facteur XII s'active au contact du collagène qui est exposé par désorganisation du tissu endothéliale en contact du sang. Il provoque l'activation en cascade des différents composants du système de la coagulation. Ce système a pour principale fonction de combler les brèches occasionnées aux vaisseaux sanguins (Tab.1) (Eric Espinosa *et al.*,2010)

Tableau.1 : rôle de certains composants du système de coagulation dans la réaction inflammatoire :

Composants du système de coagulation	Rôle dans l'inflammation
Thrombine	active les CE ce qui augmente la perméabilité vasculaire
Fibrine	crée un réseau fibreux qui fige la zone inflammatoire et s'opposerait à la dispersion des pathogènes
facteur de Hageman activé	clive le plasminogène en plasmine. la plasmine est une protéase qui clive la fibrine et évite que le réseau de fibrine soit trop dense ; en plus, les produits de dégradation de la fibrine (PDF) augmentent la perméabilité vasculaire. La plasmine a aussi pour fonction d'activer le facteur de Hageman et le complément

● **Le système des kinines :**

Les kinines sont générées à partir de précurseurs inactifs (les kininogènes) clivés par des protéases : les kallikréines plasmatiques sont activés par le facteur de Hageman (XIIa) de la coagulation .La bradykinine (peptide de 9 acides aminés) est la kinine la plus active. Elle agit sur l'endothélium en causant une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire, et sur les terminaisons nerveuses en favorisant la douleur.

● **Le système du complément :**

Constitué de neuf fragments protéiques sériques (classe des globulines)synthétisés par de nombreux types cellulaires (macrophages, fibroblastes, hépatocytes ...), son activation peut se faire selon deux voies : la voie alterne mise en jeu par des stimuli non spécifiques et la voie classique mise en jeu par le complexe antigène-anticorps. par ses actions multiples initiées par des récepteurs présents sur tous les types cellulaires (macrophages, polynucléaires ,lymphocytes, mastocytes, cellule endothéliale), le complément joue un rôle central dans l'inflammation (Tab. 2) (Eric Espinosa *et al.*, 2010).

Tableau.2 : rôle des protéines du complément dans réaction inflammatoire.

Composants du système de complément	Rôle dans l'inflammation
C2b-C4a	Activité kinine- like
C3a, C5a	Activité chimiotactique
C5-6-7	
C5a, C4b	Adhérence leucocytaire
C5-6-7	Phagocytose
C5a	Stimulation des polynucléaires
C3b	Opsonisation

Tableau. 3 : rôle des médiateurs humoraux et des cytokines dans la réaction inflammatoire (Jean Clos, 2012).

composé	origine	propriétés
histamine	Plaquettes	Vasodilatation
	PN basophiles	Modulation de la réponse immunitaire
	Mastocytes	
sérotonine	Mastocyte	vasodilatation
	Plaquettes	
	PN basophiles	
prostaglandines	PL membranaires de CE, plaquettes , PN, Macrophages	Modulation de la réponse immune
Hydroxyperoxydes leucotriènes	PL membranaires de CE, plaquettes, PN et Macrophages	Augmentation de la perméabilité membranaire
		Chimiotactisme des PN et Macrophages
PAF acéther	PNN basophiles plaquettes	Augmentation de la perméabilité vasculaire (sérotonine)
		Libération d'enzymes lysosomales
		chimiotactisme
ERO	PNN macrophages	Production de lipides de chimiotactisme
		Lésion cellulaire
IL-1, TNFα	Macrophages	Augmenter l'expression des molécules d'adhésion à la surface des CE
IL-6	Macrophages	principal inducteur du gène de la CRP
CRP	hépatocytes	Opsonisation
		Activation du complément

1.2.2- La phase cellulaire :

● *Les cellules résidentes :*

Les macrophages résidents, aussi appelés histiocytes, sont les premiers à la présence du pathogène .Ce sont les sentinelles permanentes placées aux endroits stratégiques du corps (cellules de kupffer du foie, macrophages alvéolaires du poumon,microglie du tissu nerveux, cellules de Langerhans de la peau) (JeanClos,2012) (Fig.3).

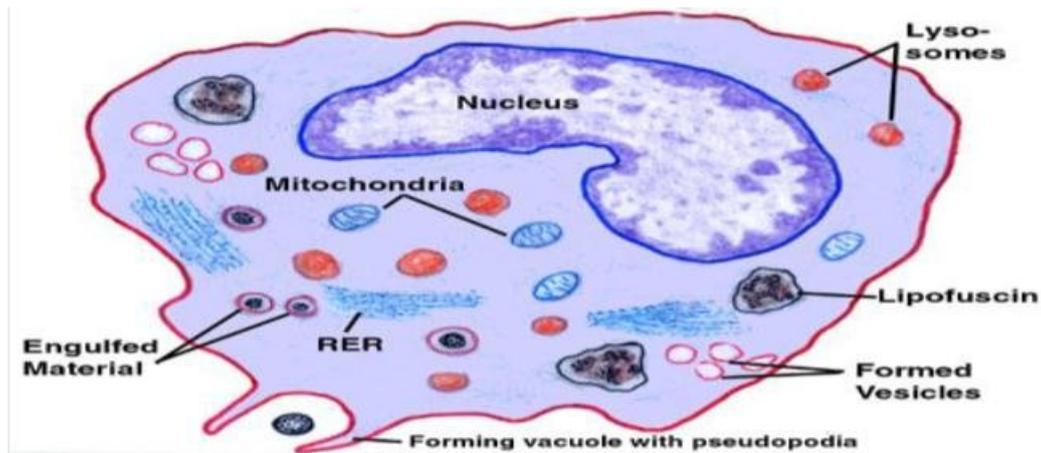


Figure 3 : Présentation microscopique d'un macrophage (d'après : S532.phtobucket.com).

● *Les cellules sanguines infiltrées :*

-Les polynucléaires neutrophiles :

Dans les premières étapes d'une réponse inflammatoire, le type de cellule prédominant dans l'infiltration est le neutrophile. (Kubyet al.,2007)

Les PNN sont les plus nombreux des leucocytes dont ils représentent 40 à 75% dans le sang circulant,ce sont des cellules phagocytaires très mobiles dont le rôle principal s'exerce dans la réponse inflammatoire aiguë à une lésion tissulaire, au cours de laquelle ils sécrètent des enzymes qui dégradent les constituants tissulaires , ingèrent et détruisent les tissus endommagés et tuent les micro-organismes envahisseurs, en particulier les bactéries (Weateret al.,2006) (Fig.4).

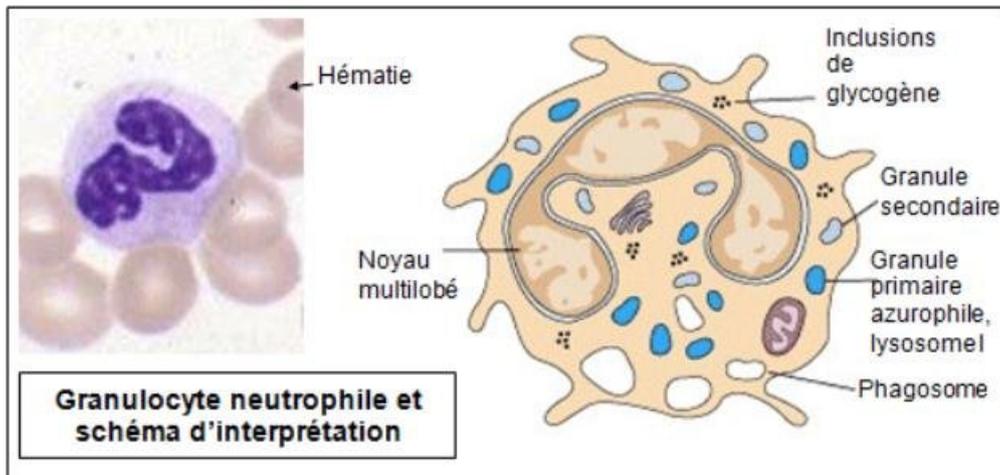


Figure. 4 : Présentation microscopique d'un neutrophile (d'après : les neutrophiles htm).

L'infiltration dans le tissu atteint son maximum dans les six premières heures d'une réponse inflammatoire, la production augmente dans la moelle osseuse jusqu'à dix fois pour satisfaire la demande (Fig.1)(kubyet *al.*,2007).

-Les mononucléaires :

Les monocytes sont les plus volumineux de la lignée leucocytaire. Ces cellules Phagocytaires très mobiles sont les précurseurs des macrophages. Les monocytes migrent vers les tissus périphériques où ils remplissent leurs fonctions de phagocytose (Wheater*etal.*,2006).

1.2.3-La détersionde la réaction inflammatoire :

C'est l'élimination des tissus nécrosés, des agents pathogènes et du liquide d'exsudat,elle est indispensable à la réparation tissulaire qui constitue le stade ultime de l'inflammation(Jean Clos,2012).

1.2.4- La réparation :

La phase de réparation fait disparaître toute trace de la réaction inflammatoire. Dans le cas d'une plaie, la réparation tissulaire comporte deux étapes : la cicatrisation et la régénération permettant de compenser la perte de substance(Jean Clos,2012).

La phase précoce de la cicatrisation est caractérisée par l'augmentation de la synthèse d'une matrice extracellulaire de structure lâche,riche en glycosaminoglycanes et fibronectine,mais pauvre en collagène, par les fibroblastes qui migrent vers la plaie .Ce

processus qui conduit au « bouton charnu » est induit par le PDGF libéré par les macrophages activés par la phagocytose des polynucléaires apoptotiques (Jean Clos, 2012).

Ces macrophages libèrent aussi le TGF- β qui stimule la synthèse des collagènes par les fibroblastes, tout en inhibant la synthèse des métalloprotéases (collagénases) et des activateurs du plasminogène, ce qui induit la stabilisation de la MEC. Dans le même temps, le TGF- α et le VEGF stimulent l'angiogenèse. Le FGF- α contribue à ce processus, tout en stimulant les collagénases, ce qui permet la progression des vaisseaux néoformés dans la nouvelle MEC.

La dernière étape consiste à régénérer l'épithélium grâce à l'action de l'EGF et des FGF- α/β également libérés par les phagocytes activés (Jean Clos, 2012).

1.3-La protéine C-réactive (CRP) marqueur clé de l'inflammation:

1.3.1-Définition :

La CRP est une protéine de 117.5KDa qui est composée de 5 monomères (Fourcada et Sacrisata, 2001). Le gène codant de la protéine CRP est localisé sur le chromosome 1 humain entre 1q21 et 1q23 ; il comprend 2263 nucléotides et 1 intron elle est caractérisée par une structure homopentamérique.

La CRP possède une affinité dépendante du calcium pour de nombreux ligands. Cette liaison initie l'activation de différents systèmes de défense de l'hôte. La phosphorylcholine représente le site de liaison de la CRP sur son ligand de référence, le polysaccharide C du pneumocoque.

Chaque monomère de CRP possède un site de liaison pour la phosphorylcholine. Ce dernier est modifié par l'âge, le sexe, et certains médicaments (Tytard, 2009).

1.3.2-Structure de la CRP :

La CRP est une protéine appartenant à la très ancienne et très conservée famille des pentaxines comprenant notamment la CRP, la SAP (sérum amyloïde Protéine Component, et l'APP, précurseur du peptide β -amyloïde).

Dans la chaîne de la Protéine C réactive, on retrouve une longue hélice alpha allant des acides aminés 168 à 176 ; elle est coincée contre un des deux feuillets β (Zerbato M, 2009).

1.3.3-Métabolisme de la protéine (CRP):

La synthèse de la CRP est hépatocytaire (se fait dans le foie). La régulation de la transcription de la CRP a été étudiée *in vivo* et *in vitro*. Les deux études démontrent que L'IL-6 est le principal inducteur du gène de la CRP, alors que l'IL-1, les glucocorticoïdes, et d'autres facteurs dont les produits de l'activation du complément agissent en synergie avec IL-6 pour augmenter son effet. L'IL-1 agit par divers mécanismes incluant certainement la modulation de la traduction de l'ARNm (Zerbato M ,2009).

1.3.4-Fonctions biologiques :

La CRP joue un rôle important dans l'immunité innée par ses propriétés d'opsonisation, d'activation du complément et de liaison aux récepteurs des immunoglobulines. La CRP reconnaît principalement les groupements phosphocholines présents dans les membranes de nombreux pathogènes, dans les lipoprotéines et dans les membranes cellulaires en dégénérescence. Elle peut également reconnaître des constituants nucléaires comme les histones. La CRP peut activer la voie classique du complément libérant des facteurs opsonisants et se lier aux récepteurs des immunoglobulines, favorisant ainsi la phagocytose. Cette liaison aux récepteurs active les monocytes en augmentant la production de cytokines et de formes oxydantes mais semble inhiber les neutrophiles (A.M. Dupuy *et al.*, 2003).

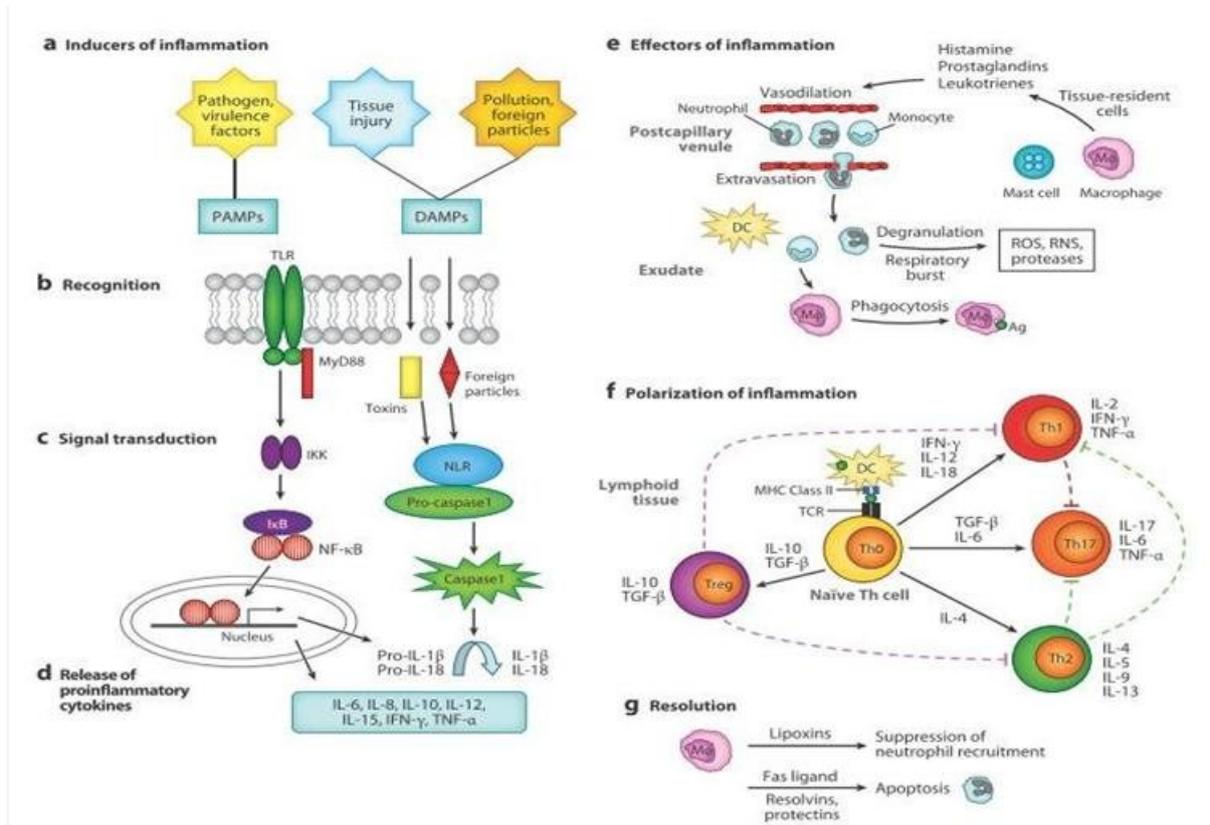


Figure 5 : Schéma récapitulatif des différentes phases de l'inflammation aiguë (Ashley *et al.*, 2012).

2- les organes lymphoïdes :

Les organes et tissus lymphoïdes correspondent au lieu de résidence des lymphocytes et d'autres cellules du système immunitaire. Ils se distinguent en deux groupes :

Les organes lymphoïdes primaires ont la capacité de produire, et/ou de provoquer la prolifération et la maturation des lymphocytes. Ils correspondent à la moelle osseuse et au thymus.

Les organes lymphoïdes secondaires sont des lieux de concentration des lymphocytes, au niveau desquels s'effectue l'activation de la réponse immunitaire adaptative, autrement dit l'activation des lymphocytes qui se différencieront en cellules effectrices et cellules mémoires. Parmi eux on compte les ganglions lymphatiques, la rate et les MALT (MucosaAssociatedLymphoidTissue) comprenant les amygdales et les plaques de Peyer) (Matthieu SIMON ,2015) (Fig.10).

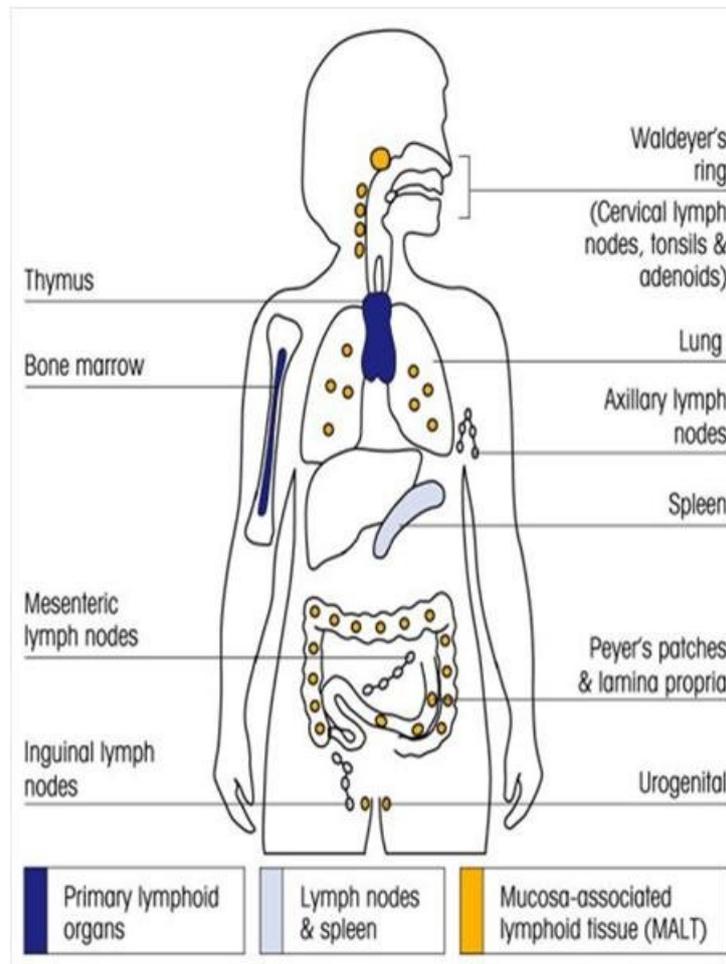


Figure .6 : Organisation de tissus lymphoïdes (Delves *et al.*, 2011).

2.1-Les organes lymphoïdes primaires (centraux) :

2.1.1-La moelle osseuse :

● *Définition :*

La moelle osseuse correspond au tissu présent dans la partie centrale des os courts et plats (sternum, côtes, vertèbres, os iliaques, voûte du crâne, épiphyses proximales de l'humerus et du fémur, ...), En effet seuls ces os possèdent encore de la moelle osseuse rouge constituée de cellules souches hématopoïétique multipotentes (CSH), en opposition à la moelle osseuse jaune constituée de cellules graisseuses (adipocytes) (Matthieu SIMON ,2015).

Anatomie :

La moelle osseuse est également constituée de cellules stromales qui constituent un tissu de soutien permettant la multiplication et la différenciation des cellules souches hématopoïétique.

Les sinus veineux présent dans la moelle osseuse sont très permissifs, permettant ainsi un passage aisé des cellules sanguines vers le sang. En effet ces vaisseaux présentent une lame basale discontinue.

Fonction :

La moelle osseuse rouge possède une activité hématopoïétique, autrement dit la capacité de produire les différentes lignées de cellules sanguines (Fig.7).

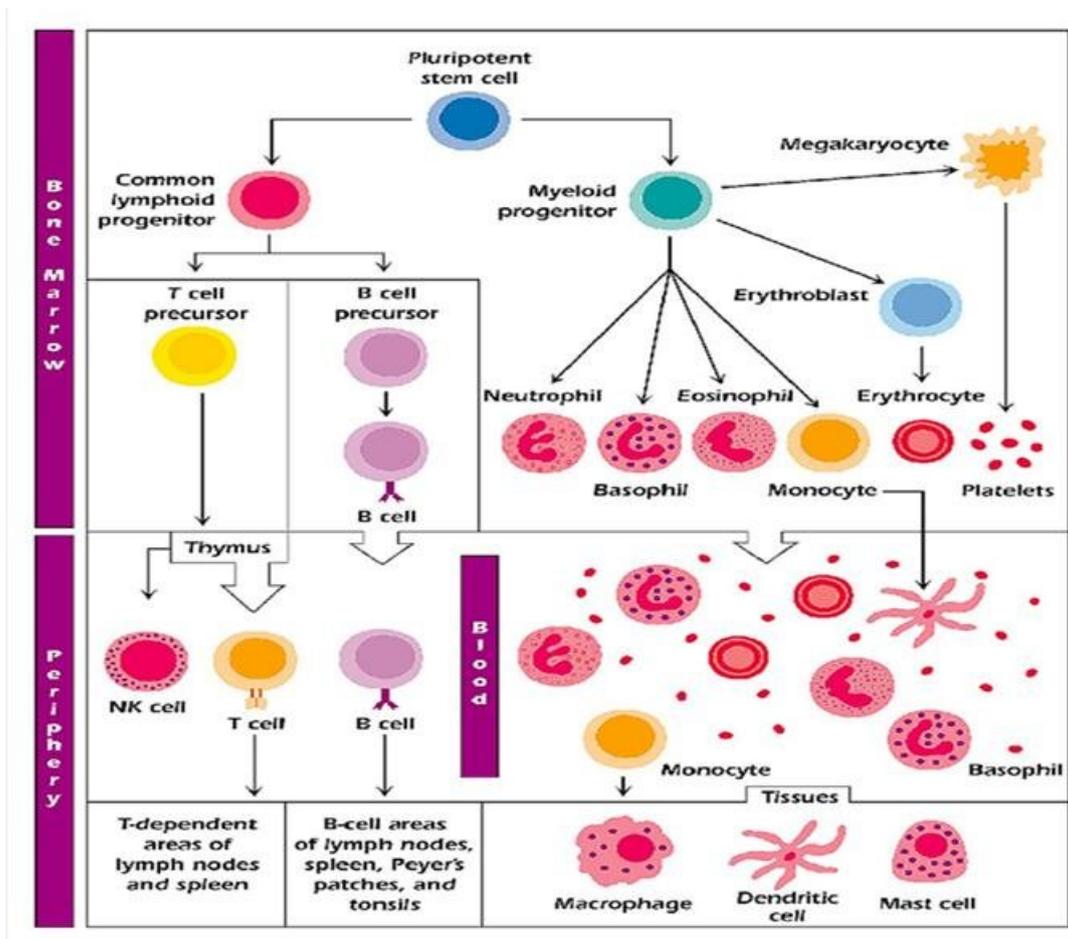


Figure.7 : Les lignées cellulaires produites à partir de la moelle osseuse (Richard coico *et* Geoffrey sunshine, 2015).

2.1.2-Le thymus :

● **Définition :**

Le thymus est un organe lymphatique central responsable de nombreuses fonctions immunologiques incluant la production de cellules T fonctionnelles matures et de l'induction de la tolérance au soi. Le besoin pour le thymus de générer un apport continu de cellules T décroît en avançant dans l'âge, mais le thymus continue à se comporter comme le site de la différenciation et de la maturation des cellules T durant toute la vie. Le thymus grandit, atteignant son poids maximum absolu à la puberté, puis l'involution thymique commence avec l'infiltration graisseuse de la glande (Marine Meunier *et al.*, 2012).

● **Anatomie:**

Le thymus est un organe situé derrière le sternum, dans le médiastin antérieur, au-dessus du cœur. Cette glande régresse à l'âge adulte.

Le thymus est constitué de deux lobes séparés par une cloison et entourés d'une capsule.

