

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

جامعة جيجل

Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم: البيولوجيا الجزيئية و الخلية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme: **Master Académique en Biologie**

Option : **Pharmacologie Expérimentale**



Thème

Effet du picolinate de chrome sur l'insulinorésistance induite par un régime riche en fructose chez les rats *Wistar albinos*

Membres de Jury :

Président : M^{me} Kebsa W.

Examineur : M^{me} Bouhafs L.

Encadrant : M^{elle} Derai E.

Présenté par :

Bourahla Karima

Bouhebel Siham

Bouachir Karima

Année Universitaire : 2014-2015

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciement

*Avant toute chose, nous remercions tout d'abord Dieu **ALLAH** le tout puissant, qui nous a donné la force, le courage, la volonté, et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Notre reconnaissance et profonde gratitude vont à notre encadreur **M^{elle} Derai Elhadjela** (Université de Jijel) qu'elle a l'honneur d'avoir guider et assister tout au long de ce travail ; nous la remercions pour tous ses conseils, sa disponibilité, son sérieux dans le travail.*

*Nous remercions aussi notre examinateur **M^{me} Bouhafis Leila** d'avoir accepté de juger le contenu du présent mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos grandes considérations à **M^{me} Kbsa Widad**, pour avoir accepté de prendre part au jury de soutenance, tout le plaisir est pour nous ; nous la remercions pour sa grande gentillesse et sa disponibilité.*

*Des chaleureux remerciements pour les ingénieurs de laboratoire de pharmacologie expérimentale (Université de Jijel) en particulier : **M^{me} Sefriou Houria**, **M^{me} Darbane Ratiba**, **M^r Desdous Rachid**.*

Nous remercions vivement la doctorante Rayane Karima pour son aide précieuse sans oublier tous ceux qui nous ont aidé au niveau de l'hôpital de Majdoub el Sad , Taher et la clinique de Mantouri El Bachir , El-Milia

Nous remercions aussi tous les collègues et l'équipe qui nous accompagne dans le laboratoire de pharmacologie expérimentale, pour leurs remarques et conseils, mais aussi pour l'ambiance amicale et studieuse qu'ils ont su créer. Nous ne serions bien sûr jamais arrivées là sans l'aide et le soutien de nos familles ; à nos parents et à nos frères et sœurs. Merci d'avoir soutenues dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils, de vos attentions constantes, merci pour tout. Nous espérons vous rendre le bonheur que vous nous apportez.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
Chapitre I: Le diabète type II.....	3
1. Définition du diabète sucré.....	3
2. Diabète de type II.....	3
3. Etiologie de diabète type II.....	3
3.1. Les facteurs génétiques.....	3
3.2. Les facteurs environnementaux.....	3
4. Diagnostic.....	4
4.1. La glycémie.....	4
4.2. L'hémoglobine glyquée (HbA1c).....	4
4.3. Autres test.....	5
5. Les complications.....	5
5.1. Les complications aiguës.....	5
5.2. Les complications chroniques.....	5
6. Traitement.....	6
6.1. Conseil hygiéno- diététique.....	7
6.2. Antidiabétique oraux.....	7
6.3. Insulinothérapie.....	7
Chapitre II : L'insulinorésistance.....	8
1. L'insuline.....	8
1.1. Structure de l'insuline.....	8
1.2. Récepteur à l'insuline.....	8
1.3. La voie de signalisation de l'insuline.....	9
1.4. Rôle physiologique de l'insuline.....	10
1.4.1. Action de l'insuline sur le métabolisme glucidique.....	10
1.4.2. Action de l'insuline sur le métabolisme lipidique.....	11
1.4.3. Action de l'insuline sur le métabolisme des acides aminés.....	11

2. Mécanisme de l'insulinorésistance.....	11
2.1.1. Altération de la signalisation insulinique.....	11
2.1.2. Cycle glucose-acides gras.....	13
2.1.3. Dysfonctionnement de la mitochondrie.....	14
3. L'nsulinorésistance et développement du stress oxydatif.....	14
4. Régime riche en fructose et l'insulinorésistance.....	15
4.1. Fructose dans le régime alimentaire.....	15
4.2. Métabolisme du fructose.....	16
4.3. Rôle du Fructose dans l'insulinorésistance.....	17
4.4. Fructose et stress oxydatif.....	18
Chapitre III : Le chrome.....	19
1. Généralités sur le chrome.....	19
1.1. Source alimentaire de Cr.....	19
1.2. Métabolisme.....	19
1.3. Rôle biologique du chrome.....	20
1.4. Carence en chrome.....	20
1.5. Le chrome dans les suppléments alimentaire.....	20
1.6. Toxicité de chrome.....	21
2. Rôle du chrome dans la réduction de l'insulinorésistance.....	21
2.1. Action du chrome sur la signalisation de l'insuline.....	21
2.2. Action du chrome via la chromoduline.....	22
2.3. Action du chrome sur les lipides.....	23
3. Chrome et stress oxydatif.....	24
Matériel et Méthodes.....	26
1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	26
2. Produits utilisés.....	26
3. Traitement des animaux.....	26
4. Test de tolérance au glucose.....	26
5. Prélèvement des échantillons.....	26
6. Dosage des paramètres biochimiques (la glycémie, l'insuline, Indice HOMA-IR, le glycogène, le cholestérol total, HDL, LDL, les triglycérides et l'acide urique).....	27
7. Dosage des paramètres du stress oxydatif.....	29
8. Etude histologique.....	32
9. Analyses statistiques.....	32

Résultats	33
1. L'influence de l'administration du fructose et du picolinate de chrome sur le poids corporel	33
2. Evaluation de la consommation de la nourriture et de l'eau.....	34
3. Variation de l'insulinémie chez les rats	36
4. Evaluation de l'insulinorésistance	37
5. Variation de la glycémie à jeun chez les rats	38
6. Evaluation de la tolérance au glucose.....	39
7. Effet de picolinate de chrome sur le taux de glycogène.....	40
8. Evaluation des paramètres biochimiques.....	40
9. Effet de picolinate de chrome sur les paramètres le stress oxydatif.....	42
9.1. Sur le taux du GSH hépatiques.....	42
9.2. Sur l'activité de la glutathion peroxydase.....	43
9.3. Sur l'activité enzymatique de la catalase.....	44
10. Analyse des coupes histologiques.....	44
10.1. Effet des traitements sur l'histologie du pancréas.....	44
10.2. Effet des traitements sur l'histologie des reins.....	46
Discussions	48
Conclusion	53
Références bibliographiques	54
Annexes	

Liste des figures

Figure 1 : Structure primaire de l'insuline.

Figure 2 : Représentation schématique du récepteur de l'insuline.

Figure 3 : La voie de signalisation de l'insuline.

Figure 4 : Acides gras et voie de signalisation de l'insuline.

Figure 5 : Mécanisme de l'insulinorésistance induit par les acides gras proposé par Randle.

Figure 6 : Métabolisme du fructose.

Figure 7 : Mécanisme de l'insulinorésistance induit par le fructose.

Figure 8 : Mécanisme proposé pour l'activation de l'activité kinase du récepteur de l'insuline par la chromoduline, en réponse à une stimulation par l'insuline.

Figure 9 : Mécanismes moléculaires de chrome dans la réduction de résistance à l'insuline.

Figure 10 : Variation du poids corporelle chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) pendant 6 semaines.

Figure 11 : La variation de la consommation journalière de nourriture chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 12 : La variation de la consommation hydrique chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) pendant 6 semaines.

Figure 13 : Variation des concentrations plasmatiques en insuline chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 14 : Indice de résistance à l'insuline des groupes expérimentaux.

