

N° d'ORDRE:07/2014- M/ SB
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
« HOUARI BOUMEDIENE »
FACULTE DE : SCIENCES BIOLOGIQUES



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du Diplôme de **Magister**
En : **SCIENCES BIOLOGIQUES**
Spécialité: **Cyto-histologie fonctionnelle et pathologique**

par : M^{lle} **HOCEINE Nesrine**

Sujet

**STRESS METABOLIQUE ET INFLAMMATION DU PANCRÉAS
AU COURS D'UN DIABETE DE TYPE 2
NUTRI-INDUIT CHEZ *Psammomys obesus***

Soutenu publiquement le 09 / 01 / 2014 à 9^H 30 devant le jury composé de :

M^{me} **.TRIKI-HAMMOUDI.D**
M^{me} **.EL-AOUFI-MAOUCHE.S**
M^{me} **.BARKA-DAHANE.Z**
M^{me} **.KACI NAIMA**

Professeur à l'USTHB
Professeur à l'USTHB
Professeur à l'USTHB
Professeur à l'USTHB

Présidente
Directrice de mémoire
Examinatrice
Examinatrice

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE	1
-----------------------------	---

CHAPITRE 1 : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I - LE SYNDROME METABOLIQUE	3
1 - Généralités	3
2 - Le Syndrome Métabolique	3
3 - La résistance à l'insuline	3
II - DIABETE DE TYPE 2 NUTRI-INDUIT	4
1- L'intolérance au glucose	4
2 - Résistance à l'insuline et obésité abdominale	4
2.1 - Le tissu adipeux viscéral	4
2.2 - Rôle du tissu adipeux viscéral	4
2.3 - Les adipokines	5
2.4 - Les cytokines	5
2.4.1 - La leptine	5
2.4.2 - La résistine	5
2.4.3 - Le retinol binding protein-4	6
2.4.4 - Autres adipokines	6
3 - Réponse inflammatoire et Syndrome métabolique	6
4 - Les voies du stress cellulaire.....	6
5 - Effet du stress sur le Réticulum Endoplasmique	7
6 - Les récepteurs membranaires	7
7 - Cytokines, Acides gras libres, stress intracellulaire et Résistance à l'insuline....	7
III - DESORDRES METABOLIQUES, STRESS ET INFLAMMATION	7
1 - Glycosylation non enzymatique	7
2 - Stress oxydant et inflammation.....	8
3 - Le stress nutritionnel	8
3.1 - Le stress oxydatif	8
3.2 - Effet du Stress sur l'organisme	9
3.3 - Effet du Stress sur la glande surrénale	9
4 - Glycation des protéines	10
4.1- La réaction de Maillard	10
4.2- La Glucotoxicité	10
5 - Données histologiques	11
IV - LE PANCREAS	12
1 - Physiologie du pancréas.....	12
2 - Embryologie du pancréas	12
2.1 - Première transition.....	12
2.2 - Deuxième transition.....	12
3 - Histologie fonctionnelle du pancréas.....	13
3.1 - Le Pancréas exocrine	13
3.2 - Le Pancréas endocrine.....	13
3.2.1 - La fonction du pancréas endocrine	13
3.2.2 - Les îlots de Langerhans	13
3.3 - Les cellules endocrines du pancréas	13
3.3.1 - Les principales cellules, peptides et hormones	13

3.3.2 - Les cellules à glucagon	14
3.3.3 - Les cellules à insuline	15
3.3.3.1 - L'insuline	15
3.3.3.2 - Structure de l'insuline	15
3.3.3.3 - Biosynthèse	15
3.3.3.4 - Sécrétion de l'insuline	15
3.3.4 - Régulation de la sécrétion de l'insuline	16
3.3.4.1 - Le Glucagon.....	16
3.3.4.2 - L'Adrénaline	17
3.3.4.3 - Le Glucose	17
3.3.4.4 - La Somatostatine	17
3.3.4.5 - Le Système Nerveux.....	17
3.3.5 - Les Récepteurs de l'insuline	17
3.3.6 - Mécanisme d'action de l'insuline	18
3.3.7 - Action de l'insuline sur les tissus périphériques	18
3.3.7.1 - Métabolisme glucidique	18
3.3.7.2 - Métabolisme lipidique	19
3.3.7.3 - Métabolisme protéique	19
3.4 - Cellule C pancréatiques.....	19
3.4.1 - Le polypeptide pancréatique	19
3.4.2 - Mode d'action du polypeptide P	19
3.4.3 - Les récepteurs du polypeptide pancréatique	19
4 - La régulation nerveuse du pancréas endocrine.....	20
4.1 - Mécanisme général de la régulation nerveuse.....	20
4.2 - Les cellules à Somatostatine (cellules D)	20
4.2.1 - Description et localisation	20
4.2.2 - Biosynthèse	20
4.2.3 - Régulation	20
4.2.4 - Action de la somatostatine	21
5 - Rythmicité des prises alimentaires	21
5.1 - Caractère discontinu de la prise alimentaire	21
5.2 - Les théories de la régulation.....	21
5.3 - Rôle de l'hypothalamus dans la régulation	21
6 - Principaux facteurs et hormones régulateurs de la prise alimentaire	22
6.1 - La cholécystokinine (CCK)	22
6.2 - L'insuline.....	22
6.3 - Le PYY 3-36	23
6.4 - Les nutriments oxydés.....	23
6.5 - La leptine	23
6.5.1 - Marqueur de variation des stocks énergétiques	23
6.5.2 - Mise en évidence de la leptine	23
6.5.3 - Structure de la leptine	23
6.5.4 - Synthèse et sécrétion de leptine	24
6.5.4.1 - La leptine adipocytaire	24
6.5.4.2 - La leptine gastrique	24
6.5.5 - Les récepteurs de la leptine	24
6.5.6 - Effets de la leptine dans le métabolisme.....	25
6.5.7 - Effets de la leptine sur le foie	25
6.5.8 - Effets de la leptine sur le pancréas	25
6.5.9 - Rôle de la leptine dans la régulation du poids corporel ...	25

6.6 - L'adiponectine	26
6.6.1 - Structure.....	26
6.6.2 - Effets métaboliques de l'adiponectine	27

CHAPITRE II - MATERIELS ET METHODES

I - LE MODÈLE EXPÉRIMENTAL ET SON BIOTOPE	28
1 - Psammomys obesus	28
1.1 – Intérêt du modèle	28
1.2 - Classification phylogénique	29
1.3 – Le modèle expérimental et son biotope	29
1.4 – Le régime naturel de <i>Psammomys obesus</i>	30
1.5 - Adaptation de <i>Psammomys obesus</i> à son écosystème	30
3 - Mise en œuvre expérimentale.....	31
3.1 - Capture des animaux	31
3.2 – Acclimations de l'animal au laboratoire.....	31
3.3 - Constitution des lots	31
3.4 - Régimes alimentaires	32
3.5 - Préparation des cookies	32
II - METHODES HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES.....	34
1. Réalisation des coupes histologiques	34
1.1 - Prélèvement des organes	34
1.2 - Fixation	34
1.3 - Inclusion.....	34
1.3.1 - Déshydratation	34
1.3.2 - Eclaircissement.....	35
1.3.3 - Imprégnation à la paraffine	35
1.3.4 - Confection des blocs.....	35
1.4 - Microtomie	35
1.4.1 - Etalement des coupes.....	35
1.5 – Coloration	35
1.5.1. Déparaffinage, réhydratation et coloration.....	36
1.5.2. Déshydratation et montage	36
1.6 - Etude microscopique	36
2- Réalisation de frottis sanguin colorés.....	36
2.1. Principe	36
2.2. Protocole expérimental	36
III – MÉTHODES UTILISÉES POUR L'ETUDE BIOCHIMIQUE	37
1. Dosage des constituants plasmatiques	37
1.1. Glucose plasmatique	37
1.2 .Triglycérides.....	37
1.3 .Cholestérol total	37
1.4. Insuline	37
IV-ANALYSE STATISTIQUE :.....	38

CHAPITRE III – RESULTATS ET DISCUSSION

I-RESULTATS BIOMETABOLIQUES

1- Évolution des paramètres biochimiques	39
2- Représentations graphiques	39
2.1-Évolution du poids corporel chez les <i>Po</i> témoins	39
2.2-Évolution du poids corporel et de la masse viscérale chez les <i>Po</i> soumis au RHC	40
3- Évolution des paramètres métaboliques	41
3.1. Glycémie.....	44
3.2- Bilan lipidique	41
3.2.1-Triglycérides	41
3.2.2- Cholestérol total	42
3.3- Insulinémie.....	43
DISCUSSION DES RESULTATS BIOMETABOLIQUES	44

II-RESULTATS HISTOLOGIQUE

PLANCHE I : coupes histologiques de <i>Po</i> témoin.....	47
PLANCHE II : coupes histologiques de <i>Po</i> obèse du 3 ^{ème} mois	51
PLANCHE III : coupes histologiques de <i>Po</i> diabétique	53
PLANCHE IV : coupes histologiques de <i>Po</i> diabétique	55
PLANCHE V : coupes histologiques de <i>Po</i> diabétique insulino-dépendant	57
PLANCHE VI : coupes histologiques de <i>Po</i> stade final	59
PLANCHE VII : frottis sanguin des animaux témoins et obèses.....	60
PLANCHE VIII : frottis sanguin des animaux diabétiques.....	63
DISCUSSION DU FROTTIS SANGUIN	63

III-DISCUSSION GENERALE

DISCUSSION GENERALE	66
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	69

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations utilisées dans le manuscrit :

ABCA1	ATP binding cassette transporter A1
ACTH	Adrenocorticotric hormone
Apo-B	Apoproteine B
AG	Acide gras
AGNE/ AGL	Acide gras non estérifié ou libre
AGE	Advanced glycated end
ADP	Adenosine di-phosphate
AMP _c	Adenosine mono-phosphate cyclic
ARN _m	Adénosine ribonucleic
ATP	Adenosine triphosphate
BETA2	Beta-cell E-box transactivator 2.
Ca ⁺⁺	Ion Calcium
CART	Cocaine amphetamine regulated transcript.
CHOP	The transcription factor c/EBP homologous protein
CCL2	Chemokine ligand 2
CRP	C-Reactive Protein
DT2	Diabète de type II,
DND	Diabète non insulino dépendant
FN _{III}	Fibronectine
FGF10	Fibroblast Growth Factor 10
FT	Fiche technique
G	Grossissement
GLP	glucagon like peptide 1 et 2 .
GRPP	glucagon-related polypeptide.
GluT ₂	Glucose transporter 2
GADD34	Protein du stress

HE	Hématoxyline éosine
HTA	Hyper Tension artérielle
IDF	International diabete federation
IMC	Indice de la masse corporelle
INS-1	Lignée des cellules béta pancréatique.
IR	Insulino-résistance
IRS-1	insulin receptor substrate-1
IL ₆	Interleukine 6
IL ₁ - β	Interleukine 1 β (catabolin)
IL ₁	Interleukine 1
IRE-1	inositol-Requiring Enzyme
IKK β	Inhibitor of nuclear factor (Kappa) Kinase subunit β
iNOS	inducible NO synthase
JNK _c	c-jun amino(N)-terminal kinase
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1
MCV	Maladies cardiovasculaires
MGG	Coloration man
NADPH	Nicotinamide adénine Di Nucléotide phosphate réduit
NTR	Neurotransmetteur
NO	Monoxyde d'azote
NOX	NADPH oxydases
TA	Tissu adipeux
TAV	Tissu adipeux viscéral
TAG	Tri-acyl glycérol
TRH	Thyrotropin releasing hormone.
TM	Trichrome de Masson
TNF α	Tumor Necrosis factor

TLR4	Toll-like receptor4
PYY	Peptide YY
PDX-1	Pancreas-duodenum homeobox-1
PAI-1	Plasminogen-activator inhibitor 1
PERK	PKR-like endoplasmique-reticulum kinase
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Receptor
Po	<i>Psammomys obesus</i>
PAS	Periodic acid Schiff
PERK	PKR-like endoplasmic-reticulum kinase
Protéines du stress du RE	CHOP/GADD34/BIP-GRP94
RHC	Régime hypercalorique
RN	Régime naturel
RE	Reticulum endoplasmique
REG	Reticulum Endoplasmic Granular
RI	Résistance à l'insuline.
ROS	Reactive Oxygen Species
SM	Syndrome métabolique
SNARE	Soluble N-éthylmaleimide- sensitive-factor Attachment protein Receptor
SOD	Super Oxyde Dismutase
STT	Somatostatine
TLR ₄	Toll-like receptor
TNF _α	Tumor necrosis alpha
TM	Trichrome de masson
VLDL	Very low density lipoproteins
VIP	Vaso-intestinal peptide
VDCC	Voltage dependant canal

Introduction

Introduction Générale

Le pancréas est l'organe clé qui joue un rôle majeur dans le syndrome métabolique et ses conséquences pathologiques. Son intégrité est essentielle pour le maintien du métabolisme du glucose dans l'ensemble du corps et pour la dégradation efficace des aliments ingérés afin qu'ils puissent être absorbés. En plus de cet effet majeur, le pancréas règle l'adaptation à long terme de la production d'insuline en affectant le turn-over des cellules β . Le glucose, quant à lui, est le régulateur physiologique principal de la sécrétion de l'insuline.

Le diabète est une maladie chronique très répandue et en constante progression dans notre pays. Le dysfonctionnement métabolique et énergétique est du à la vie moderne et au manque d'activité physique. Il relève essentiellement de désordres nutritionnels et participe à une altération permanente du métabolisme des hydrates de carbone. Un tel désordre énergétique est principalement dû à un dysfonctionnement ou à une carence de l'hormone pancréatique : l'insuline.

L'atteinte pancréatique induite par le diabète de type 2 n'affecte heureusement pas tous les aspects de la fonction du pancréas. Cependant le processus inflammatoire initié par l'hyperglycémie chronique et la dyslipidémie sont souvent à l'origine de pathologies diverses très graves. Dans cette variété de maladies du pancréas, un rôle essentiel est joué par le tissu adipeux qui est souvent à l'origine d'inflammations chroniques. Ce tissu a été longtemps considéré comme relativement inerte dédié à la protection mécanique, à l'isolement thermique, au stockage des lipides sous forme de triglycérides et à la libération de substrats énergétique sous forme d'acides gras non estérifiés, ou acides gras libres. Il a été montré récemment que l'activité sécrétoire des adipocytes est très riche et l'on a noté l'apparition d'une accumulation de cellules immunitaires (macrophages et lymphocytes) au sein du tissu adipeux des sujets obèses, les facteurs associés à l'expansion de la masse grasse et aux perturbations de la biologie interne sont susceptibles d'initier, maintenir ou aggraver la lésion d'un organe aussi vital que le Pancréas.

Notons qu'elle-même l'inflammation n'est pas une maladie, mais une manifestation de la maladie. Nous nous proposons dans ce travail d'examiner au niveau bio métabolique, histologique et histochimique l'initiation et l'évolution du processus inflammatoire dans le pancréas d'un rongeur déserticole *Psammomys obesus* rendu diabétique par un régime alimentaire approprié.

L'objectif de ce travail est de

- Présenter dans la première partie le stress métabolique et ses principales conséquences pathologiques comme le diabète de type 2 et l'obésité et ses effets inflammatoires sur le pancréas.
- Au contexte bio-métabolique : Induire un diabète de type 2 chez *Psammomys obesus* par un régime riche en Carbohydrates et définir de façon précise le statut métabolique de l'animal au fur et à mesure de l'expérimentation, par analyse des paramètres plasmatiques (glucose sanguin, cholestérol et triglycérides sanguins, et insulïnémie).

L'examen histologique mettra en évidence :

- L'histologie du tissu pancréatique sain (témoin) en comparaison avec le tissu pathologique au fur et à mesure de l'évolution de l'obésité et du diabète.
- la présence de cellules apoptotiques et nécrotiques, et de la fibrose tissulaire chez les animaux diabétiques.
- Variations des frottis sanguins et par conséquent déterminer le niveau du stade inflammatoire atteint au cours de la manifestation et de l'évolution de la maladie.

Enfin nous discuterons nos résultats à ceux trouvés déjà dans le monde chez ce rongeur déserticole et chez l'Homme.

Chapitre I:

Rappels

Bibliographiques

I - LE SYNDROME METABOLIQUE

1- Généralités

Le syndrome métabolique (SM) avait été présenté par Kylin dès 1923 Ce concept a été réactivé par Jean Vague qui eut le mérite de lier ce syndrome avec, d'une part, l'obésité dite androïde, d'autre part, l'athérosclérose [Luycky and Scheen, 2004] En 1988 Reaven propose d'individualiser en un syndrome, dit «syndrome x», l'association de troubles de la tolérance au glucose, d'hypertension artérielle, d'hypertriglycédémie, d'obésité, et d'insulinorésistance [Grimaldi, 2005].

2- Syndrome Métabolique

L'International Diabetes Foundation [Alberti et al., 2005] définit la notion de SM autour des anomalies du métabolisme des lipides et des hydrates de carbone, d'une élévation de la tension artérielle et d'une obésité viscérale de localisation abdominale. Ces paramètres ne rendent cependant pas totalement compte des mécanismes conduisant au développement du SM à tel point que la physiopathologie du SM reste encore aujourd'hui partiellement comprise. Au centre de la théorie unificatrice du SM le processus physiopathologique le plus communément admis est celui de la résistance à l'insuline (RI) bien qu'elle ne soit pas nécessairement seule à être en cause ni surtout qu'elle initie le processus. D'autres éléments comme l'obésité viscérale et un état inflammatoire chronique semblent en effet pouvoir jouer un rôle plus précoce. [Garcia et al., 2010].

3- La résistance à l'insuline

Elle se définit comme une limitation de l'action physiologique de l'insuline sur ses populations cellulaires cibles du fait d'altérations de sa voie de signalisation et s'accompagne d'une hyperinsulinémie compensatrice. Les conséquences de la RI proviennent donc autant de la Résistance périphérique à l'insuline elle-même que de l'hyperinsulinémie chronique, et ces conséquences varient selon les différents tissus.

L'hyperglycémie qui accompagne la RI résulte d'une diminution du transport du glucose vers les tissus périphériques comme le muscle et le tissu adipeux (TA), de la diminution de son stockage au niveau hépatique, d'altération de la glycogénolyse et d'une néoglucogenèse hépatique [Bonadonna, 1993 ; Gastaldelli, 2000 ; Virtanen, 2005]. La RI s'accompagne d'une diminution de la lipogenèse habituellement observée en situation d'hyperglycémie, d'une levée de l'inhibition de la lipolyse dans le TA, et d'une réduction du transfert des acides gras non estérifiés (AGNE) des lipoprotéines circulantes vers le TA. Les conséquences sont une augmentation des AGNE et une stabilisation de apoB qui entraînent une augmentation des VLDL riches en triglycérides avec diminution relative de la concentration en HDL-cholestérol et augmentation de celle en LDL-cholestérol athérogène, une altération des fonctions endothéliales et l'accumulation de graisse dans des localisations ectopiques (cœur, muscle, foie, pancréas) [Steinberg and Baron, 2002 ; Taskinen, 2005 ; Semenkovich, 2006]. Au travers de mécanismes impliquant l'augmentation de l'activité du système nerveux sympathique, la perturbation du métabolisme hydrosodé et la limitation de la vasodilatation périphérique liée au NO, la RI et l'hyperinsulinisme contribuent également à l'élévation de la tension artérielle [Reaven, 2005 ; Cooper, 2007] Enfin la RI est associée à l'obésité viscérale [Gastaldelli et al., 2005].

II - DIABETE DE TYPE 2 NUTRI-INDUIT

1- L'intolérance au glucose

Le diabète sucré de type 2 est une maladie résultante de la déficience progressive de l'insulino sécrétion pancréatique associée à l'insulinorésistance périphérique .l'intolérance au glucose, le taux élevé des AGL, et l'obésité sont des facteurs concordent à l'apparition du DII [Holman ,1998] , ces désordres nutritionnels vont affectés la masse fonctionnelle des cellules β .

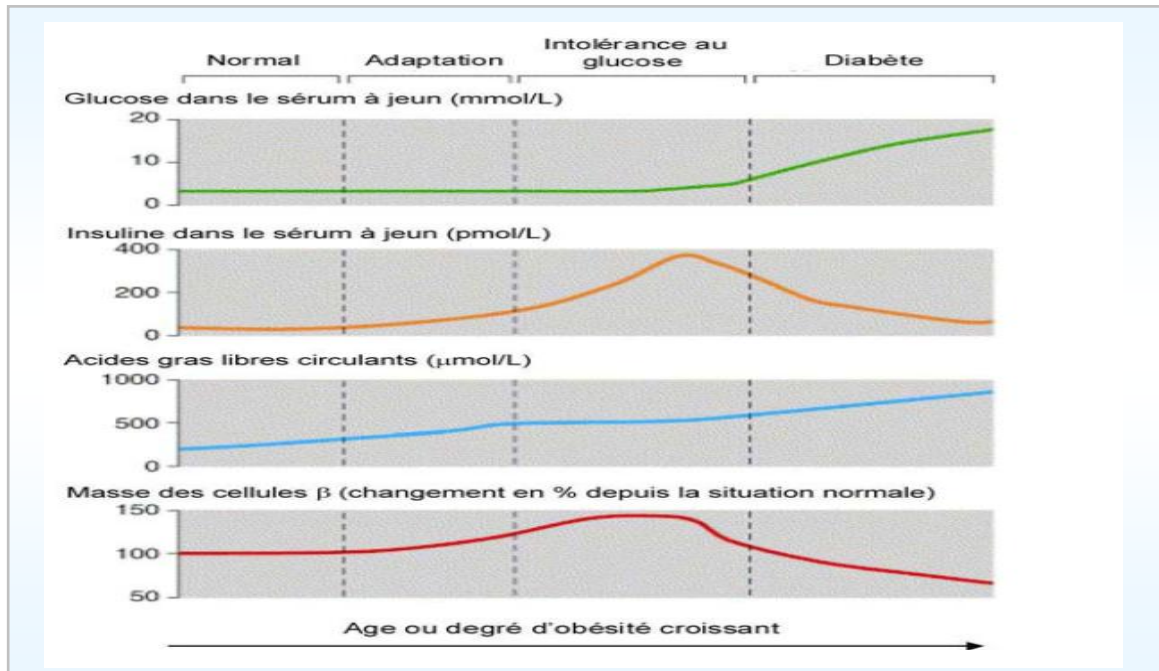


Figure 1 : Evolution du diabète de type 2 [Lingohr et al., 2002]

L'axe d'abscisse est représenté sans unité, l'échelle de temps ou le degré d'obésité sur lesquelles se déroulent ces phénomènes étant variables.

2- Résistance à l'insuline et obésité abdominale

2.1- Le tissu adipeux viscéral

Plus que l'obésité mesurée par le l'index de masse corporelle (IMC), c'est la localisation intra-abdominale et viscérale du TA, mesurée par le tour de taille, qui permet le mieux d'identifier chez un individu les caractéristiques du SM [Despres and Lemieux, 2006].

L'implication du tissu adipeux viscéral (TAV) dans la régulation de la balance glucidique et plus généralement dans la physiopathologie du SM, emprunte schématiquement au moins deux voies :

- une altération du métabolisme des acides gras non estérifiés (AGNE)
- la production d'adipokines.

2.2- Rôle du tissu adipeux viscéral

Le TA est spécialisé dans le stockage et la mobilisation des lipides mais son métabolisme diffère selon qu'il est de localisation sous cutanée ou viscérale. À l'opposé du TA sous-cutané, les adipocytes contenus au sein de la graisse viscérale, notamment intra-abdominale, sont drainés directement dans le système porte. Moins sensibles à l'action anti-lipolytique de l'insuline ils sont, en cas d'obésité viscérale, le siège d'une lipolyse accrue

[Montague and O'Rahilly, 2000]. Les catécholamines libérées par l'activation des nombreuses fibres sympathiques qui innervent le tissu adipeux favorisent cette lipolyse [Bartness and Song, 2007]. L'élévation du flux portal d'AGNE qui en résulte entraîne une élévation de la production hépatique de glucose et une réduction de son dépôt musculaire et adipocytaire ainsi que des altérations athérogènes du métabolisme des lipides et des lipoprotéines telles que la diminution de la dégradation de l'apolipoprotéine B et l'élévation de la production des lipoprotéines riches en triglycérides [Bonadonna, 1993].

2.3 - Les adipokines

En dehors de sa fonction de stockage le TAV produit de nombreuses adipokines. Ces molécules jouent un rôle d'interface entre l'obésité et les événements moléculaires qui conduisent à la RI, à l'inflammation, à la dyslipidémie, à l'hypercoagulabilité et aux anomalies endothéliales associées à l'athérosclérose et au SM en général [Matsuzawa, 2006 ; Van Gaal, 2006]. L'interaction entre adipocytes et macrophages influence fortement la production des adipokines et les macrophages sont une source complémentaire de médiateurs solubles qui contribue à perpétuer l'inflammation locale et systémique [Tilg and Moschen, 2006].

2.4 - Les cytokines

2.4.1 - La leptine

Le TA de l'obèse produit des cytokines pro-inflammatoires : le TNF α , l'IL-1 β et l'IL-6 [Hotamisligil et al., 1995 ; Shoelson et al., 2006]. Le TNF α stimule la lipolyse, favorisant la RI, l'hyperinsulinémie et l'élévation de la pression systolique [Porter et al., 2002]. Il module également la production d'autres adipokines. Il augmente ainsi la production d'IL-6, de leptine, de résistine et diminue celle de l'adiponectine [Hutley and Prins, 2005]. La leptine qui est le produit du gène obèse (*ob*), muté dans la forme héréditaire murine d'obésité, a des fonctions pléiotropes. Elle agit sur la régulation centrale de la balance énergétique, diminuant la prise alimentaire et augmentant la consommation énergétique [Kadowaki, 2006]. Elle module la fonction du système immunitaire inné et acquis. Elle agit comme une cytokine pro-inflammatoire favorisant la prolifération lymphocytaire T et la production de cytokines de type TH1. Elle a également un impact vasculaire, favorisant l'athérosclérose, l'angiogenèse et le stress oxydatif. On constate son élévation dans de nombreuses pathologies inflammatoires et elle contribue potentiellement au développement de l'inflammation de bas grade et aux anomalies vasculaires qui accompagnent le SM. À l'opposé l'adiponectine a une action antidiabétique, antiathérogène et pourrait limiter le développement du SM. Elle sensibilise l'organisme à l'insuline, régule l'homéostasie glucidique et lipidique et exerce une action anti-inflammatoire et immunosuppressive sur le système immunitaire. Elle réduit notamment la prolifération des lymphocytes B et T, la production de TNF α et d'IL-6 et induit la production de molécules anti-inflammatoires comme l'IL-10 et l'IL-1RA. Chez les obèses on constate des taux sanguins d'adiponectine très diminués [Steppan and Lazar, 2002; Tsatsanis et al., 2006].

2.4.2 - La résistine

La résistine a chez l'Homme, une action pro-inflammatoire. Elle se manifeste notamment par l'augmentation de l'expression de molécules d'adhésion endothéliale (ICAM-

1), et de la production de cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF α) [Bokarewa et al., 2005 ; Yang et al., 2006].

2.4.3 - Le retinol binding protein-4 (RBP₄)

Le RBP₄(*retinol binding protein-4*) dont le taux sérique est augmenté chez les individus obèses et dans le DT2, induit au travers de différents mécanismes une RI dans les cellules musculaires et hépatiques [Yang et al., 2005].

2.4.4 - Autres adipokines

D'autres adipokines comme la visfatine, l'omentine, l'apeline ou la vaspine, sont potentiellement impliquées dans la physiopathologie du SM, mais leur rôle est moins clairement établi. Le PAI-1 (*Plasminogen-activator inhibitor 1*) est une protéine régulatrice de la cascade de la coagulation, notamment produite par le tissu adipeux [Shimomura et al., 1996]. Sa production augmentée chez l'obèse favorise l'état d'hypercoagulabilité, prédisposant à l'athérosclérose et augmentant le risque cardio-vasculaire.

3 - Réponse inflammatoire et syndrome métabolique

L'inflammation est un élément associé à l'obésité, à la RI et au Diabète de type 2. Les patients qui combinent le plus grand nombre de caractéristiques du SM sont ceux qui ont les taux sériques les plus élevés de protéines de la phase aiguë de l'inflammation (CRP), l'acide sialique, protéine amyloïde A sérique, orosomucoïde et cortisol. La production hépatique de ces molécules est notamment induite par l'IL-6 dont le taux sérique est également corrélé aux différents critères du SM [Pickup, 1997 ; Hotamisligil, 2006]. L'intrication entre réponse inflammatoire et métabolique trouve potentiellement son origine dans le fait que famine et infections ont été les deux principales forces de sélection dans l'évolution des espèces. L'intérêt d'une réponse coordonnée permettant de mobiliser l'énergie en faveur de l'une ou l'autre des situations a pu conduire au développement de processus intriqués reposant sur des voies de signalisation et des processus communs ou se chevauchant [Shi et al., 2006]. Une preuve directe de ce chevauchement a récemment été apportée par la démonstration que des AG alimentaires activent le récepteur de type Toll TLR4 à la surface des adipocytes et des macrophages, favorisant un état de RI [Ozcan et al., 2004].

4 - Les voies du stress cellulaire

L'accumulation d'AGNE dans les adipocytes viscéraux pourrait initier le processus inflammatoire en induisant un état de stress cellulaire. L'obésité induit un stress du réticulum endoplasmique (RE) dans le tissu hépatique adipeux et dans les macrophages qui l'infiltrent [Furukawa et al., 2004]. En réponse à ce stress un mécanisme de défense s'appuyant sur les molécules IRE-1(*inositol-Requiring Enzyme*) et PERK (*PKR-like endoplasmic-reticulum kinase*) est mis en jeu qui va activer les voies de signalisation de l'inflammation IKK β /NF- κ B et JNK. Ces voies sont également activées par un second mécanisme de stress cellulaire qui repose sur la production de radicaux libres suite à l'activation de la NADPH oxydase par l'accumulation lipidique [Abderrahmani et al., 2002]. Une action similaire pourrait enfin résulter de l'accumulation intracellulaire de métabolites des AGNE tels que le diacylglycerol,

ou les céramides [Summers, 2006]. L'activation de ces voies accroît la production par le TA d'adipokines pro-inflammatoires.

5 - Effet du stress sur le Réticulum Endoplasmique

La protéotoxicité cellulaire appelé aussi le stress du RE est la réponse de la cellule vis-à-vis le stress par différents mécanismes protectives. L'Activation de la réponse du stress du RE durant le Diabète a été montré par plusieurs études [Marchetti et al., 2007] et l'incubation des cellules bêta dans un milieu hyperglycémique expose la synthèse accrue des protéines chaperonnes caractéristiques de la réponse de stress du RE (comme Bip et Grp94) et l'hyperglycémie chronique induit l'activation de deux autres protéines impliqués dans la réponse du stress du RE : CHOP and GADD34 ,ces derniers promouvaient l'apoptose dans les cellules β [Elouil et al., 2007] le stress du RE est donc l'un des causes de l'apoptose des cellules bêta au cours du D [Ma and Hendershot, 2003].

6 - Les récepteurs membranaires

Il existe parallèlement une augmentation de l'expression de facteurs de transcription, de récepteurs membranaires, de molécules d'adhérence, de chimiokines (CCL2/MCP-1...) et d'autres médiateurs (PAI-1, angiotensinogène...) impliqués dans la physiopathologie du SM. Sous l'action de CCL2/MCP-1, de nouveaux monocytes sont recrutés au sein du TA où ils sécrètent des cytokines et des chimiokines similaires à celles produites par les adipocytes ainsi que d'autres molécules qui amplifient le développement de l'inflammation. La fixation des AGNE sur le récepteur TLR4 contribue également à l'activation des voies de l'inflammation [Oyadomari, 2003].

7 - Cytokines, AGNE, stress intracellulaire et Résistance à l'insuline

L'inflammation liée à l'exposition à des cytokines, comme le TNF α , aux AGNE ou à des phénomènes de stress intracellulaire est une des sources du phénomène de RI observée dans le SM. L'activation de JNK entraîne la phosphorylation de la molécule IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*) sur des radicaux sérine ce qui inhibe la voie de signalisation de l'insuline [Shi et al., 2006]. Le rôle des macrophages recrutés au sein du TA semble essentiel dans ce processus. En effet, dans des modèles murins, l'inhibition ou l'amplification des processus chimiotactiques qui conduisent à ce recrutement respectivement améliore ou réduit la sensibilité à l'insuline sans qu'il y ait de réduction du poids corporel [Hirosumi et al., 2002]. Il est important de noter que la RI peut également par elle-même promouvoir l'inflammation du fait de l'action potentiellement anti-inflammatoire de l'insuline [Dandona et al., 2002].L'inflammation qui est également intimement liée à la pathogénie de l'athérosclérose [Hansson et al., 2006] paraît donc à l'interface entre l'obésité, le SM et ses conséquences à savoir le DT2 et les pathologies cardiovasculaires.