Chaque lobe est divisé en lobules par des travées conjonctives. Chaque lobule comprend trois zones (Fig .8) :

-Le cortex :

Est la zone la plus externe au niveau de laquelle se produit la sélection positive (acquisition de la tolérance au soi) des thymocytes. On y trouve surtout des cellules épithéliales, des thymocytes et quelques macrophages.

-La jonction cortico-médullaire :

Est le lieu d'entrée des progéniteurs qui viennent de la moelle et de sortie des cellules matures.

-La médulla :

Est la zone la plus interne au niveau de laquelle se produisent l'accumulation des cellules matures et la sélection négative. On y trouve des thymocytes, macrophages et des cellules dendritiques. La médulla donne l'impression d'être lobulée, et chacun de ces lobules est

centrée par un corpuscule de Hassall qui est une différenciation kératinisante des cellules épithéliales.

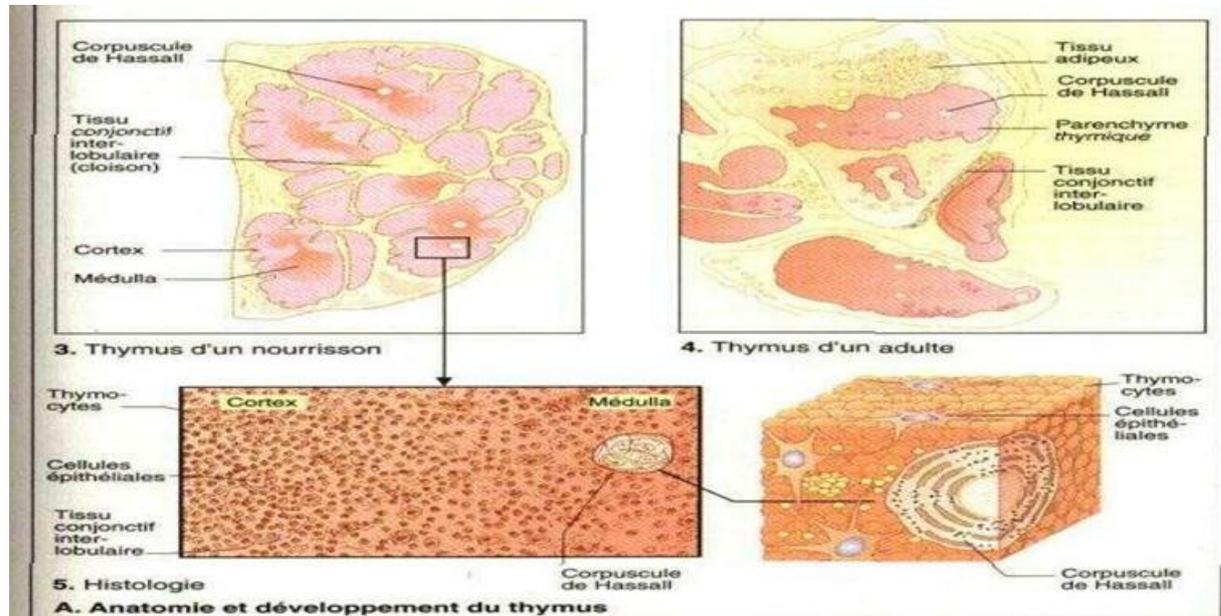


Figure .8 : l'anatomie thymique (Gerd Riidiger *et al.*, 2000)

● **Vascularisation :**

L'innervation du thymus est sympathique par le ganglion cervico-thoracique et parasympathique par le nerf vague.

Le thymus est vascularisé par l'artère trabéculaire (issue de l'artère thoracique interne) et par des branches de l'artère thyroïdienne inférieure. Il existe souvent des anastomoses entre les artères qui vascularisent la thyroïde et le thymus. Le drainage veineux s'effectue par les veines thyroïdiennes inférieures, thoracique interne et brachiocéphalique gauche. Les lymphatiques du thymus aboutissent aux nœuds des lymphocentres médiastinal antérieur transverse et thoracique interne.

● **Fonction :**

Le thymus est un organe lymphoïde primaire car spécialisé dans la maturation des lymphocytes dans lequel les cellules T d'origine médullaire subissent une différenciation cellulaire. Cette différenciation se fait par l'acquisition du récepteur des cellules T. Le récepteur des cellules T est une glycoprotéine membranaire formée d'une chaîne alpha et d'une chaîne bêta.

Les thymocytes les plus immatures n'ont ni récepteur des cellules T ni les corécepteurs CD4 et CD8, ils sont appelés « thymocytes double négatifs » (CD4⁻ et CD8⁻) et représentent 5 % des thymocytes. La maturation se fait par l'acquisition des antigènes CD4 et CD8 aboutissant aux thymocytes doubles positifs (CD4⁺ et CD8⁺) constituant 80 % des thymocytes.

Deux hormones thymiques principales contrôlent ces étapes de différenciation des pro-thymocytes :

-la thymopoïétine qui agit sur les cellules nourricières des pro-thymocytes

-la thymuline (facteur humoral thymique) qui stimule l'immunocompétence des lymphocytes T.

2.2-Les organes lymphoïdes secondaires (périphériques) :

2.2.1 La rate :

● *Définition :*

La rate est l'organe lymphoïde secondaire le plus volumineux de l'organisme (Abraham *et* Zenbaum, 2002). c'est l'organe hémolytique ou est assurée la destruction des hématies vieilles assurant la reconnaissance et la capture d'antigène circulant dans le sang et déclenchant la différenciation des cellules immunocompétentes (Grignon, 1996).

● *Anatomie :*

La rate est le plus volumineuse des organes lymphoïdes du corps, elle est située dans la partie supérieure gauche de la cavité abdominale (Steven *et* Lowe, 2006).

La rate est située dans une loge limitée par :

- La coupole diaphragmatique, en crânial, dorsal et latéral.
- Le rein gauche, en dorsal.
- L'estomac, en médial.

- Le colon transverse et surtout l'angle colique gauche, en caudal.
- Le grill costal, en ventral (Harouna *et al.*, 2001).

La rate est entourée d'une capsule conjonctif, elle possède une face externe convexe et une face interne concave centrée par un hile où arrive l'artère splénique et d'où sortent les veines et les Vaisseaux lymphatiques efférents (Junqueira *et al.*, 2001).

● **Vascularisation:**

La rate est entourée d'une capsule constituée d'un tissu conjonctif dense, irrégulier, comportant des fibres élastiques et musculaires lisse. Les vaisseaux sanguins (artères et veines trabéculaires) et les nerfs qui arrivent dans la pulpe rouge splénique ou en repartent, cheminent dans des travées émanant de la capsule. L'artère qui pénètre au niveau du hile donne naissance aux artères trabéculaires qui se répartissent dans la pulpe splénique le long des travées de tissu conjonctif. Lorsqu'une artère quitte la travée, elle s'entoure d'une gaine de cellules T formant un manchon lymphoïde péri-artériolaire (MLPA) et pénètre dans un nodule lymphoïde (pulpe blanche). Ce vaisseau sanguin est appelé artère centrale.

L'artère centrale quitte la pulpe blanche et devient une artère pénicillée, les artères Pénicillées se terminent dans des capillaires entourés d'une gaine de macrophages (Capillaire à housses) ces capillaires terminaux se drainent directement dans les sinusoides spléniques (circulation fermé) ou se terminent dans des vaisseaux dont l'extrémité s'ouvre dans la pulpe rouge (circulation ouverte).

Les sinusoides spléniques se drainent, par l'intermédiaire des veines Pulpaires, dans les veines trabéculaires, puis la veine splénique (Abrahamet Zenbaum, 2002)(Fig .9).

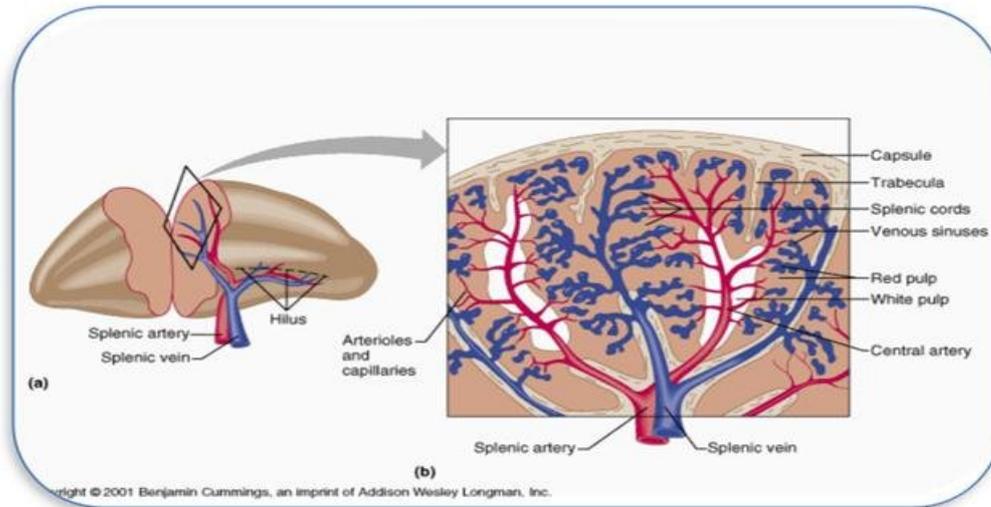


Figure .9 : La vascularisation de la rate (Legacy.owensboro.kctcs.edu)

Anatomie:

L'intérieur de la rate est occupé par la pulpe qui correspond au parenchyme de l'organe et qui se trouve immédiatement sous la capsule et entre les septa .La pulpe est divisée en deux régions : la pulpe rouge et la pulpe blanche (Abraham et Zenbaum.,2002).

-La pulpe rouge :

La pulpe rouge est un filtre du sang qui élimine de la circulation les globules rouge vieilliss et altérés ainsi que les microorganismes. Ces également un lieu de stockage de globules rouges (AbrahametZenbaum,2002)(Fig.10)

Elle contient de nombreux sinus veineux. Entre les sinus, la pulpe apparait sous forme de cordons cellulaires (cordons de Billroth) qui forme un réseau spongieux de tissus lymphoïdes (Maillet etChiarasini, 1985).

-Les sinus veineux :

Les sinus veineux sont bordés de cellules endothéliales très aplaties reposant sur une membrane basale discontinue, percée de fentes étroites au travers desquelles passent hématies comprimées .Des phagocytes sont intimement associés à la paroi de ces sinus (steven et lowe,2006).

-Les cordons de Billroth :

C'est un tissu conjonctif réticulé avec nombreuses fibres de réticuline formant un réseau entre les mailles duquel se trouvent des cellules conjonctives, des macrophages et surtout de très nombreuses Cellules sanguines (globules rouges) (Macé B, 2008).

-La pulpe blanche :

La pulpe blanche est le composant immunitaire de la rate. Les cellules qui la constituent sont analogues à celle du ganglion lymphatique, hormis le fait que les antigènes pénètrent dans la rate par l'intermédiaire du sang plutôt que de la lymphe (Abraham et Zenbaum, 2002)(Fig. 10).

-Le manchon lymphoïde :

Il est formé d'un amas de lymphocytes T disposés autour des artères centrales. Les manchons lymphoïdes péri-artériolaires, riches en cellules T, sont entourés d'une zone marginale riche en macrophages et en lymphocytes B à mémoire provenant du centre germinatif adjacent (Dellmann 1998 et Bacha, 2000).

-Les follicules lymphoïdes :

Accrochés sur les manchons, ils sont composés d'un centre germinatif clair correspondant à la zone de transformation des lymphocytes en plasmocytes et d'une couronne plus foncée où les lymphocytes prolifèrent (Macé B,2008).

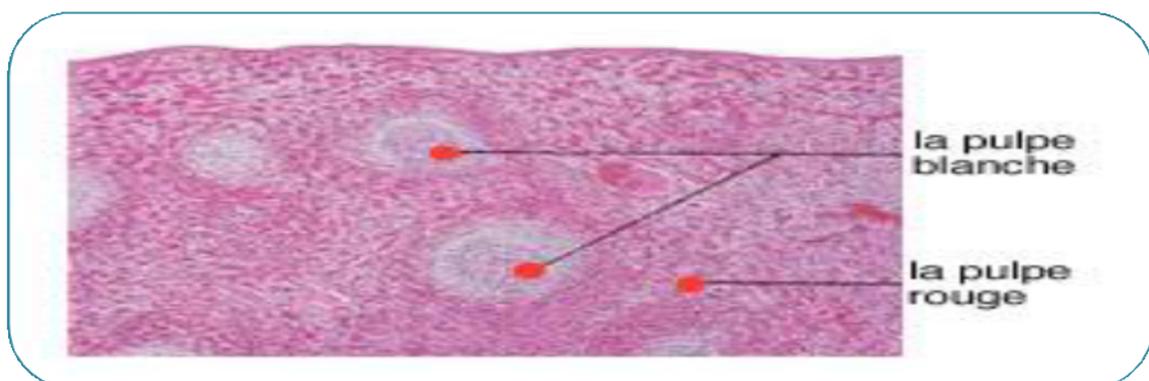


Figure. 10: Représentation microscopique des pulpes rouges et des pulpes blanches
(d'après : aubilab. bmed mcgill.c)

● *Fonctions :*

La rate joue un rôle de filtre, éliminant par ses macrophages les microorganismes et les antigènes de la circulation sanguine. Elle filtre également les érythrocytes vieillissants ou anormaux. Ce rôle de filtre est permis par le vaste réseau de fibres réticulées constellées de cellules réticulées et de macrophages (Jeurissen 1991 ; Dellmann *et al.*, 1998). La rate constitue en outre un site de développement de la réponse anticorps, particulièrement vis-à-vis des antigènes polysaccharidiques (bactéries) pénétrant par voie sanguine et fixés à la surface des cellules dendritiques folliculaires de la zone Périphérique (Revillar, 1995).

La rate constitue également un site de stockage des érythrocytes et des plaquettes, qu'elle peut libérer dans la circulation en cas de besoin. Elle est capable de séquestrer et de relarguer Jusqu'à 16% de la circulation sanguine totale, afin de soutenir la circulation générale. La rate est également un siège d'hématopoïèse extra médullaire (Heinen, 1990).

2.2.3-Les ganglions lymphatiques :

● *Définition :*

Les ganglions lymphatiques sont répartis dans tout l'organisme, le plus souvent groupés en aires ganglionnaires. Ils sont entourés d'une capsule fibreuse conjonctive, percée de vaisseaux lymphatiques efférents qui déversent la lymphe au niveau de sinus, au niveau desquels la lymphe traverse ensuite tout le ganglion pour finalement ressortir par les vaisseaux lymphatiques afférents au niveau du hile. Les vaisseaux lymphatiques afférents ont des valvules empêchant le retour de la lymphe du ganglion vers les lymphatiques (Fig. 11).

● *Anatomie :*

Les différentes parties du ganglion se distinguent les unes des autres par leur position dans le ganglion ainsi que par leur contenu cellulaire.

-Le cortex correspond à la partie la plus externe comportant les follicules lymphoïdes de deux types qui sont tous deux caractérisés par la présence de lymphocyte B :

-Les follicules lymphoïdes primaires sont des formations homogènes constituées d'une population uniforme en lymphocytes B et au niveau desquels on n'observe pas de réponse

immunitaire, mais une multiplication accrue de ces lymphocytes. En microscopie les follicules lymphoïdes primaires apparaissent sombres.

-Les follicules lymphoïdes secondaires correspondent à des follicules lymphoïdes primaires modifiés, présentant des centres germinatifs au niveau desquels la réaction immunitaire est en train de se produire. La stimulation antigénique est elle-même à l'origine de la croissance du follicule secondaire. En microscopie les centres germinatifs apparaissent clairs par rapport au reste du follicule qui est comparable au follicule primaire.

-Le paracortex correspond à des nappes lymphoïdes entourant le cortex et caractérisé par la présence de lymphocyte T, de cellules dendritiques ainsi que de veinules post-capillaires cubiques que l'on appelle HEV (Veinule à Endothélium Haut). C'est dans cette zone que les LT et LB passent du sang dans les ganglions, et c'est là que se produisent les interactions entre les LT et les cellules dendritiques, ainsi qu'entre les LT et les LB.

-La médulla est la partie la plus interne des ganglions, correspondant à des cordons médullaires et contenant surtout des macrophages, des plasmocytes et des LB mémoires.

Les différentes parties du ganglion : le cortex, le paracortex, et la médulla sont bordées par des sinus, on distingue les sinus sous-capsulaires directement localisés sous la capsule conjonctive, les sinus corticaux bordant latéralement le cortex, le paracortex et la médulla, et enfin les sinus médullaires situés dans la partie centrale du ganglion.

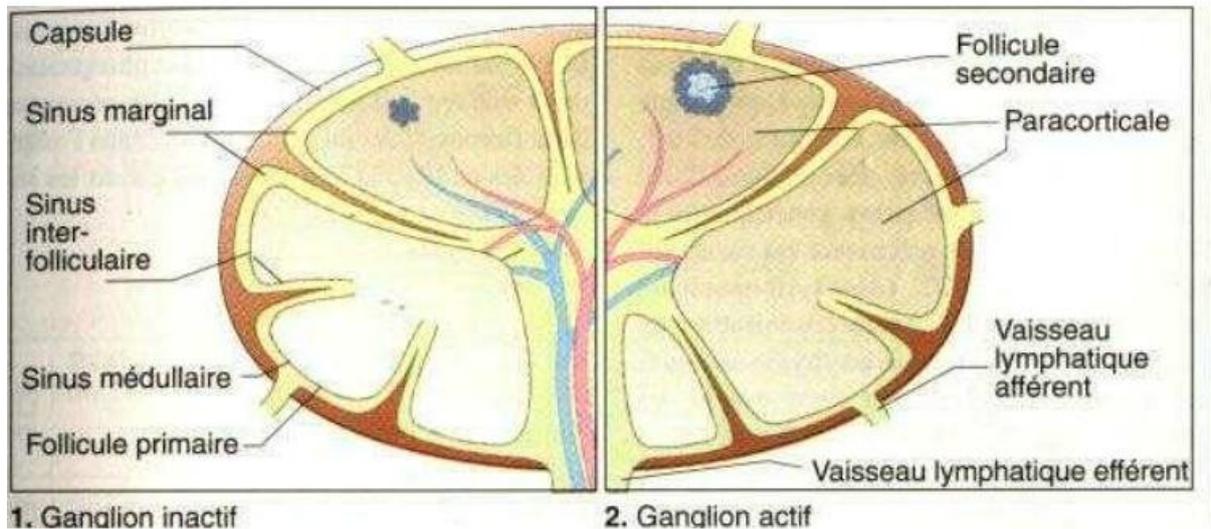


Figure. 11 : structure de ganglions lymphatique (Gerd-Riidiger *et al.*,2000).

● **Fonction :**

Les ganglions jouent un rôle principal dans la réponse immunitaire car ils sont le lieu de prolifération et de différenciation des cellules immunitaires, et également car ils jouent le rôle de filtre de la circulation lymphatique. Le filtre dépend de la charpente réticulaire dont les mailles arrêtent les éléments cellulaires : cellules cancéreuses, cellules présentatrice d'antigène (cellules dendritiques, macrophages, LB...).

2.2.4-Les amygdales :

Les amygdales (ou tonsilles) sont des formations lymphoïdes pairs, en forme d'amande, situés dans la gorge et jouant un rôle important dans les défenses immunitaires par leur localisation. En effet est sont situées à l'entrée des voies respiratoires sur le pourtour du pharynx.

On distingue plusieurs types d'amygdales, dont les plus volumineuses sont les amygdales palatines, les autres ayant des fonctions accessoires (amygdales linguales, amygdales pharyngiennes, amygdales vélopalatines, amygdales tubulaires). L'ensemble des amygdales constituent l'anneau de Waldeyer.

Les amygdales sont constituées de follicules lymphoïdes situés sous un épithélium multi-stratifié non kératinisé, qui va former des invaginations appelées cryptes. Les follicules lymphoïdes sont, comme au niveau des ganglions lymphatiques, des zones caractérisées par la présence de lymphocytes B et sont particulièrement présent au niveau des cryptes. Entre ces follicules on observe des nappes diffuses de lymphocytes T.

2.2.5-Les plaques de Peyer :

Les plaques de Peyer correspondent à des agrégats de follicules lymphoïdes primaires et follicules lymphoïdes secondaires présent au niveau de la paroi intestinale dans la partie terminale de l'intestin grêle. A la surface de l'intestin on observe la présence de villosités qui cessent en regard des follicules au niveau des plaques de Peyer. Ces follicules sont caractérisés par la présence de lymphocytes B. Les lymphocytes T sont situés de manière plus diffuse à la périphérie des follicules.

La plaque de Peyer possède dans sa partie la plus centrale un dôme qui est caractérisée par la présence de cellules dites « cellules M ». Ces cellules caractéristiques forment une cavité intra-épithéliale où se logent différents types de cellules du système immunitaire responsables des défenses mises en place à ce niveau-là : macrophages, cellules présentatrices d'antigènes, lymphocytes.

1-Biochimie de l'homocystéine :

1.1- Définition:

L'homocystéine est un acide aminé soufré dérivé de la cystéine, n'entrant pas dans la synthèse des Protéines. Elle est synthétisée à partir de la méthionine apportée par l'alimentation dans toutes les cellules de l'organisme (Akchiche,2009).

1.2- Structure de l'homocystéine(Fig. 12) :

-Formule chimique : C₄H₉NO₂S

-Masse molaire : 135.186g /mol (Règis, 2009).

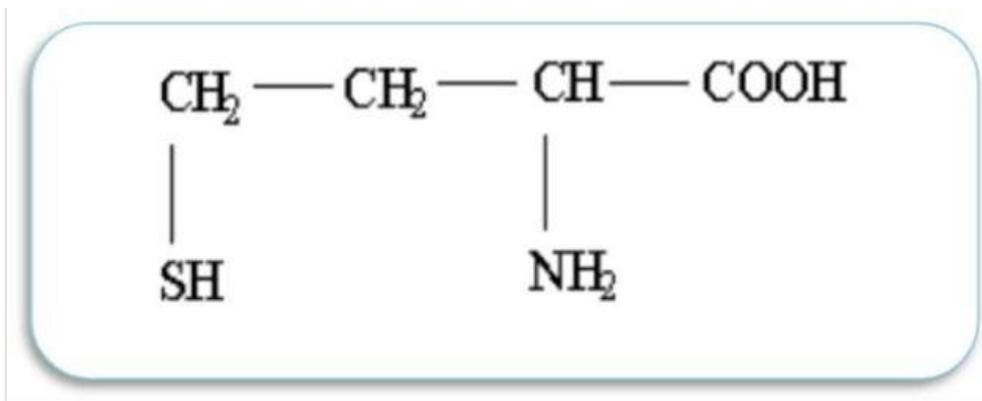


Figure. 12 : structure de l'homocystéine (Levasseur R, 2009).

1.3-Metabolisme de l'homocystéine :

Le catabolisme de l'homocystéine se produit essentiellement dans le foie et les reins par deux voies :La voie de la tansulfuration et la voie de la reméthylation(Smachetal., 2013) (Fig.13).

1.3.1- La voie de la tansulfuration :

Quand la méthionine est en excès, l'Hcy est dirigée vers la voie de la tansulfuration où elle est métabolisée en cystathionine, puis en cystéine avant son élimination(Hélène Lelongetal.,2012).

Cette voie est amorcée de manière irréversible par la Cystathionine beta synthase (CBS), une enzyme cytosolique, PLP –dépendante (phosphate de pyridoxal, dérivé de la vitamine B6) (Smachetal., 2013) .

1.3.2- La voie de la reméthylation :

En cas de balance négative en méthionine, l'homocystéine est métabolisée vers la voie de la reméthylation qui utilise les enzymes méthionine synthase et méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) ; avec, à nouveau, plusieurs vitamines B agissant en tant que cofacteurs, notamment la cobalamine (vitamine B12), le 5-méthyl-tétrahydrofolate (la forme principale de l'acide folique), agissant en qualité de donneur du groupe méthyl, la riboflavine (vitamine B2), ainsi que la vitamine B6 une voie additionnelle de reméthylation prend acte surtout dans le foie et la réaction est catalysée par l'enzymeBHMT (Hélène Lelong *et al.*, 2012).