Figure 15 : Variation de la glycémie à jeûne (mg/dl) chez les rats groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 16 : Evolution de la tolérance au glucose chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 17 : Variation de la quantité du glycogène hépatique stocké chez groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 18 : Taux hépatique du glutathion réduit chez groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 19 : Effet de picolinate de chrome sur l'activité enzymatique de GSH-Px chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 20 : Effet de picolinate de chrome sur l'activité enzymatique de catalase chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

Figure 21 : Histologie du pancréas des rats (A) : Témoin, (B) : rats sous un régime alimentaire riche en fructose (Fr), (C) : rats sous un régime alimentaire riche en fructose et traités par le picolinate de chrome (Fr+Cr). *M^{me}*

Figure 22 : Histologie du pancréas des rats (A) : Témoin, (B) : rats sous un régime alimentaire riche en fructose (Fr), (C) : rats sous un régime alimentaire riche en fructose et traités par le picolinate de chrome (Fr+Cr).

Liste des tableaux

Tableau 1 : Variation de la concentration sérique des paramètres lipidiques et de l'acide urique des groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) après 6 semaines d'expérimentation.

Liste des abréviations

ADA : American Diabètes Association

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADO : Antidiabétique oraux

AG : Acides gras

AGL: Acides gras libres

ARNm: Acide ribonucléique messenger

AS160: Akt substrat 160 kDa

AMP : Adénosine monophosphate

ATP: Adénosine triphosphate

CAT: Catalase cytosolique

CML: Carboxy méthyl lysine

Cr: Chrome

DM : Diabètes mellitus

ERO : Espèces réactif oxygénés

GAPDH : Glycéraldehyde phosphate déshydrogénase

Glut 4: Glucose transporter

GTP: Glycérol -3- phosphate

G6P: Glucose-6-phospahte

GP6ase: Glucose-6-phosphatase

GSH: Glutathion réduit

GSH-Px: glutathion peroxydase

GSK3: Glycogen synthase kinase 3

GTF: Facteur de tolérance au glucose

HbA1c: Hémoglobine glyquée

HDL: High density lipoprotein

HMG-CoA réductase: Hydroxyméthylglutaryl-Coenzyme A réductase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HK: Hexokinase

IFN: Interféron

IGF-1: Insulin growth factor-1

IKK β : Inhibitor kappa β kinase

IL-1: Interleukine 1

IL-2: Interleukine 2

IL-6: Interleukine 6

IRS: Insulin receptor substrate

JNK: c-jun N-terminal kinase

LAR: Leukocyte common antigen-related molecule

LDL: Low density lipoprotein

LMWCr: Low-molecular-weight-chromium-binding substance

LPL: La lipoprotéine-lipase

NF κ B: Nuclear factor-kappa B

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADH : Nicotinamide adenine dinucléotide

$O_2^{\cdot -}$: Anion superoxide

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PEPCK: Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase

PDH: Pyruvate déshydrogénase

PFK: Phosphofructokinase

P13K: Phosphoinositide 3-kinase

PKB: Protein kinase B

PKC: Protein kinase C

PKC θ : Protein kinase C theta

PKC ζ : Protein kinase C zeta

PPAR: Peroxisome Proliferator Activated Receptors

PPI: Proteine phosphatase

PTPases: Tyrosine phosphatases

RI: Récepteur à l'insuline

Ser/Thr: Serine/Thréonine

SOCS: supressor of cytokine signalling

SREBP: Stérol Regulatory Element Binding Protein

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha

TG: Triglycerides

TMB: Tetramethylebenzidine

TZD: Thiazolidinédione

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

Introduction

Le diabète est une maladie chronique caractérisé par une hyperglycémie et des perturbations dans le métabolisme des glucides et des lipides (Yeghiazaryan et al., 2012). Il représente un problème majeur de santé publique (Imbert, 2008) ; selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) son prévalence dans le monde est estimée chez les adultes à 9% en 2014 . Il existe plusieurs types dont les plus répandus sont le diabète de type 1 et le diabète de type 2, ce dernière représente 90% des patients atteints de diabète (Shanet al., 2014).

Le diabète de type 2 est une maladie bipolaire qui associe à un déficit insulinosécrétoire et à une insulino-résistance (Scheen et al., 2007). Ce dernier est un état pathologique fréquent dans lequel les tissus cibles de l'insuline ne répondent pas correctement à la stimulation hormonale par l'insuline (Marchand-Brustel et al., 2006) entraînant une hyperglycémie chronique, celle-ci induit un stress oxydant (Robertson et al., 2007) favorisant une augmentation de la production d'ERO (espèces réactives de l'oxygène) chez les patients diabétiques et une chute des défenses antioxydants cellulaires (Suchitra et al., 2011), ce qui mobilise les différents facteurs pathologiques vers les complications du diabète (Ampa et al., 2014).

Dans le traitement clinique actuelle, les médicaments sont largement utilisés pour contrôler l'hyperglycémie, l'hyperlipidémie et la résistance à l'insuline dans le cas de diabète de type 2, par exemple des sulfonylurées, les biguanides, les thiazolidinediones et les inhibiteurs de glycosidase. Cependant, ces médicaments peuvent avoir des effets indésirables (intolérance digestive, prise pondérale, hypoglycémie, œdème) (Gasteyger et Egli, 2006), aussi la modification du style de vie imposé est souvent difficile pour le patient (Ali et al., 2014). Ainsi, il est nécessaire d'explorer des nouveaux médicaments et thérapies pour améliorer l'effet du traitement et de réduire le risque des complications du diabète (Shan et al., 2014).

Parmi les stratégies alternatives les plus pratiqués est l'utilisation des suppléments nutritionnel les qui sont des médicaments à vente libre et largement utilisés par un grand nombre de patients. Un supplément qui reste controversée, en particulier en ce qui concerne l'amélioration de la glycémie est le chrome (Cr) (Cefalu et al., 2009), et jusqu'à ce jour son utilisation clinique de routine n'a pas été suggéré cependant plusieurs études ont démontré que le Cr trivalent peut atténuer le niveau élevé de glucose dans le sang, des lipides sanguins, de l'insuline, et du cholestérol (Mozaffari et al., 2012 ; Shan et al., 2014).

A notre connaissance en Algérie une seule étude clinique a été effectuée par Harani et ses collaborateurs en 2012 sur l'efficacité de picolinate de chrome, ce qui nous a amenés à démontrer

son efficacité expérimentalement afin de soutenir son utilisation dans le traitement de diabète en Algérie.

Au vu de ces données, l'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet de picolinate de chrome sur l'insulinorésistance provoquée par un régime riche en fructose chez des rats de souche wistar par :

- La détermination des métabolites glucidiques et lipidiques du diabète type 2.
- Le dosage des paramètres de stress oxydatif.
- Les examens histopathologiques des sections pancréatiques et rénales.

Analyse
Bibliographique

Chapitre I: Le diabète type II

1. Définition du diabète sucré

Le diabète sucré est une maladie chronique impliquant un groupe de troubles métaboliques d'étiologie multiple. Il est caractérisé par une hyperglycémie et des troubles du métabolisme des glucides, des lipides et le métabolisme des protéines résultant de défaut de sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou les deux (Yeghiazaryan et al., 2011).

L'American Diabètes Association (ADA) propose une classification étiologique du diabète qui comporte quatre catégories : diabète de type 1, diabète de type 2, diabètes spécifiques et diabète gestationnel, dont les principaux type sont le type 1 et 2 (Gariani et al., 2009).

2. Diabète type II

Le diabète type II ou diabète insulino-dépendante touche le plus souvent des sujets obèses après la quarantaine. Les cellules β ne sont pas détruites mais seraient insensible au stimulus normal du glucose, d'où une diminution de la sécrétion d'insuline. Il existe de plus, une diminution de la sensibilité tissulaire aux effets de l'insuline (insulinorésistance) au niveau des muscles, du foie et du tissu adipeux (Talbert et al., 2011).