III –DESORDRE METABOLIQUE, STRESS ET INFLAMMATION

1 - Glycosylation non enzymatique

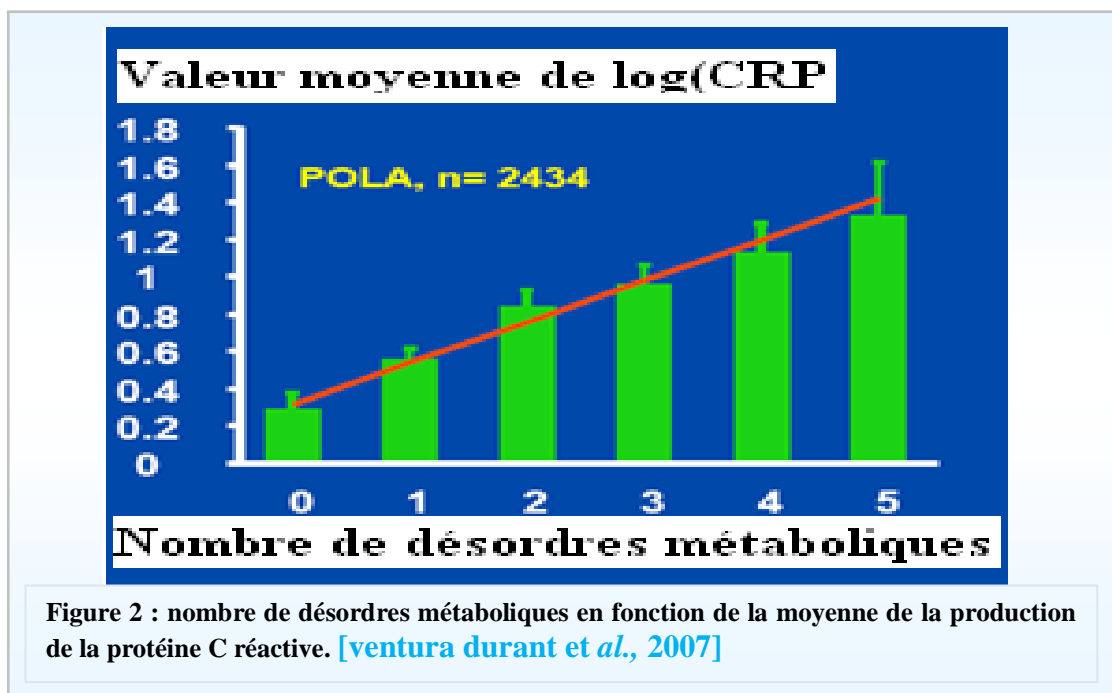
Les travaux très récents de [Huang et al., 2010] ont montré qu'une glycosylation particulière (non enzymatique) intervient dans la pathogénie des complications du SM, du diabète et également du vieillissement. Sa participation aux mécanismes de l'amylose de la P2M reste à établir [Miyata et al., 1993] La production d'oxydants est multifactorielle. Le

Système NADPH Oxydase/NOX joue un rôle déterminant dans la surproduction. Le stress Oxydant a des actions toxiques, informatives et un rôle de sensor. Les fonctions d'amplification jouent un rôle clé dans l'athérogénèse (> rôle toxique)

- Le système NADPH Oxydase / NOX est impliqué dans le syndrome métabolique.

2 - Stress oxydant et inflammation

Diverses études ont montré une corrélation directe entre le stress oxydant et l'inflammation. **La Figure 2** montre le nombre de désordres métaboliques en fonction de la moyenne de Log (CRP) pour 2434 patients [Ventura Durant et al., 2007].cette étude montre une très forte corrélation entre la production de la protéine C réactive qui est un indicateur de l'intensité de l'inflammation et le nombre de désordres métabolique induits par l'inflammation.



3 - Le stress nutritionnel

3.1 - Le stress oxydatif

Le stress du «combat pour la nourriture dans un environnement naturel hostile» de nos ancêtres s'est souvent généralisé et multiplié. L'impact de ce facteur « stress » est difficile à évaluer avec précision car d'une part, il est difficilement paramétrable et mesurable, et d'autre part, il est éminemment variable et dépendant de la sensibilité de chaque individu.

L'ensemble des facteurs nutritionnels, environnementaux ou comportementaux, est perçu et intégré par le système nerveux central qui met en œuvre des processus de régulation complexes afin de maintenir l'individu en vie dans les meilleures conditions possibles.

Toutes les réactions métaboliques produisent des ROS comme (O₂. OH- ROO- NO...) ,des enzymes anti-oxydants (SOD, glutathione) leurs maintiennent à bas niveau car

une surexpression des ROS pourrait endommager les constituants cellulaires (lipides protéines, ADN [Vincent et al., 2004].

Néanmoins, l'hyperglycémie chronique est directement liée par la génération accrue des ROS par différentes voies [Pop-Busui et al., 2006]:

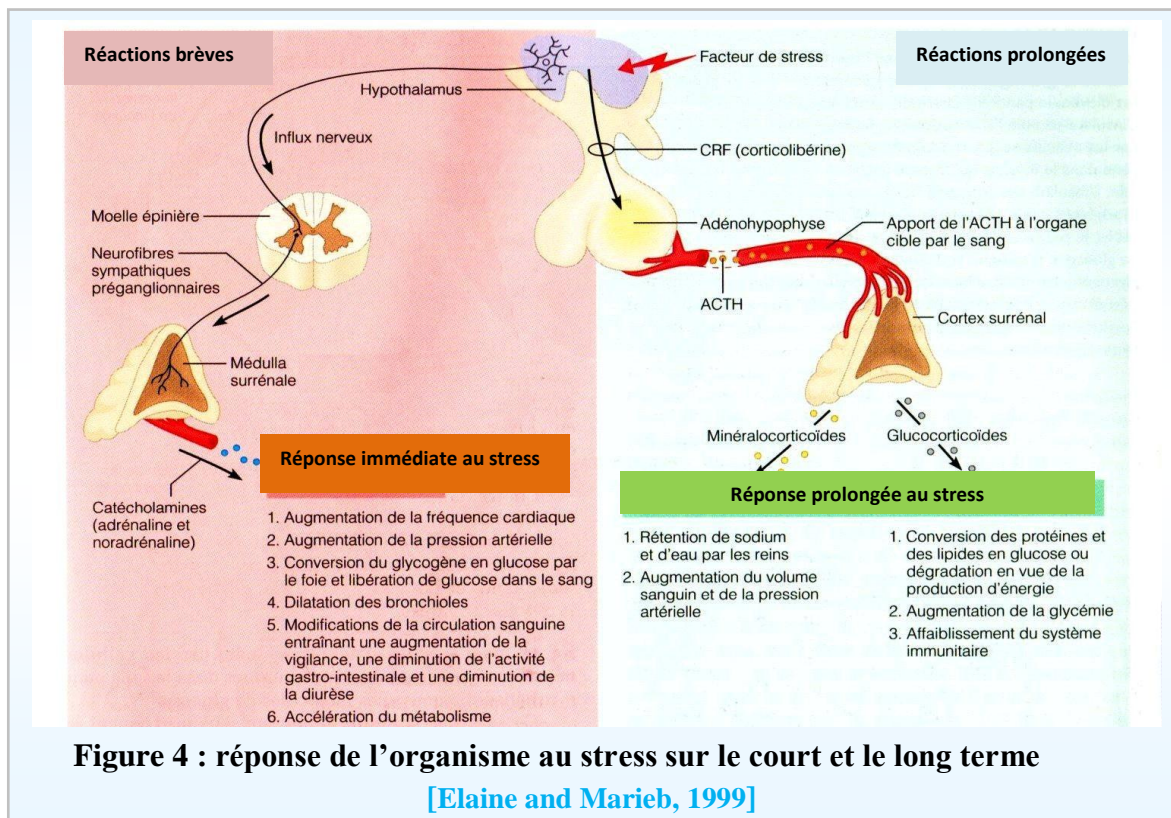
- Déséquilibre de la balance redox
- activation des protéines kinase C
- Multiplication des produits avancés de glycation (AGEs)
- Surproduction des superoxydes par la mitochondrie

Des études sur des modèles animaux ont montré que le stress oxydatif a des effets persistants sur les pathologies consécutives du diabète (rétinopathies, neuropathies) ; mêmes après la normalisation des concentrations du glucose. Le pancréas est l'un des plus sensibles organes au stress oxydatif du fait qu'il exprime très peu d'enzymes antioxydants [Robertson et al., 2003]. Le stress oxydatif semble donc, être la clé déclenchant les complications du diabète.

3.2 - Effet du Stress sur l'organisme

Les facteurs de stress amènent l'hypothalamus à activer la médulla surrénale par l'intermédiaire d'influx nerveux sympathique et le cortex surrénal par l'intermédiaire de signaux hormonaux.

3.3 - Effet du Stress sur la glande surrénale



- **Réponse immédiate au stress** : la médulla surrénale produit des réactions brèves au stress en sécrétant des catécholamines (adrénaline et noradrénaline)

- **Réponse prolongée** : le cortex surrénal provoque des réactions prolongées en sécrétant des hormones stéroïdes (les glucocorticoïdes).

Ces glucocorticoïdes qui dans les conditions physiologiques, influent sur le métabolisme de la plus part des cellules de l'organisme et contribuent à leur résistance aux facteurs de stress [Elaine and Marieb, 1999]. Ils permettent de s'adapter à l'intermittence de l'apport alimentaire en stabilisant la glycémie et en maintenant l'équilibre du volume sanguin.

Tout stress important qu'il soit causé par un traumatisme endogène ou exogène ou même émotionnel, provoque une augmentation spectaculaire de la sécrétion des glucocorticoïdes (cortisol et cortisone), ces derniers modifieront l'activité des gènes et l'activation du système autonome noradrénergique et du système hypothalamo-hypophysaire surrénalien en réponse au stress, mis en jeu l'induction de c-fos au niveau du noyau paraventriculaire hypothalamique, notant que ce dernier (le c-fos) est l'un des principaux proto-oncogènes identifiés, des gènes transcrits pour produire des facteurs intervenant dans la transduction des signaux cellulaires et il assure le lien entre le signal et la régulation de l'expression du génome en réponse du stress [Ma and Morilak, 2004].

De plus ; l'activation de l'hypothalamus entraîne la libération par l'hypophyse d'ADH, de prolactine, de TSH, d'hormone de croissance, de bêta endorphines et une diminution de la sécrétion des hormones gonadotropes [Slominski et al., 2000].

Ces différents médiateurs ont la capacité d'influencer les réactions immunitaires ou inflammatoires car d'importantes interconnexions existent entre la réaction endocrinienne et le système immunitaire, en particulier les cytokines (IL-1, IL-2, IL-6, TNF α).

4 - Glycation des protéines

4.1 - La réaction de Maillard

Une conséquence importante de l'exposition prolongée à l'hyperglycémie (chronique) est la glycation des protéines. Le mécanisme de glycation est basé sur la réaction de Maillard : réaction non-enzymatique à processus sélectif entre les hydrates de carbone réduit et le groupe alpha amine d'une Lysine ou du groupement guanidine de l'Arginine. Des bases de Schiff se forment ainsi et se transforment en produit d'Amadori [Takeuchi and Yamagishi, 2009]. Au fil du temps il se forme lentement et de façon irréversible des produits terminaux de glycation (AGEs) et c'est ainsi que la structure et la fonction des protéines glyquées changent.

Une propriété critique des AGEs est leur capacité à activer la transduction des récepteurs de la famille des immunoglobulines [Ramasamy et al, 2008] et interagissent avec les récepteurs de l'inflammation.

4.2 - La Glucotoxicité

Les concentrations supra physiologiques chroniques du glucose sanguin créent un déficit dans l'homéostasie glucidique, ce qui affecte un grand nombre d'organes et tissus : (yeux, foie, muscle, TA, rein...). En effet l'utilisation accrue du glucose par ces cellules avec autres facteurs provoquent leurs glucotoxicité, cette dernière est considérée par plusieurs chercheurs comme étant la principale cause et l'une des premières complications du diabète [Reusch, 2003], de plus la glucotoxicité augmente la vitesse d'installation des stades avancés

du diabète en affectant la capacité sécrétoire des cellules béta pancréatiques ; ce cercle vicieux mène à la fin à l'incapacité totale des cellules béta pour sécréter l'insuline [LeRoith, 2002].

5 - Données histologiques

Diverses données histologiques ont apporté de sérieux arguments pour une formation intra-cytoplasmique et plus encore intra-lysosomiale des fibrilles amyloïdes AA [Shirahama and Cohen, 1975]. Les rats en état de stress par immobilisation de 60 mn par jour pendant 10 jours montrent des altérations de leur état avec tachycardie, hypothermie transitoire et élévation importante du taux de corticostérone [Chen and Herbert, 1995].

Une localisation quasi similaire avec mise en évidence de l'activation du système autonome noradrénergique et du système hypothalamo-hypophysaire surrénalien en réponse au stress par l'induction de c-fos au niveau du noyau paraventriculaire hypothalamique et du locus coeruleus, a été objectivé chez les rats Sprague-Dawley [Ma and Morilak, 2004].

Chez le rat, un stress par immobilisation dans des tubes de plexiglas mène à l'augmentation du CRH, de l'ACTH, de la corticostérone par activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien visualisée par une élévation de l'expression de l'ARNm du c-fos dans le cortex, l'hippocampe, l'hypothalamus, le septum, l'amygdale et le tronc cérébral [Melia et al., 1994]. Un travail similaire sur le stress par immobilisation retrouve au bout de 10 jours une diminution des réponses de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et des neurones cathérolaminergiques du locus coeruleus [Lachuer et al., 1994].

Le stress est par conséquent l'une des causes de l'amylose observée dans le système nerveux central.

IV- LE PANCREAS

1 - Physiologie du pancréas

Le pancréas est une glande annexe du tube digestif. Son rôle est de maintenir l'homéostasie glucidique. C'est donc l'un des organes clés du métabolisme.

On lui distingue une tête, un corps et une queue. D'aspect lobulé, il possède deux canaux excréteurs : le principal est le canal de Wirsung qui s'abouche avec le cholédoque soit directement, soit par l'intermédiaire de l'ampoule de Vater, dans le duodénum, libérant dans la lumière intestinale ou dans la circulation sanguine ses productions enzymatiques et hormonales. Il joue un rôle central dans la digestion des aliments, puis dans la transformation et le stockage des nutriments issus de la digestion, et enfin dans l'utilisation de ces nutriments. Son action se fait selon les voies exocrine et endocrine [Elaine and Marieb, 1999].

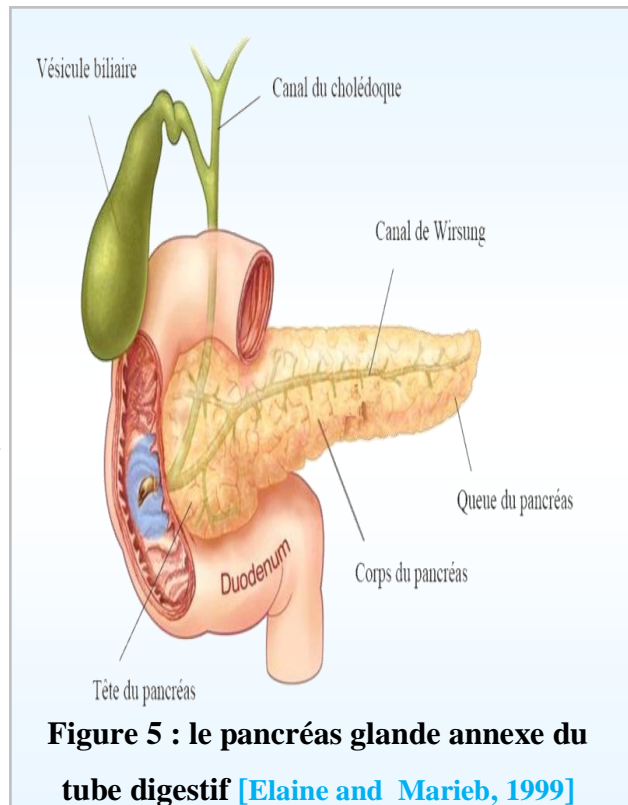


Figure 5 : le pancréas glande annexe du tube digestif [Elaine and Marieb, 1999]

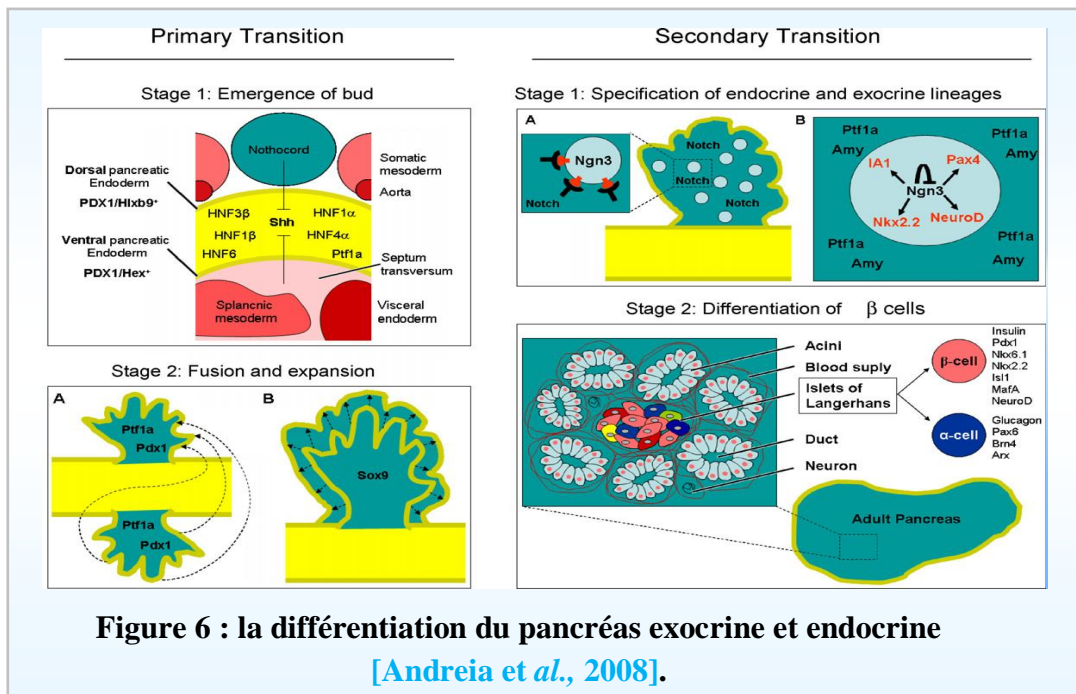
2 - Embryologie du pancréas

2.1 - Première transition

Chez les muridés, l'ontogenèse du pancréas est caractérisée par deux transitions. La première transition (E9.5 chez la souris): évagination dorsale et ventrale de l'endoderme du «foregut». Un pool de progéniteurs (cellules multipotentes) sous l'influence de FGF10 sécrété par le mésenchyme en porteur [Bhushan et al., 2001 ; Hart et al., 2003], conduit à la formation d'un réseau épithélial branchique du pancréas.

2.2 - Deuxième transition

La deuxième transition (E13 chez la souris):est la transition majeure [Pictet et al., 1972] fusion des deux lobes du pancréas .Les cellules se différencient en tissu exocrine et endocrine (cellules endocrines : cellules β , α , δ , PP, et à ghréline). Les cellules endocrines délaminées et se rassemblent pour former l'organe endocrine. Celles-ci continuent à se différencier mais ne deviennent complètement fonctionnelles que proche après la naissance.



3 - Histologie fonctionnelle du pancréas

3.1 - Le Pancréas exocrine

Le rôle principal du pancréas exocrine est d'assurer la digestion des aliments grâce aux sécrétions abondantes de suc pancréatique produit par des tubulo-acini et excrété au niveau du duodénum proximal. Le suc pancréatique contient des enzymes (sécrétions acineuses), de l'eau et des bicarbonates (sécrétions tubulaires) [Catala et al., 2007]

3.2 - Le Pancréas endocrine

3.2.1 - La fonction du pancréas endocrine

La fonction endocrine du pancréas est assurée principalement par les cellules β des îlots de Langerhans dispersés au sein du parenchyme pancréatique exocrine. Le pancréas endocrine permet le stockage et la transformation des nutriments absorbés en vue d'une utilisation ultérieure comme source d'énergie. Cette action complexe permet de maintenir une glycémie plus ou moins constante, même en période de jeûne.

3.2.2 - Les îlots de Langerhans

Du point de vue microscopique leurs nombres se situent entre 10^2 à 10^6 îlots, soit 1 à 2 % du volume total pancréatique. Les îlots sont nettement plus nombreux dans la queue que dans le corps ou la tête du pancréas. Chaque îlot se compose d'un amas de cellules épithéliales. L'ensemble des îlots représente plus de 90% du pancréas endocrine. Les autres cellules endocrines sont isolées et éparpillées dans le parenchyme exocrine. L'îlot comporte des capillaires, des fibres nerveuses et des cellules non endocrines peu caractérisées.

3.3 - Les cellules endocrines du pancréas

3.3.1 - Les principales cellules, peptides et hormones

Ce sont des cellules disposées en amas au sein du parenchyme exocrine. Selon le caractère cytologique de chaque type on distingue quatre principales cellules : [Cellules: A (ou α) à Glucagon ; B (ou β) à insuline ; PP à polypeptide P et D à somatostatine].

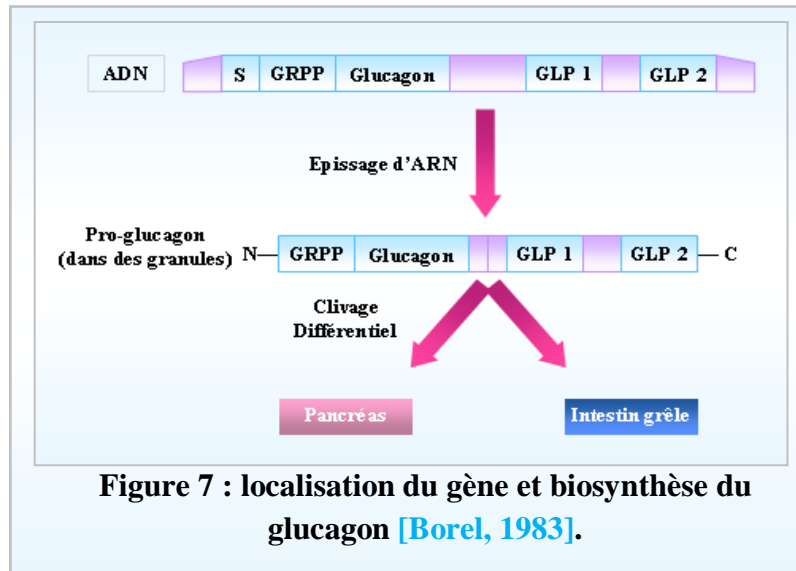
En outre, selon l'espèce de l'animal et l'état du développement du pancréas ; il est possible de retrouver d'autres peptides et hormones dans le tissu pancréatique; il s'agit de : (CART, CCK,

Ghreline, IAPP, PYY et TRH [De Vroede et al., 1992 ; Böttcher et al., 1993 ; Shimizu et al., 1998 ; Jensen et al., 1999 ; Prado et al., 2004 ; Wierup et al., 2004 ; Heller et al., 2005]. Ces cellules endocrines ont des fonctions adaptées au contrôle de la digestion et au contrôle des phénomènes métaboliques qui font suite à la digestion.

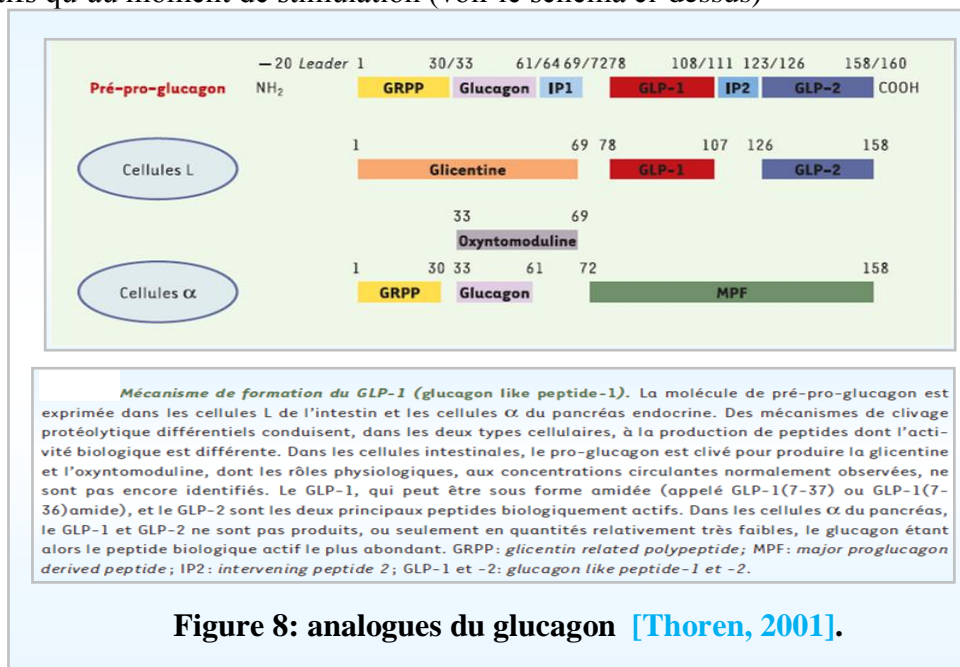
3.3.2- Les cellules à glucagon

Le glucagon est un polypeptide de 29 acides aminés appartenant à la famille des sécrétines (il présente des analogies structurales avec VIP et GIP).

Sa biosynthèse est assurée par le gène du glucagon qui est exprimé dans les cellules α du pancréas et certaines cellules de la paroi digestive (cellules L).



La transcription du gène est stimulée par un mécanisme encore mal connu, déclenchée par une baisse de glycémie. Le pré-pro-glucagon qui possède des sites de clivage précis (chacun étant encadré par 2 acides aminés basiques). Des enzymes de type trypsine séparent les divers peptides. Le pré -pro-glucagon stockés dans des vésicules sécrétoires et ne sera clivé en peptides actifs qu'au moment de stimulation (voir le schéma ci-dessus)



3.3.3 - Les cellules à insuline

3.3.3.1- l'insuline

L'insuline est à la fois une hormone et un facteur de croissance ubiquitaire qui régule la prolifération cellulaire, l'expression des gènes, la synthèse des protéines et la survie cellulaire dans la plupart des tissus des mammifères. Des études récentes indiquent que l'insuline joue un rôle important aussi dans la régulation de la croissance et de la fonction des cellules bêta des îlots pancréatiques [Ghuawang, 2008].

3.3.3.2 - Structure de l'insuline

L'insuline humaine comporte 2 chaînes polypeptidiques A, B reliées par deux ponts disulfure(**Figure 9**) Par cristallographie dans l'espace, l'insuline possède une structure compacte dans laquelle l'essentiel des 2 chaînes qui est relativement apolaire forme une zone centrale globulaire entourée par les extrémités N- et -C terminales de la chaîne B .Cette molécule a la propriété de s'associer à elle-même formant des dimères, trimères, tétramères et même des hexamères surtout en présence des ions Zn^{+} . Les formes polymères résistent mieux à la dégradation par les protéinases et ont une action plus prolongée. Leur fixation sur les récepteurs à insuline module l'action de l'hormone.

3.3.3.3 - Biosynthèse

Le gène de l'insuline est situé sur le brin court du chromosome 11. L'insuline (**Figure 9**) est synthétisée sous forme de pré-pro insuline (**Figure 10**), maturée dans le REG, puis stockée dans des vésicules appelées granules. Ceux-ci s'amoncellent à proximité de la membrane plasmique, formant une réserve d'insuline prête à être relâcher par exocytose lors de la stimulation. Le clivage de la pré-pro-insuline en pro-insuline se fait par une protéinase à type trypsine, faisant site au résidu 30 (entre deux résidus d'arginine) et liaison peptide au niveau du résidu 65 entre lys-arg. Une seconde peptidase enlève les résidus d'arginine qui subsistent aux extrémités N-terminal de peptide.

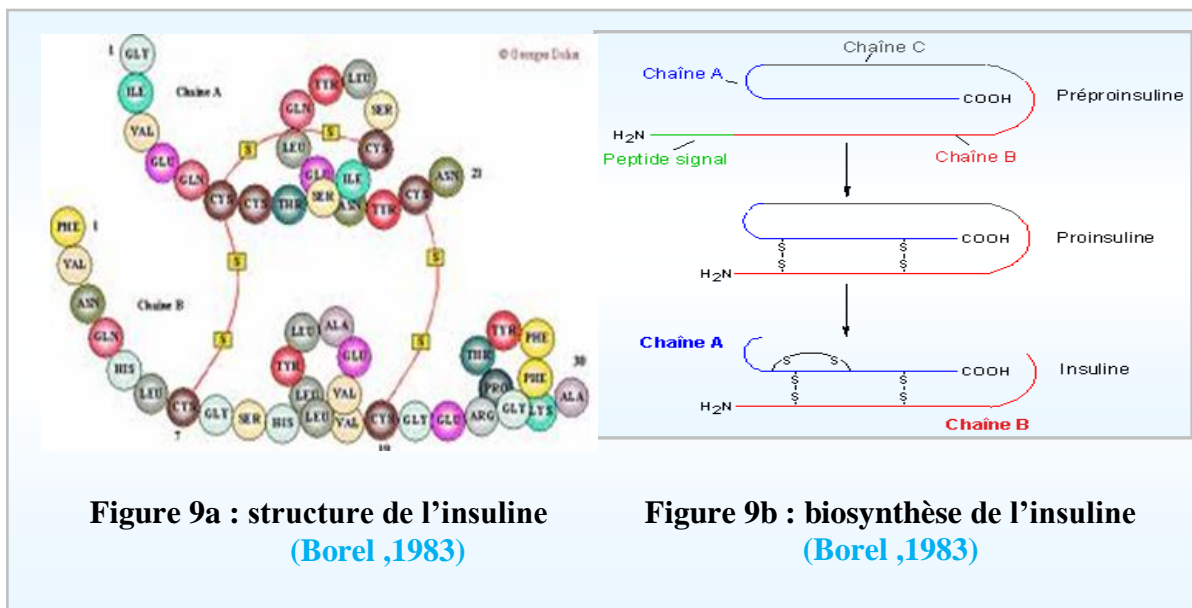


Figure 9a : structure de l'insuline
(Borel ,1983)

Figure 9b : biosynthèse de l'insuline
(Borel ,1983)

3.3.3.4 - Sécrétion de l'insuline

La sécrétion de l'insuline et du polypeptide C par les granules sécrétoires est schématisée dans la **Figure 11**. Différentes voies de signalisation conduisant à la sécrétion

d'insuline. La mieux caractérisée est la voie liée aux canaux potassiques ATP-dépendants (canaux K^+ ATP) ; Le glucose entre dans la cellule β à travers les canaux GLUT₂ pour être ensuite métabolisé par la glycolyse et la respiration, le rapport élevé ATP/ADP engendre la fermeture des canaux K^+ ATP localisés sur la membrane plasmique et par conséquent la dépolarisation de ces derniers. Cette dépolarisation ouvre les canaux calciques dépendant du voltage VDCC, provoquant le flux net d'ions Ca^{2+} dans le cytosol et déclenchant l'exocytose ; notons que la sécrétion d'une molécule d'insuline est couplée à la sécrétion d'une molécule de peptide C dont le rôle est méconnu. En clinique, la quantification moléculaire de ce peptide est une quantification indirecte de la sécrétion d'insuline [Polonsky, 1995].

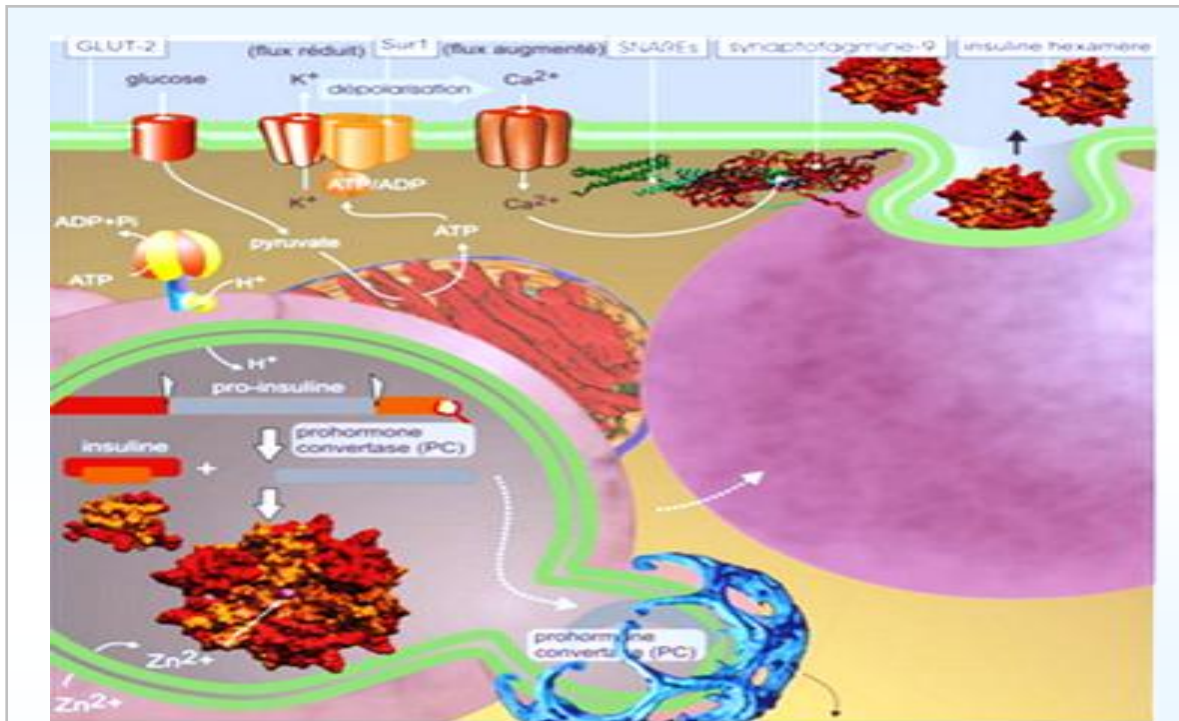


Figure 11: mécanisme d'exocytose et de la sécrétion d'insuline par les cellules β

- 1) le pore, constitué par la protéine kir 6.2 se ferme sous l'effet direct d' ATP
- 2) la sous-unité régulatrice, constituée par la protéine **sur1** (sulfonyleurea receptor1) ouvre le pore en présence d'ADP. La fermeture du canal, entraîne une dépolarisation de la membrane plasmique responsable de l'augmentation du Calcium libre intracellulaire. La vésicule sécrétoire se fixe à la synaptotagmine 9 dont les domaines c2a et c2b se lient à la membrane plasmique, phénomène qui est à l'origine de l'ouverture du pore et fusion des vésicules sécrétoires contenant l'insuline.