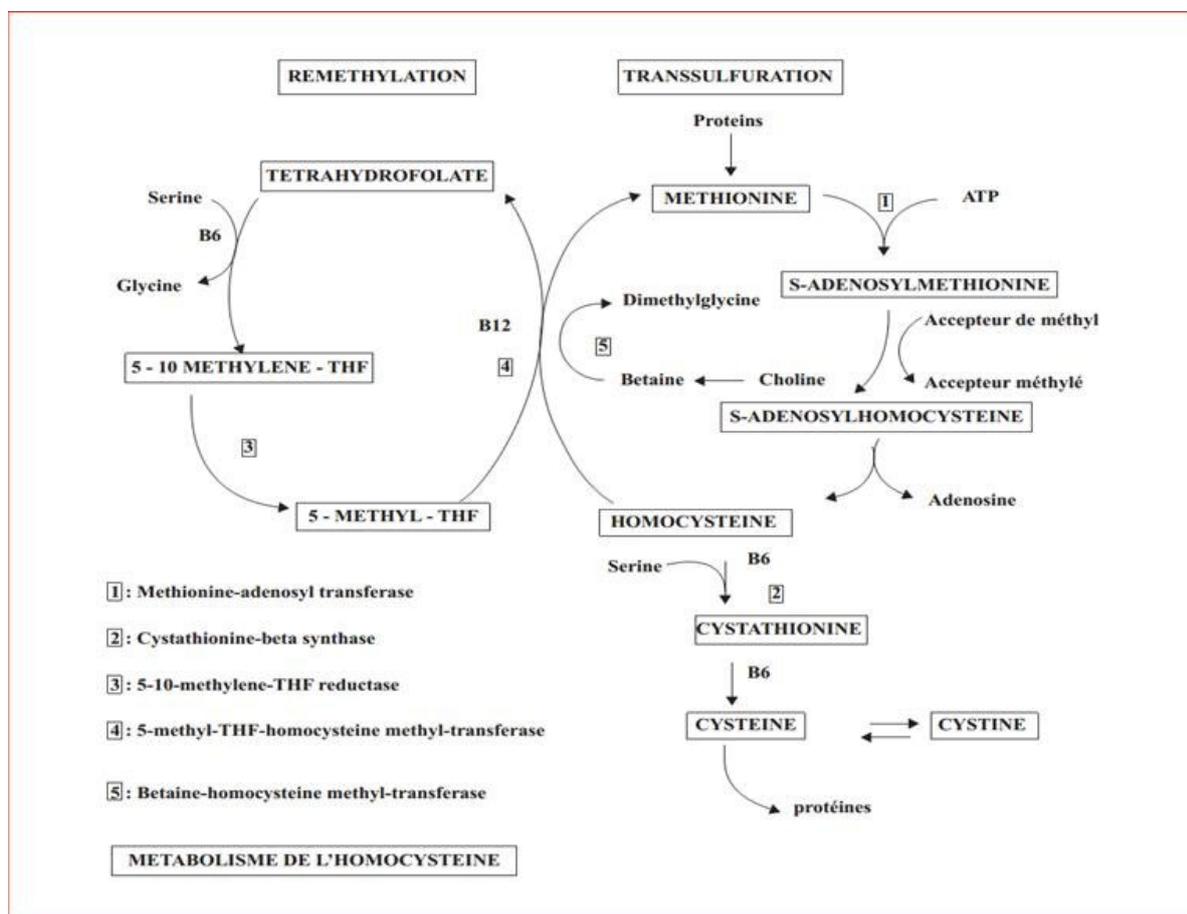


Figure.13 : métabolisme de l'homocystéine (Hélène Lelong *et al.*, 2012).

1.4-les différentes formes physiologiques d'homocystéine circulante :

L'Hcy circule dans le plasma sous deux formes :

- **L'Hcy liée aux protéines** : par l'intermédiaire de ponts disulfures réversibles ou de ponts peptidiques, représente 75 % à 80 % de l'Hcy plasmatique totale.
- **L'Hcy libre** : existe sous deux formes ; une forme libre oxydée, majoritaire, et une forme libre réduite, correspondant à l'Hcy proprement dite. La forme libre oxydée est principalement représentée par le disulfide homocystéine-homocystéine (homocystéine), par des disulfides mixtes (tels que le disulfide homocystéine-cystéine) et par l'homocystéine thiolactone.

L'homocystéine totale (Hcy-t) est donc la somme de toutes les formes d'homocystéine qui existent dans le plasma ou le sérum (Fig. 14) (Demuth K *et al.*, 2000).

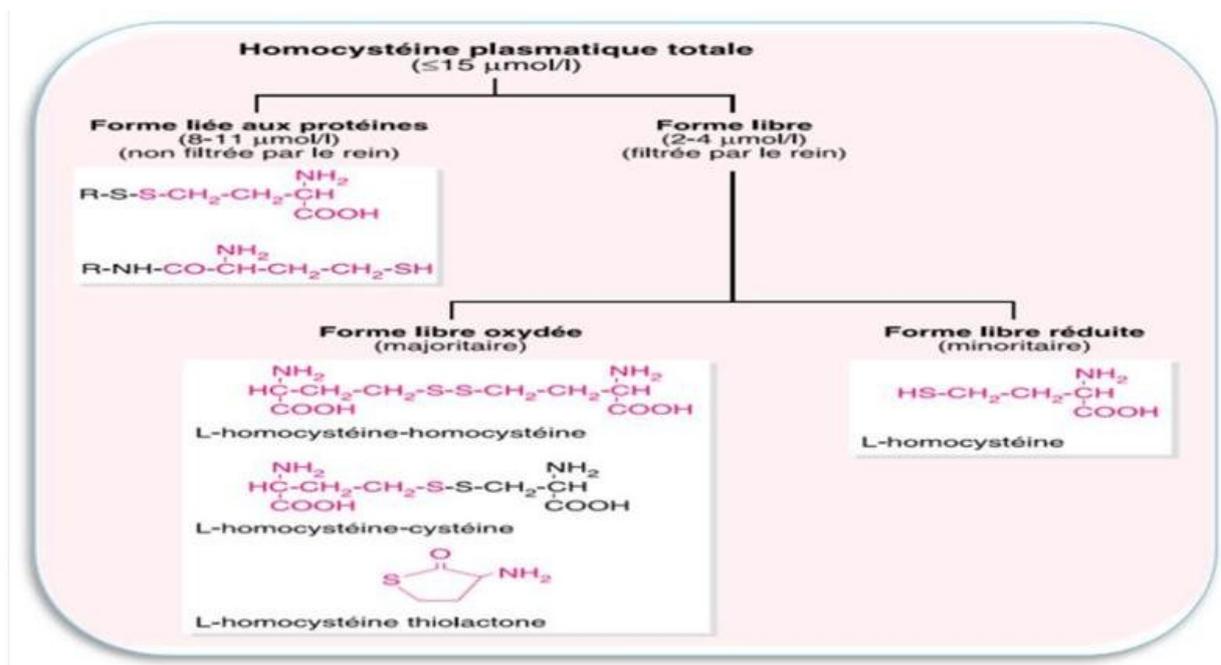


Figure. 14 : Les différentes formes physiologiques d'homocystéine circulante (Demuth K *et al.*, 2000)

1.5- Les valeurs physiologiques de l'homocystéine :

Les valeurs normales d'Hcy varient légèrement entre les différents laboratoires et suivant les techniques utilisées. Sur la base des travaux menés, la gamme de la concentration totale en Hcy dans le plasma des adultes en bonne santé est de 5 à 15 μmol .

Chez les personnes de plus de 60 ans, elle doit être inférieure à 20 $\mu\text{mol/L}$. Chez les femmes enceintes et les enfants, la limite est ramenée à 10 $\mu\text{mol/L}$.

En raison de la répartition de l'Hcy seuls 20% de l'Hcy-t (correspondant à la forme libre) pourront être filtrés par le rein et catabolisés par les cellules tubulaires. Au final, l'excrétion urinaire d'Hcy est très faible, de l'ordre de 3,5 à 10 $\mu\text{mol}/24\text{h}$ (PICARD V,2009).

2-Physiopathologie del'hyperhomocystéinémie:

2.1-Définition de l'hyperhomocystéinémie:

L'hyperhomocystéinémie (HH) signifie l'élévation du taux d'Hcy total dans le sang au-delà de 15 $\mu\text{mol/l}$ (Refsum *et al.*, 1998) due à une perturbation dans le métabolisme de l'Hcy causée par des facteurs génétiques, nutritionnels ou environnementaux(Descheemaeker *et al.*, 1999).

2.2- Classification de l'hyperhomocystéinémie :

L' hyperhomocystéinémie à jeun est classée en trois catégories :

● **Modérée (16-30 $\mu\text{mol/L}$) :**

Est observée à jeun soit du fait de la mutation du gène codant pour la MTHFR soit à cause d'une altération du statut vitaminique B9 ou B12(De jaeger *c et al.*,2010).

● **Intermédiaire(31-100 $\mu\text{mol/L}$) :**

Est observée à jeun soit du fait de la mutation du gène codant pour la MTHFR soit à cause d'une altération du statut vitaminique B9 ou B12.

● **Sévère (>100 $\mu\text{mol/L}$) :**

Est généralement engendrée par un déficit congénital en CBS (De jaeger *et al.*, 2010).

2.3-Facteurs favorisant l'hyperhomocystéinémie (HH) :

2.3.1-Les facteurs environnementaux :

Les facteurs environnementaux principaux qui contribuent à une hyperhomocystéinémie modérée, incluent l'âge, le sexe, la mauvaise hygiène de vie telle que la consommation chronique du café, d'alcool, et du tabac, la prise de certains médicaments et différentes conditions pathologiques.

● *Âge et sexe :*

Les personnes âgées ont de taux plus élevé d'Hcy. Dans ce groupe d'âge, le statut vitaminique a une influence majeure, et ainsi les hommes ont une Hcy plus élevée que les femmes avant la ménopause, (Lussier Cacan *et al.*, 1996 *et* De Bree *et al.*, 2001) cela est dû à une plus grande masse musculaire ou aux effets sur les hormones sexuelles (Giltay *et al.*, 1998)

● *Habitudes de vie toxique :*

-Le café :

La consommation de café est positivement corrélée avec les concentrations en Hcy chez les hommes et les femmes dans la majorité des études ,La caféine est un facteur qui élève les concentrations en tHcy car elle inhibe la conversion de l'Hcy en cystéine en agissant comme antagoniste de la B6.De plus, l'étude d'Olthof *et al* (Olthof M.R *et al.*, 2001) a montré que l'acide chlorogénique, un polyphénol présent dans le café en même proportion que la caféine, est responsable de l'augmentation des concentrations de tHcy. En effet, pour être métabolisé, les polyphénols nécessitent les groupements méthyl de la méthionine ce qui entraîne la formation excessive d'Hcy. La caféine et l'acide chlorogénique sont également présents dans le thé mais à faibles doses ce qui explique l'absence d'une association positive entre l'Hcy et la consommation de thé (Janaki S, 2015).

-L'alcool :

une hyperhomocystéinémie chez les sujets alcoolodépendants a été décrite pour la première fois par Hulberg. Elle serait due à une altération du métabolisme de l'homocystéine par l'alcool. En effet, l'alcool engendre une réduction significative de l'activité de la MS suivie d'une augmentation de l'activité de la BHMT (Smachet *al.*, 2013).

-Le tabac :

Le tabagisme est positivement corrélé avec les concentrations de tHcy (Koehler *et al.*, 2001).

■ Conditions pathologiques :

Diverses pathologies peuvent entraîner une augmentation, à un degré variable, de l'homocystéine plasmatique. Une hyperhomocystéinémie intermédiaire ou sévère peut être observée dans les conditions pathologiques suivantes : hypothyroïdie, affections inflammatoires (notamment intestinales), arthrite rhumatoïde, le psoriasis, le diabète de type II, les maladies lymphoprolifératives et certains cancers (sein, ovaire, pancréas) (Smachet *et al.*, 2013).

-Insuffisance rénale :

L'insuffisance rénale est une autre étiologie fréquente d'une augmentation de l'homocystéine, qui peut alors s'élever jusqu'à trois ou quatre fois les valeurs normales (Smachet *al.*, 2013).

-Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) :

L'hyperhomocystéinémie pourrait jouer un rôle direct dans la pathogénie des MICI en favorisant le maintien d'une inflammation chronique muqueuse par le biais notamment d'un stress oxydatif et d'une augmentation de la production de cytokines proinflammatoires comme le TNF alpha (Peyrin-Biroulet *et al.*, 2007).

-Arthrite rhumatoïde :

La polyarthrite rhumatoïde est un rhumatisme inflammatoire chronique dont la principale complication est une athéromatose responsable d'une morbidité cardiovasculaire élevée. Plusieurs facteurs sont incriminés, parmi lesquels l'hyperhomocystéinémie (El Bouchti *et al.*, 2008).

-Cancers :

L'hypométhylation de l'ADN serait une « caractéristique » des cancers, or le génotype MTHFR C677T (TT) « protecteur de certains cancers » s'associe chez l'homme à une hypométhylation de l'ADN génomique des leucocytes. Les cellules cancéreuses présentent une anomalie fréquente du métabolisme de la méthionine dénommée méthionine-dépendance. Ces cellules sont incapables de proliférer dans un milieu où la méthionine est remplacée par l'Hcy, alors que les cellules normales peuvent dans ces conditions réaliser une synthèse endogène de méthionine à partir d'Hcy (Blom *HJetal.*, 2001). Les cellules cancéreuses présentent un déséquilibre entre consommation et formation de méthionine :

- a. une transméthylation S-adénosylméthionine-dépendante accrue ;
- b. une reméthylation réduite du fait d'un déficit relatif en méthylcobalamine, cofacteur de la MS .
- c. une exportation vers le milieu extracellulaire d'Hcy. La carence en méthionine provoquée sur des tumeurs méthionine- dépendantes permet d'obtenir un effet antitumoral potentialisé par des analogues de la méthionine et peut sensibiliser des tumeurs réfractaires à la chimiothérapie (Refsum *Het al.*, 1999) .

● Hormones :

Les hormones stéroïdes ou peptidiques peuvent influencer l'homocystéinémie plasmatique.

De ce fait, l'excès ou l'insuffisance de sécrétion de certaines hormones peuvent agir soit directement sur la voie de la transsulfuration ou de la reméthylation, soit indirectement (Catargi *G etal.*, 2000).

En effet, le statut hormonal modifie fréquemment d'autres acteurs importants intervenant dans le métabolisme de l'Hcy et principalement la fonction rénale, l'acide folique ou la vitamine B12.

L'observation de valeurs moyennes plus élevées chez l'homme et chez la femme ménopausée par rapport à la femme non ménopausée a suggéré la notion que les stéroïdes sexuels soient des facteurs de variation physiologiques de l'Hcy plasmatique. Après la ménopause, le taux

d'Hcy augmente pour atteindre des niveaux similaires à ceux des hommes d'âge égal (Catargi *Getal.*,2000).

Inversement, la très nette diminution (de plus de 60%) de l'Hcy durant la gestation a été un argument fort en faveur de la modulation de l'Hcy par les stéroïdes circulants (Anderson A *et al.*,1992)

La diminution de l'Hcy durant la grossesse, attribuée à l'élévation des stéroïdes sexuels, semble en fait principalement due à l'augmentation du cortisol. Le cortisol favorise la reméthylation de l'Hcy en augmentant de 300% l'activité de la BHMT hépatique (Finkelstein J.D *etal.*, 1971).

Produits pharmaceutiques :

L'hyperhomocystéinémie modérée peut être liée à la prise de certains médicaments, comme c'est le cas par exemple de la prise de Méthotrexate, de Carbamazépine qui interfèrent avec le métabolisme des folates, le monoxyde d'azote, qui inactive la vitamine B12, ou l'Azaribine qui empêche l'activité de la CBS (Smach *et al.*, 2013).

2.3.2-Les facteurs nutritionnels:

Les déterminants nutritionnels de l'homocystéine les plus couramment cités sont les folates, la vitamine B12, la vitamine B6, la choline et moins souvent la vitamine B2. (Smach *et al.*, 2013).

Dans environ 2/3 des cas, une HH est due à un déficit vitaminique marginal, surtout chez les personnes âgées, dans l'étude de Framingham , portant sur 855 sujets âgés consommant fréquemment des céréales, fruits et légumes, les taux sériques élevés de folates sont associés à une homocystéinémie abaissée(Fayol V,2000).

Les folates ou vitamine B9 :

Les folates font partie des vitamines du groupe B et interviennent dans le métabolisme des mono carbonés, principalement dans les synthèses des purines et pyrimidines, et donc de l'ADN, ainsi que dans la reméthylation de l'homocystéine en méthionine source directe de S-adenosyl méthionine, le donneur universel de groupements méthyl dans les réactions de transméthylation un déficit en folates, par carence d'apport ou en rapport avec des polymorphismes nucléotidiques sont traduit par une diminution de la synthèse et de la réparation de l'ADN, par une hypométhylation de l'ADN et d'autres molécules, ainsi que par une accumulation d'homocystéine (Forges *Tet al.*, 2008).

● La vitamine B6 :

La vitamine B6 existe sous forme de pyridoxine (alcool), de pyridoxal (aldéhyde), de pyridoxamine (amine) et de leurs dérivés phosphorylés. La principale forme biologiquement active est le pyridoxal phosphate qui joue le rôle de cofacteur dans de nombreuses réactions enzymatiques concernant les acides aminés.

Le pyridoxal phosphate joue le rôle de coenzyme dans la transformation de l'homocystéine en cystathionine sous l'influence de la cystathionine β -synthase et dans la transformation de la cystathionine en cystéine sous l'influence de la cystathionase.

● La vitamine B12 :

La vitamine B12, ou cobalamine, est issue des aliments d'origine animale (viandes, œufs, laitages, poissons). Les besoins journaliers chez l'adulte sont de 2,4g/j. la vitamine B12 joue un rôle principal dans l'organisme, en agissant comme cofacteur, avec la pyridoxine (B6) et l'acide folique (B9), pour la conversion de l'homocystéine en méthionine (Guillaume Le Guenno *et al.*, 2014).

La B12, libérée des protéines alimentaires via l'acidité gastrique et la pepsine, est liée à haptocorrine dans l'estomac (l'haptocorrine correspond aux molécules anciennement dénommées transcobalamines de type I, III ou R-binder). Dans le duodénum, les protéases pancréatiques digèrent l'Hc, libérant la vitamine B12 qui se lie au facteur intrinsèque synthétisé par les cellules pariétales du fundus. Le complexe FI-B12 se lie à un récepteur spécifique de l'iléon distal (la cubiline) et est internalisé puis transporté dans le sang par l'Hc et la transcobalamine de type II (TC II). Celle-ci ne transporte que 20 à 30 % des cobalamines circulantes, la fraction liée aux cobalamines circulantes étant désignée holo-TC II (Guillaume Le Guenno *et al.*, 2014).

2.3.3- Les farceurs génétiques :

Les hyperhomocystéinémies d'origine génétique sont les plus sévères.

● Altération de la voie de transsulfuration :

Une des altérations classiques du métabolisme de l'homocystéine est l'altération de la voie de transsulfuration engendrée par un déficit congénital en CBS (Gène de la cystathionine β -synthase CBS). Ce déficit, à transmission autosomique récessive, conduit chez les individus homozygotes à une homocystinurie importante accompagnée d'une élévation anormale de la concentration plasmatique en homocystéine et en méthionine (Philippe Durand *et al.*, 1998).

● Altération de la voie de reméthylation :

Il existe également des formes rares d'homocystinurie qui sont le résultat de perturbations de la voie de reméthylation. Elles sont secondaires soit à un défaut d'activité de la MTHFR (mutation affectant le Gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase) conduisant à une hyperhomocystéinémie sévère associée à une réduction de la concentration plasmatique en méthionine, soit à une déficience fonctionnelle en méthionine synthase (mutations affectant le gène de méthionine synthase MS) due aux altérations génétiques du métabolisme de la cobalamine responsables d'une hyperhomocystéinémie intermédiaire associée à une hypométhioninémie (Durand *et al.*, 1998).

3-Mécanisme de la pathogénicité de l'hyperhomocystéinémie :

Plusieurs études ont démontré que l'accumulation de l'Hcy dans le sang altère l'endothélium vasculaire par un processus inflammatoire secondaire à l'oxydation des petites particules de LDLc ; l'induction d'un stress oxydatif local par production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et l'inhibition de la NO synthase (Otmane, 2007).

3.1- L'intervention du stress oxydatif :

L'Hcy, bien que disposant d'un groupement thiol réducteur, possède paradoxalement des propriétés pro-oxydantes. L'oxydation de l'Hcy en homocystine libère du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (Fig. 15).

Le groupement thiol de l'Hcy se lie aussi aux ions ferreux ou cuivreux pour former des ERO (Smach *et al.*, 2013).

Les radicaux libres oxygénés (H₂O₂•, peroxynitrite) provenant de l'oxydation de l'Hcy peuvent entraîner des lésions au sein de l'ADN et altérer le message génétique, ils peuvent aussi modifier la structure primaire, secondaire et tertiaire des protéines entraînant la dépolymérisation de protéines comme le collagène ou l'élastine (Gris et Giet, 2006).

L'Hcy, par le biais des ERO, provoque l'oxydation des lipoprotéines LDL, favorisant leur internalisation par les récepteurs scavengers ; situés à la surface des CML et des macrophages (Guilland *et al.*, 2003 ; Cacoubet *et al.*, 2007).

De plus, l'Hcy sensibilise les cellules au stress oxydatif en diminuant l'expression de la production de peroxyde d'hydrogène par oxydation de l'Hcy de nombreuses enzymes anti-oxydantes dont la glutathion peroxydase (GPx) et l'hème oxygénase -1 (HO-1) (Koutroubakis *et al.*, 2004).

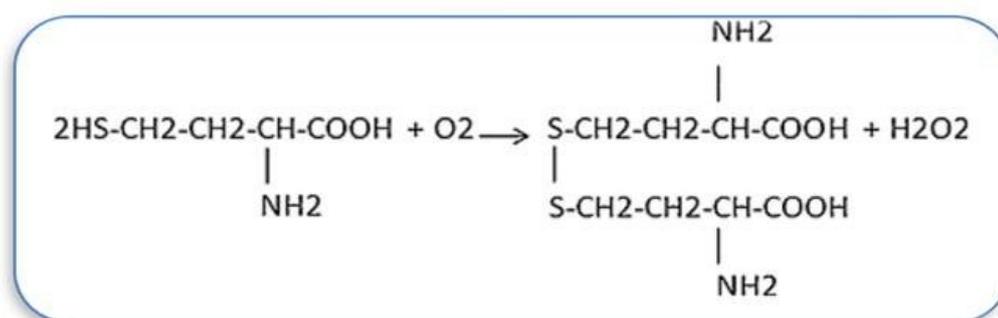


Figure. 15 : Production de peroxyde d'hydrogène par oxydation de l'Hcy (Smach *et al.*, 2013).

3.2- Diminution de la production de NO et dysfonction endothélial :

Le monoxyde d'azote (NO) joue un rôle primordial dans la régulation de la pression sanguine et de la motilité microvasculaire. Il inhibe l'agrégation plaquettaire et l'adhésion des globules blancs sur les parois des vaisseaux, réduisant ainsi le risque de formation du thrombus (Smach *et al.*, 2013). L'Hcy altère la production et/ou la biodisponibilité des médiateurs vasoactifs endothéliaux tels que la prostacycline, l'endothéline-1 (ET-1) et le NO (Drunat *et al.*, 2001).

Les ERO impliquées dans les phénomènes d'apoptose, la prolifération des CML, l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales et l'agrégation plaquettaire (Smach *et al.*, 2013).

4-Actions physiopathologiques de l'hyperhomocystéinémie.

4-1-Atteintes cardiovasculaires :

Le cœur dépend de sa propre vascularisation via les artères coronaires, dans l'insuffisance coronarienne, des atteintes d'une ou plusieurs artères coronaires diminuent le débit sanguin vers le cœur (ischémie). Il peut en résulter des lésions du myocarde concerné et, si l'atteinte est suffisamment sévère, une mort de la partie du cœur en cause : c'est l'infarctus du myocarde ou attaque cardiaque.

Les divers effets pro athéromateux de l'hyperhomocystéinémie sont les principales causes de l'insuffisance coronarienne et l'infarctus du myocarde (Eric *et al.*, 2013).

4.2-Atteintes cérébrovasculaire :

L'athérosclérose est un facteur de risque significatif pour la démence vasculaire, parce qu'elle interfère avec la circulation sanguine cérébrale et peut entraîner des accidents vasculaires cérébraux. Le risque d'être atteint d'une démence d'origine vasculaire ou de la maladie d'Alzheimer est augmenté chez les patients qui ont fait un AVC ou qui présentent des altérations vasculaires (Smach *et al.*, 2013).

Partant de ces observations, les auteurs d'un article publié dans le New England Journal of Medicine se sont demandés si une augmentation de la concentration plasmatique en homocystéine pouvait être un facteur de risque propre de la démence et de la maladie d'Alzheimer (Smach *et al.*, 2013).

