

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



MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département: Biologie
Spécialité: Régulation endocrinienne et physiopathologie

Impact d'un régime hyperlipidique sur les modifications structurelles et de la muqueuse intestinale et sur les paramètres biochimiques chez les rats wistar.

Présenté par :

M^{elle} Belili Aida & M^r Mekki Hichem

Soutenu le 27 juin 2016, devant le jury composé de :

Président : Mr BOUSSOUBEL A. MAA

Promoteur : Mr SAHRAOUI A. MCB

Examineurs :

Mr CHAOUAD B. MAA

Mme BENKHEROUF A. MAA

Année universitaire : 2015-2016

Remerciement

En premier lieu, nous tenons à remercier le Dieu tout puissant qui nous a donné la force et le courage d'aller jusqu'au bout de nos études.

Nous adressons notre remerciements les plus sincères à notre encadreur **Dr : SAHRAOUI Abd Elhamid** de nous avoir accordé sa confiance et permis de réaliser ce travail avec nous. Merci également pour sa disponibilité, sa patience et sa bonne humeur constantes qui ont rendu ce travail très agréable et enrichissant, et ainsi que pour sa rigueur scientifique.

Nous exprimons ensuite notre estime et notre remerciements aux membres de jury :


Nous remercions chaleureusement à Monsieur : **BOUSSOUBEL Abd Elkader** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Nos sincères remerciements vont aussi à Monsieur : **CHAOUAD Billel** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail. Nous tenons également à remercier, pour son accueil dans le période de pratique. Nous vous remercions pour tous vos conseils.

Nos sincères remerciements vont également à Madame: **BENKHEROUF Amina**, d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail.

Nos remerciements à toute l'équipe de laboratoire de la Zoologie au Département de Biologie, Université de Khemis miliana.

Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce modeste travail.



Dédicaces

Je dédie cette mémoire et tout mon travail dans le passé et le futur, à mes parents, qui m'ont toujours soutenu et entouré de leur amour sans mes mettre de pression, qui ont su être présents quand il le fallait et me laisser vivre ma vie petit à petit... Merci et mille fois merci, à tout le soutien moral, Pour leur confiance sans cesse réaffirmée et leurs encouragements.

A mes très merveilleuses sœurs, surtout Khadidja que j'aime beaucoup

A mes frères surtout moussa, Merci pour votre conseil et votre soutien

A la famille Djili Laide et ses enfants et je vous remercie pour votre soutien

A mon fiancé Abdone Fathi Pour m'avoir aidée avec ses encouragements quotidiens, et sa famille.

A tous les enseignants qui ont contribué à mon apprentissage que ce soit de primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.



A mes très chères amies : Oum Alkhayr, Hinde et sa famille, ainsi que Hayet, Djamila, Wafaa, Bakfieta, Sarah, Ratiba et naoual.

A mon binôme Hichem

A tous nos amies et collègues de 2ème année Master, biologie et physiologie animale. 2015/2016



AIDA



*Je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir
Donné le courage et la force pour réaliser ce modeste mémoire
Je le dédie à :*

*A ceux qui sont mon exemple de la réussite, que j'aime et que je respecte, qui m'ont
donné de l'amour du soutien et de la force :*

*Mes très chers parents que Dieu vous protège et vous donne une longue et heureuse
vie*

*Mes très chères sœurs: Nadia, Amina, Fatima Elzahra et Chahd
MON frère: Mohamed Amir*

*À tout ceux et celles qui mon encouragés durant les moments difficiles avec tant
d'amour et de compréhension.*

Mes grands parents (SIDI ET JADATI) que j'aime de tout cœur

Mon adorable famille

Mes amis chacun (e) de son nom surtout mon cher intime Mimo

JE VOUS AIME aussi

*Et bien sur, une spéciale dédicace à A Ma sœur AIDA pour leur bonne humeur et
pour des moments jamais oubliables je t souhaite une heureuse vie
A tous les étudiants de 2ème année master REP Merci mille fois pour tout ce que j'ai
partagé avec vous*

Tous les gens qui m'ont donné l'aide de près et de loin



Hichem

Résumé

L'intestin a été longtemps considéré comme une simple barrière passive douée d'une grande capacité d'absorption des acides gras à longue chaîne (AGLC), qui exercent des fonctions primordiales au sein de l'organisme. Il est bien connu qu'une alimentation riche en lipides pourrait participer à la mise en place des dyslipidémies qui sont considérées comme les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. L'ensemble des constats suggère que l'intestin grêle pourrait jouer un rôle primordial dans l'étiologie du syndrome métabolique causé par cette alimentation déséquilibré puisqu'il conditionne la biodisponibilité des lipides à l'organisme et qu'il participe à la régulation de la triglycéridémie. A cet effet, nous nous sommes intéressés aux répercussions d'un régime hyperlipidique sur la structure épithéliale de l'intestin chez le rat. Pour cela, nous avons soumis des animaux (Rat Wistar) au régime hyperlipidique à base de jaune d'œuf pendant 2 mois.

A la fin de l'expérimentation, l'analyse du profil plasmatique a montré une perturbation de la glycémie et du bilan lipidique marqués par l'augmentation du glucose, des triglycérides, de cholestérol total et la diminution des lipoprotéines protectrices HDL-cholestérol. De plus, l'analyse histologique de la muqueuse intestinale a montré un changement de son architecture marqué par la perte de la structure villositaire avec mise en place d'un œdème interstitiel, l'accumulation du tissu conjonctif au niveau du chorion et à la base des glandes de Lieberkühn, la présence des foyers hémorragiques. Ces altérations structurelles sont compliquées par l'installation d'une réaction inflammatoire et l'infiltration des gouttelettes lipidiques.

En définitive, l'administration d'un régime hyperlipidique a engendré des altérations morphologiques, la mise en place de dépôts lipidiques ainsi que de dépôts conjonctifs. De plus, l'installation d'une réaction inflammatoire. Ceci conduirait à la perte de la fonctionnalité de l'intestin

Mots clés :Hyperlipidique,Jaune d'œuf ,L'intestin,L'obésité ,Wistar.

Résumé

Abréviations

Introduction

Rappelles bibliographique

Chapitre I. les lipides et leur métabolisme

I. Les lipides et leur métabolisme	02
1. définition	02
2. Les lipoprotéines : structure et définition.....	03
3. Les différentes lipoprotéines et de leur constituants	04
3.1. Les chylomicrons.....	05
3.2. Lipoprotéines de très faible densité (VLD).....	05
3.3. Lipoprotéines de densité intermédiaires (IDL)	05
3.4. Lipoprotéines de faible densité(LDL)	05
3.5. Lipoprotéines de haute densité (HDL)	06
4. La Lipoprotéine Lipase (LPL).....	06
5. Métabolisme des lipoprotéines	07
5.1. La voie exogène	07
5.2. La voie endogène	08
5.3. Le transport inverse du cholestérol (Voie de retour)	09
Chapitre II. L'intestin	10
1. Physiologie de l'intestin grêle	10
2. Les différents types cellulaires de l'épithélium intestinal	12
3. La physiologie de la barrière intestinale.....	12
4. Rôle de l'intestin grêle	14
Chapitre III. Le microbiote intestinal	15

2. Effets d'un régime riche en lipides sur le microbiote intestinal	15
3. Obésité , microbiote et barrière intestinale	16
CHAPITRE IV. Matériel et méthodes.....	17
I. Matériel biologique	17
1. Animaux	17
1.1. Régime alimentaire	17
1.1.1 Régime standard de laboratoire	17
2. Protocole expérimental et la constitution des lots:.....	19
3. Techniques opératoires et analytiques	20
3.1. Poids des animaux, sacrifice et prélèvement des organes	20
4. Techniques analytiques	21
5. Etude histologiques de l'intestin	24
5.1. Fixation	24
5.2. Déshydratation	24
5.3. L'inclusion et l'enrobage	25
5.4. Réalisation des coupes et l'étalement sur des lames	25
5.5. La coloration :.....	26
5.6. Observation des coupes	26
Résultats et Discussion	
1. L'évolution du poids corporel	27
2. Evolution des paramètres biochimiques plasmatiques	28
2.1. La glycémie	28
2.2. La triglycéridémie (TG)	29
2.3. La cholestérolémie :.....	29
2.4. Le HDL-cholestérol	30

3. Histologie du l'intestin des rats Wistar soumis témoins	31
4. Histologie du l'intestin des rats Wistar soumis au régime hyperlipidique.....	31
Discussion	36
1. poids corporel profil plasmatique.....	36
2. régime hyperlipidique et modifications morphologiques de la muqueuse duodénale	37
Conclusion et perspectives	38
Références bibliographiques	
Index	
Annexes	

AG	Acides gras
AGNE	Acides gras non-estérifiés
CM	Chylomicrons
CE	Cholestérol estérifié
CNE	Cholestérols non estérifié
EC	Ester de cholestérol
GLP-1	Glucagon like peptide 1
HDL	Lipoprotéines de haute densité
HL	Régime hyperlipidique
HS	Héparine sulfate
IDL	Lipoprotéines de densité intermédiaires
IMC	Indice de masse corporelle
LCAT	Lécithine cholestérol acyl –transférase
LDL	Lipoprotéines de faible densité
LPL	Lipoprotéine lipase
LPS	Lipopolysaccharides
LRP	Le récepteur-LDL et la protéine apparentée au R-LDL
PL	Phospholipides
R-LDL	Récepteur-LDL
TAG	Transport d'acides gras
TG	Triglycérides
VLDL	Lipoprotéines de très faible densité

Dans l'ensemble des pays développés et sous-développés, les habitudes alimentaires ont beaucoup plus changé au cours de la deuxième moitié du 20^{ème} siècle qu'au cours des siècles précédents (**Hercberg 1996**). L'évolution de l'alimentation a accompagné les transformations de notre société: modifications des modes de vie, évolutions sociologiques, développement socio-économique, progrès technologiques, changement des goûts des consommateurs et des modes de consommation. De nouveaux aliments ont été introduits, d'autres ont pratiquement disparu de la composition des repas. Manger beaucoup plus que ce qui est nécessaire pour couvrir les besoins énergétiques, avoir une activité physique insuffisante, consommer trop de lipides, notamment d'acides gras saturés, ou consommer trop peu de glucides complexes et de fibres, de vitamines ou de minéraux, avoir une alimentation déséquilibrée... accroît le risque de voir apparaître des maladies métaboliques et nutritionnelles telle que le diabète et l'obésité. Cette dernière est considérée comme une épidémie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) étant donné l'augmentation rapide du nombre d'obèses : le nombre de cas a doublé depuis 1980 (**OMS, 2008**). La contribution active de l'intestin dans l'utilisation post prandiale des lipides a été renforcée par les dernières données de la littérature qui démontrent que le métabolisme de synthèse des lipoprotéines intestinales est très régulable et en particulier par les lipides alimentaires eux-mêmes. Ces données démontrent que contrairement à ce qui était admis jusque-là, l'intestin n'est pas une simple barrière passive, capable d'absorber de grandes quantités de lipides, mais qu'il est capable d'adapter ses capacités d'absorption et la qualité des lipoprotéines sécrétées à la teneur en lipides du régime (**Xiang et al., 1999**). Il est de plus en plus admis que la teneur en lipides du régime s'accompagne de modifications des fonctions intestinales, affectant l'intégrité de la barrière, le microbiote et l'immunité locale. Notre objectif est de préciser l'impact d'un régime hyperlipidique sur la morphologie de la muqueuse intestinale chez le rongeur. A cet effet, nous avons soumis des rats au régime hyperlipidique pendant une durée deux mois. Au terme de laquelle nous avons analysé :

- Le profil plasmatique par le dosage de certains paramètres plasmatique tel que les triglycérides, le cholestérol total et les HDL- cholestérol
- Une analyse morphologique par une étude histologique dans le but de voir les différentes altérations de la muqueuse intestinale provoqué par ce régime.

Ce travail est organisé en deux parties :

La première partie, sectionnée en trois chapitres, un premier abordant l'état de connaissances sur les lipides, suivi d'un deuxième chapitre dans lequel on décrit l'intestin et le 3^{ème} chapitre, s'est consacré sur la physiopathologie de l'intestin,

La deuxième partie est consacrée à l'exploration de l'ensemble des expériences faites sur le rat *Wistar* regroupant le matériels et les différents procédés méthodologique, les résultats et la discussion suivie d'une conclusion et des perspectives.

Chapitre I. les lipides et leur métabolisme

I. Les lipides et leur métabolisme

1. Définition

Le terme de lipide ou matière grasse est une appellation générale qui regroupe toutes les molécules insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (*Mathieu et Fonteneau, 2008*). Les lipides sont des constitutifs de dépôts lipidiques dans la cellule qui peuvent avoir deux origines : exogène (provenant de l'alimentation) ou endogène (synthétisés par la lipogenèse). Les lipides alimentaires nouvellement synthétisés sont véhiculés dans la circulation sanguine, sous forme de lipoprotéines jusqu'aux différents tissus. L'entrée des lipides dans les tissus est possible grâce à une enzyme, la lipoprotéine lipase (LPL), qui libère les acides gras contenus dans les lipides et permet ainsi leur diffusion dans les tissus (*Hillgartner et al., 1995*).

Les graisses absorbées dans l'alimentation et les lipides synthétisés par le foie et les tissus adipeux doivent être véhiculés entre les différents tissus pour leurs utilisations ou leur stockage. Les lipides étant insolubles dans l'eau, leur transport dans un environnement aqueux comme le plasma sanguin est problématique. L'association de lipides non polaires, de lipides amphipathiques avec des protéines pour former des lipoprotéines miscibles dans l'eau permet de résoudre le problème du transport des graisses dans le sang (*Emmerich et al., 2000*). Un rôle fonctionnel dans la synthèse des eicosanoïdes et hormone stéroïdes (*Guimont, 1992*). Les lipides structuraux, entrant en particulier dans la composition des membranes cellulaires et les lipides de réserves, ayant pour rôle de fournir de l'énergie en cas de besoin (*Borel et al., 1997*).

Tableau I: classification générale des lipides (Mcardle *et al.*,2004).

Types de lipides	Exemples
1. Lipides simples : - Graisse neutre	- Triacylglycérol
2. Lipides composés : - Phospholipides - Glucolipides - Lipoprotéine	- Lécithine - Cérébroside - Chylomicrons
3. dérivés lipidique : - Acides gras - stéroïdes	- Acide palmitique - Cholestérol

2. Les lipoprotéines : structure et définition

Les lipides circulent dans le sang en association avec des protéines spécifiques sous forme de complexes appelés lipoprotéines qui sont généralement connues comme des agrégats micellaires avec des lipides hydrophobes situés dans le noyau et les molécules amphipathiques dans la surface (Kumpula *et al.*,2008). Les lipoprotéines sont généralement une structure sphérique dans laquelle le noyau est constitué de lipides très hydrophobes : les triglycérides (TG) et cholestérol estérifié (CE) (Figure 1). L'enveloppe est constituée de phospholipides (PL) cholériques, de cholestérols non estérifié (CNE) et d'apolipoprotéines (Legrand, 1997). Ces dernières ont une double fonction de structure et de régulation métabolique. Elles assurent la cohésion du complexe lipidique et sa solubilisation et agissent également comme activateurs des enzymes du métabolisme des lipides à la surface de ces lipoprotéines et aussi en tant que ligands pour des récepteurs à la surface cellulaire (Saïle et Taki,2007).