3.3.4- Régulation de la sécrétion de l'insuline

3.3.4.1 - Le Glucagon

La biosynthèse de l'insuline est activée ou inhibée selon la variation de quantité des granules de sécrétion dans les cellules β . Plusieurs facteurs interviennent pour réguler la synthèse et la sécrétion. Le glucagon agit par action paracrine. Lorsqu'il se lie à son récepteur

cible, il active l'AMPc et provoque une entrée accrue des ions calcium (2nd messenger), activant ainsi le système contractile qui permet l'expulsion des granulations sécrétoires vers le sang.

3.3.4.2 - L'Adrénaline

Lorsqu'elle agit sur les récepteurs β elle active la formation d'AMP_c et la sécrétion d'insuline. Quand elle agit sur les récepteurs α l'adrénaline inhibe la formation d'AMP_c et la sécrétion d'insuline. Si les deux types de récepteurs sont stimulés simultanément l'effet inhibiteur prédomine.

3.3.4.3 - Le glucose

Lorsque la concentration du glucose dépasse 8 m Mol, on assiste à une dépolarisation de la membrane des cellules β ; cette dépolarisation est de même nature qu'un influx nerveux (fermeture des pompes K⁺, diminution de l'entrée des ions K⁺, libération intracellulaire du Ca⁺⁺, activation du système contractile, et activation de la sécrétion d'insuline).

3.3.4.4 - La Somatostatine

La somatostatine inhibe la sécrétion de glucagon et de l'insuline.

3.3.4.5 - Le Système Nerveux

Les fibres nerveuses étendues de ganglions extrinsèques, activées par la fibre pré ganglionnaire vague décharge l'acétyl choline dans l'îlot ce qui va induire la libération de d'insuline par les cellules β suite à la stimulation des récepteurs muscariniques. La sécrétion d'insuline par les neurotransmetteurs parasympathiques est équilibrée par l'inhibition due aux neurotransmetteurs sympathiques. Le traitement exogène par l'acétylcholine ou d'autre agoniste muscariniques stimule la sécrétion de l'insuline, de glucagon, de somatostatine, et de polypeptide pancréatique [Borel, 1983].

3.3.5 - Les Récepteurs de l'insuline

Le récepteur de l'insuline est une glycoprotéine ; le précurseur est clivé par des protéinases en deux sous unités (α et β) à activité protéine kinase. Chaque chaîne est synthétisée sous la forme d'un précurseur de 1382 acides aminés. Celui-ci est ensuite glycosylé puis clivé dans l'appareil de Golgi pour former une chaîne alpha (acides aminés 28 à 758) uniquement extracellulaire, et une chaîne bêta (acides aminés 763-1382) intracellulaire, transmembranaire et extracellulaire, unies par des ponts disulfures. La partie glucidique de la glycoprotéine joue un rôle majeur dans la fixation de l'insuline (**Figure 12**).

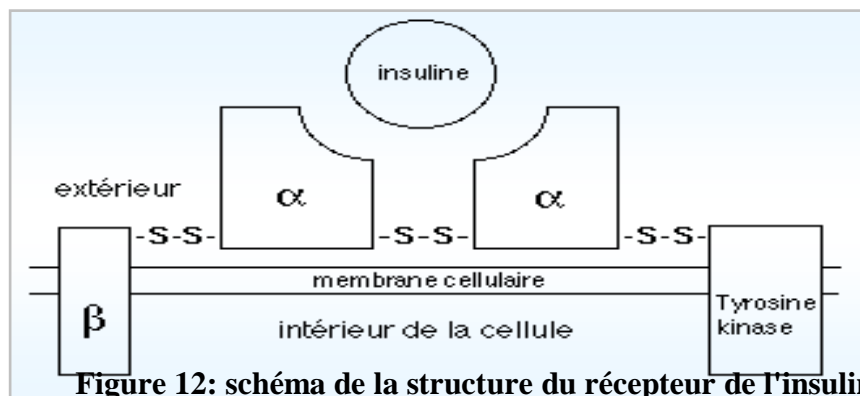


Figure 12: schéma de la structure du récepteur de l'insuline [Borel, 1983].

La partie extra cellulaire du récepteur comporte 6 domaines différents (**Figure 13**) ; la Figure 14 met en évidence les deux sites de liaison de l'insuline sur son récepteur. Les acides aminés des sites de liaison sont affichés en sphères. Le domaine FNIII-1 est en vert, le domaine L1 en bleu. Ces domaines appartiennent chacun à un monomère différent du récepteur. L'insuline viendrait se fixer en "sandwich" entre ces deux domaines.

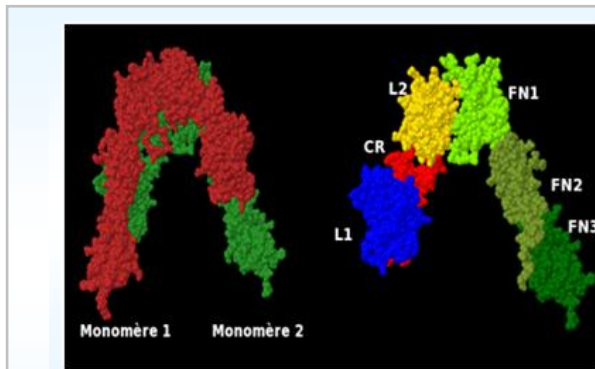


Figure 13 : Organisation des deux monomères du récepteur de l'insuline
[Borel, 1999]

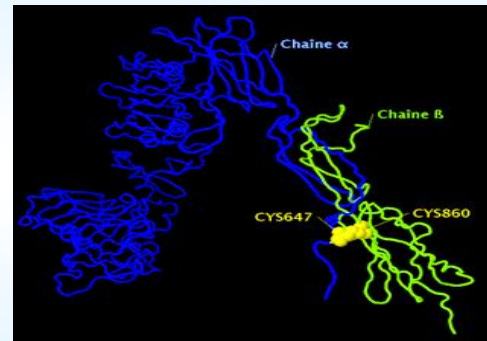


Figure 14: Site de liaison de l'insuline au récepteur [Borel, 1999]

3.3.6 - Mécanisme d'action de l'insuline

Le récepteur insulinique n'est pas couplé avec une protéine G, il mobilise plusieurs seconds messagers, un ensemble de molécules possédant des domaines SH2.

Un regroupement des récepteurs dans une zone cellulaire délimitée faisant suite à un changement de conformation des sous-unités α . Ce changement provoque l'activation des sous-unités β capables de se phosphoryler mutuellement au niveau des résidus tyrosine. Ceci dégage les sites de fixation de l'ATP et des plusieurs substrats, permettant ainsi la phosphorylation de plusieurs protéines cytoplasmiques (selon la cellule cible et les effets médiés) dont les quatre molécules IRS (Insulin Receptor substrate) et l'enzyme Shc.

3.3.7 - Action de l'insuline sur les tissus périphériques

3.3.7.1 - Métabolisme glucidique

Elle se manifeste par

- une diminution du taux de glucose dans le sang
- une inhibition de la dégradation du glycogène
- une stimulation de la glycogénèse dans le foie et le muscle et provoque sa mise en réserve
- il active la destruction du glucose (glycolyse) et l'oxydation du glucose (voie des pentoses phosphates)
- il inhibe la sortie de glucose du foie et le fait entrer dans le muscle
- il stimule le co-transport glucose et de Na^+ ; l'excès des ions Na^+ est ensuite rejeté par la pompe Na^+/K^+ .

3.3.7.2 - Métabolisme lipidique

L'insuline

- stimule l'entrée du glucose dans l'adipocyte et sa transformation en tri-acyl glycérol.
- stimule la pénétration des AG à partir des lipoprotéines dans les adipocytes et leur incorporation.
- inhibe la dégradation des lipides.

3.3.7.3 - Métabolisme protéique

L'insuline

- Diminue la néoglucogenèse.
- Agit sur le métabolisme des substances azotées.
- Fait entrer les AA du plasma aux cellules.
- Active la synthèse des protéines.
- Inhibe les enzymes protéolytiques.

3.4 - Cellule C pancréatiques

3.4.1 - Le polypeptide pancréatique

Les cellules C pancréatiques sécrètent le polypeptide pancréatique (PP), un polypeptide appartenant à la famille des peptides de régulation. Sa séquence comprend 36 acides aminés en chaîne rectiligne et il n'est apparenté à aucun autre peptide connu.

Les cellules produisant le PP représentent le quatrième type de cellules endocrines pancréatiques. Elles sont principalement situées à la périphérie des îlots de Langerhans, essentiellement au niveau de la tête du pancréas.

3.4.2 - Mode d'action du polypeptide P

Il n'est pas possible d'assigner actuellement au polypeptide pancréatique un rôle exact dans la régulation endocrine de la sécrétion pancréatique pendant la digestion. Le rôle le plus vraisemblable du PP semble être un mécanisme d'inhibition de la sécrétion pancréatique exocrine stimulée par la trypsine et la bilirubine.

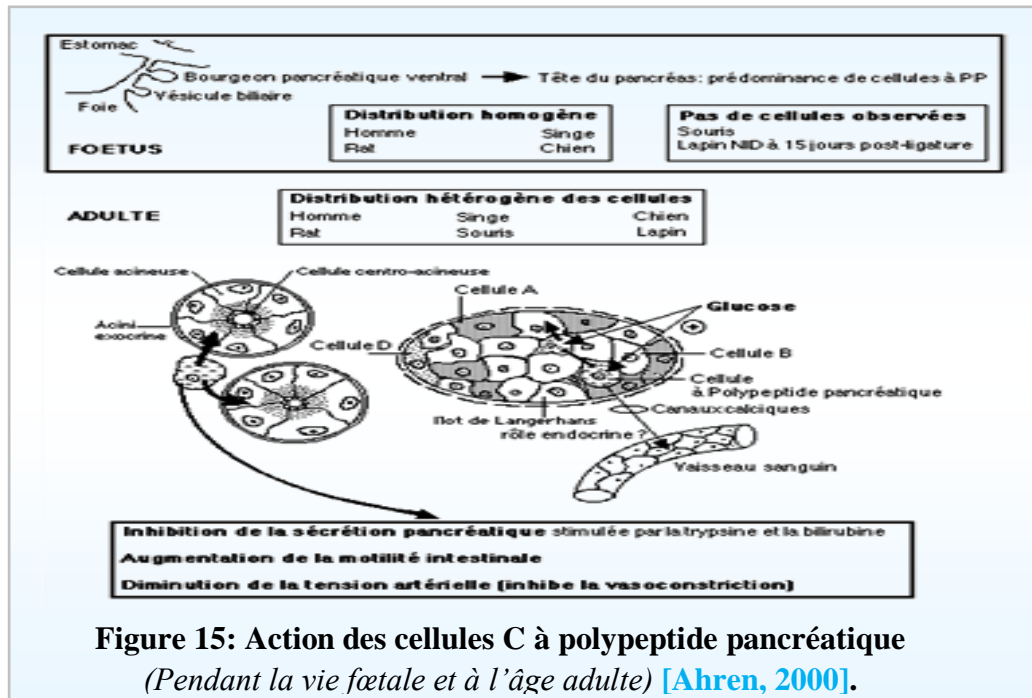
En outre, le polypeptide pancréatique possède deux autres rôles accessoires:

- il augmente la motricité intestinale
- Il diminue, notamment chez l'Homme, la tension artérielle.

3.4.3 - Les récepteurs du polypeptide pancréatique

Chez le rat, on a détecté deux types de récepteurs : un récepteur Y_4 , présent dans les cellules de l'intestin, du pancréas et de la prostate. Son ARNm a été détecté au niveau du cerveau, de l'artère coronaire et des trans-périphériques. In vitro, on a mis en évidence le rôle du PP lié à l' Y_4 dans l'inhibition de la vasoconstriction artérielle neurogénique. Le récepteur Y_4 aurait donc un rôle potentiel dans la régulation de la pression artérielle.

Un autre récepteur présent sur la membrane des cellules hépatiques. Il aurait une affinité pour le PP, plus forte chez le porc que chez le canard, ce qui implique des caractéristiques de liaison différentes selon les espèces animales.



4 - La régulation nerveuse du pancréas endocrine

4.1 - Mécanisme général de la régulation nerveuse

Comme les cellules acineuses, le pancréas endocrine est modulé par les nerfs, les fibres nerveuses étendues des ganglions intrinsèques activés par les fibres pré-ganglionnaires du nerf vague.

La stimulation de la sécrétion de l'insuline par un traitement exogène par l'Acétylcholine ou d'autres agonistes muscariniques stimule la sécrétion d'insuline, de glucagon, de STT et du PP [Ahren, 2000].

4.2. Les cellules à Somatostatine (cellules D)

4.2.1 - Description et localisation

Les somatostatines, sont des polypeptides de longueurs différentes et qui portent la même séquence active (somatostatine 14 et Somatostatine 28) elles sont sécrétées par l'hypothalamus, le pancréas, certains neurones et certaines cellules endocrines de l'intestin.

4.2.2 - Biosynthèse

La Pré-pro somatostatine (116 résidus) induit une séquence signal très rapidement clivée en pro somatostatine (92 résidus) qui s'accumule dans les granules entraînant la sécrétion et le clivage en STT 28 puis STT 14. Le SN produit de la somatostatine STT 28 (un médiateur nerveux) alors que La somatostatine STT 14 est la forme hormonale prédominante dans toutes les cellules ; elle est sécrétée par les cellules D des îlots de Langerhans, cellules D de l'estomac, glandes salivaires, cellules thyroïdiennes et tubules rénaux.

4.2.3 - Régulation

La synthèse et la sécrétion dans l'hypothalamus et l'adénohypophyse sont régulées par SN, tandis qu'au niveau pancréatique les cellules D sont stimulées par l'augmentation de la concentration plasmatique du [GLU] et d' [AA libres], par la sécrétion du glucagon et par la fixation du VIP, Gastrine, Sécrétine sur leurs récepteurs.

4.2.4 - action de la somatostatine

la STT14 a plusieurs actions : Paracrine, Autocrine, Endocrine et Lumione (l'intestin) , sa Demi-vie est 2 mn dans le sang pour cela elle agit peu par la voie sanguine.

La somatostatine réduit la perméabilité pour les ions Ca^{++} par conséquent elle inhibe les activités cellulaires dépendante de l'ion Ca^{++} (2ème messager).

Elle s'oppose à toutes les stimulations capables de provoquer la sécrétion (de TRH et de la Prolactine. Au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire) ;(de l'insuline, du glucagon et de sa propre sécrétion Au niveau de l'îlot de Langerhans) et (De plusieurs hormones :Gastrine, pancréozyme , VIP ,Glucagon intestinal Au niveau de Tube Digestif) .Sa circulation se fait par voisinage [Ahren, 2000].

5 - Rythmicité des prises alimentaires

5.1 - Caractère discontinu de la prise alimentaire

Le comportement alimentaire se caractérise par des épisodes discontinus de la prise alimentaire, en fait, une variation circadienne de prise alimentaire se fait pendant la période active, soit le jour pour les espèces diurnes (l'être humain et *P.obesus*) et une période de jeûne, qui correspond à la phase de repos. Ce caractère discontinu de la prise alimentaire, s'opposant à l'utilisation continue de substrats énergétiques par les cellules, implique une orientation différente des flux énergétiques (stockage ou libération de substrats énergétiques à partir des réserves) pendant ces deux phases. Les centres hypothalamiques sous l'influence des hormones cerveau-intestin et des neurotransmetteurs cérébraux contrôlent la prise alimentaire. On distingue principalement deux centres régulateurs:

- centre de faim : actif en permanence.
- centre de satiété : bloque la prise de la nourriture en inhibant le précédent.

5.2 – Les théories de la régulation

Il existe deux grandes théories de la régulation alimentaire [Kennedy, 1962].

La Théorie glucostatique : c'est l'utilisation du glucose par les centres hypothalamiques qui interviennent :

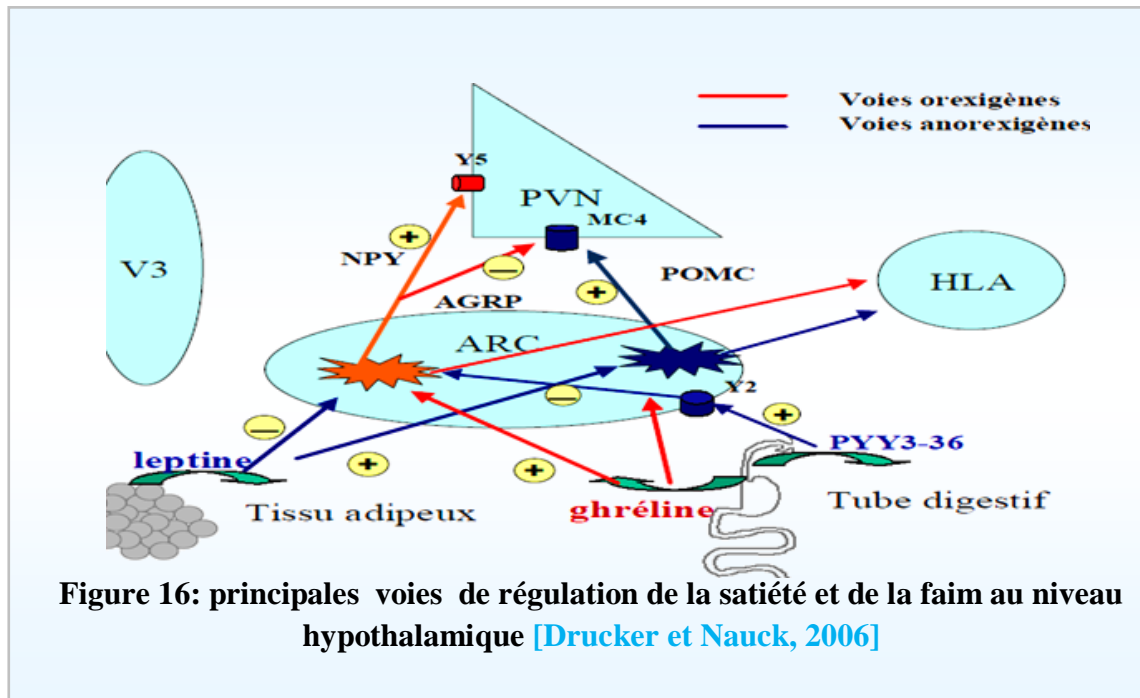
- quand la glycémie diminue le centre de satiété est inhibé et le centre de la faim est dominant.
- quand l'utilisation du glucose augmente le centre de la satiété inhibe le centre de la faim.

La Théorie lipostatique : un signal vers le cerveau provenant du stock de graisse module le comportement alimentaire pour que le corps se maintienne a un poids constant. Si les stocks augmentent la consommation diminue, dans le cas contraire elle augmente. Ces deux théories d'utilisation d'énergie restent valides à nos jours et l'obésité viendrait d'une perturbation de ce schéma [Elaine and Marieb, 1999].

5.3 – Rôle de l'hypothalamus dans la régulation de la prise alimentaire

Des expériences réalisées dans les années 1940 ont montré que des stimulations électriques ou des lésions de régions spécifiques de l'hypothalamus modifiaient la prise alimentaire. Les travaux de ces dernières années ont mis en évidence des populations neuronales exprimant des

neurotransmetteurs spécifiques qui médient les effets sur la prise alimentaire et la dépense énergétique et sont régulés par des signaux spécifiques de l'état nutritionnel. **La figure 15** donne un schéma des principales voies de régulation de la satiété et de la faim au niveau hypothalamique.



6 - Principaux facteurs et hormones régulateurs de la prise alimentaire

6.1 - La cholécystokinine (CCK)

Ce peptide est sécrété par certains entérocytes dans la circulation en réponse à l'arrivée de lipides et de protéines dans la lumière intestinale. Il a un effet satiétique [Liebling et al., 1975].

6.2 - L'insuline

La sécrétion d'insuline pendant la période post prandiale est stimulée par l'arrivée de glucose dans la circulation porte. L'effet de l'insuline sur la prise alimentaire dépend de la dose et de la voie d'administration. L'insuline injectée dans la veine porte hépatique n'affecte pas la prise alimentaire, mais lorsqu'elle est injectée en intra cérébro-ventriculaire, elle la diminue [Woods and Porte, 1983].

En outre, les taux d'insuline circulants sont proportionnels à la masse du tissu adipeux blanc ; l'administration intra cérébrale d'insuline induit hypophagie et perte de poids. Toutefois la demi-vie de l'insuline est courte et la sécrétion d'insuline s'ajuste très rapidement aux changements métaboliques. Elle apparaît ainsi comme un signal reflétant l'interaction entre les processus métaboliques immédiats et le niveau d'adiposité.

6.3 - Le PYY 3-36

Sécrété par le tube digestif proportionnellement au contenu énergétique du repas, il inhibe la prise alimentaire probablement par action au niveau des récepteurs Y_2R du noyau arqué [Unniappan and Kieffer, 2008].

6.4 - Les nutriments oxydés

Le métabolisme des substrats énergétiques génère des signaux qui permettent au cerveau de contrôler la prise alimentaire. La diminution de l'utilisation du glucose, de l'oxydation des acides gras ou du contenu intra-hépatique de l'ATP augmentent la prise alimentaire [Haidari et al., 2002 ; Zoltowska et al., 2003].

6.5 - La leptine

6.5.1 - Marqueur de variation des stocks énergétiques

Les taux circulants de la leptine reflètent la totalité de la masse adipeuse, la leptine est sensible à l'apport alimentaire, elle diminue lors du jeûne et s'élève après le repas. Cette élévation postprandiale, est tardive, elle commence 4 à 5 heures après la prise alimentaire, elle est proportionnelle à la quantité d'insuline sécrétée. L'activité physique diminue également la leptine circulante. Ainsi la leptine est un marqueur de variation des stocks énergétiques, et son rôle apparaît notamment très important dans les situations de carence énergétique.

La leptine inhibe la prise alimentaire et augmente la dépense énergétique (**Figure 16**) par son interaction avec ses récepteurs spécifiques de l'hypothalamus. Elle active les voies anorexigènes (POMC) et inhibe les voies orexigènes (NPY/AGRP)[Ahima and Antwi, 2008].

6.5.2 – mise en évidence de la leptine

La leptine a été découverte dans le TA blanc [Zhang et al., 1994]. Plus tard on a remarqué qu'elle était sécrétée par d'autres tissus ; il s'agit surtout des tissus intestinaux (muqueuse gastrique) qui en sécrètent une grande quantité [Masuzaki et al., 1995; Cammisotto et al., 2005]. Bien qu'il s'agit de la même hormone, il existe des différences entre les deux types d'hormones. Alors que le TA sécrète la leptine selon une voie constitutive lente, la muqueuse gastrique permet une régulation exocrine selon une voie rapide dans le suc gastrique.

La leptinémie chez des sujets sains est de 5–15 ng/ml (sous forme libre ou liée à des protéines porteuses [Considine et al., 2005] elle suit un cycle nyctéméral indépendant de la prise de nourriture et l'injection de l'insuline chez ces sujets n'avait pas d'effet sur le taux circulatoire de la leptine.

6.5.3 - Structure de la leptine

La leptine est une protéine de 146 AA, de 16 kDa elle appartient à la famille des cytokines hélicoïdales, formée de quatre hélices antiparallèles et présente un pont disulfure entre le C-terminal et une boucle.

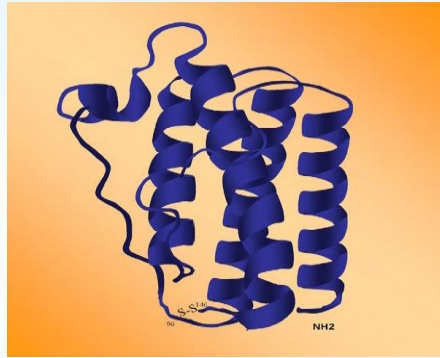


Figure 17: Structure de la leptine [Cammisotto et al., 2010].

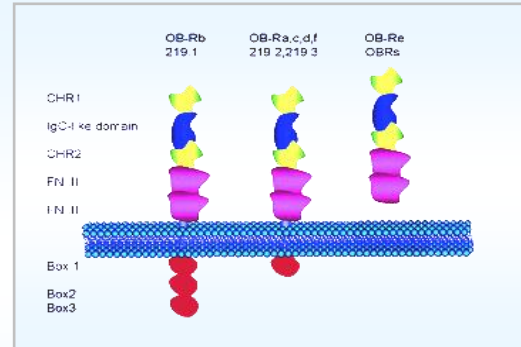


Figure 18: Structure des récepteurs de la leptine [Cammisotto et al., 2010].

6.5.4 - Synthèse et sécrétion de la leptine

6.5.4.1 - La leptine adipocytaire

Le TA sécrète d'une manière lente et constitutive, une quantité basale de la leptine in vitro sans aucune stimulation dans les concentrations physiologiques de substrats énergétiques [Cammisotto et al., 2010].

In vivo plusieurs facteurs contrôlent la synthèse et la sécrétion de la leptine :

- il s'agit des agents stimulateurs : augmentation de la taille des adipocytes, la prise de nourriture, l'insuline, les AA, le glucose, les glucocorticoïdes, les estrogènes et les cytokines inflammatoires, le contenu de la leptine intracellulaire et sa sécrétion augmente par conséquent d'une manière significative [Cammisotto et al., 2006].
- et des agents inhibiteurs : le jeûne, les agonistes de β adrénergique, les AMP_c, les agents lipolytiques, les hormones thyroïdiens, les androgènes, le Ca⁺⁺, les AG, et α MSH.

6.5.4.2 - La leptine gastrique

La muqueuse gastrique contient des cellules sécrétrices de la leptine exocrines et endocrines [Bado et al., 1998] ceci est démontré dans l'homogénat humain et murin [Cinti et al., 2000]. Dans la muqueuse gastrique la leptine à sécrétion exocrine Co-localise avec la pepsinogène et la lipase dans les granules des cellules principales, elle sera sécrétée avec eux dans la lumière gastrique [Cinti et al., 2000 ; Sobhani et al., 2000]. Quant aux cellules endocrines peu nombreuses, elles ne produisent pas de pepsinogène et n'atteint pas la lumière gastrique, ces cellules sont éparpillées et se trouvent à côté des capillaire sanguins et ont une voie de sécrétion endocrine classique [Emilsson et al., 1997; Cinti et al., 2000].

6.5.5 - Le récepteurs de la leptine

Plusieurs isoformes sont identifiées ; synthétisées à partir d'un ARN_m spécifique après épissage alternatif ou protéolyse des récepteurs existants. Tous ces récepteurs ont le même

domaine extracellulaire constitué de deux domaines CHR, un IgG-like domaine et deux domaines FN3 (**Figure 18**). La partie cytoplasmique varie en longueur et en séquences OB-Rb à 3 domaines intracellulaire (Boxes 1–3) avec des résidus tyrosine qui semblent phosphorylés. L'isoforme court (OB-Ra-c-d-f) possède un seul domaine Box, ce qui limite son capacité de signalisation. Il existe également un isoforme soluble (OB-Re ou OBRs) dépourvu de domaines intracellulaires et transmembranaires [[Cammisotto et al., 2010](#)].

6.5.6 - Effets de la leptine dans le métabolisme

Depuis les 15 d'années précédentes, les recherches ont commencé à s'intéresser au lien qu'il pourrait y avoir entre la leptine, l'obésité et la nutrition, en se penchant plus particulièrement sur son mécanisme d'action sur le SNC. Récemment on a découvert que la leptine agissait de façon directe sur la physiologie du tractus digestif chez plusieurs espèces (chien ; lapin et souris..) ainsi que sur le développement de l'obésité et de l'élévation de la pression artérielle.

En outre, plusieurs organes et tissus présentent des récepteurs fonctionnels de cette hormone entre autres l'intestin, le foie et le pancréas [[Emilsson et al., 1997](#)].

6.5.7 - Effets de la leptine sur le foie

L'effet de la liaison de la leptine et son récepteur hépatocytaire tend à diminuer le taux des récepteurs à insuline et sa liaison aux récepteurs en inhibant la synthèse d'AG [[Fukuda and Hindsgaul, 1994](#)]. De plus, l'activation de la STAT3 par la leptine, diminue la gluconéogenèse et augmente le stockage du glycogène en affectant l'homéostasie du glucose [[Aiston and Agius, 1999](#) ; [Inoue et al., 2004](#)].

6.5.8 - Effets de la leptine sur le pancréas

la leptine diminue la sécrétion d'insuline de façon directe en se liant sur son récepteurs membranaire des cellules β [[Emilsson et al., 1997](#)] et par voie indirecte par stimulation de l'activité du SN [[Kieffer and Habener, 2000](#)]. Pareillement, la leptine diminue la sécrétion enzymatiques du pancréas exocrine induite par la prise de nourriture [[Jaworek et al., 2003](#)] d'où son effet anorexique.

6.5.9 - Rôle de la leptine dans la régulation du poids corporel

La leptine sécrétée par le TA et la muqueuse gastrique comme expliqué dans le schéma ci-dessus(**figure19**), circule dans le sang à des concentrations proportionnelles aux quantités de la masse grasse ; agit sur l'hypothalamus en inhibant la prise alimentaire et en diminuant la dépense énergétique par stimulation de l'activité du SN sympathique. En outre, elle module d'autres fonctions par action directe périphérique dans différents tissus ou via le SN autonome.

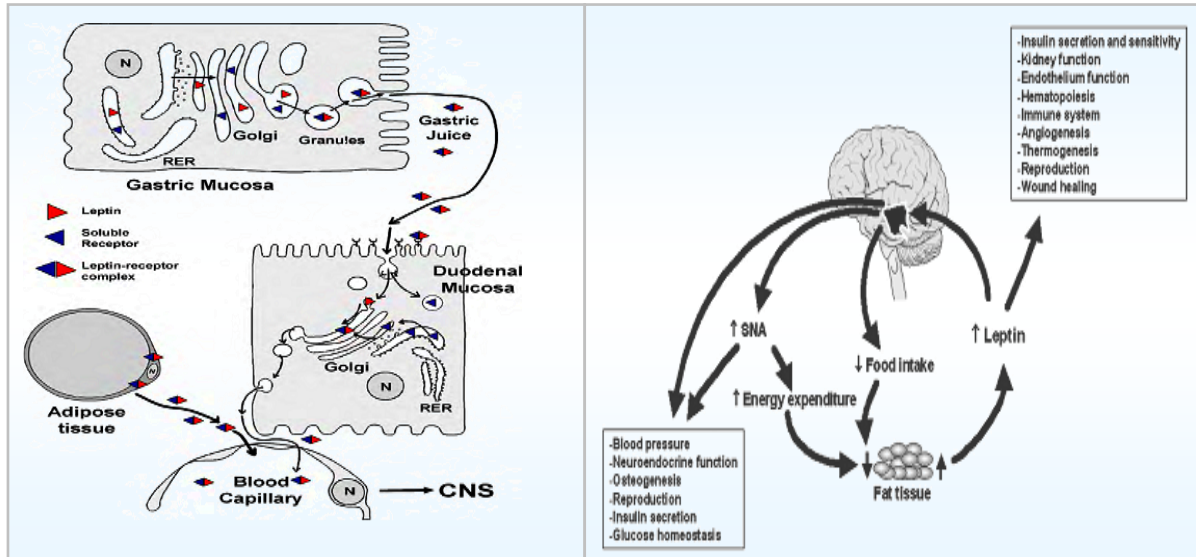


Figure 19 : schéma illustratif du trajet des deux leptines vers le SNC
 [Cammisotto et al, 2010]

Figure 20: actions de la leptine selon la proportion de la masse grasse
 [Rahmouni et al, 2006]

La figure 18 montre La synthèse suivi par la formation des complexes Leptine-Récepteur sécrétées par les cellules principales, le complexe sera véhiculé dans la lumière intestinale (pôle apical des entérocytes où serait internalisé via des récepteurs médiate son endocytose ;la leptine est transportée vers l'appareil de Golgi, des nouveaux complexes leptine-récepteur sont néoformée et seraient sécrété dans le coté basolatéral et atteint la circulation sanguine, en parallèle les adipocytes sécrètent des complexes leptine-récepteur solubles. Les deux leptines gastrique/adipocytaire liées à leurs récepteurs solubles atteignent la circulation sanguines et arrivent dans le SNC

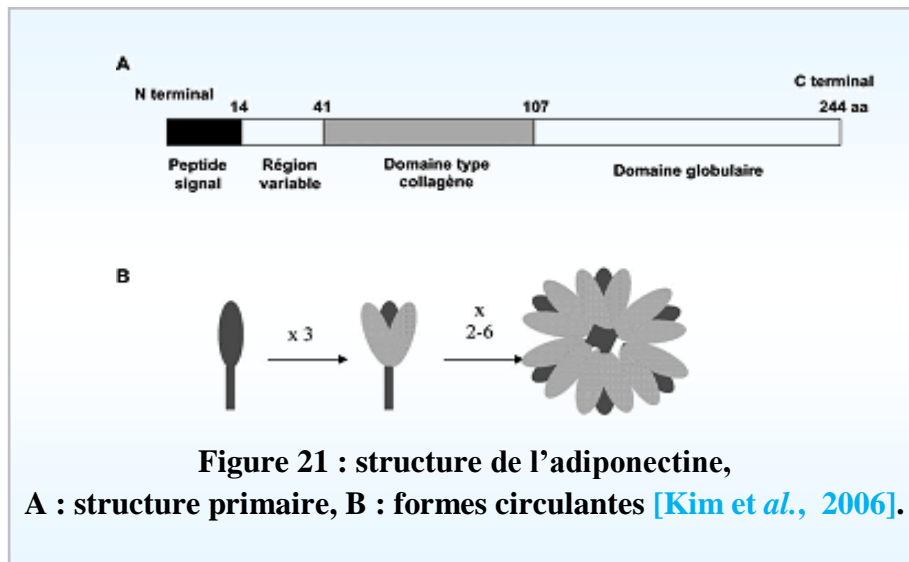
6.6 - L'adiponectine

6.6.1 - Structure

Identifiée par plusieurs équipes, l'adiponectine est connue sous différents noms en relation avec sa structure ou ses propriétés. Elle est appelée :

ACRP30 ou **adipoQ** chez la souris (247 AA) et **GBP28** ou **APM1** chez l'homme (244 AA).