4.3-stéatose hépatique :

4.3.1-définition :

La stéatose hépatique est caractérisée par une accumulation de triglycérides dans les hépatocytes (BAÉZA *et al.*, 2013).

4.3.2-Lien entre HH et stéatose hépatique (données expérimentales) :

. Les souris invalidées en cystathionine synthétase ont une stéatose hépatique sévère de type microvésiculaire .Les souris déficitaires en MAT 1 ont une stéatohépatite avec risque accru de carcinome hépatocellulaire .Enfin, les souris KO pour le gène MTHFR ont une hyperhomocystéinémie avec élévation, au niveau hépatique, de S adenosyl homocystéine et baisse de S adenosylmethionine. Ces souris ont toutes une stéatose hépatique sévère. Insi toute anomalie enzymatique du métabolisme de l'homocystéine responsable d'hyperhomocystéinémie est associé au minimum à une stéatose hépatique de type microvésiculaire (Xavier ROBLIN *et al.*, 2007).

1. Athérogenèse:

1.1-Définition :

L'athérogenèse est un processus multifactoriel qui conduit à la lente constitution de lésions d'athérosclérose focalisées le plus souvent sous forme de plaques dont la stabilité anatomique peut être extrêmement variable (Monnier *et al.*, 1999).

L'athérosclérose elle-même est une maladie artérielle caractérisée par un épaississement de la partie de la paroi artérielle la plus proche de la lumière (Eric *et al.*, 2013).

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) définit l'athérosclérose comme « une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyens calibres consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires. Le tout s'accompagne d'une modification de la média » (Jean-Louis Paul *et al.*, 2009).

1.2-l'anatomie des vaisseaux sanguins :

Les vaisseaux sanguins sont les structures anatomiques responsables du transport du sang dans l'organisme. On distingue deux réseaux principaux soit les veines, qui transportent le sang vers le cœur, et les artères qui transportent le sang du cœur vers les organes.

En coupe transversale, un vaisseau présente de l'extérieur vers l'intérieur trois principales couches :

● *L'adventice (tunique externe) :*

Est une enveloppe conjonctive peu organisée contenant les éléments nerveux du vaisseau. Dans les vaisseaux de plus gros calibre, l'adventice contient des petits vaisseaux que l'on appelle vasa vasorum permettant son irrigation.

● *La média (tunique moyenne) :*

Est composée de tissu musculaire lisse, de collagène et d'élastine qui contrôle le diamètre vasculaire et joue ainsi un rôle dans le maintien de la pression artérielle.

● *L'intima (tunique interne) :*

Est une membrane élastique composée de fines fibres de tissu conjonctif ainsi que d'une couche de cellules endothéliales formant l'endothélium. Ces cellules sont plates et

polarisées; la face apicale est en contact avec la lumière du vaisseau alors que la face basale est fixée sur une lame basale collagénique synthétisée par l'endothélium. Il s'agit d'un tissu pouvant résister à de fortes sollicitations mécaniques, mais qui est perméable aux substances dissoutes de petites tailles et à l'eau. Les cellules telles que les globules rouges ne peuvent pas le traverser mais les leucocytes, très déformables, le peuvent.(Léoni,2001).

Ces trois couches se retrouvent autant dans les veines que dans les artères mais les couches sont plus minces et moins élastiques dans une veine. Ainsi,une artère est plus élastique et possède un média beaucoup plus important puisqu'elle doit être en mesure de recevoir la pleine intensité de la pression systolique venant du cœur(fig. 16) .

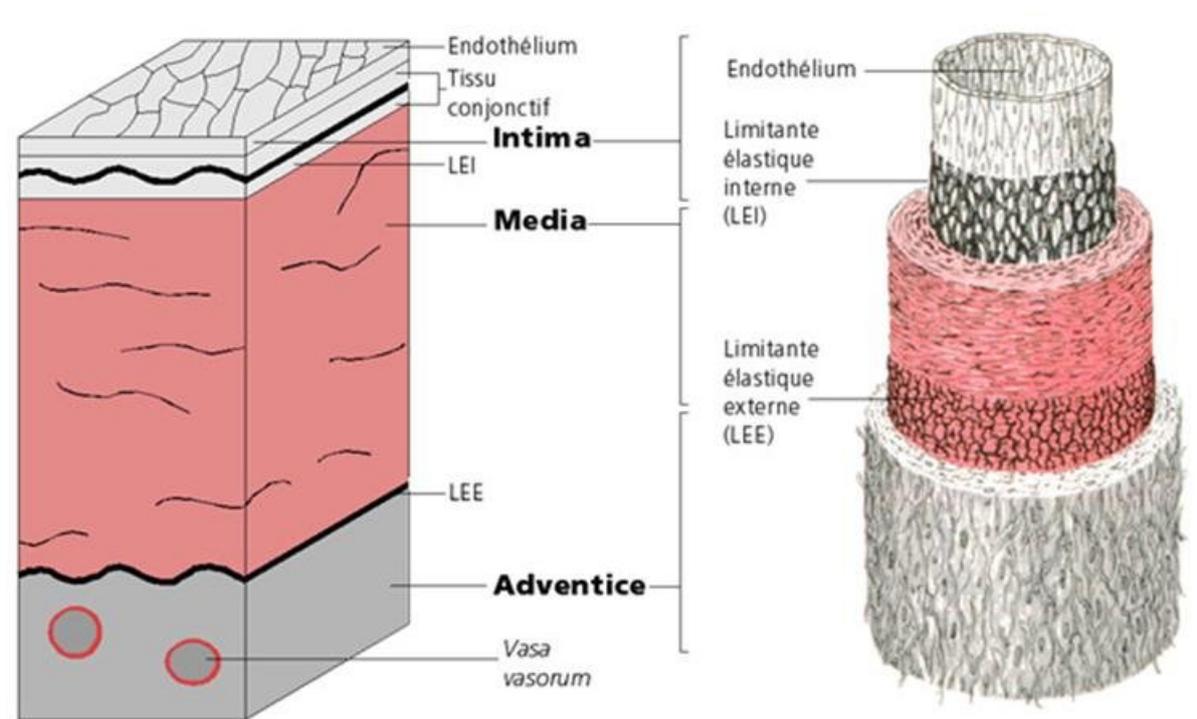


Figure. 16 : Structure de la paroi artérielle (Léoni, 2001)

1.3- Les facteurs de risque :

1.3.1-L'hyperlipidémie :

Un niveau sanguin élevé en LDL (lipoprotéines athérogènes et bas en HDL (lipoprotéines antiathérogènes ou cardioprotectrices) favorise ainsi le développement de l'athérosclérose; les LDL en excès s'accumulent très rapidement à la paroi vasculaire et leur oxydation contribue à la formation de cellules spumeuses responsables du développement des lésions athérosclérotiques (Morozova S *et al.*, 2004). Une réduction du cholestérol sanguin permet donc d'éviter un développement précoce de la maladie.

● *Lipides et lipoprotéines :*

-Cholestérol(CH) :

Le CH est un constituant important des membranes cellulaires et un précurseur biochimique des sels biliaires, des hormones stéroïdes et de la vitamine D. Il fait partie des régimes normaux et est également synthétisé *de novo* dans le foie et transporté à toutes les parties du corps via le sang, principalement sous forme d'esters d'acides gras.

-Triglycérides(TG) :

Les TG sont des esters composés de glycérol lié à trois chaînes d'acides gras. Ils forment environ 95% des tissus adipeux du corps et constituent une importante source d'énergie dans le muscle.

-Lipoprotéines :

Puisque le CH et les TG (endogènes ou provenant de l'alimentation) sont hydrophobes, ils ont besoin d'être véhiculés sous forme de complexes protéiques solubles dans le plasma. Ces complexes s'appellent des lipoprotéines.

Les lipoprotéines sont constituées d'un noyau de TG et d'esters de CH entouré d'une mince couche de protéines, de CH libre et de phospholipides. Ces phospholipides sont arrangés de façon à avoir la portion polaire (phosphate) en contact avec le plasma aqueux et la portion non polaire en contact avec l'intérieur (TG et esters de CH). Les constituants protéiques des lipoprotéines (appelés apolipoprotéines [Apo]) sont également arrangés avec la portion polaire vers l'extérieur et celle non polaire vers l'intérieur.

Les lipoprotéines sont classées comme suit : chylomicrons, lipoprotéines de très faible densité (VLDL), lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), lipoprotéines de faible densité (LDL), lipoprotéines de haute densité (HDL) (Ginsberg et Goldberg, 1998 ; Havel et Kane, 1995).

-Les apolipoprotéines(Apo) :

Les Apo procurent une stabilité structurale aux lipoprotéines et déterminent le métabolisme des particules sur lesquelles elles résident. Leur appellation est arbitraire (ordre alphabétique) et les principales sont : Apo A1 (composante structurale des HDL); Apo B (composante structurale des chylomicrons, VLDL et LDL); Apo C (peut inhiber le captage hépatique des chylomicrons et des résidus VLDL et activer la lipoprotéine lipase) et Apo E (ligand pour lier quelques lipoprotéines aux récepteurs des LDL et composante structurale des VLDL).

-Les phospholipides :

En plus du glycérol et des acides gras (qui sont constitués d'une chaîne d'hydrocarbures avec un groupe d'acides carboxyliques), les phospholipides contiennent un ou plusieurs groupes d'acides phosphoriques ainsi qu'un groupe polaire (ex. : base azotée). La phosphatidylcholine et la sphingomyéline sont les phospholipides principaux des lipoprotéines plasmatiques(Esterbauer, 1995).

● Métabolisme et cycle lipidique :

-La voie exogène (les lipides alimentaires) :

Les TG de l'alimentation se combinent avec le CH, les phospholipides et les apolipoprotéines B-48 et A pour former des particules appelées chylomicrons. Une fois dans la circulation, les apolipoprotéines C et E s'y additionnent. Le catabolisme des chylomicrons est catalysé par la lipase lipoprotéique. La lipase lipoprotéique hydrolyse les TG du noyau des chylomicrons, et les acides gras libérés traversent l'endothélium pour entrer dans les cellules musculaires ou les cellules adipeuses sous-jacentes; ils sont soit estérifiés à nouveau ou oxydés pour produire de l'énergie.

Lorsque la majorité des TG sont ainsi retirés, les chylomicrons se dissocient et retournent dans la circulation. La dimension du chylomicron est réduite, le contenu en TG également mais ses esters de cholestéryl demeurent intacts. On appelle alors la particule un

résidu de chylomicron. Lorsque ce dernier rejoint le foie, il est retiré de la circulation (via endocytose récepteur-dépendante) par un récepteur qui reconnaît deux de ses composantes, les apolipoprotéines E et B-48. À l'intérieur de l'hépatocyte, le résidu est digéré dans les lysosomes, et les esters de cholestérol sont scindés pour libérer du CH libre. Le CH libre peut être utilisé pour la synthèse des membranes, être stocké (sous forme d'ester), être excrété dans la bile après conversion par les acides biliaires, ou il peut être utilisé pour former les lipoprotéines endogènes sécrétées dans le plasma. Une illustration du métabolisme des lipoprotéines (exogène et endogène) (Fig. 17).

-La voie endogène :

La voie endogène suit un parcours semblable. Les VLDL (riches en TG) sont sécrétées par le foie. Dans la circulation capillaire, la lipase lipoprotéique catalyse l'hydrolyse des VLDL, libérant ainsi des acides gras, du glycérol, des mono et biglycérides.

Les résidus VLDL sont relativement enrichis de CH, et des réactions d'échange catalysées par une protéine de transfert de lipides dans le sang enrichissent le noyau en esters de CH. La particule résultante est une IDL qui est rapidement retirée de la circulation par des liaisons avec les récepteurs LDL du foie (Betteridge, 1996). Ces récepteurs se lient aux lipoprotéines qui contiennent l'apolipoprotéine E ou B-100 (c'est à dire IDL ou LDL) (Brown et Goldstein, 1991; Westhuyzen *et al.*, 1990).

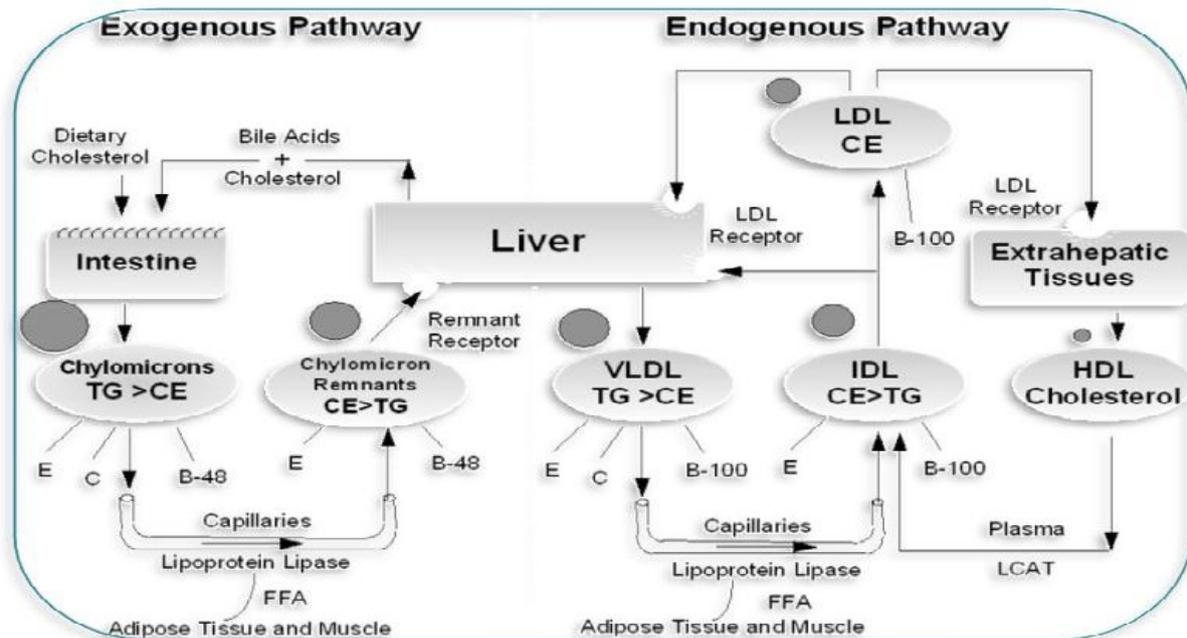


Figure.17 : Métabolisme exogène et endogène des lipoprotéines (Brown et Goldstein., 1990).

1.3.2- Le tabagisme :

Des études épidémiologiques sur le tabagisme ont démontré qu'un tiers des décès reliés à la cigarette serait dû au développement de maladies cardiovasculaires via l'augmentation des altérations structurelles et fonctionnelles des vaisseaux sanguins (Rahman MM et Laher I, 2007).

Des changements dans la conformation vasculaire réduisent la capacité des vaisseaux à se dilater et à se contracter normalement. L'usage de la cigarette augmente également la viscosité sanguine et par le fait même, les risques de thrombose et de réactions inflammatoires.

1.3.3-L'âge et le sexe :

Les cellules ne sont pas éternelles; à un moment de leur vie elles arrêtent de croître irréversiblement. Ceci définit la sénescence cellulaire, un phénomène relié au développement de plusieurs maladies. Dans les cellules vasculaires d'artères plus vieilles, l'expression de ICAM-1 augmente et favorise l'adhésion des leucocytes (Minamino T et *al.*, 2002). De plus, un endothélium affaibli par l'âge n'est plus en mesure de contrôler le tonus vasculaire normal ainsi qu'une réponse inflammatoire efficace. Au niveau des lésions athérosclérotiques, les

cellules endothéliales et les CML présentent une physiologie comparable à celle des cellules en sénescence (Minamino T *et al.*, 2004). En effet, les cellules endothéliales au niveau des plaques diminuent la biodisponibilité en NO via l'altération de l'activité de l'eNOS et les CML, la réactivité à ce puissant vasoconstricteur.

1.3.4-L'hypertension :

Les plaques d'athérosclérose se localisent préférentiellement dans les régions artérielles soumises à de fortes perturbations du flux sanguin, suggérant un rôle des contraintes mécaniques dans le développement de la maladie. L'hypertension artérielle, par l'induction de l'expression des gènes codant pour des protéines impliquées dans le processus inflammatoire, augmente la sécrétion d'ANG II. Ce puissant vasoconstricteur stimule la production de radicaux libres ainsi que la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les CE et les CMLV et perturbe donc le maintien normal du tonus vasculaire par l'endothélium (Glorian M-Limon I, 2007).

1.3.5-La sédentarité et le diabète :

L'inactivité, ou la sédentarité, est aussi un facteur de risque cardiovasculaire évitable surtout quand on sait que l'exercice physique de façon modérée à intense améliore grandement la santé cardiaque. Il rétablit les fonctions endothéliales de patients souffrant de maladies coronariennes, réduit le poids, la pression sanguine ainsi que l'inflammation. L'exercice accroît la réparation vasculaire et favorise l'homéostasie endothéliale (Laufs U *etal.*, 2005).

L'hyperglycémie et l'augmentation du stress oxydant associés au diabète et à l'obésité avivent la production de produits de glycation avancés (AGE pour Advanced glycation end products) qui une fois liés à leur récepteur (RAGE pour Receptor for advanced glycation end products) entraînent une réaction inflammatoire endothéliale (Schmidt AM *et al.*, 1999).

L'augmentation de la glycation favorise également la modification des LDL, les rendant pro-athérogéniques (Knott HM *et al.*, 2003). De plus, la délicate balance régulant le tonus vasculaire est altérée chez les diabétiques, contribuant ainsi au développement de la dysfonction endothéliale (Hadi HA et Suwaidi JA, 2007).

1.3.6. Les infections :

Plusieurs études ont démontré la corrélation entre le développement de maladies cardiovasculaires telles que l'infarctus du myocarde et la présence d'agents infectieux. La recherche a d'ailleurs confirmé que les infections respiratoires sévères augmentaient les risques associés à la rupture de la plaque athérosclérotique (Ward JR *et al.*, 2007). Ainsi, la bactérie *Porphyromonas gingivalis* fait l'objet de nombreuses recherches en cardiologie qui ont démontré un lien direct avec le développement de l'athérosclérose. Cette bactérie responsable d'infections dentaires telles que la parodontopathie, a été détectée au niveau des plaques athérosclérotiques (Gibson FC *et al.*, 2006). Elle affecte l'intégrité des CE, le métabolisme des lipoprotéines plasmatiques, la coagulation ainsi que la fonction plaquettaire. L'induction d'une réponse inflammatoire locale par *P. gingivalis* augmente également la sécrétion des médiateurs inflammatoires tels que la CRP contribue donc au développement de la dysfonction endothéliale.

2-Pathogénèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes

2.1-Les différentes théories de l'athérogenèse :

2.1.1-Théorie lipidique :

Les lipides plasmatiques sont absorbés directement à travers l'endothélium par l'intima et, lorsque les conditions le permettent, certains d'entre eux, en particulier les esters de cholestérol, s'y déposent. C'est l'hypothèse de l'infiltration lipidique comme facteur déclenchant la formation de la plaque d'athérome, confortée au début du siècle par les travaux d'Anitschkow et Chalutow (1913) qui mirent en évidence le rôle du cholestérol dans l'athérosclérose expérimentale chez le lapin (Goldman D. *Set al.*, 1989).

2.1.2-Théorie inflammatoire :

Les études expérimentales les plus récentes, associées aux observations anatomopathologiques faites sur des plaques humaines, permettent d'affirmer aujourd'hui que l'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des grosses artères à localisation intimale (Ross R *et al.*, 1999 ; Shi W *et al.*, 2000) quel'agent d'agression entraînant la réaction inflammatoire est très probablement le LDLc modifié, notamment par oxydation (Steinberg *Det al.*, 1989).

2.1.3-Théorie virale :

En 1973, Benditt et Benditt rapportèrent une étude marquante dans laquelle ils démontraient que les cellules des plaques d'athérome étaient d'origine monoclonale . Les auteurs en conclurent que des facteurs capables de transformer les cellules, tels que des virus, pouvaient être athérogènes . Ceci fit naître un regain d'intérêt pour les virus (Benditt E.P, Benditt J.M, 1973) .

En 1978, Fabricant *et al.* rapportaient que des lésions athéromateuses proches des lésions observées chez l'homme pouvaient être provoquées chez le poulet infecté par des virus herpès (virus de la maladie de Marek) et, comme dans les travaux du siècle précédent par Benson *et al.*, les lésions étaient accélérées par un régime hypercholestérolémique (Benson R.L *et al.*,1931)

Il fallut attendre 1987 pour que des études épidémiologiques soient réalisées pour documenter une association entre infections chroniques (cytomégalovirus, *C. pneumoniae* et *Helicobacter pylori*) et risque cardio-vasculaire . Il faut noter que tous les agents infectieux recherchés jusqu'à présent ont été détectés dans les lésions et trouvés associés au risque cardio-vasculaire . Que les micro-organismes recherchés soient systématiquement retrouvés laisse penser que les agents infectieux ont un tropisme pour les lésions d'athérome et que des infections multiples ont peut-être un effet cumulatif dans l'évolution de la maladie (Fabricant C.Get *al.*, 1978)

Plus récemment, Laitinen *et al.* et Muhlenstein *et al.* ont décrit l'induction de lésions d'athérosclérose chez le lapin par l'inoculation nasale de *C. pneumoniae*. La similarité entre ces travaux récents et ceux du XIX^e siècle est frappante. Ainsi, l'isolement de bactéries de l'aorte après inoculation nasale chez le lapin ou la souris reproduit les expériences réalisées il y a 100 ans . On a également récemment impliqué les agents infectieux dans la pathogénie de la resténose après angioplastie, tout comme ils avaient été incriminés dans la formation de plaques après stress mécanique de la paroi artérielle au siècle passé (Gilbert A., Lion G, 1889).

2.2-mécanismes pathologiques liées à l'hyperhomocystéinémie au cours de l'athérosclérose :

2.2.1-Diminution de la fonction de thromborésistance et dysfonctionnement endothélial :

L'endothélium intact a des propriétés anti-agrégantes, anticoagulantes et protège donc des événements cardiovasculaires. La lésion endothéliale est l'étape initiale des lésions athéromateuses (Hélène Lelonget *al.*, 2012).

Les cellules endothéliales dysfonctionnelles de la zone athéromateuse libèrent des vasoconstricteurs en quantité excessive (endothéline-1 par exemple) et en revanche pas assez de vasodilatateurs (oxyde nitrique et prostacycline)(Ericet *al.*,2013).

La pathogénicité de l'Hcy serait notamment liée à son action délétère sur la fonctionnalité des cellules endothéliales (CE). Drunatet *al.* ont montré que l'Hcy altère la production et/ou la biodisponibilité des médiateurs vasoactifs endothéliaux tels que la prostacycline, l'endothéline-1 (ET-1) et le monoxyde d'azote (Smachet *al.*, 2013).

2.2.2- Mécanismes inflammatoires des processus athéro-thrombotiques :

Les processus qui aboutissent à l'athérosclérose sont complexes et encore imparfaitement connus. Très vraisemblablement la lésion est initialement déclenchée par des agents qui lèsent l'endothélium et le muscle lisse sous-jacent, aboutissant à une réponse inflammatoire et proliférative qui peut certes être initialement protectrice et devient finalement excessive (Ericet *al.*, 2013).

-Accumulation et oxydation des LDL :

La première étape de la formation d'une lésion athérosclérose est la pénétration des lipoprotéines athérogènes (LDL) dans l'espace sous-endothélial qui sont retenues dans l'intima et subissent des modifications oxydatives (LDLox).

Il n'est pas nécessaire que l'endothélium soit lésé puisque les lipoprotéines circulantes, dont le diamètre est inférieur à 70 nm, peuvent traverser l'endothélium notamment par le phénomène de transcytose (Jean-Louis Paulet *al.*, 2009).

Olszewski et Mc Cully ont ainsi élaboré l'hypothèse selon laquelle l'Hcy serait le principal composé soufré favorisant l'oxydation des LDL in vivo (Karine Demuthet *al.*, 2000).

- Adhésion des monocytes à la paroi artérielle :

Les lipoprotéines oxydées (principalement des LDL oxydées) activent les cellules endothéliales qui expriment des molécules d'adhésion (ICAM, VCAM), et sécrètent des facteurs chimiotactiques responsables du recrutement des monocytes et lymphocytes T circulants qui migrent dans le sous-endothélium (Jean-Louis Paulet *al.*, 2009).

les monocytes sont dans un premier temps ,immobilisés à la paroi artérielle suite à leur interaction avec les molécules d'adhésion telles que P-et E-sélectines,VCAM-1 et /ou ICAM-1 (Glorian et Limon,2007).

