

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة جيلالي بونعامة  
Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana  
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre  
Département de **Biologie**



*Mémoire de fin d'études*

En vue de l'obtention de diplôme de **Master**  
**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière** : Biologie  
**Spécialité** : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

L'hyperhomocystéinémie et la stéatose hépatique chez le rat des sables, *Psammomys obesus*

Présenté par :

*M<sup>elle</sup> Chaggate Hayat & M<sup>elle</sup> Mekki Siham*

Soutenu le 12 juillet 2018, devant le jury composé de :

<b>Président</b> : M. CHEURFA M.	MCB (U.D.B.KM)
<b>Promoteur</b> : M. CHAOUAD B.	MAA (U.D.B.KM)
<b>Examineur</b> : M. SAHRAOUI A.	MCB (U.D.B.KM)

**Année universitaire : 2017/2018**

## **Remerciement**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur M. CHAOUAD Billel, pour son précieux conseil, son aide, sa patience et sa compréhension durant toute la période du travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, d'avoir acceptées d'évaluer notre travail :*

- *Nous remercions à M. CHEURFA.M. d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance.*
- *Nous adressons nos remerciements aux examinateurs M. SAHRAOUI. A, pour l'intérêt qu'il a porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leur proposition.*

*Nous voudrions aussi remercier tous les enseignants qui ont contribués à notre formation.*

*A nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## ***Dédicace***

*Avec l'aide de dieu j'ai pu terminer ce modeste travail que je dédie :*

### ***A mes parents***

*Vous m'avez apporté un soutien sans faille et témoigné toute votre confiance  
durant ma scolarité !!! Vos encouragements et votre compréhension ont été mes  
meilleurs supporters pendant 23 années !!!!!*

*MAMA pour moi une bulle d'oxygène et un moteur pour construire  
l'avenir !!!!!!!!!!!!!!!*

### ***A ma sœur, Manel !!!!***

***A mes Frères, mounir, aymen !!!!***

***A mon grand-père et mes grand-mères !!!!***

***À tous mes oncles !!!!, tantes !!!, cousins et cousines !!!!***

***A ma chérie binôme Hayat !!!!***

### ***À toutes mes amies***

*Fatiha ,Karima, Meriem, Nazih, Yamina, Ibtisam, nasira, khltoum, Sara,  
Khawla, Saliha, Hafida, naima, houria, zahia, kanza, aicha !!!!*

***A tous ce qui m'a enseigné tout au long de ma vie scolaire***

***Et plus spécialement Madame Cherifa et Mr Chaouad !!!!***

***À tous ceux que j'aime.***

***Siham***

## Dédicace

Tout d'abord louange à **Allah** qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas

Jedédie ce mémoire à mon père décédé \* **Yahia**\* le lundi 23 septembre 2007 au soir, je n'arrive toujours pas à m'imaginer qu'il est partie dans le royaume des cieux et que je me retrouve sans père, il me manque profondément, mais la mort fait partie de la vie. la raison principale de mon succès est pour lui ; l'unique chose que je peux faire pour lui est de prier dieu pour lui accorder son infinie miséricorde et l'accueillir dans son éternel paradis .que dieu le bénisse Allah yar7mou.

A toi maman **Fatiha** qui m'a tellement donné, je n'ai pas assez de mots pour vous exprimer ma reconnaissance et ma plus profonde tendresse.

A ma grand-mère maternelle que dieu la protège.

A mes sœur ; **Amel, Chahrazed, Ratiba, Fatima Zohra, ma petit princesse Sabrina**

A mon seul frère ; **Walid.**

Aux frères de ma mère ; **Abdallah, Abdelkader, Ahmed et Fatima, Ghania, Faiza** en particulier **ma tante Djamilia** merci.

Aux Fils de deux ma sœur ; **Moussa, Noussiba, Hanin.**

A mon binôme et très chère amie **Siham**, à qui je souhaite une vie pleine de bonheur et de succès ; ainsi que sa famille.

A toutes mes amies avec qui j'ai des souvenirs très agréables surtout **Siham, Meriem et Naziha, Asma, Fatima, Karima et Fatiha, Bakhta, sara**, sans oublier toutes les personnes qui me connaissent surtout étudiants spécialisés.

A mon fiancé **Mohammed** que nchallah je passe avec vous de bonne vie.

Aux tous ceux qui m'ont aidé m'ont encouragé de près ou de loin et à tous ceux qui ont apporté une touche à ce travail, je leur dit du fond de mon cœur merci.

HAYAT

## Résumé

L'hyperhomocystéinémie, une augmentation du taux plasmatique en homocystéine, est largement impliquée comme facteurs de risques dans diverses pathologies comme les maladies cardiovasculaires, la fibrose et la stéatose hépatiques. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à étudier l'impact d'un agent hyperhomocystéinémiant, la méthionine, sur histologie hépatique de *Psammomys obesus*, un rongeur déserticole du sud algérien.

Pour ce faire, les rats des sables ont été répartis en deux lots, un lot témoin soumis à un régime naturel de plantes halophiles, et un lot soumis au même régime alimentaire et rendu hyperhomocystéinémique par administration de la méthionine par voie intra péritonéal à raison de 300 mg/kg de poids corporel/j pendant 1 mois. Afin de visualiser les effets de l'hyperhomocystéinémie sur le parenchyme hépatique, une approche histologique à l'aide de colorations appropriées a été établie. Cette étude est complétée par une analyse morphométrique. Les transaminases hépatiques (ALT et AST) sont également dosées au niveau plasmatique.

Nos résultats ont montré que l'administration de la méthionine provoque une augmentation significative de l'homocystéine plasmatique de 638% indiquant l'installation d'une hyperhomocystéinémie. Les transaminases sont aussi le siège d'une forte augmentation significative qui signale une souffrance hépatocytaire. En effet, ALT augmente de 430,6% et AST de 827,49% comparativement aux témoins. Au niveau histologique, la principale altération observée est la stéatose macrovacuolaire. L'hypertrophie cellulaire, la nécrose, l'apoptose, l'infiltration leucocytaire et la fibrose perivasculaire sont également parmi les altérations hépatiques induites par l'hyperhomocystéinémie et qui mettent en évidence un remodelage de tissu hépatique.

**Mots clés :** Méthionine - Hyperhomocystéinémie -Foie - Stéatose - Fibrose -*Psammomys obesus*

## Abstract

Hyperhomocysteinemia, an increase in homocysteine plasma levels, is widely implicated as risk factors in various pathologies such as cardiovascular diseases, fibrosis and hepatic steatosis. We were interested in this work to study the impact of a hyperhomocysteemic agent, methionine, on histological of *Psammomys obesus*, a desert rodent from southern Algeria.

To do this, the sand rats were divided into two batches, a control batch subjected to a natural diet of halophilic plants, and a batch subjected to the same diet and made hyperhomocysteineemic by administration of methionine at a rate by intraperitoneal of 300mg / kg body weight / day for 1 month.

In order to visualize the effects of Hyperhomocysteinemia on hepatic parenchyma, a histological approach using staining has been established. This study is completed by a morphometric analysis. Hepatic transaminases (ALT and AST) are also measured at the plasma .

Our results show that the administration of methionine causes a significant increase in plasma homocysteine of 638% indicating the installation of Hyperhomocysteinemia. Transaminases are also the seat of a significant increase that indicates hepatocyte suffering. Indeed, ALT increases by 430.6% and AST by 827.49% compared to controls. Histologically, the main impairment observed is macrovacuolar steatosis. Cellular hypertrophy, necrosis, apoptosis, leukocyte infiltration and perivascular fibrosis are also among the hepatic alterations induced by Hyperhomocysteinemia and which demonstrate hepatic tissue remodelling.

Key words: Methionine-Hyperhomocysteinemia-liver-steatosis-fibrosis-psammomys obesus

## ملخص

يعتبر ارتفاع نسبة الهوموسيستيين في الدم من العوامل المؤدية إلى ظهور عدة أمراض على رأسها أمراض القلب و الشرايين، التليف والتتكس الدهني الكبدي.

في موضوع بحثنا هذا ركزنا على مدى تأثير الميثيونين العامل المؤدي إلى ارتفاع نسبة الهوموسيستيين على انسجة الكبد من جرد الرمال احد أنواع قوارض صحراء الجزائر.

من اجل هذا قسمت جردان الرمال إلى مجموعتين : مجموعة شاهدة عرضت لإتباع نظام غذائي من النباتات المحبة للملوحة، والأخرى معدلة مرتفعة الهوموسيستيين بحقن 300مغ/كغ من وزن الحيوان بالميثيونين تحت الصفاق في كل يوم مدة شهر كامل. وفي مسار توضيح اثر ارتفاع الهوموسيستيين في الدم على نسيج الكبد أنجزنا طريقة تلوين الأنسجة التي أتمت بتحليل مورفومتريك، ومعايرة الترانساميناسات الكبدية المتواجدة في البلازما.

نتائجنا تثبت أن استعمال الميثيونين يؤدي إلى زيادة بليغة في معدل الهوموسيستيين في الدم بنسبة %638، أيضا زيادة الترانساميناسات يدل على إصابة خلايا الكبد، حيث كان ارتفاع ال ALT بنسبة % 430،6 وال AST بنسبة %827،49 مقارنة بالمجموعة الشاهدة. أما على مستوى النسيج فان القصور الرئيسي الذي لوحظ هو تنكس دهني ذو حجم حويصلي كبير ، تضخم خلوي، نخر الخلايا، الموت المبرمج للخلايا، تسلل كريات الدم البيضاء، التليف حول الأوعية هو أيضا من بين المضاعفات التي يسببها ارتفاع الهوموسيستيين في الدم والتي تظهر في اعادة تشكل الانسجة الكبدية .

الكلمات المفتاحية : الميثيونين، ارتفاع الهوموسيستيين في الدم، تنكس دهني كبدي، تليف كبدي، جرد الرمال.



# *Sommaire*

<b>Sommaire</b>	
<b>Abréviations</b>	
<b>Introduction</b>	01
<b>Revue bibliographique</b>	02
<b>I. Homocystéine</b>	03
1. Définition	03
2. Les différentes formes d'homocystéine circulantes	03
2.1. L'Hcy liée aux protéines	03
2.2. L'Hcy libre	03
3. Fonctions biologique de l'homocystéine	04
4. Métabolisme de l'homocystéine	04
4.1. La voie de transméthylation	05
4.2. La voie de transulfuration	05
4.3. La voie de la reméthylation	06
5. Régulation du métabolisme	06
6. Physiopathologie de l'hyperhomocystéinémie	06
6.1. Définition de l'hyperhomocystéinémie	06
6.2. Etiologies	07
6.2.1. Les facteurs génétiques	07
6.2.2. Les facteurs nutritionnels	08
6.2.3. Les facteurs d'environnement	08
6.3. Mécanismes pathogénique de l'hyperhomocystéinémie	09
6.3.1. La dysfonction endothéliale	09
6.3.2. Le Stress oxydant	09
6.3.3. L'inflammation	10
6.3.4. Altération de l'hémostase	10
6.3.5. Altération de la relaxation vasculaire	11
6.3.6. Altération de la matrice extracellulaire	11
<b>II. Le foie</b>	11
1. Généralité	11
2. Rappel embryologique	11
3. Anatomie du foie	12
4. Vascularisation du foie	12
4.1. Vascularisation afférente	12

4.2. Vascularisation efférente .....	13
<b>5.</b> Innervation du foie .....	13
<b>6.</b> Histologie du foie .....	13
6.1. Le lobule hépatique .....	13
6.2. Différents types cellulaire .....	14
6.2.1. Cellules parenchymateuses (les hépatocytes) .....	14
6.2.2. Les cellules non parenchymateuses .....	14
<b>7.</b> Fonction du foie .....	15
7.1. Métabolisme des protéines .....	15
7.2. Métabolisme des lipides .....	15
7.3. Métabolisme des glucides .....	16
7.4. Métabolisme des hormones .....	16
7.5. Métabolisme des déchets .....	16
7.6. Fonction de détoxification .....	16
7.7. Fonction de stockage .....	16
7.8. Fonction biliaire .....	16
<b>Matériels et méthodes</b>	
<b>I. Matériels</b> .....	18
<b>1.</b> Identification du modèle animal .....	18
1.1. Classification .....	18
1.2. Habitat .....	18
1.3. Nourriture .....	18
1.4. Reproduction .....	18
<b>2.</b> Matériels non biologiques .....	18
2.1. Equipement et instruments .....	19
2.2. Produits et solutions histologiques .....	19
2.3. Colorants histologiques .....	19
2.4. Outils informatiques .....	19
<b>II. Méthodes</b> .....	19
<b>1.</b> Protocole expérimental .....	19
<b>2.</b> Dosage de l'homocystéine plasmatique .....	20
<b>3.</b> Dosage des transaminases .....	20
3.1. Dosage d'AST .....	20
3.2. Dosage d'ALT .....	20

4. Technique histologique .....	21
4.1. La Fixation .....	21
4.2. La déshydratation .....	21
4.3. L'éclaircissement .....	21
4.4. L'imprégnation .....	22
4.5. La mise en bloc .....	22
4.6. La confection et l'étalement des coupes .....	23
4.7. La coloration .....	23
4.7.1. Azan modifié .....	24
4.7.2. Rouge Sirius .....	24
4.8. Montage et observation des lames .....	24
5. Etude morphométrique.....	24
6. Etude statistique .....	25
<b>Résultats et discussion</b> .....	26
<b>I. Résultats</b> .....	27
1. Effet de l'administration de la méthionine sur l'homocystéinémie et sur les transaminases hépatiques .....	27
1.1. Homocystéine plasmatique .....	27
1.2. Transaminases hépatiques .....	27
1.3. Corrélation entre ALT/AST/Hcy .....	28
2. Résultats histo morphométriques.....	29
2.1. Résultats histologiques .....	29
2.1.1. Histologie du foie chez les animaux témoins .....	29
2.1.2. Histologie du foie chez les animaux Hcy.....	30
2.2. La morphométrie de certains paramètres hépatiques .....	36
2.2.1. Etude morphométrique des paramètres nucléaires des hépatocytes .....	36
2.2.2. Etude morphométrique des paramètres cellulaires des hépatocytes.....	37
<b>II. Discussion</b> .....	38
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	42
<b>Références bibliographiques</b> .....	44

**Index**

**Annexe**

# *Abréviations*

**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**ALT** : Alanine aminotransférase  
**AST**: Aspartate aminotransférase  
**Atg12**: Autophagy related gene  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**B12** : Vitamine B12  
**B6** : Vitamine B6  
**B9** : Vitamine B9  
**BHMT** : Bétaine homocystéine Méthyltransférase  
**CBS** : Cystathionine $\beta$ -synthase  
**CMIA** : Chemiluminescent microparticle immunoassay  
**DTT** : dithiothréitol  
**ET-1**: Endothéline-1  
**MS**: Méthionine synthétase  
**GPX** : glutathion peroxydases  
**GSH**: Glutathione  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène  
**Hcy** : Homocystéine  
**Hhcy** : Hyperhomocystéinémie  
**ICAM-1**: Inter Cellular Adhesion Molecule 1  
**IL-8**: Interleukine 8  
**LC3-II** : light Chain 3-II  
**LDL**: Low-density lipoprotein  
**LDL-c**: Low-density lipoprotein cholestérol  
**MAT** : Méthionine adénosyl transférase  
**MCP-1**: monocyte chemoattractant protein 1  
**MCV** : Maladie cardiovasculaire  
**MEC**: Matrice extracellulaire  
**MS**: Méthionine synthase  
**MTHFR** : Méthylènetétrahydrofolate réductase  
**NADPH**: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit  
**NF kappa B** : Nuclear factor-kappa B  
**NO** : Oxyde nitrique  
**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxide  
**p62** : Protéine 62

## *Abréviations*

---

**PE** : phosphatidyl- ethanolamine

**PEMT**: Phosphatidylethanolamine méthyltransférase

**ROS** : Reactiv oxygen spease

**SAM**: S-adénosyl- méthionine

**SOD**: Super oxyde dismutase

**SREBP-1**: Sterol Regulatory Elément Binding Proteins

**TGF $\beta$ -1** : Facteur de croissance de transformation bêta-1

**THF**: Tétrahydrofolate

**TIMP-1**: (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase)

**TNF- $\alpha$** : Facteur de nécrose tumorale alpha

**URL** : unités relatives de lumière

**VCAM-1**: Molécule-1 d'adhérence de cellules vasculaires

**VLDL**: Very Low Density Lipoprotein

# *Introduction*

La stéatose hépatique non alcoolique est la maladie chronique du foie la plus répandue dans les pays occidentaux (**Wang et al., 2018**). Cette pathologie est un trouble lié à l'accumulation de lipides dans le foie, formant ainsi des dépôts et qui peut évoluer vers la fibrose voire la cirrhose. Plusieurs facteurs de risques sont à l'origine de cette maladie en particulier le syndrome métabolique (**Rutigliano et al., 2017**) et l'insulino-résistance (**Capeau, 2008**). Ces facteurs, et d'autres, sont tous responsables de façons directe ou indirecte à la perturbation des lipoprotéines plasmatiques et à l'accumulation, par conséquent des lipides dans le foie.

L'hyperhomocystéinémie (Hhcy), un facteur de risque, lié principalement aux maladies cardiovasculaires, semble responsable également de la stéatose et de la fibrose hépatique sans altéré, dans la plupart des cas, les lipides plasmatiques (**Zhang, 2018**). La pathogénicité de l'Hhcy au niveau hépatique passe plutôt, par la modification épigénétique de l'expression de certains gènes en particulier les gènes de quelques types de collagènes (**Lei et al., 2015**) et les gènes de l'apoptose (**Yalçinkaya et al., 2009**), mais également par la génération des espèces réactives de l'oxygène, par l'augmentation de la peroxydation lipidique et par la diminution des enzymes antioxydants (**Woo et al., 2006**).

L'homocystéine, quant à lui, est un acide aminé soufré intermédiaire dans le métabolisme de la méthionine et découvert en 1932 par Du Vigneaud (**Guilland et al., 2003**). Plusieurs travaux ont rapporté que l'administration chronique d'un excès de méthionine provoque chez différents modèles animaux un état d'hyperhomocystéinémie (**Kumar et al., 2016; Küskü-Kiraz et al., 2018; Taghli et al., 2016**).

Dans le cadre de ce présent travail, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet d'une hyperhomocystéinémie expérimentale, induite chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) par administration quotidienne de la méthionine sur l'histo-morphométrie hépatique et sur l'activité enzymatique des transaminases hépatique (ALT/AST).

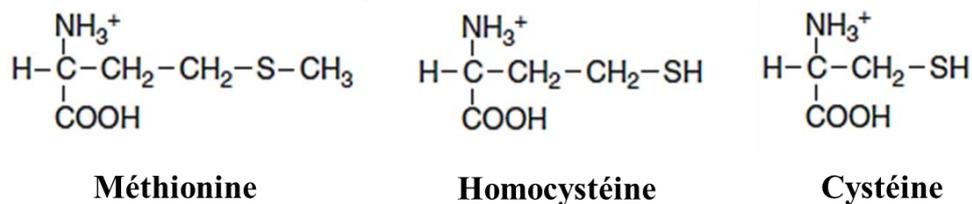
Ce mémoire est structuré en plusieurs parties. Dans une première partie bibliographique, le métabolisme de la méthionine en homocystéine ainsi que les effets athérogènes de cette dernière seront abordés. Dans une deuxième partie, les méthodologies utilisées tout au long de ce travail seront décrites. Dans une troisième partie, les résultats obtenus lors de ce travail seront présentés sous forme de deux sous-parties. Dans un premier temps, nous avons analysé l'homocystéinémie et les transaminases hépatiques. Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'histologie, l'histochimie et la morphométrie hépatiques chez les animaux témoins et traités. Finalement, une conclusion générale de ce travail et les perspectives seront présentées.

# *Revue bibliographique*

## I. L'HOMOCYSTEINE

### 1. Définition

L'homocystéine (acide 2-amino-4-méthylbutyrique) est un acide aminé soufré porteur d'un groupe thiol réducteur libre très réactif ( $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{) COOH}$ ). Cet acide aminé n'est pas apporté par l'alimentation et il n'intervient pas dans la synthèse peptidique (**Jean-Marc, 2006**). Il est formé par la déméthylation de la méthionine alimentaire, et peut être converti de manière réversible en méthionine et irréversiblement en cystéine (figure 1) à l'aide des vitamines de type B (**Raikar et al., 2017**).