Cette protéine est composée d'un peptide signal destiné à être clivé, d'un domaine N-terminal de type collagène et d'un domaine C-terminal globulaire, avec une structure en triple hélice. Son domaine globulaire présente des homologues de structure avec certaines formes de collagène et avec la fraction C1q du complément et les cytokines de la famille du TNF α impliquées dans l'inflammation et le système immunitaire. Comme toutes les protéines possédant un domaine collagène, la protéine native s'assemble pour former des trimères qui s'associent ensuite entre eux via la formation de ponts disulfures pour former des hexamères et des complexes de haut poids moléculaire pouvant compter jusqu'à six trimères. (Figure 21).



La concentration plasmatique de l'adiponectine présente un dimorphisme sexuel ; elle est plus élevée chez les femmes que chez les hommes [Combs et al., 2001 ; Nishizaw et al., 2002]. L'adiponectine est abondamment produite par le TA blanc. Ses concentrations circulantes représentent 0.01 % des protéines plasmatiques totales. Le niveau d'expression des ARNm est toutefois différent selon la topographie du tissu étudié puisqu'il est 30 % plus faible dans le TAV que dans le TA sous-cutané abdominal, que les sujets soient minces ou obèses [Lihn et al., 2004].

Le gène de l'adiponectine est situé sur le bras long du chromosome 3 (région 3q27), une région fortement liée à la RI, à l'obésité, à l'HTA, aux MCV et au DT2 dans les populations françaises et indo-mauriciennes [Francke et al., 2001; Vionnet et al., 2000].

6.6.2 - Effets métaboliques de l'adiponectine

Ses effets semblent passer en partie par l'activation de l'AMP-kinase [Yamauchi et al., 2002] avec pour conséquence, une augmentation de l'utilisation du glucose et de l'oxydation des AG par le muscle, et une réduction de la production hépatique de glucose via la diminution de l'expression de la Glucose -6 Phosphatase et de la phosphoénolpyruvate carboxykinase, deux enzymes clé de la néoglucogenèse hépatique.

Ses concentrations circulantes diminuent chez les souris obèses et diabétiques [Hu et al., 1996] et sont également fortement abaissées chez l'homme obèse et le diabétique de type 2 [Weyer et al., 2001]. Il existe une corrélation inverse entre l'adiponectinémie et le degré d'obésité [Arita et al., 1999] et plus particulièrement avec la quantité de graisse viscérale [Gavrila et al., 2003]. Une amélioration sensible de l'IR associée à une normalisation du profil lipidique et à une réduction de la stéatose musculaire et hépatique chez les souris résistantes à l'insuline [Yamauchi et al., 2001]. Les études menées chez l'animal confirment de plus en plus le rôle protecteur de l'adiponectine dans l'athérosclérose [Matsuda et al., 2002], puisque les patients présentant une atteinte cardiovasculaire ont une adiponectinémie abaissée par rapport aux sujets témoins [Kumada et al., 2001].

Chapitre II

Matériel

Et Méthodes

-MODÈLE EXPÉRIMENTAL ET SON BIOTOPE

1 - *Psammomys obesus*

1.1 - Intérêt du modèle

Chez le *Psammomys obesus*, le diabète est naturellement induit par un excès nutritionnel relatif, ce modèle reste de choix pour l'étude des mécanismes métaboliques décompensant le changement de l'environnement nutritionnel, la dysfonction de leurs cellules bêta productrices d'insuline est sur des bases génétiques encore mal illustrées, ce rongeur est largement utilisé pour l'étude de l'hyperglycémie, de l'insulinorésistance et les liens causales de l'obésité et du syndrome métabolique.

L'ensemble de ce travail a été réalisé sur des rats du sable *Psammomys obesus*.(PO), Ce modèle animal a été choisi car il développe une insulinorésistance innée semblable à celle rencontrée chez l'Homme. Lorsqu'il est soumis au régime hypercalorique de laboratoire (RHC), le rat des sables devient obèse, puis près de 60% des animaux deviennent diabétiques à partir du 3^{ème} mois. Ce modèle est d'autant plus intéressant lorsqu'on s'intéresse à la plasticité du pancréas endocrine.



Figure 22 : Le rat des sables *Psammomys obesus*

En effet, après avoir été soumis à un régime hypercalorique, l'animal peut revenir à l'état normal lorsqu'il est nourrit au régime naturel (plantes halophiles), cette réversibilité est possible au cours des trois premiers mois de RHC, même si l'animal a déjà développé un diabète. Cette aptitude à la réversibilité est notamment observée dans des cas physiologique chez la Femme enceinte ayant développé un diabète gestationnel caractérisé par une sécrétion accrue d'insuline, et qui disparaît après la grossesse. De plus, ce modèle pour lequel nous avons acquis une grande expérience, développe un diabète qui mime en de nombreux aspects le Diabète de type 2 humain. En effet, son évolution se complique, comme chez l'humain, de cardiopathies, d'angiopathies, de rétinopathies, et de néphropathies et d'inflammation.

1.2- Classification phylogénique

Règne: *animaux*

Phylum: *cordés*

Sous phylum: *vertébrés*

Classe: *mammifères*

Sous classe: *Theria*

Infraclasse: *Eutheria*

Ordre: *rongeurs*

Sous ordre: *Myomorpha*

Famille: *Muridae*

Sous famille: *Gerbillidae*

Espèce: *Psammomys obesus*.

1.3 - Le modèle expérimental et son biotope

Psammomys obesus (Po), appelé aussi rat du sable, est un rongeur strictement herbivore, diurne de la famille des Gerbillidae, qui vit dans des terriers très profonds [Mendelssohn et al., 1999] Son aire de répartition s'étend sur tout le Sahara. Elle atteint à l'Est la Palestine et l'Arabie saoudite, et au sud la Mauritanie et le Soudan. Sa limite septentrionale est approximativement celle des palmeraies [Petter, 1961] (figure 23) La reproduction chez ce rongeur déserticole est saisonnière, elle se déroule pendant l'hiver et le printemps [Amirat et al., 1977; Fichet-Calvet et al., 1999]. Selon [Amirat et al., 1977] il est possible de déterminer approximativement l'âge de l'animal en fonction de son poids corporel :

- juvénile lorsqu'il pèse moins de 70g
- Sub-adulte entre 70 - 80g
- Adulte \geq 80 g.

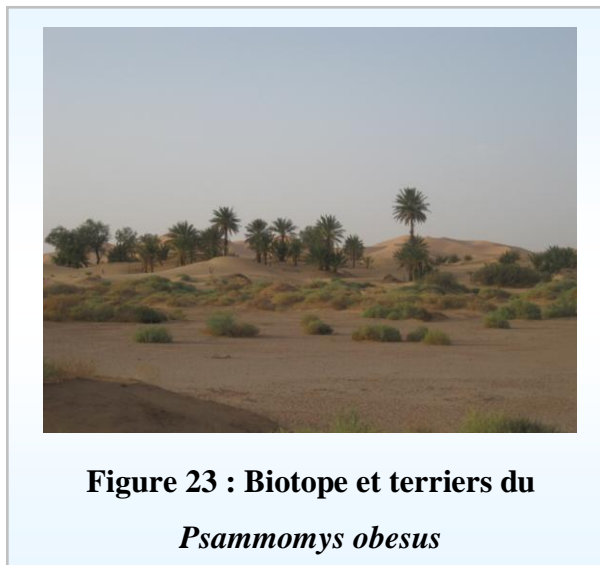
Po est caractérisé par la petite taille (130-160 mm), un pelage fauve, de petites oreilles (10-12 mm), une queue aussi longue que le reste du corps (115-140mm), il peut atteindre une longévité de trois ans. *Psammomys* est un rongeur actif, intelligent, moins agressif que les autres rongeurs du Sahara (gerbille et mérione), calme, familier et très organisé. Il creuse des terriers très profonds (jusqu'à 1 mètre), communiquant à l'intérieur par des galeries de plusieurs étages et avec plusieurs sorties (moyen de fuite aux prédateurs et d'aération et de refroidissement). Ses terriers se trouvent sous les masses de buissons de plantes halophiles (Figure 24), dont il se nourrit en découpant leurs tiges en petits rameaux qu'il emmagasine dans son terrier.

1.4 - Le régime naturel de *Psammomys Obesus*

Le régime alimentaire naturel de *Psammomys obesus* est constitué presque exclusivement de plantes halophiles, ces dernières représentent une source d'énergie et d'eau pour l'animal. Ses plantes favorites sont *Atriplex halimus* et *Salsola phoetida* **figure24-(C)**; plantes de la famille des chénopodiacées [Degen et al., 1990] Les chénopodes sont des plantes halophiles riches en oxalates [Ellern et al., 1974], ces composés chimiques insolubles [Kolthoff et al., 1969] sont toxiques pour le tractus gastro-intestinal, [Noonan and Savage, 1999] ce qui favorisent la formation par les chélates des sels de calcium(oxalates de calcium). Les oxalates peuvent engendrer des crampes musculaires chez l'Homme et sont responsables de la formation de calculs rénaux [Marangella et al., 1996 ; Petrarulo et al., 1998 ; Knoll et al., 2004 ; De Lorenzi et al., 2005]. Selon la saison le rat du sable consomme 300-800 mg d'oxalate quand il ingère *Atriplex halimus* (feuilles et branches) [Shirley et al., 1967; Palgi et al., 2005]. La dégradation de ces composés est assurée par la flore bactérienne intestinale.

1.5 - Adaptation de *Po* à son écosystème

Des études menées par [Haim et al., 1997; Neuman et al., 1999; Neuman et al., 2005] ont montré qu'à la différence des autres espèces de rongeurs déserticoles, *Psammomys obesus* est la seule espèce diurne. Des études récentes comparent ce petit rongeur du désert avec d'autres espèces diurnes de même biotope en l'occurrence l'écureuil *Antelope grounds quirrels* dont la température corporelle varie entre 38 et 41°C. Devant réguler sa température, celui-ci rentre dans son terrier pour se refroidir, ou en sort pour se réchauffer [Bartholomew, 1964].



Comme l'écureuil, *Psammomys* s'adapte à la haute température du jour par un mécanisme très régulier en changeant sa température corporelle, cette dernière change au moins deux fois pendant l'ontogenèse ; jusqu'à la puberté sa température corporelle est semblable à celle de ses parents et quand ils deviennent sub-adultes ($\geq 85g$), il présente un rythme journalier semblable à celui des espèces nocturnes. Enfin, ils reviennent au rythme diurne quand ils atteignent approximativement $\geq 120g$. [Haim et al., 2006]. Quand *P.o* commence son activité journalière, sa température corporelle est élevée. Puis, pour la rabaisser, l'animal rentre dans son terrier. En outre, une sensibilité des rats des sables diurne vis-à-vis de la petite photopériode a été remarqué et pourrait être à la base des mécanismes

bio-comportementaux à l'origine des variations biologiques adaptatives d'une part et des modifications qui compliquent les désordres saisonniers d'autre part [Haim et al., 2006].

2 - Mise en œuvre expérimentale

2.1 - Capture des animaux

Les animaux ont été chassés au niveau des régions de Zguilma et Arq, dans la commune de Béni Abbes, Wilaya de Béchar. Les pièges (des cages métalliques) étaient déposées le soir au coucher du soleil et récupérés de bon matin vers 6h30 avant qu'il ne commence à faire chaud. Les animaux sont appâtés en utilisant des branches et des parties succulentes fraîches de leur plante favorite ; *Salsola phoetida* qu'on met à l'intérieur de la cage. Bien que cette méthode soit moins rentable, elle est toutefois moins stressante pour l'animal. Concernant le biotope de l'animal, nous notons que les animaux vivaient toujours près d'une source d'eaux profondes (puits). **Figure 24-(B)**. Cet animal préfère les zones plus au moins humides pour construire leurs profonds terriers.

Une fois chassés, les animaux (mis dans des cages en plastique à raison de 6 animaux /cages) et sont transportés dans un véhicule climatisé, de Beni Abbes à Alger (1500km), où ils sont conduits vers l'animalerie de l'U.S.T.H.B. Durant leur transport, les animaux avaient un libre accès à l'eau et à la nourriture (Chénopodiacées).

2.2 - Acclimations de l'animal au laboratoire

Les animaux ont eu une période d'adaptation à leur environnement (nourriture, animalerie) d'au moins 15 jours avant leur utilisation. Afin de faciliter l'adaptation des animaux aux conditions de l'animalerie, il a fallu reproduire certaines conditions de leur biotope naturel. Pour ce faire, on a disposé des cylindres en aluminium à l'intérieur de chaque cage pour simuler le terrier du biotope de l'animal.

Durant la période d'acclimatation les animaux sont soumis pendant la 1^{ère} semaine : chénopodiacées et la 2^{ème} semaine : Chénopodiacées + cookies. Pendant toute la durée de l'expérimentation, les animaux ont été hébergés en animalerie, logés dans des cages en plastique à raison de 1 animal/cage **Figure : 24-(L)**. Les rats étaient maintenus à une température ambiante de laboratoire avoisine les 30°C et ils avaient un libre accès à l'eau et à la nourriture.

2.3 - Constitution des lots

L'ensemble des animaux utilisés pour cette étude était des rats des sables pesant entre 70 et 110g, répartis au hasard en 2 lots :

Lots A (lot témoin) : comporte 10 Po (3 femelles et 7 mâles) qui continuent à recevoir le régime naturel.

Lots B (lot expérimental) : constitué 45 Po (17 femelles et 28 mâles) soumis à un RHC sous forme de cookies (préparées à base d'aliment standard des rats et du saccharose) pendant une période de 12 mois avec une prise journalière de 10 g soit 32.5 cal/j.

Au cours de l'expérimentation ; on a suivi l'évolution de la glycémie, du cholestérol, des triglycérides et du poids corporel.

2.4 - Régimes alimentaires

Les valeurs énergétiques du régime naturel *Salsola foetida* et du régime hypercalorique (cookies) sont évaluées dans le tableau ci-après.

Tableau N°I : composition nutritionnelle de régime naturel et du régime hypercalorique

Composants (%)	<i>Salsola phoetida</i>	Régime hypercalorique
	[Mrhari et al., 2000]	
Eau	80	11
Frêne	6.8	7
Cellulose	6	4
Protéines	3.5	18
Carbohydrates	3.2	51
Lipides	0.5	8

.

2.5 - Préparation des cookies

Dans le but d'obtenir le taux de calories souhaité, nous avons préparé une pâte à base d'aliment standard de rats du laboratoire et de Saccharose **Figure 24-(M)**; Dans les mesures suivantes:

- 1000g de la farine (aliment standard des rats moulu)
- 300g de Saccharose
- Eau tiède.

Faire cuire au four pendant 25 min

- Découper la pâte en petits carreaux (2cm X 2cm)
- Chaque animal reçoit 2 portions d'aliment par jour (soit 10 g /jour).



A



B



C



D



E



F



G



H



I



K



L



M

Figure 24 : Chasse de l'animal et mise en œuvre expérimental

II-. METHODES HISTOLOGIQUES ET HISTOCIMIQUES

Les méthodes histologiques utilisées ont été tirées du [Martoja and Martoja, 1967; Gabe, 1968; Chevreau et al., 1977].

1-Réalisation des coupes histologiques

1.1- Prélèvement des organes

L'animal est anesthésié par le chloroforme disposé sur une plaque de dissection fixé par ses membres, nous pratiquons une petite ouverture dans la paroi abdominale du côté de l'orifice génital à l'aide d'une sonde, on ouvre jusqu'à le diaphragme, le cœur bat encore nous prélevons le pancréas et le tissu adipeux viscéral et on les plongeons selon la procédure ultérieure dans le mélange fixateur approprié.

1.2- Fixation

La fixation a pour but le maintien des différentes structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possibles de l'état vivant [Martoja and Martoja, 1967] Dans notre étude les mélanges fixateurs utilisés sont le Paraformaldéhyde dilué à 10 % (FT N°1), le Bouin aqueux (FT N°2) ce derniers prépare mieux les tissus pour l'imprégnation argentique et l'étude histochimique.

Le prélèvement du pancréas est réalisé au vivant pour prévenir l'éventuelle autolyse de l'organe par ses protéases, débarrassé rapidement de tissu adipeux et mis dans le mélange fixateur. Après 2 heures, il est coupé en petits morceaux (5mm) afin de permettre une meilleure pénétration du fixateur dans les tissus. La durée de fixation est d'environ 7 à 8 jours.

Remarque :

Après fixation au formol on procède à un lavage des pièces à l'eau courante pendant 48 heures, afin d'éliminer toute trace de fixateur [Gabe, 1968]

1.3- Inclusion

Nous avons utilisé de la paraffine qui est chimiquement neutre, soluble dans de nombreux solvants et facile à couper au rasoir [Gabe, 1968]. Les solvants de la paraffine étant non miscibles à l'eau tissulaire, pour cela il serait nécessaire de réaliser une déshydratation au préalable.

1.3.1- Déshydratation

Cette étape assure l'élimination de l'eau des tissus et les prépare à l'inclusion, elle se fait dans des tubes de Borel ,progressivement , en passant les pièces dans trois bains successifs d'alcool : éthanol C_2H_5OH de degré croissant : 70°, 90°, 100° (FT N°4). On évitant le séjour prolongé dans les liquides à degré faible pour meilleure inclusion [Chevreau et al., 1977].

Un bain d'alcool 70° pendant 10 minutes.

3 bains d'alcool 96° pendant 5,20 et 20 minutes respectivement chacun

3 bains d'alcool 100° pendant 25,20 et 20 minutes respectivement chacun.

1.3.2-Eclaircissement

Cette étape consiste à remplacer l'alcool non miscible à la paraffine, dans le tissu par un solvant de cette dernière. On a choisi le xylène

Les pièces sont traitées par trois bains :

Un bain de xylène pendant 20 minutes.

Un bain de xylène pendant 20 minutes.

Un bain de xylène pendant 25 minutes.

1.3.3- Imprégnation à la paraffine

Elle se fait dans l'étuve réglée à la température de fusion de la Paraffine (56° - 58°C) ; les pièces sont imprégnées dans trois bains successifs de Paraffine pendant 1 heure chacun.

1.3.4- Confection des blocs

Se pratique dans des moules, contenant de la Paraffine liquide ; l'organe est rapidement plongé dans la Paraffine. Une étiquette portant les références de l'organe suit l'ensemble des étapes et sera placée à l'opposé de l'organe au niveau des cassettes confectionnées.

Nous avons réalisé ces dernières et les étapes qui suivent dans le laboratoire de cytologie (hôpital de Parnet)

1.4- Microtomie

La confection des coupes s'effectue, à l'aide d'un Microtome de type **Leica**, à une épaisseur de 2µm, les coupes sériées sont récoltées sous forme de rubans.

1.4.1- Etalement des coupes

Sur des lames de verre nettoyées à l'alcool, séchées et étiquetées, on dépose quelques gouttes d'eau gélatinée de Masson (**FT N°3**), les coupes sont ensuite étalées sur une platine chauffante par petits rubans de 3 à 4 pièces successives, les lames séchées sont ensuite rangées dans des portoirs et placées dans l'étuve à 39°C pendant au moins 24 heures puis elles sont conservées dans des boîtes de rangement.

Les lames histologiques, ainsi préparées, sont prêtes à être colorées ; pour cela, il est nécessaire de les déparaffiner et de les réhydrater.

1.5- Coloration

L'intérêt de la coloration est d'augmenter le contraste des structures, et de mettre en évidence les divers constituants présents dans la coupe. Dans notre étude nous avons choisi des colorations qui nous permettent une étude topographique, et histochimique :

- Hématoxyline éosine (**FT N°5**), et le Trichrome de Masson variante de Goldner (**FT N°6**).
- L'acide périodique de Schiff (**FT N°7**).
- imprégnation argentique de Gomori. **FT N°8**).

1.5.1- Déparaffinage, réhydratation des coupes et coloration

Dans une étuve réglée au point de fusion de la paraffine, on chauffe les lames de manière à faire fondre la paraffine, cette dernière est ensuite éliminée par un passage dans deux bains successifs de xylène. La réhydratation des coupes se fait dans trois bains successifs d'alcool de degré décroissant (100°, 90°, 70°), suivie d'un bain final d'eau distillée.

1.5.2- Déshydratation et montage

Le but de cette étape est la préservation et la protection des coupes histologiques colorées. La déshydratation des coupes consiste à faire passer les lames colorées dans des bains d'alcool éthylique à des degrés croissants (70°, 96°, 100°) suivis de deux bains de xylène. Le montage des coupes s'effectue entre lame et lamelle au Baume de Canada.

1.6- Etude microscopique

Effectuée après chaque coloration, afin d'apprécier le stade inflammatoire au moyen d'un microscope photonique du model Zeiss; La prise des photos a été réalisée au laboratoire de cytologie par un photo-microscope de type : Zeiss muni d'une caméra numérique reliée à un micro-ordinateur.

2- Réalisation des frottis sanguins colorés [Martoja et Martoja, 1967]

2.1- Principe

Il permet l'identification de l'espèce plasmodiale : les éléments figurés du sang sont étalés en couche monocellulaire. Cela permet de voir certains aspects morphologiques utiles au diagnostic.

2.2- Protocole expérimental

A l'extrémité d'une lame ; on dépose une petite goutte de sang, puis avec une autre lame on étale le plus possible. On laisse sécher la lame et la placer dans une boîte de PETRI. On verse 20gouttes de colorant de MAY-GRUNWALD (FT N°11), on couvre la lame pour éviter l'évaporation du solvant (alcool), et on laisse agir pendant 3 minutes, puis on ajoute 20 gouttes d'eau distillée tamponnée (pH 7) pendant 1 minute. Bien enlever l'excès de colorant avec quelques ml d'eau que l'on fait couler goutte à goutte sur la lame légèrement inclinée. Après avoir agité celle-ci plusieurs fois pour enlever l'eau la placer dans une deuxième boîte de pétri contenant une solution fraîchement préparée (40 gouttes) de GIEMSA dans 20ml d'eau distillée neutre. Laisser colorer pendant 10 minute ; laver à l'eau. Secher avec précaution à l'aide d'un papier filtre par pression et sans frottement. Examiner au microscope et évaluer une proportion des polynucléaires et les mononucléaires.

III – MÉTHODES UTILISÉES POUR L'ETUDE BIOCHIMIQUE

1- Dosage des constituants plasmatiques

Pour permettre de déterminer le stade de développement du syndrome métabolique des dosages des principaux paramètres biochimiques métaboliques (glycémie, cholestérol total, triglycérides et insuline) sont effectuées, les méthodes utilisées sont les méthodes colorimétriques enzymatiques et immunologiques, après centrifugation des sérums obtenus des tubes héparinés prélevés.

1.1 Le glucose plasmatique : la méthode GOD-POD utilisé pour le dosage de la glycémie et le test colorimétrique enzymatique de **TRINDER** (kits Eurobio), le glucose sanguin est dosé par la méthode enzymatique à la glucose oxydase et la densité optique des essais et des standards est lue par un automate de type()contre le blanc à 505nm ;la concentration du glucose : $DO \text{ échantillon } / DO \text{ standard}$ est donnée en g/L du Plasma par le même programme.

1.2 Les triglycérides : elles sont dosées par la méthode enzymatique colorimétrique GPO-PAP de **FOSSATI** par des kits Biomaghreb, après dosage,la densité optique est lu contre 505 nm par le même automate.

1.3 Le cholestérol total : la méthode de dosage est le test colorimétrique **FASCE** (kits Biomaghreb)

1.4 L'Insuline : l'insulinémie, a été déterminée par méthode immunologique ELISA chez un laboratoire privé.

IV-ANALYSE STATISTIQUE :

Pour chaque série d'analyses, sont calculées les moyennes (\bar{X}) l'écart type (**S**) et l'erreur standard à la moyenne (**ESM**). La comparaison des données recueillis au cours du traitement ont été analysées par comparaison des moyennes \pm erreur standard à la moyenne (ESM) avec le test *Student-Fisher* à un seuil de 0,05. Les variables statistiques employées sont résumés ci-dessous :

Moyenne (\bar{x}_i) : Variable quantitative d'effectif n

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_2$$

Ecart type (S) : Déviation standard

$$S = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Variance (S^2) : n_1 et n_2 pour l'effectif des échantillons

$$S^2 = \frac{1}{(n_1 + n_2 - 2)} \left[\sum_{i=0}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2 + \sum_{j=0}^{n_2} (x_{2j} - \bar{x}_2)^2 \right]$$

Erreur standard à la moyenne (E.S.M) : Marge d'erreur

$$ESM = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Valeur de $|t|$: comparaison entre deux moyennes \bar{x}_1 et \bar{x}_2 observées sur deux échantillons d'effectifs respectifs n_1 et n_2

$$|t| = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S^2}{n_1} + \frac{S^2}{n_2}}}$$

Pour un d.d.l de $[(N(a) + N(b)) - 2]$ et à 5% d'erreur, la valeur de t nous donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student

- Peu significative : $P < 0.05$ (*).
- Significative : $P < 0.01$ (**).
- Très significative : $P < 0.001$ (***)).
- Très hautement significative : $P < 0.01$ (****).

Chapitre III

Résultats et Discussion

I- Résultats Bio-métaboliques

I- RESULTATS BIO-METABOLIQUES

1 - Evolution des paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques permettant de déterminer l'évolution du diabète et des troubles métaboliques chez *Po* soumis au RHC comparativement à l'animal témoin nourri aux plantes halophiles de son biotope.

Pour les animaux témoins et pour l'ensemble des paramètres, les différences étant pas significatives nous avons pris les moyennes calculées pour chaque paramètre que nous avons comparé à ceux des animaux soumis au RHC. Tout au long de l'expérimentation, le dosage des paramètres biochimiques a été effectué en prenant des échantillons chaque mois pour les paramètres plasmatiques et chaque semaine pour le poids corporel.

Les prélèvements sanguins ont été arrêtés au 10^{ème} mois afin de garder les animaux en vie. Durant cette période tous les animaux restants sont diabétiques. Les valeurs moyennes des paramètres étudiés sont reportés sur les graphes des figures .

L'ensemble des résultats mettant en évidence l'évolution des paramètres pondéraux et biochimiques plasmatiques portant sur une période de 10^{ème} mois chez *Po* témoin et rendu diabétique par un régime hypercalorique est donné dans le tableau IV

3 - Représentations graphiques

3.1-Évolution du poids corporel chez les *psammomys obesus* témoins

Les rat des sables soumis au RN pendant 3 mois présentent une évolution pondérale de faible amplitude varie entre 90.876 ± 1.30 g à 101.247 ± 2.76 g à la fin du 3^{ème} mois (**Figure 29**)

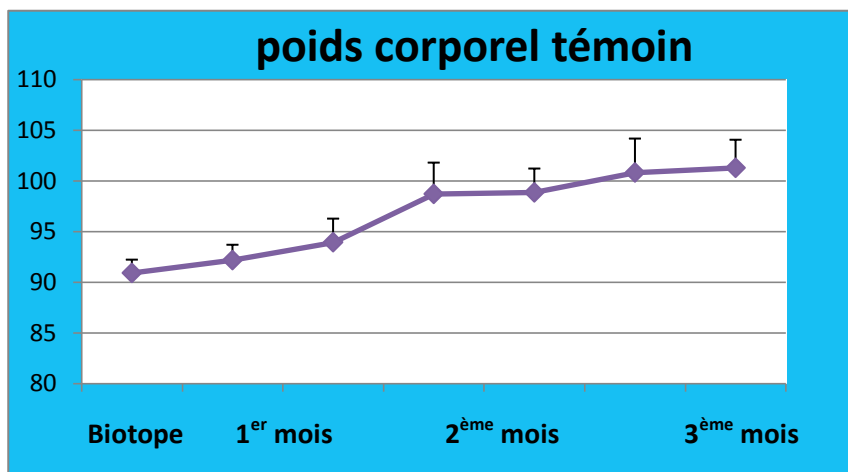


Figure 29 :évolution pondéral chez les animaux témoins(les moyennes du poids corporel sont calculées chaque quinzaine de jours).

3.2- Evolution du poids corporel et de la masse viscérale chez *psammomys obesus* soumis au RHC

Quant au *psammomys* soumis au RHC pendant la même période ,il développe très rapidement une obésité significative de leurs poids qui atteint de 131.70 ± 4.54 g au 6^{ème} mois et tend à diminuer à partir du 8^{ème} mois.

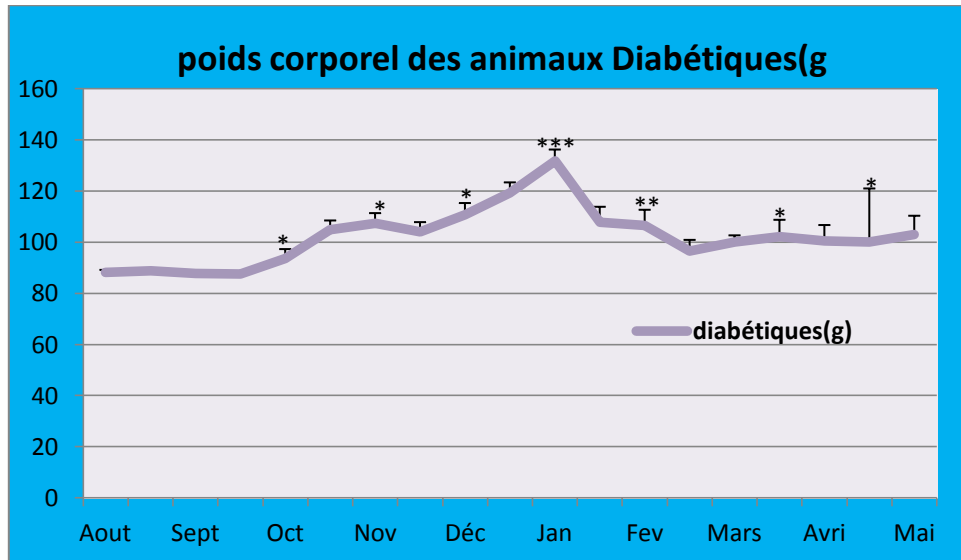


Figure 30: Évolution pondérale chez les animaux soumis au RHC

Le TA viscérale, passe de $0,513 \pm 0.06$ g au 1^{er} mois atteint 2.26 ± 0.01 g au 4^{ème} mois et marquera au 10^{ème} mois 2.88 ± 0.02 g ; une augmentation qui est très significative par rapport au témoin qui avait une moyenne de 0.40 ± 0.01 g.

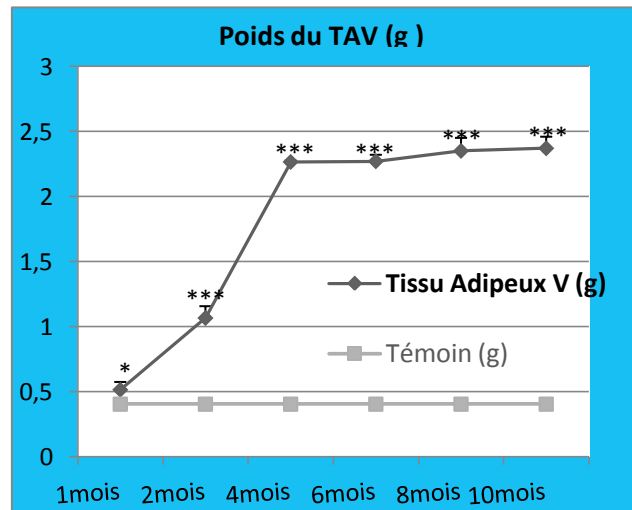


Figure 31 : Évolution pondérale du TAV chez les *Po* soumis au RHC en fonction du temps, par rapport à la valeur moyenne calculée chez les témoins.

4. Evolution des paramètres métaboliques

4.1 - Glycémie

La glycémie chez les témoins est de l'ordre 0.618 ± 0.01 g/L de plasma et ne subit pas de changement significatif pendant les trois mois. Elle est de l'ordre de 0.625 ± 0.026 g/L de plasma à la fin, et les variations sont non significatives de l'ordre $0,211$.

Chez *Po* nourris au RHC, la moyenne de la glycémie tend à augmenter dès le premier mois de l'instauration du RHC ; elle passe de $0.78 \pm$ g/L de plasma au premier mois $0.94 \pm$ g/L du plasma au 2^{ème} mois ; pour atteindre à la fin du 10^{ème} mois $2.28 \pm$ g/L du plasma. (la figure 32 ($0.61 \pm$ g/L du plasma)). Cette augmentation est très significative est de l'ordre de près de 300 %.