En outre, Cheng et *al* (Chenget *al.*.,2004)ont démontré que l'homocystéine présente des propriétés proinflammatoires (stimulation des Il-1, des Il-6 et des Il-8) à la fois vis-à-vis des CE et des CML. Elle augmente l'adhésion et la transmigration des leucocytes en stimulant l'expression de molécules d'adhésion et en diminuant la production de NO au niveau endothélial.

-Phagocytose des LDLoxet formation des cellules spumeuses :

Les monocytes se différencient en macrophages qui expriment des récepteurs « scavenger » (tab. 4)qui permettent l'internalisation des lipoprotéines oxydées ce qui aboutit à la formation de cellules spumeuses (Jean-Louis Paulet *al.*, 2009).Ultérieurement ,les cellules spumeuses constitueront le noyau lipidique de la plaque d'athérome .en parallèle ,toujours sous l'action du M-CSF,les macrophages activés sécrètent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF alpha ,IL-1 beta IL-8 ou encore l'IL-12,qui perpétuent le processus athérogénique en amplifiant le recrutement des monocytes sur le site inflammatoire ,par la stimulation de la libération de MCP-1 par les CMLV et les cellules endothéliales(Glorian et Limon,2007).

Les lymphocytes T, principalement des lymphocytes T CD4+ ,jouent un rôle aggravant lors de l'athérosclérose .Classiquement les lymphocytes sont classés en deux sous populations aux fonctions opposées ,les lymphocytes Th-1 pro-inflammatoires et les lymphocytes Th-2 anti-inflammatoires .dans le processus athéroscléreuse la cytokine IL-12

produite par les macrophages ,oriente la polarisation des lymphocytes T vers la voie de différenciation Th-1, ces cellules vont alors sécréter des cytokines pro-athérogènes comme l'IFN-gamma qui perpétuent l'activation des macrophages et contribuent fortement à la progression de la plaque (Grover *et al.*, 2006)

Tableau.4: Différents types de Récepteurs "Scavenger" SRA : (Winther *et al.*, 2000).

Classe / Nom	Type de cellule	Fonction	Ligand principal
Classe A :			
SRA I/II/III	Macrophages	Capture des	AcLDL, oxLDL,
		LDL modifiées,	AGE, LPS, LTA,
		immunité innée,	thymocytes
		adhésion	apoptotiques
MARCO	Macrophages	Immunité innée	AcLDL, bactéries
	spléniques		
Classe B :			
CD36	Plaquettes,	Transporteur	LDLox,
	monocytes	d'acides gras,	cellules
	macrophages	capture de cellules	apoptotiques
		apoptotiques	
SR-BI (CLA-I)	Glandes surrénales,	Transport du	HDL, LDLox
	foie, gonades	cholestérol	
Autres :			
CD68 (macrosialin)	Macrophages	Inconnu	LDLox,
			cellules
			apoptotiques
SR-C	Macrophages	Capture des	AcLDL
	d'embryons	cellules	
	d'insectes	apoptotiques	
SREC	Cellules endothéliales	Inconnue	AcLDL, LDLox
LOX-1	Cellules endothéliales	Inconnue	LDLox

-Prolifération des cellules musculaires lisses :

Parallèlement, des cellules musculaires lisses migrent dans l'intima, prolifèrent pour former une chape fibreuse. (Hélène Lelong *et al.*, 2012), Celle-ci est constituée de collagènes de types I et III, de glycoprotéines dont la fibronectine et de glycosaminoglycanes, et les cellules endothéliales forment un revêtement qui entoure la lésion (Jean-Louis Paulet *et al.*, 2009).

-Activation des plaquettes

L'épaisseur et la consistance de la plaque athéromateuse évoluent. Elle devient poreuse et présente alors un risque de rupture (Hélène Lelong *et al.*, 2012).

La rupture de la chape fibreuse met en contact le sang avec les éléments thrombogènes du noyau lipidique déclenchant le phénomène de thrombose. Les lipides oxydés sont capables d'activer directement les plaquettes, mais c'est la richesse du cœur lipidique en facteur tissulaire libéré lors de l'apoptose des macrophages et activé aussi par la présence de microparticules apoptotiques qui est un élément-clé dans le déclenchement de la cascade de la coagulation. (Jean-Louis Paulet *et al.*, 2009).

-Formation d'un thrombus :

Ces processus sont agressifs pouvant aboutir à une occlusion complète du vaisseau. L'occlusion complète est en fait généralement due à la formation des caillots sanguins (thrombus coronarienne) dans l'artère athéromateuse rétrécie (Eric *et al.*, 2013).

Les cytokines, les métalloprotéinases et les facteurs tissulaires sécrétés par les macrophages favorisent la rupture de plaque et la formation de thrombus. (Hélène Lelong *et al.*, 2012).

Le thrombus formé peut être intégré au sein de la plaque (augmentant ainsi significativement son épaisseur et augmentant donc le risque de sténose), ou rester en intra-artériel sous forme de thrombose artérielle complète ou se compliquant éventuellement d'embolie à distance. (Hélène Lelong *et al.*, 2012).

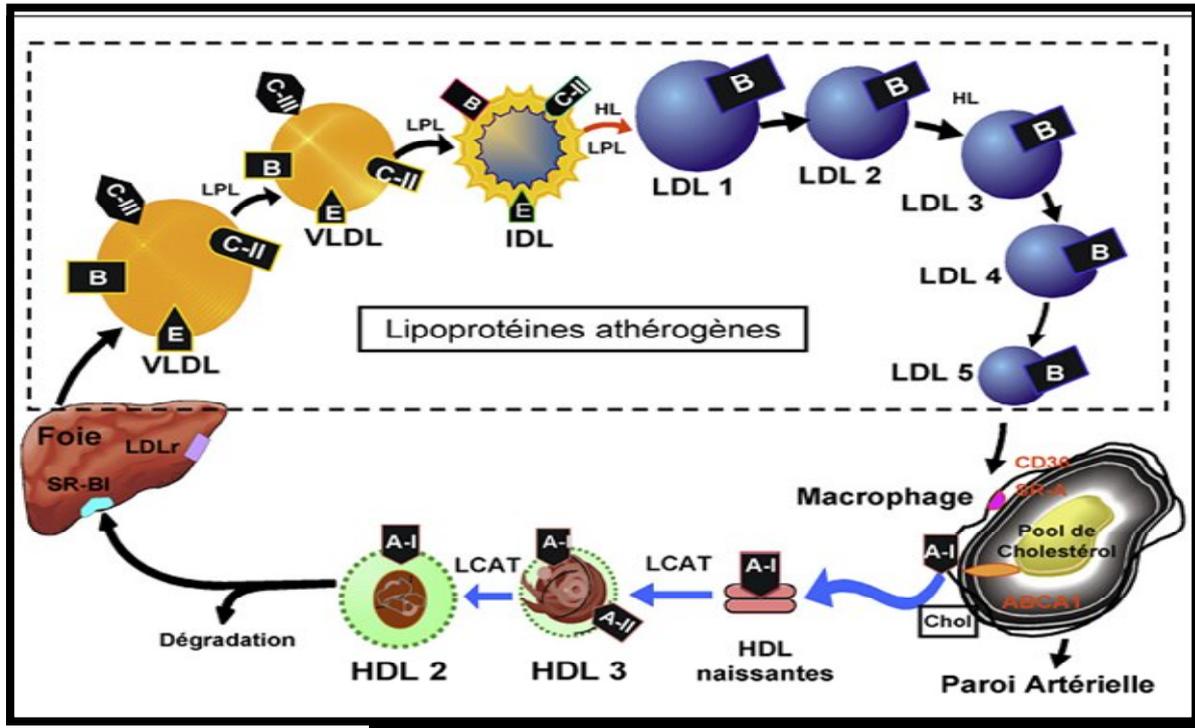


Figure. 18: Représentation schématique de la diversité des lipoprotéines athérogène (Michel Farnier, 2009).



Figure. 19 : Genèse de la plaque d'athérosclérose (Martine Glorianet *al.*, 2007).

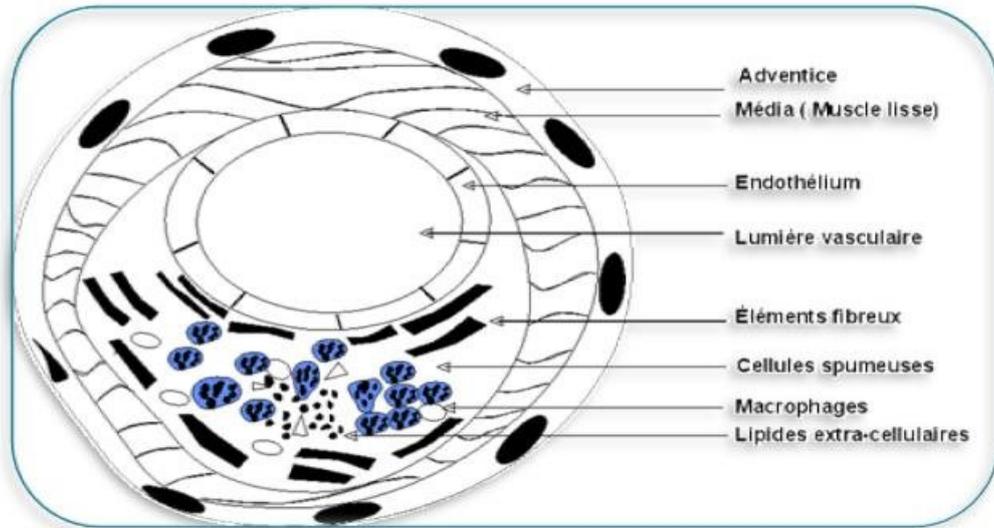


Figure. 20 : Plaque athéromateuse mature(Meyers et Maloley, 1993).

1-Matériels

1.1- Matériel biologique :

1.1.1-choix des animaux :

Notre étude a été réalisée sur un groupe de 12 rattes blanches (Rattus rattus) de la souche Wistar provenant de l'animalerie de l'université Constantine 1, ces rattes ont des poids moyen entre 95 g et 150 g.

1.1.2-Entretien des animaux :

Les rattes ont été soumises à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie : la température ambiante est de 25°C, une photopériode naturelle et une humidité de 50 à 55%.

Dans notre étude les rattes sont partagées dans deux lots (le première est considérée comme control (C) et le deuxième comme traitée(M)) en plastique d'une forme rectangulaire avec des couvercles en métal perforé (afin de sécuriser les lots).

-Afin d'éviter l'accumulation des déchets organique les lots sont nettoyées de façon régulière 3 fois par semaine avec de l'eau et le détergeant. Après séchage les lots sont tapissés par la sciure.

- Les animaux ont été pesés trois fois par semaine pendant toute la période.

-Le poids de l'aliment consommé est enregistré quotidiennement.



Figure. 21 : Représentation de la cage des rattes .

1.1.3-Nutrition :

Le rat est omnivore, pour 100 grammes de poids vif, il consomme environ 5 à 6 grammes de nourriture et boit 10 ml d'eau par jour.

En laboratoire, l'alimentation est standardisée et on utilise des régimes complets commercialisés (les composants de l'aliment figurent dans le tab.5).

Tableau .5:La composition d'1Kg d'aliment (ONAB)

Protéine	15 %
Lipides	2.5%
Cellulose	8%
Minérales	8%
Humidité	13%
Vitamine A	150.000UI
Vitamine D3	200.000
Vitamine E	3mg
Fer	6mg
Cu	1,2mg
Zn	14,400mg
Cobalt	60mg
Mn	10 ,800mg
Iode	150mg
Sélénium	30mg
Ca+2	1%
Phosphore	0,8%

2-Méthodes**2.1-Traitement des animaux :**

Afin d'atteindre nos objectifs et pour qu'on puisse réaliser notre expérience les rattes répartie au premier lotsont soumis à un régime standard de laboratoire, et ingérés par une dose angiotoxique de la L-méthionine traité de la L- méthioninependant 21jours.

2.2-Etude biochimique:

Les prélèvements du sang sont nécessaires dans un grand nombre de procédures expérimentales, ce sont donc des interventions très importants pour l'évaluation de certains paramètres biologiques et pour cette raison nos rattes(à l'état de jeûne) sont anesthésiées avec du chloroforme pendant deux à trois minutes ;ensuite un capillaire de prélèvement a été

inséré au niveau du sinus caverneux de l'animal; et le sang obtenu a été directement récolté dans des tubes héparinés et des tubes EDTA ; servent pour les études suivantes :

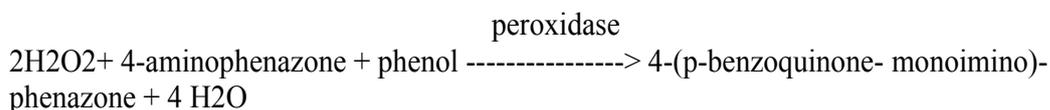
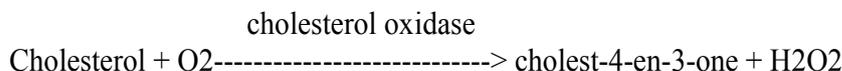
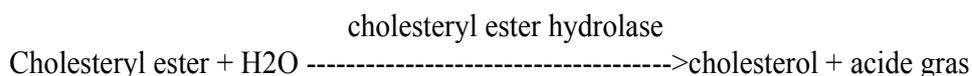
2.2.1-Bilan lipidique :

Pour l'évaluation du : cholestérol totale(CHt), triglycérides(TG),HDLc, LDLc des prélèvements sont effectués sur le plasma recueilli sur tubes héparinés.

● Principe réactionnel pour le CHt :

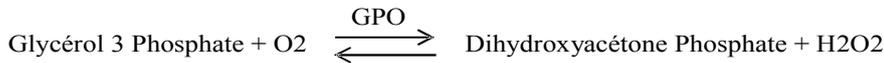
Le cholestérol est mesuré par voie enzymatique dans une série de réactions couplées qui hydrolyser les esters de cholestérol et oxyder le 3-OH du cholestérol. Cette réaction est mesurée quantitativement dans une peroxydase (réaction catalysée qui produit une couleur.

L'absorbance est mesurée à 500 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle la concentration du cholestérol. La réaction est la suivante :



● Principe réactionnel pour les TG :

Les triglycérides sont mesurés par voie enzymatique en utilisant une série de réactions couplées dans lequel les triglycérides sont hydrolysés pour produire le glycérol. Le glycérol est alors oxydé en utilisant du glycérol oxydase, et H₂O₂ L'absorbance est mesurée à 500 nm. La séquence réactionnelle est la suivante :



● Principe réactionnel pour HDLc :

Le principe de base de la méthode est la suivante :

1) ApoB contenant lipoprotéines + α cyclodextrine + Mg^{2+} Dextran SO_4 \longrightarrow Soluble non réactif complexes avec des lipoprotéines contenant de l'ApoB

2) Esters HDL-cholestéryliques $\xrightarrow{\text{PEG-cholestérol estérase}}$ HDL-cholestérol non estérifié avec un acide gras

3) CHL non estérifié + O_2 PEG $\xrightarrow{\text{cholestérol oxydase}}$ Cholesténone + H_2O_2

4) H_2O_2 + 5-aminophénazone + N-éthyl-N-(3-méthyl-lphenyl)-N'-succinyléthylène diamine + H_2O + H^+ peroxydase \longrightarrow quononeimine colorant + H_2O

● Principe réactionnel pour LDLc :

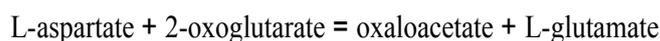
LDLc est calculé à partir des valeurs mesurées de cholestérol total, de triglycérides et de HDL-c selon la relation:

$$[\text{LDL -CHt}] = [\text{CHt}] - [\text{HDL -CH}] - [\text{TG}] / 5$$

2.2.2-Bilan hépatique :

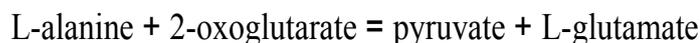
● Principe réactionnel pour l'ASAT :

L'aspartate aminotransférase (ASAT) catalyse la transformation de l'aspartate en oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est réduit en malate en présence d'une quantité connue de coenzyme NADH'H⁺ et du malate déshydrogénase (MDH). La cinétique de cette dernière réaction est déterminée par les mesures successives de l'absorbance du coenzyme NADH'H⁺ à 340 nm.



● Principe réactionnel pour l'ALAT :

La transamination de l'alanine en pyruvate est réalisée en présence de l'alanine aminotransférase (ALAT). Le pyruvate obtenu est réduit en lactate en présence du coenzyme NADH'H⁺ et du lactate déshydrogénase (LDH). La cinétique de cette dernière réaction permet de déterminer la concentration des ALAT



2.2.3-Bilan inflammatoire :

Pour ce bilan on a évalué deux marqueurs biologiques : la CRP ; et les protéines totales :

● Dosage de la CRP :

La CRP est le plus souvent dosée à l'aide d'automates (Cobas 600), par, permettant une mesure précise du taux sérique .

● Dosage des protéines totales :

Cette méthode a été développée par Gornall et al (1949) qui ont appliqué la réaction du biuret pour obtenir une méthode quantitative de dosage des protéines. Cette réaction du biuret est la formation d'un complexe pourpre entre le biuret (NH₂-CO-NH-CO-NH₂) et deux liens peptidiques consécutifs en présence de cuivre en milieu alcalin. Le complexe de coordination résultant absorbe fortement dans le bleu.

2.3-Hématologie :

La numération cellulaire (Fig.22) est réalisée à l’aide d’un automate d’hématologie BC-5380

HEMATOLOGIE

Numération globulaire
 Hématies.....
 Hémoglobine
 Hématocrite
 VGM
 TCMH
 CCMH

Leucocytes

Formule sanguine
 Polynucléaires neutrophiles
 Polynucléaires éosinophiles.....
 Polynucléaires basophiles.....
 Lymphocytes.....
 Monocytes.....

Numération des plaquettes.....

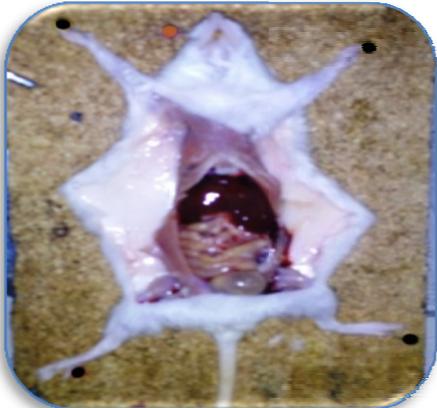
Vitesse de sédimentation
 1^{ère} heure.....

Figure. 22 : Formulaire hématologique

(— Eléments du sang concernés par l’étude hématologique)

2.4 -Étude histologique :

2.4.1-Dissection et prélèvement des organes :

Protocol	photos
<p>l'animal est euthanasié sous une cloche avec un coton imbibé de chloroforme (Fig.23) l'effet de l'euthanasie est prouvé dès que l'immobilisation des vibrisses s'effectue</p>	 <p>Figure. 23 : la méthode d'euthanasie</p>
<ul style="list-style-type: none"> - Disposer l'animal, face dorsale contre la planche à dissection, étendre les membres et les épingler. - inciser la peau (Fig.24) avec des ciseaux dans le plan sagittal en commençant quelques millimètres en avant de ces orifices et en allant jusqu'au menton. - Rabattre les volets cutanés et les épingler : on découvre alors la musculature thoracique et abdominale. 	 <p>Figure.24 : Incision de la peau</p>
<ul style="list-style-type: none"> -Pincer la paroi abdominale juste en avant de l'orifice urinaire et faire une petite boutonnière avec les ciseaux. Introduire une sonde cannelée qui butera en avant contre le diaphragme. - Découper un plastron thoracique que vous détacherez délicatement en incisant le sternum. - Ecarter latéralement les volets musculaires ainsi incisés.(Fig.25) 	 <p>Figure.25 : Ouverture de la partie abdominale</p>
<p>-prélèvement des organes (Fig.26):</p>	

a) l'aorte
 b) le cœur
 c) le foie
 d) la rate
 e) le thymus

les organes prélevés sont bien débarrassés de tout tissu adjacent, lavés, et ensuite placés dans des boîtes de pétrie contenant de l'eau physiologique.

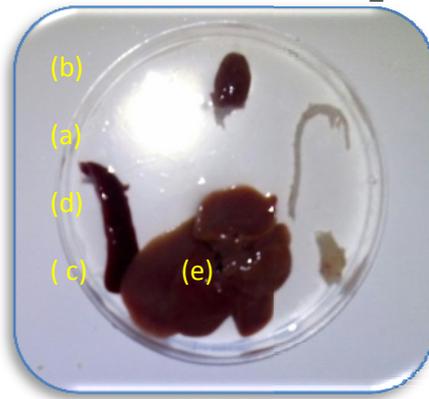


Figure. 26 : Prélèvement des organes

2.4.2- Préparation des coupes histologiques :

La préparation des coupes histologiques a été réalisée par les étapes suivantes:

● **Réalisation des macro-coupes :**

Cette étape est indispensable pour la préparation des cassettes, qui doivent contenir des macro-coupes mais pas la totalité de l'organe. Ensuite les cassettes qui contiennent les échantillons (macro-coupe de : l'aorte thoracique, cœur, foie, thymus, rate) de chaque lot sont mis dans des boîtes étiquetées contenant du formol dilué (1/10).



Figure.27 : Réalisation des macro-coupes.

● *La fixation :*

Les organes sont conservés dans des boîtes remplies par le formol dilué à 1/10.

● *La déshydratation :*

-Le premier bain: éthanol de 50%.

-Un deuxième bain: éthanol de 70%.

-Un troisième bain: éthanol de 96%.

-La durée de chaque bain =30 min x 3 (1h30 mm)

-Les organes sont conservés dans des piluliers remplis de butanol pendant une semaine.

-L'éclaircissement par le xylène : deux bains de xylène pendant 10 min pour chaque échantillon.

● *Inclusion dans la paraffine :*

Trois bain de paraffine pendant 1h30: min pour chaque échantillon.

● *Microtomie :*

La réalisation des coupes histologique s'effectue à l'aide du microtome (Leica®) qui permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 µm d'épaisseur recueillies sur des lames de verre.

● *Coloration*

La coloration des coupes histologiques a été réalisée par Hématoxyline éosine.

● *Montage des lames et prise de photos :*

Le montage se fait classiquement entre lame et lamelle qui filme les tissus et facilite leur étude microscopique ainsi que la prise des microphotographies.

2.4.3- Réalisation des frottis sanguin périphériques et médullaires :

L'étude morphologique des différentes cellules sanguines est réalisé par un frottis sanguin qui se fait par un étalement de sang sur une lame de verre le frottis doit être coloré afin de visualiser les cellules transparentes au colorants May Grunwald-Giemsa(MGG)(protocole de

la préparation présentée dans les annexes)qui est une association d'une technique de fixation (May Grünwald) et d'une technique de coloration (Giemsa) , son avantage est de faire apparaître en couleurs vives les différents éléments des cellules lors de l'examen des frottis.

Les frottis étudiés dans notre expérience sont issus d'un prélèvement du sang périphérique obtenu d'un prélèvement du sang de la veine cave inférieure des rats et un prélèvement médullaire obtenu de la moelle osseuse ; la méthode la plus courante consiste à disséquer un os long (fémur).

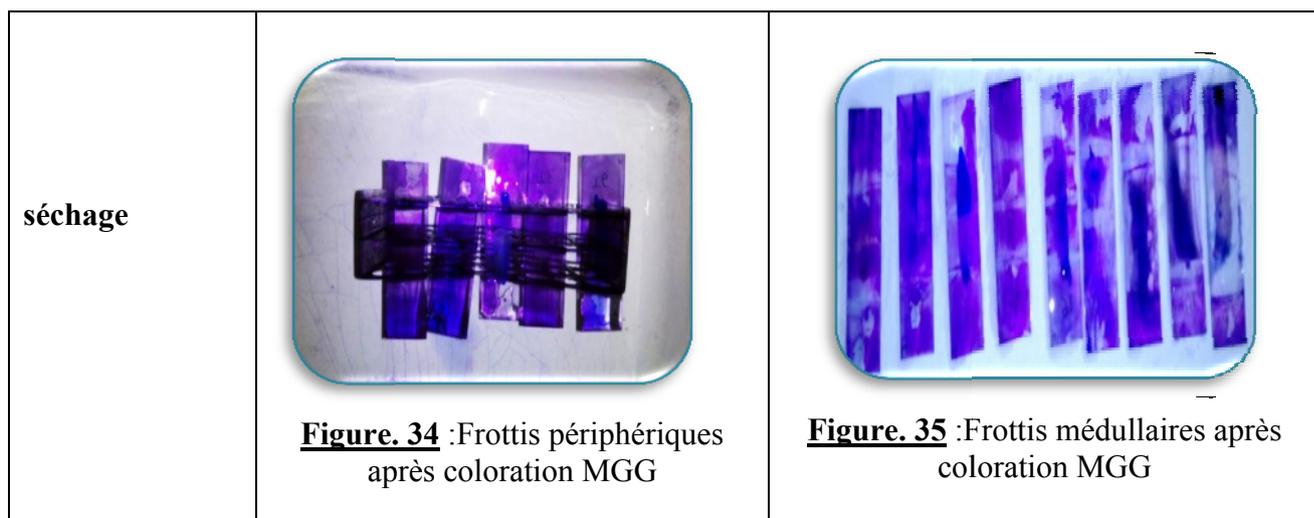
Principe :

Le principe de la coloration par MGG repose sur l'action complémentaire de deux colorants neutres et sur l'affinité des éléments cellulaires pour les colorants acides ou basiques. Ces deux colorants sont :

- le May-Grünwald, neutre, contenant un colorant acide (l'éosine), et un colorant basique (le bleu de méthylène) sous forme d'éosinate de bleu de méthylène.
- le Giemsa, neutre, contenant lui aussi de l'éosine, et un colorant basique (l'azur de méthylène) sous forme d'éosinate d'azur de méthylène.