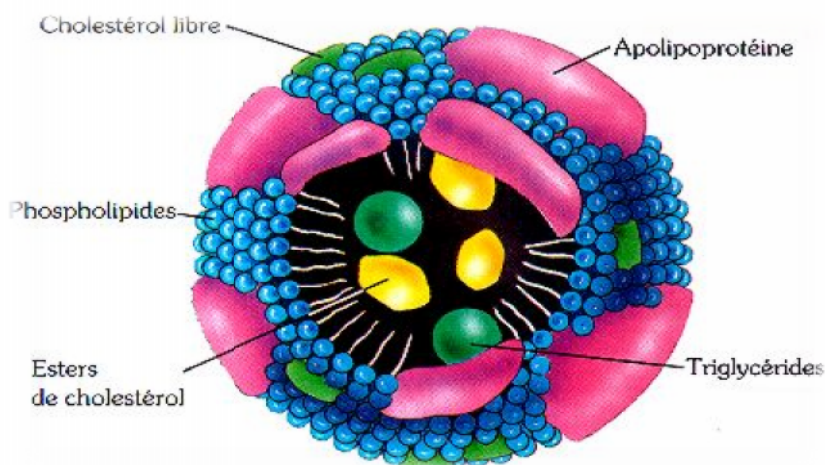


Figure 1. Structure générale des lipoprotéines (Rouffy *et al.*, 1983)

3. Les différentes lipoprotéines et leur constituants

Les lipoprotéines peuvent donc être divisées selon leurs propriétés physiques (taille et densité), mais aussi selon leur composition en lipides et protéines et selon leur fonction et sont classées en cinq grandes catégories en fonction de leurs propriétés, taille, densité, composition (Tableau II).

Tableau II. Caractéristiques des différentes classes de lipoprotéines (Schaefer et Levy, 1985 ; Murray *et al.*, 2000 ; Voet *et al.*, 2005) (Modifié).

Lipoprotéines	Lipoprotéines de basse densité				Lipoprotéine de haute densité (HDL)		
	Chylomicrons	VLDL	IDL	LDL	HDL1	HDL2	HDL3
Densité ($g\ cm^{-3}$)	<0.95	0.95 – 1.006	1.006- 1.019	1.019- 1.063	1.019– 1.063	1.063- 1.125	1.125- 1.21
Masse (kda)	400000	10000- 80000	5000- 10000	2300	175 - 360		
Sources	intestin	Foie intestin	VLDL	VLDL IDL	Foie ; intestin ; VLDL ; Chylomicrons		

3.1. Les chylomicrons : lipoprotéines impliqués dans le transport des lipides alimentaires

Les chylomicrons (CM) très riches en triglycérides alimentaires, présents uniquement en postprandial, fabriqués par l'intestin ; ils assurent le transport des lipides exogènes absorbés par l'intestin vers le foie (voie entéro-hépatique). À partir des chylomicrons progressivement épurés de leur contenu en triglycérides, on obtient une nouvelle particule appelée remnant qui sera captée par le foie ; Celui-ci constitue les VLDL (**Raisonnier, 2004 ; Fabrizio et Delphine, 2006**).

3.2. Lipoprotéines de très faible densité (VLDL) :

Les VLDL sont synthétisées par le foie et sont présentes dans le sang à jeun ou en postprandial, très riches également en triglycérides et contenant un peu de cholestérol. (**Gautier *et al.*, 2010**). La fraction protéique est composée d'Apo B-100, E, C-I, C-II et C-III. L'Apo B-100 est requise à l'assemblage et à l'intégrité structurelle du VLDL, alors que les autres Apo peuvent subir des échanges avec d'autres lipoprotéines (**Caignon, 2002**). La population de particules VLDL est hétérogène quant à la composition et à la fonction : la proportion des Apo peut varier d'une particule à l'autre (**Ginsberg *et al.*, 1999**). La composition elle-même varie à partir de la production du VLDL vers sa conversion en IDL au fur et à mesure que les lipases viennent hydrolyser les TG pour utilisation par les cellules (**Berneiset *al.*, 2002**).

3.3. Lipoprotéines de densité intermédiaires (IDL) :

Les IDL sont issues de l'hydrolyse des VLDL par les lipases (**Pownall et Gotto, 1999**) transportent principalement des esters de cholestérol, des triglycérides et sont composées d'ApoB-100, d'ApoE, d'ApoC-II et d'ApoC-III (**Vaubourdolle, 2007**).

3.4. Lipoprotéines de faible densité (LDL) :

Principal véhicule du cholestérol plasmatique. Les LDL sont issues des IDL et constituent la dernière classe de lipoprotéines de la cascade des lipoprotéines contenant l'Apo B-100. Par l'action des lipases, la particule VLDL originale, dans sa course vers la classe LDL, a perdu la majeure partie de ses TG et s'est ainsi retrouvée enrichie en EC (ester de cholestérol) (**Berneis et Krauss, 2002**).

3.5. Lipoprotéines de haute densité (HDL) :

Les particules HDL en circulation peuvent être divisées en trois catégories selon leur densité : les HDL naissantes, les HDL₂ et les HDL₃(**Pownall et Gotto, 1999**). Les HDL naissantes ont une forme discoïde stabilisée par les Apo. Elles sont sécrétées par le foie et l'intestin et sont dérivées des résidus d'hydrolyse des lipoprotéines riches en TG (CM et VLDL). Elles sont responsables du transport de retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie (**Eisenberg, 1999**)(Figure 2).

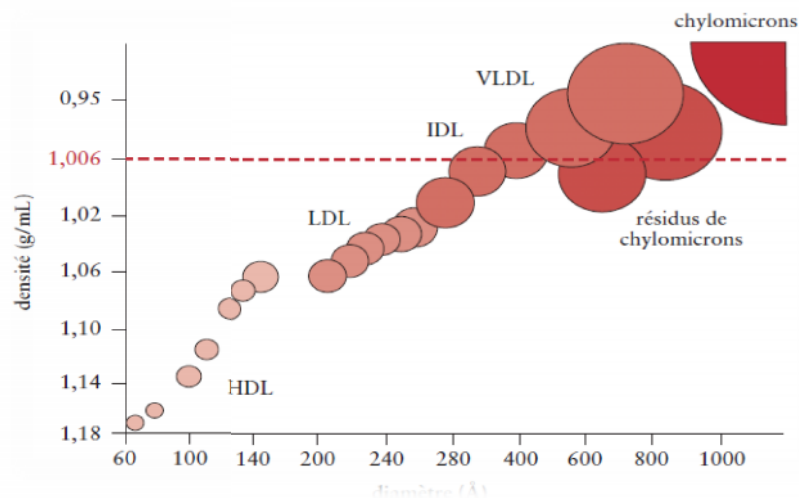


Figure 2.

Représentation des différentes lipoprotéines et la relation entre leur densité et leur taille(**Genest et Libby, 2012**).

4. La Lipoprotéine Lipase (LPL) :

Est une enzyme clé de l'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons et des VLDL. La LPL est synthétisée par le cœur, le muscle squelettique, le tissu adipeux, les glandes mammaires, les macrophages, la rate, le poumon et le rein(**Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006**). La LPL est une protéine de 475 acides aminés incluant un peptide signal de 27 résidus (**Meadetal.,2002**). Cette LPL est présente sur la surface des cellules endothéliales capillaires sous forme d'homodimère. Elle est liée aux membranes par des protéoglycaneshéparine sulfate présents en surface. La LPL a besoin de l'Apo C2 comme cofacteur pour être active.

La demi-vie de la LPL est inférieure à 2 h. La LPL catalyse l'hydrolyse des triglycérides et des phospholipides des VLDL et des chylomicrons en acides gras non estérifiés et en 2-monoacyl-glycérol pour l'utilisation tissulaire. Après l'hydrolyse, les lipoprotéines diminuent de taille et deviennent des remnant de chylomicrons ou de VLDL (**Merkeletal.,2002**)

5.Métabolisme des lipoprotéines :

Le métabolisme des lipoprotéines joue un rôle clé dans l'état normal ou pathologique. Les mesures relatives tels que le HDL cholestérol et le LDL cholestérol, sont utilisés en commun pour décrire le statut métabolique global de l'individu et le risque potentiel pour l'athérosclérose et les complications vasculaires (**Kumpula et al.,2010**).

5.1.La voie exogène :

Suite à l'ingestion de matières grasses, les lipides d'origine exogène vont être véhiculés par les chylomicrons qui sont synthétisés dans l'entérocyte. Suite à leur assemblage, les chylomicrons entrent dans la circulation sanguine(**Genest,2003 ; Verges,2007**).Une fois secrétés dans la lymphe méso-entérique, les chylomicrons rejoignent la circulation sanguine puis sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase (LPL), enzyme lipolytique ancrée à l'endothélium des capillaires sanguins (**Ceedmm,2011**).Au niveau des muscles et du tissu adipeux, les TG contenus dans les CM sont hydrolysés en acides gras libres par la lipoprotéine lipase (LPL) pour stockage ou production d'énergie(**Redgrave, 1999**).L'Apo C-II contenue dans les CM active la LPL, alors que l'Apo C-III en diminue l'activité. C'est donc le ratio entre l'Apo C-II et l'Apo C-III qui déterminera la rapidité à laquelle le CM sera transformé en résidu de CM. Puisque seuls les TG ont été hydrolysés, le résidu sera enrichi en EC et en Apo E. Il est à noter que l'Apo A-I, A-IV, C-II, C-III et E peuvent subir des échanges avec les autres classes de lipoprotéines et, si elles sont relâchées en circulation, elles peuvent servir de constituants de base pour la formation des HDL naissantes. Les résidus de CM sont captés par le foie via le récepteur-LDL et la protéine apparentée au R-LDL (LRP). Habituellement, il ne reste que de très bas niveaux de CM en circulation après environ 12 heures suivant un repas (**Packard et Shepherd, 1999**).

5.2. La voie endogène :

Quelques heures suivant un repas, lorsque la quantité de CM en circulation est faible, les besoins en TG des tissus périphériques sont assurés par les lipides synthétisés par le foie ou transitant par celui-ci, qui sont alors acheminés par les VLDL. De la même manière que les CM, les VLDL seront hydrolysées par la LPL dans les capillaires et l'activité LPL sera modulée par le ratio Apo C-II/Apo C-III (**Gagné et Gaudet, 1997**). La LPL est responsable du catabolisme des VLDL principalement situées dans les tissus adipeux et musculaires (**Brunzell et Deeb, 2001**). Entre 30 et 40% des VLDL circulantes sont hydrolysées par la LPL et transformées en lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) (**Zambonet al.,2003**). Les VLDL résiduelles sont retournées au foie. Normalement, 70% des IDL sont retournées au foie alors que les 30% restant sont hydrolysées en LDL par l'action de la lipase hépatique (**Olofsson et Boren, 2005**). Le processus catabolique de transformation des VLDL en IDL puis en LDL libère des acides gras libres qui seront captés par les muscles squelettiques, le foie ou le tissu adipeux.

Les LDL sont les principaux transporteurs de cholestérol dans la circulation sanguine (**Charlton et Durrington, 2008**). Les particules LDL en circulation vont être captées par les récepteurs des LDL qui reconnaissent l'Apo-lipoprotéine B100 à la surface. Cette étape est le début d'une série d'évènements qui mènera à la dégradation des LDL. Le cholestérol libre peut servir de constituant membranaire pour la cellule, il peut être stocké ou il peut simplement quitter la cellule via des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) (**Charlton et Durrington, 2008**) (**Figure 3**).

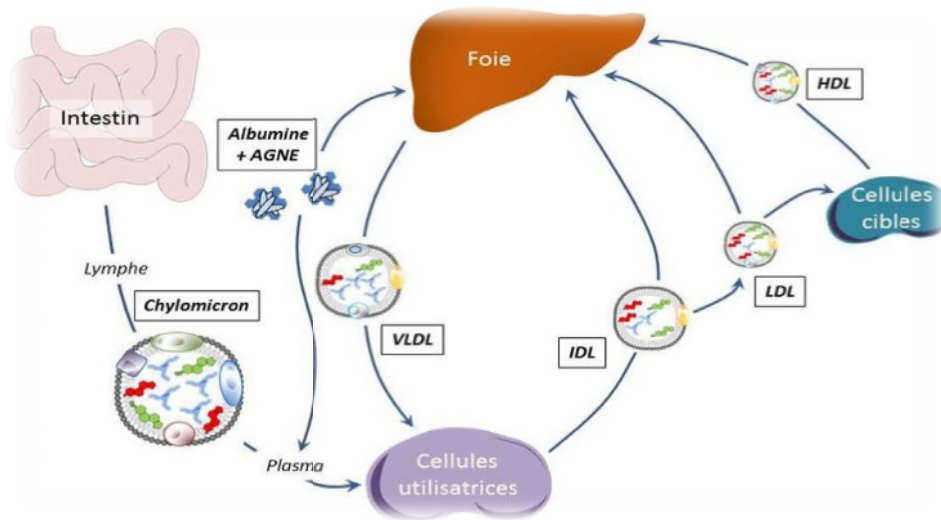


Figure 3. Transport des acides gras dans l'organisme (Mashek et Coleman, 2006).

AGNE: acides gras non-estérifiés; HDL: High density lipoproteins; IDL: intermediary density lipoproteins; LDL: low density lipoproteins; VLDL: very low density lipoproteins

5.3. Le transport inverse du cholestérol (Voie de retour) :

Le transport à rebours est la voie métabolique des HDL. La première étape de synthèse de ces lipoprotéines est effectuée dans le foie et dans le petit intestin qui fabriquent des petites particules discoïdales et appauvries en cholestérol (Lewis et Rader, 2005). L'efflux de cholestérol des cellules dépend d'une interaction entre l'ApoA-I du HDL et les récepteurs membranaires et, surtout, de la lécithine cholestérol acyl -transférase (LCAT). Cette enzyme plasmatique hydrolyse les lécithines des LP et produit des esters de cholestérol. Elle agit sur les HDL qui ont capté le cholestérol des membranes périphériques. Le HDL enrichi en ester de cholestérol à l'issue de l'action de la LCAT conduit le cholestérol vers le foie (Bruckert, 2014).

Chapitre II : l'intestin

L'appareil digestif s'étend de la bouche à l'anus, il comprend le tube digestif (bouche, pharynx, œsophage, estomac, intestin grêle et gros intestin), et ses annexes. Mais les parties les plus intéressantes dans notre étude: **l'intestin grêle**

1. Physiologie de l'intestin grêle

L'intestin grêle est un organe hétérogène, reliant l'estomac au gros intestin. Sa longueur chez l'homme adulte est d'environ 6 m. Cette partie est décomposé en trois segments successifs distincts qui présentent des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles différentes: le duodénum, le jéjunum et l'iléon(**Lee et Kaestner, 2004**). L'intestin grêle exerce deux fonctions: il achève la digestion du chyme provenant de l'estomac et absorbe les produits de cette digestion au niveau de ses nombreux replis (**Michel, 1999**).

La paroi de l'intestin possède plusieurs rôles comme l'absorption des nutriments et la protection contre les microbes présents dans la lumière intestinale(**Goldsby et Dunod, 2003**)La paroi intestinale (**Figure 4**) est composée de plusieurs couches: la couche la plus externe est la muqueuse et se compose de cellules épithéliales, avec une seule épaisseur de cellules reposant sur un chorion conjonctif appelé lamina propria. La muqueuse présente de très nombreuses excroissances de 0,1 à 0,8 millimètre de haut, nommées villosités, séparées par des parties plus creuses, nommées cryptes. Cette disposition accroît considérablement la surface fonctionnelle de l'intestin, qui dépasse 100 mètres carrés (**Minaireetal.,1990**).La sous-muqueuse supporte et attache la muqueuse aux couches musculaires sous-jacentes. La membrane séreuse recouvre la couche musculaire externe (**Budarfetal.,2009**).