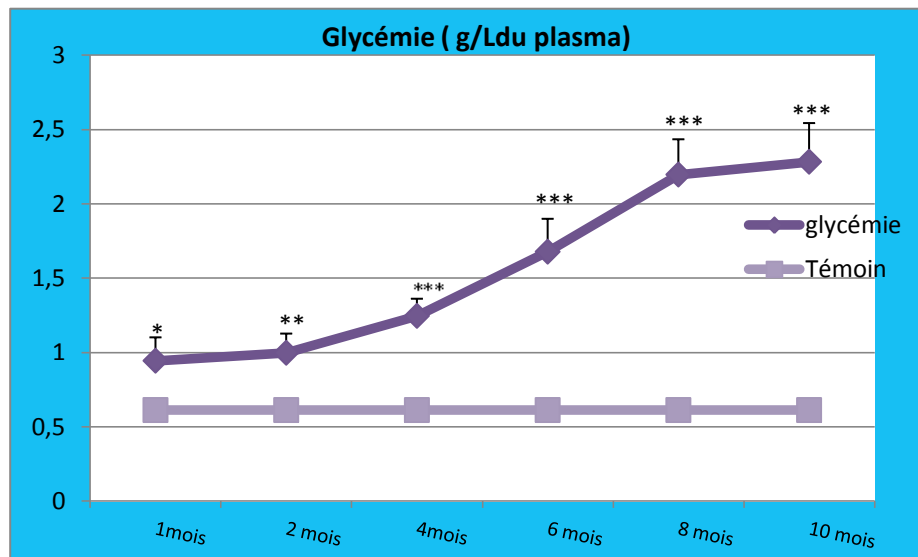


Figure 32 : Variations de la glycémie chez *Po* soumis au RHC en fonction du temps, par rapport à la valeur moyenne calculée chez les témoins

4.2- Bilan lipidique

4.2.1- Les triglycérides

Les résultats de l'évolution de la triglycéridémie chez les témoins et chez les animaux soumis au RHC est reportés sur la figure 33. L'augmentation des triglycérides sanguins est rapidement détectée chez les animaux nourris au RHC : elle passe de $0,76 \pm 0.21$ g/L de plasma dans le premier mois presque double ses valeurs au 2^{ème} mois $1,41 \pm 0.17$ g/L. Cette augmentation devient de plus en plus significative en fonction de la durée du RHC et atteint $3,12 \pm 0.22$ g/L de plasma au 10^{ème} mois.

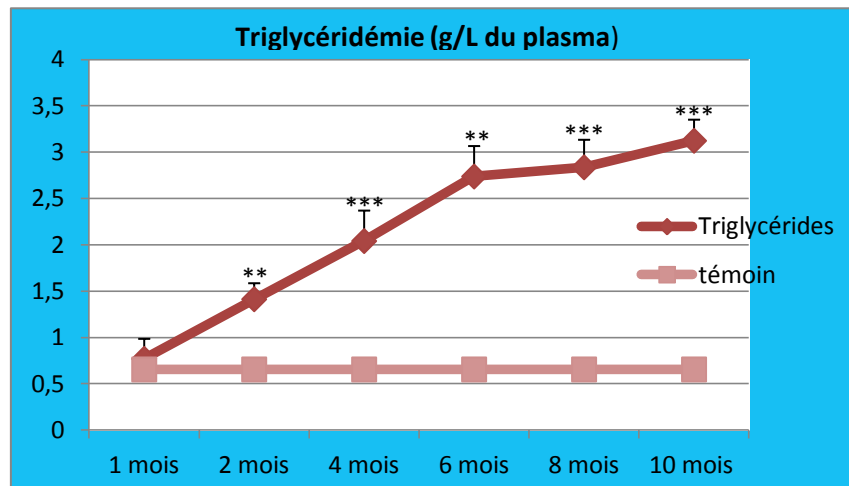


Figure 33: Variations des taux des triglycérides sanguins chez *Po* soumis au RHC en fonction du temps, par rapport à la valeur moyenne calculée chez les témoins

4.2.2- Cholestérol total

Les variations des taux du cholestérol total sont données dans la **figure 34**. Le cholestérol total augmente lentement les deux premiers mois : la moyenne passe de 0.71 ± 0.12 g/L de plasma le 1^{er} mois à 0.87 ± 0.17 g/L au 2^{ème} mois pour atteindre plus de 2.25 ± 0.15 g/L de plasma à la fin de l'expérimentation. Cette augmentation est très significative puisqu'elle indique une croissance au 10^{ème} mois de 260 %.

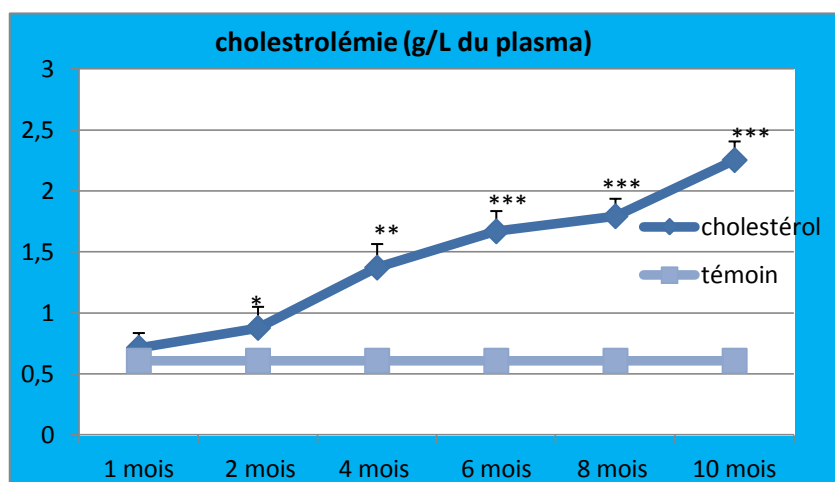


Figure 34 : Variations des taux du cholestérol total chez *Po* rendu diabétique par RHC en fonction du temps, par rapport à la valeur moyenne calculée chez les témoins

4.3 - L'insulinémie

Les variations des taux d'insuline chez *Po* sous RHC et des témoins, en fonction du temps est reportée sur **la figure 35**. Au premier mois à $0.94 \pm \mu\text{U/L}$ du plasma au 2^{ème} mois ; pour atteindre à la fin du 10^{ème} mois $2.28 \pm \mu\text{U/L}$ du plasma (**la figure 35**) cette augmentation est très significative.

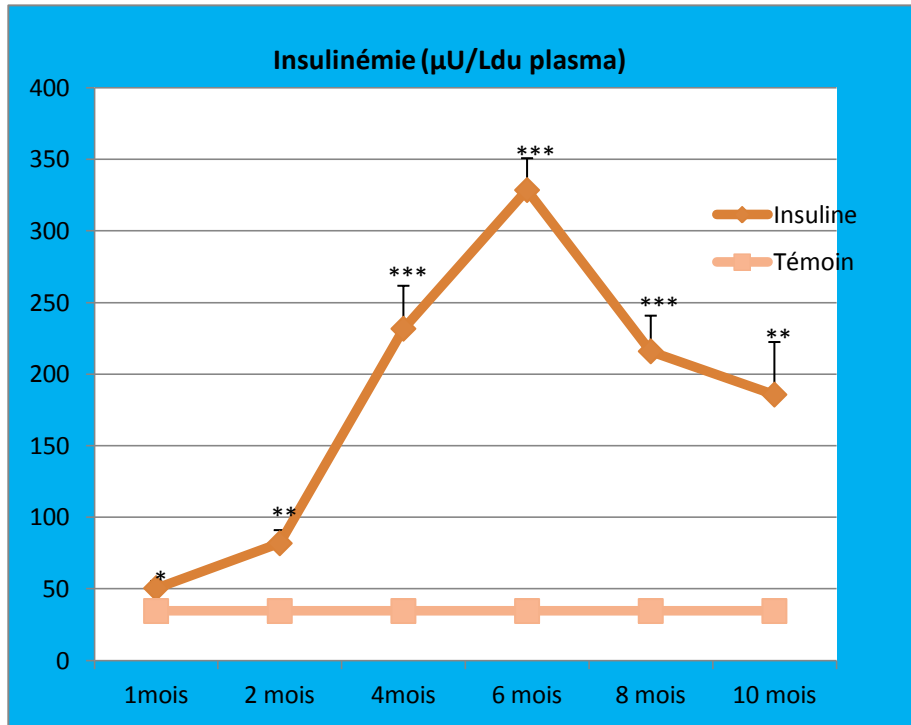


Figure 35 : Variations des taux d'insuline chez *Po* soumis au RHC en fonction du temps, par rapport à la valeur moyenne calculée chez les témoins.

Discussion des résultats bio-métaboliques

Discussion des résultats bio-métaboliques

Le Régime Naturel (RN) à base de plantes halophiles assure aux rats des sables un faible apport calorique. Malgré le changement de biotope et la manque d'effort physique dans les cages du laboratoire, les animaux témoins maintiennent leur homéostasie glucidique et métabolique par l'administration de leur aliment naturel, les chénopodiacées. Par contre l'instauration d'un régime de laboratoire, régime riches en glucides, a induit une prise de poids chez nos animaux et une hyperglycémie détectée dans des stades très précoces.

A partir du 3ème mois des troubles marqués dans le métabolisme lipidique s'associent à la dyslipidémie. Les taux de l'insuline augmentent rapidement chez ces animaux, à partir des premières semaines et jusqu'au 6ème mois. Durant cet intervalle, l'insulinorésistance et l'installation du Diabète de type II sont confirmées par une hyperglycémie plus sévère, une hypertriglycéridémie et une hypercholestérolémie associées à un hyperinsulinisme très significatif.

A partir du 6ème mois, une déficience des quantités d'insuline est notée par une chute brutale de ses valeurs. Cette insulino-pénie serait corrélée négativement avec celles de la glycémie, de la triglycéridémie et des taux sanguins de cholestérol qui s'élèvent de plus en plus. Un tel désordre persiste jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Au 10ème tous les animaux du lot exhibent les signes de Diabète de type II et du SM (gain de poids, insulino-pénie, hyperglycémie chronique, hyperlipidémie ...). Cette observation a été confirmée par de nombreuses études de notre laboratoire à l'USTHB et à travers le monde. *Psammomys obesus* apparait bien comme un modèle animal de choix pour l'étude du SM et des troubles métaboliques qui lui sont associés telle que l'obésité en particulier, L'accumulation intra-abdominale de graisse estimée par la pesée du poids du tissu adipeux viscérale (TAV) des animaux du lot expérimental sacrifiés a été très significative. Le taux des TAV s'accroît au fil du temps, ce qui prouve que la prise du poids de ces animaux est essentiellement due à l'accroissement de ce tissu au niveau viscéral.

Notons que ce TAV serait bénéfique puisqu'il permettrait la séquestration rapide des AG sous forme des TG et donc prévenir les effets toxiques des taux circulants élevés des AGNE sur les divers organes viscéraux. Néanmoins son excès peut conduire à d'autres effets délétères dont la pathologie n'est pas due seulement à l'adipocyte, mais aux autres types cellulaires présents au sein du tissu adipeux. Ce tissu constitue un facteur prédictif important de détérioration métabolique diabéto-gène et athéro-gène.

Des travaux réalisés sur *Po* ont démontré l'hypersécrétion de chimérine par le TAV. Cette surexpression se manifeste par des taux très élevés chez les *Po* obèses et diabétiques par rapport aux témoins [Bozaoglu.et al., 2007]. Chez l'être humain dans les conditions physiologiques cet adipokine accroît le captage du glucose en réponse à l'insuline et permet la Phosphorylation d'IRS-1 dans l'adipocyte et supprime l'expression du TNF α et de l'IL6. Elle stimule en revanche celle de l'adiponectine. De plus un rôle majeur dans la différenciation des

adipocytes lui a été attribuée récemment par [Goralski et al., 2007] ce qui suggère que la surexpression de la chimerine chez le *Po* obèse est l'un des facteurs responsables de l'accroissement du TAV.

D'autres travaux chez *Po* soumis au RHC [Walder et al., 2001] ont montré que le poids corporel et le poids du TAV sont corrélées positivement avec les concentrations plasmatiques de la leptine. Les animaux deviennent obèses et leptinorésistants et l'administration de doses de leptine qui diminuent la prise de nourriture chez les animaux témoins et chez d'autres rongeurs ou même chez la souris Ob/Ob, n'ont pas d'effets perceptibles sur les *Po* obèses. Selon ces chercheurs les animaux obèses sont relativement insensibles à la leptine et leur leptinorésistance serait un facteur prédisposant ces individus à exhiber les signes du syndrome métabolique.

Soulignons que d'autres travaux [Collier et al., 2002] ont montré que la leptinémie de *Po* croît significativement chez tous les animaux insulino-résistants et d'une manière indépendante du poids corporel. Ces chercheurs considèrent l'insuline comme un agent régulateur majeur de la leptine et de l'expression du gène Ob. Le TAV en excès chez *Po* accroît par conséquent la sécrétion locale et systémique des cytokines et peut alors conduire à d'autres effets délétères et dont la pathologie n'est pas due exclusivement à l'adipocyte mais aux autres types cellulaires qui viennent y loger.

En parallèle, le bilan lipidique indique une élévation des taux de cholestérol total et des triglycérides sanguins qui s'aggrave au fil de l'expérimentation, comparativement au témoin. Cette dyslipidémie spontanée due au RHC avait été préalablement démontrée par les travaux de [Mrhari et al., 2000] et [Walder, 2002]. Ces chercheurs de différentes équipes montraient de plus de l'élévation des taux du Cholestérol total et des triglycérides sanguins présentent aussi des altérations du métabolisme des lipoprotéines (entre autres les VLDL et les LDL).

Les travaux de [Donath et al., 2010] ont montré que la légère hyperglycémie manifestée chez les animaux obèses est associée par une courte et durable élévation dans la prolifération des cellules bêta. Néanmoins l'hyperglycémie chronique serait corrélée positivement avec l'accélération de la perte des cellules bêta morte par apoptose après 30 j d'expérimentation avec une sévère destruction des îlots pancréatique .

Dans les stades avancés du diabète où l'hyperglycémie extrême est associée à une hypertriglycéridémie marquée, les cellules bêta mortes par nécrose coexistent avec celles mortes par apoptose. Des travaux récents sur les cellules bêta de *Po* ont montré que l'hyperglycémie chronique altère la signalisation de l'activité électrique lors du développement de la maladie [Charle et al., 2009]. En outre, des données récentes suggèrent que le cholestérol pourrait également jouer un rôle majeur dans le contrôle de la fonction et de la survie des cellules bêta.

Le cholestérol intracellulaire constitue un acteur majeur de l'insulino-sécrétion, de sorte que toute baisse de cholestérol intracellulaire mène à la transcription de SERBP2 qui stimule la synthèse endogène du cholestérol ainsi que la capture des LDL en augmentant l'expression des récepteurs LDLR. Cependant la surexpression du SREBP2 ciblé dans les cellules β de la souris Tg-b SREBP2 provoque une augmentation des concentrations intracellulaires du cholestérol et la diminution de la sécrétion de l'insuline. Ces animaux deviennent diabétiques, la taille et le nombre de leurs îlots diminuent et le contenu en insuline dans les cellules bêta diminuent également. L'élévation du cholestérol intracellulaire provoque donc des

changements phénotypiques attestant des troubles de différenciations des cellules béta [Ishikawa et al., 2008]. Ces auteurs constatent une diminution de l'expression du PDX-1 et BETA 2 tous deux facteurs importants pour le développement et la survie des cellules β productrices de l'insuline.

L'action néfaste du cholestérol extracellulaire dans la déficience de la sécrétion de l'insuline a été confirmée par une autre étude sur la lignée INS-1 exposée à des taux élevés de cholestérol dans le milieu de culture [Abderrahmani et al., 2007]. D'autres travaux ont mis en évidence la présence de récepteurs des lipoprotéines fonctionnels sur les membranes des cellules béta humaines, des rats, et des souris, [Cnop et al., 2002 ; Roehrich, 2003] et des hamsters [Okajima et al., 2005]. L'exposition des cellules β aux LDL in vitro sont toxiques et provoquent la mort des cellules béta par nécrose chez le rat et par apoptose chez la souris [Roehrich et al., 2003]. Les LDL oxydés semblent être capables de réprimer l'expression du gène de l'insuline et de diminuer la sécrétion de l'insuline par activation de la voie JNK [Abderrahmani et al., 2007 ; Okajima et al., 2005].

Les événements moléculaires de l'action du cholestérol et des autres lipoprotéines sur les cellules à insuline restent en partie non élucidés. Ils pourraient faire intervenir les radeaux lipidiques riches en cholestérol et en sphingolipides qui sont le lieu d'accumulation et de regroupement à la membrane plasmique des protéines SNARE ainsi que les canaux ioniques [Lang, 2007]. On peut constater ainsi que le taux sanguin de cholestérol total qui s'élève chez la plupart de nos animaux au cours de l'expérimentation peut affecter la sécrétion et la survie et même la différenciation des cellules β .

II- Résultats Histologiques

Planche I : Coupes histologiques du pancréas de *Po* témoin

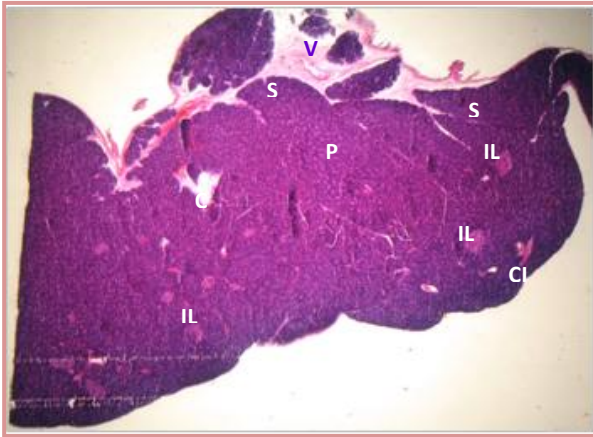


Figure 1: Vue d'ensemble d'une coupe histologique du Pancréas de *Po* montrant le parenchyme exocrine et endocrine. Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gx950.

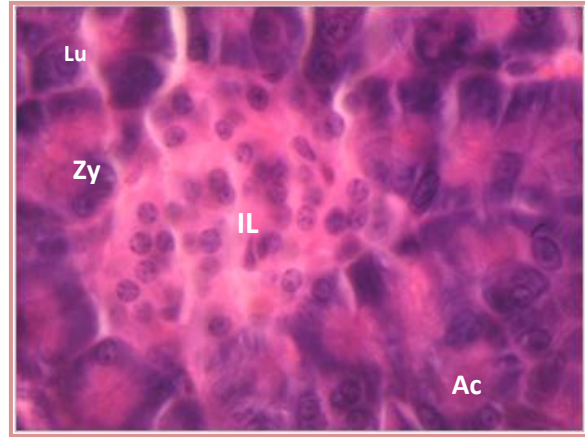


Figure 2 : coupe histologique d'une portion de glande amphicrine de *Po*. Coloration HE. GX 9500.

Ac : acinus, **C :** canal exocrine, **CI:** canal inter lobulaire, **IL :** îlot de Langerhans, **Lu :** lumière, **PE :** parenchyme exocrine, **Sp :** Septum, **VS :** vaisseau sanguin, **Zy :** grains de zymogène, **HE:** Hématoxyline-éosine. **TM:** Trichrome de Masson , **G:**grossissement

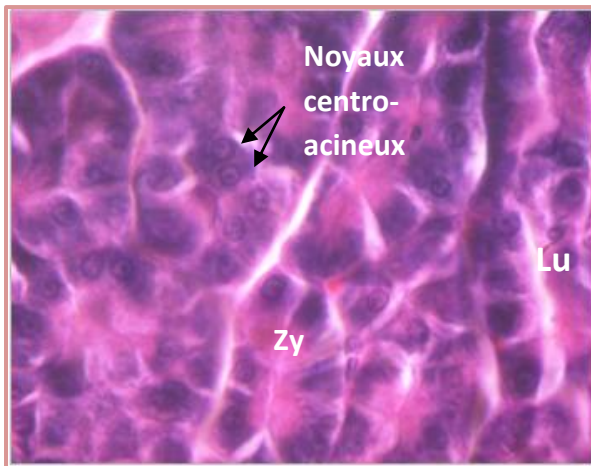


Figure 3 : coupe histologique mettant en évidence le parenchyme exocrine. Coloration HE.GX 9200.

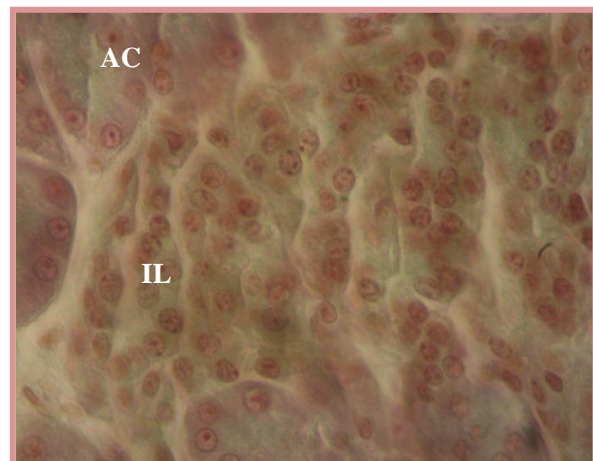


Figure 4 : Coupe histologique montrant le détail d'un îlot de Langerhans. Coloration TM. Gx9300.

Planche I : Coupes histologiques du pancréas de *Po* témoin

Figure 1: Vue d'ensemble d'une coupe histologique du Pancréas de *Po* montrant le parenchyme exocrine et endocrine. Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gx100

La coupe histologique montre que le Pancréas se présente sous la forme d'une glande lobulée, formée par deux principaux tissus : La composante exocrine colorée en rose violacée : le parenchyme exocrine «PE», entouré d'une fine capsule qui donne naissance à de fins septums s'enfonçant entre les lobules, chaque lobule est constitué de « PE » formé d'acini séreux entassés et d'une composante endocrine représentée par de petites plages arrondies, claires, disposées sans ordre, éparpillées au sein de ce parenchyme .Ces dernières représentent les îlots de Langerhans.

Figure 2 : Coupe histologique du Pancréas de *Po* montrant une portion de glande amphicrine. Coloration à l'hématoxyline éosine. Gx1000.

La coupe histologique met en évidence grâce à la colorabilité à l'hématoxyline éosine. Des cellules acineuses du pancréas exocrine qui contrastent avec l'aspect clair des cellules insulaires du pancréas endocrine : l'îlot de Langerhans à un aspect ovoïde, légèrement allongé. Il est séparé de la portion exocrine par une fine capsule conjonctive. On voit apparaître au centre de l'îlot les cellules β sécrétrices d'insuline à noyaux sphériques, la chromatine apparaît en forme de motte, le nucléole est bien visible.

Figure 3: Coupe histologique du Pancréas de *Po* mettant en évidence le parenchyme exocrine. Coloration à Hématoxyline-éosine. Gx1000.

Le fort grossissement de la coupe histologique du pancréas montre : le parenchyme exocrine constitué par des acini : ce sont des cellules à aspect pyramidales : cellules séreuses présentant un cytoplasme basophile, le noyau parabasal, un nucléole proéminent, les limites entre les cellules ne sont pas nettes, lumière de l'acinus est virtuelle, au niveau du pôle apical de la cellule pyramidale s'accumulent des grains de sécrétion, ce sont les grains de zymogènes ; la lame basale délimite la cellule est se trouve au niveau du pôle basal .On observe également des cellules centro-acineuses caractérisées par la présence de deux noyaux.

Figure 4 : Coupe histologique du Pancréas de *Po* montrant le détail d'un îlot de Langerhans. Coloration à au Trichrome de Masson. Gx1000.

La colorabilité au trichrome de Masson et le fort grossissement permet d'observer le détail de l'îlot de Langerhans. Le parenchyme endocrine présente des structures en cordons nettement apparents, On voit apparaître au centre de l'îlot les cellules β , majoritaires et regroupées au centre de l'îlot, sécrétrices d'insuline à noyaux sphériques et nucléole visible. En périphérie s'observent deux autres types de cellules. Cellules α sécrétrice de glucagon. Les cellules γ et PP qui sécrètent respectivement la somatostatine et le polypeptide pancréatique.

Planche II : Coupes histologiques du pancréas de *Po* obèse de 3^{ème} mois



Figure 1 : Vue externe de pancréas après dissection de *Po* au 3^{ème} mois de RHC

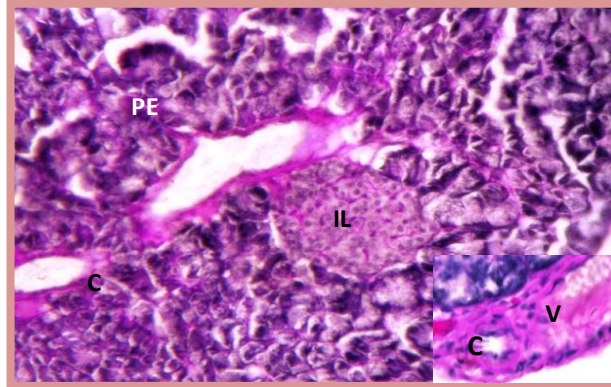


Figure 2: Vue d'ensemble d'une coupe histologique du pancréas de *Po* obèse. Coloration PAS. G x 3960.

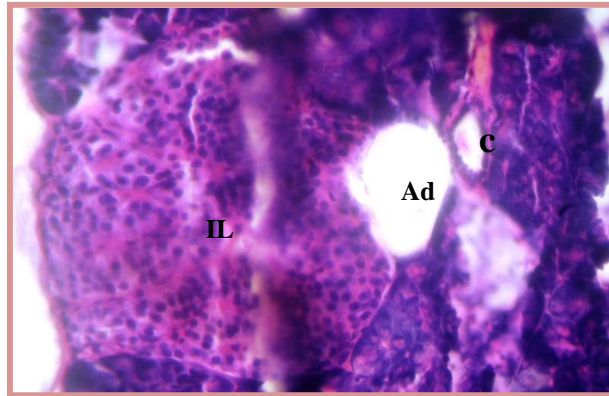


Figure 3 : coupe histologique d'un îlot de Langerhans de *Po* obèse. Coloration HE. Gx 3915



Figure 3' a

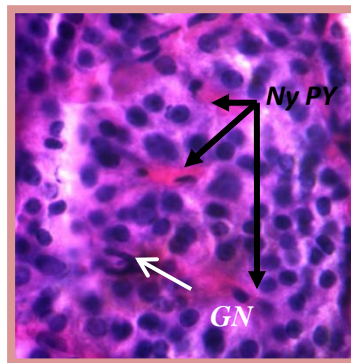


Figure 3' b

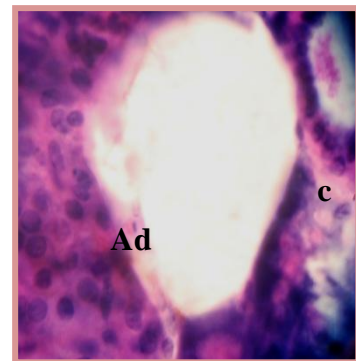


Figure 3' c

Figure 3' (a, b et c): coupes histologiques de différentes portions d'un îlot de Langerhans de *Po* .Coloration HE. G x6300.

Ad : adipocyte, **C :** canal exocrine, **GN :** gros noyaux, **IL :** îlot de Langerhans, **Ny Py :** noyaux pycnotiques, **PE :** parenchyme exocrine, **PAS :** Acide Périodique Schiff, **HE:** Hématoxyline-éosine, **G :** grossissement.

Planche II : Coupes histologiques du pancréas de *Po* obèse de 3^{ème} mois

Figure 1 : Vue externe de pancréas après dissection de *Po* au 3^{ème} mois de RHC.

La prise du poids de l'animal pendant les premiers mois du RHC se manifeste par l'accroissement de la masse viscérale qui apparaît autour de l'intestin.

Figure 2 : Vue d'ensemble d'une coupe histologique du pancréas de *Po* obèse. Coloration PAS. G x450.

Cette coupe histologique montre un début de fibrose qui apparaît nettement autour des canaux excréteurs. Ceci est le signe d'un processus inflammatoire en évolution. Le canal excréteur est constitué d'un épithélium simple, cubique, ses cellules sont juxtaposées à noyau central et à large lumière. On remarque que l'îlot de Langerhans est hypertrophié et baigne dans un parenchyme exocrine constitué de cellules acineuses.

Figure 3 : coupe histologique d'un îlot de Langerhans hypertrophié de *Po*. Hématoxyline-éosine. Gx450.

Cette coupe histologique, nous permet d'observer une hypertrophie de l'îlot de Langerhans consécutive à une hyperplasie des cellules bêta. L'accroissement de la sécrétion d'insuline à partir du troisième mois et tout à fait cohérente avec l'hyperglycémie constatée à ce stade par nos résultats bio métaboliques.

Figure 3' (a, b et c): coupes histologiques de différentes portions d'un îlot de Langerhans de *Psammomys Obesus*. Coloration Hématoxyline-éosine. G x1000

On remarque également un début d'infiltration des cellules adipeuses qui s'observe à la limite des deux parenchyms exocrine et endocrine. Les cellules de l'îlot maintiennent leur architecture en cordon. On retrouve l'hyperplasie des cellules β , avec la présence de noyaux riches en hétérochromatine d'où noyaux pycnotiques (Ny PY). On remarque aussi la présence de cellules présentant de gros noyaux (GN) lobés parfois en forme de U (polynucléaires) qui rappellent les cellules immunitaires retrouvées lors du processus inflammatoire. Entre les cordons cellulaires on constate la présence de nombreux noyaux des fibroblastes qui seraient à l'origine de la synthèse des fibres de collagène et de la matrice extracellulaire.

Planche III : Coupes histologiques du pancréas de *Po* Diabétique

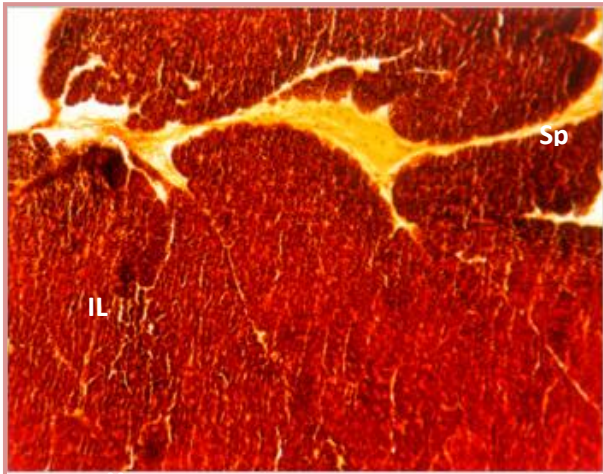


Figure 1 : Coupe histologique d'une vue d'ensemble du Pancréas de *Po* mettant en évidence une fibrose. Coloration par imprégnation argentique de GOMORI. Gx950

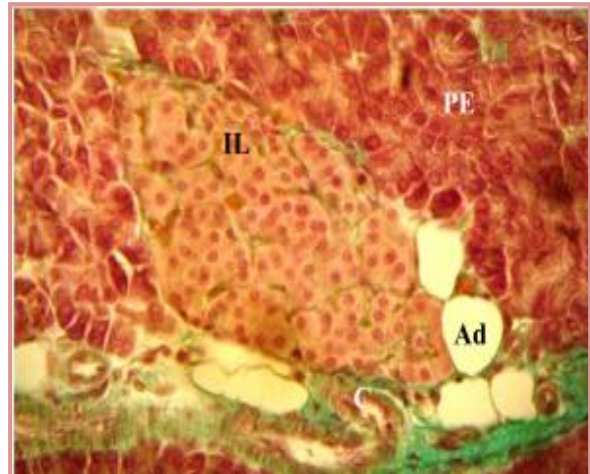


Figure 2 : Coupe histologique d'une portion du pancréas de *Po* mettant en évidence un îlot encapsulé et une fibrose. Coloration TM. Gx4410.

Ac : acinus, **C :** canal exocrine, **IL :** îlot de Langerhans, **PE :** parenchyme exocrine, **Sp :** Septum, **HE:** Hématoxyline-éosine. **TM:** Trichrome de Masson, **G:** grossissement.

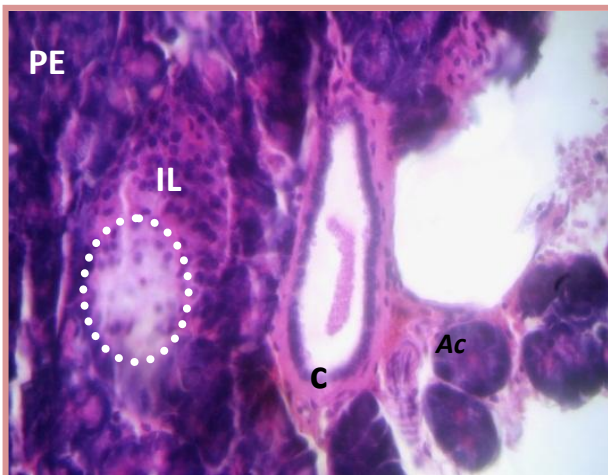


Figure 3 : Coupe histologique d'un îlot de Langerhans de *Po* en voie de dégénérescence. Coloration HE. Gx3960

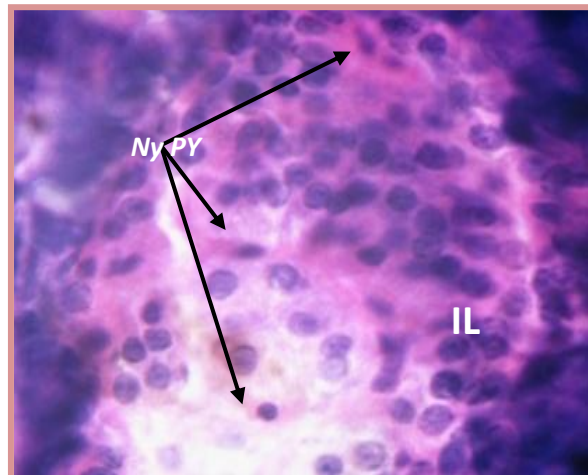


Figure 3' : Coupe histologique du détail d'une portion d'îlot en dégénérescence de *Po*. coloration HE. Gx8900

Planche III : Coupes histologiques du pancréas de *Po* diabétique

Figure 1 : Coupe histologique d'une vue d'ensemble du Pancréas de *Po* mettant en évidence une fibrose pancréatique. Coloration par imprégnation argentique de GOMORI. Gx100

Cette coupe histologique met en évidence grâce à la coloration d'imprégnation argentique de Gomori les fibres de collagènes de type I bien visibles, ils sont l'indice d'une fibrose pancréatique avancée chez le diabétique. Cette fibrose délimite les lobules qui renferment le parenchyme exocrine et endocrine et qui sont séparés par des septums.