	Frottis périphériques	Frottis médullaires
<p>Prélèvement sanguin (Fig.28) et ponction médullaire (Fig.29) à l'aide d'une seringue</p>	 <p>Figure. 28 : Prélèvement du sang à partir de la veine cave inférieure</p>	 <p>Figure. 29 : Ponction au niveau de l'épiphyse de l'os du fémur</p>
<p>Étalement</p>	<p>Déposer une gouttelette du sang près de l'extrémité de la lame. Placer sur la goutte une deuxième lame inclinée à 45° de façon à ce que le sang s'étale sous elle par capillarité. Poussez vers la droite dans un mouvement fluide et rapide pour étaler uniformément la goutte</p>	<p>Déposer une goutte de la moelle osseuse sur le bord de la lame. Placer une deuxième lame inclinée à 45° sur la première de façon à prendre toute la goutte par capillarité. Appliquer un mouvement de translation rapide pour étaler la goutte.</p>
<p>séchage</p>	<p>A l'air libre</p>	<p>A l'aire libre</p>
<p>fixation</p>	<p>coloration par le May- Grunwald (MG) (pendant 25min) (Fig.30)</p>	<p>coloration par le May- Grunwald (MG) (pendant 25min) (Fig.31)</p>

	 <p>Figure. 30 : Frottis périphérique colorés par le MG</p>	 <p>Figure. 31 :Frottis médullaires colorés par leMG</p>
lavage	Par l'eau de robinet	Par l'eau de robinet
coloration	coloration par le Giemsa dilué (pendant 50 min) (Fig.32)	coloration par le Giemsa dilué (pendant 50 min)(Fig.33)
	 <p>Figure.32 :Frottis périphériques colorés par le Giemsa</p>	 <p>Figure. 33 :Frottis médullaires colorés par le Giemsa</p>
lavage	Par l'eau de robinet	Par l'eau de robinet



Après la coloration MGG, les lames sont observées à l'aide d'un photo-microscope (OPTECH®) et une prise de microphotographies a été réalisée via un appareil photo (Canon®) relié au microscope.

2.5-Analyse statistique :

L'analyse statistique a été effectuée par les logiciels suivants :

-**Excel 2010** : pour l'élaboration des histogrammes et des courbes représentés sous forme de moyenne accompagnés de l'erreur standard (moyenne \pm SEM) .

-**Biostat 2009 professionnel 5.8.4** : pour l'évaluation du test de Student .

Les seuils de probabilité sont comme suit :

$P > 0.05$: non significatif (ns)

$P \leq 0.05$ = significatif (*)

$P \leq 0.01$ = très significatif (**)

$P \leq 0.001$ = hautement significatif (***)

1-Résultats relatifs aux paramètres physiologiques.

1.1-Poids de l'aliment consommé:

On note, dès la première semaine du traitement que lot M a enregistré une faible consommation alimentaire et ce jusqu'à la fin de l'expérimentation.

En revanche, chez le lot contrôle, on observe une nette progression en consommation alimentaire.

Le test t a révélé une régression hautement significative ($p = 0.001$) de la consommation alimentaire chez le lot M, face à une augmentation très significative ($p=0.003$) chez le lot C.

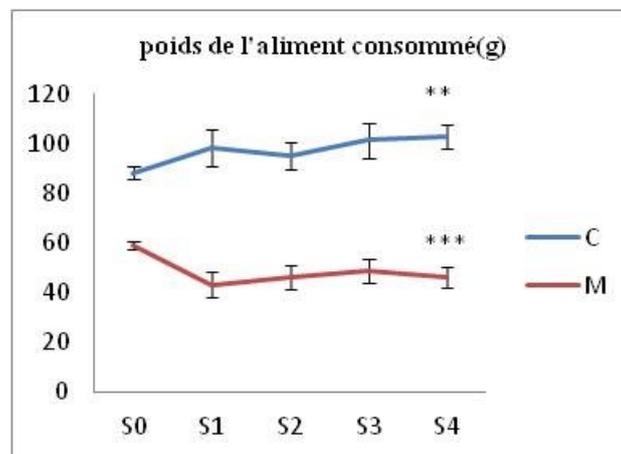


Figure. 36 : Variation de la consommation alimentaire des lots C et M.

1.2-Poids des animaux :

L'évolution pondérale des deux lots a suivie une trajectoire différente des le début du traitement.

-Chez le lot C : la variation est croissante du S0 jusqu'à S4, un gain pondéral est estimé à ($p=0.0001$)

-Chez le lot M : la variation est décroissante avec une chute pondérale estimée à ($p=0.008$).

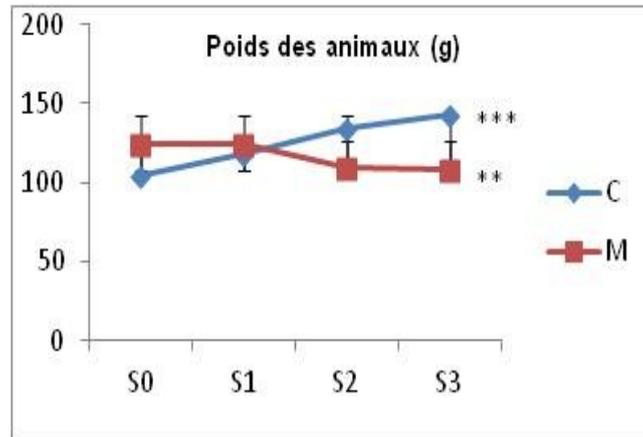


Figure. 37 : Variation pondérale des lots C et M

Selon ces données, on peut constater que les perturbations du poids corporel observées chez le lot M peuvent être la conséquence de la composition du régime alimentaire.

Nos résultats sont similaires aux travaux de Zerrouketal.,(2010) qui ont observé une diminution pondérale des rats à la fin de l'expérimentation suite à une administration chronique d'un excès de méthionine pendant six mois.

D'après la littérature, l'administration d'un excès de méthionine est une méthode expérimentale pour l'installation d'un état d'hyperhomocystéinémie(Mattias *etal.*,1996).

Par ailleurs, des études ont noté une corrélation entre l'Hcy et la créatininémie (Ferjanietal.,2011), la créatinine est un produit de dégradation de la créatine, cette dernière est produite à partir de la méthionine. D'autres études ont révélé que toute diminution de la masse musculaire se traduit par une augmentation de la créatine sérique (Verhoeven NM *etal.*,2005).

Par conséquent, notre dose angiotoxique a engendré une chute pondérale très significative, parallèlement à une régression aussi significative de la consommation alimentaire.

2-Résultats relatifs aux paramètres biochimiques :

2.1- Bilan lipidique :

Le dosage biochimique du CHt, TG, HDLc et LDLc a révélé une différence importante entre les lots C et M.

On note pour le lot M, une augmentation dose dépendante, du CHt ($p=0.02$), des TG ($p=0.04$) ainsi qu'une perturbation du profil lipoprotéique marquée par une augmentation des lipoprotéines pro-athérogènes ($p=0.04$) et une diminution des lipoprotéines cardioprotectrices. ($p=0.01$)

2.1.1-CHt :

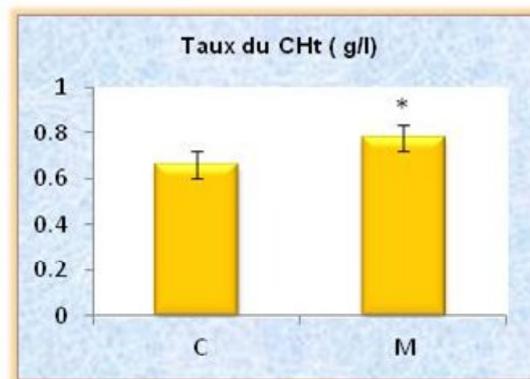


Figure. 38 : le taux représentant le cholestérol total des lots C et M.

2.1.2-TG :

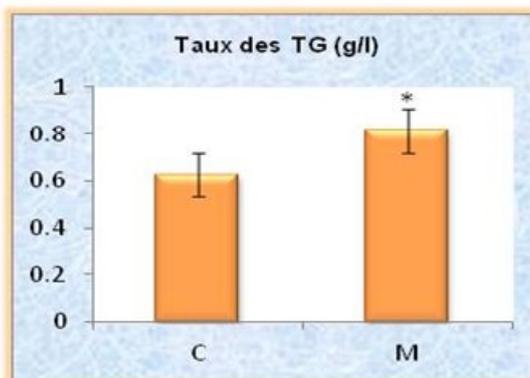


Figure. 39 : Le taux des triglycérides des lots C et M

2.1.3-HDLc :

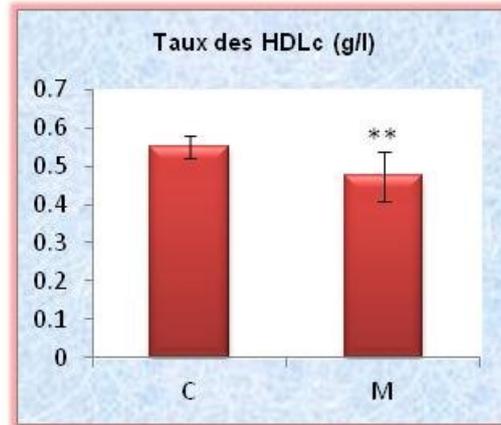


Figure. 40 : Taux des HDLc chez les lots C et M.

2.1.4-LDLc :

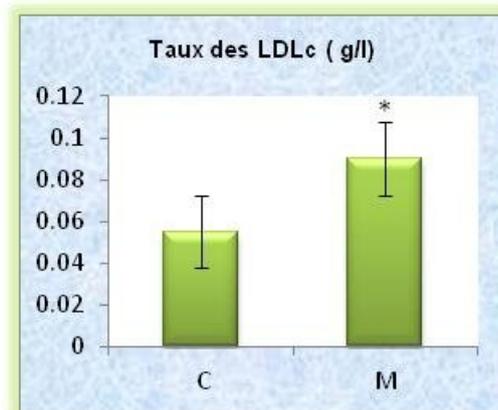


Figure. 41 : Taux des LDLc chez le lot C et M.

Le cholestérol a de nombreuses fonctions dans l'organisme. Malheureusement il pose aussi des problèmes. En particulier, des taux élevés de cholestérol sanguin conduisent à la formation d'athéromes, ce dernier circule dans le plasma sous forme de portions de plusieurs complexes protéiques, on distingue notamment les chylomicrons, les VLDL, les HDL, et les LDL. (Eric *et al.*, 2013).

L'HH est souvent corrélée à une dyslipidémie définie par la notion de la triade lipidique; des altérations du métabolisme des lipoprotéines sont caractérisées par une augmentation

des TG, une baisse des HDLc et un excès de la fraction des LDL petites et denses (Girard-Mauduit,2010)

Le LDLc est souvent appelé mauvais cholestérol, car à forte concentration plasmatique, il majore le dépôt de cholestérol dans les parois artérielles et l'incidence des infarctus du myocarde (Eric *et al.*; 2013).

La présence des TG contribue à la formation des LDLc petites et denses qui sont plus athérogènes que des LDLc de grande taille(Girard-Mauduit,2010).

Le HDLc aussi appelé le bon cholestérol car cette molécule élimine l'excès de cholestérol du sang et des tissus, y compris les cellules chargées de cholestérol des plaques athéromateuses (Eric *et al.*, 2013).

Dans notre étude, on a enregistré une augmentation au niveau des (CHt, TG, LDLc) associée à une diminution des lipoprotéines antiathérogènes(HDLc).des résultats similaires ont été observés chez des souris(CBS-/apoE-) hyperhomocystéinémiques(Wieland *et al.*,1980 ;R. Obeidet *al.*,2009).En outre, certains travaux (Voutilainen*et al.*,1999) ont rapporté que l'administration de la L-méthionine chez les gerbilles, a augmenté non seulement l'homocystéinémie, mais aussi la cholestérolémie et les LDLc plasmatiques. Velez-Carrasco*et al.*,(2008) ont rapporté qu'un régime enrichi en méthionine engendre chez des souris déficientes en apolipoprotéine E, une diminution du taux des HDLc.

Barter et Rye,(2006) ont montré que l'homocystéine réduit la concentration plasmatique du HDLc en inhibant la synthèse d'apolipoprotéine AI (ApoAI).

La diminution du taux des HDLc intensifie le risque athérogène, il a été prouvé dans des études de prévention cardiovasculaire réalisées avec des statines, les patients avec concentration de HDLc basse ont un risque résiduel sous traitement plus important que ceux avec valeur de HDLc normale ou élevée (Barter P *et al.*,2007).

Par conséquent, la perturbation des profils lipidiques est liée à l'action physiopathologique de l'homocystéine, en effet cet acide aminé toxique induit une dérégulation du métabolisme de cholestérol, cette dérégulation joue un rôle important dans la genèse du processus athéromateux et des maladies cardiovasculaires.Devlinet

Lentz,(2006) ont confirmé l'existence d'une corrélation positive entre l'hyperhomocystéinémie et le métabolisme lipidique.

2.2-Bilan hépatique :

Il est à noter que dans le dosage biochimique, le résultat fait apparaître une différence du taux des ALAT et des ASAT, nettement plus important chez le lot M comparativement au lot C.

Le test t fait ressortir une augmentation significative ($p=0.008$) des ASAT, et une diminution non significative du taux des ALAT.

2.2.1-Taux des ASAT :

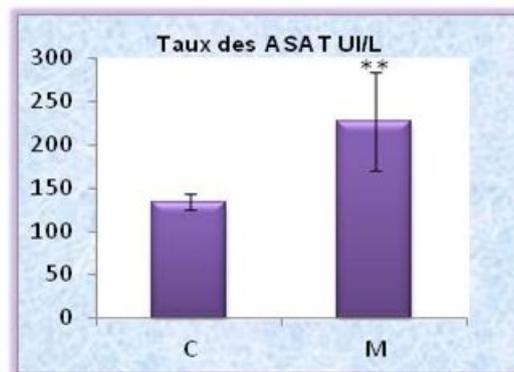


Figure. 42 : Taux plasmatique des ASAT chez les lots C et M.

2.2.2- Taux des ALAT :

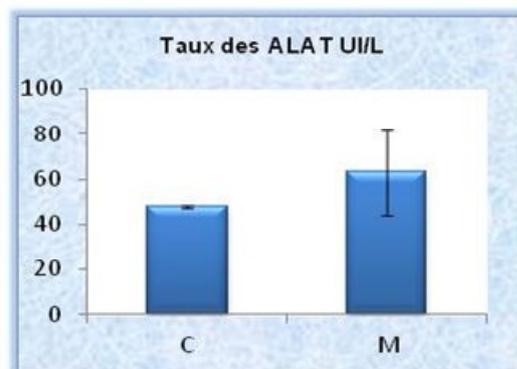


Figure. 43 : Taux des ALAT chez les lots C et M.

Les ALAT, et les ASAT sont les indicateurs les plus couramment employés pour déceler les lésions hépatocytaires. Ces enzymes sont normalement présentes dans les cellules du foie; lorsque ces cellules sont endommagées, elles s'en échappent et se retrouvent dans le sang (Setor K. Kunutsore *et al.*, 2014).

Dans notre étude, l'augmentation de la concentration plasmatique des transaminases observée chez le lot M est le résultat de la toxicité de l'Hcy sur le foie.

Nos résultats sont similaires aux travaux de Xavier ROBLIN *et al.*, (2007) qui ont trouvé que les souris invalidées pour certaines enzymes régulant le métabolisme de l'homocystéine ont une stéatose hépatique massive.

2.3-Bilan inflammatoire :

Le dosage des protéines totales et de la CRP montre une différence remarquable entre les lots C et M.

Le test t a révélé pour le lot M une augmentation hautement significative ($p=0.001$) du taux de la CRP et une augmentation significative des protéines totales ($p=0.05$).

2.3.1-La CRP :

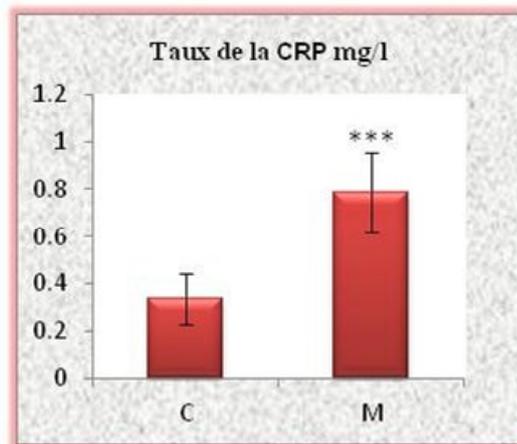


Figure. 44 : Le taux représentant la CRP sérique des lots C et M.

2.3.2-les protéines totales :

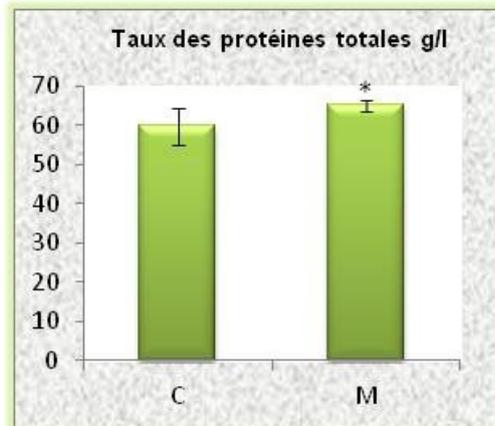


Figure. 45 : Le taux représentant le taux sérique des protéines totales chez les lots C et M.

La CRP et les protéines totales sont caractérisées par une augmentation rapide de leur concentration au cours de l'inflammation.

Les premières études cliniques étaient des études transversales montrant une corrélation entre le niveau de CRP et l'existence ou l'étendue de la maladie athérotrombotique, d'autres auteurs rapportant des résultats négatifs ont émis l'hypothèse que le niveau de la CRP puisse être en rapport non pas avec l'étendue de l'athérosclérose mais plus spécifiquement comme marqueur de l'activité inflammatoire au sein de la plaque (Hélène Lelong *et al.*, 2012).

Par ailleurs, des études ont souligné que l'élévation de ces marqueurs de l'inflammation peut exercer un effet négatif sur la fonction des HDLc, aboutissant à la perte de leur fonction antiathérogène (Girard-Mauduit, 2010).

L'homocystéine joue un rôle primordial dans l'initiation d'un processus inflammatoire, Kommer *et al.*, (2010) ont révélé une corrélation positive entre l'hyperhomocystéinémie et l'augmentation des marqueurs de l'inflammation.

Cette étude est en accord avec les travaux de Sharma *et al.*, (2007) qui a suggéré que l'augmentation de la CRP est associée à l'augmentation de l'homocystéine au niveau du plasma.

3-Résultats relatifs aux paramètres hématologiques :

On note chez le lot M, une augmentation significative ($p < 0.05$) des neutrophiles, face à une diminution significative des plaquettes et des lymphocytes, cette diminution est estimée à : $P = 0.02$.

3.1-les neutrophiles :

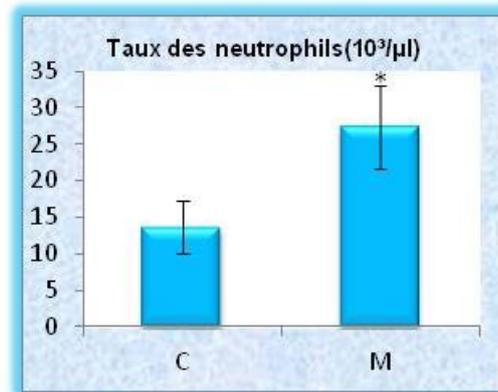


Figure. 46 : Taux des neutrophiles chez les lots C et M.

3.2- les plaquettes :

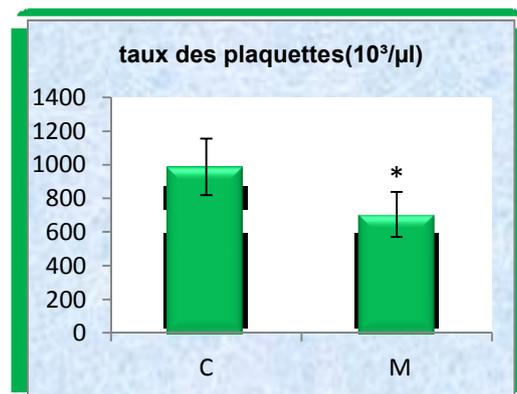


Figure. 47 : Taux des plaquettes chez les lots C et M

3.3-Les lymphocytes :

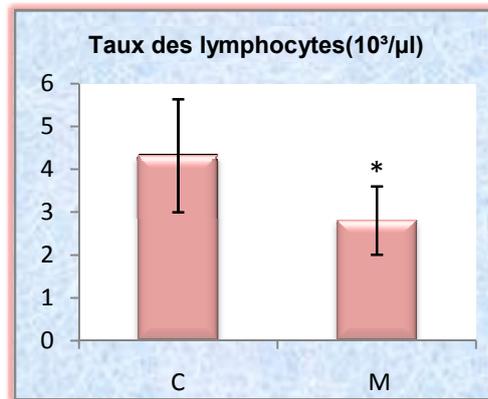


Figure. 48 : Taux des lymphocytes chez les lots C et M

L'analyse de l'impact d'un excès de méthionine sur les paramètres hématologiques a renforcé l'action physiopathologique de l'hyperhomocystéinémie dans le développement de l'athérogenèse, d'une part par l'augmentation des neutrophiles qui sont les principales cellules de l'inflammation, d'autre part la diminution des plaquettes et par conséquent la perturbation de la coagulation.

Des données conformément à la littérature ont suggéré que l'homocystéine peut perturber la coagulation par l'action sur des étapes multiples de la voie de coagulation. Les résultats expérimentaux suggèrent que l'hyperhomocystéinémie puisse favoriser la thrombose vasculaire par l'induction des procoagulants, l'homocystéine peut, de plus, favoriser la thrombose par l'inhibition des anticoagulants naturels (Fryer R *et al.*; 1993).

Par ailleurs, la diminution du taux des lymphocytes s'explique probablement par la physiopathologie de l'hyperhomocystéinémie sur ces cellules immunitaires.

Des données récentes (Mashkina A *et al.*, 2010 ; Boldyrev AA *et al.*, 2012) ont révélé la présence des récepteurs NMDA sur les cellules immunitaires compétentes et ils ont suggéré que l'acide homocystéique, un métabolite de l'homocystéine agoniste des récepteurs du NMDA, ait un effet toxique direct sur les lymphocytes en induisant l'apoptose de ces cellules immunitaires.

4-Résultats relatifs à l'étude histologique :

4.1-Histologie aortique:

La coupe histologique appartient au lot C représentent une structure aortique bien intégrée (Fig. 49a), les trois tuniques de base qui constituées l'aorte (AR) apparaissent sous forme bien structurée. L'intima (I) est fine, la média (M) est épaisse, et l'adventice (A) relativement fine (Fig.49b). Sous l'endothélium (END), il existe une très fine couche sous endothéliale qui contient des fibres musculaires lisses. L'essentiel de la paroi est représenté par la média, musculo-élastique, car elle possède des fibres élastiques (FE) et des cellules musculaires lisses (CML) (Fig.49c).

Par contre chez le lot M la morphologie aortique est caractérisée par des pliements, en passant au plus fort grossissement, on note un épaississement de la paroi artérielle (EPS) (Fig.49e), avec une dégénérescence de l'endothélium (END), et une désorganisation des fibres élastiques (FE), et formation des cellules spumeuses (CS) caractérisés par leur noyaux ronds (Fig.49f).