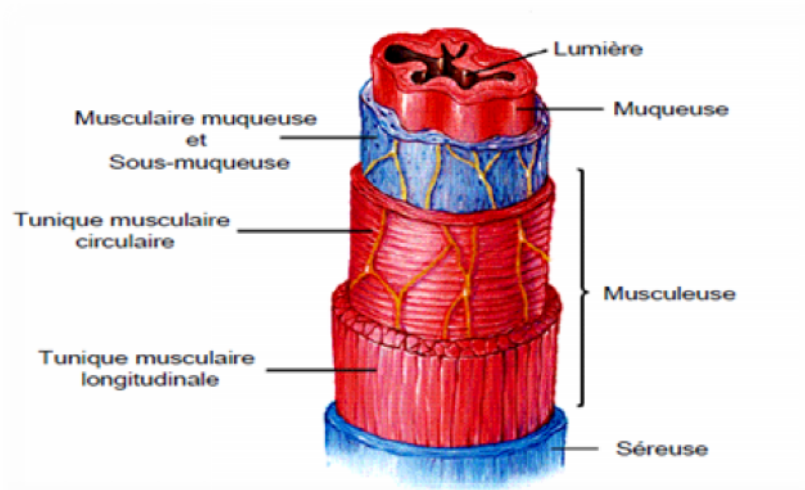


Figure 4 : Le tube digestif est constitué de 5 tuniques concentriques(Sylvia, 1997)

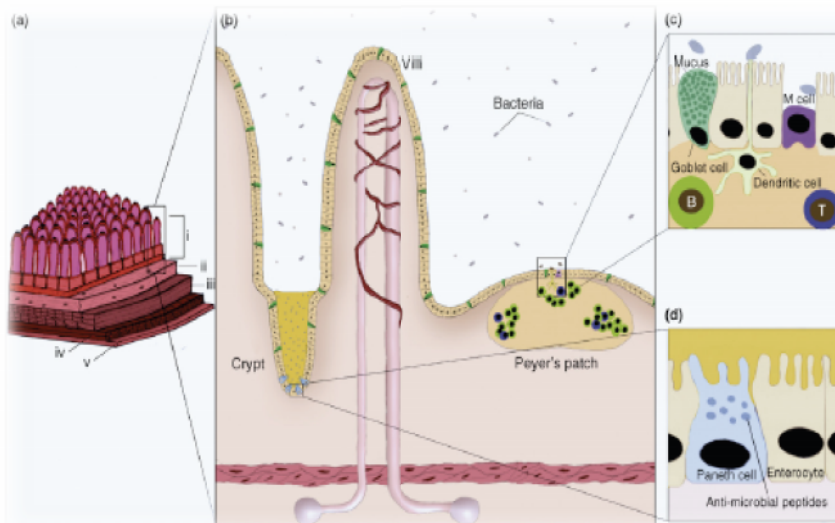


Figure 5 : La structure de l'intestin (Budarfetal.,2009)

La paroi intestinale est composée de plusieurs couches (a) : la couche la plus externe est la muqueuse et se compose de cellules épithéliales (b). La sous-muqueuse supporte et attache la muqueuse aux couches musculaires sous-jacentes (c). La membrane séreuse recouvre la couche musculaire externe. (d) L'épithélium est constitué de divers types cellulaires

2. Les différents types cellulaires de l'épithélium intestinal

L'épithélium de revêtement intestinal est un épithélium prismatique simple (Petzkeetal.,2000).L'épithélium intestinal est composé d'une monocouche de cellules comprenant quatre types cellulaires: les cellules de Paneth, qui se différencient en migrant au fond de la crypte, les cellules caliciformes, les cellules entéroendocrines et les entérocytes qui se différencient en migrant le long de la villosité (Cunliffe et Mahida, 2004) (Figure 6).

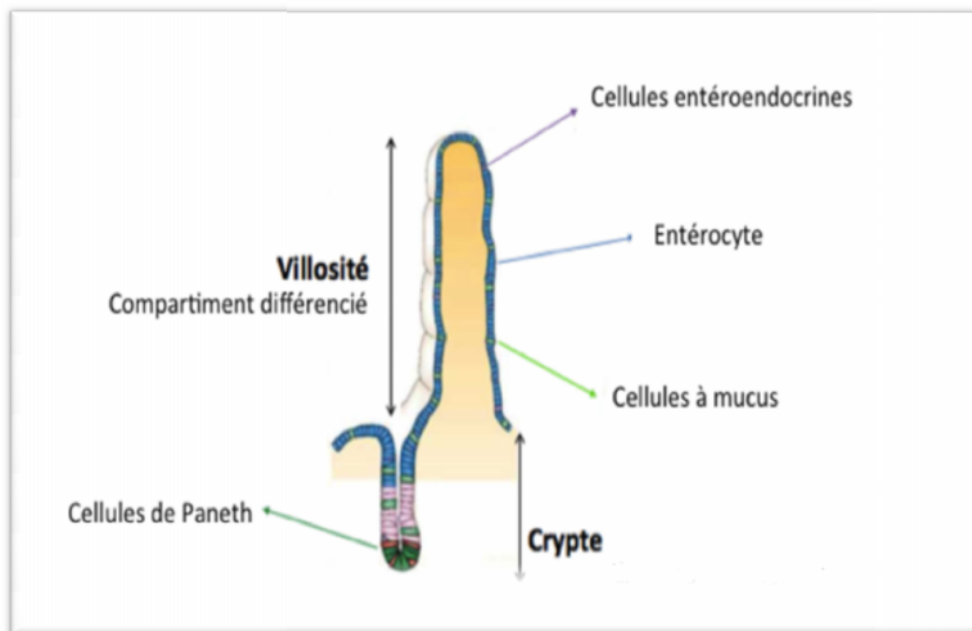


Figure 6 :Unité fonctionnelle de l'intestin : l'axe crypto-villositaire d'après (Crosnier, Stamataki et Lewis 2006).

La physiologie de la barrière intestinale

La barrière intestinale comprend des cellules épithéliales, des jonctions intercellulaires, ou *tightjunctions*, une flore microbienne équilibrée et une barrière immunologique(Farhadi *et al.*,2003).L'épithéliumintestinal est constitué de divers types cellulaires :

3.1.Les cellules épithéliales ou entérocytes :

Elles sont responsables de la fonction d'absorption intestinale par la présence d'une bordure en brosse véritable, sous unité fonctionnelle faisant face a la lumière intestinale elle-même constituée par des microvillosités régulièrement disposées (Brazier *et al.*,2002).

De plus, ils jouent un rôle important dans la défense non-spécifique en créant une barrière étanche contre l'invasion de la flore intestinale. Les entérocytes présentent à la surface apicale d'une membrane hautement sinueuse rappelant la forme d'une brosse (**Jang et al.,2004**). Cette structure permet d'augmenter la surface de contact de la muqueuse avec la lumière intestinale ce qui favorise l'absorption des nutriments (**Kolls et al.,2008**).

La durée de vie moyenne des entérocytes est courte, de sept jours dans le duodénum et le jéjunum, de trois jours dans l'iléon. Les agressions par des éléments intra-intestinaux abrègent leur vie, mais le renouvellement est rapide à partir des cellules souches. Les entérocytes sont soudés les uns aux autres par trois types de jonctions(**Minaire et al.,1990**),les jonctions serrées, les jonctions intermédiaires ou adhérentes et les desmosomes.

3.2. Les cellules de Paneth

Elles sont situées au fond des cryptes. Elles sécrètent des lysozymes et des défensines (**Ganz, 2000**) qui produisent les peptides antimicrobiens (**Lai et Gallo,2009**).L'intestin possède aussi des îlots lymphoïdes, les plaques de Peyer, qui abritent plusieurs types de cellules immunitaires à la barrière cellulaire comme les lymphocytes T et B et les cellules dendritiques (**Jang et al.,2004**)

3.3.Les cellules endocrines

Elles représentent une population très hétérogène. Leur caractéristique commune est de posséder des granules de sécrétion au niveau de leur partie basal. Elles sécrètent des neuropeptides impliqués dans le contrôle des sécrétions gastriques, pancréatiques et intestinales ainsi que dans la motricité du système digestif (**Lee et Kaestner, 2004**).Elles sont localisées principalement au fond des cryptes. Elles sécrètent plusieurs peptides dont les principaux sont le GIP (gastric inhibitory peptide),la sécrétine, la cholecystokinine, le GLP-1 (glucagonlike peptide 1) et l'entéroglucagon.

3.4.Les cellules à mucus «cellules caliciformes

Elles sont dispersées entre les entérocytes. Elles produisent du mucus qui s'accumule dans leur cytoplasme sous forme de granules jusqu'à la libération du contenu de ceux-ci à la surface de l'épithélium (**Kraehenbuhl, Pringault et al., 1997**). Chaque jour sont produits trois litres de mucus, dont le pH est alcalin et qui est chargé de protéger la muqueuse

intestinale contre divers agresseurs tel que les pH extrêmes des sucs digestifs, enzymes digestives, bactéries et aliments. Le mucus correspond à un mélange de mucines, ce sont pourtant les peptides qui constituent la fraction la plus intéressante, car ils sont extrêmement variables. Il existe des centaines de mucines différentes (**Gum *et al.*, 1989**).

4. Rôle de l'intestin grêle : principalement exerce trois fonctions :

4.1. Il participe à la digestion des aliments :

La digestion est la dégradation des grosses molécules complexes en petites molécules simples :

- Les polysaccharides sont dégradés en sucres simples.
- Les lipides sont dégradés en corps gras simples.
- Les protéines sont dégradées en acides aminés.

La digestion est effectuée par des enzymes glycolytiques, lipolytiques et protéolytiques (**Jean Signalet et Joyeux, 2004**).

4.2. Il assure une absorption sélective des substances digérées

Cette absorption se déroule au niveau des villosités, alors qu'à l'inverse une sécrétion a lieu au niveau des cryptes (**Minaire *et al.*, 1990**).

4.3. Il permet la progression du chyle

Les substances en cours de digestion dans la lumière intestinale constituent le chyle. Elles cheminent à l'intérieur du grêle et passent dans le colon. Ce transit est provoqué par les contractions des muscles lisses de la paroi du grêle. C'est le péristaltisme qui fait progresser le bol alimentaire (**Seignalet et Joyeux, 2004**).

Chapitre III. Le microbiote intestinal

Le microbiote (la flore microbienne intestinale) colonise le tube digestif juste après la naissance. Sa composition initiale est influencée par la flore maternelle, le mode d'accouchement (voie basse ou césarienne), le mode d'allaitement et l'exposition précoce à des antibiotiques (**Judith, 2015**).

Le microbiote intestinal, l'ensemble des bactéries qui peuplent notre tube digestif, est en contact direct avec les cellules de notre intestin. Le dialogue qui s'établit entre ce microbiote et notre intestin peut par ailleurs être modulé par différents facteurs et en particulier l'alimentation.

L'épithélium intestinal humain est représenté par 300m² de muqueuse et correspond ainsi à la plus grande surface du corps constamment exposée à des substances environnementales, à des nutriments et des micro-organismes (**Lotz et al., 2007**). Le long du tractus intestinal, la densité de bactéries va augmenter au fur et à mesure : on observe 10³ à 10⁵ bactéries par ml de contenu luminal dans l'estomac et le duodénum et on passe à environ 10⁹ à 10¹² par ml dans l'iléon et le colon.

2. Effets d'un régime riche en lipides sur le microbiote intestinal

Les régimes riches en lipides sont couramment utilisés pour induire une obésité chez des rongeurs (**Gérard, 2015**). C'est dans ce cadre que (**Turnbaugh et al., 2008**) ont montré qu'un régime hyperlipidique aboutit à une chute de la diversité du microbiote intestinal des souris, due en partie à l'émergence d'un groupe bactérien (**Turnbaugh et al., 2008**). Le retour à un régime hypocalorique conduit à une perte de poids des souris et à une forte diminution de la proportion de ce groupe bactérien (**Gérard, 2014**). Par ailleurs, si ces résultats indiquent qu'un régime hyperlipidique modifie la composition du microbiote intestinal, une autre étude atteste qu'il en affecte également l'activité. Les effets d'un régime hyperlipidique sur la physiologie de l'hôte pourraient, en partie, être imputés à cette altération du microbiote intestinal et de son activité. Ainsi, il a été montré que la modification de la composition du microbiote intestinal par un régime hyper lipidique s'accompagne d'une augmentation des taux circulants de lipopolysaccharides (LPS), composants de la paroi des bactéries Gram-négatives (**Cani et al., 2007**).

3. Obésité, microbiote et barrière intestinale : vers une perméabilité sélective

La présence de cent mille milliards de bactéries dans le tractus gastro-intestinal serait dramatique sans la gestion adéquate de processus impliqués dans la fonction barrière de l'intestin. Les protéines de jonctions, la présence de cellules sécrétrices de mucus, la régulation fine du transport transcellulaire, sont tant de processus qui permettent d'éviter une translocation bactérienne incontrôlée. Des études expérimentales, corroborées par un nombre limité d'études exploratoires chez l'homme, suggèrent que la fonction barrière de l'intestin serait compromise en cas d'obésité, et principalement, en cas de pathologies associées qui impliquent un phénomène inflammatoire, tel que la stéato-hépatite non alcoolique, par exemple (**Gummesson *et al.*, 2011; Caniet *al.*, 2012**). Des éléments d'origine microbienne pourraient alors pénétrer dans la circulation sanguine et participer à l'inflammation modérée associée à l'obésité. Par exemple, la translocation de lipopolysaccharides (LPS), principaux composants de la membrane des bactéries gram négatives, induit une augmentation modérée (doublement) mais physiologiquement significative des taux de LPS, retrouvée chez les individus obèses et qui corrèlent positivement avec l'insulinémie à jeun chez les patients diabétiques (**Caniet *al.*, 2012**). Notons qu'un régime riche en graisses contribue également à cette endotoxémie métabolique, en favorisant l'absorption des LPS via la formation des chylomicrons (**Laugerette *et al.*, 2011**). D'autres constituants bactériens retrouvés dans le sang pourraient également être prédictifs de pathologies associées à l'obésité. Les peptidoglycans, constituants de bactéries gram positives, pourraient également être impliqués dans l'inflammation associée à l'obésité (**Tremaroli et Backhed, 2012**).

Matériels et Méthodes

Nous avons effectué notre projet de mémoire de fin d'étude à l'Université de Khemis Miliana au sein du laboratoire de biochimie et de Zoologie. Ce projet a porté sur l'analyse de l'impact d'un régime hyperlipidique sur la muqueuse duodénale.

I. Matériel biologique

1. Animaux

Notre étude a porté sur des rats Wistar mâles et adultes « *Rattus norvegicus* » qui appartiennent à la famille des Muridés. Ces animaux provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevages ElKouba, Alger).



Figure07 : Rats Wistar

1.1. Régime alimentaire

1.1.1 Régime standard de laboratoire

La composition de l'aliment standard de laboratoire par 100 g : l'aliment standard de laboratoire a la composition centésimale suivante :

Tableau IV : compositions de l'aliment standard de laboratoire

Composition	Pourcentage
Protéines brutes	22
Matières grasses	03
Matières minérales	06
Cellulose	03(max)
Lysine	1.1
Calcium	01
Phosphore	0.5
Extractif non azoté	44

Tableau V : composition de l'alimentation standard de laboratoire en vitamines

Vitamines	Composition en mg
Vitamine A	10180 UI
Vitamine D3	2000 UI
Vitamine E	15mg
Vitamine K3	1.5 mg
Vitamine B3	8.9 mg
Vitamine B6	0.9 mg
Vitamine B12	0.02 mg
Vitamine B1	2 mg
Vitamine B2	4 mg
Vitamine PP	25 g

1.1.2. Régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique à base de jaune d'œuf

Le régime lipidique est à base de jaune d'œuf cuit. Chaque animal reçoit quotidiennement $\frac{1}{4}$ de jaune d'œuf de poule.

Tableau VI. La composition en g pour 100g de jaune d'œuf est la suivante :

Eau :	40- 46
Protéines :	13.5-17.5
Lipides :	30-34
▪ Saturés :	10.5-12
▪ Monosaturés :	16.5-19
▪ Polyinsaturés variables :	
▪ Cholestérol :	1.2-1.35
Glucides :	0.18-0.25
Cendres :	1-1.5
Calories :	370-400
La composition en vitamines et sels minéraux ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	
▪ Vitamine A :	1000
▪ Vitamine D :	5
▪ Vitamine E :	5000
▪ Vitamine K :	100
▪ Phosphore :	540
▪ Fer :	6.5

2. Protocol expérimental et la constitution des lots

Les animaux utilisés dans cette étude sont âgés de deux mois et pesant 140 ± 20 g à leur arrivée au laboratoire. Ces animaux sont hébergés dans une pièce convenablement aérée et sont maintenus dans des conditions favorables.