**Figure 01** : Structure chimique de la méthionine, de l'homocystéine et de la cystéine (**Colovic et al., 2018**).

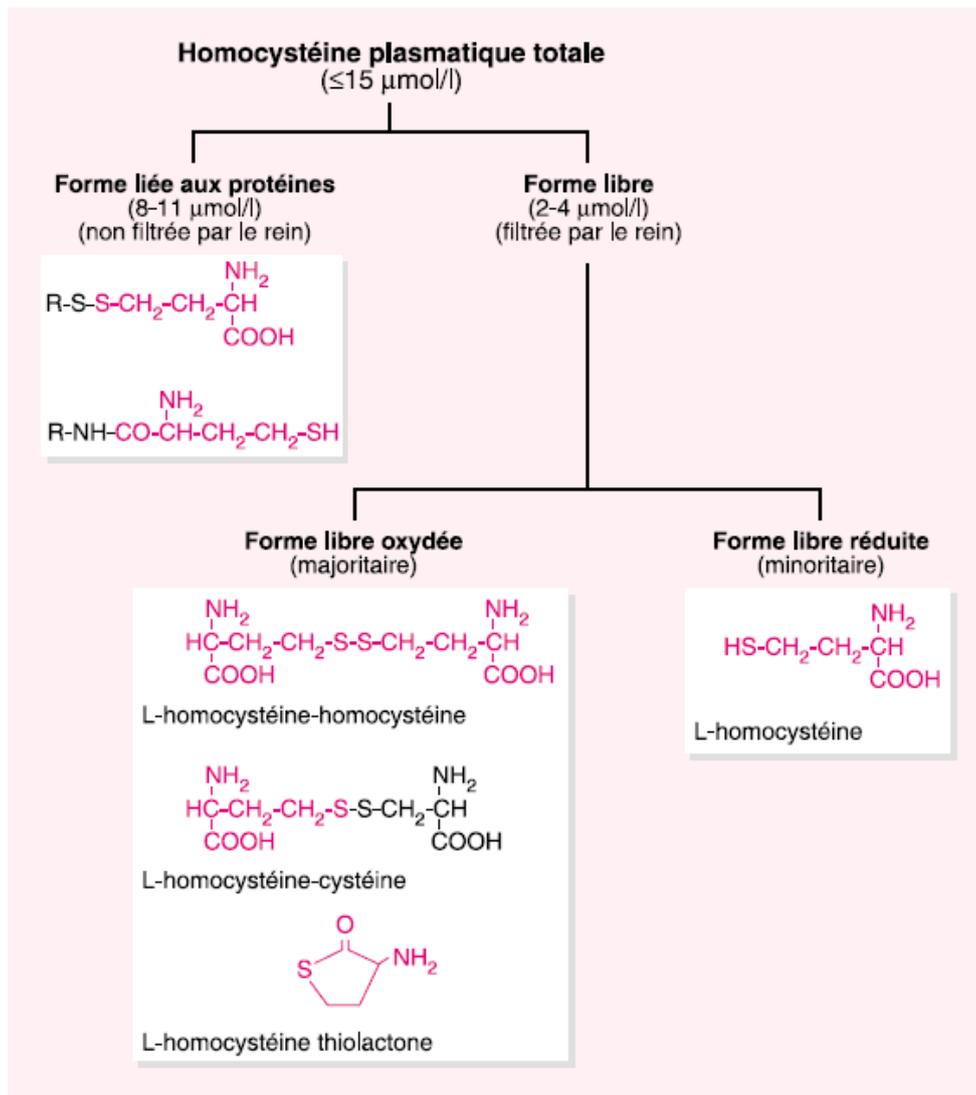
### 2. Les différentes formes d'homocystéine circulantes

L'homocystéine plasmatique se trouve sous différentes formes (figure 2) :

**2.1. L'Hcy liée aux protéines** : Cette forme non filtrée par le rein représente 75% à 80% de l'Hcy plasmatique totale. La liaison de l'Hcy aux protéines plasmatiques est réalisée soit par l'intermédiaire des ponts disulfures soit par des ponts peptidiques.

**2.2. L'Hcy libre** : Cette forme, en revanche, est filtrée par le rein et elle se trouve sous deux formes, une forme libre oxydée majoritaire et une forme libre réduite correspondant à l'Hcy proprement dite. La forme libre oxydée est principalement représentée par le disulfide L-homocystéine-homocystéine, par des disulfides mixtes tels que le disulfide L-homocystéine-cystéine et par l'homocystéine thiolactone.

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



**Figure 02** : Formes circulantes d'homocystéine plasmatique (Demuth et al., 2000).

### 3. Fonctions biologique de l'homocystéine

L'homocystéine présente quatre fonction majeures (Finkelstein et Martin, 2000) :

- ❖ Un précurseur de la cystathionine, de la cystéine et de plusieurs autre métabolites comme la taurine, un acide aminé non incorporé dans la synthèse des protéines.
- ❖ Un intermédiaire dans le cycle de méthionine.
- ❖ Un récepteur de groupement méthyle dans la réaction de la bétaine homocystéine Méthyltransférase (BHMT).
- ❖ Un substrat pour le recyclage des folates.

### 4. Métabolisme de l'homocystéine

L'homocystéine (Hcy) synthétisée par toutes les cellules de l'organisme au cours des changements physiologiques de la méthionine exogène (Wierzbicki, 2007). Le foie et le rein

sont les deux organes où l'Hcy est principalement catabolisée (Ichinohe *et al.*, 2005). Ceci se fait à travers l'une des deux voies vitamine dépendantes : la voie de la reméthylation et la voie de la trans-sulfuration (de jaeger *et al.*, 2010).

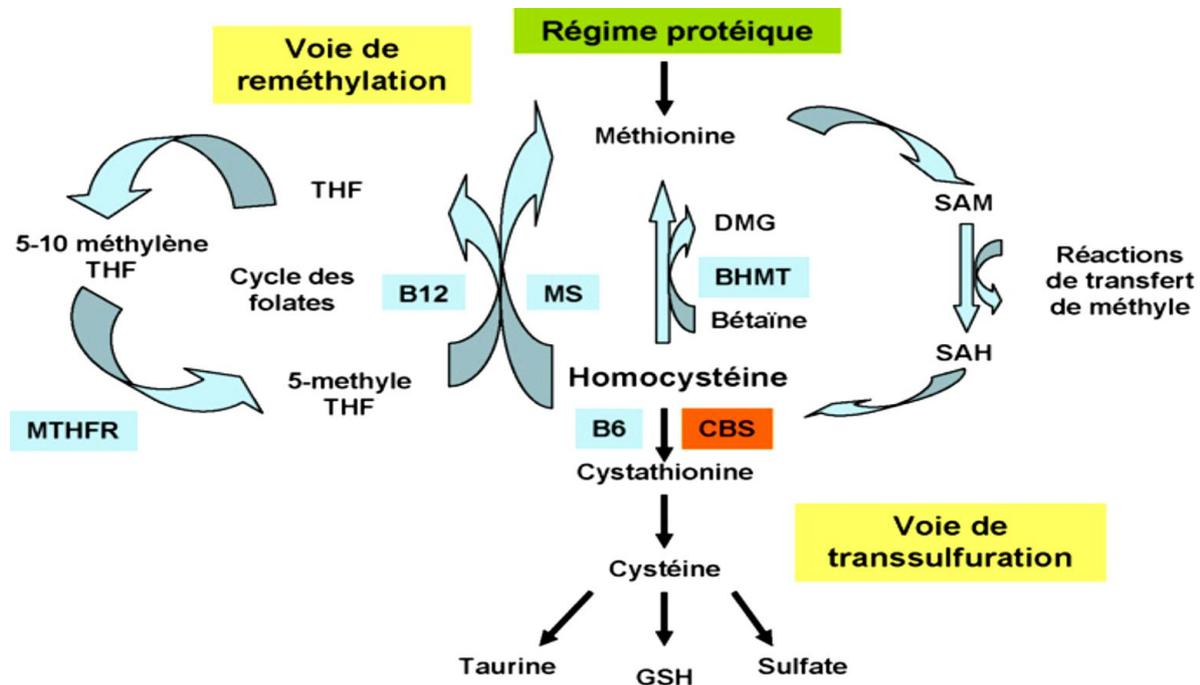


Figure 03 : Voies métaboliques de l'homocystéine (Levasseur., 2009).

**SAM** : S- adénylméthionine, **SAH**:S- adénylhomocystéine, **CBS** :Cystathionine bêta-synthase, **Vitamine B6**(pyridoxyl phosphate), **Vitamine B12** (cobalamine), **GSH**:Glutathione, **MS** : Méthionine synthase, **MTHFR** : 5,10- méthylenetetrahydrofolate réductase, **THF** : Tétrahydrofolate, **BHMT** : Bétaïne homocystéine méthyltransférase, **DMG** : Diméthylglycine.

#### 4.1. La voie de transméthylation

La méthionine adényl transférase (MAT) catalyse la synthèse de S- adényl- méthionine (SAM) à partir d'ATP et de méthionine (Brosnan et Brosnan, 2006), la S- adényl- méthionine est le principale donneur de groupement méthyle de l'organisme. Ce transfert de groupement méthyle qui est catalysé par des méthyles transférase, induit la synthèse de S- adénylhomocysthéine (SAH). L'homocystéine est générée alors par clivage de la SAH par la SAH hydrolas (Scott et Weir, 1998 ; Niedzwiecki *et al.*, 2018).

#### 4.2. La voie de transulfuration

Sous l'influence de la cystathionine bêta-synthase (CBS) dont le cofacteur est le phosphate de pyridoxal (vit B6), l'Hcy se condense avec la sérine pour former la cystathionine. Cette dernière est transformée en cystéine (Veyrat-Durebex *et al.*, 2013).

### **4.3. La voie de la reméthylation**

Elle assure la reméthylation de l'Hcy en méthionine selon deux réactions enzymatiques :

- La principale réaction fait intervenir la 5-méthyl tétrahydrofolate-homocystéine méthyltransférase (méthionine synthase) dont le cofacteur est la cobalamine (la vitamine B12). Le groupement méthyl est apporté par le 5-méthyl tétrahydrofolate (la forme principale de l'acide folique), dont sa formation est sous l'action de la 5,10-méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR).
- L'autre réaction principalement hépatique, fait intervenir la bêtaïne-homocystéine méthyltransférase (**Lelonga et al., 2012**).

### **5. Régulation du métabolisme**

La concentration plasmatique de l'homocystéine dépend de quelques enzymes (cystathionine Béta synthase, méthylène tétrahydrofolate réductase) et des apports en vitamines B (Garcin et al., 2005). En cas d'apport protéique excessif, la voie de transsulfuration est favorisée par un rétrocontrôle positif de la CBS et un rétrocontrôle négatif de la MTHFR, avec pour régulateur allostérique la SAM.

A l'inverse, en cas de déficit protéique, la voie de reméthylation est privilégiée pour assurer un pool cellulaire suffisant de méthionine (**Poloni et al., 2015**).

Dans les deux cas, la concentration intracellulaire en homocystéine est toujours faible (environ 5nmol/g de tissu) puisque l'homocystéine est métabolisée dès sa formation (**Demuth et al., 2000**).

### **6. Physiopathologie de l'hyperhomocystéinémie**

#### **6.1. Définition de l'hyperhomocystéinémie**

L'organisme humain synthétise environ 20 mmol par jour d'homocystéine, mais de très faibles quantités se retrouvent dans le sang (**Mouchabac, 2008**). Du fait de sa cytotoxicité, l'Hcy est rapidement éliminée via le plasma. Ce mécanisme d'élimination hors des cellules, complète le catabolisme de l'Hcy par la voie de la trans-sulfuration permettant de maintenir des concentrations intracellulaires basses et précisément régulées inférieures à 1µmol/L (**Zittoun., 1998**).

L'hyperhomocystéinémie (HHcy) est définie comme un état pathologique caractérisé par un taux anormalement supérieur à 15µmol/L d'homocystéine dans le sang (**Ganguly et Alam, 2015**). La classification des différentes HHcy à jeun est citée dans le tableau 01.

**Tableau 01** : Classification des hyperhomocystéinémies (Ganguly et Alam, 2015).

Classes d'hyperhomocystéinémie	Concentration plasmatique de Hcy
Homocystéinémie normale	5 à 15 $\mu\text{M}$
Hyperhomocystéinémie modérée	16 à 30 $\mu\text{M}$
Hyperhomocystéinémie intermédiaire	31 à 100 $\mu\text{M}$
Hyperhomocystéinémie sévère ou majeure	>100 $\mu\text{M}$

Une augmentation même modérée de l'homocystéine pourrait être un facteur de risque cardiovasculaire et coronaire (Clarke *et al.*, 1991). Une méta-analyse portant sur 27 études de différentes populations, montre qu'une augmentation du taux d'Hcy plasmatique de  $5\mu\text{mol/l}$  était associée à un risque relatif de 1,6 et 1,8 de coronaropathies, respectivement chez les hommes et les femmes, et à un risque de 1,5 de maladies cérébrovasculaires, ce qui pourrait être équivalent à une augmentation du risque de MCV suite à une élévation de  $0,5\text{ mmol/l}$  ( $20\text{mg/dl}$ ) de cholestérol plasmatique (Boushey *et al.*, 1995).

## 6.2. Etiologies

Les déterminants de l'homocystéine totale plasmatique sont complexes et impliquent des facteurs nutritionnels, génétiques et environnementaux (Bottiglieri, 2005 ; El Mabchour *et al.*, 2010).

### 6.2.1. Les facteurs génétiques

Les facteurs génétiques impliquent des anomalies congénitales bloquant la voie de la transsulfuration ou de la reméthylation .

**6.2.1.1. Anomalies génétique de la voie de transsulfuration** : En cas de mutations sur le gène de la CBS (cystathionine- $\beta$ -synthétase) on observe des dysfonctions de cette voie, il existe une forme :

- ❖ **Homozygote**, plutôt rare (environ 1/200000 personnes) qui est associée à un hyperhomocystéinémie sévère.
- ❖ **Hétérozygote** (environ 1% de la population) pour laquelle l'augmentation de l'homocystéine est plus modérée et non systématique (environ 40% des cas) (Mouchabac, 2008).

**6.2.1.2. Anomalies génétique de la voie de reméthylation** : Plus de 20 mutations sont décrites, dont la plus connue est celle en position 677 du gène codant pour la 5-10 MTHFR. Normalement

en position 677 du gène codant pour la 5-10 MTHFR se trouvent 2 cytosine (C677C). Chez les hétérozygotes, il existe une substitution de la thymine (T) à une cytosine (C677T), ce qui donne le variant thermolabile de la MTHFR. Le quel est moins actif que la MTHFR (activité enzymatique résiduelle de 70 %). La fréquence de cette mutation varie en fonction de la race et de l'ethnie (**Girs and Giet, 2006**).

### **6.2.2. Les facteurs nutritionnels**

Les déterminants nutritionnels de l'homocystéine plasmatique les plus couramment cités sont les folates (ou la vitamine B9), la vitamine B12 et la vitamine B6 (**Jacques et al., 2001**). Une carence en folates est probablement la cause la plus importante et la plus étudiée d'une hyperhomocystéinémie (**Lee et al., 2003**). Selon ces auteurs, les taux plasmatiques des folates sont corrélés négativement aux taux d'homocystéine chez les adultes sains et les patients atteints de maladie coronaire. Les vitamines B12 et B6 ne sont pas les déterminants principaux de la concentration plasmatique d'homocystéine. Contrairement à ces vitamines qui jouent un rôle de cofacteurs pour des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'Hcy, les folates sont utilisés comme substrat. Ce sont des donneurs de méthyle dans la réaction de conversion d'Hcy en méthionine (**De Bree et al., 2001**).

### **6.2.3. Les facteurs d'environnement**

**6.2.3.1. Age et sexe :** Les personnes âgées ont de taux plus élevé d'Hcy. Dans ce groupe d'âge le statut vitaminique a une influence majeure, ainsi les hommes ont une Hcy plus élevée que les femmes avant la ménopause (**Lussier-Cacan et al., 1996 ; de Bree et al., 2001**). Cela est dû à une plus grande masse musculaire ou aux effets sur les hormones sexuelles (**Giltay et al., 1898**)

#### **6.2.3.2. Autres facteurs**

- ❖ **L'alcool**, engendre une réduction significative de l'activité de la MS suivie d'une augmentation de l'activité de la BHMT (**Smach et al., 2013**).
- ❖ **Café :** Des études d'interventions avaient montré qu'une consommation de grande dose de café ( $\geq 6$  tasses) augmentait de 10 à 20 % le taux moyen plasmatique d'Hcy chez des sujets sains (**Grubben et al., 2000; Urgert et al., 2000**).
- ❖ **Le tabac** est positivement corrélé avec les concentrations de tHcy (**Koehler et al., 2001**).

### 6.2.3.3. Produits pharmaceutiques

Plusieurs médicaments tels que les antifoliques ( par exemple la carbamazépine), anti B12 (oxyde nitreux) provoquent une augmentation modérée de l'homocystéinémie (**Ueland et al., 1992**).

### 6.2.3.4. Pathologie

Des augmentations relatives en homocystéine sont observées dans les cas suivants :arthrite rhumatoïde (**EL Mangad et al., 2013**), diabète II (**Ben Ahmed et al., 2014**) et l'insuffisance rénal (**Zoccali et al., 2007 ; Jamison et al., 2007**).

## 6.3. Mécanismes pathogénique de l'hyperhomocystéinémie

En 1969, McCully a proposé le premier que l'Hcy, était responsable de pathologies vasculaires (**McCully, 1969**). Les mécanismes d'altération des vaisseaux liés à l'homocystéine sont imparfaitement connus, Cependant les expérimentations animales ont permis d'apporter certaines précisions (**Wilcken et Dudman, 1989**). L'action se situe au niveau de la paroi des vaisseaux avec surtout une altération de l'endothélium (**Woo et al., 1997**). Il existe de plus une prolifération des cellules musculaires lisses, une peroxydation lipidique, une synthèse de collagène et un épaissement de la matrice extracellulaire avec une dégradation du matériau élastique de la paroi artérielle (**Othmani Mecif et al., 2017**).

### 6.3.1. La dysfonction endothéliale

Le terme «dysfonction endothéliale» signifie l'altération des propriétés homéostatiques de l'endothélium vasculaire, qui incluent la régulation endothélium dépendante du tonus vasculaire, l'hémostase, et l'inflammation (**Cai et al., 2000**). Plusieurs études sur des modèles animaux et humains ont démontré que l'Hcy induit une dysfonction endothéliale (**Eberhardt et al., 2000 ; Lentz et al., 2000; Dayal et al., 2001 ; Faraci and Lentz, 2004**).

### 6.3.2. Le Stress oxydant

Les radicaux libres oxygénés (ROS) sont formés à partir du dioxygène, qui attire des électrons célibataires pour donner naissance à des espèces partiellement réduites. La chaîne de réduction monovalente du dioxygène qui consiste en l'addition un à un des électrons, permet la formation successive de l'ion superoxyde ( $O_2^-$ ), du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) puis du radical hydroxyle (**Höhn et al.,2013**). L'ion superoxyde peut être formé par différents mécanismes : soit au cours du métabolisme normal de l'oxygène dans la chaîne respiratoire mitochondriale, soit par

voie enzymatique (NADPH [nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit] oxydase, xanthine oxydase), ou encore par des réactions d'auto-oxydation non enzymatiques (**Höhn et al., 2013**).

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'ERO et les systèmes de défenses antioxydants. Cette production physiologique d'ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (superoxyde dismutasesou SODs), catalase, glutathion peroxydases ou GPXs, hème oxygénase...), des molécules antioxydants de petite taille (vitamine C et E ...) et Certains oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le sélénium (**Pincemail et al., 2002**).

Des résultats montrent que l'Hcy diminue l'expression et l'activité de la glutathion peroxydase des cellules endothéliales, la GPX catalyse la réduction de peroxyde d'hydrogène en H<sub>2</sub>O par oxydation du GSH (glutathion) en glutathion oxydée (Weiss et al., 2001).

L'homocystéine, bien que disposant d'un groupement thiol réducteur, possède des propriétés pro-oxydantes. Les radicaux libres oxygénés provenant de l'oxydation de l'homocystéine peuvent entraîner des lésions au sein de l'ADN et altérer le message génétique ils peuvent encore altérer la fluidité membranaire en agissant au niveau des phospholipides membranaires (**Olszewski et McCully,1993**) .

### **6.3.3. L'inflammation**

L'HHcy conduit à l'athérogenèse par sa capacité d'oxyder les LDL, d'induire un état inflammatoire en augmentant l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que la MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1) qui régule la migration et l'activation des monocytes et macrophages. Elle induit aussi la production de l'interleukine 8(IL-8), possédant une activité chimio-attractante pour les neutrophiles et les lymphocytes T (**Poddar et al., 2001**). L'homocystéine initie aussi la production de TNF- $\alpha$  et de nombreux signaux cellulaires impliqués dans le processus inflammatoire (**Hofmann et al., 2001**).

Au niveau hépatique l'hyperhomocystéinémie permet la surexpression de SREBP-1 (SterolRegulatory Elément Binding Proteins) qui favorise la stéatose. Elle stimule la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, probablement en activant le facteur transcriptionnel NF kappa B (interféron kappa B). L'Hcy stimule aussi l'inhibiteur de métalloprotéinase TIMP-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase), peut favoriser la fibrogénèse hépatique. (**Roblin et al., 2007**).

### **6.3.4. Altération de l'hémostase**

Une grande partie des études ont montré que l'hyperhomocystéinémie est associé à un risque de thromboses veineuses et artérielles (**Welch et Loscalso,1998**), à travers de nombreux

mécanismes notamment la stimulation de l'activité plaquettaire, l'augmentation de génération de thrombine, l'altération de la fibrinolyse (**Undas et al., 2005**), blocage de l'expression de la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales ( **Lentz et Sadler, 1991**), activation du cofacteur V pro-coagulant et du facteur tissulaire (**Fryer et al.,1993**).

### **6.3.5. Altération de la relaxation vasculaire**

L'homocystéine peut changer certaines propriétés des cellules endothéliales par l'altération de la production ou de la disponibilité biologique des médiateurs vasoactifs comme l'endothéline-1 (ET-1) (**Demuth et al., 1999**), la prostacycline (**Wang et al., 1993**) et l'oxyde nitrique (NO). Ce dernier joue un rôle primordial dans la régulation de la pression sanguine et de la motilité microvasculaire (**Upchurch et al., 1997**).

### **6.3.6. Altération de la matrice extracellulaire**

La matrice extracellulaire (MEC) est un assemblage de macromolécules (collagènes, protéoglycanes, élastine et glycoprotéines de structure) qui lient des cellules homologues ou hétérologues et les organisent en tissus (**Jacob, 2006**). L'Hcy induit une prolifération des cellules musculaires lisses associée à des perturbations majeures des synthèses de collagène et des matrices glycoprotéiques extracellulaires, avec fragmentation des fibres élastiques et calcification de la paroi des vaisseaux (**Tsai et al., 1994**).

## **II. Le foie**

### **1. Généralité**

Le foie considéré comme une glande amphicrine, très complexe et plus gros des organes humain leur poids est 1,5kg chez l'adulte, il mesure en moyenne 26cm de largeur, 8cm de hauteur, 16 cm de profondeur, la majeure partie de cette glande est logée sous la très profonde coupole diaphragmatique « thoraco-abdominal » elle présentée des nombreuses fonctions vitales (**Meeks et al., 1991 ; Watlet, 2008**).