3. Etiologie de diabète type II

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle complexe où des facteurs polygéniques et environnementaux sont étroitement associés.

3.1. Les facteurs génétiques

Il est bien accepté que le diabète de type 2 est un trouble polygénique, l'interaction de l'environnement et des gènes jouant un rôle important dans sa pathogenèse (Woo, 2005).

Quatre gènes pourraient expliquer jusqu'à 70 % de l'hérédité du diabète de type 2. Il s'agit des gènes TCF7L2, HHEX, EXT2 et SLC30A8. Les gènes TCF7L2 et HHEX sont des facteurs de transcription qui régulent les activités d'autres gènes. Les études réalisées sur les animaux ont montré que l'absence de ces gènes altérait l'activité du pancréas. Le gène EXT2 joue un rôle dans le développement du fœtus et de nombreux organes, dont le pancréas. Enfin, le gène SLC30A8 produit la protéine ZnT8, qui intervient dans le transport du zinc, qui à son tour permet aux molécules d'insuline de se fixer dans le pancréas (Farmer et Avard, 2008).

3.2. Les facteurs environnementaux

➤ L'obésité

Elle est le principal et le plus puissant facteur prédisposant au diabète de type 2. L'effet diabétogène de l'obésité provient de sa capacité à induire ou à aggraver une insulino-résistance, ce qui impose au pancréas une hypersécrétion permanente d'insuline pour maintenir une glycémie normale (Féry et Paquot, 2005).

➤ Le tabac

Le tabagisme augmente les risques de développer un diabète de type 2 de 44% environ. Cet effet est en partie lié à l'augmentation de l'obésité abdominale observée chez les fumeurs. La nicotine semble également exercer un effet toxique direct au niveau du pancréas et des récepteurs à l'insuline et induit une hyperglycémie et une résistance à l'insuline (Clair et al., 2011).

➤ Le sommeil

L'étude réalisée par Van Leeuwen et al (2010), chez 23 volontaires sains exposés à une restriction de sommeil (5 heures/nuit), a montré des taux élevés d'insuline, du rapport insuline/glucose et de l'IGF-1 (insulin growth factor-1).

➤ La sédentarité

Elle représente également un facteur favorisant le diabète (Féry et Paquot, 2005) ; car elle est associée à un profil lipidique défavorable et à l'insulino-résistance (Gremeaux et Bouillet, 2012).

➤ L'alimentation

Selon l'hypothèse de Hales et Barker (2013) une malnutrition *in utero* et pendant les premiers mois de vie pouvait favoriser l'apparition d'un diabète à l'âge adulte.

Enfin une alimentation dont l'index glycémique est élevé, qu'elle est pauvre en fibres et riche en certains acides gras (AG saturés et AG trans désaturés) double le risque de diabète (Féry et Paquot, 2005).

4. Diagnostic

4.1. La glycémie

Une glycémie à jeun (au moins huit heures de jeun) ≥ 1.26 g/l vérifiée à deux reprises, ou une glycémie ≥ 2 g/l à n'importe quel moment de la journée accompagnée de signe cardinaux (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexpliqué) permet le diagnostic de diabète (Licoppe et Morel, 2011).

4.2. L'hémoglobine glyquée

Un taux de HbA1c $> 6,5\%$ est proposé comme valeur seuil pour retenir le diagnostic de diabète sucré (Ruiz, 2012). La mesure du taux d'HbA1c est considérée comme une attirante alternative pour

poser le diagnostic d'un diabète de type 2 en raison des avantages logistiques nets : le patient ne doit pas se présenter à jeun, les résultats de l'HbA1c reflètent en plus le profil glycémique moyen des mois précédents et sont donc moins influencés par des phénomènes de stress passager (Van der Schueren et Mathieu, 2011).

4.3. Autres test

D'autres examens biochimiques pourront être mis en œuvre au moment du diagnostic : glycosurie, dosage de l'insuline et du peptide-C. Dans certains cas, l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale pourrait servir au diagnostic (Vaubourdolle, 2007).

5. Les complications

Les patients diabétiques sont exposés, de par leur maladie et par son évolution, à plusieurs types de complication.

5.1. Les complications aiguës

Les complications métaboliques aiguës du diabète sont des urgences diagnostique et thérapeutique, elles doivent être prises en charge rapidement. Les principales complications sont :

➤ L'hypoglycémie

L'hypoglycémie est définie par une glycémie inférieure à 0,5 g/l (Orban et al., 2008). Elle est résultat d'un taux circulant d'insuline anormalement élevé (injection d'insuline ou traitement par les sulfamide hypoglycémiant) par rapport à la glycémie normale (Radermeckeret al., 2003).

➤ Acidocétose diabétique

L'acidocétose est rare chez le diabétique de type 2 (Halimi, 2005), elle est définie de façon arbitraire par un $\text{pH} \leq 7.2$ et une hyperglycémie $\geq 3\text{g/l}$ en rapport avec une accumulation excessive de corps cétoniques dans le sang. Elle est la conséquence profonde d'une carence absolue ou relative en insuline (Khalifa, 2009) et d'une augmentation des hormones de contre-régulation telles que le glucagon, les catécholamines, l'hormone de croissance et le cortisol (Tenoutasse et al., 2010).

➤ Acidose lactique

On parle d'acidose lactique en présence d'une acidose métabolique organique associée à une lactatémie supérieure à 5 mmol/l. Elle s'explique par une diminution de la néoglucogenèse par la metformine ; un antidiabétique oraux (ADO) qui peut entraîner une hyperproduction de lactates (Orban et Ichai, 2008).

5.2. Les complications chroniques

L'hyperglycémie chronique joue un rôle majeur dans le déclenchement de complications vasculaires du diabète. Elles sont essentiellement présentes sous deux formes : la microangiopathie et la macroangiopathie (Cade, 2008).

5.2.1. Microangiopathie diabétique

➤ Néphropathie

La néphropathie diabétique est caractérisée par des niveaux élevés et persistants d'albumine dans l'urine, une baisse progressive du taux de filtration glomérulaire, et une augmentation de la pression artérielle (Sheira et al., 2015). En fait, la néphropathie diabétique est parmi les principales causes d'insuffisance rénale de stade terminal (Huang et al., 2015).

➤ Rétinopathie

La rétinopathie est une complication du diabète affectant tous les petits vaisseaux de la rétine, elle est caractérisée par une augmentation de la perméabilité vasculaire, des hémorragies oculaires, exsudat lipidique et par la fermeture vasculaire via le développement de nouveaux vaisseaux sur la rétine et la surface postérieure du vitré (Sayin et al., 2015).

➤ Neuropathie

Une neuropathie est très fréquemment rencontrée chez le patient qui souffre de diabète (Dive et al., 2005). Elle peut être divisée schématiquement en atteintes périphériques, touchant surtout les membres inférieurs (polynévrite sensitivomotrice distale), et en atteintes autonomes, touchant alors les différents systèmes (cardio-vasculaire, digestif, uro-génital et même broncho-pulmonaire) (Philips et al., 2005).

5.2.1. Macroangiopathie diabétique

Le terme de macroangiopathie a été introduit pour définir les lésions des artères de gros et moyens calibres observées chez le diabétique. Elle associe un athérome accéléré et une athérosclérose prématurée. Elle se distingue de l'athérome classique par sa précocité d'apparition, la coexistence fréquente de localisations multiples sur les coronaires, les artères périphériques, les artères cérébrales, et sa gravité évolutive (Leutenegger, 1995).

6. Traitements

Le traitement du diabète implique des modifications hygiéno-diététiques ainsi que la mise en route de traitements pharmacologiques, afin de compenser le déficit en insuline et combattre l'insulinorésistance (Paquot, 2010).