La température de cette pièce est maintenue constante.

Les animaux sont répartis dans des cages individuelles, munies d'une litière en sciure, renouvelée tous les deux jours. Ils ont bénéficié d'un accès libre à la nourriture et à l'eau (à volonté).

Après une période d'adaptation, ces animaux sont répartis en lots

- **Lots témoins** : au nombre de 4 et soumis au régime standard de laboratoire
- **Lots traités** : au nombre de 4 soumis au régime standard additionné de jaune d'œuf (1/4) cuit.

3. Techniques opératoires et analytiques

3.1. Poids des animaux, sacrifice et prélèvement des organes

Afin de contrôler l'évolution pondérale, les animaux (*Rattus norvegicus*) sont régulièrement pesés, chaque début de semaine. L'évolution métabolique est suivie par des prélèvements du sang sur l'animal vigile par des ponctions au niveau du plexus rétro-orbital de l'œil à l'aide d'une pipette pasteur préalablement humidifiée avec de l'EDTA (0.2%). Après centrifugation, le sérum est conservé à -20°C pour le dosage des paramètres biochimiques (glucose, cholestérol, triglycérides, HDL).

Au terme de l'expérimentation (02 mois), les animaux sont sacrifiés après anesthésie à l'uréthane à 22% (0.4ml/100g). Un prélèvement sanguin a été effectué à partir de l'aorte abdominale ainsi qu'un prélèvement de l'organe d'intérêt (L'intestin grêle dans le but de réaliser une étude histologique).

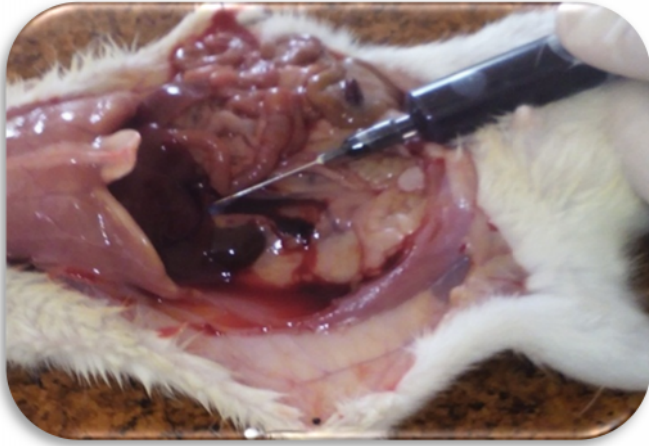


Figure 8 : Prélèvement du sang à partir de l'aorte abdominale



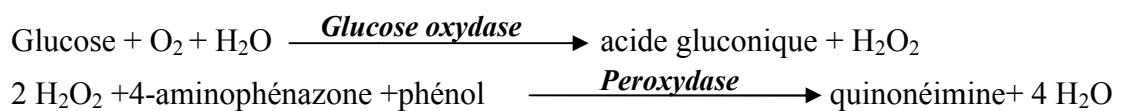
Figure 9 : Prélèvement d'organe

4. Techniques analytiques

Les dosages biochimiques plasmatiques sont effectués à l'aide de **kit Biomaghreb** pour le glucose et avec les **kits Biosystems** pour les triglycérides, le cholestérol et le cholestérol HDL.

4.1. Glucose :

Le glucose sanguin est dosé par la méthode enzymatique au glucose oxydase selon la méthode de **Trinder (1969)**.



Le peroxyde d'hydrogène formé est proportionnel à la quantité de quinonéimine mesurée par spectrophotométrie à 500 nm.

✓ **Mode opératoire**

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage (Échantillon)
Réactif	1ml	1ml	1ml
Etalon		10µl	
Échantillon			10µl

Bien mélanger. Incuber 10 minutes à 37°C ou 20 minutes à température ambiante. Lire les absorbances à 500nm (460-560) contre le blanc réactif.

✓ **calcul**

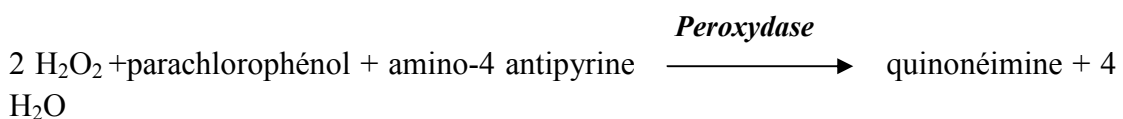
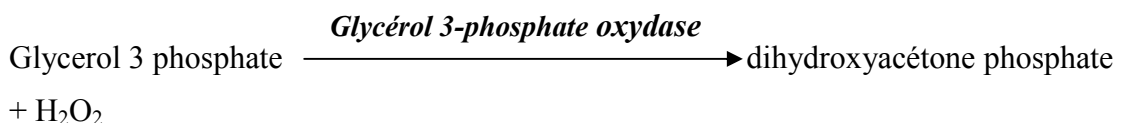
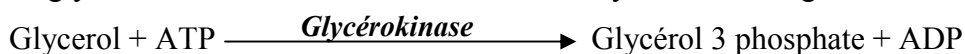
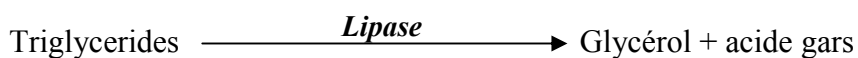
Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

concentration de l'échantillon

$$= \frac{\text{Absorbance (Dosage)}}{\text{Absorbance (Etalon)}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

4.2. Triglycéride :

Le triglycéride plasmatique est déterminé selon la méthode de **Fossati et Prencipe (1982)**. Le glycérol libéré lors de l'hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipase est dosé après phosphorylation par le glycérol kinase et oxydation par le glycérol 3 phospho-oxydase. La quinonéimine, produit de la réaction de la phénazol et le chlorophénol avec les molécules de H₂O₂ est révélé à 500 nm.



✓ **Mode opératoire**

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	1ml	1ml	1ml
Etalon		10µl	
Échantillon			10µl

Mélanger. Laisser reposer 10minutes à température ambiante à 37°C. Lire les absorbances à 500nm (480-520) contre le blanc réactif.

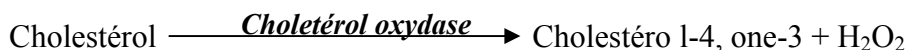
✓ **calcul**

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\begin{aligned} & \text{concentration de l'échantillon} \\ &= \frac{\text{Absorbance (Dosage)}}{\text{Absorbance (Etalon)}} \times \text{Concentration de l'étalon} \end{aligned}$$

4.3. Cholestérol

Le cholestérol plasmatique est déterminé selon la méthode de **Richmond (1973)**. Il est libérés par la cholestérol estérase à partir des esters de cholestérol puis oxydé par le cholestérol oxydase en cholesténe-2one, parallèlement à la libération des molécules H₂O₂. Les taux de quinonéimine produite par l'action de la peroxydase sont définis par la mesure de la densité optique à 500 nm.

✓ **Mode opératoire**

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	1ml	1ml	1ml
Etalon		10µl	
Échantillon			10µl

Mélanger. Laisser reposer 5minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante. Lire les absorbances à 500nm (480-520) contre le blanc réactif.

✓ **calcul**

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

concentration de l'échantillon =

$$\frac{\text{Absorbance (Dosage)}}{\text{Absorbance (Etalon)}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

4.4.HDL-cholestérol :

Les lipoprotéines de faible densité(LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et chylomicrons du spécimen sont précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium. Le Cholestérol-HDL obtenu dans le surnageant après centrifugation est ensuite dosé par un réactif pour le dosage du cholestérol total.

➤ **1^{ère} étape : préparation des échantillons :**

Mesurer dans des tubes à centrifuger :	
Échantillon	500 µl
Réactif précipitant	50 µl

Bien mélanger, laisser reposer 10 minutes à température ambiante. Centrifuger 15 minutes à 4000-5000 tours/ minute.

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	1 ml	1ml	1ml
Eau distillée	50µl		
Etalon cholestérol 1.59 g/l		50µl	
Surnageant			50µl

➤ **2^{ème} étape : dosage**

Mélanger. Laisser reposer 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante. Lire les absorbances à 500 nm (480-520) contre le blanc réactif.

✓ Méthode de calcul

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Résultats} = \frac{\text{Absorbance (Dosage)}}{\text{Absorbance (Etalon)}} \times \text{Concentration de l'étalon} \times 1.1$$

5. Techniques histologiques :

Après avoir prélevé l'organe (Duodénum), nous avons réalisé les étapes suivantes : la fixation, déshydratation, l'inclusion, la microtomie, la coloration des lames et l'observation microscopiques.

5.1. Fixation :

La fixation a pour but de maintenir les différentes structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. L'intestin est coupé en plusieurs morceaux afin de permettre une meilleure pénétration du fixateur dans les tissus. L'intestin (Duodénum) prélevée est rapidement fixé dans le formol (10 %) pendant 24h puis lavée à l'eau courante pendant 6h.

5.2. Déshydratation :

Il constituée de quatre bains d'alcool éthylique de concentration croissantes (70%, 80%, 90% et 100%). Pui éclaircissent, se fait grâce à un passage dans trois bains de toluène de 1h30 chacun, puis imprégnés dans la paraffine



Figure10: Déshydratation des organes

5.3. L'inclusion et l'enrobage :

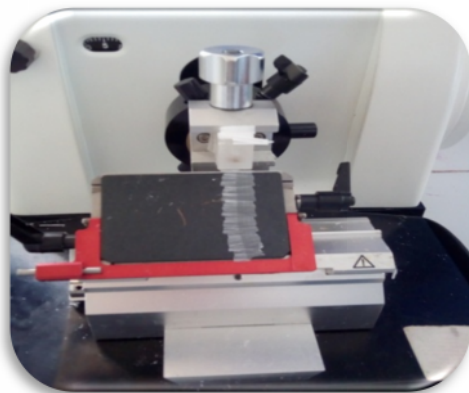
Le duodénum est plongé dans des bains de paraffine liquide et filtrée (sous l'effet de la chaleur). L'organe étant maintenu et imbibés de paraffine, vient alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe.



Figure. 11 : représente l'étape de l'inclusion

5.4. Réalisation des coupes et l'étalement sur des lames :

A l'aide de microtome, on réalise des coupes de $5\mu\text{m}$ d'épaisseur. Ces dernières sont recueillies à l'aide d'un pinceau et déposées dans l'eau tiède. Les coupes sont étalées sur des lames en verre. On met le côté brillant sur le verre et on le colle avec l'eau gélatinée, l'ensemble est déposé sur la platine chauffante et les coupes sont étalées délicatement sur la lame à l'aide de 2 aiguilles montées. La lame est ensuite égouttée et mise à l'étuve à 37°C pendant 48 heures pour assurer un bon collage.



Microtome



Bain marie

5.5. La coloration :

L'intérêt de la coloration est d'augmenter le contraste entre les structures, afin de mettre en évidence les divers constituants présents dans la coupe histologique. Les colorations utilisées sont :

5.5.1. La coloration de trichrome de Masson (TM)

Cette coloration qui met en évidence les fibres de collagènes est très utile dans l'étude de la pathologie du cœur (infarctus), foie (cirrhose), rein (fibrose glomérulaire). Cette coloration permet de colorer en rouge les fibres musculaires, en bleu ou vert le collagène et l'os, en rouge-clair ou rose les cytoplasmes, et en noir les noyaux de cellules.

5.5.2. La coloration à l'acide périodique de schiff (APS) :

La coloration PAS est une coloration utilisée en histologie pour mettre en évidence les polysaccharides (types mucopolysaccharides) présents dans certains tissus conjonctifs ainsi que dans le mucus.

5.6. Observation des coupes :

Après séchage du baume de canada les coupes peuvent être observées au microscope photonique

Résultats :

I-Resultats de plan pondéral et biochimique :

Afin d’analyser les effets d’un régime hyperlipidique sur le poids corporel et le profil plasmatiques chez le Rat Wistar, nous avons effectué une pesée hebdomadaire des animaux et évalué certains paramètres biochimiques plasmatiques dont la glycémie, la cholestérolémie, la triglycéridémie, ainsi que les lipoprotéines HDL-cholestérol et cela pendant une durée d’expérimentation de deux (2) mois. On a utilise programme informatique (test student) pour le calcule et l’affichage des résultats .

1. L’évolution du poids corporel :

L’évolution du poids corporel dans les deux groupes témoin et expérimenté suite à l’administration d’un régime hyperlipidique est représenté par cette courbe qui montre de variations du poids corporel entre le groupe témoin et expérimenté. Au début de l’expérimentation (la 1^{ème} semaine), nous n’avons pas noté de différence du poids entre les deux groupes ($155,75 \pm 3.491$ vs $156,75 \pm 5.973$). Cette différence commence a augmenté à partir de la deuxième semaine ($180,25 \pm 15.4$ vs $162,25 \pm 10.568$) et qui devient important à la fin de l’expérimentation (8^{ème} semaines) et pour laquelle, nous avons enregistré un poids de $255,25 \pm 80.791$ vs $195,5 \pm 25.539$.

Tableau I : évolution du poids corporel chez le groupe témoin et expérimenté pendant la durée de l’expérimentation de deux mois.

Semaines	Poids (g) des témoins	Poids (g) des traitées
01	156,75	155,75
02	162,25	180,25
03	161,75	212,25
04	176	232,5
05	184,5	245
06	182	251,5
07	196,75	266
08	195.5	255.25
Moyenne	176.93	224.81

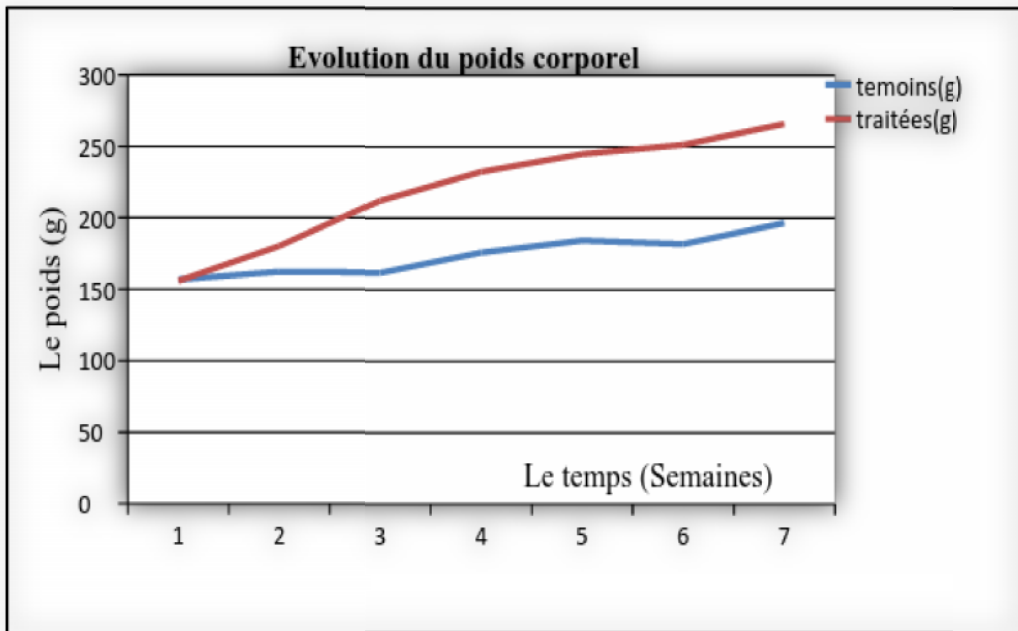


Figure : Evolution pondérale chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique

2. Evolution des paramètres biochimiques plasmatiques :

2.1. La glycémie :

Au début de l'expérimentation, nos résultats ne montrent aucune différence significative de la glycémie (1.27 ± 0.31 g/l vs 1.12 ± 0.29) entre les deux lots d'animaux. Par contre, à la fin de l'expérimentation, nous enregistrons une augmentation significative de la glycémie chez le groupe soumis au régime hyperlipidique contre le groupe témoin (2.72 ± 0.47 vs 1.19 ± 0.35).