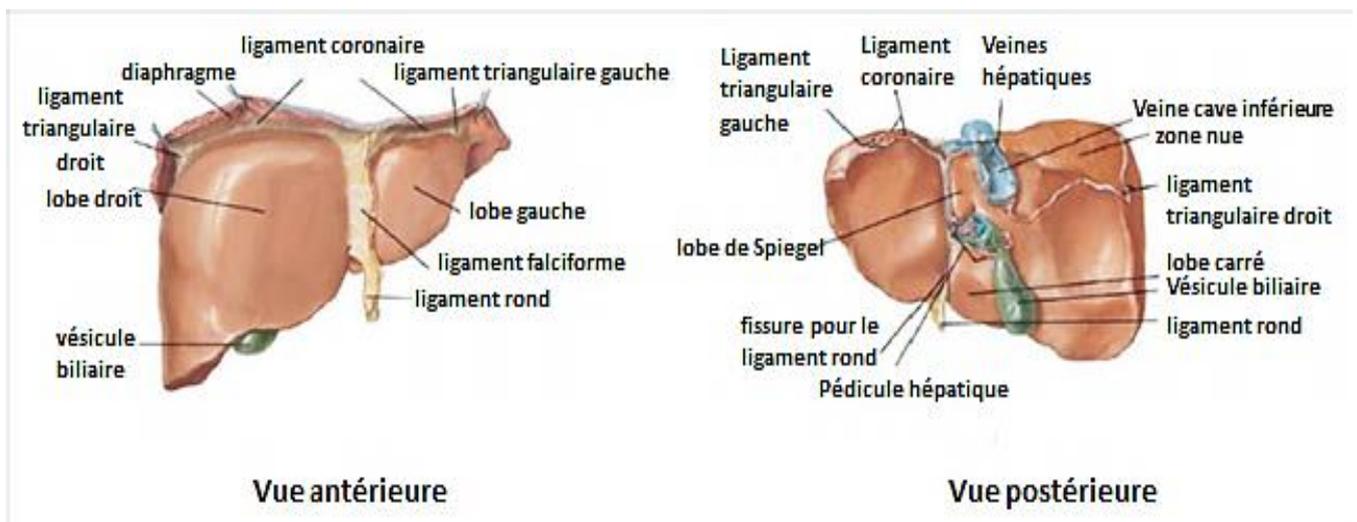
### **2. Rappel embryologique**

Pendant la quatrième semaine de la vie embryonnaire, le foie, les canaux biliaires se développent à partir des cellules endodermique qui forment des colonnes cellulaires d'hépatocytes autour des canaux sanguin, à l'intérieur du tissu mésodermique qui formera les cellules de kupffer, la capsule fibreuse, la production de la bile début vers le 16ème semaine, la foie se développe très rapidement pendant la vie fœtal est proportionnellement très gros chez les

nouveau-né pour accumulée les glucides qui sont utilisées dans les premiers jours de la vie avant que le nouveau-né s'alimente efficacement (**Brooker, 2000**).

### 3. Anatomie du foie

Le foie est une glande la plus volumineuse du corps humain, sa surface recouverte en grande partie de péritoine et d'une capsule fibreuse s'appelle capsule de Glisson. D'une forme ovoïde, il présente un aspect rouge brunâtre. Composée essentiellement de quatre lobe avec deux particulièrement volumineux, droite et gauche, et très richement vascularisée (**Vilgrain et al., 2007**).



**Figure 04** : Organisation structurale et anatomique du foie (**Marchall et Bangert, 2004**)

### 4. Vascularisation du foie

#### 4.1. Vascularisation afférente

Le foie reçoit du sang de deux sources : la circulation artérielle et le système veineux porte (**Dadoune et al., 2007**).

##### 4.1.1. L'artère hépatique

L'artère hépatique, branche du tronc cœliaque, pénètre par le hile hépatique et se ramifie pour donner naissance aux branches de l'artère hépatique situées elles aussi dans les espaces portes, elle amène du sang riche en oxygène (**Catala et al., 2008**).

##### 4.1.2. La veine porte

La veine porte draine le sang veineux provenant de la cavité abdominale, elle pénètre dans le foie par le hile et se ramifie pour former les branches de la veine porte qui sont

Situées dans les espaces porte (**Catala et al., 2008**), elle véhicule 75% du sang afférente pauvre en oxygène (**Fawcette et Jensch, 2002**).

#### **4.2. Vascularisation efférente**

Le sang provenant de ces systèmes circule ensuite dans les capillaires sinusoides limités par les travées d'hépatocytes, Ces capillaires ont une disposition radiaire et convergent vers La veine Centro lobulaire, Cette veine conduit aux veines sus-hépatiques (**Catala et al., 2008**).

#### **5. Innervation du foie**

Le foie innervé par les fibres parasympathiques du pneumogastrique et les fibres sympathiques du ganglion cœliaque qui stimulent la glycogénolyse (**Brooker, 2000**).

#### **6. Histologie du foie**

Les hépatocytes se disposent en lame, les lames hépatocytaires se ramifient ou s'anastomosent, en ménageant entre elle un espace porte, elles entourent les capillaire sinusoides qui sont bordées par les cellules endothéliales, des cellules hépatique (**Gartner et Hiatt, 2004**). Sur le coupe histologie les travées d'hépatocytes représentant les coupes des lames convergent vers la veine Centro lobulaire caractérisés par la présence de triade portale (**Kierszenbaun, 2006**).

##### **6.1. Le lobule hépatique**

Le lobule hépatique est l'unité anatomique du parenchyme hépatique, il est centré par la veine Centro lobulaire. On trouve entre les lobules les triades portales constituée de branches d'un canal biliaire, d'une veine porte, et d'une artère hépatique. Le sang de l'artère hépatique et de la veine porte coule de la périphérique du lobule vers le sinusoides qui convergent pour former la veine Centro lobulaire, la confluence des veines Centro lobulaire donne naissance aux veines sus-hépatique par les quelles le sang quitte le foie vers le veine cave inférieure (**Scherwood, 2000**).

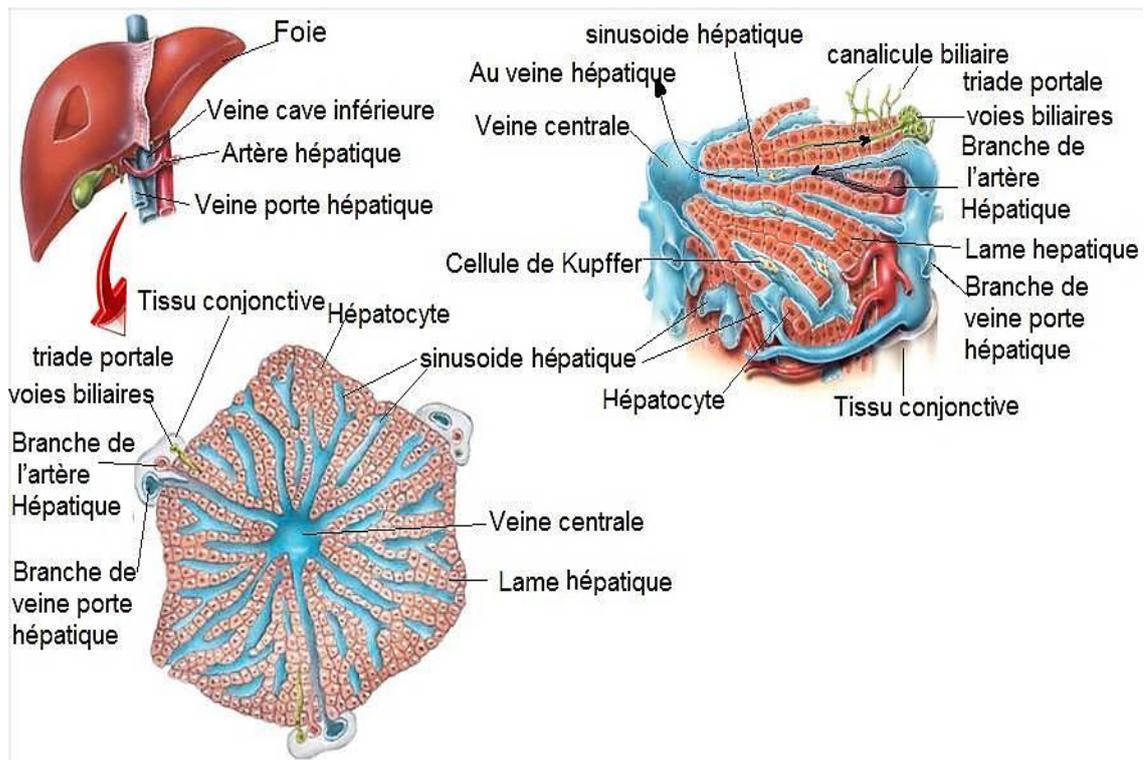


Figure 05 : Histologie du foie ; Schéma modifiée d'après (Scherwood, 2000).

## 6.2. Différents types cellulaire

Le foie est composé d'au moins six types des cellules (Rosenbaum *et al.*,1991).

### 6.2.1. Cellules parenchymateuses (les hépatocytes)

Les hépatocytes représentent 70% des cellules hépatiques, Chaque hépatocytes est au contact des capillaires sinusoides contenant les cellules de kupffer. Cette richesse en organites cytoplasmique témoigne d'une grande activité de synthèse et de catabolisme (Rosenbaum *et al.*, 1991).

### 6.2.2. Les cellules non parenchymateuses

#### 6.2.2.1. Cellules endothéliales

Les cellules endothéliales limite la sinusoides, au même bordés par un endothélium fenêtré contenant les cellules de kupffer (Laperche, 2003).

#### 6.2.2.2. Cellules de kupffer

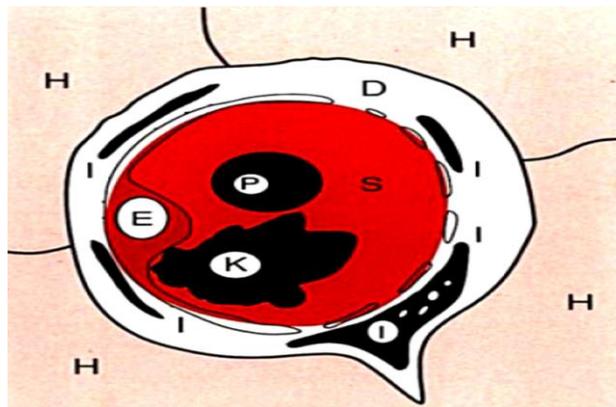
Elles sont situées à l'intérieur de la sinusoides, impliquées dans la phagocytose des hématies âgées et dans la dégradation de l'hémoglobine (Catala *et al.*, 2008).

### 6.2.2.3. Les cellules d'Ito ou étoilée

Ces cellules sont situées dans l'espace de Disse entre les sinusoides et les travées cellulaires pour fonctions de stockage de vitamine A, et la synthèse de la matrice extra cellulaire hépatique (Laperche, 2003).

### 6.2.2.4. Les cellules des canaux biliaires

La bile est sécrétée par les hépatocytes dans les canalicules biliaires, qui convergent dans les canaux de Herring en périphérie du lobule et drainent la bile vers les canaux biliaires (Laperche, 2003).



**Figure 06** : schéma des différentes population cellulaires hépatiques (Rosenbaum *et al.*, 1991)

H : hépatocyte, P : cellule pit, K : cellule de kupffer, E : cellule endothéliale, S : Sinusoïde,  
D : espace de Disse.

## 7. Fonction du foie

Le foie accomplit plusieurs fonctions :

### 7.1. Métabolisme des protéines

Le foie synthétise plusieurs types des protéines la plus importante étant l'albumine. Cette protéine dite plasmatique, il produit également des protéines indispensables à la coagulation sanguin appelés cofacteurs de coagulation et diverses enzymes, et un rôle aussi de la désamination et transamination, en cas de dysfonctionnement hépatique, on observe donc un déficit de ces protéines dans le sang (Wheater *et al.*, 2015).

### 7.2. Métabolisme des lipides

Les lipides parvenant au foie sont transformés en triglycérides et en cholestérol est stockés dans les cellules hépatiques. Le cholestérol est une molécule indispensable au renouvellement cellulaire (Mony., *et al* 2014).

### **7.3. Métabolisme des glucides**

Les glucides (glucose, fructose, galactose) sont transformés en glycogènes et stockés au sein des hépatocytes, ensuite ces molécules pour pouvoir les utiliser quand l'organisme en a besoin (**Mony., et al 2014**).

### **7.4. Métabolisme des hormones**

Le foie jouée un rôle très important de la dégradation et la production des hormones (**Brooker, 2000**).

### **7.5. Métabolisme des déchets**

Le fonctionnement de votre organisme produit un certain nombre des déchets qu'il faut éliminer en particulier l'ammoniac qui est naturellement produite par le colon lors de la décomposition du contenu digestif (**Mony., et al 2014**), puis Convertie en urée, et la bilirubine (**Renate, 2008**).

### **7.6. Fonction de détoxification**

Les médicaments, les polluants divers que ingérons ou respirons et qui passent dans le sang seront soit directement éliminés par les reins, soit le devront être transformé à l'aide d'enzymes avant de pouvoir être éliminé. Ces enzymes sont majoritairement présentes dans le foie (**Mony., et al 2014**).

### **7.7. Fonction de stockage**

Elle intervienne du stockage des vitamines liposolubles (A, D, E, K),du glycogène, du fer, du cuivre, et vitamine B 12 (**Wheater et al., 2015**).

### **7.8. Fonction biliaire**

Le foie sécrétée 0,5 à 0,7 L/J (environ 600mL/J) d'un liquide jaune, limpide, et renferment 97% d'eau c'est la bile hépatique, et des substances comme la bilurbine, cholestérol, protéines, phosphate, sels biliaires. Les sels biliaires sont produits à partir du cholestérol, Ils facilitent la digestion des lipides en les émulsionnant, qui se déroule dans l'intestin grêle, et recaptés par les hépatocytes et de nouveau sécrétés dans la bile, cycle entérohépatique (**Renate, 2008**).

# *Matériels et méthodes*

## I. Matériel

### 1. Identification du modèle animal

Notre expérimentation a porté sur un modèle animal athérosensible, le rat des sables ou *Psammomys obesus* (figure 07).

#### 1.1. Classification

- Règne : Animalia
- Phylum : Chordata
- Sous phylum : Vertebrata
- Super classe : Gnathostomes
- Classe : Mammalia
- Ordre : Rodentia
- Sous ordre : Sciurognathi
- Famille : Muridae
- Sous famille : Gerbillinae
- Genre : *Psammomys*
- Espèce : *Psammomys obesus*



**Figure 07** : Rat des sables, *Psammomys obesus*.

#### 1.2. Habitat

Rongeur **terrestre**, peut vivre dans différents milieux : prairies, habitats rocheux, milieux désertiques ou semi-désertiques (**Omari et al., 2007**).

#### 1.3. Nourriture

C'est un animal **phytophage**, a nourrit régime peu énergétique. Il mange électivement les tiges et les feuilles salées et succulentes de plusieurs espèces de plantes de la famille des *Chénopodiacées*(**Daly et Daly, 1973**).

#### 1.4. Reproduction

Présente un cycle saisonnier de reproduction adapté à son biotope. Selon (**Frenkel et Kraicer, 1972**), le cycle estrien de *Psammomys* dure 4 à 5 jours. La durée de la gestation est de 24 jours, le rapport des naissances est de 3,6 et la mise-bas donne en moyenne de 1 à 6 petits par portée.

## 2. Matériels non biologiques

Les matériels non biologiques utilisés dans le cadre de notre travail sont

## **2.1. Equipement et instruments**

Lames et lamelles, Agitateur, Balance de précision, Bec benzène, Barres de Leuckart, Etuve, Papier filtré, Plaque chauffante, Micropipette, Microtome type American Optical, Microscope photonique de type ZEISS, Caméra appareil photo numérique.

## **2.2. Produits et solutions histologiques**

Paraffine, Ethanol, Butanol, Toluène, cyclohexane, xylène, sulfat d'aluminium, Eukit, acide phosphomolybdique, acide picrique, huile d'immersion et l'eau distillée.

## **2.3. Colorants histologiques**

Orangé G, Rouge nucléaire, Blue d'aniline, Rouge Sirius.

## **2.4. Outils informatiques**

XLSTAT, Axio Vision 4.8 de CARL ZEISS, imageJ, Mendeley

# **II. Méthode**

## **1. Protocol expérimental**

Notre expérimentation a porté sur 10 *Psammomys obesus* de sexes différents provenant de la région d'El M'Sila (Algérie). Ces rats ont été répartis en deux lots :

- un lot témoin de 5 animaux de poids corporel moyen de 132,6g (102,2 - 188,4g), reçoit quotidiennement 50 g de plant halophile de la famille des chénopodiacées.
- un lot expérimenté de 5 animaux de poids corporel moyen de 142,02g (90,6- 221,3g), reçoit le même régime alimentaire et injecté, par voie intra péritonéale, 300mg/kg de l'animale/jour de la DL-méthionine pour provoquer un état d'hyperhomocystéinémie.

A la fin de l'expérimentation qui a duré 1 mois, un prélèvement sanguin au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil a été réalisé sur des tubes héparinés pour le dosage de l'homocystéine et les transaminases. Les animaux sont ensuite sacrifiés après anesthésie par injection intra péritonéale de la kétamine, à raison de 70mg/kg de poids corporel/jour. Après la dissection, les différents organes dont le foie sont rapidement prélevés et plongé dans un agent fixateur (le Bouin aqueux).

## **2. Principe de dosage de l'homocystéine plasmatique**

Afin de confirmer l'installation d'une hyperhomocystéinémie chez les rats soumis à la méthionine, nous avons dosé ce paramètre par le kit *Architect Homocysteine assay*. Ce dosage est basé sur la technologie CMIA (*chemiluminescent microparticle immunoassay*) ou dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence.

L'homocystéine liée ou dimérisée (forme oxydée) est réduite par le dithiothréitol (DTT) pour libérer l'homocystéine, qui est ensuite convertie en S-adénosylhomocystéine (SAH) par l'action de l'enzyme recombinante S-adénosyl homocystéine hydrolase (SAHH) en présence de l'adénosine. L'échantillon contenant la SAH, le diluant de dosage et les microparticules paramagnétiques (Cristaux d'oxyde de fer attirés par un champ magnétique) sont mis en contact avec l'anticorps anti-SAH. La S-adénosylcystéine marquée à l'acridinium est ajoutée dans le milieu réactionnel. Le SAH entre alors en compétition avec le S-adénosyl cystéine. Après un cycle de lavage, séparation magnétique, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel. Ces solutions contenant le peroxyde d'hydrogène oxyde l'ester d'acridinium en moins d'une seconde et libère ainsi un flash lumineux. La réaction chimiluminescente est mesurée en unités relatives de lumière (URL) par le système optique d'un analyseur *Architect*.

## **3. Dosage des transaminases**

### **3.1. Principe de dosage d'AST**

L'aspartate aminotransférase (AST) catalyse la transamination de l'aspartate et du 2-oxoglutarate pour former du L-glutamate et de l'oxaloacétate. L'ajout de phosphate de pyridoxale au mélange de réaction confère à l'AST un niveau maximum d'activité catalytique. L'oxaloacétate est réduit en L-malatedéhydrogénase (MDH); la NADH est simultanément convertie en  $\text{NAD}^+$ . La baisse d'absorbance due à la consommation de la NADH est mesurée à 340 nm et est directement proportionnelle à l'activité de l'AST dans l'échantillon.

### **3.2. Principe de dosage d'ALT**

L'ALT transfère le groupement aminé de l'alanine sur le 2-oxoglutarate pour former du pyruvate et du glutamate. L'ajout de phosphate de pyridoxal au mélange de réaction confère à l'ALT un niveau maximum d'activité catalytique. La réaction entre le pyruvate et la NADH est catalysée par la lactate déshydrogénase (LDH) pour former du lactate et de la  $\text{NAD}^+$ .

La baisse d'absorbance due à la consommation en NADH est mesurée à 340 nm et est directement proportionnelle à l'activité de l'ALT dans l'échantillon.

#### **4. Technique histologique**

Nos échantillons sont soumis aux techniques histologiques classiques selon (**Martoja et Martoja, 1967**). Ces techniques comprennent les étapes suivantes :

##### **4.1. La Fixation**

Le but de la fixation est de conserver les structures. En effet, le prélèvement des tissus provoque leur mort : les cellules déversent leurs enzymes, ce qui provoque une autodigestion du tissu. De plus, à l'air ambiant, les prélèvements peuvent être contaminés par des bactéries. Le fixateur utilisé est le formol tamponné 10%, le foie fixé est ensuite lavée pendant 48 h à l'eau courante afin d'éliminer l'excès de liquide fixateur.

##### **4.2. La déshydratation**

Elle s'effectue par un passage d'échantillon dans des bains d'alcool de degré croissant (50°, 70°,90°,96°,100°) de 1h30 chacun, afin d'enlever le fixateur et éliminer l'eau contenue dans les cellules pour une bonne pénétration de la paraffine qui est non-miscible à l'eau (figure 08).



**Figure 08** : La déshydratation du foie

##### **4.3. L'éclaircissement**

Appelée aussi clarification, elle permet l'élimination complètement les traces d'alcool par l'immersion du foie dans deux bains de butanol de 1h30 pour chacun. Le 2<sup>ème</sup> bain constitue un bain d'attente (figure 09).



**Figure 09** :L'éclaircissement du foie.

#### **4.4. L'imprégnation**

L'échantillon est ensuite imprégné dans un bain constitué de moitié butanol, moitié paraffine pendant 2 heures, suivies de deux bains de paraffine pure fondue à 60°C dans l'étuve pendant 2 heures chacun pour but d'assurer l'entrée progressif de la paraffine dans le foie (figure 10).