6.1. Conseils hygiéno-diététiques

Après une enquête alimentaire, des conseils diététiques sont prodigués. Le régime institué est hypocalorique pour les diabétiques avec surpoids et normocalorique pour les autres. De même la pratique régulière d'une activité physique adaptée est recommandée (Tossou et al., 1995).

6.2. Antidiabétiques oraux

Plusieurs classes d'antidiabétiques oraux sont à la disposition des praticiens pour traiter le diabétique de type 2 :

➤ **Les sulfamides hypoglycémians et les glinides :** Les sulfamides hypoglycémians et les glinides stimulent la sécrétion d'insuline, indépendamment du niveau de la glycémie, en fermant les canaux potassiques des cellules β des îlots de Langerhans. (Scheen, 2013).

➤ **Les biguanides :** Les plus utilisé est la metformine ; il améliore le contrôle glycémique par la diminution de la production hépatique de glucose ainsi que la sensibilité musculaire à l'insuline (Gasteyger et Egli, 2006 ; Scheen et al., 2007), en outre la metformine permet une amélioration du profil lipidique (Gasteyger et Egli, 2006). Elle constitue ainsi le traitement de premier choix chez le patient diabétique avec excès pondéral (Gasteyger et Egli, 2006).

➤ **Les Thiazolidinédione (TZD) :** Les thiazolidinediones ou glitazones se lient, de façon spécifique, à une isoforme des récepteurs PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptors), les PPAR- γ , surtout présents dans le tissu adipeux. Ces médicaments augmentent la sensibilité à l'insuline, dans les muscles, en stimulant l'utilisation du glucose, et dans le foie, en diminuant le contenu en graisse intra-hépatique (Scheen et al., 2007).

6.3. Insulinothérapie

Dans le diabète de type 2 l'insulinothérapie est indiquée lorsque les objectifs glycémiques et/ou d'hémoglobine glyquée ne sont pas atteints sous traitement oral bien conduit (Beer et Ruiz, 2004). Le but de l'insulinothérapie est d'approcher le plus possible la normoglycémie et l'insulinémie normale. L'insulinémie, qui dans ce cas est atteinte grâce à l'insuline exogène, doit se trouver en juste rapport avec la glycémie du patient (Talbert et al., 2011).

Chapitre II : L'insulinorésistance.

1. L'insuline

L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante connue. Elle est sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas, en réponse à une augmentation de la concentration sanguine en glucose (Talbert et al., 2011).

1.1. Structure de l'insuline

L'insuline est un polypeptide de taille plutôt modeste, d'un poids moléculaire d'environ 6 kDa. C'est un hétérodimère constitué de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A et la chaîne B, sont reliées par deux ponts disulfures. Dans la plupart des espèces, l'espèce humaine comprise, la chaîne A comporte 21 acides aminés et la chaîne B en comporte 30. Un pont disulfure intracaténaire relie les acides aminés 6 et 11 de la chaîne A (Figure 1).

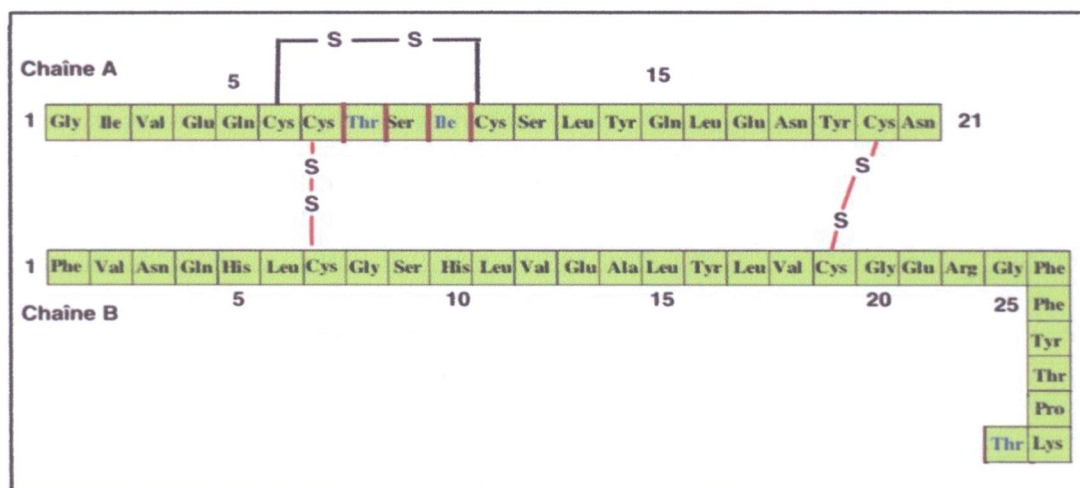


Figure 1: Structure primaire de l'insuline humaine (Magnan et Ktorza, 2005).

La forme monomérique est la forme active de l'hormone, et c'est sous cette forme que se présente la molécule d'insuline dans la gamme des concentrations physiologiques et à pH neutre. Le monomère d'insuline présente une structure globulaire dont le centre est constituée d'un noyau hydrophobe (Magnan et Ktorza, 2005).

1.2. Récepteur de l'insuline

Le récepteur insulinaire (RI) est une protéine intégrale de la membrane plasmique de la plupart des cellules de l'organisme (Carpentier, 1988). Il appartient à la famille des récepteurs de facteurs de croissance qui possèdent une activité tyrosine kinase dans leur domaine intracellulaire.

Le RI est formé de deux chaînes α extracellulaires reliées par des ponts disulfure à deux chaînes β transmembranaires (Capeau, 2003 ; De meys, 2005). Chaque sous-unité α possède un domaine complet de liaison de l'hormone situé de part et d'autre d'une séquence riche en cystéine permettant l'établissement de ponts disulfure structurant ce domaine (Figure 2) (Capeau, 2003).

Les deux sous-unités β ont chacune un domaine transmembranaire donnant au récepteur une mobilité latérale. En l'absence d'insuline, les sous-unités α exercent une contrainte inhibitrice et maintiennent le récepteur en configuration inactive. La liaison de l'hormone permet un rapprochement des deux sous-unités β et l'activation du récepteur. Chaque sous-unité β porte un domaine à activité tyrosine kinase intracellulaire possédant une boucle régulatrice qui occlut le site catalytique tyrosine kinase et le maintient à l'état inactif (Capeau, 2003) (Figure 2).

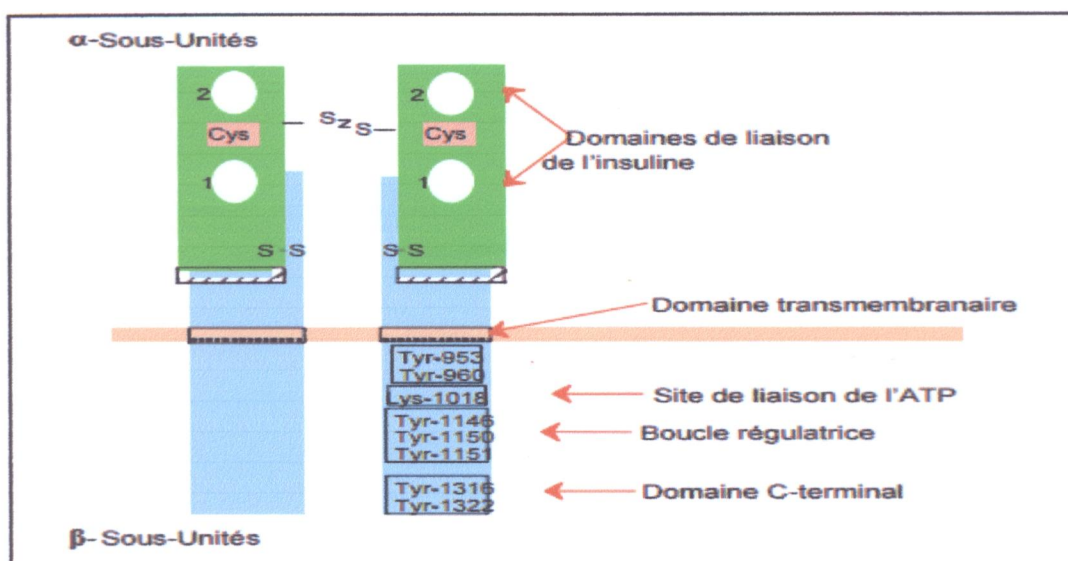


Figure 2 : Représentation schématique du récepteur de l'insuline (White, 1997).