Tableaux II. Evolution de la glycémie moyenne (g/l) chez le Rat Wistar témoin et soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyper lipidique durant 2 mois.

Lots	Gly (g/l) à T=0	Gly (g/l) à T=final
Témoins	$1,12 \pm 0,29$	$1,27 \pm 0,31$
Traité	$1,19 \pm 0,35$	$2,72 \pm 0,47$ ***

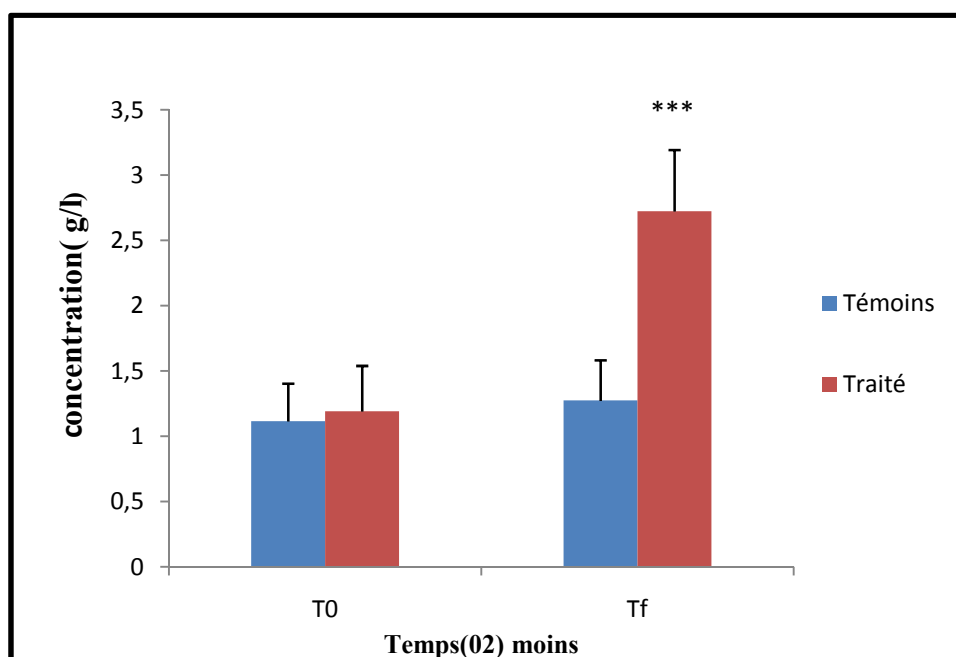


Figure2. Variations de la glycémie chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique

2.2. La triglycéridémie (TG) :

Les résultats concernant le triglycéride plasmatique chez les deux groupes d'animaux, ont montré qu'à la fin d'expérimentation, une augmentation très significative de la concentration plasmatique en TG chez le groupe expérimenté en comparaison avec le groupe témoin et pour laquelle, nous avons enregistré une triglycéridémie de ($4,56 \pm 1,06$ g/l vs $0,66 \pm 0,49$ g/l)

Tableau III. Variation de la tryglycéridémie moyenne (g/l) chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique pendant deux mois d'expérimentation.

Lots	TG (g/l) à T=0	TG (g/l) à T=final
Témoins	$0,46 \pm 0,22$	$0,38 \pm 0,11$
Traité	$0,66 \pm 0,49$	$4,56 \pm 1,06$ ***

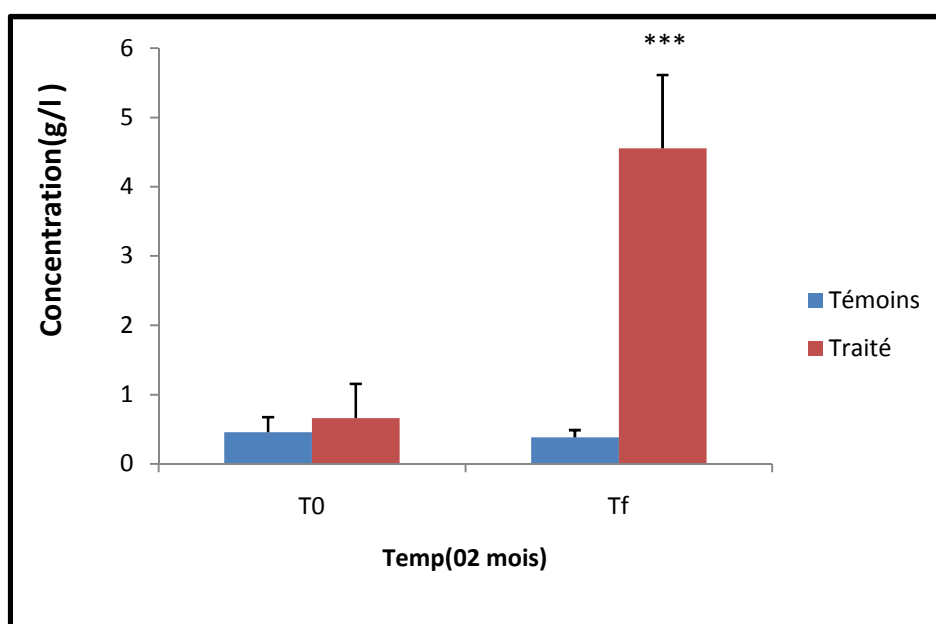


Figure 3. Variations de la triglycéridémie chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique

2.3. La cholestérolémie :

A la fin de l'expérimentation, nous avons noté une augmentation de la cholestérolémie chez les animaux soumis au régime hyperlipidique par rapport aux témoins correspondants. Cette augmentation est de $(4.60 \pm 0.58 \text{ g/l vs } 0.66 \pm 0.10 \text{ g/l})$ et l'analyse statistique s'est révélée significative.

Tableau IV. Variation de la cholestérolémie moyenne (g/l) chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique pendant deux mois d'expérimentation.

Lots	Cholestérol (g/l) à T=0	Cholestérol (g/l) à T=f
Témoins	0.70 ±0.19	0.662±0.097
Traité	0.85 ±0.31	4.60 ± 0.58 ****

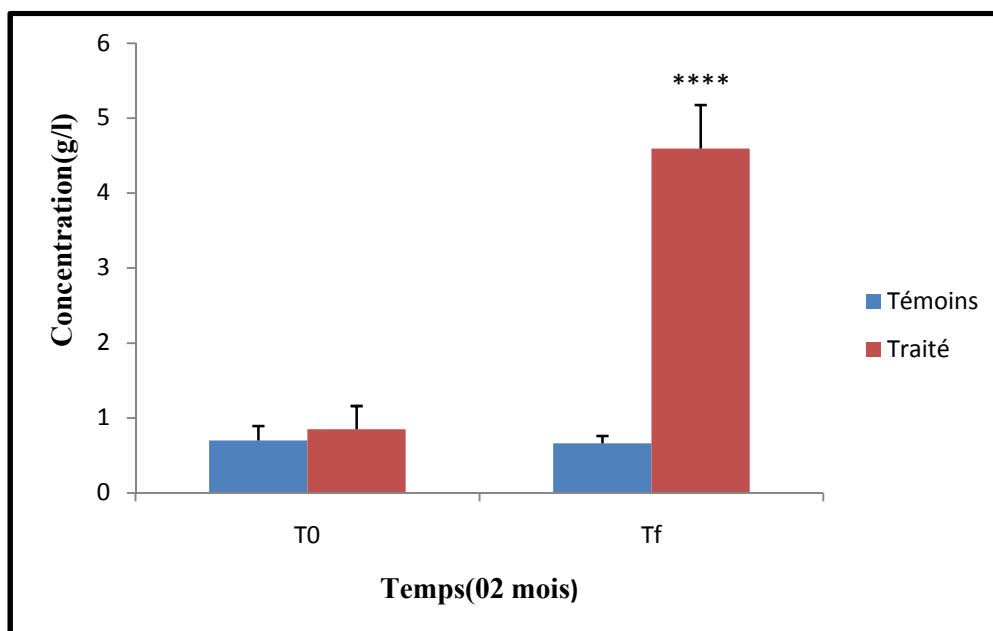


Figure 3. Variations de la cholestérolémie (g/l) chez les animaux témoins et expérimenté soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique.

2.4. Le HDL-cholestérol :

D’après nos résultats, nous constatons que les animaux traités expriment un taux très bas en lipoprotéine HDL par rapport aux témoins correspondant et pour lesquels, nous avons enregistré respectivement (**0,39 ± 0,13g/l vs 0,46 ± 0,32 g/l**).

Tableau IV. Variation de la HDL-cholestérol moyenne (g/l) chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique pendant deux mois d’expérimentation.

Lots	HDL à T0(g/l)	HDL à Tf(g/l)
Témoins	0,48 ± 0,20	0,46 ± 0,32
traité	0,69 ± 0,42	0,39 ± 0,13 *

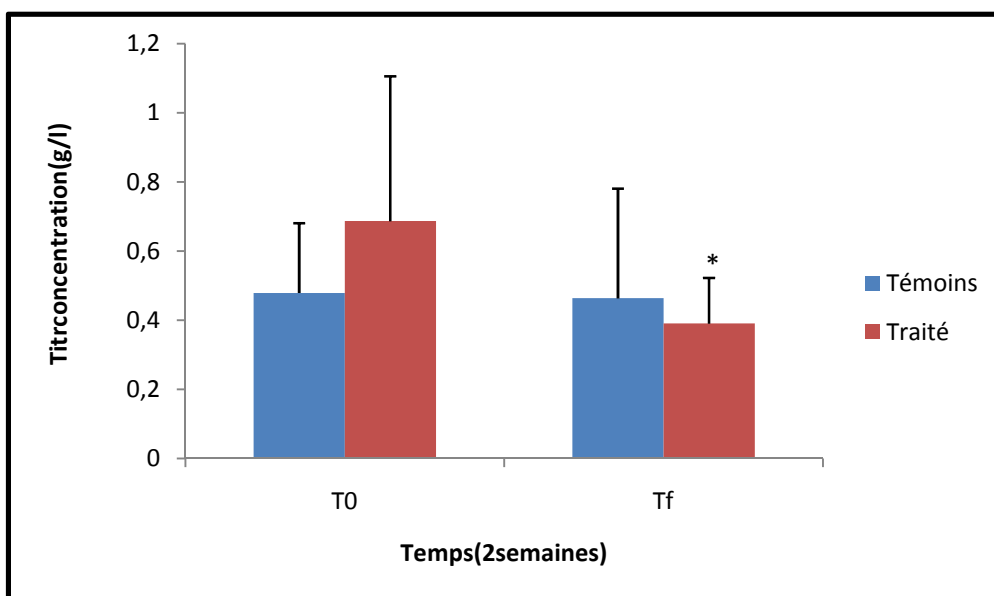
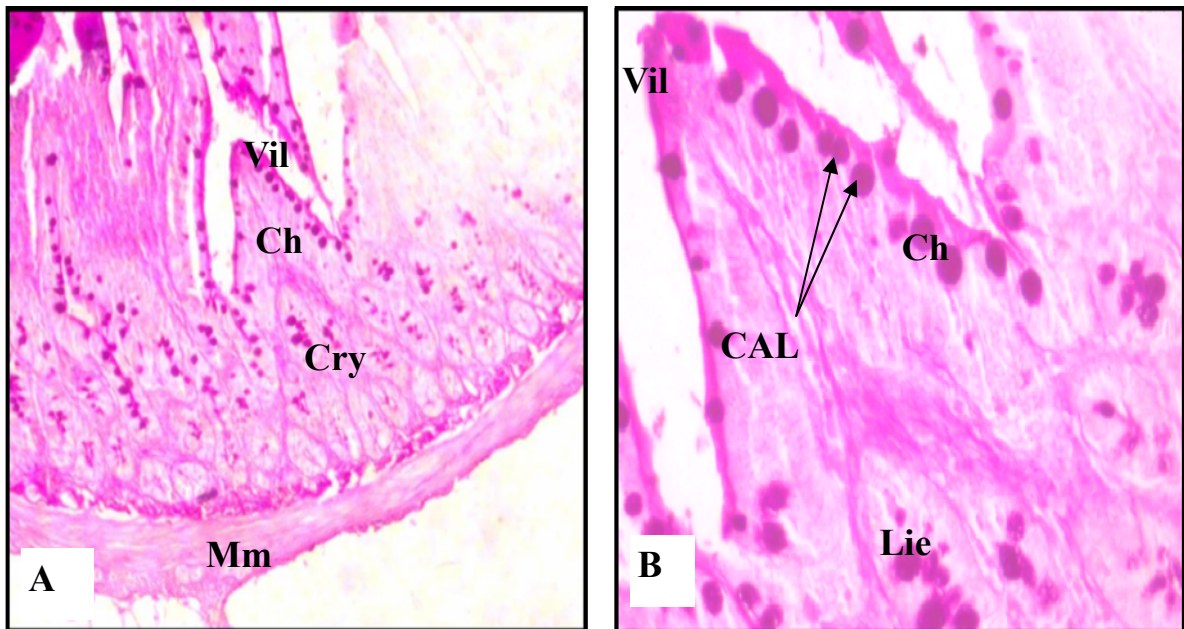


Figure 4. Variations des HDL-cholestérol (g/l) chez les animaux témoins et expérimenté soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique.

II-Résultat Histologique :

Planche I



Figures A (G x 100) et B (G x 400). Coupes histologiques au niveau de la paroi duodénale de rats témoins soumis au régime standard de laboratoire.

Ces deux coupes sont colorées par APS qui permettent de mettre en évidence à faible et à moyen grossissement les différents constituants de la muqueuse duodénale. Cette paroi présente un aspect vilieux (les villosités) (Vil) bordé par un épithélium composé de cellule caliciforme(Cal) et des entérocytes entouré par un chorion(Ch). A la base de ces villosités se trouve les cryptes glandulaires(Cry) formé par les glandes de Lieberkühn(Lie) qui sont entourées par un tissu conjonctif renfermant les vaisseaux sanguin, lymphatiques, les fibres élastiques et les fibres de collagène.

Planche II

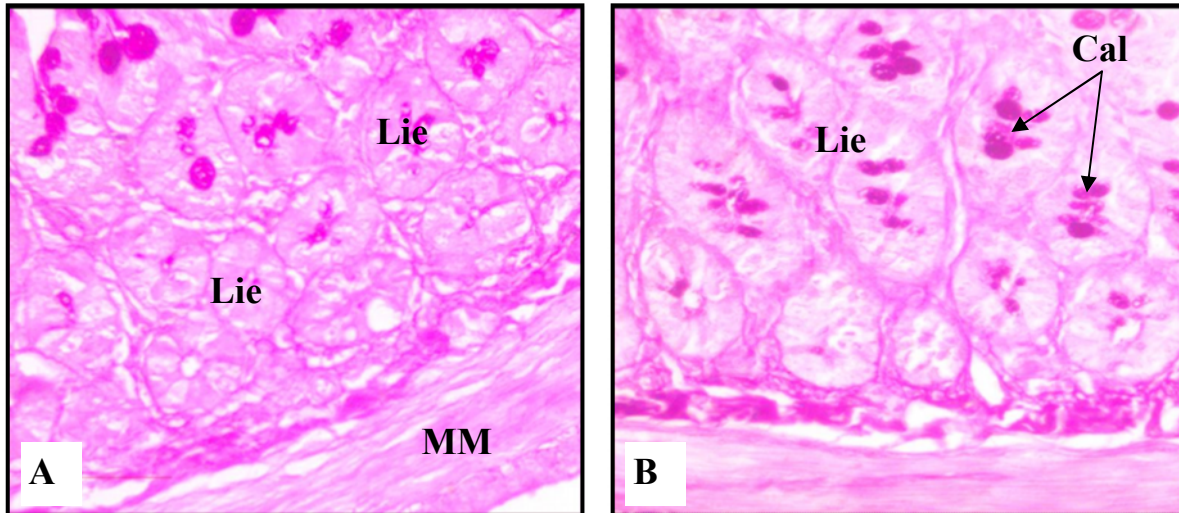


Figure A (G x 400). Coupe histologique au niveau de la paroi duodénale des rats témoins soumis au régime standard de laboratoire.