**Figure 10** : L'imprégnation du foie à la paraffine.

#### **4.5. La mise en bloc**

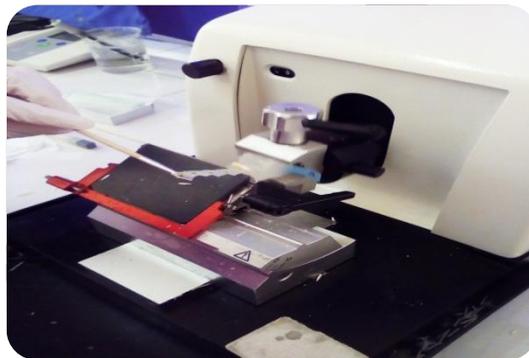
Consiste à faire des blocs ou cube de paraffine avec le matériel biologique enrobé. Le foie est prélevé du milieu d'inclusion à l'aide d'une pince chauffée puis émerge dans la paraffine liquide contenue dans des moules spéciaux (barres de Leuckart) placé sur une plaque en verre, avant que les blocs se durcissent, on les a identifiés par des étiquettes portant le numéro de l'animal. Après solidification, les blocs sont retirés en écartant les barres et on obtient un bloc homogène et facile à couper (figure 11).



**Figure 11 :** La mise en bloc des organes.

#### **4.6. La confection et l'étalement des coupes**

Des coupes de 5 $\mu$ m d'épaisseur ont été obtenues à l'aide d'un microtome (figure 12), après avoir taillé, fixé et coupé les blocs. Les coupes sont ensuite étalées dans un bain-marie réglé à 40C° afin de les déposer sur des lames en verre. Un séchage de 24 h est nécessaire avant de procéder à la coloration.



**Figure 12 :** La confection des coupes à l'aide d'un microtome.

#### **4.7. La coloration**

La coloration est une étape indispensable car elle permet de visualiser la morphologie cellulaire et de mettre en évidence les différents constituants tissulaires et d'ailleurs d'en évaluer l'état pathologique. Elles utilisent des colorants qui vont se fixer préférentiellement à certaines molécules. Avant toute coloration, il est nécessaire de déparaffiner les coupes en immergeant les lames dans 2 bains de cyclohexane de 15 minutes chacun puis les hydrater par passage successif dans des bains d'alcools de degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°) de 5 minutes chacun et finalement dans un bain de l'eau distillée (figure 13).



**Figure 13:**La coloration des coupes.

Les colorations utilisées dans le cadre de notre travail sont :

#### **4.7.1. Azan modifié**

La coloration Azan modifiée est une coloration topographique, permet de colorer les noyaux en rouge par le rouge nucléaire solide, le cytoplasme en orange par l'Orangé G et les collagènes en bleu par le bleu d'aniline.

#### **4.7.2. Rouge Sirius**

La coloration au rouge Sirius (RS) c'est une coloration histochimique qui permet la mise en évidence des fibres de collagènes I et III en les colorants en rouge.

#### **4.8. Montage et observation des lames**

Après avoir subi une déshydratation par des bains d'éthanol de degré croissant puis par 2 bains de cyclohexane, les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec un liquide de montage (Eukit). L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope optique et la prise des photos par un appareil photo numérique.

### **5. Etude morphométrique**

Nous avons complété notre étude histologique par une étude morphométrique sur certains paramètres cellulaires. Pour cela nous avons utilisé AxioVision 4.8, un logiciel informatique développé par Carl Zeiss, après étalonnage par un micromètre. Toutes les photos histologiques sont prises au même grossissement (grossissement 1000). Nous avons ainsi effectué 100 mesures pour chacun de ces paramètres chez les 2 groupes d'animaux :

- Le grand axe cellulaire
- Le petit axe cellulaire
- La surface cellulaire

- Le grand axe nucléaire
- Le petit axe nucléaire
- La surface nucléaire

## **6. Etude statistique**

L'analyse statistique a été réalisée avec XLSTAT. En utilisant les différents tests de normalité nous avons vérifié si nos échantillons sont distribués suivant une loi normale. L'homogénéité des variances entre les 2 populations témoin et traité a été vérifiée à l'aide du test F (test de Fisher). La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Mann-Whitney et le test de Student avec un niveau de signification statistique fixé à  $p < 0,05$ .

Pour chaque série d'analyse, la moyenne, l'écart type et le SEM sont calculés. Pour 5% d'erreur, la valeur de t nous donne le degré de signification P, la différence entre deux moyennes est :

- $p < 0,05$  : peu significatif
- $p < 0,01$  : significatif
- $p < 0,001$  : très significatif
- $p < 0,0001$  : très hautement significatif

Le test de corrélation entre ALT/AST et l'Hcy est réalisé par le test de Spearman.

## *Résultats et discussion*

## I. Résultats

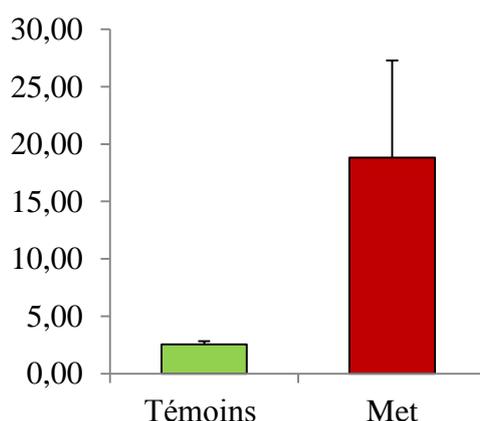
### 1. Effet de l'administration de la méthionine sur l'homocystéinémie et sur les transaminases hépatiques

#### 1.1. Homocystéine plasmatique

Les résultats de dosage de l'homocystéine plasmatique (Hcy) sont représentés dans le tableau et la figure suivants

**Tableau 02** : Homocystéine plasmatique chez les rats témoins et traités.

	Moyenne ( $\mu\text{M}$ )	SEM	Max	Min
<b>Témoins</b>	2,55	0,28	3,54	2,25
<b>Traité à la méthionine</b>	18,83 ( $P < 0.0001$ )	8,44	45,3	4,10



**Figure 14** : Homocystéine plasmatique chez les rats témoins et traités.

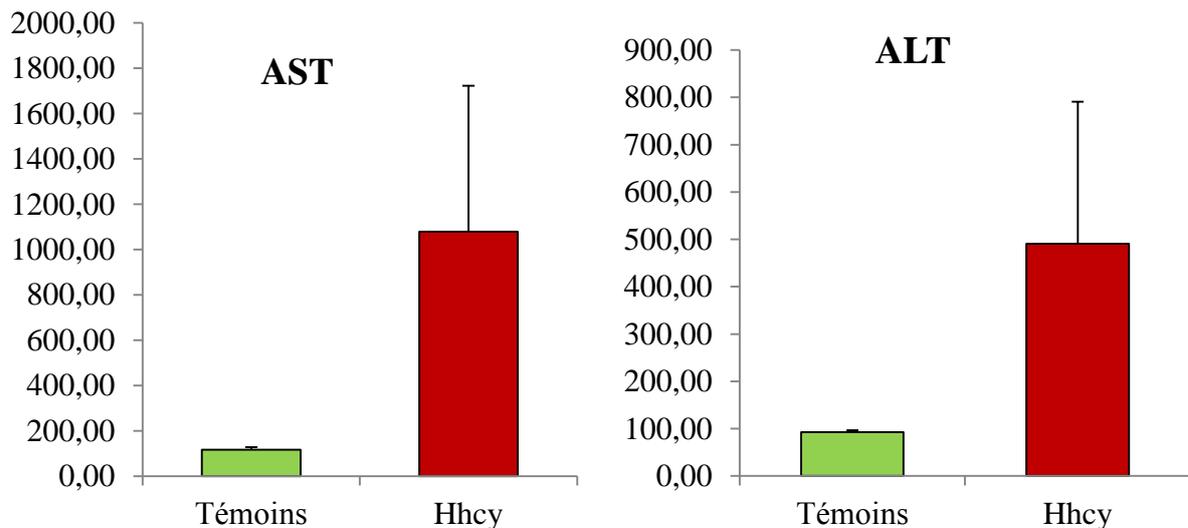
Les résultats de dosage de l'Hcy indiquent une importante différence significative ( $p < 0,0001$ ) entre l'homocystéinémie des rats traités et celle des rats témoins. En effet, le taux plasmatique de l'homocystéine passe de  $2,55\mu\text{M}$  chez le groupe témoins à  $18,83\mu\text{M}$  chez le groupe soumis à la méthionine et marque une augmentation de 638%. Cependant, nous remarquons une large hétérogénéité dans la réponse individuelle des animaux expérimentés et les valeurs enregistrées passent de 4,1 à  $45,3\mu\text{M}$

#### 1.2. Transaminases hépatiques

Les résultats de dosage des transaminases hépatiques (ALT et AST) sont représentés dans le tableau et la figure suivants

**Tableau 03 :** Les transaminases hépatiques (ALT et AST) chez les rats témoins et traités

		Moyenne	SEM	Max	Min
<b>ALT (UI/L)</b>	Témoins	<b>92,52</b>	4,24	106,70	86,10
	Hcy	<b>490,92<sub>(P&lt;0.0001)</sub></b>	299,49	1497,50	62,90
<b>AST (UI/L)</b>	Témoins	<b>116,32</b>	11,94	140,40	78,80
	Hcy	<b>1078,86<sub>(P&lt;0.0001)</sub></b>	643,96	3210,40	155,80



**Figure 15 :** Les transaminases hépatiques (ALT et AST) chez les rats témoins et traités

Nos résultats montrent une forte augmentation significative ( $p < 0,0001$ ) de ALT et de AST chez les rats traités par rapport aux rats témoins. En effet, ALT augmente de 430,6% et AST de 827,49% et caractérise des dommages au niveau hépatique.

### 1.3. Corrélation entre ALT/AST/Hcy

L'étude de la corrélation entre l'homocystéinémie, ALT et AST chez nos animaux est réalisée par le test de Pearson (tableau 04)

**Tableau 04 :** Etude de la corrélation entre l'homocystéinémie, ALT et AST

	AST	ALT	Hcy
AST	<b>1</b>	0,997	0,574
ALT	0,997	<b>1</b>	0,533
Hcy	0,574	0,533	<b>1</b>

Nos résultats montrent une forte corrélation presque linéaire entre ALT et AST et une faible corrélation entre l'Hcy d'une part et ALT et AST d'autre part.

## 2. Résultats histomorphométriques

### 2.1. Résultats histologiques

Dans le cadre de notre travail, différents types de colorations ont été utilisées afin de visualiser et d'analyser des coupes histologiques hépatique de *P. obesus* témoins et traités par la méthionine pendant 1 mois.

Des altérations structurales ont été trouvées au niveau hépatique qui touchent les cellules et la matrice extracellulaire (les collagènes et les fibres élastiques).

#### 2.1.1. Histologie du foie chez les animaux témoins

Au faible grossissement, le foie de *Psammomys obesus* est constitué des multitudes lobules hexagonaux, ce sont les unités fonctionnelles du foie. Chaque lobule est limité par quatre à cinq espaces portes (triade port) et possède en son centre une veine centro-lobulaire.

Au fort grossissement, on observe les travées de Remack qui sont cordons monocellulaires qui rayonnent à partir des espaces portes vers les veines centro-lobulaires, bordées de part et d'autre par une capillaire sinusoïde. Elles sont constituées essentiellement par des hépatocytes entre les quels on trouve des canalicules biliaires.

Les hépatocytes forment l'essentiel de l'organe. Sont des cellules polyédriques de 20 à 30 $\mu$ m de diamètre, pourvue d'un noyau central arrondi, relativement gros, quelque fois binucléés et un cytoplasme riche en glycogène.

Les capillaires sinusoïdes sont situées entre les lames hépatocytaires, elles sont anastomosées et forment un vaste réseau interpose entre la veine porte et la veine centrolobulaire. Leur paroi est dépourvue de lame basale et contient trois types de cellules :

- **Les cellules endothéliales** : Constituent la paroi du capillaire. Ces cellules ne reposent pas sur une lame basale, et séparées du pole vasculaire des hépatocytes par la matrice extracellulaire de l'espace de Disse qui comporte quelques fibres de collagènes.
- **Les cellules de Kupffer** : Sont les cellules macrophagiques du foie, volumineuses, reposent sur les cellules endothéliales des capillaires.
- **Les cellules à granules** : Que l'on peut rattacher au groupe des grands lymphocytes, ont une localisation variable dans la lumière au contact des cellules endothéliales et de Kupffer, mais aussi dans l'espace de Disse.

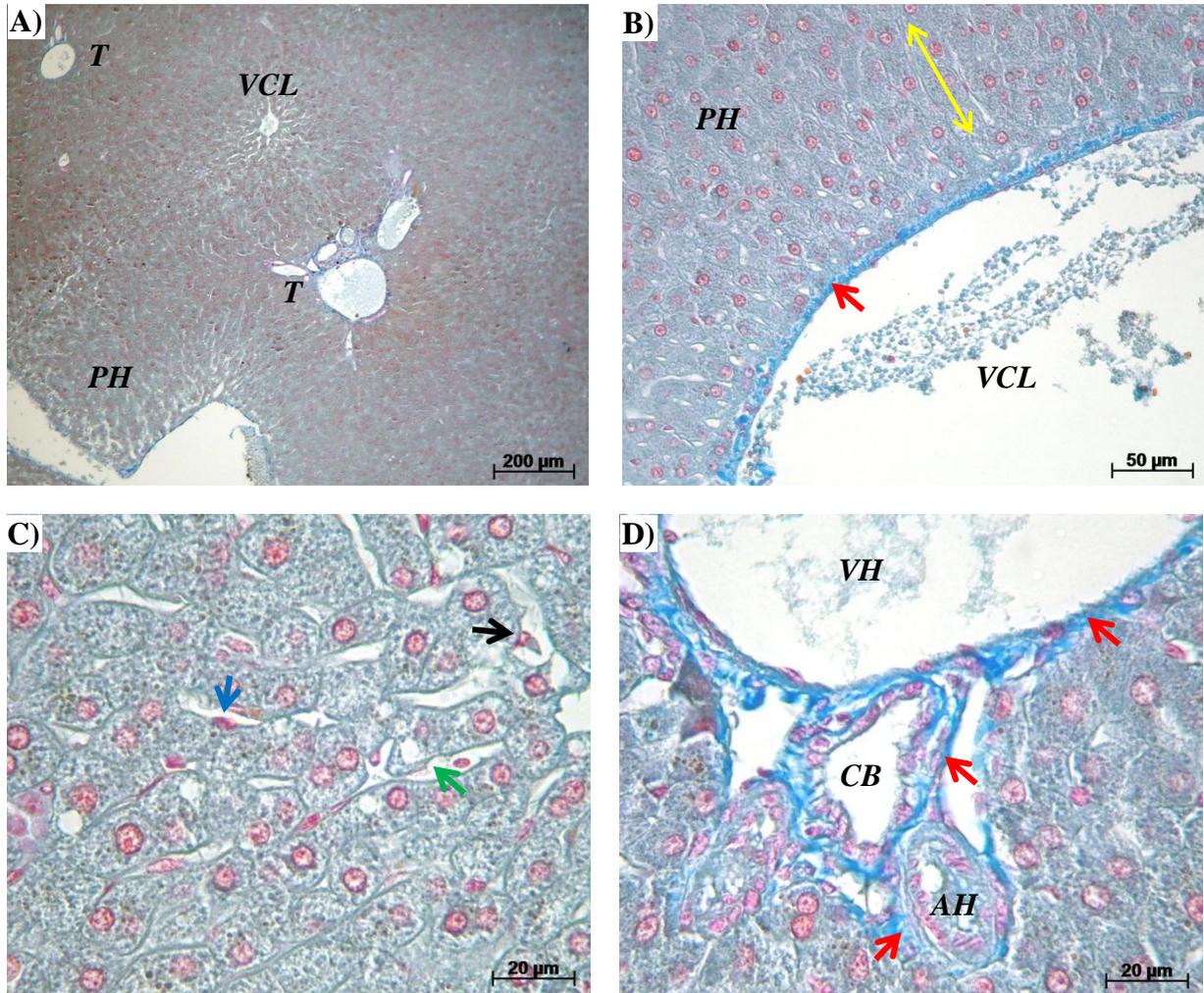
Espaces portes sont des espaces conjonctifs triangulaires. Ils contiennent une branche de l'artère hépatique avec une lumière étroite, une branche de la veine hépatique avec une lumière large, et un canal biliaire bordé par un épithélium cubique. L'ensemble forme la triade portale.

### **2.1.2. Histologie du foie des animaux Hcy**

Après l'analyse des coupes histologiques à différents grossissements du foie des rats des sables traités à la méthionine (300mg/kg de poids corporel/jour) pendant 1 mois et après comparaison avec les témoins, nous constatons plusieurs altérations qui touchent la structure du foie. Ces altérations sont résumées en :

- Une accumulation intracellulaire de grosses gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes témoignant d'une stéatose macrovacuolaire.
- Un mort cellulaire par nécrose et par apoptose.
- Une accumulation de collagènes autour des espaces portes (artères, veines, canaux biliaires), indiquant l'installation d'une fibrose.
- Une dilatation des capillaires sinusoides.
- Une importante infiltration des leucocytes au niveau portale.
- Une augmentation de la taille des hépatocytes indiquant une hypertrophie.

Planche I : Coupes histologiques de foie des *Psammomys obesus* témoins

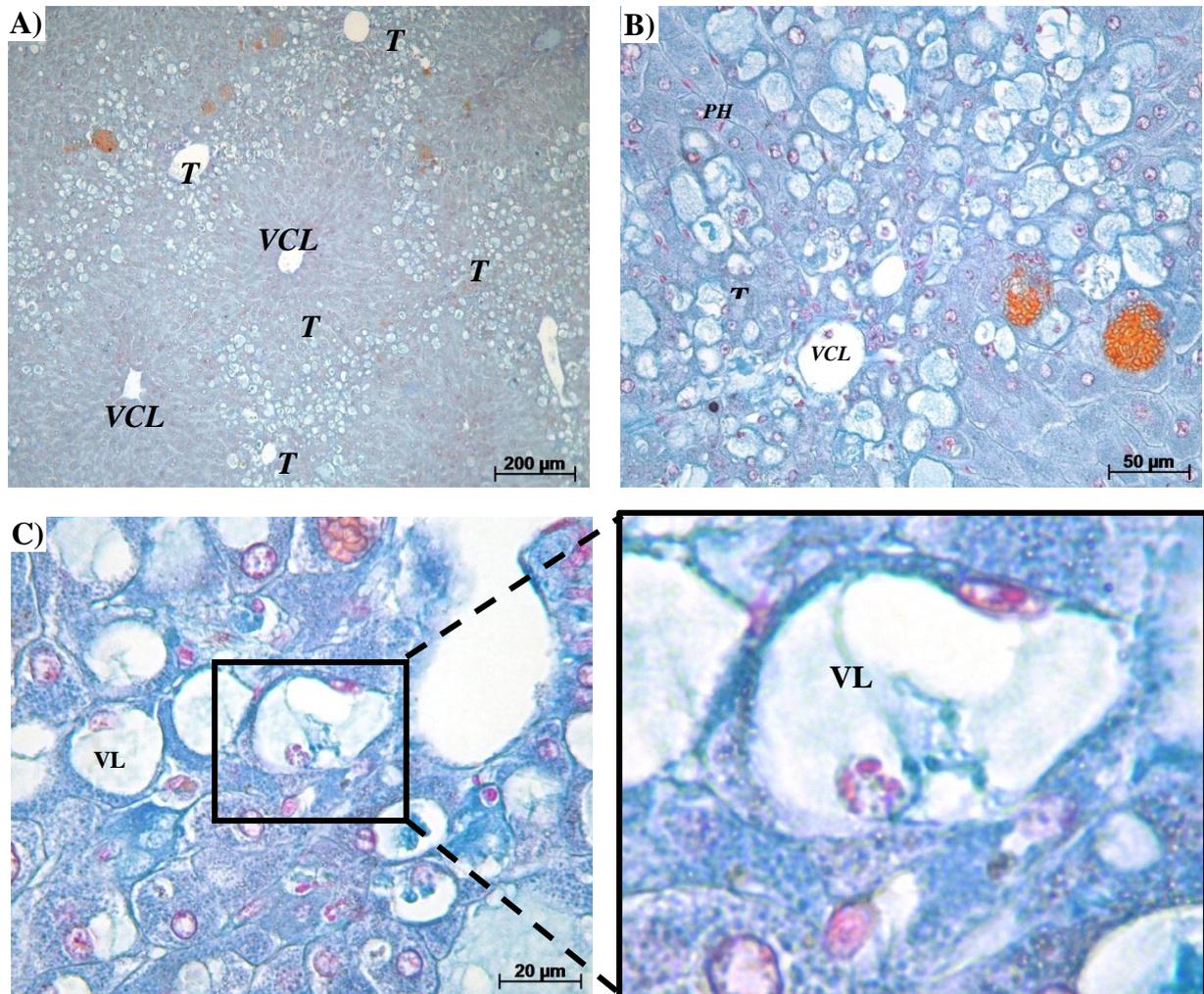


Coupes histologiques du foie de *Psammomys obesus* témoins à différents grossissement. A. 100 ; B. 400 ; C. 1000 ; D. 1000. Coloration d'Azan modifiée.

Nous observons dans cette planche que le parenchyme hépatique (PH) de *Psammomys obesus* est constitué des multitudes lobules hexagonaux. Chaque lobule est limité par quatre à cinq triades portes (T) et possède en son centre une veine centro-lobulaire (VCL). Chaque triade est formée d'une veine hépatique (VH), une branche de l'artère hépatique (AH) et un canal biliaire (CB). Ces structures sont entourées par un faible tissu conjonctif (flèche rouge).