Figure 2 : Coupe histologique d'une portion du pancréas de *Po* mettant en évidence un îlot encapsulé et une fibrose. Coloration TM. Gx450

Dans cette coupe, L'îlot de Langerhans conserve son architecture intégrale, il apparaît ovoïde, allongé bien encapsulé par un tissu conjonctif fibreux et encerclé par le parenchyme exocrine constitué d'acini séreux. Au voisinage de ces cellules séreuses s'observe des cellules adipeuses bien délimitées et incluses dans le tissu conjonctif qui se développe au dépend des acini séreux.

Figure 3: Coupe histologique d'un îlot de Langerhans de *Po* en voie de dégénérescence. Coloration HE. G x 450

Cette coupe histologique montre au fort grossissement le détail d'un îlot de Langerhans. On remarque au centre de l'îlot une plage blanche dépourvue de cellule β . On aperçoit également un canal excréteur, dont la lumière importante laisse apparaître une substance pancréatique. Ce canal est entouré par des fibres de collagène qui ont envahi le parenchyme exocrine et par des cellules inflammatoires soulignant ainsi l'aspect physiologique de la fibrose. Une atrophie des cellules acineuses est observée également.

Figure 4 : Coupe histologique du détail d'une portion de l'îlot de *Po* en voie de dénaturation. Coloration HE. G x1000

Au plus fort grossissement, la partie centrale de l'îlot apparaît constituée de plages claires car dépourvues de cellules β du fait de la glucotoxicité et la lipotoxicité retrouvée à ce stade de l'évolution du diabète. On observe des cellules géantes à cytoplasme clair qui rappellent la cellule phagocytaire du tissu conjonctif : le macrophage. Le diabète est installé il y a hyperglycémie et insulino-pénie que nous avons au préalable mise en évidence au cours de notre étude des paramètres bio métaboliques.

Planche IV : Coupes histologiques du pancréas de *Po* Diabétique

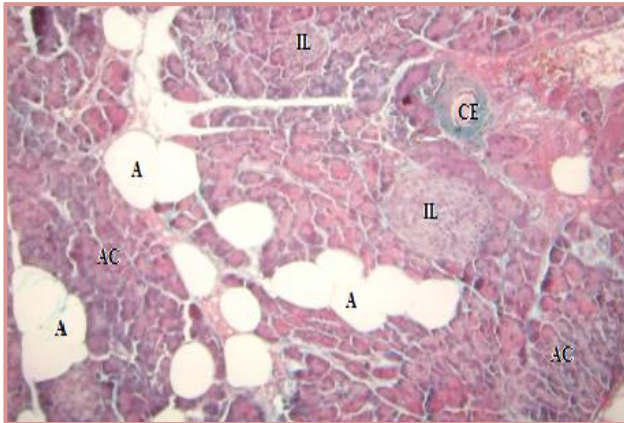


Figure 1 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence le remaniement du tissu exocrine et endocrine. Coloration au TM. Gx4140

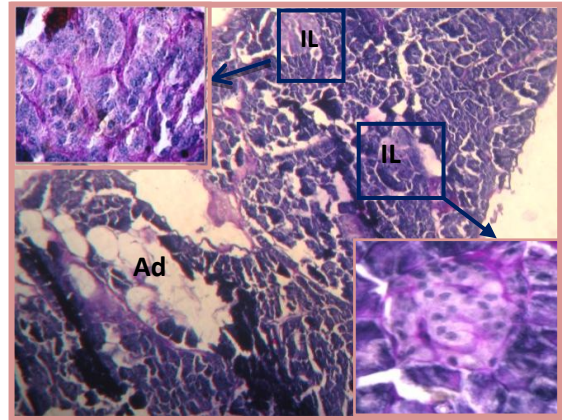


Figure 2 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence la prolifération du tissu adipeux au niveau du parenchyme pancréatique. Coloration au PAS. Gx4140 et 3900.

Ac : acinus, **Ad** : adipocyte, **Ap** : cellules apoptotiques, **C** : canal exocrine, **D** : ductule, **IL** : îlot de Langerhans, **PE** : parenchyme exocrine, **PAS** : acide périodique Schiff, **TM** : Trichrome de Masson, **HE** : Hématoxyline-éosine, **G** : grossissement.

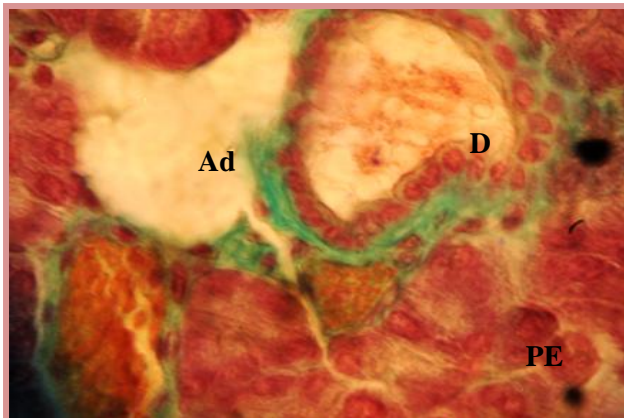


Figure 3 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence un ductule entouré par un PE en voie de dénaturation. Coloration au TM. G x 9900.

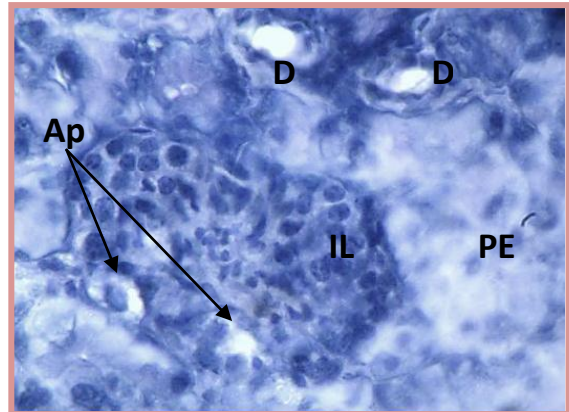


Figure 4 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence un ductule entouré par un PE en voie de dénaturation. Coloration au HE. G x 9800.

Planche IV : Coupes histologiques du pancréas de *Po* diabétique

Figure 1 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence le remaniement du tissu exocrine. Coloration au Trichrome de Masson. Gx450.

Cette coupe histologique du pancréas montre un remaniement du tissu exocrine, ce dernier disparaît du fait de l'invasion progressive et continue par le tissu fibro-conjonctif puis par le tissu adipeux. La dégénérescence et la destruction graduelle des acini exocrines sont manifestes. On observe un dépôt de collagène synthétisé à partir des fibroblastes qui prolifèrent au niveau de la matrice extra cellulaire et qui sont pour l'essentiel à l'origine de la fibrose. Le processus de destruction des cellules acineuses est accéléré par la biosynthèse de molécules inflammatoires qui se traduit par la présence de lymphocytes et de polynucléaires que l'on devine dans le tissu fibreux qui entoure le canal excréteur. La prolifération de plages blanches dans les îlots de Langerhans prouve bien l'apoptose que subissent les cellules β . La diminution du nombre des cellules β dans le parenchyme endocrine a été confirmée par ailleurs par la baisse brutale et continue de l'insuline plasmatique que l'on a observé à partir du 6^{ème} mois chez les *Po* diabétiques.

Figure 2 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence la prolifération du tissu adipeux au niveau des parenchyms exocrine et endocrine. Coloration au PAS. Gx450.

Cette coupe histologique montre que les parenchyms exocrine et endocrine sont envahis par le tissu adipeux. La réaction au PAS devient plus au moins faiblement positive et tend vers le rose violacé. Au fort grossissement, les dépôts intra insulaires de glycoprotéines dans les îlots apparaissent élargis et formés de trousseaux de fibres de collagène fortement colorables au PAS. Ces derniers se présentent sous forme de cordons, séparant les cellules insulaires endocrines. D'autres îlots sont atrophiés et paraissent bien encapsulés dans le « PE » par une capsule conjonctive à forte réaction PAS positif. Des noyaux des fibrocytes de forme ovoïdes s'observent à l'intérieur des lames conjonctives qui entourent l'îlot. L'inflammation se manifeste par la présence de macrophage dont les noyaux sont volumineux et visibles au niveau des fibres de collagène. Les données cliniques concernant les patients atteints de diabète de type 2 indiquent que la caractéristique principale de cette maladie se traduit, au niveau du pancréas, par une fibrose étendue et un dépôt amyloïde que l'on peut mettre en évidence par la technique d'immunohistochimie grâce à la réaction par immunoperoxidase.

Figure 3 et 4 : Coupe histologique du pancréas mettant en évidence des ductules entourés par un PE en voie de dénaturation. Coloration au TM et HE . Gx 1000.

Ces coupes histologiques montrent que le parenchyme exocrine s'organise en ductules c'est le signe de dégénérescence et de dégradation graduelle des acini exocrines, ces ductules sont formés d'un épithélium pseudostratifié et entourés de tissu conjonctif dense constitué par un dépôt de collagène coloré en vert lumière mise en évidence par le TM, synthétisé à partir des fibroblastes (figure 3). On observe également au niveau de l'îlot de Langerhans (figure 4) des vides qui correspondent à des cellules apoptotiques dégradées par des leucocytes mononuclés.

Planche V : Coupes histologiques du pancréas de *Po* diabétique insulino-dépendant

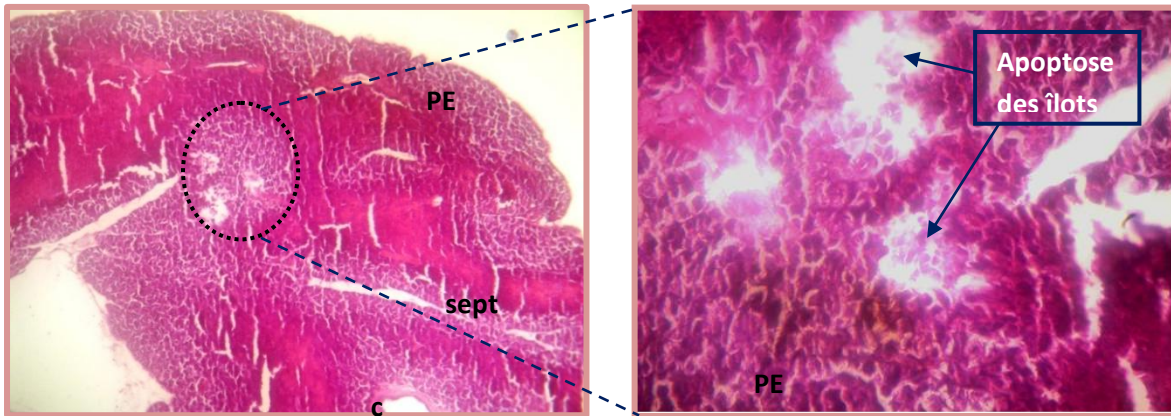


Figure 1 : coupe histologique d'une vue d'ensemble du pancréas de *Po* diabétique. Coloration HE. Gx 930.

Figure 2 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montrant l'apoptose des cellules du parenchyme pancréatique. Coloration HE. Gx4005.

Ad : adipocyte, **C** : canal exocrine, **IL** : îlot de Langerhans, **PE** : parenchyme exocrine, **sept** : septum, **HE** : Hématoxyline éosine, **G** : grossissement.

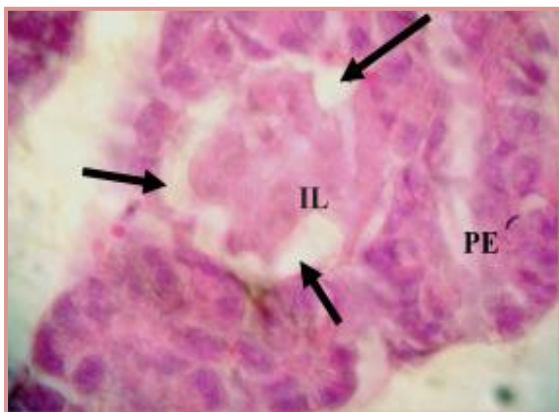


Figure 3 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montrant une dénaturation des parenchymes exocrine et endocrine. Coloration HE. Gx 8700.

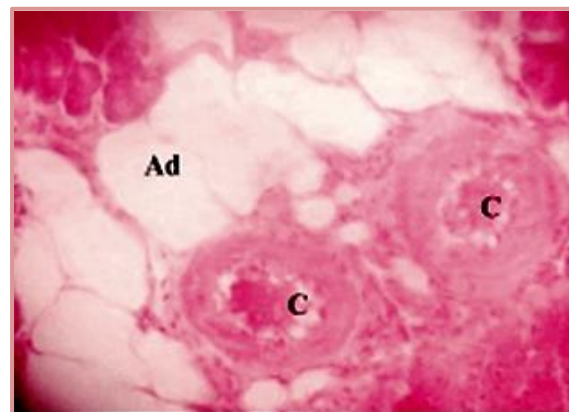


Figure 4 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montrant la présence de cellules adipeuses et d'une fibrose interstitielle. Coloration HE. Gx 9100.

Planche V : Coupes histologiques du pancréas de *Po* diabétique insulino-dépendant

Figure 1 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique. Coloration à l'HE. Gx100.

Cette coupe histologique montre qu'au faible grossissement le pancréas garde son aspect plurilobé mais que des modifications structurales importantes sont observées : présence de plages blanchâtres et de corps denses nécrotiques ; il y a dégénérescence, dénaturation du parenchyme exocrine et endocrine et involution de l'organe.

Figure 2 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montrant l'apoptose du parenchyme pancréatique. Coloration HE. Gx450.

Cette coupe histologique montre à un grossissement plus élevé, que les plages blanchâtres correspondent à la disparition par apoptose des cellules acineuses et des îlots de Langerhans initialement présents en ces endroits. On remarque également qu'au voisinage de ce parenchyme exocrine se trouvent des nécroses qui se présentent sous la forme de corps denses de couleur sombre sur lesquels se greffe un remaniement des cellules acineuses déstructurées sans forme précise.

Figure 3 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montrant une dénaturation des parenchyms exocrine et endocrine. Coloration HE. Gx1000

Coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montre clairement l'atrophie d'un îlot de Langerhans qui se recroqueville et se détache des cellules voisines du parenchyme exocrine. Au niveau du pôle apicale des cellules pyramidales des acini s'observe une lumière très large et qui n'était que virtuelle chez le témoin. Certains noyaux des cellules acineuses ont perdu leur forme sphérique. Ils se sont hypertrophiés et occupent la partie basale de l'acinus rappelons que chez le témoin le noyau est parfaitement sphérique et occupe systématiquement la partie parabasale de la cellule cette transformation du noyau pourrait être à l'origine de l'involution que subit le pancréas à ce stade de la maladie diabétique.

Figure 4 : coupe histologique du pancréas de *Po* diabétique montrant la présence de cellules adipeuses et d'une fibrose interstitielle. Coloration HE. Gx1000.

Cette Coupe histologique du pancréas montre la présence de cellules adipeuses hypertrophiées et d'une fibrose interstitielle de type inflammatoire. En effet l'inflammation se manifeste par la présence d'un grand nombre de cellules de type immunitaire telles que des polynucléaires et des macrophages à noyaux volumineux et visibles au niveau des fibres de collagène. Les canaux excréteurs sont encapsulés par la fibrose. Ils apparaissent dilatés et hypertrophiés. Des noyaux des fibrocytes de forme ovoïdes s'observent à l'intérieur des lames conjonctives qui entourent ces canaux. On peut conclure à ce stade que L'agression continue du pancréas par hyperglycémie chronique entraîne la formation d'une fibrose parenchymateuse progressive irréversible avec raréfaction de la trame et dilatation canalaire. Les données cliniques concernant les patients atteints de diabète chronique de type 2 indiquent que la caractéristique principale de cette maladie se traduit, au niveau du pancréas, par une fibrose étendue et un dépôt amyloïde que l'on peut mettre en évidence par la technique d'immunohistochimie grâce à la réaction par immunoperoxidase et c'est ce que nous observons chez notre animal modèle.

Planche VI : Coupes histologiques du pancréas de *Po* diabétique au stade final.

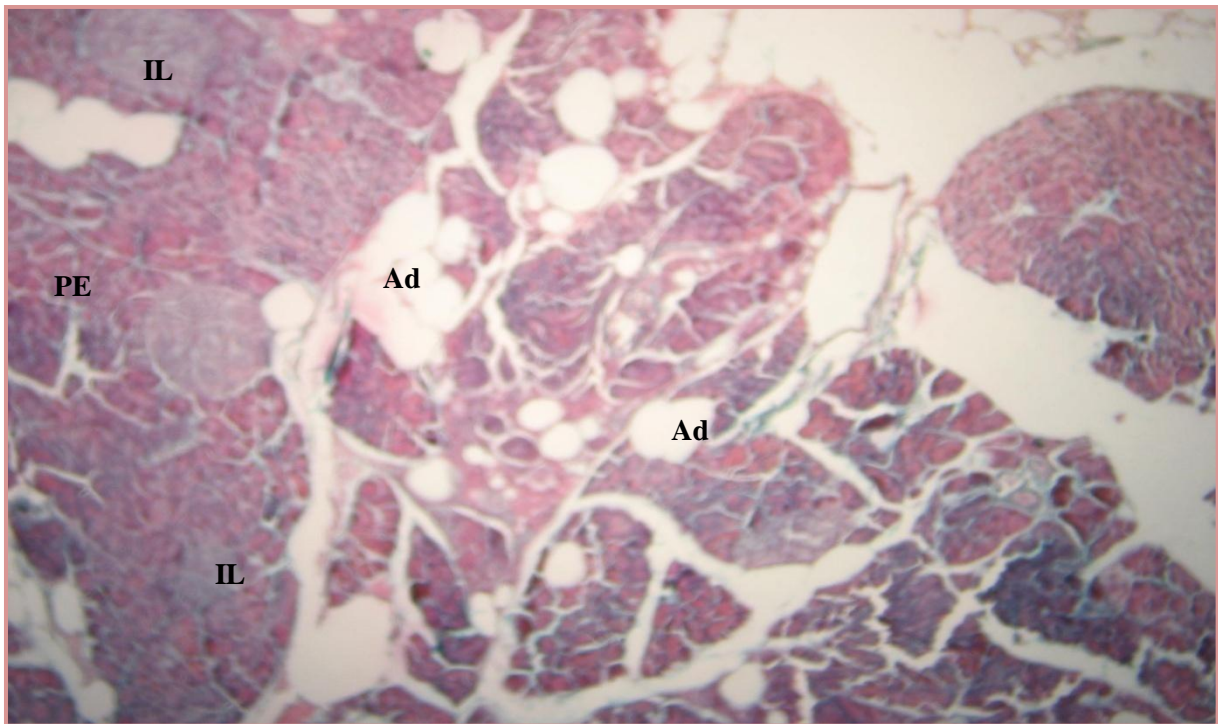


Figure 1 : Coupe histologique du pancréas de *Po* montrant un pancréas lipomateux. Coloration TM. Gx8325.

Ac : acinus, **Ad :** adipocyte, **C :** canal exocrine, **IL :** îlot de Langerhans, **PE :** parenchyme exocrine, **TM :** Trichrome de Masson, **G :** grossissement.

Figure 1 : Coupe histologique du pancréas de *Po* montrant un pancréas lipomateux. Coloration TM.Gx 450.

Cette coupe histologique montre l'envahissement du pancréas par les cellules adipeuses, ces dernières confluent entre elles et constituent des plages graisseuses étendues au sein du parenchyme pancréatique ; on constate que se développe au détriment des acini, c'est l'aspect histologique caractéristique d'un pancréas lipomateux. L'envahissement par les adipocytes du parenchyme finit par faire disparaître le tissu glandulaire endocrine et exocrine. On constate également une prolifération du tissu conjonctif qui isole les acini. Certains îlots ont perdu leur intégrité et une grande partie de leurs constituants cellulaires. À ce stade d'évolution de la maladie diabétique le pancréas est en cours de perdre totalement sa fonction. Notons que chez l'homme l'infiltration et la saturation en cellules adipeuses concomitantes à une fibrose sont les signes d'une pancréatite chronique.

Planche VII : Frottis sanguin des animaux Témoins et Obèses

Frottis des animaux témoins

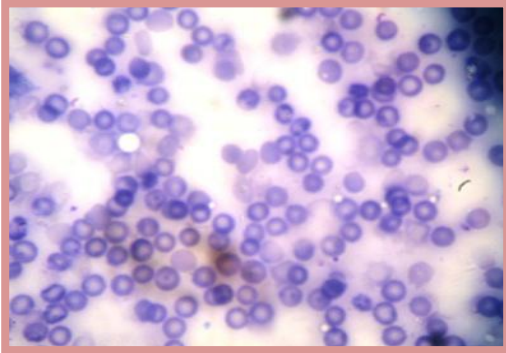


Figure 1

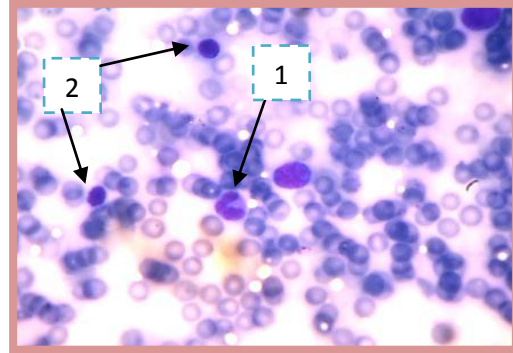


Figure 2

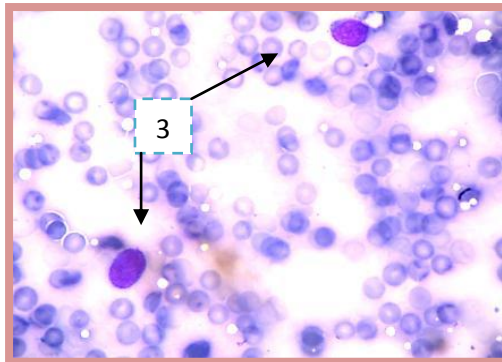


Figure 3

Frottis des animaux obèses

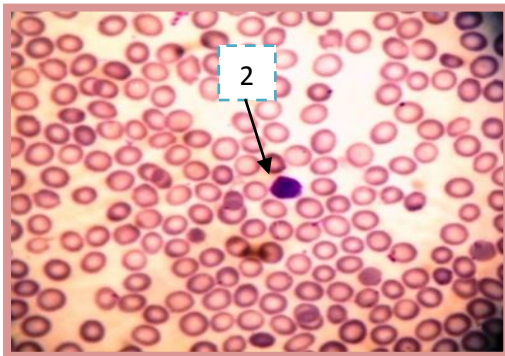


Figure 4

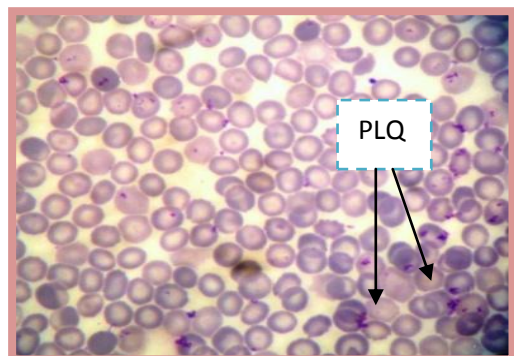


Figure 5

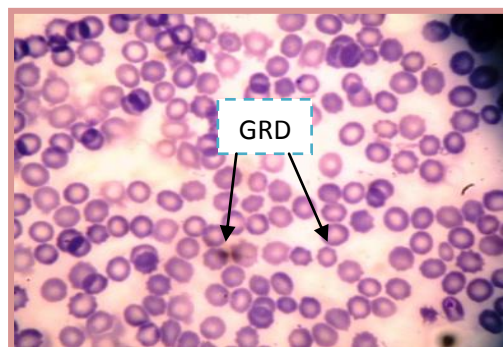


Figure 6

Planche VII : Frottis sanguin des animaux Témoins et obèses

Figure 1 : Frottis sanguin chez le *Po* témoin. Coloration par May- Grünwald-Giemsa (MGG). Gx1000

Dans cette lame on voit que les érythrocytes de *Po* sont des disques biconcaves colorés en rose-violacée (éosinophile/ acidophile) avec un centre plus pâle, cette coloration est due à l'acidophilie de l'hémoglobine contenue dans ces cellules.

Figure 2 : Frottis sanguin chez le *Po* témoin : cellules leucocytaires. Coloration (MGG). Gx1000

On observe un granulocyte neutrophile (1) noyau unique plurilobé, formé d'un cordon chromatique incurvé segmenté constitué de lobules reliés par de fins ponts nucléaires, la chromatine est dense, et le cytoplasme est presque incolore. On observe également des lymphocytes inactivés(2) : des petites cellules de taille proche à celle des globules rouges, un noyau occupant presque la totalité du cytoplasme, la chromatine de ces noyaux paraît moins condensée. Ce sont des cellules phagocytaires dont le rôle principal s'exerce au cours de la réponse immunitaire à une lésion tissulaire, au cours de laquelle ils phagocytent les cellules des tissus endommagés et les micros-organismes envahisseurs.

Figure 3 : Frottis sanguin chez le *Po* témoin : monocyte. Coloration (MGG). Gx1000

On observe dans le frottis de *Po* témoin la présence de cellules (3) ressemblant aux monocytes : elles constituent les cellules les plus volumineuses de la série blanche ; le noyau volumineux et très irrégulier le plus souvent excentrique et occupant la totalité du cytoplasme leur chromatine est très condensée. Ces cellules phagocytaires très mobiles sont les précurseurs des macrophages.

Figure 4 : Frottis sanguin chez le *Po* obèse de 3^{ème} mois: les acanthocytes. Coloration(MGG). Gx1000

Au 3^{ème} mois du RHC, au sein de ce frottis on remarque quelques globules rouges qui présentent des déformations membranaires (les membranes en forme d'acanthé). Les acanthocytes ce sont des globules rouges avec de nombreux spicules, ils apparaissent lors d'une anomalie constitutionnelle associée avec un métabolisme anormal des lipides. Les acides gras libres sont hémolytiques. Lorsqu'ils se fixent en grande quantité sur la membrane érythrocytaire, les globules rouges deviennent des acanthocytes. Ceci peut s'observer quand il y a une grande quantité d'acides gras non-estérifiés est libérée par le tissu adipeux et c'est le cas pour le *Po* obèse.

Figure 5 : Frottis sanguin chez le *Po* obèse de 3^{ème} mois: lymphocyte activé. Coloration (MGG).Gx1000

Dans ce frottis on observe la présence de grands lymphocytes de tailles supérieures à celle des hématies et à noyaux ronds bien colorés, entourés d'une mince couronne de cytoplasme basophile toutefois pâle et non-granulaire. Ce sont des lymphocytes activés. Ils sont le signe d'une inflammation aiguë.

Figure 6: Frottis sanguin chez le *Po* obèse de 3^{ème} mois: plaquettes sanguines. Coloration (MGG).Gx1000

Sur cette coupe on remarque l'abondance des plaquettes sanguines dans le frottis sanguin. Ces cellules sont anucléées de forme biconvexe, groupées en amas, riche en organites concentrées dans la partie centrale de la cellule. Elles jouent un rôle fondamental dans la réparation tissulaire.

Planche VIII : Frottis sanguin des animaux Diabétiques.

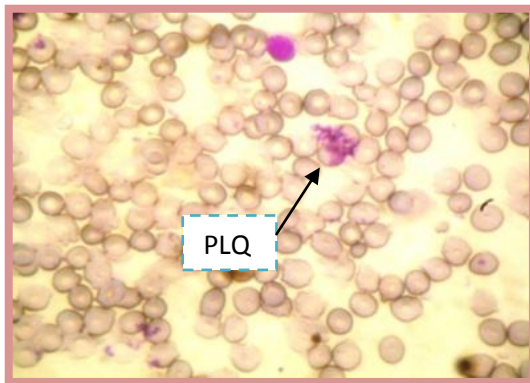


Figure 7

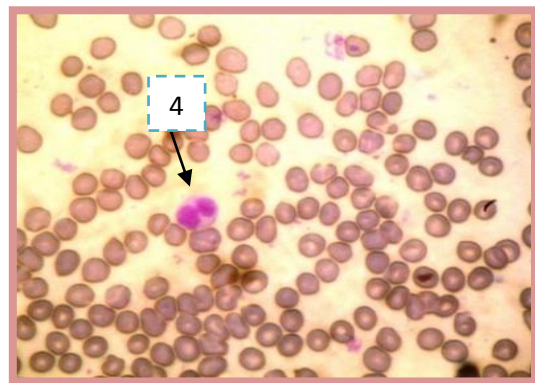


Figure 8

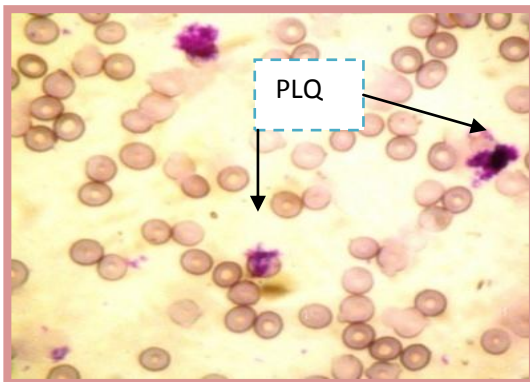


Figure 9

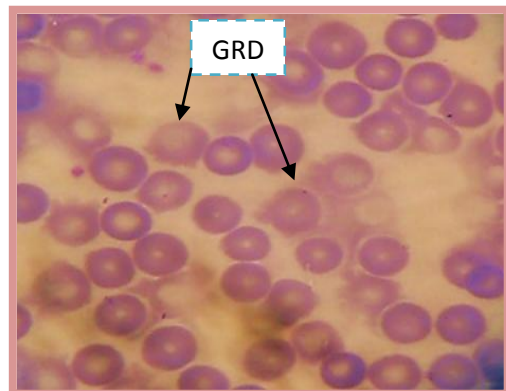


Figure 10

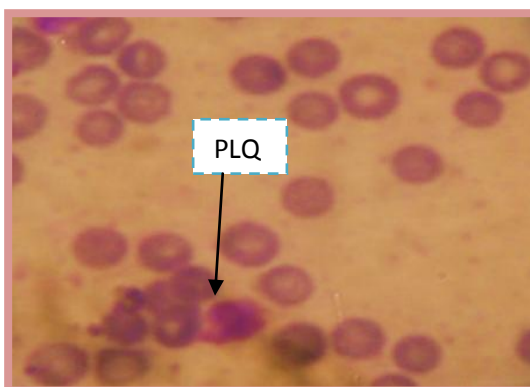


Figure 11

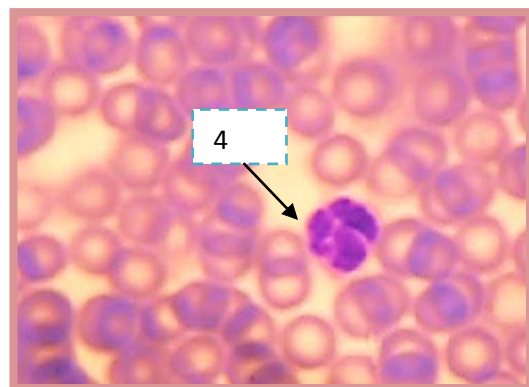


Figure 13

Planche VIII : Frottis sanguin des animaux Diabétiques.

Figure 7 : Frottis sanguin chez le *Po* Diabétique. Coloration (MGG).Gx1000.

Chez le diabétique; On observe dans les frottis l'abondance de gros amas formés de plaquettes qui baignent dans le milieu endommagé, indice d'une inflammation en cours d'extension.

Figure 8 : Frottis sanguin chez le *Po* diabétique : globules blancs. Coloration (MGG). Gx1000.

On remarque que la proportion des globules blancs augmente, dans cette micrographie un neutrophile(4) est observée, il est caractérisée par son noyau plurilobé ce qui montre l'état activé de ce leucocyte.

Figures 9: Frottis sanguin chez le *Po* diabétique : thrombocytes. Coloration (MGG). Gx1000.

On observe dans ces frottis en plus de l'abondance des plaquettes (amas des thrombocytes agglutinés), de petites cellules nucléées de forme discoïdales biconvexes, le cytoplasme violacé d'aspect granulaire et noyau à chromatine très condensée qui vont être activées dans l'étape suivant de l'inflammation.

Figure 10 : Frottis sanguin chez le *Po* diabétique : globules rouges .Coloration (MGG). Gx1000.

Au stade avancé du Diabète, on remarque que les proportions des globules rouges à membranes déformées (GRD) sont plus marquées. On peut supposer une efficacité moindre de ces globules rouges dans le transport de l'oxygène.

Figure 11 : Frottis sanguin chez le *Po* diabétique : thrombocytes. Coloration (MGG). GX1000.

À la fin de l'expérimentation, les amas des thrombocytes sont abondants. Ces derniers ont des propriétés proagrégantes menant à des thromboses.

Figures 12 : Frottis sanguin chez le *Po* diabétique : inflammation. Coloration (MGG). GX1000.

On observe des polynucléaires augmentées de taille et à noyau hyper segmenté, ces observations soulignent l'état mature et l'inflammation généralisée des tissus, des organes, des animaux diabétiques.