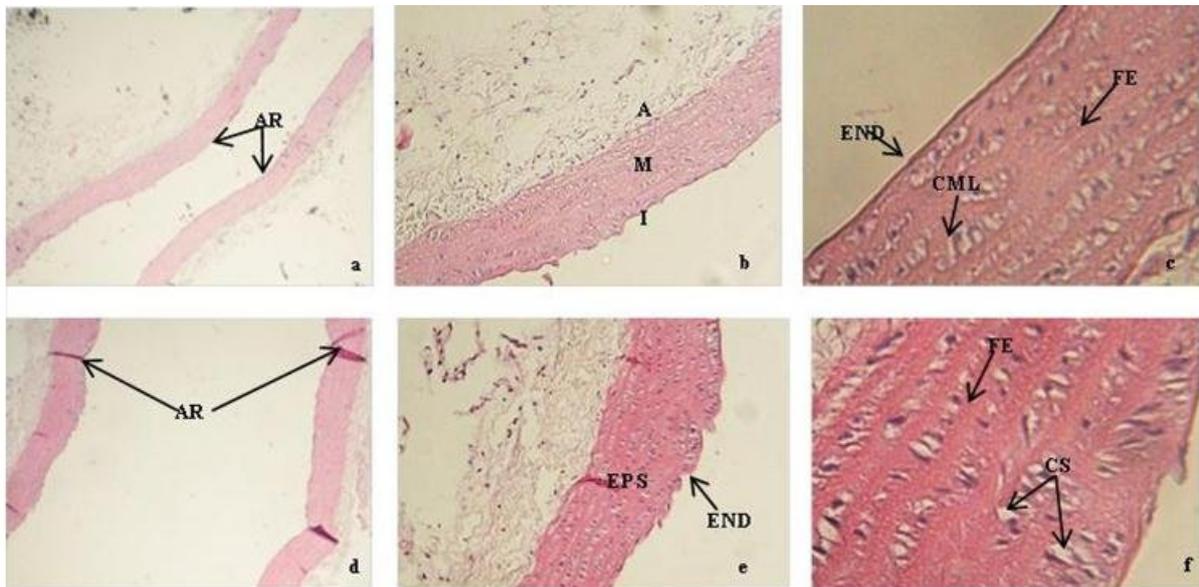


Figure. 49 :Histologie aortique des lots : control et traité ;

C (ax40,bx100 ,cx400) ; M (dx40,ex100,fx400)

D'après la littérature l'accumulation de l'Hcy dans le sang altère l'endothélium vasculaire par un processus inflammatoire secondaire à l'oxydation des petites particules de LDLc ; l'induction d'un stress oxydatif local par production des ERO et l'inhibition de la NO synthase (Otmane,2007).

Par conséquent, L'installation d'un état hyperhomocystéinémique chez le lot M soumis à une dose élevée de la L-méthionine a exercé un effet angiotoxique sur la physiologie de l'aorte, ce dernier induit une augmentation des lipoprotéines athérogènes LDLc et une diminution des lipoprotéines antiathérogènes HDLc, ce qui est confirmé par notre étude biochimique.

L'épaississement artériel observé chez le lot M est due à une accumulation, dans la couche sous-endothéliale de l'intima, des macrophages spumeux, en petit amas, formant des lésions visibles macroscopiquement : les stries lipidiques. En plus des macrophages, certaines cellules musculaires lisses contiennent aussi des dépôts lipidiques, mais les cellules spumeuses d'origine macrophagique prédominent par rapport aux CML. Quelques lymphocytes T sont également détectés dans ces lésions. Les lipides présents sont surtout à l'intérieur des cellules(J. Bonnet,2005).

L'administration d'une dose élevée de la l-méthionine a exercé une activité angiotoxique sur l'aorte thoracique, ceci a été observé par la perte et la dégénérescence de l'endothélium, et la formation de cellules spumeuses avec noyaux transformés. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (A Ghannadiet *al.*,2004) .

4.2-Histologie cardiaque :

La coupe histologique du lot C représente le myocarde (**M**) sous une forme bien structurée(Fig. 50a) ,les fibres musculaires (**FM**)sont bien intégrées contenant les cardiomyocytes (**CM**) (Fig.50b).

Contrairement au lot M, où, le myocarde (**M**) apparaît sous une forme discontinue et anarchique (Fig.50 c), due à une désorganisation des fibres musculaires (**FM**) et un élargissement de tissu conjonctif (**TC**)(Fig.50 d).

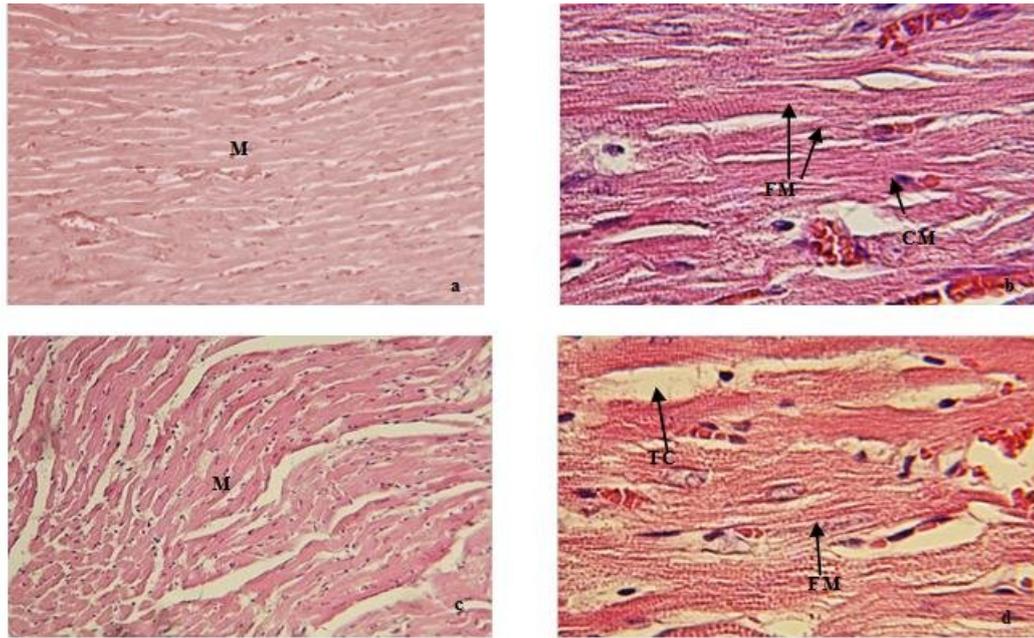


Figure.50 : Histologie cardiaque des lots : control et traité ;

C(ax100,bx400) ;M(cx100,dx400)

D'après la littérature la CRP est un marqueur clé de l'inflammation par ses propriétés, d'activation de la voie classique du complément, la libération des facteurs opsonisants et la capacité de se lier aux récepteurs des immunoglobulines, favorisant ainsi la phagocytose.

L'administration orale de doses élevées en méthionine, et la libération de produit de dégradation (l'homocystéine) a ouvert un processus inflammatoire déterminée par l'élévation du taux plasmatique de la CRP ce qui est confirmée par le bilan inflammatoire .et donc le déclenchement d'un processus inflammatoire et l'installation d'un état d'hyperhomocystéineimie chez les rattes exercent un effet toxique sur le cœur .ceci a été observé par l'altération du muscle cardiaque et la désorganisation des fibres musculaires.

Nos résultats sont en accord avec les études expérimentales précédentes de(A Ghannadi et al., 2004).

4.3-Histologie hépatique :

La coupe histologique du foie du lot C représente un lobule hépatique ou se trouve une veine (V) dite Centro-lobulaire, entourée par des espaces portes (EP) (Fig. 51a). Ils sont constitués de plaques d'hépatocytes (H) séparées les unes des autres par un labyrinthe de sinusoides sanguins (S) (Fig. 51b). Ces hépatocytes (H) sont mononucléés ou les noyaux apparaissent en forme ronde (Fig. 51c).

Par ailleurs la coupe histologique du foie chez le lot M montre un parenchyme hépatique (P) avec un aspect lâche et fenêtré (Fig. 51d), due à l'installation des gouttelettes lipidiques ou stéatoses hépatiques (*) (Fig. 51e) ; Passant au plus fort grossissement, où les hépatocytes (H) ont acquis un aspect bi-nucléaire, avec une structure bien individualisée des stéatoses hépatiques (*) (Fig. 51f).

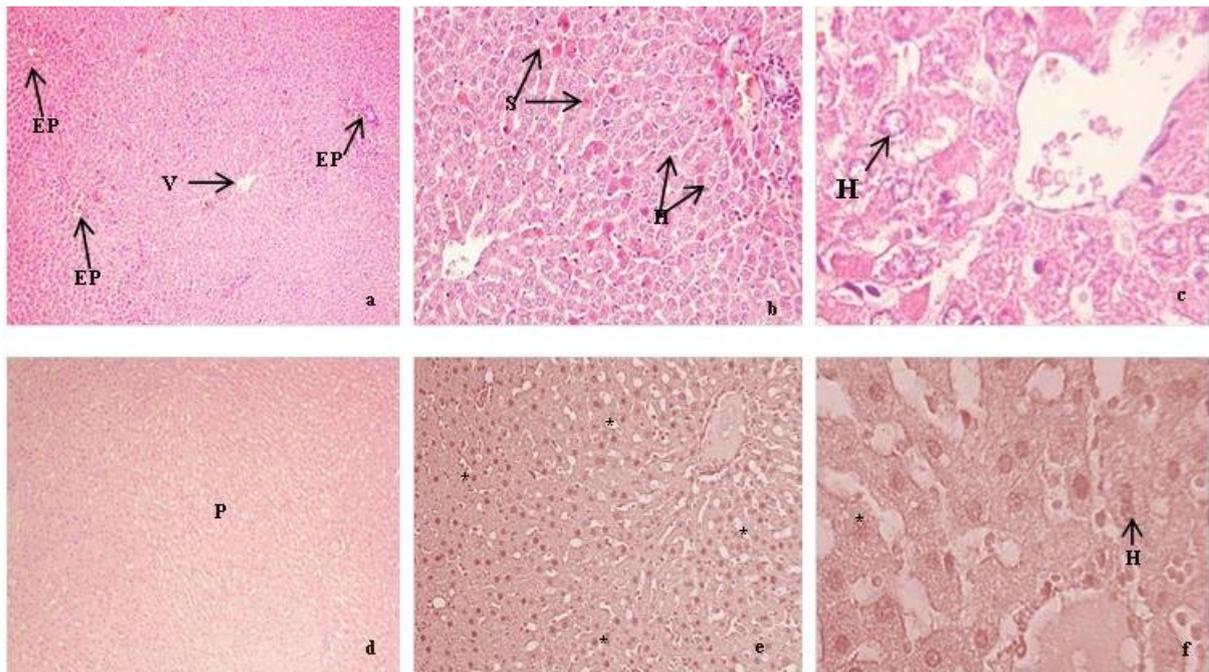


Figure. 51 : Histologie hépatique des lots : control et traité ;

C(ax40 ,bx100,cx400) ;M(dx40,ex100,fx400)

Le foie des rats du lot M soumis au traitement par une dose angiotoxique de la L-méthionine a développé une dyslipidémie traduite par une hypercholestérolémie et hypertriglycéridémie (prouvés par les résultats du bilan lipidique) .ce qui rend l'organe comme siège d'une véritable stéatose hépatique, où le cytoplasme de la majorité des hépatocytes est chargé de vacuoles lipidiques, donnant au parenchyme hépatiqueun aspect vésiculeux et clair.

L'intensité des cellules possédant des vacuoles lipidiques est plus marquée autour des veinules et des espaces portes. Une augmentation de la lumière des capillaires sinusoides a été observés également chez le lot M, ces capillaires apparaissent remarquablement dilatés, et semblent présenter des bifurcations.

W.Y. Fuet *al.*,(2002) ont montré que les hépatocytes avec un noyau modifié très dense et irrégulier sont des cellules ayant subi une nécrose, ou à une infiltration cellulaire qui résulterait d'une augmentation de la perméabilité des parois vasculaires aux leucocytes.

Ceci est illustré par les résultats du bilan hépatique qui montrent une augmentation de la concentration plasmatique des transaminases (ASAT,ALAT)liées à une nécrose hépatique .

L'excès en méthionine a exercé un effet toxique sur le tissu hépatique, nos résultats sont similaires aux travaux de(Zarrouket *al.*, 2010).

4.4-Histologie splénique :

L'observation de la microphotographies du lot C(Fig. 52a,b) montre la rate entourée d'une capsule (**CA**)mince. L'intérieure de la rate est occupé par la pulpe qui correspond au parenchyme de l'organe, les nodules blanchâtres appelés pulpe blanche(**PB**), entourés d'une matrice rouge, la pulpe rouge(**PR**). La pulpe blanche est le composant immunitaire de la rate elle est constituée de cellules immunitaires .

La coupe histologique du lot M, représente une dominance de la pulpe blanche(**PB**), où les centres germinatif(**CG**) sont bien évolués (Fig.52 c),et contenant des cellules immunitaires activées (Fig.52 d).

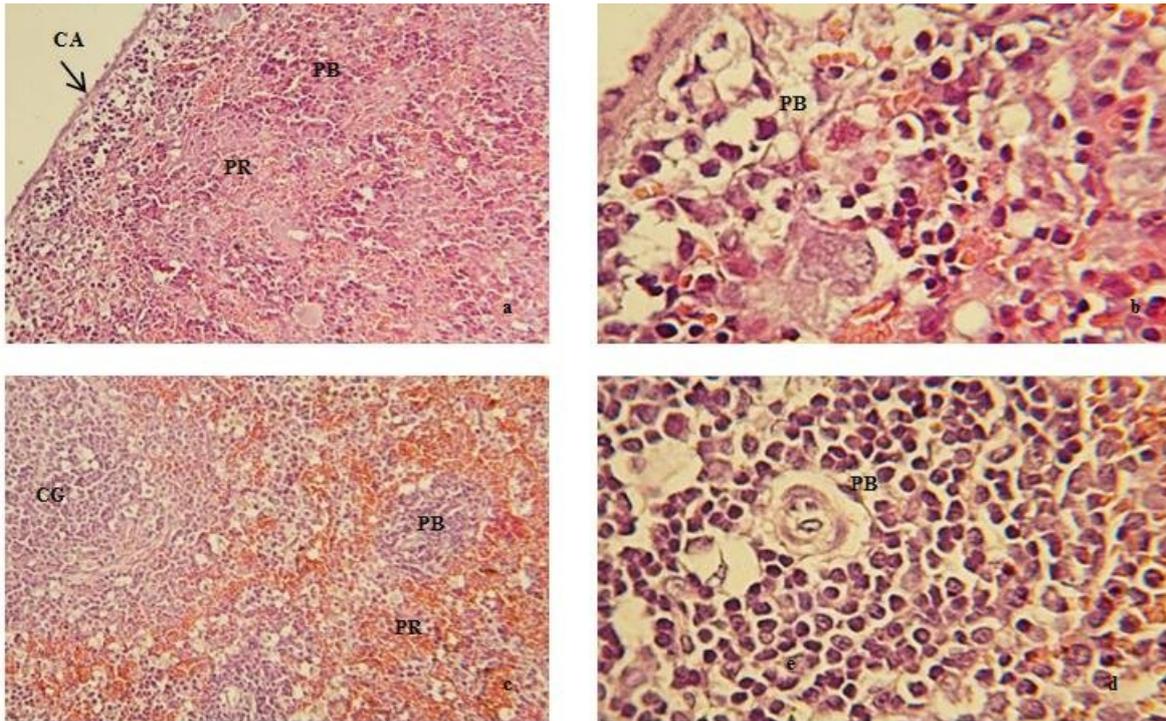


Figure. 52: Histologie splénique des lots : control et traité ;C(ax40,bx100 ,cx400) ;M(dx40,ex100,fx400)

D'après la littérature la rate est un organe lymphoïde secondaire dans laquelle se met en place la réponse immunitaire contre les l'infection.

L'administration d'une dose angiotoxique de la L-méthionine a exercé un effet pathologique sur le cœur par altération du muscle cardiaque, et sur le foie par une nécrose hépatique (résultats histologiques) ,aussi par le déclenchement d'un processus inflammatoire qui se traduit par une augmentation du taux des marqueurs sériques de l'inflammation (CRP,protéines totales) démontré par les résultats du bilan inflammatoire et du taux des globules blancs (résultats de l'hématologie) .

Ces pathologies peuvent être des causes principales d'une hypertrophie splénique, qui misent en jeu le système de défense immunitaire de l'organe par activation des cellules immunitaires résidentes .ceci est confirmé par le résultat histologique de la rate (la dominance de la pulpe blanche).

4.5-Histologie thymique :

A ce grossissement, le thymus apparaît très lobulé, entouré par une capsule (CA) de tissu conjonctif lâche d'où partent de courts septa (S) contenant les vaisseaux sanguins, pénétrant en profondeur. Le parenchyme thymique est divisé en deux zones distinctes, une couche externe dense, le cortex (CX) et une zone interne, faiblement colorée, la médullaire (M)(Fig. 53a). Au centre de la médullaire s'observent des structures lamellaires éosinophiles, appelées corpuscules de Hassal (H)(Fig.53b).

Par contre chez le lot M on remarque une involution thymique, avec une lyse cortico-médullaire, les septa (S) apparaissent de plus en plus larges(Fig.53c), et les corpuscules de Hassal (H) présentent une dégénérescence (Fig.53d).

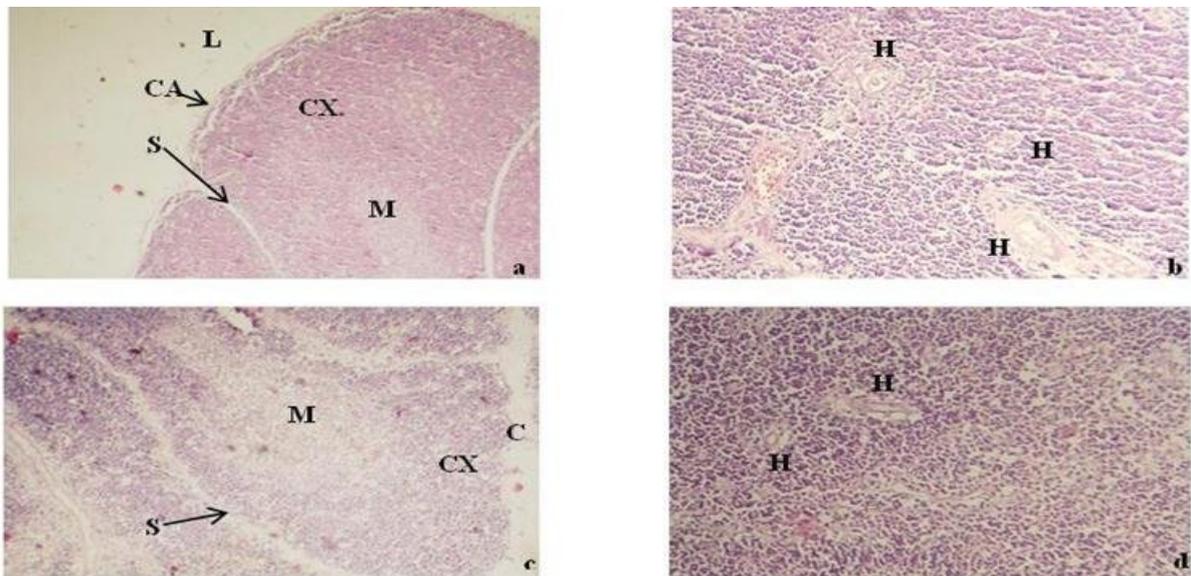


Figure .53 : Histologie thymique des lots : control et traité ;

C (ax100, bX400) ; M (cx100, dx400)

L'administration d'une dose élevée de la méthionine a engendré un effet pathologique sur la structure et la fonction thymique. Nos résultats sont en accord avec (Aggoun *et al.*,2015) qui ont démontré l'effet toxique de l'excès en méthionine sur l'histologie de lobules thymiques qui sont apparues avec une involution dramatique, une présence marquée du tissu adipeux , et les zones plus apoptotiques en particulier dans la moelle où les lymphocytes sont réduites en nombre .

5-Résultats relatifs à l'étude cytologiques:

5.1-Les frottis périphériques :

Les frottis de lotC montrent la présence des globules rouges (**GR**) avec une membrane régulière, un monocyte (**MN**) et un polynucléaire neutrophile (**PNN**) (Fig.54 a), un lymphocyte (**LM**) avec noyau uniformément teinté entouré d'un cercle mince de cytoplasme, un éosinophile (**Eo**) (Fig.54b), et des plaquettes (**PQ**) comme des fragments cytoplasmiques discoïdes (Fig.54 c).

Par contre chez le lotM on remarque la présence des globules rouges (**GR**) présentant des anomalies structurales (Fig.54d, e et f), un polynucléaire neutrophile (**PNN**) avec un noyau hyper segmenté, et monocytes (**MN**) à noyau irrégulier et compact (Fig.54 e).

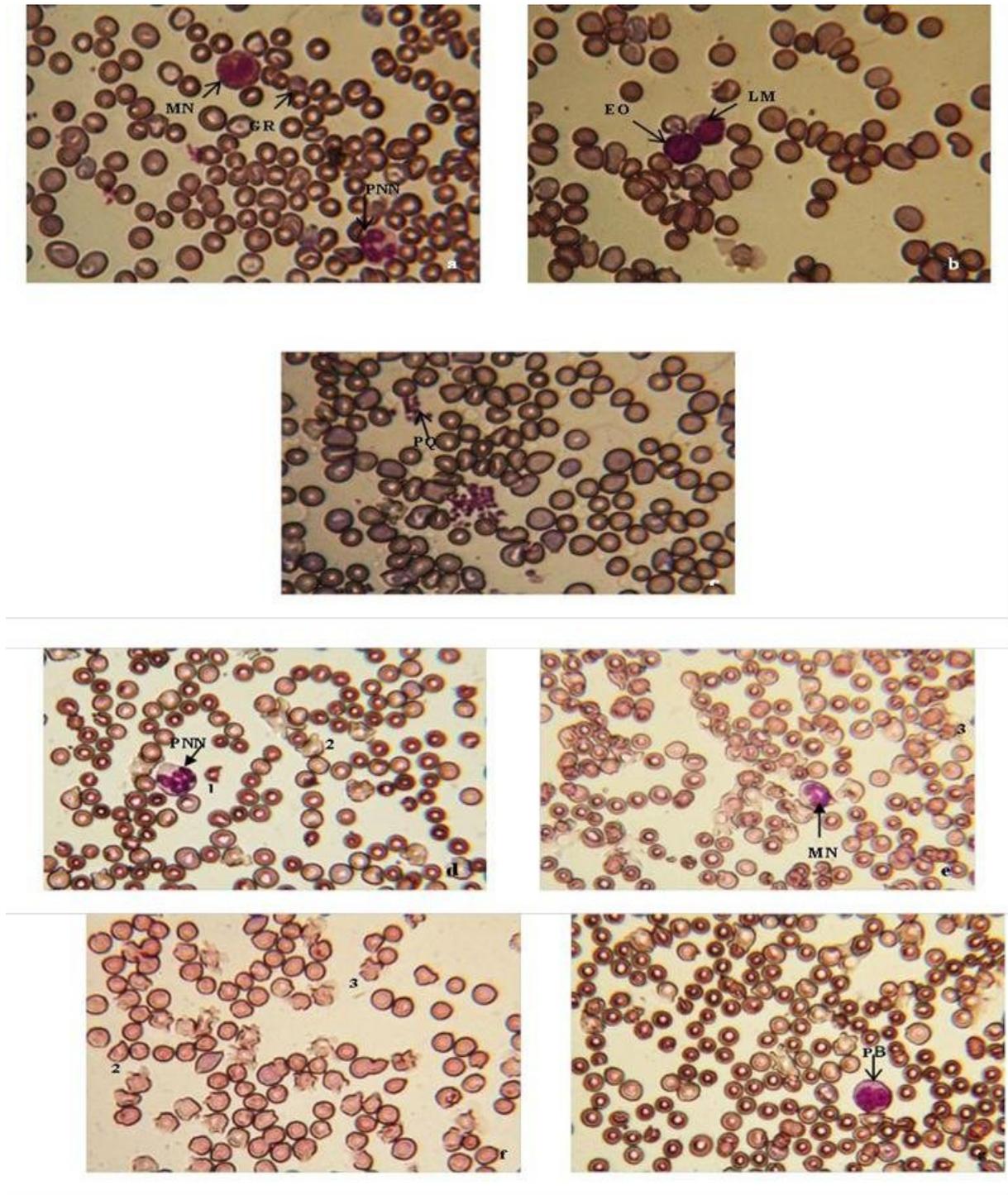


Figure. 54 : Frottis périphériques des lots : control et traité,

C (a,bxc400) ; M(d,e,f,g x400)

Les résultats cytologiques des frottis périphériques de lot M ont montrés des différentes anomalies structurales des hématies et des anomalies nucléaires des PNN.