Le parenchyme hépatique est organisé en travées hépatocytaires ou travées de Remack (flèche jaune) et orientées vers le VCL. Les capillaires sinusoides (flèche verte), limitées par les travées de Remack, sont tapissées par les cellules endothéliales (flèche bleue). Des cellules de Kupffer (flèche orange) sont présentes dans la lumière des sinusoides.

Planche II : Coupes histologiques de foie des *Psammomys obesus* expérimentés

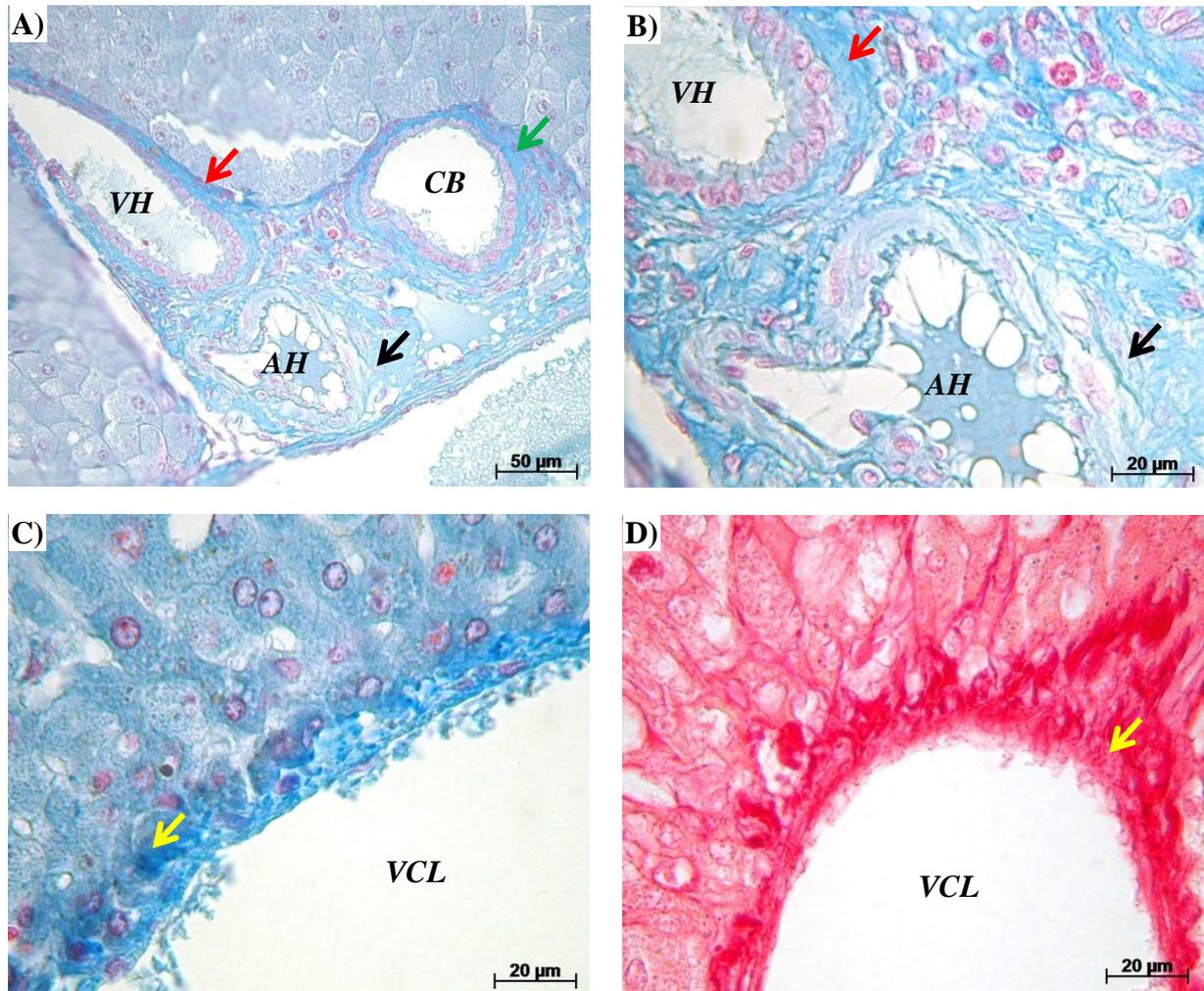


Coupes histologiques à différents grossissement (A. 100 ; B. 400 ; C. 1000) du foie de *Psammomys obesus* soumis à la méthionine. Coloration d'Azan modifiée.

Nous observons dans ces figures une importante stéatose hépatique localisée essentiellement dans la périphérie des lobules hépatiques. Les régions entourant les veines centro-lobulaires sont dépourvues de stéatoses.

Au fort grossissement, on observe que le cytoplasme des hépatocytes atteints est occupé par une grosse vacuole lipidique (VL) ce qui caractérise une stéatose macro-vacuolaire. Les noyaux sont écartés vers la périphérie de la cellule. Les hépatocytes perdent sa forme polygonale et devient arrondis. Certains noyaux présentent une chromatine condensée et morcelée et qui caractérise les noyaux apoptotiques.

Planche III : Coupes histologiques de foie des *Psammomys obesus* expérimentés

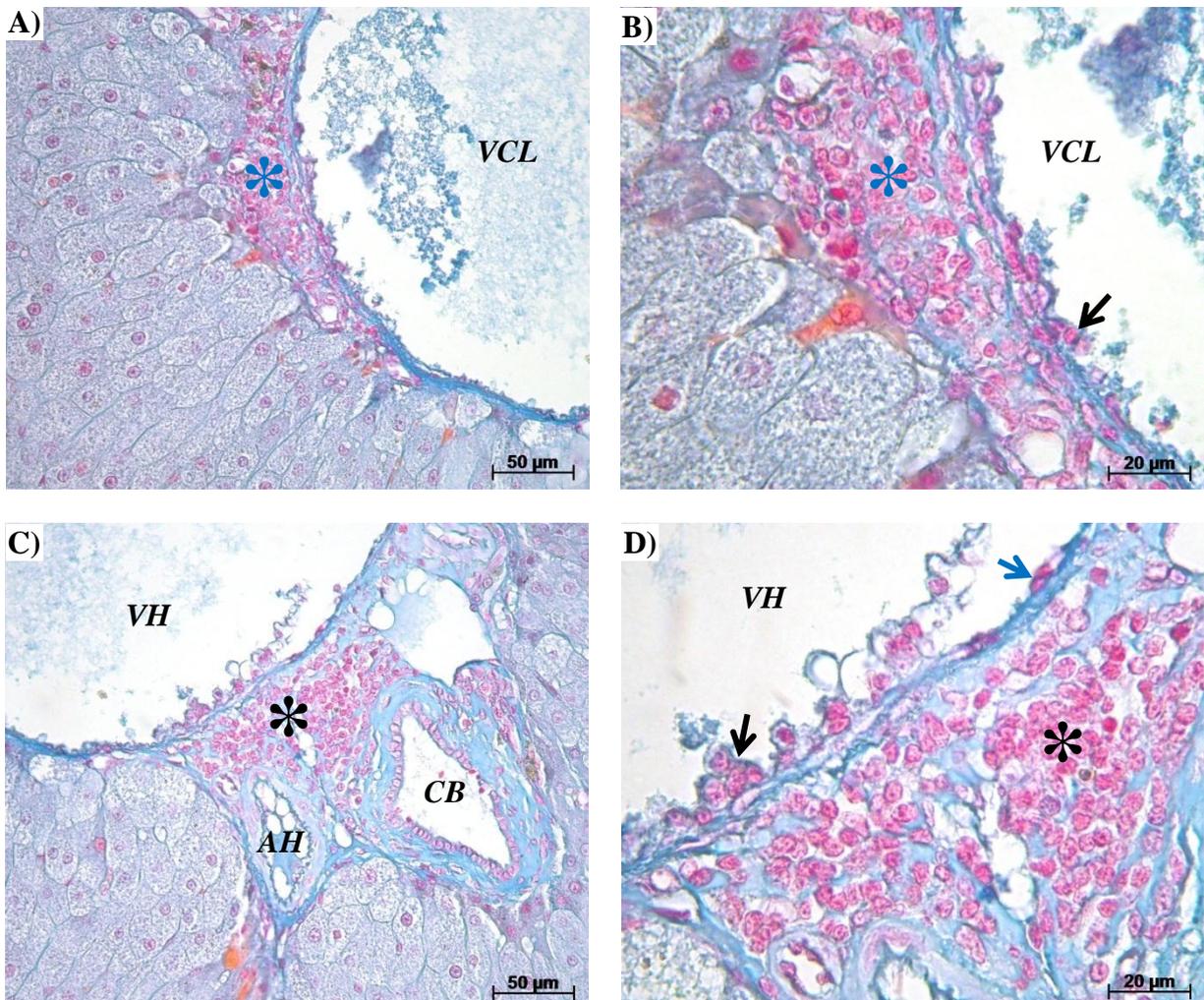


Coupes histologiques à différents grossissement (A. 400 ; B. 1000 ; C. 1000 ; D. 1000) du foie de *Psammomysobesus* soumis à la méthionine. Coloration d'Azan modifiée (A, B, C) et de rouge sirius (D).

Dans ces figures on observe une importante fibrose qui entoure l'artère hépatique (flèche noire), la veine hépatique (flèche rouge), le canal biliaire (flèche verte) et la veine centrolobulaire (flèche jaune)

La coloration au rouge sirius montre que l'origine de cette fibrose est l'accumulation des collagènes fibrillaires de types I et III.

Planche IV : Coupes histologiques de foie des *Psammomys obesus* expérimentés

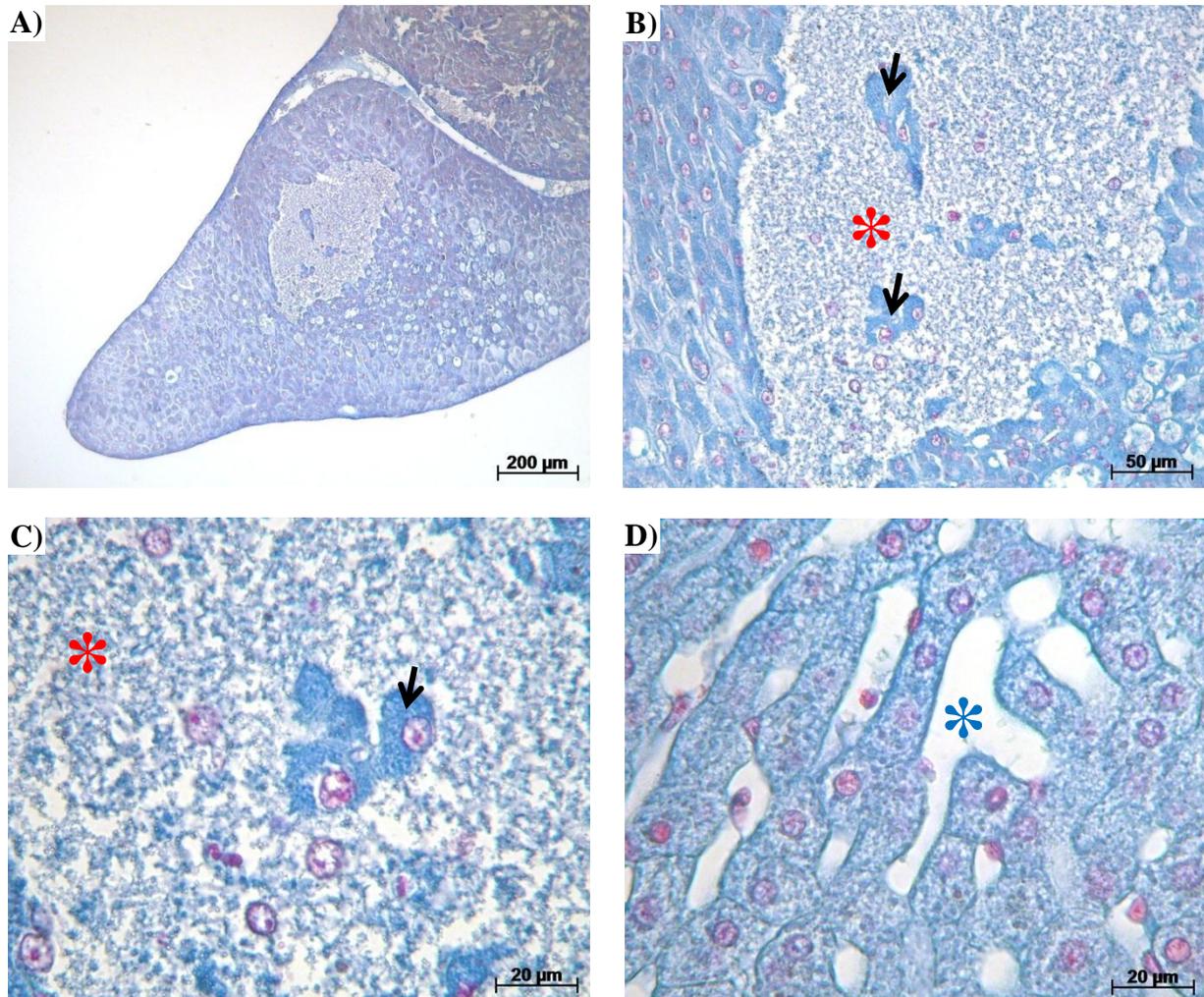


Coupes histologiques à différents grossissement (A. 400 ; B. 1000 ; C. 400 ; D. 1000) du foie de *Psammomys obesus* soumis à la méthionine. Coloration d'Azan modifiée

Ces figures montrent une importante infiltration leucocytaire au niveau de la triade (étoile noire) et au niveau de la veine centro-lobulaire (étoile bleue).

On observe aussi l'adhésion des leucocytes à l'endothélium (flèche bleue) vasculaire pour leur migration vers le site inflammatoire (flèche noire).

Planche V : Coupes histologiques de foie des *Psammomys obesus* expérimentés



**Coupes histologiques à différents grossissement (A. 100 ; B. 400 ; C. 1000 ; D. 1000) du foie de *Psammomys obesus* soumis à la méthionine. Coloration d'Azan modifiée**

Les figures A, B et C montrent une importante nécrose qui touchent une grande portion du foie. La majorité des cellules dans la zone nécrotique sont totalement détruites (étoile rouge) avec persistance de quelques noyaux résiduels. Un petit nombre de hépatocytes sont en voie de lyse dans cette zone (flèche noire).

La figure D montre une nette dilatation des capillaires sinusoides par apport aux témoins (étoile bleue).

## 2.2. La morphométrie de certains paramètres hépatiques

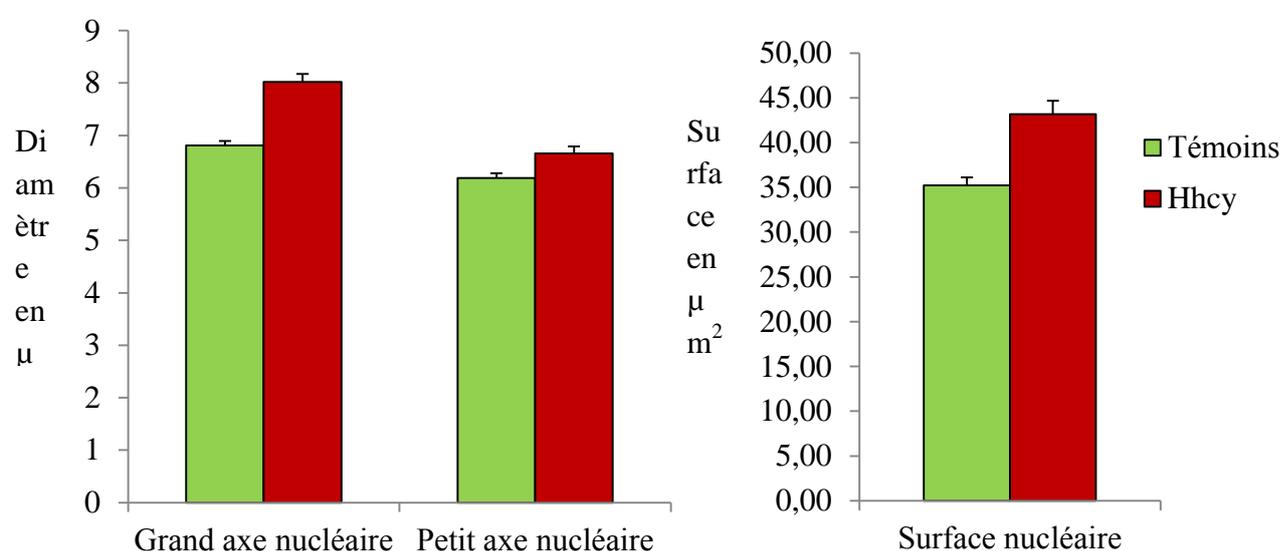
L'étude histologique du foie des psammomys obesus témoins et traités à la méthionine est complétée par une approche morphométrique portant sur la taille des hépatocytes et leurs noyaux.

### 2.2.1. Etude morphométrique des paramètres nucléaires des hépatocytes

Les résultats de l'étude morphométrique concernant le diamètre et la surface nucléaires des hépatocytes chez les Psammomys témoins et traités (Hhcy) sont reportés dans le tableau et la figure suivants.

**Tableau 05 :** Le diamètre nucléaire des hépatocytes chez les témoins et les Hhcy

Variable		Moyenne	SEM	Min	Max
Petite axe nucléaire ( $\mu\text{m}$ )	<b>Témoins</b>	6,19	0,09	4.41	8,42
	<b>Hhcy</b>	6,66( $P<0.0001$ )	0,13	3.87	10.06
Grand axe nucléaire ( $\mu\text{m}$ )	<b>Témoins</b>	6,81	0,09	5.31	8.89
	<b>Hhcy</b>	8,02( $P<0.0001$ )	0,15	12.00	4.56
Surface nucléaire ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>Témoins</b>	35,22	0,90	20,66	63,74
	<b>Hhcy</b>	43,17( $P<0.0001$ )	1,52	14,66	100,31



**Figure 16 :** Diamètre et surface nucléaires des hépatocytes des rats témoins et Hhcy

Donc, ces résultats indiquent qu'il y'a une augmentation très significative ( $P<0.001$ ) de 7,59%, et hautement significative ( $P<0,0001$ ) de 17,76% de petits et grands axes nucléaires respectivement chez les rats Hhcy par rapport aux témoins. Egalement, nous avons constaté chez

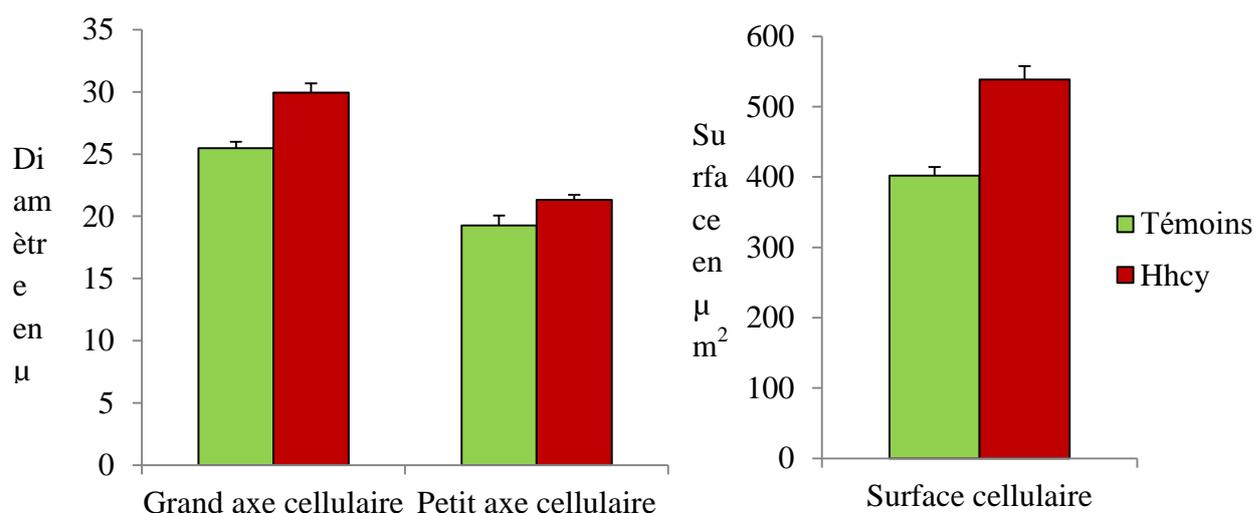
les rats Hhcy, une augmentation hautement significative ( $P < 0,0001$ ) de 22,57% de la surface nucléaire est trouvée.

### 2.2.2. Etude morphométrique des paramètres cellulaires des hépatocytes

La morphométrie des axes cellulaires des hépatocytes (petit et grand axes) ainsi que la surface est représentée par le tableau et figure ci-dessous.

**Tableau 06 :** Etude morphométrique des paramètres cellulaires des hépatocytes.

Variable		Moyenne	SEM	Min	Max
Petite axe cellulaire ( $\mu\text{m}$ )	<b>Témoins</b>	19,27	0,81	9,66	89,00
	<b>Hhcy</b>	21,31	0,43	10,48	32,92
Grand axe cellulaire ( $\mu\text{m}$ )	<b>Témoins</b>	25,49	0,51	16,52	42,80
	<b>Hhcy</b>	29,95	0,73	15,75	55,84
Surface cellulaire ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>Témoins</b>	401,82	12,60	170,7	848,78
	<b>Hhcy</b>	538,47	19,26	234,95	1126,39



**Figure 17 :** Diamètre et surface cellulaires des hépatocytes des rats témoins et Hhcy.

Les mesures que nous avons effectuées sur les paramètres cellulaires des hépatocytes montrent une augmentation hautement significative ( $P < 0,0001$ ) de 10,58% de petit axe cellulaire, de 14,89% de grand axe cellulaire, et de 34,01% de la surface cellulaire chez les Hhcy comparativement aux témoins.