Cette Coupe représente les glandes de Lieberkühn(Lie) en coupe transversale et après coloration au PAS qui se forment au niveau des cryptes à la base des villosités (entre deux villosités). Ces glandes montrent une lumière étroite bordée par des enterocytes et des cellules caliciformes(Cal). Ces glandes sont très proche les unes des autres et ne sont séparées que par un peu de tissu conjonctif (chorion).

Figure B (G x 400). Coupe histologique au niveau de la paroi duodénale des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de jaune d'œuf.

Cette coupe montre des glandes de Lieberkühn (Lie)en coupe transversale ,après coloration au PAS . Ces glandes présentent un aspect hypertrophique avec une hypersécrétion de mucines dû à l'hyperactivité des cellules caliciformes(Cal). Ces glandes sont entourées par un tissu conjonctif apparait abondant.

Planche III

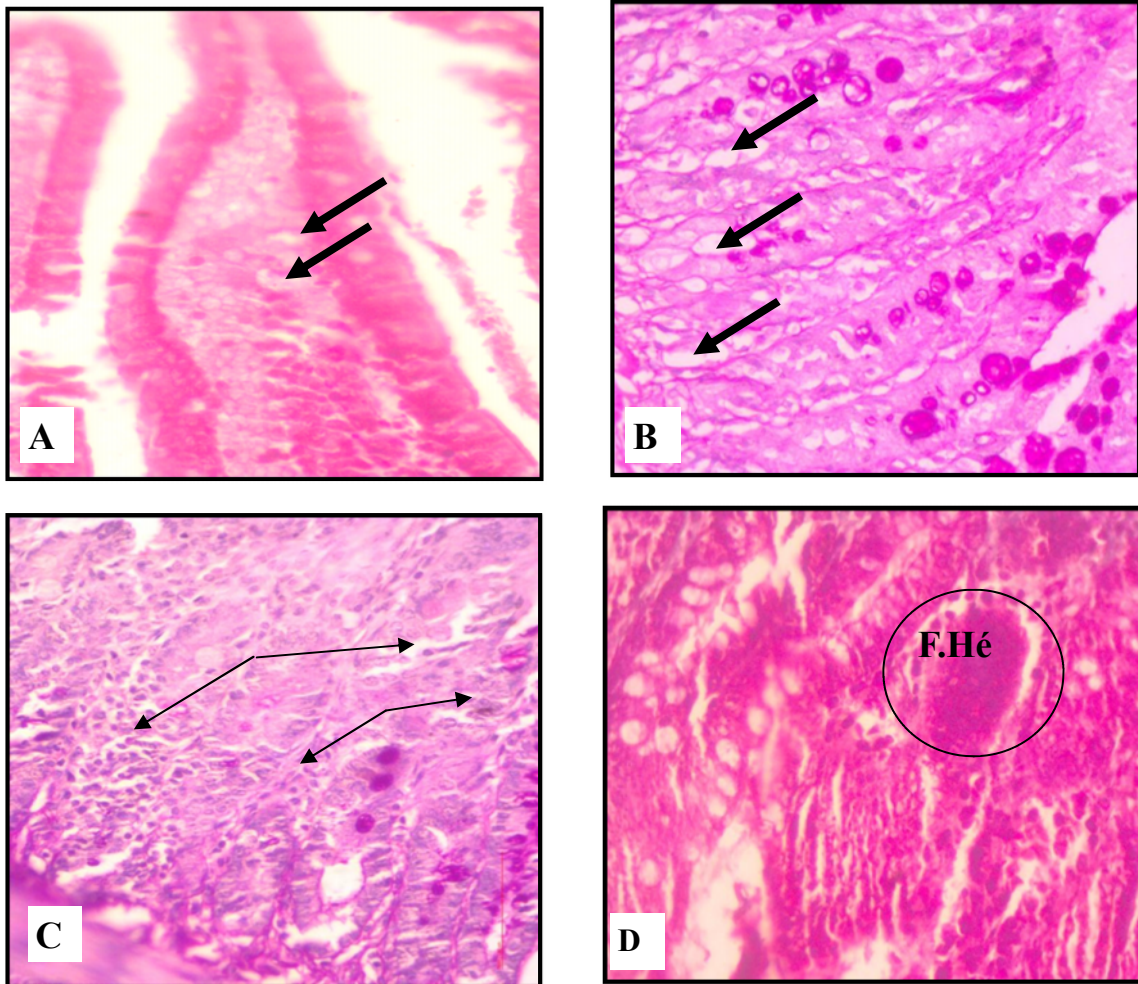


Figure A (G x 400) et B (G x 400). Coupes histologiques au niveau de la paroi duodénale des rats témoins soumis au régime standard de laboratoire additionné de jaune d'œuf.

Ces coupes montrent la présence de dépôts lipidique (gouttelettes lipidiques à l'intérieur et autour des villosités (Figure A) et au niveau de chorion (Figure B).

Figure C (G x 400). Coupe histologique au niveau des cryptes glandulaires des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de jaune d'œuf.

Cette coupe montre les glandes de Lieberkühn en coupe transversale. Ces glandes subissent une destruction avec une perte de leur architecture cellulaire et glandulaire.

Coupe D (G x 400). Coupe histologique au niveau de la paroi duodénale des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de jaune d'œuf.

Cette coupe montre des glandes de Lieberkühn déstructurées (mort cellulaire par nécrose) avec la présence de foyer hémorragiques (cercle noire).

Planche IV

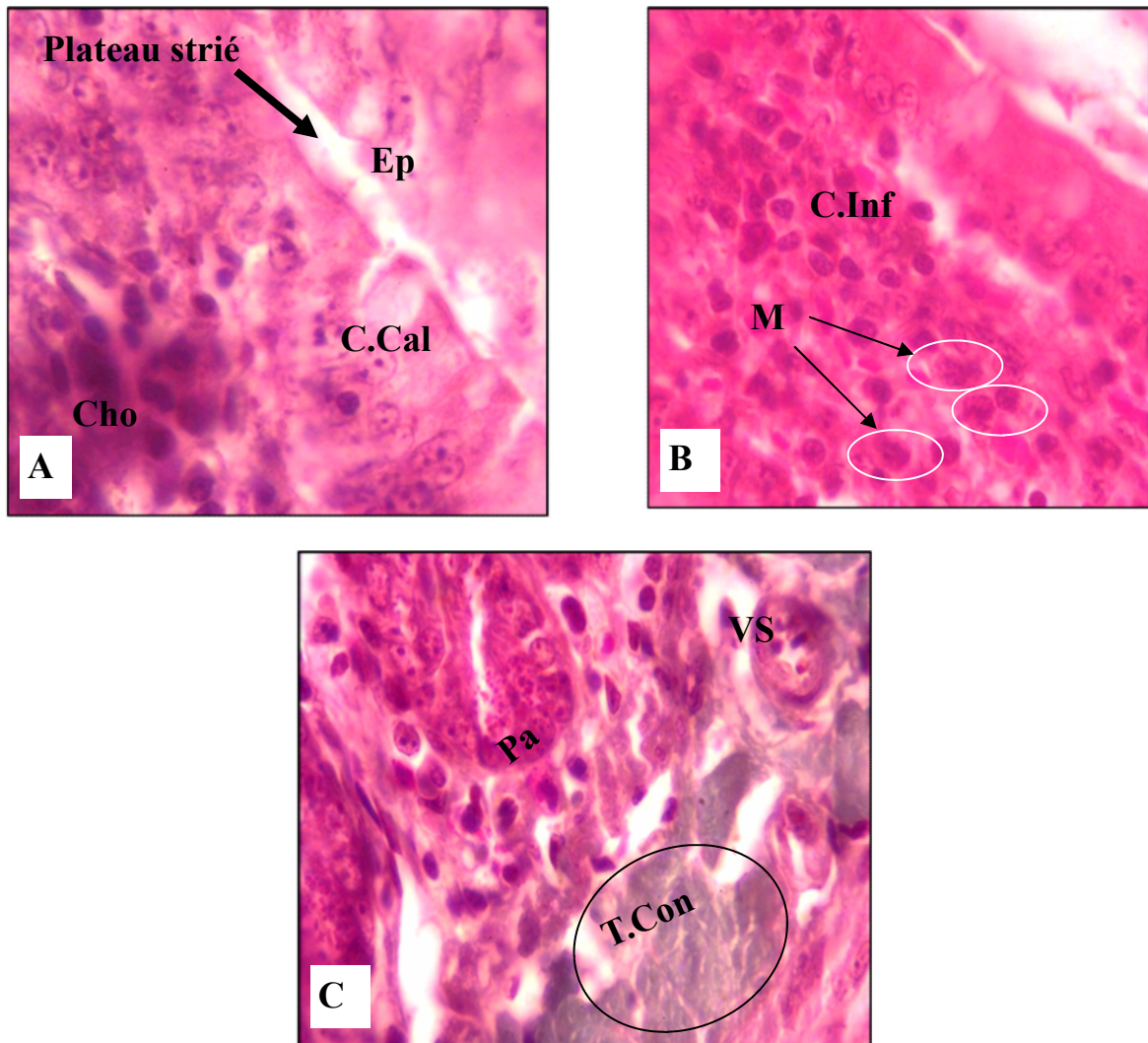


Figure A (G x 400) et B (G x 400). Coupes histologiques au niveau du villosité des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de jaune d'œuf.

Ces coupes montrent une hypercellularité au niveau du chorion des villosités marqué par la présence des infiltrats inflammatoires avec une abondance des macrophages (M).

Figure C (G x 400). Coupes histologiques au niveau de la paroi duodénale des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de jaune d'œuf.

Cette coupe montre l'augmentation en nombre et en taille de cellules de Paneth (P) à la base de glande de Lieberkühn (Lie). De plus, une abondance du tissu conjonctif (T.Con) autour des vaisseaux sanguin (VS).

Planche V

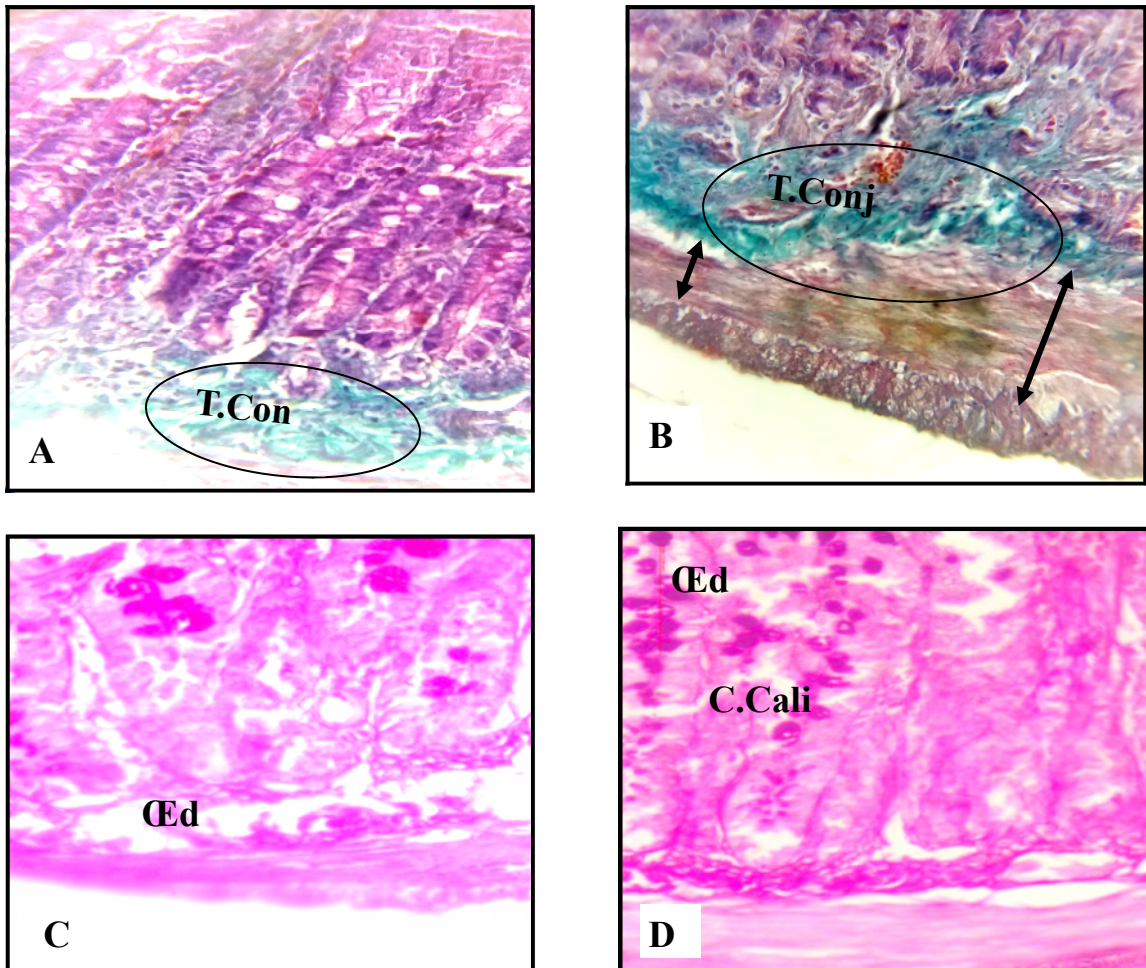


Figure A (G x 100) . Coupe histologique au niveau de la paroi duodénale des rats témoins soumis au régime standard de laboratoire.

Cette coupe est colorée par Trichrome de masson et elle montre un tissu conjonctif (T.Con) peu abondant à la base de glande de lieberkühn .

Figure B (G x 400). Coupe histologique au niveau de la paroi duodénale des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de Jaune d'œuf.

Cette coupe est colorée par Trichrome de masson et elle montre l'abondance du tissu conjonctif (accumulation excessive de la matrice extracellulaire) à la base du glande de lieberkühn et au niveau de la couche musculaire muqueuse conduisant à son amincissement.

Figure C (G x 400) et D(400) Coupe histologique au niveau de la paroi duodénale (les crypte) des rats expérimenté soumis au régime standard de laboratoire additionné de Jaune d'œuf.

Cette coupe et après coloration au PAS montre la mise en place d'un œdème (Ed) à la base des glandes (coupe C) et entre les glandes (coupe D).

Nos investigations ont porté sur une étude « *in vivo* » s'étalant sur une période de 2 mois au cours de laquelle deux lots d'animaux de *Rattus* sont reconstitués ; lot des rats obèses et un lot des rat normaux. Les résultats obtenus de cette étude ont révélé :

- L'augmentation du poids corporel des animaux soumis au régime hyperlipidique
- L'altération du profil plasmatique caractérisé par l'augmentation de la glycémie, du cholestérol, des triglycérides, des LDL-cholestérol et diminution des HDL-cholestérol
- l'altération de la morphologie de la muqueuse intestinale

Chapitre I : poids corporel profil plasmatique

Les résultats de la présente étude ont montré que les animaux nourris au régime enrichi en lipides pendant 02 mois présentent une augmentation de poids corporel final par rapport aux témoins.

Des travaux antérieurs, en rapport avec l'instauration d'un régime hypercalorique ont montré son efficacité à promouvoir l'obésité **Aouichat., (2001)** ; **Hamlat et al., 2010**).

Dans notre étude, le régime alimentaire enrichi en lipides a provoqué une augmentation significative du taux des triglycérides. Cette élévation plasmatique a été attribuée à une inhibition de l'activité de l'enzyme lipase **Goldberg et al., (2002)**.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Tentolouris et al., (2008)**; qui montrent que la consommation de graisses et le défaut de leur β oxydation favorise le dépôt des lipides notamment de triglycérides dans le tissu adipeux, ce qui conduit à une augmentation du poids corporel.