1.3. La voie de signalisation de l'insuline

L'activation de récepteurs à l'insuline et sa phosphorylation permet le recrutement de protéines d'ancrage, les IRS (insulin receptor substrate). Ce sont les principaux substrats qui deviennent phosphorylés par le récepteur de l'insuline, entraînant l'activation de la voie de signalisation induite par la protéine P13K (phosphoinositide 3-kinase) (Woo, 2005). L'activation de P13K entraîne la phosphorylation de Akt/PKB (proteine kinase B) et PKC (proteine kinase C) responsables de la transmission de la signalisation de l'insuline.

Dans le foie, cette voie régule l'inhibition insuline-dépendante de la gluconéogenèse et de la production de glucose. Dans le tissu musculaire et adipeux, l'Akt phosphoryle le AS160 (Akt substrat 160 kDa), une étape essentielle dans la translocation de vésicules contenant le Glut 4

(transporteur de glucose) d'un compartiment intracellulaire à la membrane plasmique ou la modification de l'équilibre endocytose-exocytose de ces vésicules dans le sens de l'exocytose, permettant d'augmenter le nombre des transporteurs sur la membrane (Pessin et Saltiel, 2000 ; Marchand-Brustel et al., 2006 ; Samaan et Klip, 2008) (Figure 3).

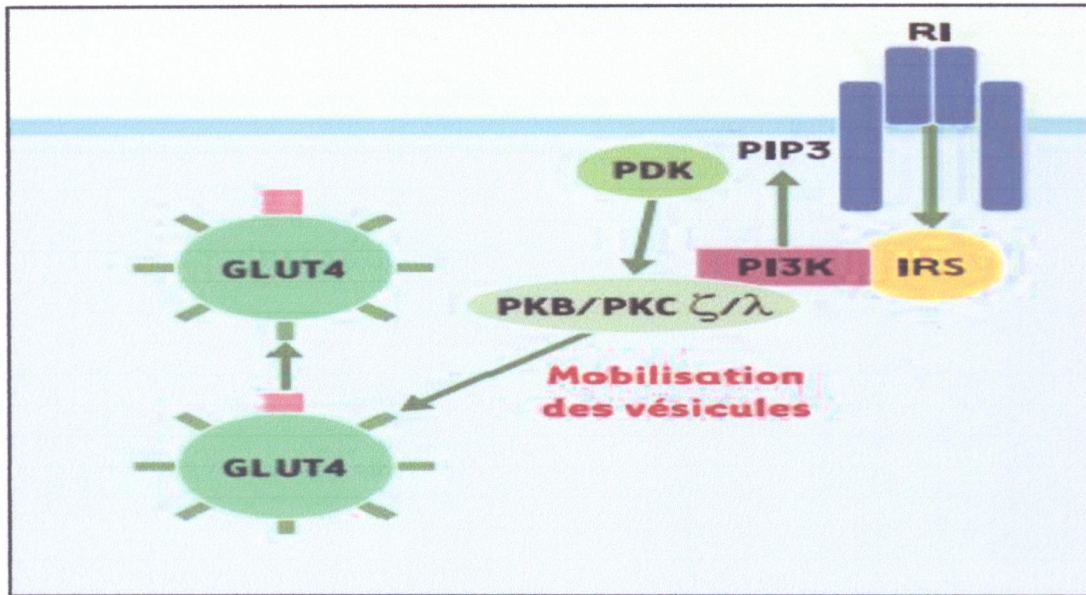


Figure 3 : La voie de signalisation de l'insuline (Capeau, 2003).

1.4. Rôle physiologique de l'insuline

L'insuline a longtemps été et est encore de nos jours associée au glucose sanguin alors qu'elle influence tout autant le métabolisme des protéines et des lipides que celui des glucides.

1.4.1. Action de l'insuline sur le métabolisme glucidique

L'insuline stimule la synthèse de glycogène dans l'hépatocyte et la cellule musculaire, en activant la glycogène synthase, c'est-à-dire en favorisant sa déphosphorylation. La glycogène synthase étant phosphorylée par GSK3 (glycogène synthase kinase 3) et déphosphorylée par le PPI (protéine phosphatase) colocalisée avec la glycogène synthase, l'insuline agit en inhibant GSK3 et stimulant PPI. Ces deux effets passent par la voie de signalisation PI3K/akt (Saltiel et Kahn, 2001; Cano et al., 2006).

Par contre, la voie de gluconéogenèse est contrôlée négativement par l'insuline, qui agit principalement en réglant au niveau transcriptionnel la quantité disponible de deux enzymes clés, la PEPCCK (phosphoenolpyruvate carboxylase kinase) et la GP6ase (glucose-6-phosphatase) (Cano et al., 2006).

1.4.2. Action de l'insuline sur le métabolisme lipidique

L'insuline stimule la lipogenèse hépatique, l'utilisation hépatocytaire du glucose et la synthèse de novo des acides gras via l'activation de certaines enzymes, dont la PDH (pyruvate déshydrogénase) et l'acétyl-CoA carboxylase (Cano et al., 2006).

L'insuline est un puissant inhibiteur de la lipase hormono-sensible. Il agit en inhibant l'adénylatecyclase, réduisant ainsi l'activité de la lipase du tissu adipeux. Ainsi, l'insuline a un effet anti-lipolytique, et favorisant le stockage des triglycérides dans l'adipocyte et réduisant le déversement d'acides gras libres dans la circulation (Vergès, 2001).

1.4.3. Action de l'insuline sur le métabolisme des acides aminés

L'insuline intervient dans le métabolisme des acides aminés; elle augmente la captation intracellulaire des acides aminés et la synthèse protéique en stimulant la transcription et la traduction *via* la stimulation de la PI3K (Proud, 2006).

2. Mécanisme de l'insulinorésistance

L'insulinorésistance est une des caractéristiques du diabète non insulino-dépendant (Lavill, 2003), elle se définit comme une diminution de la capacité de l'insuline à assurer l'absorption normale du glucose par les tissus périphériques (foie, muscles et tissu adipeux) et à contrôler la production de ce sucre par le foie (Delamare, 2008 ; Barquissau et Morio, 2011). C'est l'association anormale d'une hyperinsulinémie et d'une glycémie normale ou augmentée (Gatta, 2002). Plusieurs mécanismes moléculaires sont impliqués dans le développement de l'insulinorésistance :

2.1.1. Altération de la signalisation insulinique

Quelle que soit la cause de l'insulinorésistance, un ou plusieurs mécanismes ci-dessous peuvent altérer la signalisation insulinique et donc être responsables d'un état d'insulinorésistance.

2.1.1.1. Rôle des acides gras

Le dysfonctionnement du métabolisme des acides gras libres est un facteur déterminant menant à l'insulinorésistance (Magnan, 2006). L'élévation des acides gras libres résultant d'une lipolyse accrue pourrait conduire à une accumulation de diacylglycérol et d'acyl-CoA dans les muscles et le foie, conduisant à une activation de la PKC θ (proteïn kinase C theta) et à une phosphorylation de l'IRS1 sur Ser/Thr (serine/thréonine), inhibant ainsi le signal insuline, notamment pour le transport du glucose dans le muscle (Capeau, 2003). Deux autres molécules clés de la voie de signalisation de l'insuline, à savoir la GSK3 et la Akt/PKB, sont également inactivées par les PKC, notamment l'isoforme ζ , (proteïn kinase C zeta) elle-même activée par les céramides.