Cette augmentation de la plupart de cellules recensées montre que l'Hhcy provoque une hypertrophie des cellules hépatiques.

## II. Discussion

Au terme de l'expérimentation, nos résultats mettent en évidence l'installation d'une hyperhomocystéinémie chez le rat des sables, *Psammomys obesus*, traité à la méthionine pendant 1 mois. Ces résultats sont en l'accorde avec ceux observés par plusieurs auteurs sur différents modèles l'animaux et différents voies d'administration. En effet, **Chwatko et al en 2007** ont montré que un régime alimentaire qui contient 1,5% de méthionine soumis à des souris pendant 6 mois est responsable au l'augmente le taux plasmatique de l'Hcy à 51 $\mu$ M contre 3 $\mu$ M chez des souris soumis à un régime alimentaire contenant seulement 0,5% de la méthionine. Une autre étude a montré que l'administration orale de la L-méthionine (1,7g/kg) pendant 32 jours chez des rats wistar provoque une hyperhomocystéinémie de 22,37 $\mu$ g/ml (**Kumar et al., 2016**). Sur ce même espèce, on a constaté une augmentation de l'homocystéine plasmatique à 42,53 $\mu$ mol/ après 24 heures d'administration de 100mg/kg de la méthionine par injection intrapéritonal (**Jordao et al.,2009**). Aussi, **Fukada et al. en 2006** ont prouvé que l'injection progressive des doses croissantes de la L-méthionine (100, 200, 300, 500mg/kg/J) à un groupe des rats Wistar mâles pendant 7 jours augmente l'homocystéine dans le plasma jusqu'à 70 $\mu$ M. **Hidiroglou et al en 2004** ont constatés un développement d'une Hhcy chez un groupe de gerbille male reçoit quotidiennement un régime standard enrichi en méthionine (10g/kg/jour) pendant 90 jours. Les travaux expérimentaux de **Rolland** et son équipe en **1995** ont également confirmés le développement d'état d'hyperhomocysteinémie (9,64  $\mu$ mol/L) induit par une addition de 3,45g de la méthionine dans l'alimentation des porcs pendant 4mois.

Les transaminases (ALT/AST) sont les indicateurs les plus couramment employés pour déceler les lésions hépatiques. Elles catalysent le transfert de groupement amine pour générer des produits dans la gluconéogenèse et le métabolisme des acides aminés. Ces enzymes sont présentes dans les cellules du foie, lorsque ces cellules sont endommagées, les transaminases se retrouvent dans le sang (**Kunutsor et al.,2014**).

Dans notre étude, l'augmentation de la concentration plasmatique des transaminases (ALT/AST) observée chez le lot traité à la méthionine est le résultat de la toxicité de l'Hcy sur les hépatocytes. Ces résultats sont en accord avec plusieurs auteurs. Un régime alimentaire riche en méthionine (1,7%) augment le taux plasmatique d'AST à 42.89 UI/L et d'ALT à 60.62 UI/L chez les rats après 4 semaines (**Woo et at.,2006**). Aussi, **Frelut et al. (2006)** ont montré que l'activité d'ALT est corrélée positivement avec le taux plasmatiques de Hcy chez les filles adolescentes obèses. Egalement (**Yalçinkaya et al. (2009)**) ont montré qu'un régime riche en méthionine (2%) pendant 6 mois provoque une hyperhomocystéinémie (75 $\mu$ mol/L) et une augmentation du taux sérique d'ALT à 84,2 U/L et AST à 194,8 U/L chez les rats.

De même, un régime supplémenté avec 500 mg/kg/J de la L-méthionine dans l'eau pendant trois mois augmente le taux plasmatique de homocystéine à 18,99 $\mu$ M, le taux sérique d'AST à 118,8 U/L et d'ALT à 50 U/L chez les rats (**Yefsah-Idres et al., 2016**).

Une stéatose hépatique macro-vacuolaire est signalée chez nos rats expérimentés. Ces résultats sont similaires à ceux des travaux de (**Zerrouk et al., 2010**) sur le rat des sables soumis à la méthionine à raison de 75mg/kg/jour pendant 6 mois. Egalement **Küskü-Kiraz et al** en **2018** observent une stéatose hépatique chez les cobayes nourris avec un régime alimentaire contenant 1,5 de cholestérol et 2% de la méthionine pendant 10 semaines. **Dara et al.** en **2011** trouvent que les patients hyperhomocystéinémiques développent une stéatose hépatique. Cette stéatose hépatique résulte de l'accumulation de graisses dans les cellules du foie (**Feillet-Coudray et al., 2015**). **Werstuck et al** en **2001** montrent que le stress du réticulum endoplasmique induit par l'homocystéine provoque une dérégulation de la biosynthèse des lipides en activant les SREBPs (Sterol regulatory element binding proteins), conduisant à une augmentation des niveaux de cholestérol et de triglycérides hépatiques. Les SREBPs est l'une des familles de facteurs de transcription résidant dans le RE et qui sont responsables de l'induction de gènes de la biosynthèse de cholestérol et les acides gras (**Horton et al., 2002 : Brown et Goldstein, 2009**).

Selon **Obeid et Herrmann** en **2009** la graisse et cholestérol sont emballées dans les VLDL pour être transporter par le sang aux tissus qui en ont besoin. Les souris hyperhomocystéinémiques avaient une activité enzymatique réduite de la phosphatidyl ethanolamine méthyltransférase (PEMT). Cette dernière permet la conversion de la phosphatidyl- ethanolamine (PE) en phosphatidylcholine (PC) qui composant de particules des VLDL, leur insuffisance peut provoquer l'accumulation de graisse et de cholestérol dans le foie.

Une infiltration des cellules inflammatoires (lymphocytes et monocytes) au niveau hépatique a été observée dans nos coupes, ce résultat est confirmé par **Stojanovic et al.** en **2018** chez les rats Wistar traités à la méthionine (0,8mmol/kg/J) pendant 21 jours. Aussi, **Matté et al. (2009)** ont observé des nombres élevés de cellules inflammatoires dans le tissu conjonctif présent dans l'espace portal et autour des gros vaisseaux chez des rats injectés par voie sous cutanée deux fois par jour de la L-Hcy dissous dans une solution de NaCl à 0,85% pendant 28 jours. Egalement **Hamdi** en **2011** a observé un amas des cellules inflammatoires dans le tissu cardiaque chez les rats Wister hyperhomocystéinémiques. De même, une accumulation intra vasculaire des leucocytes observée par **Sonne et al. (2008)** chez l'ours polaire exposé aux polluants est similaire à ce que nous avons trouvé.

Selon **Roblin et al** en **200**, Hcy stimule la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires et l'expression des molécules d'adhérence, ce qui accélère le recrutement des cellules inflammatoires par l'activant de facteur transcriptionnel NF kappa B (nuclear factor-kappa B).

L'intensité des cellules possédant un noyau modifié est plus marquée chez les rats traité à la méthionine (300mg/Kg/J) pendant un mois. **Kerr et al.** en **1994** ont montré que les cellules avec un noyau fragmenté très dense et irrégulier sont des cellules ayant subi une nécrose. Ces résultats sont similaires à ceux des travaux de (**Zerrouk et al., 2010**).

Dans nos résultats, nous avons observé plusieurs hépatocytes autophagiques chez les *Psammomys* traités. **Yang et al.** (**2018**) ont trouvé une importante autophagie des cellules hépatiques chez des souris CBS<sup>+/-</sup> et qui présentent une hyperhomocystinémie. Ces auteurs ont prouvé que dans le foie de ces animaux il y a une augmentation de l'expression de certaines protéines intervenant dans l'autophagie comme la LC3-II et la Atg12, et à la diminution de l'expression d'autres protéines comme la p62. La Atg12 et LC3-II jouent un rôle dans l'élongation de la phagophore (membrane isolée) pour former l'autophagosome (Mizushima et al., 2001). En effet, la quantité de LC3-II est corrélée au nombre d'autophagosomes (Kabeya et al., 2000). La protéine P62 possède un rôle de «cargo» en conduisant les éléments à dégrader vers l'autophagosome. De ce fait, c'est également un substrat de l'autophagie, qui est responsable de sa dégradation (**Heinen et al., 2010; Kuusisto et al., 2008**).

L'étude morphométrique qui nous a été réalisée montre que l'hyperhomocystéinémie provoque une hypertrophie hépatocytaire. En effet, (**Raaf et al., 2010**) ont signalé une hypertrophie des myocytes ventriculaires sous l'effet de l'Hcy. Également, **Chen et al.** en **2014** trouvent que l'homocystéine induit une hypertrophie de l'hippocampe. Cette hypertrophie est expliquée par le fait que l'Hcy diminue les effets anti hypertrophiques de la protéine DYRK1A au niveau hépatique (**Hamelet et al., 2009**) mais également au niveau cardiaque (**Raaf et al., 2009**).

Les coupes histologiques de *psammomys obesus* soumis à la méthionine pendant 1 mois ont permis de révéler plusieurs altérations de la matrice extracellulaire, en effet, nous observons une accumulation des collagènes au niveau des espaces périvasculaires qui indique l'installation d'une fibrose hépatique. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus dans le foie (**Zerrouk et al., 2010 ; Matté et al., 2009**). **Othmani et al.** en **2017** ont noté une importante fibrose au niveau aortique chez les lapins après une supplémentation de 500 mg/j en méthionine pendant trois mois. D'autres auteurs également observent une accumulation de collagènes dans d'autres organes sous l'effet de hyperhomocystéinémie comme le glomérule (Cao et al., 2013), les vésicules séminales (**Ghoul et al., 2017**) et les poumons (**Hamelet et al., 2007**).

L'hyperhomocystéinémie induit l'expression de TGF- $\beta$ 1 dans le myocarde des rats blancs (**Raaf et al., 2011**), la majeure cytokine fibrogénique qui joue un rôle essentiel dans l'activation des myofibroblastes (**Kisseleva et Brenner, 2007**). Une fois ces myofibroblastes sont activées elles expriment le collagène de type I et d'autres protéines de la matrice extracellulaire qui constituent la cicatrice fibreuse dans la fibrose hépatique (**Kisseleva et Brenner, 2012**). Les myofibroblastes proviennent de l'activation et la prolifération des cellules étoilées du foie (**Popov et Schuppan, 2009**). Ces dernières ont été considérées comme les principales cellules sécrétrices des éléments de la matrice extracellulaire hépatique (**Zhang et Wang, 2013**). Ces données sont confirmées par **Bansal et al.** en 2014 et **Yang et al.** en 2014 qui trouvent qu'une inhibition de l'activation et de la prolifération de ces cellules induit une diminution de l'expression de collagène I. L'Hcy stimule aussi le TIMP-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase), pour favoriser la fibrogénèse hépatique (**Roblin et al., 2007**).

# *Conclusion*

Notre étude expérimentale, menée chez *Psammomys obesus*, a pour objectif d'analyser les répercussions sur la morphologie du tissu hépatique durant le développement d'un état d'hyperhomocystéinémie. Pour ce faire, les animaux sont répartis en 2 lots, un lot témoin soumis à un régime naturel aux plantes halophiles et un lot traité recevant le même régime alimentaire associé à une administration intra péritonéale de la méthionine (300mg/kg de poids corporel/jours) pendant 1 mois. A la fin de traitement, et après sacrifice et prélèvement des organes, nous avons analysé et étudié des altérations produites au niveau du parenchyme hépatique chez le rat des sables par des techniques histologiques, histochimiques et morphométriques. Les transaminases hépatiques (ALT et AST) sont également dosées au niveau plasmatique pour déterminer une éventuelle souffrance hépatocytaire.

Nos résultats obtenus à travers cette étude montrent que l'administration de la méthionine provoque une augmentation significative de l'homocystéine plasmatique de 638% indiquant l'installation d'une hyperhomocystéinémie. Les transaminases sont aussi le siège d'une forte augmentation significative qui signale une souffrance hépatocytaire. En effet, ALT augmente de 430,6% et AST de 827,49% comparativement aux témoins. Au niveau histologique, la principale altération observée est la stéatose macrovacuolaire. L'hypertrophie cellulaire, la nécrose, l'apoptose, l'infiltration leucocytaire et la fibrose perivasculaire sont également parmi les altérations hépatiques induites par l'hyperhomocystéinémie et qui mettent en évidence un remodelage de tissu hépatique.

Afin de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans ce remodelage, ce travail pourrait être complété par :

- ✓ L'utilisation de la microscopie électronique à transmission pour déterminer les altérations ultrastructurales des hépatocytes.
- ✓ Une analyse immunohistochimique : Collagènes I et III, Apostatine, Caspase 3 activée, TGF-b, P62 et Beclin-1
- ✓ La quantification des MMPs 2 et 9 par la zymographie,
- ✓ La détermination de statut inflammatoire (IL6 et 8)
- ✓ La détermination de la balance oxydant/ anti-oxydant
- ✓ La détermination du niveau de méthylation globale de l'ADN

# *Référence bibliographique*

- Bansal, R., Prakash, J., De Ruiter, M., Poelstra, K., 2014.** Interferon gamma peptidomimetic targeted to hepatic stellate cells ameliorates acute and chronic liver fibrosis in vivo. *J. Control. Release* 179, 18–24.
- Ben Ahmed, H., Bouzid, K., Hassine, M., Saadi, O., Bahlous, A., Abdelmoula, J., Baccar, H., 2014.** Prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire non conventionnels chez les sujets diabétiques tunisiens. *Press. Med* 49, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2015.07.790>
- Bottiglieri, T., 2005.** Homocysteine and folate metabolism in depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 29, 1103–1112. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.06.021>
- Boushey, C.J., Beresford, S.A.A., Omenn, G.S., Motulsky, A.G., 1995.** A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. *JAMA* 274, 1049–1057.
- Brooker, C., 2000.** Le corps humain : etude, structure et fonction. P562.2<sup>ème</sup> ed.
- Brosnan, B.T., Brosnan, M.E., 2006.** The Sulfur-Containing Amino Acids: An Overview. *Am. Soc. Nutr.* 136, 1636–1640.
- Brown, M.S., Goldstein, J.L., 2009.** Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *J. Lipid Res.* 50, 15–27. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800054-JLR200>
- Cai, Y., Zhang, C., Nawa, T., Aso, T., Tanaka, M., Oshiro, S., Ichijo, H., Kitajima, S., 2000.** Homocysteine-responsive ATF3 gene expression in human vascular endothelial cells: activation of c-Jun NH 2 -terminal kinase and promoter response element. *Am. Soc. Hematol.* 96, 2140–2149.
- Cao, L., Lou, X., Zou, Z., Mou, N., Wu, W., Huang, X., Tan, H., 2013.** Folic acid attenuates hyperhomocysteinemia-induced glomerular damage in rats. *Microvasc. Res.* 89, 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2013.07.002>
- Capeau, J., 2008. Insulin resistance and steatosis in humans. *Diabetes Metab.* 34, 649–657. [https://doi.org/10.1016/S1262-3636\(08\)74600-7](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(08)74600-7)
- Catala, M., André, J., Morère, J., Escudier, E., Katsanis, G., Poirier, J., 2008.** Histologie : organe, systèmes et appareils. Université Pierre et Marie Curie. 102p.
- Chen, L., Sohn, B., Choi, H., Byun, M., Seo, E., Han, J., Kim, Y., Yoon, E., Lee, J., Park, J., Woo, J., Lee, D., 2014.** Association of homocystéine with hippocampal volume independent of cerebral amyloid and vasculaire burden. *Neurobiol. Aging* 35, 1515–1525.
- Chwatko, G., Boers, G.H.J., Strauss, K.A., Shih, D.M., Jakubowski, H., 2007.** Mutations in methylenetetrahydrofolate reductase or cystathionine B-syntase gene, or a high-methionine diet, increase homocysteine thiolactone levels in humans and mice. *FASEB J.* 21, 1707–1713. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7435com>
- Clarke, R., Daly, L., Robinson, K., Naughten, E., Cahalane, S., Fowler, B., Graham, I., 1991.** Homocysteinemia: A risk factor for vascular disease. *N. Engl. J. Med.* 325, 697.
- Colovic, M.B., Vasic, V.M., Djuric, D.M., Krstic, D.Z., 2018.** Sulphur-containing amino acids: protective role against free radicals and heavy metals. *Curr. Med. Chem.* 25, 1–12. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170609075434>

- Dadoune, J., Siffroi, J., Hadjik, P., Vendrely, E., 2007.** Histologie, 1st ed. Paris.
- Daly, M., Daly, S., 1973.** On the feeding ecology of *Psammomys obesus* (Rodentia, gerbillidae) in the wadi saoura, Algeria. *Mammalia* 35, 546–561.
- Dara, L., Ji, C., Kaplowitz, N., 2011.** the contribution of endoplasmique reticulum stress to liver diseases. *Hepatology* 53, 1752–1763.
- Dayal, S., Bottiglieri, T., Arning, E., Maeda, N., Malinow, M.R., Sigmund, C.D., Heistad, D.D., Faraci, F.M., Lentz, S.R., 2001.** Endothelial Dysfunction and Elevation of S-Adenosylhomocysteine in Cystathionine Béta -Synthase-Deficient Mice. *Circ. Res.* 88, 1203–1209.
- De Bree, A., Verschuren, W., Blom, H., Kromhout, D., 2001.** Association between B vitamin intake and plasma homocysteine concentration in the general Dutch population aged. *Am J Clin Nutr* 73, 1027–33.
- de Bree, A., Verschuren, W.M.M., Blom, H.J., Graaf-Hess, A. de, Trijbels, F.J., Kromhout, D., 2001.** The homocysteine distribution. *J. Clin. Epidemiol.* 54, 462–469.
- de jaeger, C., Fraoucene, N., Voronska, E., Cherin, P., 2010.** Rôle de l’homocystéine en pathologie. *Med. Longevite* 2, 73–86. <https://doi.org/10.1016/j.mlong.2010.03.002>
- Demuth, K., Atger, V., Borderie, D., Benoit, M.-O., Sauvaget, D., Loterstajn, S., Moatti, N., 1999.** Homocysteine decreases endothelin-1 production by cultured human endothelial cells. *J. Biochem* 263, 367–376.
- Demuth, K., Drunat, S., Paul, J.-L., Moatti, N., 2000.** Hyperhomocystéinémie et athérosclérose. *médecine/sciences* 16, 1081–1090.
- Eberhardt, R.T., Forgione, M.A., Cap, A., Leopold, J.A., Rudd, M.A., Trolliet, M., Heydrick, S., Stark, R., Klings, E.S., Moldovan, N.I., Yaghoubi, M., Goldschmidt-Clermont, P.J., Farber, H.W., Cohen, R., Loscalzo, J., 2000.** Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocyst(e) inemia. *J Clin Invest* 106, 483–491.
- El Mabchour, A., Agueh, V., Delisle, H., 2010.** Homocystéinémie: déterminants et relation avec les facteurs de risque cardiométabolique au Bénin (Afrique de l’Ouest). *Press. Medicale* 39, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2010.03.024>
- EL Mangad, F.E., Ghazi, M., Qacif, H., Zyani, M., Niamane, R., 2013.** Polyarthrite rhumatoïde et thrombose veineuse profonde: Rôle de l’ hyperhomocystéinémie. *Rev. Marocaine Rhumatol.* 25, 45–47.
- Faraci, F.M., Lentz, S.R., 2004.** Hyperhomocysteinemia, Oxidative Stress, and Cerebral Vascular Dysfunction. *Stroke* 35, 345–347. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000115161.10646.67>
- Fawcette, D., Jensch, R., 2002.** histologie : l’essentiel.477p, Collection. ed. Paris.
- Feillet-Coudray, C., Fouret, G., Casas, F., Coudray, C., 2015.** Les cardiolipides, des phospholipides clés pour la fonction mitochondriale. Relation avec les apports lipidiques et la physiopathologie. *Cah. Nutr. Diet.* 50, 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2015.04.002>
- Finkelstein, J.D., Martin, J.J., 2000.** Homocysteine. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 32, 385–389.