Nous avons la forme Schizocytes (1) (Fig.54d) ou les hématies sont fragmentées en forme de casque ou de triangle, les Kératocytes (2) (Fig.54d,f) en forme de chapeau qui présente un ou plusieurs spicules résulté d'une rupture d'une vacuole, les Echinocytes (3) (Fig.54e,f) en forme d'oursin, ce sont des érythrocytes régulièrement crénelés .

Zini .G *et al.*,(2012) ont liées ces anomalies aux traumatismes mécaniques causés par des anomalies structurelles du cœur et des gros vaisseau, et aux maladies hépatiques .au propos de ces résultats on peut démontrés que l'administration d'une doses angiotoxique de la méthionine qui a exercé un effet toxique sur le cœur résulte d'une altération du muscle cardiaque et sur l'aorte par une dégénérescence de la couche endothéliale (d'après les résultats relatifs à l'histologie cardiaque et aortique), cette surcharge en méthionine a affecté aussi le foie et a engendré une nécrose hépatique (constatations prouvées par l'étude histologique).

L'histologie splénique de lot M montre une hypertrophie de l'organe. Lorsque le volume de la rate augmente trop de cellules sanguines et de plaquettes sont retenues par elle , ce qui provoque une diminution de leur concentration dans le sang (résultats prouvés par le bilan hématologique). Il se produit un cercle vicieux, puisque plus la rate retient des cellules sanguines, plus elle augmente de volume et plus elle retient des cellules et des plaquettes, finir par obstruer la rate et empêcher son bon fonctionnement.

Cette hypertrophie va conduire aussi à la rétention de globules rouges, que la rate va détruire (comme elle le fait pour les cellules sanguines anormales ou endommagées).

5.2-Les frottis médullaires :

Le frotti médullaire appartient au lot C montre la présence de diverses cellules de la lignée myéloïde, un myélocyte (**M4**), un polynucléaire neutrophile segmenté (**PNN**) ; et de la lignée mégacaryocytaire (**MC**), et un monocyte (**MN**) (Fig.55a).

Par ailleurs chez le lot M le frottis médullaire apparait sous une forme moins condensées caractérisé par la présence des polynucléaires neutrophiles hypersegmentés (**PNN**) et de monocyte (**MN**) (Fig.55b) .

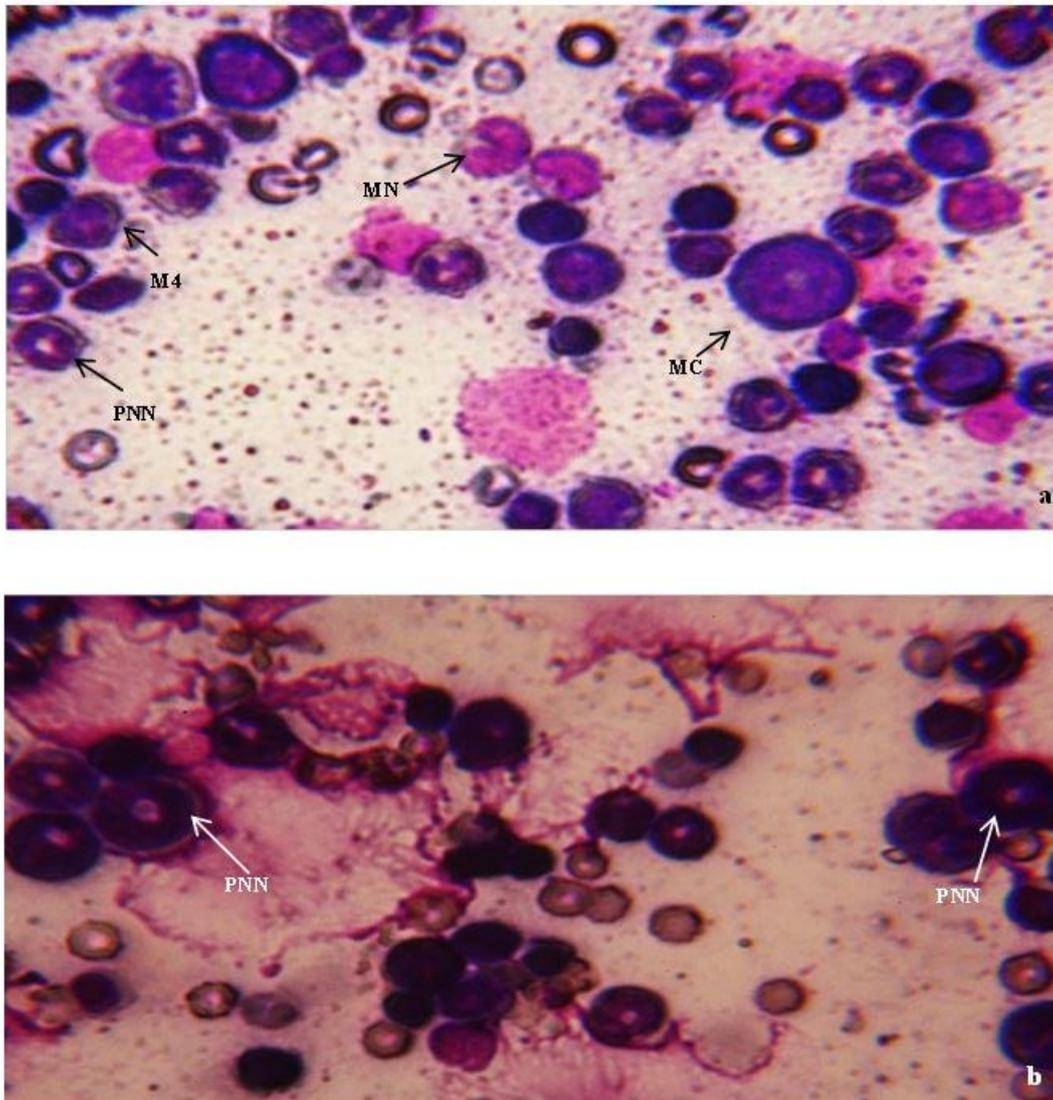


Figure. 55 : Frottis médullaires des lots : control et traité ;

C (a x400) ; M(bx400)

L'administration d'une dose antitoxique de la L-méthionine augmente le taux de l'homocystéine, d'après Watine et al., (2011), l'augmentation du taux de l'homocystéine diminue le taux de la vitamine B12 ce qui engendre des effets pathologiques sur la moelle osseuse voir l'hématopoïèse, et cette carence en vitamine B12 devient l'origine des anomalies nucléaires des PNN.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ingestion d'une dose angiotoxique de méthionine a engendré chez notre modèle animal un état d'hyperhomocystéinémie aboutissant au développement des lésions d'athérosclérose et l'initiation d'un processus inflammatoire déterminé par une élévation de la CRP et des protéines totales ainsi que par une augmentation des neutrophiles et une dyslipidémie caractérisée par une triade métabolique athérogène incluant une élévation des triglycérides, une baisse du HDLc et un excès de la fraction des LDL petites et denses.

La composition cellulaire et conjonctive de l'intima des artères a subi des modifications physiopathologiques dont l'observation d'un épaissement endothélial et la formation des cellules spumeuses, ceci est dû à l'action angiotoxique de l'HCy sur l'endothélium, ce dernier induit une oxydation des LDLc qui pénètrent et s'accumulent dans l'endothélium, ces LDLox seront phagocytés par les macrophages dont la formation des cellules spumeuses, de plus l'HCy induit une perturbation des profils lipidiques dont l'étude biochimique a révélé une dyslipidémie traduite par une diminution des lipoprotéines antiathérogènes (HDLc), associée à une augmentation des TG et des lipoprotéines proathérogènes (LDLc).

L'administration de la méthionine altère fortement la structure histologique du foie ceci est observé par la présence d'une stéatose hépatique et confirmé ainsi par une augmentation des transaminases (ALAT et ASAT). Cette dose élevée de méthionine a largement prouvé sa toxicité sur les organes lymphoïdes dont l'observation accrue d'une involution thymique, d'une inflammation de la rate, ainsi qu'une diminution du taux des lymphocytes et aussi l'observation des modifications hématologiques.

La bonne connaissance des mécanismes inflammatoires et histopathologiques de l'athérogenèse ouvre des perspectives très promotrices dans la diminution du risque athérogène et la prévention des maladies cardiovasculaires ainsi que la prévention d'un dysfonctionnement au niveau du système immunitaire en attaquant les différentes étapes du développement de processus athéromateux en utilisant probablement :

- des anticorps anti-LDLox pour inhiber la formation des cellules spumeuses.
- des suppléments vitaminiques (Vit C et E) qui ont des effets antioxydants ce qui réduit le stress oxydant imposé par l'Hcy sur la composante cellulaire.
- des antagonistes sélectifs aux récepteurs du glutamate NMDA pour bloquer la toxicité de l'AH sur les lymphocytes.

Liste des références :

1. A.M. Devlin et S.R. Lentz, ApoA-I, A Missing Link Between Homocysteine and lipid metabolism?, *Circ. Res* 2006; 98 : 431-433.
2. AggounC, LamdaS, Naimi D. Methionine supplementation induces thymus vegf-a expression and Hematological changes in rats, 2015;7 (2) : 234-238.
3. Akchiche,N. Conséquences d'une carence en donneurs de méthyles sur la différenciation cellulaire ,la survie et la neuroplasticité : approches mécanistiques in vitro sur des lignées neuronales. 2009.
4. Anderson A, Hultberg B, Brattstrom L, IsakssonA. Decreased serum homocysteine in pregnancy .*Eur J ClinChemClinBiochem*. 1992; 30 : 377-379.
5. Baéza, Marie-Etancelin, Davail, Diot. la stéatose hépatique chez les palmipèdes. 2013; 26 (5) : 403-414.
6. Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, SzarekM, Grundy SMetal.for the Treating to NewTargets Investigators. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2007; 357:1301-10
7. Barter. P.J., K.A. Homocysteine and cardiovascular disease is HDL the link? *Circ. Res*. 2006; 9 : 565-566.
8. Benditt E.P., Benditt J.M. 1973. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerosis plaques. *Proc NatlAcadSci USA* 70 : 1753-1756.
9. Blom HJ. Diseases and drugs associated with hyperhomocysteinemia, in *Homocysteine in health and Disease*.Carmel R and Jacobson DW Ed. 2001; 331-340, Cambridge University Press, UK.
10. Boldyrev AA, Bryushkova EA, Vladychenskaya EA. NMDA receptors in immune competent cells. *Biochem (Moscow)* 2012; 77(2):128-34.
11. Catargi B, Vemhet I, Parrot-Rouland F. Hormones et homocystéine. *Sang Thrombose Vaisseaux*. 2000; 12(9) : 564-568.
12. Cheng J, Kaplowitz N. Hyperhomocysteinemia, endoplas-mic reticulum stress, and alcoholic liver injury. *WGJ* 2004;10(12):1699—708.

13. De Bree A, Verschuren WMM, Blom H, De Graaf-Hess A, Trijbels FJM and Kromhout D. The homocysteine distribution: (mis) judging the burden. *J ClinEpidemiol*, 2001; 54: 462-469.
14. Delattre J, Durand G, Jardillier JC. Biochimie pathologique, aspects moléculaires et cellulaires. Ed Médecine et Sciences. 2003 ; Flammarion. 317pages.
15. Demuth K, Drunat S, Paul JL, Moatti N. Hyperhomocystéinémie et athérosclérose. *Med/Sci*. 2000; 16 : 1081-1083.
16. Durand P , Michel Prost , Denis Blache. rations du m tabolisme de l'homocystéine et maladies cardiovasculaires 1998, N ° 307.
17. Edition Ellipses marketing S.A., 2010 : p 130-131
18. Edition :de boecksuperieur s .a.,2013 : P14-16
19. Eric Espinosa ,Pascal Chillet :Immunologie
20. Eric P. Widmaier, Hershel Raff, Kevin T. Strang. Physiologie humaine 6ème édition, MALON,France; 2013.
21. Fabricant C.G., Fabricant J., Litrenta M.M., Minick C.R. 1978. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med*148 : 335-340.
22. Finkelstein JD, Kyle W, Harris BJ. Methionine metabolism in mammals. Regulation of homocysteinemethylenetransferases in rat tissue.*ArchBiochemBiophys*. 1971; 146 : 84-92.
23. Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, arisk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *ArteriosclerThromb* 1993;13:1327–33.
24. G. Chwatko, G.H.J. Boers, K.A. Strauss, D.M. Shih et H. Jakubowski, Mutations in methylenetetrahydrofolatereductase or cystathionine-syntase gene, or a high-methionine diet, increase homocysteinethiolactone levels in humans and mice, *F.A.S.E.B. J.*, 2007; 21 : 1707-1713.
25. Gilbert A., Lion G. 1889. Artérites infectieuses expérimentales. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie* 41 : 583-584.

26. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, GoorenLJ, Asschemen H, Stehouwer CD.
Effects of sex steroids on plasma total homocystéine levels : a study in transsexual males and femals.ClinEndocrinolMetab. 1998; 83 : 550-553.
27. Girard-Mauduit. S. The lipid triad, or how to reduce residual cardiovascular risk?.2010; 71 : 89–94.
28. Goldman D.S.- Cholesterol revisited. Molecule, medicine and media.
Arteriosclerosis, 1989 ; 9 : 430-438.
29. Guillan J.-C., Favier. A., Potier G. de Courcy, P. *et al*; L'hyperhomocystéinémie :
facteur de risque cardiovasculaire ou simple marqueur ?1.Données fondamentales.
Pathologie Biologie. 2003 ; 51 : 101-110.
30. Hélène Lelonga, Sandrine Kretza, Jacques Blachera. Protéine C réactive,
homocystéine et risque cardiovasculaire. 2012 ; 439.
31. Janaki S. Coffee intake on homocysteine and CVD: review article. Medical Science,
2015; 16(65) : 24-28
32. Jean Clos:l'immunité chez les animaux et les végétaux Edition :lavoisier sas 2012
33. Jean-Louis Paul, Bruno Baudin. Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs
précoces. 2009 - N°409.
34. Jean-pierre cornec :immunité des métazoaires
35. Kapoor, M., Ansari, M.N., Bhandari, U. Modulatory effect of curcumin on methionie-
induced hyperlipidemia and hyper homocystéinémie in albinos rat. Indian J. Exp.
Biol. 2008; 46 :534-540.
36. Koehler KM, Baumgartner RN, Garry PJ, Allen RH, Stabler SP and Rimm EB.
association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to
vitamin supplementation and alcohol use. Am J ClinNutr, 2001; 73: 628-637.
37. Laurent PEYRIN-BIROULET.Déterminants génétiques et nutritionnels de
l'homocystéine au cours des maladies inflammatoires chroniques
intestinales.2008 ;Université Henri Poincaré- Nancy-I. FACULTE DE MEDECINE.
38. LussierCacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J and Genest J. Plasma
total homocysteine in healthy subjects: sex specific relation with biological traits. Am
J ClinNutr, 1996; 64 : 587-593.

39. Martine Glorian , Isabelle Limon .L'athérosclérose une maladie inflammatoire. 2007 ; N ° 389.
40. Mashkina AP, Cizkova D, Vanicky I, Boldyrev AA. NMDA Receptors are expressed in lymphocytes activated both in vitro and in vivo. *Cell MolNeurobiol* 2010; 30:901-7.
41. McCully K.S. Vascular pathology of hyperhomocystenemia implication for the pathogenesis of arteriosclerosis. *AM. J .Pathol.* 1969; 56 :111-28.
42. Mohamed, M. I., Aldahaby, M.A., Kamal, A.M. The association between some incidental factors and biochemical parameters linked to atherogenesis. *Arab J. Nucl. Sci. Appl.* 2008; 41 (3) : 246-257.
43. Monnier L, Avignon A, Colette C, Piperno M. Prevention primaire nutritionnelle et medicamenteuse de l'athérosclérose. 1999 ; 20 Suppl 3 : 360-70.
44. Olthof MR, Hollman PC, ZockPL,Katan MB. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in human.*Am J ClinNutr.* 2001 ; 73 : 532-538.
45. Peyrin-Biroulet L. L'homocystéinémie , un nouveau marqueur de sévérité dans les MICI ,Service d'hépatogastro-entérologie, CHU Nancy-Brabois, et laboratoire Inserm U724. *V.* 2007 ; 14(2) :56-149.
46. R. Obeid et W. Herrmann, Homocysteine and lipids: S-Adenosyl methionine as a key intermediate, *F.E.B.S.*, 2009, 583 : 1215-1225.
47. Refsum H, Ueland PM. Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *Trends PharmacolSci.* 1990; 11 : 411-416.
48. Régis L. Tissu osseux et hyperhomocystéinémie Bone tissue and hyperhomocysteinemia .2009 ; 390–396.
49. Rolland P.H, Friggi. A, Barlatie.r A, Piquet. P.*et al*; Hyperhomocysteinemia-Induced Vascular Damage in the Minipig. Captopril-Hydrochlorothiazide Combination Prevents Elastic Alterations, *Circulation.*1995; 91 : 1161-1174.
50. Ross R.-Atherosclerosis is an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999; 340:115-126.
51. Shi W., Haberland ME., Jien ML., Shih DM., Lusis A.J.- Endothelial responses to oxidized lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. *Circulation*, 2000 :102 :75-81.

52. Smach M.A. , Naffeti. S, Charfeddine. B, J. Ben Abdallah, L.B. Othmen, A. Letaef, K. Limem. Homocystéine, vitamine B12 et acide folique dans le déclin cognitif chez les personnes âgées .2013 ; 184–192.
53. Steinberg D., Parthasarathy S., Carew TE., Khoo J.C., Witztum J.L.- Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Engl J Med, 1989 : 320 : 915-924.
54. Vanessa PICARD. Les excès en homocystéine et les carences en vitamines B : intérêt d'une supplémentation vitaminique et rôle du pharmacien en officine. 2009 ;UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1 FACULTE DE PHARMACIE.
55. Velez. W -Carrasco, Merkel. M, C.O. Twiss, J.D. Smith, Dietary methionine effects on plasma homocysteine and HDL metabolism in mice, J. Nut. Biochem., 2008; 19(6) : 362-370.
56. Virchow R.-Phlogose und ThromboseimGefasssystem. In :GesammelteAbhandlungenzürwissenschaftlichenMedizin. F MeidingerSohn and Company, Frankfurt-am-Main, 1856 : 458-521.
57. Voutilainen. S., Morrow J.D. , Roberts L.J. *et al*; Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1999 ; 19 : p. 1263-1266.
58. Wieland H, Seidel D, V. Wiegand*et al*;Serum lipoproteins profile and coronary artery disease (CAD). Comparaison of the lipoprotein profile with the results of coronary angiography, Atherosclerosis, 1980; 36 : p. 269-280.
59. Xavier ROBLIN, Joanna POFELSKI, Jean-Pierre ZARSKI. Rôle de l'homocystéine au cours de la stéatose hépatique et de l'hépatite chronique C. 2007; 31:415-420.
60. Yagisawa. M, Okawa. N, ShigematsuN *et al*; Effects of intravenous betaine on methionine-loading-induced plasma homocysteine elevation in rats, J. Nutr. Bio., 2004; 15: 666-671.

Annexes

Protocol de la préparation des colorants May-Grunwald Giemsa (MGG):

	May-Grünwald(MG)	Giemsa
	Peser 0.75g de la poudre du MG	Peser 0.6g de la poudre du Giemsa
	Faire un broyage à l'aide d'un mortier	Faire un broyage à l'aide d'un mortier
	A l'aide d'une éprouvette mesurer 200ml de méthanol et faire dissoudre la poudre de MG	A l'aide d'une éprouvette mesurer 65ml de méthanol et faire dissoudre la poudre du Giemsa
	Incubation de dans l'étuve a T=50°C pendant 5 min	-
	Agiter pendant 01 heure	Agiter pendant 3 à 4 minutes

	<p>—</p>	<p>Ajouter de 65à70ml du glycérol</p>
	<p>Laisser décompter 2 à 3 jours en remuant 3 fois /jour</p>	<p>Décomptage 3 jours en remuant 3fois par joursdans un flacon bien fermé en évitant les réactions lumineuses</p>
<p>Filtration</p>	<p>On utilisant le papier wattman N°1</p>	<p>On utilisant le papier wattman N°1</p>

3. Dilution :

Le fixateur MG doit être utilisé sans dilution, par contre le Giemsa est dilué à 1/10^{ème}

-10ml du Giemsa

-10ml de l'éthanol

-80ml de l'eau distillée

ملخص :

لقد أظهرت العديد من الدراسات في العقود الأخيرة أن ارتفاع نسبة الهوموسيستين في الدم ما يعرف بارتفاع الهوموسيستين الدموي يرتبط مع تصلب الشرايين. من خلال التجارب المنجزة على النمودج الحيواني المستعمل (الجرد).

بهدف تثبيت حالة ارتفاع الهوموسيستين في الدم، تم تقسيم الحيوانات الى مجموعتين، مجموعة شاهدة واخرى معالجة من خلال اتباع نظام غذائي مشبع بالميثيونين لمدة 21 يوما والهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير ارتفاع الهوموسيستين في الدم على تطور اعراض تصلب الشرايين واستكشاف ميزة تأثير هذه الحالة على الأجهزة اللمفاوية الأولية والثانوية.

جرعة الميثيونين السامة التي طبقت على الحيوانات أطرات عدة تغيرات في مكونات الدم (العدلات، الصفائح الدموية، الخلايا اللمفاوية)، الدهون (HDL، TG، CHT)، والكبد (ALT، AST)، والتهاب (CRP، البروتين الكلي) إضافة الى التغيرات التشريحية المرضية لهيكل الشريان والقلب والكبد والطحال والغدة الصعترية.

الكلمات المفتاحية:

ارتفاع الهوموسيستين في الدم، تصلب الشرايين، الالتهاب، الأجهزة اللمفاوية الأولية والثانوية، الجرد

Abstract :

During the last decades, several studies showed that hyperhomocysteinemia is associated with atherogenesis, we have also demonstrated this association in the rat.

Our study allowed to install a state of hyperhomocysteinemia, resulting from oral administration of methionine in high doses for 21 days, the animals were divided into two groups. The experimental group (M) and the control (C).

The aim of this work is to study the effect of hyperhomocysteinemia induced in rats on the development of atherogenesis and further to explore the impact of this condition on primary and secondary lymphoid organs.

In the present study, it has been found that an excess of methionine intake have caused several modifications on hematological (neutrophils, platelets, lymphocytes), lipid (CHT, TG, HDL, LDL cholesterol), hepatic (AST, ALT), and inflammatory parameters (CRP, total protein.) and also histopathological changes in the structure of the heart, aorta, liver, thymus and spleen.

Key-words:Hyperhomocysteinemia ,Atherogenesis;Inflammation ; Primary and secondary lymphoid organs; Rat .

Master 2

Immunologie moléculaire et cellulaire: oncologie

Nom : Kezih Prénom : Lamia

Nom : Lashab Prénom : Sana

Année Universitaire : 2014-2015

Intitulé :

Evaluation du profil inflammatoire et histopathologique de l'athérogenèse chez le rat hyperhomocystéinémique : implication aux organes lymphoïdes primaires et secondaires

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

Résumé

Durant les dernières décennies, plusieurs études ont montré que l'hyperhomocystéinémie est associée à l'athérogenèse, nous avons également mis en évidence cette association chez le Rat.

Un état d'hyperhomocystéinémie est installé par un régime supplémenté en méthionine durant 21 jours, les animaux sont répartis en un groupe control (C) et un autre traité (M).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet d'hyperhomocystéinémie, sur le développement de l'athérogenèse et d'explorer d'avantage l'impact de cet état sur les organes lymphoïdes primaires et secondaires.

La dose angiotoxique de méthionine a induit chez notre modèle animal, des modifications sur les paramètres hématologiques (neutrophiles, plaquettes, lymphocytes), lipidiques (CHt, TG, HDLc, LDLc), hépatiques (ASAT, ALAT), inflammatoires (CRP, protéines totales) et ainsi que des modifications histopathologiques sur la structure de l'aorte, cœur, foie, rate et thymus.

Mots clés : Hyperhomocystéinémie, Athérogenèse, inflammation, Organes lymphoïdes primaires et secondaires, rat.

Date de Soutenance : le 02/07 /2015