IKK β (inhibitor kappa β kinase) et NF κ β (nuclear factor-kappa β) sont les autres principales serine/thréonine kinase activés par les métabolites des AGL (acides gras libres) qui contribuent également à l'inhibition des IRS et d'autres molécules signal de la voie de l'insuline (Magnan, 2006) (Figure 4).

En effet, des concentrations élevées d'acides gras libres plasmatiques contribuent à l'augmentation de la production hépatique du glucose en fournissant les co-facteurs (ATP, NADH, acétyl-CoA) nécessaires à certaines étapes clés de la néoglucogenèse (Girard ,2003).

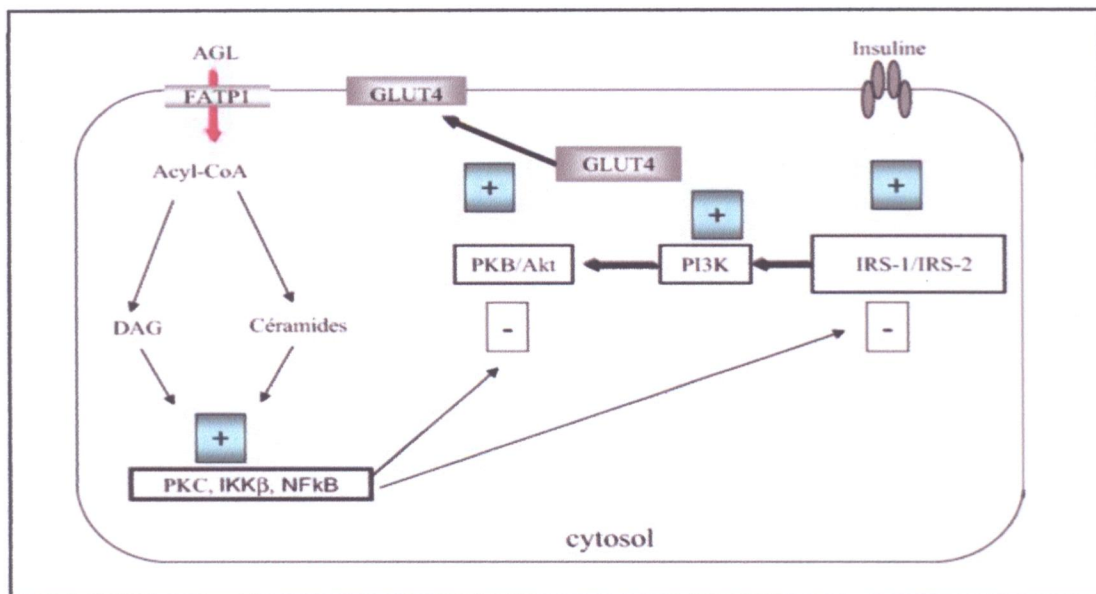


Figure 4 : Acides gras et voie de signalisation de l'insuline (Magnan, 2006).

2.1.1.2. Rôle des adipokines

La modulation du profil d'expression des adipokines va concourir au développement de l'état inflammatoire de faible intensité caractéristique de l'obésité, qui pourrait participer à la survenue de l'insulinorésistance.

Le TNF- α induit une phosphorylation de la sérine 307 de l'IRS-1, mais également une inhibition de la phosphorylation insulino-dépendante de tyrosine 960, l'ensemble conduisant à une inactivation de la voie de signalisation (Gouranton et Landrier, 2007). Le TNF- α réduit également la phosphorylation de l'Akt, ce qui cause une réduction de la phosphorylation de l'AS160 et de la capture du glucose stimulée par l'insuline dans le tissu musculaire (Samaan et Klip, 2003). Le TNF α peut aussi affecter la signalisation de l'insuline indépendamment d'IRS1. Ainsi, le traitement par TNF α d'adipocytes 3T3-L1 en culture réduit l'expression des gènes du récepteur de l'insuline, d'IRS1 et de Glut4, et diminue l'absorption du glucose en réponse à l'insuline (Stephens et al. 1997).

L'IL-6 quant à elle diminue l'expression IRS-1 (Gouranton et Landrier, 2007). En effet, des études ont mis en évidence qu'un taux élevé d'IL-6 inhibe la signalisation de l'insuline dans les hépatocytes en diminuant la phosphorylation des tyrosines de IRS-1 et l'association de IRS-1 à la sous unité p85 de la PI3-Kinase (Senn et al. 2002). Cet effet négatif de l'IL-6 sur la voie de signalisation du récepteur à l'insuline serait médié par l'activation de SOCS-3 (Senn et al., 2003) qui provoquent la dégradation anormale des protéines IRS dans le protéasome (Andreelli et al., 2006).

Il a aussi été identifié dans l'insulinorésistance une diminution de taux d'adiponectine, qui joue un rôle insulinosensibilisant exemplaire (Buysschaert, 2006 ;Bastard et al., 2012).

2.1.1.3. Contrôle négatif

La déphosphorylation des résidus tyrosine du récepteur et des protéines IRS requiert des PTPases (tyrosine phosphatases): les phosphatases PTP1B cytosoliques et LAR (leukocyte common antigen-related molecule) (Capeau, 2003) dont le rôle physiologique est d'interrompre la transmission du signal insulinique afin qu'il ne dure pas indéfiniment (Andreelli et al., 2006). Une augmentation de l'activité PTPase dans les muscles des patients diabétiques a été observée, qui participerait à la résistance de ces tissus à l'insuline (Capeau, 2003) ce qui réduit en permanence la signalisation insulinique entraînant une réduction considérable des effets intracellulaires sur les voies de signalisation de l'insuline (Andreelli et al., 2006).

2.1.2. Cycle glucose-acides gras ou cycle de Randle

L'hypothèse appelée «cycle glucose-acides gras», était fondée sur une compétitivité métabolique entre le glucose et les acides gras. Une oxydation préférentielle des AGL conduit à un défaut d'utilisation du glucose via l'inhibition des activités enzymatiques clefs de la glycolyse. En effet, l'oxydation des acides gras aboutit à la formation d'acétyl-CoA qui inhibe le PDH et de citrate qui inhibe la PFK (phosphofructokinase). Cela provoque une accumulation intra-cytoplasmique de G6P (glucose-6-phosphate) qui à son tour inactive l'activité HK (hexokinase) et finalement l'entrée de glucose dans la cellule (Magnan, 2006) (Figure 5).

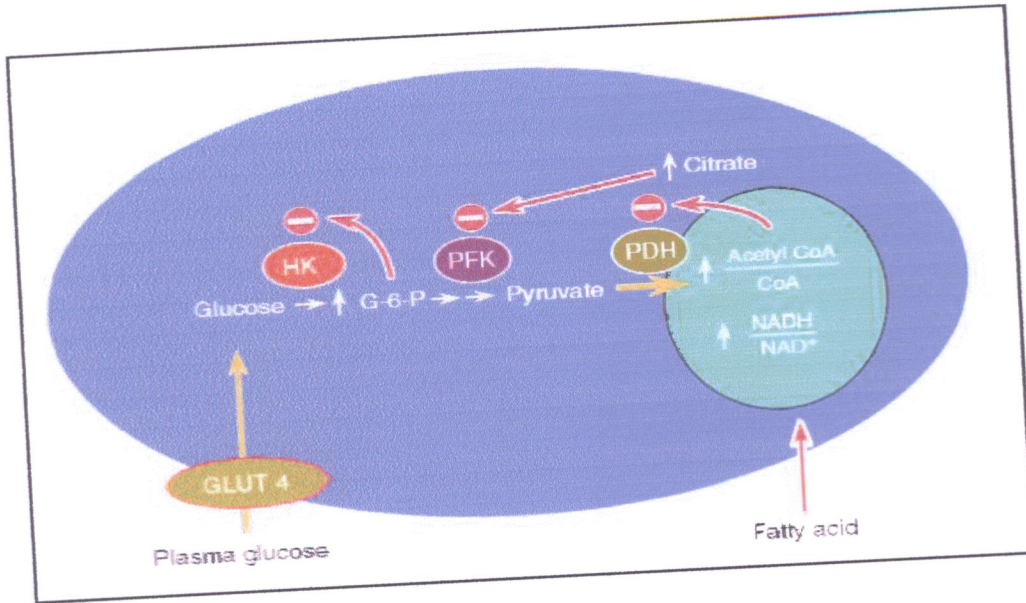


Figure 5: Mécanisme de l'insulinorésistance induit par les acides gras proposé par Randle (Shulman, 2000).