- Frelut, M., Emery-Fillon, N., Guillard, J., Dao, H., de Courcy, G., 2006.** Alanine amino transferase concentrations are linked to folate intakes and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in obese adolescent girls. *J. Pediatr. Gastroenterol* 43, 234–239.
- Frenkel, G., Kraicer, P., 1972.** Metabolic effects of insulin blockade by D-Mannoheptulose in the sand rat (*Psammomys obesus*) and the rat. *Gen. Comp. Endocrinol.* 19, 341–344.
- Fryer, R.H., Wilson, B.D., Gubler, D.B., Fitzgerald, L.A., Rodgers, G.M., 1993.** Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.* 13, 1327–1333.
- Fukada, S., Shimada, Y., Morita, T., Sugiyama, K., 2006.** Suppression of Methionine-Induced Hyperhomocysteinemia by Glycine and Serine in Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70, 2403–2409. <https://doi.org/10.1271/bbb.60130>
- Ganguly, P., Alam, S.F., 2015.** Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr. J.* 14, 1–6.
- Garcin, J., Abouzahi, A., Bronstein, J., Chellak, S., Bordier, L., Dupuy, O., 2005.** Hyperhomocystéinémie modérée et risque cardiovasculaire chez le diabétique. *BioTribune Mag.* 15, 34–36.
- Gartner, L., Hiatt, J.L., 2004.** *Atlase en couleur d'histologie.* 2 Ed. 397p.
- Ghoul, A., Moudilou, E., Cherifi, M.E.H., Zerrouk, F., Chaouad, B., Moulahoum, A., Aouichat-Bouguerra, S., Othmani, K., Exbrayat, J.M., Benazzoug, Y., 2017.** The role of homocysteine in seminal vesicles remodeling in rat. *Folia Histochem. Cytobiol.* 55, 62–73. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2017.0010>
- Giltay, E.J., Hoogeveen, E.K., Elbers, J.M.H., Gooren, L.J.G., Asscheman, H., Stehouwer, C., 1998.** Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels : a study in transsexual males and females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 550–553.
- Girs, N., Giet, D., 2006.** Le dosage de l'homocystéine intéresse-t' il le médecin généraliste ? *Med Liege* 61, 352–361.
- Grubben, M.J., Boers, G.H., Blom, H.J., Broekhuizen, R., Jong, R. De, Rijt, L. Van, Ruijter, E. De, 2000.** Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers : a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 71, 480–484.
- Guillard, J., Favier, A., Courcy, G.P. de, Galan, P., Hercberg, S., 2003.** Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor or a simple marker of vascular disease? *Pathol. Biol.* 51, 111–121. [https://doi.org/10.1016/S0369-8114\(03\)00105-6](https://doi.org/10.1016/S0369-8114(03)00105-6)
- Hamdi, N., 2011.** Remodelage de la matrice extracellulaire cardiaque induit par différentes doses de la méthionine chez le rat wister, *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. USTHB. Alger.
- Hamelet, J., Maurin, N., Fulchiron, R., Delabar, J., Janel, N., 2007.** Mice lacking cystathionine beta synthase have lung fibrosis and air space enlargement. *Exp Mol Pathol* 83, 249–253.
- Hamelet, J., Noll, C., Ripoll, C., Paul, J.L., Janel, N., Delabar, J.M., 2009.** Effect of hyperhomocysteinemia on the protein kinase DYRK1A in liver of mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 378, 673–677. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.11.126>

- Heinen, C., Garner, T., Long, J., Böttcher, C., Ralston, S., Cavey, J., Searle, M., Layfield, R., Dantuma, N., 2010.** Mutant p62/SQSTM1 UBA domains linked to Paget's disease of bone differ in their abilities to function as stabilization signals. *FEBS Lett* 584, 1585–1590.
- Hidiroglou, N., Gilani, G.S., Long, L., Zhao, X., Madere, R., Cockell, K., Belonge, B., Ratnayake, W.M.N., Peace, R., 2004.** The influence of dietary vitamin E, fat, and methionine on blood cholesterol profile, homocysteine levels, and oxidizability of low density lipoprotein in the gerbil. *J. Nutr. Biochem.* 15, 730–740. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.04.009>
- Hofmann, M.A., Lalla, E., Lu, Y., Gleason, M.R., Wolf, B.M., Tanji, N., Jr, L.J.F., Kohl, B., Rao, V., Kisiel, W., Stern, D.M., Schmidt, A.M., 2001.** Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest* 107, 675–83.
- Höhn, A., König, J., Grune, T., 2013.** Protein oxidation in aging and the removal of oxidized proteins. *J. Proteomics* 92, 132–159.
- Horton, J.D., Goldstein, J.L., Brown, M.S., 2002.** SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 109, 1125–1131. <https://doi.org/10.1172/JCI200215593>.Lipid
- Ichinohe, A., Kanaumi, T., Takashima, S., Enokido, Y., Nagai, Y., Kimura, H., 2005.** Cystathionine b-synthase is enriched in the brains of Down's patients. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338, 1547–1550. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.10.118>
- Jacob, M., 2006.** Matrice extracellulaire et vieillissement vasculaire. *Med/S* 22, 273–8.
- Jacques, P.F., Bostom, A.G., Wilson, P.W., Rich, S., Rosenberg, I.H., Selhub, J., 2001.** Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am. J. Clin. Nutr.* 73, 613–621.
- Jamison, R.L., Hartigan, P., Kaufman, J.S., Goldfarb, D.S., Warren, S.R., Guarino, P.D., Gaziano, J.M., 2007.** Effect of Homocysteine Lowering on Mortality and Vascular Disease in Advanced Chronic Kidney Disease and End-stage Renal Disease. *Jama* 298, 1163–1170. <https://doi.org/10.1001/jama.298.10.1163>
- Jean-Marc ALBIRTO, 2006.** Influence des déterminants nutritionnels de homocystéine sur la stéatose hépatique chez le rongeur.thèse de doctorat,spécialité :biologie cellulaire -nutrition ,UNIVERSITÉ HENRI-NANCY I. faculté de médecine(277pages).
- Jordao, A.A., Domenici, F.A., Lataro, R.C., Portari, G.V., Vannucchi, H., 2009.** Effect of methionine load on homocysteine levels, lipid peroxidation and DNA damage in rats receiving ethanol. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 45, 709–714. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400014>
- Kabeya, Y., Mizushima, N., Ueno, T., Yamamoto, A., Kirisako, T., Noda, T., Kominami, E., Ohsumi, Y., Yoshimori, T., 2000.** LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J* 19, 5720–5728.
- Kerr, J., Winterford, C.M., Harmon, B.V., 1994.** Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 73, 2013–27.
- Kierszenbaum, L., 2006.** histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique, 1st ed. paris.

- Kisseleva, T., Brenner, D., 2012.** the phenotypic fat and functional rol for bon marrow-derived stem cells in livers fibrosis. *J. hepatothology* 22, 73–78.
- Kisseleva, T., Brenner, D., 2007.** Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J.Gastroenterol.Hepatol* 22, 73–78.
- Koehler, K.M., Baumgartner, R.N., Garry, P.J., Allen, R.H., Stabler, S.P., Rimm, E.B., 2001.** Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am J Clin Nutr* 73, 628–637.
- Kumar, B.H., Kumar, B.D., Diwan, P. V, 2016.** Hesperidin, a citrus flavonoid, protects against l-methionine-induced hyperhomocysteinemia by abrogation of oxidative stress, endothelial dysfunction and neurotoxicity in Wistar rats. *Pharm. Biol.* 55, 1–10. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1231695>
- Kunutsor, S.K., Apekey, T.A., Seddoh, D., Walley, J., 2014.** Liver enzymes and risk of all-cause mortality in general populations: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* 43, 187–201. <https://doi.org/10.1093/ije/dyt192>
- Küskü-Kiraz, Z., Genc, S., Bekpınar, S., Ünlüerci, Y., Çevik, A., Olgaç, V., Gürdöl, F., Uysal, M., 2018.** Effects of betaine supplementation on nitric oxide metabolism, atherosclerotic parameters, and fatty liver in guinea pigs fed a high cholesterol plus methionine diet. *Nutrition* 45, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.07.005>
- Kuusisto, E., Kauppinen, T., Alafuzoff, I., 2008.** Use of p62/SQSTM1 antibodies for neuropathological diagnosis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol* 34, 169–180.
- Laperche, Y., 2003.** les cellules ovales et la régénération du foie. *M/S* 19, 697–698.
- Lee, B., Lin, P., Liaw, Y., Chang, S., Cheng, C.-H., Huang, Y.-C., 2003.** Homocysteine and Risk of Coronary Artery Disease: Folate Is the Important Determinant of Plasma Homocysteine Concentration. *Nutrition* 19, 577–583. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)01098-5](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)01098-5)
- Lei, W., Long, Y., Li, S., Liu, Z., Zhu, F., Hou, F.F., Nie, J., 2015.** Homocysteine Induces Collagen I Expression by Downregulating Histone Methyltransferase G9a. *PLoS One* 10, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130421>
- Lelonga, H., Kretza, S., Blacher, J., 2012.** Protéine c réactive, homocystéine et risque cardiovasculaire. *Rev. Française des Lab.* 439, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(00\)80266-8](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(00)80266-8)
- Lentz, R., Sadler, J., 1991.** Inhibition of thrombomodulin surgace expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J. Clin. Invest.* 88, 1906–1914. <https://doi.org/10.1172/JCI115514>
- Lentz, S.R., Erger, R.A., Dayal, S., Maeda, N., Heistad, D.D., Faraci, F.M., Rene, M., Steven, R., Erger, R.A., Dayal, S., Maeda, N., Rene, M., Heistad, D.D., Faraci, F.M., 2000.** Folate dependence of hyperhomocysteinemia and vascular dysfunction in cystathionine Béta-synthase-deficient mice. *Am J Physiol Hear. Circ Physiol* 279, 970–975.
- Levasseur, R., 2009.** Bone tissue and hyperhomocysteinemia. *Revue Du Rhum.* 76, 390–396. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2008.11.004>
- Lussier-Cacan, S., Xhignesse, M., Piolot, A., Selhub, J., Davignon, J., Genest, J., 1996.** Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits.

Am.J.Clin.Nutr. 64, 587–593.

**Marchall, W., Bangert, S., 2004.** Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic, 5ème édit. ed.

**Martoja, R., Martoja, M., 1967.** Initiation aux technique de l'histologie animale. Eds Massonnet cie, Paris. P343.

**Matté, C., Stefanello, F.M., Mackedanz, V., Pederzoli, C.D., Lamers, M.L., Dutra-filho, C.S., Marinilce, F., Wyse, A.T.S., 2009.** Homocysteine induces oxidative stress , inflammatory infiltration , fibrosis and reduces glycogen / glycoprotein content in liver of rats. *Int. J. Devl Neurosci.* 27, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2009.03.005>

**McCully, K.S., 1969.** Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am. J. Pathol.* 56, 111–128.

**Meeks, R., Harrison, S., Bull, R., 1991.** Hepatotoxicology. Boca Raton. paris.700p, 1st ed.

**Mizushima, N., Yamamoto, A., Hatano, M., Kobayashi, Y., Kabeya, Y., Suzuki, K., Tokuhsa, T., Ohsumi, Y., Yoshimori, T., 2001.** Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J. Cell Biol* 152, 657–668.

**Mony, C., Pr, J., Duclas-vallée, C., 2014.** les fonction du foie. hépato-bilaire paul brousse Hop. Univ. paris-sud Fr. situé à villejuif. 12–14.

**Mouchabac, S., 2008.** Homocystéine, hyperhomocystéinémie et dépression Neuropsychiatrie : Tendances et Débats 32, 9–18.

**Niedzwiecki, M.M., Liu, X., Zhu, H., Hall, M.N., Slavkovich, V., Ilievski, V., Levy, D., Siddique, A.B., Kibriya, M.G., Parvez, F., Islam, T., Ahmed, A., Navas-Acien, A., Graziano, J.H., Finnell, R.H., Ahsan, H., Gamble, M. V, 2018.** Serum homocysteine, arsenic methylation, and arsenic-induced skin lesion incidence in Bangladesh: A one-carbon metabolism candidate gene study. *Environ. Int.* 113, 133–142. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.01.015>

**Obeid, R., Herrmann, W., 2009.** Homocysteine and lipids: S-Adenosyl methionine as a key intermediate. *FEBS Lett.* 583, 1215–1225. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.03.038>

**Olszewski, A.J., McCully, K.S., 1993.** Homocysteine metabolism and the oxidative modification of proteins and lipids. *Free Radic. Biol. Med.* 14, 683–693.

**Omari, N., Ayat Akili, Y., Labrousse, F., Delage-Corre, M., Le Boutet, J., HADJ Bekkouche, F., 2007.** Stress nutritionnel chez les psammomys obessus physiopathologie de la glande surrenale. *Bull. Soc. Zool.* 132, 163–181.

**Othmani Mecif, K., AouichatBouguerra, S., Benazzoug, Y., 2017.** Plasma and Aorta Biochemistry and MMPs Activities in Female Rabbit Fed Methionine Enriched Diet and Their Offspring. *J. Nutr. Metab.* 2017, 1–17.

**Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O., 2002.** Physiological action of antioxidant defences. *Nutr. Clin. Metab.* 16, 233–239. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(02\)00166-8](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(02)00166-8)

**Poddar, R., Sivasubramanian, N., DiBello, P.M., Robinson, K., Jacobsen, D.W., 2001.** Homocysteine Induces Expression and Secretion of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Interleukin-8 in Human Aortic Endothelial Cells Implications for Vascular Disease.

Circulation 103, 2717–2723.

- Poloni, S., Blom, H.J., Schwartz, V., 2015.** Stearoyl-CoA Desaturase-1: Is It the Link between Sulfur Amino Acids and Lipid Metabolism. *Biology (Basel)*. 4, 383–396.
- Popov, Y., Schuppan, D., 2009.** Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies. *Hepatology* 25, 1294–1306.
- Raaf, L., Noll, C., Cherifi, M., Benazzoug, Y., Delabar, J., Janel, N., 2010.** Hyperhomocysteinemia-induced Dyrk1a downregulation results in cardiomyocyte hypertrophy in rats. *Elsevier Irel. Ltd* 10, 306–307.
- Raaf, L., Noll, C., Cherifi, M., Benazzoug, Y., Delabar, J., Janel, N., 2009.** Hyperhomocysteinemia-induced DyrK1a downregulation results in cardiomyocyte hypertrophy in rats. *Elsever* 30, 306–307.
- Raaf, L., Noll, C., Cherifi, M., Samuel, J., Delcayre, C., Delabar, J., Benazzoug, Y., Janel, N., 2011.** myocardial fibrosis and TGFB expression in hyperhomocysteinemic rats. *Mol.cell.Biochem* 347, 63–70.
- Raikar, S.G., Neeli, S.I., Uppin, V.M.U., Shashi, M., 2017.** Assessment of plasma homocysteine as a marker of acute renal injury in patients undergoing extracorporeal shock wave lithotripsy for renal stone disease - 1-year cross-sectional study. *india J. Heal. Sci. Biomed. Res. kleu* 10, 34–40.
- Renate, L., 2008.** Histologie. De Boeck Supérieur. 1er Edi. 704p.
- Roblin, X., Pofelski, J., Zarski, J., 2007.** Rôle de l' homocystéine au cours de la stéatose hépatique et de l' hépatite chronique C. *Gastroenterol Clin Biol* 31, 415–420.
- Rolland, P.H., Friggi, A., Barlatier, A., Piquet, P., Latrille, V., Faye, M.M., Guillou, J., Charpiot, P., Bodard, H., Ghiringhelli, O., Calaf, R., Luccioni, R., Garçon, D., 1995.** Hyperhomocysteinemia-Induced Vascular Damage in the Minipig: Captopril-Hydrochlorothiazide Combination Prevents Elastic Alterations. *Circulation* 91, 1161–1174.
- Rosenbaum, J., Mavier, P., Dhumeaux, D., 1991.** interaction cellulaires dans le foie. *m/s* 7, 110–7.
- Rutigliano, I., Vinci, R., De Filippo, G., Mancini, M., Stoppino, L., d'Apolito, M., Giardino, I., Macarini, L., Pettoello Mantovani, M., Campanozzi, A., 2017.** Metabolic syndrome, hepatic steatosis, and cardiovascular risk in children. *Nutrition* 36, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.10.017>
- Scherwood, L., 2000.** physiologie humain. 674p, 2nd ed.
- Scott, J.M., Weir, D.G., 1998.** Folic Acid, Homocysteine and One-Carbon Metabolism: A Review of the Essential Biochemistry *John. J. Cardiovasc. Risk* 5, 223–227. <https://doi.org/10.1177/174182679800500403>
- Smach, M.A., Naffeti, S., Charfeddine, B., Abdallah, J. Ben, Othmen, L.B., Letaef, A., Limem, K., 2013.** Homocysteine, vitamin B-12, folic acid and the cognitive decline in the elderly. *Pathol. Biol.* 61, 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2012.04.003>
- Sonne, C., Wolkers, H., Leifsson, P., Jenssen, B., Fugelei, E., Ahlstrom, O., Dietz, R., Kirkegaard, M., Muir Derek, C., Jorgensen, E., 2008.** Organochlorine-induced histopathology in kidney and liver tissue from Arctic fox (*vulpes lagopus*). *Chemosphere*

71, 1214–1224.

- Stojanovic, M., Todorovic, D., Šćepanovic, L., Mitrovic, D., Borozan, S., Dragutinovic, V., Labudovic-Borovic, M., Krstic, D., Colovic, M., Djuric, D., 2018.** Subchronic methionine load induces oxidative stress and provokes biochemical and histological changes in the rat liver tissue. *Mol. Cell. Biochem.* 24, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3311-2>
- Taghli, A., Fernane, A., Idres-yefsah, A., Othmani-mecif, K., Benazzoug, Y., 2016.** Atherogen effect of hyperhomocysteinemia induced by chronic administration of LD-methionine on male rabbits. *Arch. Cardiovasc. Dis. Suppl.* 8, 202–204. [https://doi.org/10.1016/S1878-6480\(16\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S1878-6480(16)30367-6)
- Tsai, J.-C., Perrella, M., Yoshizumi, M., 1994.** Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 6369–73.
- Ueland, P.M., Refsum, H., Brattstrom, L., 1992.** Plasma Homocysteine and Cardiovascular Disease. *Atheroscler. Cardiovasc. Dis. hemostasis, Endothel. Funct.* New York Marcel Dekker 183, 183–236.
- Undas, A., Szczeklik, J., Andrzej, B., 2005.** Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence. *Thromb. Haemost.* 93, 907–915. <https://doi.org/10.1160/TH05>
- Upchurch, G.R., Welch, G.N., Fabian, A.J., Freedman, J.E., Johnson, J.L., Keaney, J.F., Loscalzo, J., 1997.** Homocyst(e)ine Decreases Bioavailable Nitric Oxide by a Mechanism Involving Glutathione Peroxidase. *Biol. Chemistry* 272, 17012–17017.
- Urgert, R., Vliet, T. Van, Zock, P.L., Katan, M.B., 2000.** Heavy coffee consumption and plasma homocysteine : a randomized controlled trial in healthy volunteers. *Am. Soc. Clin. Nutr.* 72, 1107–1110.
- Veyrat-Durebex, C., Blasco, H., Vayne, C., Emond, P., Labarthe, F., Andres, C.R., Maillot, F., 2013.** Investigation of hyperhomocysteinemia. *Ann Biol Clin* 71, 517–525. <https://doi.org/10.1684/abc.2013.0879>
- Vilgrain, V., Zappa, M., Sibert, A., Vullierme, M.-P., 2007.** Foie et anomalies de perfusion en imagerie. *hépatogastrique* 14, 191–203.
- Wang, J., Dudman, N., Wilcken, D., 1993.** Effects of homocysteine and related compounds on prostacyclin production by cultured human vascular endothelial cells. *Thromb. Haemost.* 70, 1047–1052.
- Wang, Y., Ding, W.X., Li, T., 2018.** Cholesterol and bile acid-mediated regulation of autophagy in fatty liver diseases and atherosclerosis. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* 1863, 726–733. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.04.005>
- Watlet, J., 2008.** Foie et sport. *Gastroentérologie Clin. Biol.* 32, 960–972.
- Weiss, N., Zhang, Y.Y., Heydrick, S., Bierl, C., Loscalzo, J., 2001.** Overexpression of cellular glutathione peroxidase rescues homocyst(e)ine-induced endothelial dysfunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 12503–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.231428998>
- Welch, G.N., Loscalzo, J., 1998.** Homocysteine and atherothrombosis. *J. Med.* 338, 1042–1048.
- Werstuck, G., Lentz, S., Dayal, S., Hossain, G., Sood, S., Shi, Y., 2001.** Le stress du réticulum endoplasmique induit par l'homocystéine provoque un dérèglement des voies de

- biosynthèse du cholestérol et des triglycérides. *J Clin Invest* 107, 1263–73.
- Wheater, P., Young, B., O'Dowd, G., Woodford, P., 2015.** Atlas d'histologie fonctionnelle de wheater.de boeck superieur.455p.
- Wierzbicki, A.S., 2007.** Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. a Rev. evidence. *Diab Vasc Dis Res* 4, 143–139. <https://doi.org/10.3132/dvdr.2007.033>
- Wilcken, D.E.L., Dudman, N.P.B., 1989.** Mechanisms of Thrombogenesis and Accelerated Atherogenesis in Homocysteinaemia. *Haemostasis* 19, 14–23.
- Woo, C.W., Prathapasinghe, G., Siow, Y., 2006.** Hyperhomocysteinemia induces liver injury in rat: Protective effect of folic acid supplementation. *Biochim. Biophys. Acta* 1762, 656–665.
- Woo, K., Chook, P., Lolin, Y., Cheung, A., Chan, L., Sun, Y., Sanderson, J., Metreweli, C., Celermajer, D., 1997.** Hyperhomocyst(e)inemia Is a Risk Factor for Arterial Endothelial Dysfunction in Humans. *Circulation* 96, 2542–2544.
- Yalçinkaya, S., Ünlüçerçi, Y., Murat, G., Olgaç, V., Dođru-Abbasođlu, S., Uysal, M., 2009.** Oxidative and nitrosative stress and apoptosis in the liver of rats fed on high methionine diet: Protective effect of taurine. *Nutrition* 25, 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.09.017>
- Yang, A., Jiao, Y., Yang, S., Deng, M., Yang, X., Mao, C., Sun, Y., Ding, N., Li, N., Zhang, M., Jin, S., Zhang, H., Jiang, Y., 2018.** Homocysteine activates autophagy by inhibition of CFTR expression via interaction between DNA methylation and H3K27me3 in mouse liver. *Cell Death Dis.* 9, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0216-z>
- Yang, J., Hou, Y., Ji, G., Song, Z., Liu, Y., Dia, G., Zhang, Y., Chen, J., 2014.** Targeted delivery of the RGD-labeled biodegradable polymersomes loaded with the hydrophilic drug oxymatrine on cultured hepatic stellate cells and liver fibrosis in rat. *Eur. J. Pharm. Sciences* 52, 180–190.
- Yefsah-Idres, A., Benazzoug, Y., Otman, A., Latour, A., Middendorp, S., Janel, N., 2016.** Hepatoprotective effects of lycopene on liver enzymes involved in methionine and xenobiotic metabolism in hyperhomocysteinemic rats. *Food Funct.* 7, 2862–2869. <https://doi.org/10.1039/c6fo00095a>
- Zerrouk, F., Othmani-Mecif, K., Khedis, L., Chaouad, B., Ghoul, A., Rezkallah, N., Cherifi, M.E.H., Benazzoug, Y., Neggazi, S., Aouichat-Bouguerra, S., Cherifi, M.E.H., Benazzoug, Y., 2010.** Impact d'une hyperhomocystéinémie sur les lipoprotéines plasmatiques et sur la structure hépatique du Rat des sables, *Psammomys obesus*. *Synthèse Rev. des Sci. la Technol.* 22, 23–36.
- Zhang, N., 2018.** Role of methionine on epigenetic modification of DNA methylation and gene expression in animals. *Anim. Nutr.* 4, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.08.009>
- Zhang, Z., Wang, F., 2013.** Stem cell therapies for liver failures and cirrosis. *J. Hepatol.* 59, 183–185.
- Zittoun, J., 1998.** Homocystéine et pathologie vasculaire. *Hématologie* 4, 7–16.
- Zoccali, C., Mallamaci, F., Tripepi, G., 2007.** It is important to lower homocysteine in dialysis patients. *Semin. Dial.* 20, 530–533. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2007.00345.x>