Discussion des résultats histologiques

III-Etude de frottis sanguin

Au départ de l'expérimentation on a essayé de réaliser l'hémogramme de nos animaux, par l'automate utilisé aux laboratoires pour suivre l'état inflammatoire de l'animal et donner son stade inflammatoire au cours du SM d'une manière précise. Comme *Le Psammomys obesus* est un rongeur qui contient 3ml du sang ; la quantité du sang n'était pas suffisante (cette quantité était parfois insuffisante) pour le bilan biochimique. Pour ceci on s'est étalé à l'examen systématique du frottis sanguin.

Chez les animaux témoins les globules rouges sont des disques biconcaves qui ressemblent à celles des autres mammifères, au coloration par le MGG prennent la couleur rose saumon due à la basophilie de l'hémoglobine, les globules blancs (leucocytes) sont de différentes catégories à savoir, des lymphocytes (la lignée la plus nombreuse), des basophiles et des neutrophiles, similaires en forme aux autres rongeurs.

Toutefois on a observé chez cet animal déserticole qui est connu à être le plus important réservoir d'un parasite de la famille Trypanosoma dénommé dans notre pays *Leishmania major* [Yakimoff and Schokhor, 1914 ; Gunders et al, 1968] des géantes cellulaires ressemblantes aux monocytes mais qui ont une chromatine très condensée, ces cellules particulières étaient observées aussi dans le sang de *Gerbillus pyramidum* (des cellules de grande taille dont le tiers de volume est occupé par un gros noyau arrondi ou ovalaire, le cytoplasme fortement basophile et très vacuolisé ressemblant par certains caractères aux monocytes mais les caractères nucléaires sont différents (chromatine très condensée).

Dans la bibliographie, et malgré les différents travaux sur cet animal on n'a pas trouvé un hémogramme propre au *Psammomys*, On cite ci-dessous quelques valeurs évoquées par des travaux réalisés sur deux rongeurs enchaînant la même famille (Gerbillidae) ; il s'agit de *Gerbillus de Mangolie* (travaux publiés par [Ruhren and May, 1968] et une autre gerbille qui partage le même biotope de notre animal (zone aride de Beni abbes) *Gerbillus pyramidum* ces deux travaux soulignent le dimorphisme sexuel.

1/taux des globules rouges GR :

- $10.02 \pm 0.15 \cdot 10^3$ [9.40-10.60] chez le mâle
- $9.09 \pm 0.18 \cdot 10^3$ [7.28-11.67] chez la femelle

Le taux des GR est élevé chez le mâle de la gerbille et présente une stabilité entre les deux sexes d'âges adultes différents et de poids différents [Ruhren, 1965] ce taux est faible à la naissance et atteint ses valeurs maximums à la 8^{ème} semaine.

2/ taux des globules blancs GB :

Chez la gerbille :

- Mâle : $2.70 \pm 0.05 \cdot 10^3/\text{mm}^3$
- Femelle : $3.40 \pm 0.18 \cdot 10^3/\text{mm}^3$

III-Etude de frottis sanguin

Au départ de l'expérimentation on a essayé de réaliser l'hémogramme de nos animaux, par l'automate utilisé aux laboratoires pour suivre l'état inflammatoire de l'animal et donner son stade inflammatoire au cours du SM d'une manière précise. Comme *Le Psammomys obesus* est un rongeur qui contient 3ml du sang ; la quantité du sang n'était pas suffisante (cette quantité était parfois insuffisante) pour le bilan biochimique. pour ceci on s'est étalé à l'examen systémique du frottis sanguins.

Chez les animaux témoins les globule rouges sont des disques biconcaves qui ressemblent à celles des autres mammifères, au coloration par le MGG prennent la couleur rose saumon due à la basophilie de l'hémoglobine , les globules blancs(leucocytes) sont de différentes catégories à savoir, des lymphocytes(la lignée la plus nombreuse), des basophiles et des neutrophiles, similaires en forme aux autres rongeurs.

Toutefois on a observé chez cet animal déserticole qui est connu à être le plus important réservoir d'un parasite de la famille Trypanosomea dénommé dans notre pays *Leishmania major* [Yakimoff and Schokhor, 1914 ; Gunders et al, 1968] des géantes cellules ressemblantes aux monocytes mais qui ont une chromatine très condensés, ces cellules particulières était observées aussi dans le sang de *Gerbillus pyramidium* (des cellules de grandes taille dont le tiers de volume est occupé par un gros noyau arrondi ou ovalaire, le cytoplasme fortement basophile et très vacuolisé ressemblant par certains caractères aux monocytes mais les caractères nucléaires sont différents (chromatine très condensé) .

Dans la bibliographie, et malgré les différents travaux sur cet animal on n'a pas trouvé un hémogramme propre au *Psammomys*, On cite ci-dessous quelques valeurs évoquées par des travaux réalisés sur deux rongeurs enchaînant la même famille (Gerbilledea) ; il s'agit de *Gerbillus de Mangolie* (travaux muni par [Ruhren and May, 1968] et une autre gerbille qui partage le même biotope de notre animal (zone aride de Beni abbes) *Gerbillus pyramidium* ces deux travaux soulignent le dimorphisme sexuel.

1/taux des globules rouges GR :

- $10.02 \pm 0.15 \cdot 10^3$ [9.40-10.60] chez le mâle
- $9.09 \pm 0.18 \cdot 10^3$ [7.28-11.67] chez la femelle

Le taux des GR est élevé chez le mâle de la gerbille et présente une stabilité entre les deux sexes d'âges adultes différents et de poids différents [Ruhren, 1965] ce taux est faible à la naissance et atteint ses valeurs maximums à la 8 ème semaine.

2/ taux des globules blancs GB :

Chez la gerbille :

- Mâle : $2.70 \pm 0.05 \cdot 10^3/\text{mm}^3$
- Femelle : $3.40 \pm 0.18 \cdot 10^3/\text{mm}^3$

Notant que ce taux est plus faible que celui donné dans la littérature chez d'autres rongeurs.

3/La formule leucocytaire : les lymphocytes prédominent sur les granulocytes neutrophiles

Chez la gerbille :

➤ 68.70% ± 0.63 Lymphocytes
➤ 24.30% ± 0.92 Granulocytes neutrophiles } chez le mâle

➤ 65.16%±1.14 Lymphocytes
➤ 26.66%± 1.66 Granulocytes neutrophiles. } chez la femelle.

Similairement chez la gerbille de Mangolie [Mays, 1969] elle présente :

➤ 84.8%±7.9 Lymphocytes
➤ 23.1% ±12.23 granulocyte neutrophiles

Par l'étude des frottis sanguin et par l'évaluation visuelle de la formule sanguine au cours du SM chez le *Psammomys obesus* comparant au témoin,

On note à partir du 3^{ème} mois période où le bilan biochimique indique l'installation du Diabète associé par une obésité viscérale importante, l'élévation des taux des globules blancs et des plaquettes.

- cette augmentation importante des taux sanguin des plaquettes, soutiendrait la surexpression du PAI, cette protéine sécrétée par les thrombocytes fait partie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation, selon [Samad et al, 1999] une élévation du PAI-1 est observée chez les sujets obèses humains, ce qui pourrait contribuer au risque augmenté d'évènement thrombotiques spécialement chez les malades à obésité abdominale.

En effet, il a été suggéré que le TNF_{α} sécrété par les adipocytes à localisation viscérales, est responsable du surcroît des valeurs plasmatiques de PAI-1, et par conséquent des complications cardio-vasculaires [Shimomura et al, 1996].

- Une élévation des taux sanguins des globules blancs (leucocytes) mènent aux perturbations de l'homéostasie interne, étant donné que la différenciation accrue de ces lignées pourrait être activée par l'expansion de TA et ce dernier participe à son tour à la sécrétion intense et locale de certaines adipokines favorisant ainsi le chimiotactisme des cellules de l'inflammation (neutrophiles, monocytes lymphocyte); ces dernières à leur tour sécrètent des chimiokines et des cytokines pro-inflammatoires accroissent la différenciation de ces lignées.

DISCUSSION GENERALE

Dans ce présent travail nous avons essayé de mettre en évidence et par des techniques histologiques simples, l'inflammation du pancréas chez le *Psammomys obesus* rendu diabétique par un RHC, surtout dans les stades avancés du DT2.

Notre étude histologique montre que le pancréas témoin de *Po* est une glande lobulée, entourée d'une fine capsule conjonctive, formé par deux principaux tissus : la composante exocrine, basophile, séparée par des fines lamelles de tissu conjonctif et dans lesquelles sont éparpillés des amas endocrines non bien encapsulés, correspondent aux îlots de Langerhans. Ces derniers sont constitués de plusieurs types de cellules endocrines principalement des Cellules β au centre de l'organe, productrices d'insuline ; elles ont un noyau sphérique, une membrane lisse, un nucléole bien apparent et une chromatine disposée en forme de mottes et les cellules α à glucagon qui présentent de grandes similitudes structurales avec les cellules béta.

Après 03 mois de RHC on observe que certains de nos animaux développent rapidement un DT2 inné qui n'apparaît que plus tardivement chez d'autres animaux soumis au même régime et dans les mêmes conditions expérimentales. Ainsi dans un même lot issu du même biotope on a observé une évolution métabolique différente face aux mêmes charges caloriques. Ces mêmes observations ont été reportées par plusieurs autres auteurs [Donath et al., 1999 ; Kaiser et al., 1999]. Ces différences ont été attribuées à l'existence de deux lignées chez cette espèce déserticole : lignée R pour les animaux résistants qui s'adaptent mieux au RHC et les autres qui exhibent rapidement les symptômes du SM et du DT2 : ce sont les animaux de la lignée D (atherosensibles). Nous nous sommes intéressés dans notre travail aux animaux appartenant à cette dernière catégorie.

Aux stades précoces de l'installation du DT2 et parallèlement à la prise de poids systématique chez tous les animaux en expérience, il commence à apparaître une hyperplasie des îlots de Langerhans associée à une hypertrophie des cellules béta. En comparant nos résultats à ceux des travaux réalisés par d'autres auteurs, on constate que, chez beaucoup d'espèces obèses, comme le singe *Maccaca multata* [Hansen et al., 1996 ; Pick et al., 1998] la masse des cellules beta est relativement supérieure à celle des témoins. En outre chez l'être humains, les obèses ont un volume de masse des cellules Beta relativement supérieur [Butler et al., 2003, Kloppper et al., 1985]. On peut également suggérer que l'animal essaie, dans un premier temps, de s'adapter à sa nouvelle situation de surcharge en glucose par une production accrue d'insuline.

Après trois mois de RHC on a observé la coexistence d'îlots hypertrophiés et d'îlots en voie d'apoptose. Les gros îlots présentent au sein des cordons cellulaires des noyaux pycnotiques emprisonnés dans des plages très éosinophiles. On note également la présence de gros noyaux au sein de l'îlot. Nos résultats sont en accord avec ceux des travaux antérieurs sur ce modèle animal qui parlent de la perte de la masse des cellules beta fonctionnelles qui sont des cellules hautement différenciées, du fait principalement de la glucotoxicité créée par le milieu hyperglycémique chronique [Charle et al., 2009]. Ces cellules, sécrétrices d'insuline, sont en effet très vulnérables dans un milieu hyperglycémique car du point de vue physiologique, le

glucose est un agent régulateur de l'expression d'un nombre important de gènes impliqués notamment dans la fonction sécrétoire et métabolique. Il constitue avec l'incrétine GLP1, les deux principaux régulateurs de nombreux gènes de l'insuline, de GLUT1 et de l'hexokinase [Wang et al., 1995], de même que l'expression de PDX-1. Ce dernier étant l'un des principaux facteurs de transcription du pancréas, son expression augmente sous l'effet du GLP1 [Perfetti et al., 2000].

Au fil de l'expérimentation et à partir du 6ème mois et parallèlement à l'élévation du poids corporel des animaux (mâles et femelles) une élévation significative de la masse grasse abdominale est bien marquée. Il est maintenant bien admis que cette masse adipeuse viscérale (TAV) contribue à la genèse des effets délétères via l'augmentation de la production et de la sécrétion de chémokines et de cytokines inflammatoires qui concourent à la genèse et à la progression des complications métaboliques, à l'insulinorésistance et à la perturbation de plus en plus importante de la biologie interne de l'organisme [Barat et al., 1991]. Ce TAV serait plus sensible à l'effet lipolytique par les catécholamines (sécrétion amplifiée au cours du SM chez ce rongeur déserticole), ce qui mène à leur drainage accrue vers le foie et donc vers la stéatose hépatique [Travaux en cours O. Beloui]. L'infiltration graisseuse du pancréas s'ajoute à un TA bien développé qui apparaît au niveau de la capsule de l'organe et au pourtour des canaux à sécrétions exocrines. Au fort grossissement, le TA péri pancréatique est formé d'adipocytes géants et de cellules à noyaux bien apparents qui constituent le Stroma vasculaire du TA. Ces dernières sont des cellules de la lignée immunitaire et surtout des macrophages qui viennent se loger dans le TAV [Lafontan, 2010].

Au 9ème mois l'accroissement des adipocytes en nombre et en taille est mis en évidence par les colorations histologiques adéquates (TM et HE). Le débordement du TA serait le facteur prédictif de l'apparition d'un stade inflammatoire avéré dès le 6ème mois, une inflammation du type hémorragique caractérisée par un tissu interstitiel abondant, des îlots très rares et atrophiés et des vaisseaux sanguins très dilatés dénotant l'existence d'anévrismes vasculaires étendus. Le TA prolifère et s'installe entre les lobules du pancréas. On constate également une involution de l'organe, avec une fibrose est bien apparente par dépôt accru de collagène fibreux. Les îlots perdent leur intégrité cellulaire. La disposition en cordon disparaît et les noyaux pycnotiques sont en forte proportion. A ce stade même le PE subit des altérations structurales importantes. La forme d'acinus est absente et l'autolyse par les grains de zymogène est suspectée. Dans son ensemble, l'intégrité du pancréas est maintenue, la forme lobulée persiste et le PE est plus ou moins semblable à celui de l'animal témoin. Le TA envahit uniquement la capsule et les septums conjonctifs, parfois des tubes à épithélium cubique et sous-jacent à un tissu conjonctif très fibreux, sont entourés par les adipocytes. Au fort grossissement les îlots hypertrophiés colorés à l'HE sont bien encapsulés. Les cellules endocrines sont disposées en cordons entre lesquels des formations très éosinophiles sont observées. On remarque également que les cellules endocrines situées à proximité du canal exocrine présentent un cytoplasme bien granulaire.

Une caractéristique remarquable qui a été relevée pendant notre expérimentation est qu'au 10ème mois et dans la plupart de nos coupes histologiques, est la proximité des îlots endocrines avec les ductules exocrines. De plus certains ductules sont présents parfois au 4ème mois de RHC (et au 10ème mois chez les Po résistant) sous forme d'un amas de cellules

identiques aux cellules ductulaires. Ces rapprochements ductule-îlot permettent de supposer l'implication chez ces animaux, de la théorie de la nésioblastose c'est à dire la formation de nouveaux îlots de cellules endocrines surtout à partir des cellules non endocrines ou indifférenciées. Ce phénomène, observé pour la première fois par Rosenberg, 1983 couvrant par un papier cellophane, il remarque la dégénérescence des cellules endocrines à partir des cellules non endocrines. De même [corti et al., 1992](#) engendre une fibrose de la tête du pancréas du rat et, on a observé ce même phénomène après 5 jours d'injection de streptozotocine chez le rat, à partir de la différenciation de l'épithélium ductulaire, ce dernier devient hyperplasique, et envoie des interdigitations dans le parenchyme acineux adjacent. Les travaux ultérieurs de [Corti et al., 1992](#) ont confirmé ce phénomène. Ces chercheurs, après ligature du canal pancréatique du lapin, ont observé une pancréatite chronique concomitante à un dépôt de collagène et destruction des cellules puis une prolifération cellulaire spécifique sans rupture de la membrane basale et accompagnée par la croissance des cellules centro-acineuse en épithélium pseudo stratifié [[Catala et al., 1990](#)]. 15 à 30j après la ligature, on observe une intensification de l'épithélium ductulaire révélé par une activité enzymatique (phosphatase acide) pendant cette période un amas de cellules endocrines à la périphérie des ductules après coloration au PAF cet amas de cellules proviennent d'un même ductule mais pas forcément des mêmes cellules souches. Ces amas ont migré après séparation de l'épithélium ductulaire par poussée de tissu conjonctif.

- 90j après la ligature, les cellules souches évoluent après mitose en cellules endocrines essentiellement A et surtout B [[Petkov et al., 1992](#)] qui ne seraient pas physiologiquement actives à ces périodes [[Corti et al., 1992](#)]. Ceci pourrait expliquer la plasticité du pancréas conférée à la lignée R des *Po*, pour retrouver leur euglycémie lorsqu'ils sont remis au régime restrictif en calories et même expliquer l'hyperplasie compensatrice des îlots pancréatiques et leur résistance au RHC. En effet l'accroissement de la masse des cellules beta a été expliquée par d'autres chercheurs par l'existence d'une régénération des cellules beta à partir des cellules indifférenciées ou partiellement différenciées (précurseurs) qui pourrait ainsi préserver la masse des cellules beta [[Xu et al., 2008](#)]. Ces cellules précurseurs (souches) sont encore males connues ; elles seraient résidentes dans l'îlot lui-même [[Rosenberg, 2002 ; Teta et al., 2007](#)].

Conclusion

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail réalisé sur des Rats des sables de la région semi aride de Béni-Abbès (W de Béchar) montre que dans son biotope naturel ou lorsqu'il est nourri aux plantes halophiles *Psammomys obesus* ne développe jamais ni obésité ni aucune des pathologies caractéristiques du SM. Notre étude montre que 3 mois de RHC suffisent pour initier une obésité systématique et sans cesse croissante chez tous nos animaux et un DT2 chez 40% d'entre eux avec hyperglycémie, hypercholestérolémie plasmatique massive et hyper insulinémie. Plusieurs travaux ont montré que la réduction de l'apport calorique après l'installation du diabète au stade précoce (inférieur à trois mois) permet de normaliser la glycémie au prix d'une hyper insulinémie modérée [El-Aoufi et al., 2007 et 2012] Une telle observation a également été faite chez l'Homme. Notons que le mécanisme de l'hypercholestérolémie observée chez *Po* soumis au RHC n'est pas encore bien comprise mais certains auteurs suggèrent qu'il doit être le résultat d'un chemin métabolique identique à celui rencontré chez l'Homme et qui mène à l'hypertriglycéridémie en présence de l'hyperinsulinémie [Reaven, 1987]. Une telle conclusion se doit d'être confirmée par des études plus ciblées.

Au niveau histologique, des travaux cytologiques et immuno-histochimiques précédents de notre laboratoire ont mis en évidence l'intérêt de *Po* comme modèle animal pour l'étude du SM et des complications coronariennes et rénales qui lui sont associées. Nous savons par ailleurs que cet animal déserticole présente une plasticité naturelle inhabituelle du pancréas endocrine qui mime remarquablement la plasticité physiologique rencontrée chez la femme enceinte atteinte d'un diabète gestationnel.

Notre étude histologique montre que dans les phases précoces du diabète, le pancréas tente de s'adapter aux nouvelles conditions de vie qui sont imposées à *Po* en multipliant le nombre de cellules bêta et en hypertrophiant les îlots de Langerhans. Cependant si le RHC perdure, il commence à apparaître des dépôts intra insulaires dans les îlots de Langerhans et des anomalies histologiques qui s'aggravent progressivement avec la durée du régime.

Au fur et à mesure de l'aggravation de la maladie et comme chez l'Homme, le pancréas est envahi par le tissu adipeux. Celui-ci s'est fortement développé et entoure les canaux exocrine dont la lumière se réduit de plus en plus .la paroi très épaisse formée de membranes collapsées. Certains îlots de Langerhans s'atrophient et sont encapsulés dans le PE par une capsule conjonctive. Dans d'autres îlots les dépôts intra insulaires sont formés de trousseaux de fibres qui emprisonnent des noyaux pycnotiques.

Au stade final de la maladie d'importantes modifications structurales sont observées telles que l'élargissement des plages d'apoptose dans le tissu pancréatique, dénaturation du parenchyme exocrine et involution de l'organe, forte fibrose du pancréas particulièrement autour des canaux des septums et de la capsule du pancréas. Les îlots de Langerhans.

s'atrophient et le nombre de cellules bêta s'effondre. La fibrose tissulaire caractérisée par une abondance du collagène entre les cordons et les capillaires de l'îlot est largement installée.

Dans les îlots des patients diabétiques de type II, le précurseur responsable de la formation des fibrilles amyloïdes est l'Amyline (IAPP). Par purification et caractérisation de ces dépôts pancréatiques des chercheurs ont identifié chez l'Homme un polypeptide de 37 résidus comme le composé majeur [Cooper et al., 1987]. Ces dépôts extracellulaires sont contigus des cellules bêta [Hull et al., 2007] et promouvraient à leur toxicité. L'incubation de l'IAPP avec les cellules bêta perturbent la stabilité membranaire de ces dernières et induit leur mort programmée. La cascade des réactions de cette toxicité est similaire à celle observée lors de l'incubation de L'oligomère $\alpha\beta$ avec neurones dans Alzheimer. Très peu de connaissances sont fournies sur l'IAPP. Les marqueurs circulatoires de l'inflammation sont en conséquence en relation avec les protéines amyloïdes [Ott, 1999 ; Akmolafe et al., 2006]. Une telle direction de recherche devrait être développée sur *Po* sauvage rendu diabétique par RHC. L'amylose des îlots de Langerhans de *Po*, les cascades amyloïdogéniques et la présence de dépôts intra insulaire dans le pancréas malade de *Po*, prouvent la relation étroite de ces dépôts dans la déficience des cellules sécrétoires et dans la perte de la masse fonctionnelle des cellules bêta chez l'être humain. Une telle direction de recherche devrait être creusée davantage tellement la similitude avec les observations faites chez l'homme est remarquable pour la recherche et le test de molécules curatives.

A l'issue de cette étude il apparaît que *Psammomys obesus* représente bien un modèle animal tout à fait pertinent pour l'étude des pathologies du pancréas humain liées au diabète.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

Abderrahmani, A., Niederhauser, G., Favre, D. (2007). Human high-density lipoprotein particles prevent activation of the JNK pathway induced by human oxidised low-density lipoprotein particles in pancreatic beta cells. *Diabetologia* ; 50 : 1304-14.

Ahima RS., Qi, Y., Singhal, NS. (2006). Adipokines that link obesity and diabetes to the hypothalamus. *Prog Brain Res*;153:155-74.

Ahima, R.S., Antwi, D.A. (2008). Brain regulation of appetite and satiety. *Endocrinol Metab Clin North Am*; 37:811-23.

Ahren, B. (2000). Autonomic regulation of islet hormone secretion—implications for health and disease. *Diabetologia* ;43:393-410.

Aiston, S., Agius, L. (1999). Leptin enhances glycogen storage in hepatocytes by inhibition phosphorylase and exerts an additive effect with insulin. *Diabetes*;48:15-20

Ak

Alberti, KG., Zimmet, P., Shaw, J. (2005) The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*;366:1059-62.

Amirat, Z., Khammar, F., Brudieux, R. (1977). Variations saisonnières comparées de l'activité sexuelle (données pondérales) chez deux espèces de rongeurs (*Psammomys obesus* et *Gerbillus gerbillus*) du Sahara occidental Algérien. *Mammalia* 41, 341-356.

Amirat, Z., Brudieux, R. (1993). Seasonal changes in vivo cortisol response to ACTH and in plasma and pituitary concentrations of ACTH in a desert rodent, the sand rat (*Psammomys obesus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 104A, 29-34.

Andreia, S., Bernardo, Colin, W., Hay, Kevin Docherty. (2008). Pancreatic transcription factors and their role in the birth, life and survival of the pancreatic B cell ; *Molecular and Cellular Endocrinology* 294. 1-9.

Aroune, D. (2013). Hyperglycémie chronique et insuffisances rénales: étude histo-et cyto-pathologique sur un modèle murin. thèse Magister.

Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*;257:79-83.

Araki, E., Oyadomari, S., Mori, M. (2003) Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic beta-cells and diabetes mellitus. *Exp Biol Med (Maywood)*; 228:1213-7.

Bado, A., Levasseur, S., Attoub, S., Kermorgant, S., Laigneau, J.P., Bortoluzzi, M.N. (1998). The stomach is a source of leptin. *Nature*;394:790-3.

Barat, P., Duclos, M., Moisan, M.P., Mormède P. (1991). Place de l'axe corticotrope dans le développement de l'obésité abdominale. *Archives de Pédiatrie*, 15, 2 : 170-178

Bastelica, D., Morange, P., Berthet, B., Borghi, H., Lacroix, O., Grino, M. (2002). Stromal cells are the main plasminogen activator inhibitor-1-producing cells in human fat: evidence of differences between visceral and subcutaneous deposits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*;22:173-8.

Bartholomew, G.A. (1964). The roles of physiology and behaviour in the maintenance of homeostasis in the desert environment. *Symp. Soci. Exp. Biol.* 18, 7-29.

Bartness, T.J., Song, C.K. (2007) Brain-adipose tissue neural crosstalk. *Physiol Behav*;91:343-51.

Benazzouz, F. (2013). Altérations structurelles et fonctionnelles des barrières hémato-rétiniennes au cours d'une micro-angiopathie d'origine diabétique chez un animal modèle *Psammomys obesus*.

Bhushan, A., Itoh, N., Kato, S., Thiery, J.P., Czernichow, P., Bellusci, S., Scharfmann, R., 2001. FGF 10 is essential for maintaining the proliferative capacity of epithelial progenitor cells during early pancreatic organogenesis. *Development (Cambridge, England)* 128, 5109–5117.

Bokarewa, M., Nagaev, I., Dahlberg, L., Smith, U., Tarkowski, A. (2005). Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol*;174:5789-95.

Bonner-Weir, S. (2000). Perspective: postnatal pancreatic b-cell growth. *Endocrinology* 141, 1926–1929.

Bonadonna, R.C., Del Prato, S., Saccomani, M.P., Bonora, E., Gulli, G., Ferrannini, E. (1993). Transmembrane glucose transport in skeletal muscle of patients with non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest*;92:486-94

Bozaoglu, K., Bolton, K., McMillan, J., Zimmet, P., Jowett, J., Collier, G., Walder, K. and Segal, D. (2007) Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome.

Borel. (1983). *Biochimie dynamique* .ed. Masson et Cie. 288p.

Böttcher, G., Sjöberg, J., Ekman, R., Håkanson, R., Sundler, F., (1993). Peptide YY in the mammalian pancreas: immunocytochemical localization and immunochemical characterization. *Regul. Pept.* 43, 115–130

Butler, A.E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R.A., Butler, P.C. (2003). β -Cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type-2 diabetes mellitus. *Diabetes* 52 :102–110, 2003

Catala, M., André Georges, J.M., Katsanis, J.P. (2008). *Histologie : organes, systèmes et appareils PCEM2 - DCEM1 2007 – 2008.*

Cammisotto, P.G., Renaud, C., Gingras, D., Delvin, E., Levy, E., Bendayan, M. (2005). Endocrine and exocrine secretion of leptin by the gastric mucosa. *J Histochem Cytochem*;53:851–60.

Cammisotto, P.G., Levy É., Ludwik J. Bukowiecki, Bendayan, M. (2010). Cross-talk between adipose and gastric leptins for the control of food intake and energy metabolism from: *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 45 143–200.

Cammisotto PG, Bukowiecki, L.J., Deshaies, Y. M. (2006). Leptin biosynthetic pathway in white adipocytes. *Biochem Cell Biol*;84:207–14.

Cerasi, E., Leibowitz, G. (2005). *Psammomys Obesus*, a Model for Environment-Gene Interactions in Type 2 Diabetes. *Diabetes* December, 54, 2:137-144

Charles, L., Zimlik, V., Chenault, M., Mears, D. (2009). Glucose-dependent and -independent electrical activity in islets of Langerhans of *Psammomys obesus*, an animal model of nutritionally induced obesity and diabetes, *General and Comparative Endocrinology* 161 (2009) 193–201.

Cnop, M., Hannaert, J.C., Gruppig, A.Y., Pipeleers, D.G. (2002). Low density lipoprotein can cause death of islet beta-cells by its cellular uptake and oxidative modification. *Endocrinology* 2002 ; 143 : 3449-53.

Cooper, G.J.S., Day, A.J., Willis, A.C., Roberts, A.N., Reid, K.B.M., Leighton, B. (1989). Amylin and the amylin gene: structure, function and relationship to islet amyloid and to diabetes mellitus. *Biochem Biophys Acta*;1014:247-58.

Hansen, T., Pedersen, O., Polonsky, K.S., Bell, G.I. (1996). Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 α gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY 3). *Nature* 384:455–458,

Charo, I.F., Taubman, M.B. (2004). Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ. Res.* 95, 858–866.

Chen, X, Herbert, J.(1995). Regional changes in c-fos expression in the basal forebrain and brainstem during adaptation to repeated stress: correlations with cardiovascular, hypothermic and endocrine responses. *Neuroscience*; 64(3):675-85).

Chevreau, J., bellot, J., Cabanier, M.J.(1977) .Formulaire de techniques histologiques.2ème trimestre.Malonyes S.A .Ed Paris .

Cinti, S., Matteis, R.D., Picó, C., Ceresi, E., Obrador. A., Maffei, C.(2000). Secretory granules of endocrine and chief cells of human stomach mucosa contain leptin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:789–93.

Cook DG, Mendall MA, Whincup PH, Carey IM, Ballam L, Morris JE.(2000). C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000; 149:139–50.

Collier, G.R., Walder, K., Lewandowski, P., Sanigorski, A., Zimmet, P. (1997) . Leptin and the development of obesity in *Psammomys obesus*, *Obes. Res.* 5 455–458.

Cooper ,S.A., Whaley-Connell, A., Habibi, J., Wei, Y., Lastra, G., Manrique, C. (2007). Renin-angiotensin-aldosterone system and oxidative stress in cardiovascular insulin resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*;293:H2009-23

Considine, R.V.(2005). Human leptin: an adipocyte hormone with weight-regulatory and endocrine functions. *Semin Vasc Med*;5:15–24.

Combs, T.P., Berg, A.H., Obici, S., Scherer, P.E., Rossett, I. L (2001).Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest* ; 108 : 1875-

Corti,C.(1993). Evolution a long terme du syndrome diabétique non insulino dépendant chez le lapin: biochimie et histopathologie - Institut National Polytechnique -Toulouse .

Dandona, P., Aljada, A., Mohanty, P. (2002).The anti-inflammatory and potential anti-atherogenic effect of insulin: a new paradigm. *Diabetologia* ;45:924-30.

Del Guerra, S., Lupi, R., Marselli, L., Masini, M., Bugliani ,M., Sbrana, S.(2005). Functional and molecular defects of pancreatic islets in human type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54:727–35.

Despres, J.P., Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*;444:881-7.

Degen AA, Ponshow B, Ilan M.(1990). Seasonal water flux, urine and plasma osmotic concentrations in free-living fat sand rats feeding solely on saltbush. *J Arid Environ*;18:59–66

DeLorenzi, D., Bernardini, M., Pumarola, M., (2005). Primary hyperoxaluria (L-glyceric aciduria) in a cat. *J. Fel. Med. Surg.* 7, 357–361.

De Vroede, M.A., Veld, P.A., Pipeleers, D.G., 1990. Deoxyribonucleic acid synthesis in cultured adult rat pancreatic b cells. *Endocrinology* 127 (3), 1510–1516.

Donath, M.Y., Gross, D.J., Cerasi, E., Kaiser, N.(1999). Hyperglycemia-induced b-cell apoptosis in pancreatic islets of *Psammomys obesus* during development of diabetes. *Diabetes* 48, 738–744

Donath, M. Y., Böni-Schnetzler,M., Helga, E., Halban, P. A., Ehses, J. A. (2010).Cytokine production by islets in health and diabetes: cellular origin, regulation and function ,from: *Trends in Endocrinology and Metabolism* Vol.21 No.5 /:P261-268M .

El-Aoufi S., Gendre P., Sennoune S, Rigoard P., Maixent J-M. Et Griene L.(2007).A High Calorie Diet Induces Type 2 Diabetes In The Desert Sand Rat (P. Obesus). Cellular and Molecular Biology TM; 53: OL942-OL951.

El-Aoufi S, Lazourgui MA, Griene L, Maouche B.(2012). Atherosclerosis and atherosensitivity in two southwest Algerian desert rodents, *Psammomys obesus* and *Gerbillus gerbillus*, and in *Rattus norvegicus*. Diabetes Metab Syndr Obes.;5:337-45. doi: 10.2147/DMSO.S34875. Epub 2012 Sep 18.

Ellern, S.J., Samish, Y.B., Lachover, D., (1974). Salt and oxalic acid content of leaves of the saltbush *Atriplex halimus* in the northern Negev. J. Rang Manag. 27, 267–271.

Elouil, H., Bensellam, M., Guiot, Y., Vander Mierde, D., Pascal, S.M., Schuit, F.C.(2007). Acute nutrient regulation of the unfolded protein response and integrated stress response in cultured rat pancreatic islets. Diabetologia; 50:1442–52.

Elaine, N., Marieb B.(1999).Anatomie et physiologie humaine,traduction de la 4ème édition américaine.2ème trimestre.

Emilsson, V., Liu, Y.L., Cawthorne, M.A., Morton, N.M., Davenport, M.(1997). Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. Diabetes 1997;46:313–6.

Frayn, K.N.(2002).Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. Diabetologia;45:1201–10.

Francke, S. Manraj, M., Lacquemant, C., Lecoeur, C., Lepretre, F., Passa, P.(2001). A genome-wide scan for coronary heart disease suggests in indomauritians a susceptibility locus on chromosome 16p13 and replicates linkage with the metabolic syndrome on 3q27. Hum Mol Genet; 10:2751–65.