2.1.3. Dysfonctionnement de la mitochondrie

Le dysfonctionnement mitochondriale chez les sujets insulinorésistants pourrait être responsables de la diminution de l'oxydation des acides gras et donc de leur accumulation dans le cytosol sous la forme de métabolites pouvant interférer avec la voie de signalisation de l'insuline (Barquissau et Morio, 2011).

3. L'insulinorésistance et développement de stress oxydatif

L'augmentation des concentrations de glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant (Delattre et al., 1999) définit comme un déséquilibre de la balance entre les radicaux libres oxygénés et les systèmes antioxydants au profit des premiers (Delattre et al., 2001). Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans la genèse de ce stress oxydant (Delattre et al., 1999).

3.1. L'augmentation du flux de la voie des polyols

Une production accrue de sorbitol par la voie des polyols a lieu en présence de concentrations élevées de glucose. Cette voie est importante à noter car elle conduit à une déplétion intracellulaire de NADPH (Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) puisque le NADPH est nécessaire à l'activité de l'aldose réductase. Le déficit intracellulaire de NADPH a pour conséquence une faible régénération du glutathion réduit à partir du glutathion oxydé (Bonfont-Rousselot et al., 2004).

3.2. La glycation des protéines

La glycation des protéines résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines. Cette liaison donne naissance à des produits dits d'Amadori qui présentent la particularité de posséder un groupement cétole. Cette fonction cétole peut, en présence de métaux de transition, céder un électron à l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation d'anions superoxyde (Delattre et al., 1999).

3.3. L'activation de la voie des protéines kinases C

De fortes concentrations de glucose peuvent stimuler la production d'ERO en activant la NADPH oxydase par une voie dépendante de la PKC (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).

3.4. L'auto-oxydation du glucose

En présence de fer, le glucose s'oxyde, entraînant la génération d'ERO, mais aussi la production de la forme aldéhyde du glucose, le glyoxal. Cette molécule se fixe rapidement sur les protéines dans lesquelles apparaît un résidu CML (carboxy méthyl lysine). Ce groupement capte facilement le cuivre, ce qui provoque le déclenchement de réactions de type Fenton avec production de radicaux libres : il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique. Ce mécanisme pourrait expliquer pourquoi le diabète est souvent associé à des complications cardio-vasculaires (Haleng et al., 2007).

3.5. Surproduction des radicaux superoxydes par la chaîne respiratoire mitochondriale

Le gradient de protons généré par la chaîne mitochondriale de transport des électrons conduit à une production intra-cellulaire de $O_2^{\bullet-}$ (anion superoxyde). Cette surproduction de superoxyde est accrue en présence de fortes concentrations de glucose qui sont susceptibles d'induire la synthèse de diacylglycérol ou l'hydrolyse des phosphatidylcholines, activant ainsi la protéine kinase C (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).

4. Régime riche en fructose et l'insulinorésistance

4.1. Fructose dans le régime alimentaire

Le fructose est la forme la plus douce de glucide naturel (CHO) (Faure et al., 2008). Il se trouve en petites quantités sous sa forme libre dans les fruits et le miel. Le fructose constitue avec le glucose la molécule de sucrose, et est consommé en quantité importante avec les sucres ajoutés (Tappy et al., 2012). Cependant, au cours des années 1970 et 1980, la disponibilité du fructose est sensiblement augmentée en raison de la production industrielle de sirop à haute teneur en fructose, produits principalement à partir de fécule de maïs. Les données les plus récentes disponibles

suggèrent que la consommation de fructose augmente dans le monde entier (Basciano et al., 2005 ; Faure et al., 2008), cette haute consommation du fructose est à l'origine de la prévalence de nombreuses anomalies métaboliques chez l'homme (Busserolles et al., 2003).

4.2. Métabolisme du fructose

Le fructose est un monosaccharide en C₆ (hexose) de formule C₆H₁₂O₆ appelé aussi lévulose. Son absorption intestinale dépend d'un transporteur (GLUT5) (Lecerf, 2009). Elle est facilement absorbée et rapidement métabolisée par le foie (Basciano et al., 2005) à travers les actions séquentielles du système enzymatique : fructokinase et aldolase B et triokinase (Tappy et 2005). Dans le foie le fructose est initialement dégradé en triosephosphate, pour être ensuite soit oxydé dans le cycle de Krebs, soit relâché dans la circulation sous forme de lactate, soit converti en glucose ou en glycogène, soit encore transformé en acides gras et en triglycérides (Le, 2008). Le fructose a la capacité de contourner l'étape de régulation phosphofructokinase dans la voie glycolytique (Faure et al., 2008) (Figure 6).

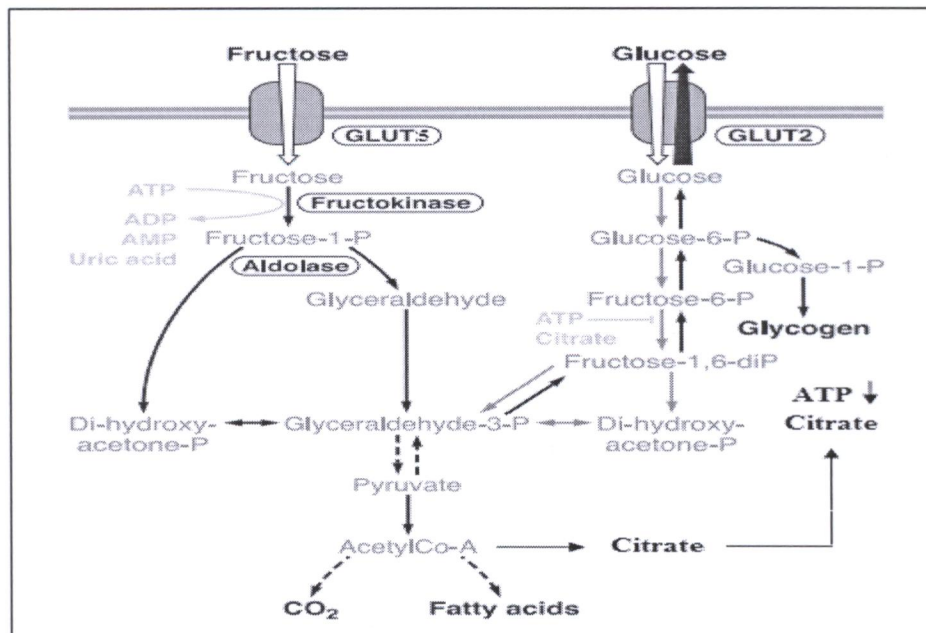


Figure 6 : Métabolisme du fructose (Tappy et Le, 2010).