Par ailleurs, ce régime hyperlipidique a provoqué aussi des désordres plasmatiques notamment l'augmentation de la glycémie, le cholestérol, les triglycérides, les lipoprotéines athérogènes LDL et la diminution des HDL.

Chez les animaux soumis au régime hyperlipidique pendant deux mois, nous avons relevé une augmentation de la cholestérolémie et de la triglycéridémie. Nos résultats rejoignent ceux obtenus par **Hamlat., (2004)** qui a observé une augmentation de la cholestérolémie et la triglycéridémie après administration d'un régime hyperlipidique constitué d'un quart de jaune d'oeuf cuit/j. Cette augmentation est corrélée avec celle des lipoprotéines athérogènes les LDL et la diminution des lipoprotéines protectrices, les HDL

Plusieurs mécanismes conduisent à l'augmentation du cholestérol LDL notamment l'augmentation de l'absorption et de la synthèse de cholestérol la diminution de l'activité de la lipase hépatique et de la lipoprotéine lipase **Valdemarsson et Nilsson., (1982)**

Pour ce qui est de la glycémie, nos résultats ont montré une augmentation de la glycémie après 2 mois d'expérimentation. Cette hyperglycémie serait attribuée au défaut de transport du glucose au niveau cellulaire notamment les transporteurs Glut1 et Glut2. D'après **Castello et al., (1994)**, GLUT1, est un transporteur de glucose non insulino-dépendant, tandis que GLUT4 est insulino-dépendant, son activité répond aux diverses influences environnementales liées aux changements métaboliques.

Selon **Schinner et al., (2005)**, une augmentation de la concentration des AGL induit un défaut de la signalisation insulinique qui mènera consécutivement à une baisse de la translocation des transporteurs de glucose GLUT4 à la surface de la membrane plasmique, limitant ainsi l'entrée du glucose créant une insulino résistance et induisant une élévation de la glycémie.

Chapitre II : régime hyperlipidique et modifications morphologiques de la muqueuse duodénale

Certaines coupes histologiques de la muqueuse intestinale d'animaux soumis au régime hyperlipidique ont montré un œdème au niveau du chorion des villosités et même à la base des glandes de Lieberkühn, ces altérations œdémateuses s'accompagnent aussi une hypersécrétion du mucus au niveau des glandes de Lieberkühn. Des résultats similaires ont été observés par **Potet., (1988)**, lors d'une pathologie et qui correspond souvent à la phase initiale du développement de

l'entérite dont la muqueuse est rouge et œdémateuse. De plus, une hypersécrétion de mucus est observée, due à une forte activité des cellules caliciformes. Le chorion est également fortement œdémateux.

Dans le même sens, d'autres coupes histologiques ont montré aussi une accumulation du tissu conjonctif à la base des glandes de Lieberkühn. Ce dépôt conjonctif serait responsable de la perte de la fonctionnalité de l'intestin. D'après **Eckes *et al.*, (2000)**, l'augmentation de la sécrétion des produits de la matrice extracellulaire surtout le collagène de type I et III conduit à la perte de l'intestin de ses capacités élastiques responsables d'un défaut de glissement de la muqueuse sur la musculature. De ce fait, la muqueuse ne participe plus à la progression du bol alimentaire.

Par ailleurs, d'autres coupes ont montré aussi une infiltration des cellules inflammatoires au niveau du chorion des villosités de la muqueuse intestinale soumis au régime hyperlipidique. D'après **Gulba *et al.*, (2010)**, la réabsorption importante des phospholipides, d'acide gras et du cholestérol par les cellules épithéliales peut induire une inflammation interstitielle, la formation des cellules spumeuses et favorise des lésions tissulaires. L'inflammation chronique peut avoir des effets délétères par le biais de plusieurs mécanismes causant une nécrose tissulaire extensive et une cicatrisation déficiente **Asselah., (2013)**. Ceci peut entraîner la perte de fonctionnalité de la muqueuse intestinale à l'origine d'un syndrome de malabsorption et se caractérisent par une fibrose responsable d'une sténose intestinale pouvant conduire à un syndrome d'occlusion et nécessiter une résection chirurgicale **Andreyev *et al.*, (2005)**.

L'administration d'une diète hyperlipidique (régime naturel additionné de jaune d'œuf pendant 2 mois a provoqué des troubles métaboliques et des altérations cellulaires, interstitielles au niveau de la muqueuse duodénale

Au niveau pondérale et plasmatique, nous avons enregistré une augmentation du poids corporel ainsi que les différents paramètres biochimiques tels que le glucose, les triglycérides, le cholestérol total. De plus, une diminution des lipoprotéines protectrices HDL-cholestérol.

Au niveau interstitiel et cellulaire, l'analyse histologique a montré que la réponse fibrotique à l'origine de l'augmentation de composants de la matrice extracellulaire (le tissu conjonctif) est accentuée. Cette réponse serait responsable de l'altération de la fonctionnalité intestinale. A cela, s'ajoute l'installation des infiltrats inflammatoires, la perte de l'architecture villositaire et glandulaire accompagnées de la mise en place d'un œdème interstitiel et des foyers hémorragiques.

En définitive, cette étude nous a permis d'avoir un aperçu sur les différentes modifications morphologiques de la muqueuse duodénale en rapport avec une alimentation riche en lipides.

Dans nos perspectives, il nous semble intéressant d'élargir cette étude morphologique aux autres parties de l'intestin surtout le jéjunum et l'iléon ainsi que les autres couches de leur paroi notamment la sous-muqueuse et la musculuse.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure générale des lipoprotéines (Rouffy et <i>al</i> , 1983).....	Page04
Figure 2 : Représentation des différentes lipoprotéines et la relation entre leur densité et leur taille (Genest et Libby, 2012).....	Page06
Figure 3 : Transport des acides gras dans l'organisme (Mashek et Coleman, 2006).....	Page09
Figure 4 : Le tube digestif est constitué de 5 tuniques concentriques (Sylvia, 1997).....	Page11
Figure 5 : La structure de l'intestin (Budarf et <i>al</i> , 2009).....	Page11
Figure 6 : Unité fonctionnelle de l'intestin : l'axe crypto villositaire d'après (Crosnier, Stamataki et Lewis 2006).....	Page12
Figure07 : Les rats wistar.....	Page17
Figure 08 : Prélèvement du sang à partir de l'aorte abdominale.....	Page20
Figure09 : Prélèvement d'organe.....	Page20
Figure10 : Représente l'étape de déshydratation.....	Page25
Figure11 : Représente l'étape de l'inclusion	Page25
Figure 12 : Evolution pondérale chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique	Page28
Figure13 : Variations de la glycémie chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique additionn	Page28
Figure 14 :Variations de la triglycéridémie chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique	Page29
Figure 15 : Variations de la cholestérolémie (g/l) chez les animaux témoins et expérimenté soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique.....	Page30

Figure 16 : Variations des HDL-cholestérol (g/l) chez les animaux témoins et expérimenté soumis au régime standard additionné de régime hyperlipidique.....	Page30
--	--------

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification générale des lipides (Mcardle et <i>al</i> , 2004).....	Page03
Tableau II. Caractéristiques des différentes classes de lipoprotéines (Schaefer et Levy, 1985 ; Murray et <i>al</i> , 2000 ; Voet et <i>al</i> , 2005) (Modifié).....	Page04
Tableau III : Classification des différents class et leur IMC (Ciangura et <i>al</i> ,2010).....	Page15
Tableau IV : Compositions de l'aliment standard de laboratoire.....	Page17
Tableau V: Composition de l'alimentation standard de laboratoire en vitamines.....	Page18
Tableau VI : Compositions de régime lipidique.....	Page19
Tableau VII : évolution du poids corporel chez le groupe témoin et expérimenté pendant la durée de l'expérimentation de deux mois.....	Page27
Tableaux VIII. Evolution de la glycémie moyenne (g/l) chez le Rat Wistar témoin et soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyper lipidique durant 2 mois.....	Page28
Tableau IX. Variation de la tryglycéridémie moyenne (g/l) chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique pendant deux mois d'expérimentation.....	Page29
Tableau X. Variation de la cholestérolémie moyenne (g/l) chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique pendant deux mois d'expérimentation.	Page29
Tableau XI. Variation de la HDL-cholestérol moyenne (g/l) chez les animaux témoins et expérimentés soumis au régime standard de laboratoire additionné de régime hyperlipidique pendant deux mois d'expérimentation.....	Page30

Protocole expérimentale :**❖ Fixation :**

- Paraformaldéhyde 4% environ 24H

❖ Rinçage :

- Important 1à2H minimum à l'eau courante.

❖ Conservation :

- Isopropanol 70 %, pas d'éthanol ou Norvanol

❖ Inclusion :

Pour un cycle standard de 18H :

- Isopropanol 70% (2X1h30)
- Isopropanol 90%(2x1h30)
- Isopropanol 100%(3x1h)
- Toluène (3x1h)
- Paraffine à60°C (4x1h30)

❖ Enrobage :

- Soit, dans des moules en plastique à usage unique (KLINIPATH) .
- Soit, dans des moules réutilisable en aluminium. Ceux-ci sont disponibles au laboratoire et doivent être restitués utilisation.

• REMARQUE :

Eviter de laisser trop longtemps les prélèvements dans la paraffine à 60°C afin d'éviter toute détérioration des tissus des tissus.

❖ Confection des coupes :

Un Microtome de type <<American optical>> composé d'un support objet, un support de rasoir, et système d'avance mécanique, nous a permis de réaliser des coupes de 5 μ d'épaisseur. Le bloc est d'abord taillé au scalpel de manière à former un trapèze, présentant une surface aux cotés parallèles puis fixé par sa grande surface sur le porte objet du microtome.

Les coupes réalisées sont récupérées en longs rubans perpendiculaires au rasoir du microtome, ces derniers sont recueillis à l'aide d'un pinceau et déposées dans une boîte.

❖ **Étalement des coupes :**

L'étalement se fait sur des lames en verres. Le collage se fait avec un liquide :<<L'eau gélatinée de Masson>> ; à l'aide d'une pipette, elle est déposée sur toute la surface de la lame, ensuite la face brillante des coupes est placée sur celle-ci. L'ensemble est déposé sur la platine chauffante et les coupes sont étalées délicatement sur la lame à l'aide de 2 aiguilles montées.

La lame est ensuite égouttée, et mise à l'étuve réglée à 37°C pour assurer un bon collage avant d'être colorées.

❖ **Coloration des coupes :**

➤ **Déparaffinage et réhydratation des coupes :**

Elle s'effectue par le passage successif dans des solvants de degrés décroissants (Toluène I, Toluène II, Isopropanol 100%, Isopropanol 90%, Isopropanol 70%, Isopropanol 50%), et enfin dans un bain d'eau distillée.

➤ **Coloration des coupes :**

Les colorations entreprises dans le cadre de notre sont d'ordre topographique.

- ✓ Trichrome de Masson.
- ✓ Acide périodique de schiff (APS)

❖ **Montage des coupes :**

➤ **Déshydratation des coupes :**

Elle s'effectue par le passage successif dans des alcools croissants : 50%, 70%,90%,100%, et qui se termine par un passage dans deux bains de Toluène (I et II) .

➤ **Montage :**

Celui-ci se fait en déposant le baume de canada sur la lame qui sera ensuite couverte par une lamelle ; l'ensemble lame-lamelle est placé sur la platine chauffante pour activer l'étalement du baume.

❖ **Observation des coupes :**

Après séchage du Baume les coupes peuvent être observées au microscope photonique.

I. Fiches techniques:

1. Paraformaldéhyde 4%

2. Dilution des alcools:

- ❖ Alcool 50% : 50ml de l'alcool (Isopropanol 100%)+50ml de l'eau distillée.
- ❖ Alcool 70% : 70ml de l'alcool (Isopropanol 100%) +30ml de l'eau distillée.
- ❖ Alcool 90% : 90ml de l'alcool (Isopropanol 100%) +10ml de l'eau distillée.

3. Eau gélatinée :

Mettre 0,2g de la Gélatine en poudre dans 50ml l'eau distillée et laisser gonfler pendant un moment, puis tiédir sur une platine chauffante, jusqu'à dissolution complète.

4. Coloration au trichrome de Masson :

4.1. Préparation de la solution :

❖ Hématoxyline de Mayer

- Hématoxyline 2g
- Acide citrique 1g
- Iodate de sodium (NaIO_3) 0.2g
- Alum de potassium ($\text{KAL}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) 50g
- Eau distillée 100ml
- Filtrer avant l'emploi

❖ Alcool chlorhydrique

- Alcool 70% (Isopropanol) 100ml
- Acide chlorhydrique 37% 0.75ml

❖ Fuschine ponceau

- Ponceau 2% 2vol
- Fuchsine acide 2% 1vol

❖ Vert lumière 1%

- Light Green Masson 1g
- Eau distillée 100ml
- Acide acétique glacial 1ml

❖ Acide phosphotungastique 3%(Acid phosphomolybdique 0.5%)

4.2. Procédure :

❖ Déparaffiner et réhydrater les lames

- | | |
|---|------------------|
| ➤ Toluène I | 15min |
| ➤ Toluène II | 15min |
| ➤ Isopropanol 100% | 2min |
| ➤ Isopropanol 90% | 2min |
| ➤ Isopropanol 70% | 2min |
| ➤ Isopropanol 50% | 2min |
| ❖ Placer les lames dans l'eau distillée | 10min |
| ❖ Placer les lames dans la solution Hématoxyline de Mayer | 12min |
| ❖ Rincer sous l'eau du robinet l'excès de colorant | (1ou 2 rinçages) |
| ❖ Laver à l'alcool chlorhydrique | (2sec,qq mvts) |
| ❖ Différencier à l'eau courante | (5à10min) |
| ❖ Rincer dans l'eau distillée | |
| ❖ Colorer dans une solution de ponceau de xylidine 1% | 3min |
| ❖ Rincer dans l'eau distillée | |
| ❖ Différencier les coupes dans l'acide phosphotungstique 3% | 7min |
| ❖ Rincer (un peu) dans l'eau distillée | |
| ❖ Colorer dans une solution de verte lumière 1% | 3min |
| ❖ Rincer dans l'eau distillée | |
| ❖ Déshydrater et monter les lames | |
| ➤ Isopropanol 50% | qq mouvements |
| ➤ Isopropanol 70% | qq mouvements |
| ➤ Isopropanol 90% | qq mouvements |
| ➤ Isopropanol 100% | qq mouvements |
| ➤ Toluène II | 2min |
| ➤ Toluène I | 2min |
| ➤ Boume de canada pour monter les lames. | |

5. Coloration à l'acide périodique schiff (APS) :

5.1. Préparation des colorants :

❖ Acide périodique en solution aqueuse à 1% :

- Acide périodique (1g) + Eau distillée (100ml)

❖ Réactif de schiff :

Dissoudre dans 200ml d'eau distillée bouillante 1g de la Fuchsine basique.

Laisser refroidir, filtrer et ajouter : 2g de Méta bisulfite de sodium en poudre+10ml d'acide chlorhydrique 1 normale. Laisser la solution se décolorer en l'agitant de temps à l'autre. Après décoloration presque totale (12à24 heure), ajouter 0,5g de Charbon actif. Agiter, laisser reposer puis filtrer.

5.2. procédure

- Déparaffinage et hydratation.
- Oxydation par l'acide périodique (1%) de 1 ,2 glycol en dialdéhydes pendant 10 minutes.
- Rinçage dans un bain d'eau courante pendant 10 minutes.
- Traitement par le réactif de Schiff en barrel fermé et à l'obscurité pendant 25 minutes.
- Rinçage à l'eau distillée pendant 3 minutes.
- Coloration par l'Héματοxyline de Groat pendant 30secondes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 30 secondes.
- Déshydratation et Montage.