# *Index*

## ***1. Index des figures***

<b>Figure 01</b> : Structure chimique de la méthionine, de l'homocystéine et de la cystéine	<b>03</b>
<b>Figure 02</b> : Formes circulantes d'homocystéine plasmatique	<b>04</b>
<b>Figure 03</b> : Voies métaboliques de l'homocystéine	<b>05</b>
<b>Figure 04</b> : Organisation structurale et anatomique du foie	<b>12</b>
<b>Figure 05</b> : Histologie du foie	<b>14</b>
<b>Figure 06</b> : Les différentes cellules hépatiques	<b>15</b>
<b>Figure 07</b> : Rat des sables, <i>Psammomys obesus</i>	<b>18</b>
<b>Figure 08</b> : La déshydratation du foie	<b>21</b>
<b>Figure 09</b> : L'éclaircissement du foie	<b>22</b>
<b>Figure 10</b> : L'imprégnation du foie à la paraffine	<b>22</b>
<b>Figure 11</b> : La mise en bloc des organes	<b>23</b>
<b>Figure 12</b> : La confection des coupes à l'aide d'un microtome	<b>23</b>
<b>Figure 13</b> : La coloration des coupes	<b>24</b>
<b>Figure 14</b> : Homocystéine plasmatique chez les rats témoins et traités	<b>27</b>
<b>Figure 15</b> : Les transaminases hépatiques (ALT et AST) chez les rats témoins et traités	<b>28</b>
<b>Figure 16</b> : Diamètre et surface nucléaires des hépatocytes des rats témoins et Hhcy	<b>36</b>
<b>Figure 17</b> : Diamètre et surface cellulaires des hépatocytes des rats témoins et Hhcy	<b>37</b>

## ***2. Index des tableaux***

<b>Tableau 01</b> : Classification des hyperhomocystéinémies	<b>07</b>
<b>Tableau 02</b> : Homocystéine plasmatique chez les rats témoins et traités	<b>27</b>
<b>Tableau 03</b> : Les transaminases hépatiques (ALT et AST) chez les rats témoins et traités	<b>28</b>
<b>Tableau 04</b> : Etude de la corrélation entre l'homocystéinémie, ALT et AST	<b>28</b>
<b>Tableau 05</b> : Le diamètre nucléaire des hépatocytes chez les témoins et les Hhcy	<b>36</b>
<b>Tableau 06</b> : Etude morphométrique des paramètres cellulaires des hépatocytes	<b>37</b>

## ***2. Index des planches***

<b>Planche I</b> : Coupes histologiques de foie des <i>Psammomys obesus</i> témoins	<b>31</b>
<b>Planche II</b> : Coupes histologiques de foie des <i>Psammomys obesus</i> expérimentés	<b>32</b>
<b>Planche III</b> : Coupes histologiques de foie des <i>Psammomys obesus</i> expérimentés	<b>33</b>
<b>Planche IV</b> : Coupes histologiques de foie des <i>Psammomys obesus</i> expérimentés	<b>34</b>
<b>Planche V</b> : Coupes histologiques de foie des <i>Psammomys obesus</i> expérimentés	<b>35</b>

# *Annexe*

## Fiches techniques

### 1. Fixateur (Bouin aqueux)

- Solution aqueux de l'acide picrique : **30ml**
- Formole : **10ml**
- Acide acétique : **2ml**

Fixation dur 3 jours, puis laver dans l'eau courante pendant 2 jours.

### 2. Dilution des alcools pour l'hydratation et la déshydratation

L'alcool utilisé est l'éthanol  $C_2H_5OH$

	Alcool absolu	Eau distillée
Alcool 50°	100 ml	107,44 ml
Alcool 70°	100 ml	47,75 ml
Alcool 90°	100 ml	13,25 ml
Alcool 95°	100 ml	6,5 ml

### 3. Préparation de gélatine

- Gélatine **0,2g**
- Eau distillé **50ml**

### 4. Coloration d'Azan modifié

#### 4.1. Préparation des colorants

- **Rouge nucléaire solide :**
  - Rouge nucléaire solide : 0,1g
  - Sulfate d'aluminium : 5g
  - Eau distillée : 100ml

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer. Se conserve plusieurs semaines à 4°

- **Orangé G molybdique :** Préparation à froid
  - Orangé G : **2g.**
  - Eau distillée : **100ml.**
  - Acidephosphomolybdique : **1g.**
- **Bleu d'aniline**
  - Bleu d'aniline: **0,5g.**
  - Eau distillée: **100ml.**

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer et ajouter l'acide acétique 8 ml

La solution mère se conserve indéfiniment

Solution de travail : au moment de travail diluer 1 volume de la solution mère avec 2 volume de l'eau distillée. La solution de travail se conserve plusieurs mois.

## Annexe

### **4.2. Mode opératoire**

- Déparaffinage dans deux bains de cyclohexane
- Hydratation dans les alcools (100°, 90°, 70°)
- Rincer à l'eau distillée.
- Coloration avec rouge nucléaire solide pendant 15 minutes.
- Lavage à l'eau courante.
- Coloration avec l'orange G molybdique pendant 5 minutes.
- Lavage à l'eau courante
- Coloration avec le bleu d'aniline pendant 2 à 5 minutes.
- Lavage à l'eau distillée
- Déshydratation (95°, 96°, 100°).
- Mettre la lame dans le Cyclohexane pendant quelques secondes.
- Montage avec Baum de Canada.
- Observation au microscope photonique.

### **4.3. Résultat :**

Les noyaux sont colorés en rouge, le cytoplasme en orange et les collagènes en bleu

## **5 .Coloration au Rouge Sirius**

### **5.1. Préparation des colorants**

- **Rouge Sirius :** Rouge Sirius: **0,05 g** + Acide picrique à saturation dans l'eau distillée : **50 ml**

### **5.2. Mode opératoire :**

- Déparaffinage dans deux bains de cyclohexane
- Hydratation dans les alcools (100°, 90°, 70°)
- Coloration au Rouge Sirius (filtré avant l'emploi) pendant 15 minutes.
- Rinçage dans un bain d'alcool à 95°, puis dans deux bains d'alcool absolu.
- Mettre la lame dans deux bains de cyclohexane
- Montage lame/lamelle avec le baume de canada.
- Observation au microscope photonique.

### **5.3. Résultats**

Le Rouge sirius colore le collagène en rouge, le cytoplasme et les noyaux en jaune.

Tableau I : Effet de l'Hcy sur la morphométrie de la surface cellulaire et nucléaire des hépatocytes

Annexe

	Surface nucléaire ( $\mu\text{m}^2$ )		Surface cellulaire ( $\mu\text{m}^2$ )	
	Témoins	Traité	Témoins	Traité
1	45,07	36,52	418,29	376,17
2	47,85	27,33	514,29	404,05
3	32,53	27,09	222,61	410,82
4	39,35	29,88	479,25	480,10
5	45,49	26,21	592,53	282,45
6	44,01	38,28	760,85	415,88
7	59,17	28,00	736,46	340,66
8	36,84	31,18	601,08	366,66
9	37,98	41,32	458,05	448,82
10	36,37	26,04	433,00	458,56
11	26,20	39,60	418,49	646,45
12	27,99	36,50	403,09	559,89
13	34,88	25,56	537,78	284,00
14	40,08	43,72	499,41	440,71
15	27,64	27,54	295,59	363,07
16	35,48	20,16	422,39	382,85
17	30,88	47,84	427,00	317,33
18	42,16	40,76	442,74	378,41
19	30,50	34,70	382,53	321,18
20	28,54	31,88	354,15	436,80
21	26,71	41,00	439,15	382,89
22	35,28	50,00	511,88	352,97
23	46,92	54,54	654,18	499,85
24	30,59	50,34	395,33	800,88
25	46,50	67,14	782,58	966,78
26	31,10	32,60	257,25	783,69
27	31,75	44,64	319,61	460,45
28	28,49	55,18	266,06	690,33
29	42,35	38,41	511,17	555,65
30	36,78	47,17	286,34	493,00
31	23,86	51,76	367,71	485,94
32	27,00	54,93	214,28	434,44
33	57,73	39,61	848,78	887,10
34	27,15	31,13	442,61	648,03
35	24,68	37,67	294,06	413,36
36	23,55	30,08	202,11	519,33
37	34,00	42,74	345,65	539,09
38	35,51	45,98	448,52	484,97
39	39,89	45,50	327,10	445,47
40	23,00	48,41	270,57	350,13
41	25,81	61,00	347,08	568,07
42	29,90	56,20	369,88	667,25
43	43,55	48,21	302,17	481,01
44	30,03	40,61	342,94	658,81
45	28,02	63,43	444,37	573,30

Annexe

46	33,05	37,65	397,74	503,66
47	44,40	30,90	480,47	895,18
48	54,64	29,84	725,12	387,97
49	27,90	64,64	440,35	576,10
50	28,22	42,05	540,45	511,17
51	35,00	29,87	372,52	747,41
52	33,06	44,32	278,21	1079,54
53	24,99	43,93	228,10	845,90
54	34,53	41,42	369,43	884,51
55	28,32	42,00	475,84	543,78
56	56,51	49,90	385,16	489,75
57	35,36	46,05	341,30	736,40
58	51,00	35,50	487,56	47,20
59	34,53	44,98	500,19	285,12
60	23,82	61,37	170,70	557,00
61	39,72	38,65	383,15	484,75
62	36,47	28,22	401,04	294,00
63	30,21	38,32	276,90	358,32
64	34,37	25,58	413,88	430,58
65	36,87	25,10	480,58	417,92
66	63,74	23,85	444,62	312,00
67	41,82	14,66	475,36	346,86
68	35,32	38,43	343,06	327,26
69	40,30	23,45	428,48	394,99
70	41,09	24,30	404,11	234,95
71	25,60	26,56	410,58	392,94
72	39,15	28,80	297,11	426,26
73	40,20	40,95	342,22	630,42
74	43,51	45,00	316,84	376,42
75	39,94	42,90	205,59	421,81
76	20,66	41,39	207,82	655,29
77	52,67	30,01	482,98	533,00
78	46,89	35,89	428,33	439,06
79	28,87	29,39	374,15	622,79
80	24,70	44,33	348,43	449,27
81	32,67	26,83	366,69	572,55
82	23,71	28,24	235,28	527,99
83	32,89	41,70	282,71	1064,40
84	44,61	52,92	436,10	462,94
85	27,48	75,75	416,88	557,85
86	27,55	56,03	286,77	932,35
87	23,65	57,78	447,49	471,50
88	42,81	65,20	373,38	1126,39
89	27,42	59,36	412,48	632,40
90	25,82	60,53	325,72	771,68
91	32,73	77,67	260,82	689,84
92	34,82	92,80	362,24	654,00

Annexe

93	32,00	64,44	352,00	775,10
94	31,38	46,45	331,73	433,42
95	45,00	42,60	383,37	359,50
96	29,00	54,63	416,98	464,49
97	32,34	100,31	394,50	745,03
98	23,07	66,77	303,84	871,66
99	30,00	59,95	360,00	594,57
100	36,69	58,10	384,00	564,01
Moyenne	35,22	43,17	401,82	531,69
Ecar-type	8,95195243	15,1079553	125,378995	196,8621923
SEM	0,89970507	1,51840663	12,6010632	19,78539476
Max	63,74	100,31	848,78	1126,39
Min	20,66	14,66	170,70	47,20

Annexe

Tableau II : Effet de l'Hcy sur la morphométrie du diamètre nucléaire des hépatocytes

	Petit axe nucléaire (µm)		Grand axe nucléaire (µm)	
	Témoins	Traité	Témoins	Traité
1	5,69	6,73	8,71	7,14
2	7,49	5,76	7,99	5,81
3	6,14	5,63	6,52	6,02
4	6,24	5,40	6,91	7,21
5	6,72	5,40	6,46	6,36
6	7,00	5,58	7,63	8,79
7	8,42	4,41	8,89	6,83
8	6,53	5,84	6,37	6,09
9	6,85	4,75	6,91	9,70
10	6,32	5,00	6,47	6,00
11	5,76	7,04	5,90	6,47
12	5,70	6,82	5,90	7,24
13	5,77	5,35	6,80	6,18
14	6,85	7,48	7,68	7,63
15	5,62	5,89	5,75	6,21
16	6,31	3,89	7,46	6,91
17	5,65	7,33	6,35	8,03
18	6,94	6,80	7,38	7,41
19	6,19	5,59	5,81	7,55
20	6,00	5,83	7,00	6,36
21	5,51	6,82	5,67	7,81
22	5,73	7,09	6,80	8,32
23	6,84	7,71	7,75	8,80
24	5,45	7,46	5,95	8,07
25	7,51	9,19	8,02	9,65
26	5,58	5,45	6,63	7,14
27	6,28	7,65	6,50	7,95
28	5,66	7,79	6,27	8,79
29	6,96	6,87	7,47	6,89
30	6,30	7,37	6,78	7,46
31	5,08	8,07	5,64	8,23
32	5,42	8,10	5,54	8,25
33	7,95	6,67	8,51	7,69
34	5,41	7,47	5,96	8,12
35	4,94	6,28	6,16	7,33
36	4,70	6,17	6,24	6,66
37	5,53	6,51	7,48	7,75
38	6,46	7,45	6,93	7,53
39	6,89	7,04	7,33	8,08
40	4,89	7,74	5,41	7,74
41	5,37	8,47	6,05	9,19
42	6,05	8,12	6,86	8,98
43	7,54	7,03	8,02	8,59

Annexe

44	5,86	6,17	6,01	8,48
45	5,56	8,37	5,64	9,08
46	6,25	6,57	6,44	7,04
47	7,08	7,00	7,53	12,00
48	8,05	5,92	8,22	6,63
49	5,67	6,19	6,09	11,80
50	5,59	5,99	6,29	9,04
51	5,63	4,91	6,57	7,41
52	6,38	6,60	6,48	8,34
53	5,21	5,08	6,20	8,88
54	6,23	6,66	7,08	8,14
55	5,86	8,03	5,73	9,61
56	7,98	8,19	8,75	8,39
57	5,91	6,15	6,16	9,32
58	7,69	7,01	7,80	8,68
59	6,80	7,23	6,98	7,43
60	4,62	6,40	5,89	11,35
61	6,71	6,48	7,43	7,46
62	6,83	5,83	7,06	6,09
63	6,02	6,90	6,10	7,13
64	6,37	5,15	7,27	5,91
65	6,64	5,30	6,82	5,89
66	8,26	4,41	8,39	6,36
67	6,95	4,09	7,41	4,56
68	6,46	6,89	6,95	7,14
69	6,77	5,22	7,06	5,59
70	7,16	5,71	7,78	5,77
71	5,96	5,86	5,98	5,87
72	6,58	5,59	7,54	6,73
73	7,10	7,38	7,41	7,88
74	7,37	7,20	7,72	7,79
75	6,65	7,09	7,95	8,27
76	5,05	6,45	5,31	8,20
77	7,57	6,49	8,12	6,55
78	7,74	6,51	7,74	7,24
79	5,38	5,81	5,97	6,27
80	4,41	7,29	6,32	8,21
81	5,49	3,87	6,81	7,79
82	4,82	4,50	6,27	7,13
83	5,80	6,36	6,81	7,99
84	7,32	4,66	7,86	10,01
85	5,72	7,27	5,88	11,46
86	5,39	7,99	6,19	8,16
87	5,32	7,68	5,63	10,59
88	7,14	7,89	7,96	9,70
89	5,83	7,73	6,04	9,50
90	4,85	8,46	6,00	8,80

Annexe

91	5,53	9,61	7,73	10,17
92	6,00	9,38	7,28	11,60
93	6,17	8,34	6,25	9,98
94	6,03	4,12	6,57	10,15
95	6,00	4,92	7,50	10,44
96	5,14	8,19	6,00	8,46
97	5,35	10,06	6,78	10,85
98	4,92	9,35	5,87	9,69
99	5,00	8,43	5,80	9,23
100	6,46	7,65	6,75	8,73
Moyenne	6,19	6,66	6,81	8,02
Ecar-type	0,887340431	1,328173942	0,854383179	1,527562051
SEM	0,089181069	0,133486504	0,08586874	0,153525763
Max	8,42	10,06	9,89	12,00
Min	4,41	3,87	5,31	4,56

Annexe

Effet de l'Hcy sur la morphométrie du diamètre cellulaire des hépatocytes

	Petit axe cellulaire (µm)		Grand axe cellulaire (µm)	
	Témoins	Traité	Témoins	Traité
1	18,80	20,00	26,37	22,46
2	20,07	21,23	32,21	24,00
3	14,45	19,29	18,39	24,52
4	20,78	18,99	25,92	32,14
5	24,74	17,66	29,01	24,16
6	25,91	17,51	32,23	25,30
7	28,08	16,71	29,05	22,81
8	21,86	15,76	30,82	25,67
9	26,43	21,67	22,58	24,71
10	20,29	19,77	22,87	32,36
11	18,33	21,47	28,03	30,48
12	16,62	19,77	24,26	35,41
13	34,36	15,33	34,88	21,01
14	19,39	21,70	32,39	23,87
15	14,95	19,18	21,93	23,71
16	17,44	17,55	23,72	25,94
17	18,47	17,36	27,10	22,78
18	18,94	16,57	30,02	28,25
19	17,36	15,97	30,19	29,28
20	14,52	20,25	28,35	24,85
21	18,52	17,21	25,01	25,02
22	19,15	18,89	36,20	23,28
23	21,77	24,83	32,24	26,92
24	19,16	29,29	27,11	31,56
25	21,74	29,16	42,80	40,32
26	15,05	23,76	23,35	45,37
27	17,92	22,51	21,37	27,82
28	16,50	21,39	18,64	34,49
29	17,25	24,16	31,35	28,39
30	11,78	16,34	25,83	33,42
31	16,23	17,91	23,14	38,39
32	12,22	23,83	22,28	25,10
33	25,96	30,79	40,66	38,49
34	16,70	17,71	33,74	42,87
35	12,97	16,52	25,98	32,53
36	9,66	23,26	24,47	29,23
37	14,52	21,56	26,68	27,16
38	19,07	23,61	29,39	28,34
39	21,69	19,24	23,45	26,41
40	13,13	15,45	21,69	22,56
41	20,58	21,49	22,16	32,22
42	17,46	22,65	24,93	33,02
43	18,52	21,66	22,02	33,30

Annexe

44	19,16	22,49	22,14	34,20
45	20,32	23,14	30,00	29,13
46	17,28	23,50	23,62	27,27
47	16,62	22,49	27,09	32,37
48	29,08	15,46	38,97	30,88
49	21,28	22,54	23,49	29,82
50	25,38	23,23	25,54	25,18
51	19,31	27,21	23,77	35,00
52	17,01	27,04	20,33	48,38
53	15,48	17,51	17,09	49,00
54	19,65	26,10	22,93	43,01
55	14,61	16,24	35,86	42,93
56	15,98	20,17	28,93	33,06
57	16,23	17,62	23,42	44,51
58	20,64	17,51	31,46	23,55
59	23,19	13,84	26,24	25,42
60	14,45	22,57	16,87	31,24
61	16,08	18,75	24,08	32,40
62	17,91	17,41	23,04	23,99
63	16,47	18,80	18,50	19,06
64	22,89	18,43	24,56	29,87
65	18,98	17,76	23,97	31,48
66	22,59	17,16	26,64	20,34
67	21,79	15,07	26,49	24,87
68	20,76	18,30	21,69	19,54
69	20,82	21,11	24,73	23,20
70	18,92	14,84	24,14	17,28
71	22,14	20,05	22,51	26,39
72	19,00	19,69	20,17	29,20
73	17,33	20,54	20,13	35,03
74	15,48	26,86	21,49	15,75
75	12,70	22,13	17,24	28,08
76	13,82	23,64	16,52	32,95
77	14,24	21,56	36,02	31,25
78	19,45	21,48	23,72	25,91
79	15,35	25,45	28,85	26,94
80	13,59	23,02	25,42	24,30
81	19,55	22,44	25,43	30,16
82	16,02	29,58	16,77	23,98
83	16,72	32,92	21,74	42,14
84	17,55	25,78	28,16	30,07
85	17,48	21,22	24,76	28,28
86	13,29	22,25	25,04	38,79
87	20,25	10,48	25,32	26,69
88	20,68	30,09	22,10	55,84
89	21,14	30,47	22,28	30,81
90	14,48	26,78	27,26	34,25

Annexe

91	15,58	25,02	23,77	28,76
92	19,29	26,94	21,70	32,90
93	17,79	27,49	24,75	37,12
94	19,33	18,99	22,42	24,85
95	89,00	17,36	22,31	20,61
96	19,92	21,14	21,07	24,93
97	19,30	28,87	21,26	33,13
98	15,33	22,40	22,07	43,76
99	18,11	26,30	21,18	26,63
100	20,55	26,95	27,15	28,91
Moyenne	19,27	21,31	25,49	29,95
Ecar-type	8,04067097	4,30253623	5,11807324	7,22631033
SEM	0,80811784	0,43242116	0,51438572	0,72627151
Max	89,00	32,92	42,80	55,84
Min	9,66	10,48	16,52	15,75