Fukuda, M. , Hindsgaul, O. (1994) *Molecular Glycobiology*, IRL Press at Oxford University Press, Inc., New York Thorough, advanced treatment of the chemistry and biology of cell surface carbohydrates. Good chapters on lectins, carbohydrate recognition in cell-cell interactions, and chemical synthesis of oligosaccharides.

Fukuhara, A., Matsuda, M., Nishizawa, M., Segawa, K., Tanaka, M., Kishimoto, K.(2005). Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. Science; 307:426–30.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y.(2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest;114:1752-61.

Fichet-Calvet, E., Jomaâ, I., Ben Ismail, R., Ashford, R.W. (1999). Reproduction and abundance of the fat sand rat (*Psammomys obesus*) in relation to weather conditions in Tunisia. J. Zool. 248, 15–26.

Gabe M., 1968. Techniques histologiques.Edition masson 1113p.

Gavrila, A., Chan, J.L., Yiannakouris, N., Kontogianni, M., Miller,L.C., Orlova, C.(2003). Serum adiponectin levels are inversely associated with overall and central fat distribution but are not directly regulated by acute fasting or leptin administration in humans: cross-sectional and interventional studies. J Clin Endocrinol Metab;88:4823–31.

Graham, T.E., Yang, Q., Bluher, M., Hammarstedt, A., Ciaraldi, T.P., Henry, R.R .(2006). Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. N Engl J Med 2006; 354: 2552–63.

Grimaldi, A.(2005) .Traité de Diabétologie. ed. Paris: Flammarion Médecine-Sciences; 800-810.

Garcia, C., Feve, B., Ferré, P., Halimi, S., Baizri, H. , Bordier, L. , Guiu, G. , Dupuya, O., Bauduceau, B., Mayaudona, H. (2010).Diabetes and inflammation: Fundamental aspects and clinical implications, *Diabetes & Metabolism* 36 327–338

Gastaldelli, A., Baldi, S., Pettiti, M., Toschi, E., Camastra, S., Natali, A. (2000) .Influence of obesity and type 2 diabetes on gluconeogenesis and glucose output in humans: a quantitative study. *Diabetes*;49:1367-73

Gastaldelli, A., Sironi, A.M., Ciociaro, D., Positano, V., Buzzigoli, E., Giannessi, D.(2005).Visceral fat and beta cell function in non-diabetic humans. *Diabetologia*;48:2090-6.

Gunders, A.E., Lidror, R., Montilio, B., Amiti, P., 1968. Isolation of *Leishmania* species from *Psammomys obesus* in Judea. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*62, 465.

Haidari, M., Leung, N., Mahbub, F., Uffelman, K.D., Kohen-Avramoglu, R., Lewis, G.F.(2002).Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance. Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction. *J Biol Chem*;277:31646–55 .

Haim, A., Shachaf, K., Zisapel, N., Reiter, R.J., 1997. Daily rhythms of body temperature in *Acomys russatus*: their response to photoperiod manipulations and melatonin. *J. Therm. Biol.* 22, 219–222 ..

Haim, E., Kronfeld-Schor, N., Eilam, D.(2006).Sand rats see the light: Short photoperiod induces a depression-like response in a diurnal rodent. *Behavioural Brain Research* 173 (2006)153–157.

Haim , A., Alma, A., Neuman, A.(2006). Body mass is a thermoregulatory adaptation of diurnal rodents to the desert environment. *J Thermal Biol.* 31 ; 168–171.

Hansson, G.K., Robertson, A.K., Soderberg-Naucler, C.(2006). Inflammation and atherosclerosis. *Annu Rev Pathol* 2006;1:297-329.

Hart, A., Papadopoulou, S., Edlund, H., (2003). FGF10 maintains notch activation, stimulates proliferation, and blocks differentiation of pancreatic epithelial cells. *developmental Dynamics* 228, 185–193.

Heller, R.S., Jenny, M., Collombat, P., Mansouri, A., Tomasetto, C., Madsen, O.D., Mellitzer, G., Gradwohl, G., Serup, P., 2005. Genetic determinants of pancreatic epsilon- cell development. *Dev. Biol.* 286, 217–224.

Holman, R. R. (1998). Assessing the potential for alpha-glucosidase inhibitors in prediabetic states. *Diabetes Research Clinical Practice*, 40(Suppl), S21–S25.

Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L., Spiegelman, B.M. (1995). Increased adipose expression of tumor necrosis factor- in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*; 95: 2409-15.

Hotamisligil, G.S.(2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature* ;444:860-7.

Hirosumi, J., Tuncman, G., Chang, L., Gorgun, C.Z., Uysal, K.T., Maeda, K.(2002). A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*;420:333-6.

Hu, E., Liang, P., Spiegelman, B.M. (1996).AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* :271:10697–703.

Huang, X., Yang, J., Chang, J.K., Dun N. J. (2010).Amylin suppresses acetic acid-induced visceral pain and spinal c-fos expression in the mouse x. *Neuroscience* 165 (2010) 1429–1438.

Hull, R.L., Westermark G.T., Westermark, P., Kahn, S.E. (2004). Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *J. Clin. Endocr. Metab.* 89 3629–3643.

Hutley, L., Prins, J.B. (2005). Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*;330:280-9.

Hashimoto, I., Wada, J., Hida, A., Baba, M., Miyatake, N., Eguchi, J. (2006). Elevated serum monocyte chemoattractant protein-4 and chronic inflammation in overweight subjects. *Obesity (Silver Spring)* ;14:799–811.

Himrane. (1994).

Inoue, H., Ogawa, W., Ozaki, M., Haga, S., Matsumoto, M., Furukawa, K. (2004). Role of STAT-3 in regulation of hepatic gluconeogenic genes and carbohydrate metabolism in vivo. *Nat Med*;10:168–74.

Ishikawa, M., Iwasaki, Y., Yatoh, S. (2008). Cholesterol accumulation and diabetes in pancreatic beta-cell-specific SREBP-2 transgenic mice: a new model for lipotoxicity. *J Lipid Res* ; 49 : 2524-34.

Jaworek, J., Bonior, J., Konturek, S.J., Bilski, J., Szlachcic, A., Pawlik, W. (2003). Role of leptin in the control of postprandial pancreatic enzyme secretion. *J Physiol Pharmacol* ;54:591–602.

Jensen, P.B., Kristensen, P., Clausen, J.T., Judge, M.E., Hastrup, S., Thim, L. (1999). The hypothalamic satiety peptide CART is expressed in anorectic and non-anorectic pancreatic islet tumors and in the normal islet of Langerhans. *FEBS Lett* ;447:139–43.

Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*;116:1784-92.

Kahn, S., Andrikopoulos, C.B. Verchere., (1999). Islet amyloid: a long recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes. *Diabetes* 48 (2) (1999) 241–253.

Kaiser N; Donath My; Gross Dj & Cerasi E. (1999). Diabète non insulinodépendant et apoptose de cellules β. *Journées Annuelles de Diabetologie. Hotel Dieu.*, 8, 13-23.

Kalderon, B., Gutman, A., Levy, E., Shafir, E., & Adler, J. H. (1986). Characterization of stages in development of obesity-diabetes syndrome in the sand rat (*Psammodys obesus*). *Diabetes*, 35, 717–723.

Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S. (2004). Effects of insulin, leptin, and glucagon on ghrelin secretion from isolated perfused rat stomach. *Regul Pept* 2004; 119:77–81.

Kennedy, G.C. (1953). The role of fat depot in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B: Biol Sci*;140:578–96.

Kershaw, E.E., Flier, J.S. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 2548–2556.

Kieffer, T.J., Habener, J.F. (2000). The adipoinular axis: effects of leptin on pancreatic beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 278:E1-E14

Kim, M.J., Maachi, M., Capeau, J., Bastard, J.P. (2006). Adiponectin and the metabolic syndrome. *Immunology & Biologie spécialisée* 211–7

Knoll, T., Steidler, A., Sagi, S., Trojan, L., Michel, M.S., Alken, P., 2004. Impact of hypoxia on oxalate toxicity to renal epithelial and interstitial cells. *J. Urol.* 171, 298-298

Kolthoff, I., Sandell, E., Meehan, E., Bruckenstein, S., (1969). Quantitative Chemical Analysis. Collier-Macmillan, London

Kumada, M., Kihara, S., Sumitsuji, S., Kawamoto, T., Matsumoto, S., Ouchi, N.(2003). Coronary artery disease. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* ;23:85–9.

Lacasa, D., Taleb, S., Keophiphath, M., Miranville, A., Clement, K. (2006).Macrophages – secreted factors impair human adipogenesis: involvement of pro-inflammatory state in preadipocytes. *Endocrinology* 2006;

Lachuer, J., Delton, I., Buda, M., Tappaz, M. (1994). The habituation of brainstem catecholaminergic groups to chronic daily restraint stress is stress specific like that of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Brain Res*; 638(1-2):196-202.

Lafontan M, Berlan M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends Pharmacol Sci* 2003;24:276–83

Lafontan Max. (2010).Rein, tissu adipeux, adipocytes – quelles nouveautés ? *Néphrologie & Thérapeutique*, 7, 2 : 69-79.

Lang T.(2007) .SNARE proteins and "membrane rafts". *J Physiol*; 585 : 693-8.

Lavoisier, (2002). Atlas d'histologie fonctionnelle, 2nd edition young.lowe.stevens.heath de boeck, traduction de la 5^{ème} édition anglaise pr peiree validire et patricia validire-charpy; bruxelles. éd française (2008). wheater
Laybutt, D.R. (2003). Critical reduction in B-cell mass results in two distinct outcomes over time. Adaptation with impaired glucose tolerance or decompensated diabetes. *J. Biol. Chem.* 278, 2997–3005.

Leibowitz G; Yuli M; Donath My; Neshet R; Melloul D; Cerasi E; Gross Dj & Kaiser N. (2001). Beta-cell glucotoxicity in the Psammomys obesus model of type 2 diabetes. *Diabetes.*, 50, 113 -117.

LeRoith, D.(2002). Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med*; 113(Suppl 6A):3S–11S.

Liebling, D.S., Eisner, J.D., Gibbs, J., Smith, G.P.(1975). Intestinal satiety in rats. *J Comp Physiol Psychol* ;89:955–65.

Lihn, A.S., Bruun, J.M., He, G., Pedersen, S.B., Jensen, P.F., Richelsen, B.(2004). Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Mol Cell Endocrinol*; 219:9–15.

Lingohr, M.K., Buettner, R., Rhodes, C.J. (2002). Pancreatic beta-cell growth and survival? a role in obesity-linked type 2 diabetes.*Trends Mol Med*: p. 375-84.

Luyckx, FH., Scheen, A.(2004). Le syndrome métabolique : comparaison des paramètres biologiques dans différentes définitions.*Immunoanalyse & Biologie Spécialisée*. 19, 3 : 173-176.

Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal* 2007;9:2277–93.

Mrhari, I., khalil, B., cherrah, Y., El kabbaj, S., Hassar, M., settaf, S.(2000).Insulin resistance and dyslipidemia in sand rat (psammomys obesus).euglycemic hyperinsulinemic clamp study. *biologie & santé* vol. 1, n° 1.

Marchetti, P., Bugliani, M., Lupi, R., Marselli, L., Masini, M., Boggi, U.(2007).The endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells of type 2 diabetes patients. *Diabetologia*; 50:2486–94.

Ma, S., Morilak, D.A.(2004). Induction of FOS expression by acute immobilization stress is reduced in locus coeruleus and medial amygdala of Wistar-Kyoto rats compared to Sprague-Dawley rats. *Neuroscience*; 124(4):963-72.

Marangella, M., Vitale, C., Petrarulo, M.(1996). Primary and enteric hyperoxaluria: two non-renal causes of nephrolithiasis. *Ital. J. Miner. Electrolyte Metab.* 10, 123–129

Masuzaki, H., Ogawa, Y., Shigemoto, M., Satoh, N., Mori, K., Tamura, N.(1995) .Adipose tissue-specific expression of the obese (ob) gene in rats and its marked augmentation in genetically obese-hyperglycemic Wistar fatty rats.*Proc Jpn Acad*;71:148–52.

Matsuda, M., Shimomura, I., Sata, M., Arita, Y., Nishida, M., Maeda, N.(2002). Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipovascular axis. *J Biol Chem*;277:37487–91.

Matsuzawa, Y. (2006). The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett*;580:2917-21.

Ma, Y., Hendershot, L.M. (2003). Delineation of a negative feedback regulatory loop that controls protein translation during endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem*; 278:34864–73.

Martoja, R. , Martoja , P.M. (1967).Initiation aux technique de l'histologie animale.Ed.Masson et Cie .345p

Melia, K.R., Ryabinin, A.E., Schroeder, R., Bloom, F.E., Wilson, M.C.(1994). Induction and habituation of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress. *J Neurosci* ;14(10):5929-38.

Meier CA, Bobbioni E, Gabay C, Assimacopoulos-Jeannet F, Golay A, Dayer JM. IL-1 receptor antagonist serum levels are increased in human obesity: a possible link to the resistance to leptin? *J Clin Endocrinol Metab*2002;87:1184–8.

Mendelssohn, H., Yom-, Y. (1999) .Fauna Palaestina: mammalia of Israel.Jerusalem: Keterpress Enterprises;

Miyata, T., Oda, O., Inagi, R., Iida, Y., Yamada, N.(1993).β2 microglobulin modified with advanced glycation end products is a major component of hemodialysis-associated amyloidosis.*J Clin Invest*; 92 : 1243-52.

Morris AM, Sennello JA, Fayad RA, Eckel RH, Dinarello CA, Fantuzzi G. T cell-mediated hepatic inflammation modulates adiponectin levels in mice: role of tumornecrosis factor alpha. *Metabolism* 2006; 55:555-9.

Montague, C.T., O’Rahilly, S. (2000).The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*;49:883-8

NHilzenrat, E., Sikuler, A., Yaari, M., Maislo(1996). Hemodynamic characterization of the diabetic *Psammomys obesus*—an animal model of Type II diabetes mellitus, *Is. J. Med. Sci.* 32 ;1074–1078.

Nishimura, S., Manabe ,I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M.,(2009). CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med* 2009;15(8):914–20.

Nishizawa, H., Shimomura, I., Kishida, K., Maeda, N., Kuriyama, H., Nagaretani, H.(2002). Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*;51:2734–41.

Neuman, A., Zisapel, N., Haim, A. (1999). Daily rhythms of body temperature in the fat sand-rat *Psammomys obesus*: effect of body mass and age. *Isr. J. Zool.* 45, 317.

Neuman, A., Gothilf, Y., Haim, A., Ben-Aharon, G., Zisapel, N. (2005). Nocturnal patterns and up-regulated excretion of melatonin metabolite6-sulfatoxymelatonin in the diurnal rodent *Psammomys obesus* post-weaning under a short photoperiod. *Comp.Biochem. Physiol.*142A, 297–307.

Noonan, S.C., Savage, G.P.(1999). Oxalate content of food and its effect on humans. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 8, 64–74.

Oyadomari S, Koizumi A, Takeda K, Gotoh T, Akira S, Mori M.(2002). Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *J Clin Invest*; 109:525–32.

Oyadomari, S., Araki, E., Mori, M. (2003). Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in pancreatic beta-cells. *Apoptosis*; 7:335–45.

Ozcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A.H., Iwakoshi, N.N., Ozdelen, E.(2004). Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*;306: 457-61.

Okajima F, Kurihara M, Ono C.(2005). Oxidized but not acetylated low-density lipoprotein reduces preproinsulin mRNA expression and secretion of insulin from HIT-T15 cells. *Biochim Biophys Acta* ; 1687 : 173-80.

Palacio A, Lopez M, Perez-Bravo F, Monkeberg F, Schlesinger L. Leptin levels are associated with immune response in malnourished infants. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 : 3040-6.

Palgi, N., Vatnick, I., Pinshow, B., (2005). Oxalate, calcium and ash intake and excretion balances in fat sand rats (*Psammomys obesus*) feeding on two different diets. *Comp. Biochem. Physiol. A* 141, 48–53.

Pellegrino Masiello.(2006). ,Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic B cell The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 38 873–893

Petter, F., 1961. Répartition géographique et écologie des Rongeurs désertiques (du Sahara occidental à l'Iran oriental). *Mammalia* 25, 1–222.

Petrarulo, M., Vitale, C., Facchini, P., Marangella, M., (1998). Biochemical approach to diagnosis and differentiation of primary hyperoxaluria: an update. *J. Nephrol.* 11, 23–28

Pick, A., Clark, J., Kubstrup, C., Levisetti, M., Pugh, W., Bonner-Weir, S., Polonsky, K. S. (1998). Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *diabetes*.47.3.358 *Diabetes March 1998 vol. 47 no. 3 358-364.*

Pictet, R.L., Clark, W.R., Williams, R.H., Rutter, W.J., (1972). An ultrastructural analysis of the developing embryonic pancreas. *Developmental Biology* 29, 436–467.

Pickup, J.C., Mattock, M.B., Chusney, G.D., Burt, D.(1997). NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia*;40:1286-92.

Prado, C.L., Pugh-Bernard, A.E., Elghazi, L., Sosa-Pineda, B., Sussel, L. (2004) .Ghrelin cells replace insulin-producing beta cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:2924–2929.

Poitou C, Viguerie N, Canello R, De Matteis R, Cinti S, Stich V.(2005). Serum amyloid A: production by human white adipocyte and regulation by obesity and nutrition. *Diabetologia* 2005; 48: 519–28.

Polonsky, K.S., Lilly lecture, (1995). The B-cell in diabetes: from molecular genetics to clinical research. *Diabetes*; 44:705-17

Pop-Busui, R., Sima, A., Stevens, M. (2006). Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Rev* ; 22:257–73.

Porter, M.H., Cutchins, A., Fine, J.B., Bai, Y., DiGirolamo, M. (2002). Effects of TNF alpha on glucose metabolism and lipolysis in adipose tissue and isolated fat-cell preparations. *J Lab Clin Med*;139:140-6.

Rahmouni, K., William, G., Haynes. (2006). Leptin and the Cardiovascular System.*endoujournal.org*, 225-244

Ramasamy, R., Yan, S.F., Schmidt, A.M.(2008). Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications. *Nature Clin Pract Endocrinol Metab*;4:285-293.

Reusch, J.E.(2003). Diabetes, microvascular complications, and cardiovascular complications: what is it about glucose? *J Clin Invest*; 112:986–8.

- Reaven, G.M.(1988).** Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* **37**, 1595-1607.
- Reaven,G.M.(2005).**Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med*;47:201-10.
- [Robertson, R., P.](#), [Harmon,J.](#), [Phuong, O. T.](#), [Yoshito, T.](#), [Takahashi, H.](#) (2003).** Glucose Toxicity in β -Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes* March 52, 3: 581-587.
- Robertson, R.P.(2006).** Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes. *Curr Opin Pharmacol* ;6:615–9.
- Roehrich, M. E., Mooser, V., Lenain, V., Herz, J., Nimpf, J., Azhar, S. (2003).** Insulin-secreting beta-cell dysfunctions induced b human lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, 278, 18368–18375.
- Sartipy, P., Loskutoff ,D.J. (2003).**Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulinresistance. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 100: 7265-70.
- Shirahama, T., Cohen, A.S. (1975).**Intra lysosomal formation of amyloid fibrils. *Am J Pathol* ; 81 : 101-6.
- Shoelson ,S.E., Lee, J., Goldfine, A.B. (2006).** Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*;116:1793-801.
- Shi, H., Kokoeva., M.V., Inouye, K., Tzameli, I., Yin, H., Flier ,J.S. (2006).** TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*;116:3015-25.
- Shirley, E.K., Schmidt-Nielsen, K. (1967).** Oxalate metabolism in the pack rat, sand rat, hamster, and white rat. *J. Nutr.* 91, 496–502.
- Shimomura, I., Funahashi, T., Takahashi, M., Maeda, K., Kotani, K., Nakamura, T.(1996).** Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med*;2:800-3.
- Shimizu, K., Kato, Y., Shiratori, K., Ding, Y., Song, Y., Furlanetto, R.(1998).**Evidence for the existence of CCK-producing cells in rat pancreatic islets. *Endocrinology*; 139:389-96.
- Stevens Alan, lowe james. (2006).**Histologie humaine, 3^{ème} édition traduction pr andré défosez et pr claude-alain maurage,Elsevier SAS, éditeur dragos bobu.
- Sobhani, I., Bado, A., Vissuzaine, C., Buyse, M., Kermorgant, S., Laigneau, J.P.(2000).** Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach. *Gut* 2000;47:178–83.
- Sobotta.(2002).**Atlas d’histologie sous la direction d’Ulrich welsch, cytologie, histologie, anatomie microscopique, traduction française: Antoine dhem , imprimé en octobre 2002.Belgique n 581.
- Slominski, A., Wortsman, J., Luger, T., Paus R., Solomon, S. (2000).** Corticotropin releasing hormone and proopiomelanocortin involvement in the cutaneous response to stress. *Physiol Rev*; 80 (3):979-1020.
- Semenkovich,C.F. (2006).** Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest*;116:1813-22.
- Steinberg, HO., Baron,A.D. (2002).** Vascular function, insulin resistance and fatty acids. *Diabetologia*;45:623-34.
- Steppan, C.M., Lazar, M.A. (2002).** Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab*;13:18-23 .
- Summers, S.A. (2006).**Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog Lipid Res*;45:42-72.
- Taleb, S., Lacasa ,D., Bastard, J.P., Poitou, C., Canello, R., Pelloux, V.(2005).** Cathepsin S, a novel biomarker of adiposity: relevance to atherogenesis. *FASEB J* 2005; 19:1540–2.
- Takeuchi, Yamagishi.(2009).**Involvement of toxic AGEs (TAGE) in the pathogenesis of diabetic vascular complications and Alzheimer's disease *J Alzheimers Dis*;16(4):845-58
- Taskinen, M.R. (2005).**Type 2 diabetes as a lipid disorder. *Curr Mol Med*;5:297-308

Thorens, B. (2001) .GLUT2 in pancreatic and extra-pancreatic gluco-detection (review). *Mol Membr Biol*;18:265–73.

Tsatsanis,C., Zacharioudaki, V., Androulidaki, A., Dermitzaki, E., Charalampopoulos, I., Minas, V. (2006) .Peripheral factors in the metabolic syndrome: the pivotal role of adiponectin. *Ann N Y Acad Sci*;1083:185-95.

Tilg, H., Moschen, A.R. (2006).Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*;6:772-83.

Trayhurn, P., Wood, I.S. (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*; 92:347–55.

Ulrigh, P., Cerami ,A.(2001). Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog Horm Res* 2001; 56:1–21.

Unniappan, S., Kieffer, T.J. (2008).Leptin extends the anorectic effects of chronic PYY(3–36) administration in ad libitumfedrats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295:R51–8.

Van Gaal, L.F., Mertens, I.L., De Block ,C.E. (2006). Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*;444:875-80

Viardot, A., Grey, S.T., Mackay, F., Chisholm, D.(2006).Potential anti-inflammatory role of insulin via the preferential polarization of effector T cells towards a T-helper 2 phenotype. *Endocrinology*; [Epub ahead of print].

Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P., Feldman, E.L. (2004).Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev* 25:612–28.

Vionnet, N., Hani, E.H., Dupont, S., Gallina, S., Francke, S., Dotte, S.(2000). Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet*; 67: 1470–80.

Virtanen, K.A., Iozzo, P., Hallsten, K., Huupponen, R., Parkkola, R., Janatuinen, T. (2005). Increased fat mass compensates for insulin resistance in abdominal obesity and type 2 diabetes: a positron-emitting tomography study. *Diabetes*;54:2720-6.

Vedtofte, L., Thóra, B., Bödvarsdóttir, A. E., Karlsen, R.; Heller, S.(2007).Developmental Biology of the *Psammomys obesus* Pancreas: Cloning and Expression of the *Neurogenin-3* Gene *J Histochem Cytochem* January, 55: 1 97-104.

Ventura Durant, Cristol, J.P., Sutra ,T., Moréna, M., Rouanet, M., Michel, F.(2007). Les Marqueurs du Stress Oxydant et syndrome métabolique : EA 4188, Nutrition Humaine, Biodisponibilité, Athérogénese

Wang, P., Ba, Z.F., Chaudry, I.H. Administration of tumor necrosis factor-alpha in vivo depresses endothelium-dependent relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994 ; 266 : H2535-H2541.

Walder, K.(1997). The effect of dietary energy restriction on body weight gain and the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) in *Psammomys obesus*". *Obes Res*,5, 193-200.

Walder, K., Lewandowski, P., Morton, G. (2002). Leptin resistance in a polygenic, hyperleptinemic animal model of obesity and NIDDM:*Psammomys obesus*. *Int J Obes Relat Metab Disord* ;23:83–9.

Walder,K.R.Fahey,R.P., Morton,G.J.,Zimmet,P.Z.,Collier,G.R.(2000).caractérisation of obesity phenotypes in *Psammomys obesus* *IntTExpDiabetesRES*1(3):17784.

Weisberg, S.P., Mccann ,D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, J.R. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*; 112: 1796-808.

Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R.E.(2001). Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*;86:1930–5.

Westermarck , P., Araki ,S., Benson, M.D., Cohen, A.S., Frangione, B., Masters, C.L.(1999). Nomenclature of amyloid fibril proteins.Report of the meeting of the International Nomenclature Committee on Amyloidosis, August 8-9 1998. *Amyloid. Int JExp Clin Invest* 1999 ; 6 : 63-7.

Wierup, N., Kuhar, M., Nilsson, B.O., Mulder, H., Ekblad, E., Sundler, F.(2004).Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) is expressed in several islet cell types during rat development. *J Histochem Cytochem*;53:169–77.

Woods, S.C., Porte, J. D. (1983). The role of insulin as a satiety factor in the central nervous system. *Adv Metab Disord* ;457–68.

Xu, G., Kaneto, H., Lopez-Avalos, M.D., Weir, G.C., Bonner-Weir, S. (2006). GLP-1/exendin-4 facilitates beta-cell neogenesis in rat and human pancreatic ducts.*Diabetes Research and Clinical Practice* 73, 107–110.

Xu, X., D’Hoker, J., Stange, G., Bonne, S., De Leu, N., Xiao, X., Van de Casteele, M.,Mellitzer, G., Ling, Z., Pipeleers, D., Bouwens, L., Scharfmann, R., Gradwohl, G.,Heimberg, H. (2008). Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell* 132, 197–207.

Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki ,H., Uchida, S.(2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*;8:1288–95.

Yang, Q., Graham, T.E., Mody, N., Preitner, F., Peroni, O.D, Zabolotny, J.M.(2005).Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesityand type 2 diabetes. *Nature*; 436:356–62.

Yang,R.Z.,Lee, M.J.,Hu, H., Pray, J., Wu, H.B., Hansen, B.C.(2006).Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 290:E1253–61.

Yudkin, J.S. (2003).Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory. signals. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 27(Suppl 3):S25–8.

Yakimoff, Schokhor,1914. :(in Belazzoug S). Isolation of *Leishmania major* from *Psammomys obesus*, Gretzschmar, 1828 (Rodentia,Gerbillidae) in Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:876

Zhang, Y., Proenca, R.M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*; 372:425–32.

Zhao Z, Sakata I, Okubo Y, Koike K, Kangawa K, Sakai T. Gastric leptin, but not estrogen and somatostatin, contributes to the elevation of ghrelin mRNA expression level in fasted rats. *J Endocrinol* 2008; 196:529.

Zoltowska, M., Ziv, E., Delvin, E., Sinnett, D., Kalman, R., Garofalo, C. (2003). Cellular aspects of intestinal lipoprotein assembly in *psammomys obesus*. *Diabetes*; 52:2539–45.

Sites d'internet consulté:

[A]<http://www.med.univ-rennes1.fr/cerf/edicerf/DIGESTIF/14DG.html>

[B]<http://www.exobiologie.info/Pages/diabetes.html>.

[C]<http://www.Science direct.dz>

[D]<http://www.Springlink.com>

[E] <http://www.ulyse.u-bordeaux.fr>

[F] <http://www.librairiedemolecules.education.fr>

[G] www.medicopedia.net

[H] www.uvp5.univ-paris5.fr/campus-nutrition/cycle1/Poly/CompAlim.asp

[I] www.amylose.fr (mise à jour de 2011).

[J] <http://www.idf.org/home/.hoceine.nesrine@hotmail.com>

Annexes

Les mélanges fixateurs

Fiche technique n°1 : Le para-formol aldéhyde (formol à 10%)

- Formol 35 à 40 %.....100ml
- Eau distillée28.57ml

Fiche technique N°2 : Bouin aqueux :

A froid :

- Solution aqueuse saturée d'Acide picrique.....75ml
- Formal aldéhyde de 40%(formol)..... 20ml
- Acide acétique.....5ml

Collodionnage

Fiche technique N°3 : eau gélatinée de Masson

- Gélatine en poudres0.4g
- Eau distillée..... 100ml

Jeter la poudre dans l'eau et laisser gonfler pendant un moment, puis tiédir sur une platine chauffante jusqu'à dissolution complète

Déshydratation

Fiche technique n°4 : Dilution des alcools

Alcool obtenu	70°	90°
volume d'eau D à ajouter à 100MI d'alcool 96° d'éthanolC ₂ H ₅ OH	39ml	6ml

Les Colorants

Fiche technique n°5 : hématoxyline de Groat-éosine

Préparation à froid les deux solutions

- 1/-acide sulfurique concentré.....0.8ml.
Alun de fer.....1g.
Eau distillée.....50ml.
2/hématoxyline.....0.5g.

Alcool à 95°50ml.

Après dissolution mélanger les deux solutions ; laisser reposer pendant 1 heure et filtrer, se conserve pendant 3mois.

Fiche technique n°6 :Trichrome de Masson :variante de Goldner.

1/préparation des colorants :

1. Hématoxiline de groat : prèparation à froid

-Solution A : acide sulfurique
concentré.....0.8ml

Alcool95° :.....50ml

-Solution B : hématoxiline
.....0.5g

Alcool95°50ml

Après dissolution, mélanger les deux solutions , lissier reposer pendant 1
heure et filtrer

Se conserve pendant 3 mois environ

2.Fushine ponceau :prèparation à froid

-Fuschine acide.....0.1g

-Ponceau.....0.2g

-Eau distillée.....30ml

-Acide acétique.....0.6ml

3.orange G molybdique : préparation à froid.

-Orangé G2g

-Eau distillée.....100ml

-Ac phosphomolybdique.....1g

4. le colorant nucléaire :

1/vert lumière(solution acétique) :

-Vert lumière.....0.1g

-Eau distillée.....100ml

-Acide acétique.....2ml

5. Eau acétifié 1% :

-Acide acétique.....1ml

-Eau
distillée.....99ml

Procédure :

- déparaffiner et hydrater
- Colorer avec l'hématoxilline de Groat pendant 1 min30"
- Laver à l'eau courante pendant 2 minutes
- Colorer avec la fuschine ponceau pendant 15 secondes
- Rincer à l'eau acétifiée pendant quelques secondes
- Colorer avec l'orang G molybdique pendant 15 secondes
- Rincer à l'eau acétifiée pendant quelques secondes
- Colorer avec le vert lumière 20 secondes.
- Rincer à l'eau acétifiée pendant quelques secondes.
- Laver à l'eau distillée
- Déshydrater et monter

Observation : le cytoplasme et les lames élastiques sont colorés en rose, les fibres de collagène en vert ou bleu et les noyaux en bruns.

Fiche technique n°7 : Réactif de Schiff

Méthode de colleman :

Dissoudre, dans 200 ml d'eau Distillée bouillante la

-fuschine basique (chlorhydrate de pararosaniline).....1g

Laisser refroidir et filtrer, ajouter :

Métabisulfite de
potassium.....2g

Acide chlorhydrique
normal.....10ml

Laisser reposer pendant **24h** en flacon bouché émeri, ajouter : charbon
activé.....0.5g

Agiter énergiquement pendant 1 minute , laisser reposer puis filtrer

Fiche technique N°8 : Imprégnation argentique de GOMORI

Solution aqueuse à 1% de Permanganate de Potassium.

Solution aqueuse à 2% de Métabisulfite de Potassium.

Solution aqueuse à 2% d'Alun de Fer à préparer extemporanément.

Complexe ammoniacal d'argent dilué extemporanément d'un égal volume d'eau D.

Formol à 10% (dilué par l'eau de robinet selon (Gabe,1955).

solution aqueuse à 2% d'hyposuodum

- Complexe ammoniacal d'argent (de GOMORI)

A froid : précipiter un millilitre d'une solution aqueuse de Nitrate d'argent à 10% par 2 ml d'une solution aqueuse de potasse à 10% ajouter goutte à goutte l'ammoniaque d'une solution aqueuse de nitrate d'argent à 10% jusqu'à apparition d'un trouble persistant et disparition de l'odeur d'ammoniaque

Remarque : se conserve à l'abri de la lumière.

au moment de l'emploie diluer de moitié par l'eau D.

Mode Opérateur :

1. Déparaffiner, hydrater.
2. Oxyder par le permanganate, pendant 1 à 2 min.
3. Laver à l'eau courante.
4. Blanchir au métabisulfite.
5. Laver abondamment à l'eau courante.
6. Traiter par la solution d'alun de Fer ,pendant 1 min.
7. Laver à l'eau courante pendant 5 min.
8. Passer deux fois à l'eau D.
9. Traiter par le complexe ammoniacal d'Argent, pendant 1min.
10. Laver à l'eau D au maximum 10 Seconde.
11. Réduire par le Formol.
12. Laver à l'au courante.
13. Passer rapidement à l'hyposulfite.
14. Laver abondamment à l'eau courante.
15. Déshydrater.
16. Monter.

Résultats : les fibres de collagène sont colorées en brun et les fibres de réticuline en noir.