Evolution le poids des souris (wistar) pendant chaque semaine en g :

01 semaine

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	155	159
02	160	156
03	148	158
04	164	150
Moyenne	156,75±5,973	155,75±3,491

02 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	151	203
02	163	182
03	156	160
04	179	176
Moyenne	162,25±10.568	180,25±15.4

03 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	158	225
02	167	161
03	149	197
04	173	266
Moyenne	161,75±9.093	212,25±38.440

04 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	192	215
02	165	199
03	150	217
04	197	299
Moyenne	176±19.32	232,5±39.022

05 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	167	273
02	198	156
03	163	234
04	210	317
Moyenne	184,5±20.006	245±57.074

06 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	164	282
02	170	161
03	159	229
04	235	334
Moyenne	182±30.846	251,5±64.095

07 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	182	293
02	209	127
03	162	255
04	229	346
Moyenne	195,5±25.539	255,25±80.791

08 semaines

Animaux	témoins(g)	traitées(g)
01	186	302
02	201	130
03	175	290
04	225	342
Moyenne	196,75±18.739	266±80.845

Evolution des paramètres biochimiques plasmatique chez les Wistar :

La glycémie : Témoins

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	01.312	1.073
02	0.686	0.957
03	01.200	01.618
04	01.267	0.451
Moyenne	01.116	01.274
Ecartyp	0.290	0.311

La glycémie : Traité

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	1.180	03.144
02	1.052	02.300
03	01.680	03.120
04	0.852	02.332
Moyenne	01.191	02.724
Ecartype	0.353	0.471

Cholestérol : Témoins

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	0.922	0.620
02	0.670	0.596
03	0.458	0.626
04	0.746	0.808
Moyenne	0.642	0.662
Ecartype	0.206	0.097

Cholestérol : Traités

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	0.502	04.850
02	0.940	05.290
03	01.228	04.170
04	0.724	04.070
Moyenne	0.849	4.595
Ecartype	0.310	0.578

TG : Témoins

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	0.747	0.390
02	0.490	0.513
03	0.354	0.370
04	0.244	0.255
Moyenne	0.458	0.382
Ecartype	0.216	0.105

TG : Traités

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	0.572	05.572
02	1.172	05.184
03	0.944	04.278
04	0.499	03.194
Moyenne	0.668	04.556
Ecartype	0.493	01.057

HDL : Témoins

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	0.522	0.239
02	0.372	0.499
03	0.280	0.220
04	0.744	0.900
Moyenne	0.479	0.464
Ecartype	0.202	0.317

HDL : Traités

Animaux	T0 (g/l)	Tf (g/l)
01	0.445	01.536
02	0.997	01.337
03	01.086	01.457
04	0.223	01.235
Moyenne	0.687	01.391
Ecartype	0.419	0.132

Ailhaud G (2008). Apports Lipidiques Et Prise De Poids : Aspects Qualitatifs ,Ocl. activates extracellular signal regulated kinase and c-Jun N-terminal kinase. **26** : 74-165.

Andreyev J . (2005). Andreyev J. Gastro intestinal complications of pelvic radiotherapy. **54**: 1051-1054. antimicrobial proteins, Nat Rev Immuno. **8**: 35-829.

Aouichat Bouguerra S. (2001). Relations diabète-athérosclérose; mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu par la culture du myocyte artériel de Psammomys obesus diabétique. Thèse de doctorat d'état, USTHB.Alger.

Arsenault B. (2006). Obésité viscérale, taille des particules LDL et profil inflammatoire athérogène, Division de kinésiologies département de médecine sociale et préventive faculté de médecine.l'Université Laval Québec.

Asselah H., coll. (2013). Expérience d'une série de 2579 cas d'hépatites virales chronique B et C en Algérie 1er congrès de médecine interne 10-12 mai 2013 Oran.

Basdevant A. (2011). Obésité, santé et société recherches et convergences, Premier séminaire recherche du «Plan Obésité » Paris.

Berneis K.K., Krauss R.M. (2002) Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity, J.Lipid Res. **43**: 1363-1379.

Borel JP., Maquart FX., Le peuch C., Randaux A., Gillery P., Belloni G., Monbois JC. (1997). Biochimie dynamique édition de Boeck. **pp**: 942.

Brazier F., Delcenserie R., Dupas JL. (2002) Digestion et absorption dans l'intestin grele.Encycl Med Chir (Elsevier, Paris), Gastroentérologie, 9-000-B-10. **p**:14.

Bruckert E., Carmena R., Hellerstein MK., Karleskind A. (2014) Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition. Métabolisme des lipides Elsevier Masson SAS, Tous droits réservés. **49**: 469-473.

Brunzell J.D. (2007). Clinical practice, Hypertriglyceridemia, N Engl J Med. **357**: 1009-1017.

Budarf ML. (2009). GWA studies, rewriting the story of IBD, Trends Genet. **25:** 46-137.

Cani PD., Neyrinck AM., Fava F. (2007). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high fat diet induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. Diabetologia. **50:** 83-2374.

Cani PD., Osto M., Geurts L. (2012). Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity, Gut Microbes. **3:** 88-279.

Castello A., Rodriguez-Manzanque JC., Camps M. (1994). Parinatal hypothyroidism impairs the normal transition of Glut 4 et Glut 1 glucose transporters .Evidence for tissue specific regulation of GLUT4 J.Biol.chem . **269** :5905-5912.

Castello A; Rodriguez M; Camps M; Castillo BA; Xavier TS; Palacin S; Angel S; Ceedmm. (2010-2011). Items 129et 129 bis, facteurs de risque cardiovasculaire et prévention /dyslipididémies .université médicae virtuele francophone.

Charlton-Menys V., Durrington PN. (2008). Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules,Exp Physiol. **93** : 27-42.

Crosnier C., Stamataki D., Lewis J. (2006). nature.com

Cunliff RN., Mahida Y.R. (2004). Expression and inregulation of antimicrobial peptides in the gastrointestinal tract, leucokocyte biol. **75** :49-58.

Eckes B., Zigrino P., Kessler D., Holtkotter O., Shephard P., Mauch C., Kriet T. (2000). Fibroblast-Matix interaction in wound healing and fibrosis, matrix biol. **19:** 325-332.

Eisenberg S. (1999) High density lipoprotein metabolism, London,Arnold, Hodder Headline Group. **P:** 71-85.

Emmerich J., Bruneval P. (2000). L'atherosclerose,Paris, John Libbey Eurotext.

Fabrisio A., Delphine J. (2006). Place du foie dans le metabolisme des lipoprotienes .hepato, gastro vol **14:** 20-115.

Farhadi A., Eshavarzian A., Fitzpatrick L.R., Mutlu E., Zhang Y., Banan A. (2002). Modulatory effects of plasma and colonic milieu of patients with ulcerative colitis on neutrophil reactive oxygen species production in presence of a novel antioxidant, rebamipide. **47**: 8-1342.

Fossali P., Principi L., Clin., Chem. (1989). 28: 2077-2080.

Fossati P., Prencipe L., Clin. Chem. (1982). 28 : 2077-2080.

GANZ T. (2000). Paneth cells, guardians of the gut cell hatchery, *Nature Immunol.* **1** : 10-99.

Gautier T., Masson D., Lagrost L. (2011). Archives of cardiovascular diseases supplements. métabolismes des lipoprotéines de haute densité (HDL). *Endocrinologie, diabète, métabolismes et nutrition 2014*, Elsevier Masson SAS. **3**: 267-272.

Genest J., Frohlich J., Fodor G., McPherson, R. (2003). Recommendations for the management of dyslipidemia and the prevention of cardiovascular diseases, summary of the update, *CMAJ.* **169**: 921-924.

Gérard P. (2014). Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota. *Pathogens* **3**: 14-24.

Ginsberg HN., Dixon JL., Goldberg IJ. (1999) VLDL/LDL cascade system: assembly, secretion and intravascular metabolism of apoprotein B-containing lipoproteins, London, Arnold, Hodder Headline Group.

Goldberg HJ., Huszar T., Mozes MM., Rosivall L., Mucsi I. (2002). Overexpression of the type II transforming growth factor-beta receptor inhibits fibroblasts proliferation.

Guimont MC. (1998). La lipoprotéine Lp (a), son intérêt dans l'interprétation du bilan lipidique. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université Paris V René Descartes. **P** : 11.

Gulba A., Mikhalidis G.Y., Lip S., Hannam J., Rays., Banach M. (2010). Statins in patients with chronic kidney disease, expert opinion. *Pharmacotherapy.* **11**: 2665-2674.

Gum JR., BYRD JC, Hicks JW et coll. Molecular cloning of human intestinal mucine cDNAs. *J. Biol. Chem.* **264** : 6480-6487.

Gummesson A., Carlsson LM., Storlien LH (2011). Intestinal permeability is associated with visceral adiposity in healthy women. *Obesity (Silver Spring)*. **19**: 2-2280.

Hamlat A., Pasqualini E., Askar B. (2004). Hypothesis about the physiopathologie of acute deterioration .*Med Hypothesis*. **63** :1014-1017.

Hamlat N; Negazzi S; Forcheron F; Bricca G; Beylot M; Aouichat-Bouguerra S. (2010). Lipogenesis in arterial wall and vascular smooth muscle cells of *Psammomys obesus*: Its regulation and abnormalities in diabetes, *Diabetes & metabolism*. **36**: 221 - 228.

Henri GIN. (2005). Dervice de nutrition-diabétologie CHU de BORDEAUX. (maladiesmétaboliques).

Hercberg S. (1996). Les aspects historiques de l'alimentation. La nutrition humaine: la recherche au service de la santé, J.F, Desjeux J.F, Hercberg H eds. Editions INSERM/Nathan.

Hillgartner FB., Salati LM., Goodridge AG. (1995). Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis, *Physiol*. **75**: 47-76.

Hobbs H.H., Scott J. (1994). Genetics and molecular biology, *Curr.Opin.Lipidol*.

Jang MH. (2004). Intestinal villous M cells: an antigen entry site in the mucosal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **101**: 5-6110.

Kolls J.K P.B., McCray J., Chan Y.R. (2008) Cytokine-mediated regulation .

Kraehenbuhl J.P., Neutra M.R. (1992). Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces, *Physiol*. **72**: 853-879.

Kumpula LS., Kumpula JM., Taskinen MR., Jauhiainen M., Kaski K., Ala-Korpela M. (2008). Reconsideration of hydrophobic lipid distributions in lipoprotein particles, *Chem, Phys, Lipids*. **155**: 57-62.

Kumpula LS., Mäkelä SM., Mäkinen VP., Karjalainen A., Liinamaa JM., Kaski K., Lai, Y. and Gallo R.L.(2009). AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends Immunol*. **30**: 41-131.

Laugerette F., Vors C., Peretti N. (2011). Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation, *Biochimie* **93**: 39-45.

Lee C.S et K. H. Kaestner. (2004). Clinical endocrinology and metabolism. Development of gut endocrine cells." *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. **18**: 62 -453.

Legrand A., Couderc R. (1997). Les lipoprotienes et leur métaboisme,cahier de formation biologie médicale, Hémoglobines glyquées ,lipides.

Lewis GF.,Rader DJ. (2005). New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res*. **96**: 1221-1232.

Lotz M., Ménard Snard., Hornef M. (2007). Innate Immune recognition on the intestinal mucosa, *international journal of médicale microbiologie*. **297**: 379-392.

Mashek RA., Coleman. (2006). Cellular fatty acid uptake: the contribution of metabolism. *Curr Opin Lipidol*. **17**: 274-278.

Mathieu M J., Fonteneau JM. (2008). Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie: préparation du BP, formation continue ,Ed ,porphyre,France. **p** : 1410.

McArdle MA. (2013). Mechanisms of obesity induced inflammation and insulin resistance: Insights into the emerging role of nutritional strategies,*Frontiers in Endocrinology*. **4**: 1–23.

Mead JR., Irvine SA., Ramji DP. (2002). Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease, *J Mol Med*. **80**:69-753.

Merkel M., Eckel R.H.,Goldbrg I.J. (2002). Lipoprotein lipase : genetics,lipid uptake ,and regulation, j lipid Res. **43**: 1997-2006.

Michel R. (1999) Physiologie animale, les grandes fonctions. Tome 2eme edition. Masson II,Paris. **p**: 322 .

Michel R. (1999). Physiologie animale, les grandes fonctions, Tome 2, 2eme edition, Masson II,Paris. **p** :322.

Minaire Y., Forichou J., Meunier P. (1990). Digestion et absorption dans l'intestin grele. Edition technique. Encycl, Chir M, Paris, France, estomac- intestin, 9000 B10. **p**: 10-16

Murray K.H., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwel V.W. (2000). Harper's biochemistry 25th ed.stamford,Connecticut: appelton and lange.

Ndiaye MF. (2007). Obesity in Africa, definitions and epidemiology JAfr Hepato Gastroenterol **1**: 71-75.

Olofsson S.O., Borèn J. (2005). Apolipoprotein B, a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. J int Med. **258**: 395-410.

Potet F. (1988).Histologie de tube digestif .Masson.

Pownall H., Gotto AM. (1999) Structure and dynamics of human plasma lipoproteins, New York, Oxford University Press Inc. **p**: 3-15.

Rechmond N ., Clin.Chem. (1974). **12** :403.

Rouffy J., Chanu B., Bakir R., Goy-Loeper J., Miro I. (1983) Lipids, lipoproteins, apoproteins and clinical arteriopathic manifestations]. Pathol Biol (Paris). **31**: 261-270.

Saïle R., Taki H. (2007). Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose, de la biochimie à la physiopathologie, Les technologies de laboratoire. **p**: 4-11.

Savolainen MJ., Hannuksela ML., Ala-Korpela M. (2010). Characterization of metabolic interrelationships and in silico phenotyping of lipoprotein particles using self-organizing maps. *J. Lipid. Res.* **51**: 431-439.

Schaefer EJ., Levy RI. (1985) Pathogenesis and management of lipoprotein disorders. *New Engl J med.* **312**: 1300-1310.

Schinner S; Scherbaum WA; Bornstein SR; Barthel A. (2005). Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabet. Med.*, **22**: 82-674.

Seignal J., Joyeux H. (2004). L'alimentation d'Édition François-Xavier de Guibert. paris.

Sylvia S., Mader. (1997). Life, 8th edition, Mc Grow-Hill Companies.

Tentolouris N; Pavlatos S; Kokkinos A; Perrea D; Pagoni S; Katsilambros N. (2008). Diet-induced thermogenesis and substrate oxidation are not different between lean and obese women after two different isocaloric meals, one rich in protein and one rich in fat. *Metabolism.* **57**:313-20.

Tremaroli V., Backhed F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism, *Nature* **489**: 9-242.

Trinder P., Ann. Clin. Chem.Biochem. (1969). **6** : 27-29.

Turnbaugh PJ, Backhed F., Fulton L., Gordon JL. (2008). Diet induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome, *Cell Host Microbe.* **3**: 23-213.

Utermann G., Hees M., Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. **269**: 7-604.

Valdemarsson SP; Nilsson HP. (1982). Reversal of decreased hepatic lipase and lipoprotein lipase activities after treatment of hypothyroidism. *Eur. J. Clin. Invest.* **12**: 423 - 428.

Vaubourdolle M. (2007) Structure et métabolisme des lipoprotéines, In Lmd pharmacies, Biochimie Hématologie.

Voet D., Voet J.G. (2005). Biochemistry. John wiley and Sons, Inc. (3rd ed)

Xiang S.Q., Cianflone K., Kalant D., Sniderman A.D. (1999). Differential Binding of Triglyceride Rich Lipoproteins to Lipoprotein Lipase, Journal of Lipid Research **40**: 165-563.

Zambon A., Bertocco S., Vitturi N., Polentarutti V., Vianello D., Crepaldi G. (2003). Relevance of hepatic lipase to the metabolism of triacylglycerol-rich lipoproteins, Biochem Soc Trans. **31**: 1070-1074.

Zorzano A. (1994). Perinatal hypothyroidism impairs the normal transition of GLUT4.