4.3. Rôle de Fructose dans l'insulinorésistance

Le développement d'une résistance à l'insuline après une suralimentation en fructose a été démontré par plusieurs études expérimentales (Thorburn et al., 1989 ; Faure et al., 1997 ; Maiztegui et al., 2009).

Une consommation chronique du fructose augmente l'activité lipogène des enzymes ce qui favorise la production hépatique des triglycérides et des particules de VLDL (Very Low Density Lipoprotein) (Bantle, 2009). L'accumulation hépatique des triglycérides, induit une activation de la protéine kinase C, ce qui amène l'insulinorésistance hépatique par l'augmentation du taux des acides gras libres au foie (Khitani et Kim, 2013), en plus le fructose change l'activité de plusieurs enzymes régulant le métabolisme hépatique d'hydrates de carbone comprenant la diminution de l'activité de la glucokinase et l'augmentation de l'activité de la glucose-6-phosphatase menant à la résistance à l'insuline hépatique (Faure et al., 2008).

Une autre explication possible de la résistance à l'insuline chez les rats nourris par un régime riche en fructose est due à une réduction des niveaux d'ARNm (acide ribonucléique messager) des récepteurs de l'insuline dans les muscles squelettiques. Cet effet a été associé à une diminution de l'utilisation du glucose stimulée par l'insuline et une réduction de la sensibilité à l'insuline (Abdulla et al., 2011).

Le fructose entraîne une diminution de la voie de signalisation de l'insuline. Il a été suggéré qu'en présence d'un apport excessif de fructose, il y a une activation de la protéine kinase JNK (c-jun N-terminal kinase) et que celle-ci phosphoryle IRS sur des résidus sérine, ce qui réduit son interaction avec la PI3K et la cascade de signalisation de l'insuline (Wei, 2005) (figure 7).

De plus, le fructose métabolisé en excès entraîne une stimulation de l'inflammation et la production de cytokines pro-inflammatoires comme TNF α et IL-6. Ces cytokines activent des protéines kinases comme JUN et IKK β qui phosphorylent le substrat du récepteur de l'insuline (IRS) sur des sérines. IRS phosphorylé sur des sérines est alors incapable de déclencher la voie de signalisation de l'insuline, ce qui se traduit par une diminution des effets métaboliques de l'insuline (insulinorésistance) (Girard, 2008) (figure 7).

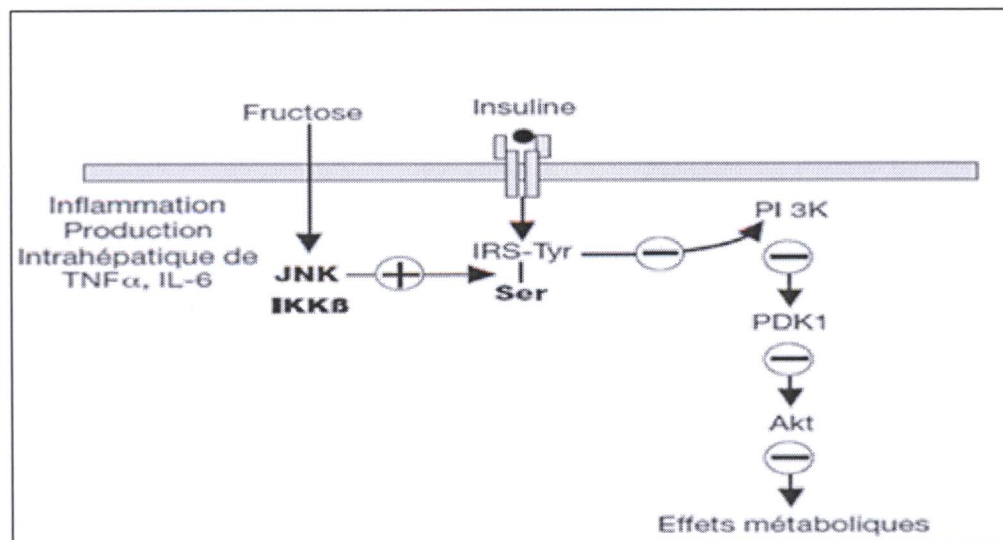


Figure 7: Mécanisme de l'insulinorésistance induit par le fructose (Girard ,2008)

Le fructose a la propriété unique, comparé aux autres sucres, d'augmenter la concentration d'acide urique plasmatique. Ce dernier réduit la concentration d'un vasodilatateur, le monoxyde d'azote (nitrite d'oxyde) (NO), ce qui cause une hypertension et est à l'origine d'un hyperinsulinisme. Normalement, l'insuline augmente le NO des cellules endothéliales et dilate les vaisseaux sanguins, ce qui permet au glucose d'être capté efficacement au niveau des muscles. Lorsque le NO est diminué, le captage musculaire de glucose est réduit et apparaît une insulinorésistance (Girard ,2008 ; Halimi et al., 2010 ; Abdulla et al.,2011).

4.4. Fructose et stress oxydatif

L'administration de sucres simples, comme le fructose, présente un stress oxydatif pour l'organisme, accompagné d'une production importante des radicaux libres indépendamment d'une élévation de la glycémie (Le, 2008).

Dès la première semaine d'un régime riche en saccharose ou fructose, différents marqueurs reflètent une aggravation du stress oxydant, et ce à travers une diminution du contenu en glutathion réduit (GSH) et des enzymes antioxydants (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase). En effet, la dégradation du fructose épuise le phosphate inorganique cellulaire menant à l'inhibition de la phosphofructokinase. D'autres enzymes de la glycolyse, dont la GAPDH (glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase), ont une activité réduite. Ceci concourt au blocage de la voie glycolytique, à une accumulation de glycéraldéhyde-3-phosphate et à une orientation du glucose vers la voie des polyols (Garait, 2006).

Par ailleurs, le fructose a un pouvoir glyquant beaucoup plus important que celui du glucose. Ceci a pour conséquence, lorsqu'il est en excès dans les cellules, de modifier les protéines à la fois dans leur structure et leur fonction s'il s'agit d'enzyme. La transformation des protéines modifiées, favorisant la production de radicaux libres (Halimi et al., 2010).

Enfin, en favorisant la synthèse de triglycérides, le fructose favorise l'apparition de substrat attaqué par les radicaux libres, entraînant ainsi de façon indirecte une augmentation du malondialdéhyde qui est un produit issu de l'oxydation des lipides (Basciano et al., 2005 ; Halimi et al., 2010).

Chapitre III : Le chrome

1. Généralités sur le chrome

Le chrome est le 21^{ème} minéral abondant dans la croûte de la terre. Sa masse atomique est environ 51,996 g. Le chrome peut se trouver sous plusieurs formes d'oxydation dont les plus répandues sont le chrome trivalent et hexavalent. Le chrome trivalent est la forme la plus stable d'oxydation. Il n'a pas la capacité de traverser facilement la membrane de la cellule, il possède également une faible réactivité, ce qui est la plus importante propriété biologique qui permet de le distinguer du chrome hexavalent (Pechova et Pavlata, 2007).

1.2. Les sources alimentaires

Le chrome présent dans les aliments et dans les compléments alimentaires sous forme trivalente (Landman et al., 2014). Les fruits, légumes, huître, viande, poisson, céréales, levure de bière, les jaunes d'œufs, brocoli, les noix et les fromages sont relativement les bonnes sources du chrome. (Ferland, 2003 ; Cefalu et Hu, 2004 ; Golubnitschaja et Yeghiazaryan, 2012). L'apport alimentaire estimé de chrome pour les adultes est de 50 à 200 µg / j (Anderson, 1997 ; Siddiqui et al., 2014).

1.3. Métabolisme du chrome

Le chrome trivalent ne traverse la membrane cellulaire que de façon très limitée, par simple diffusion passive ou pinocytose. Cependant, bien que le processus d'absorption intestinale du chrome n'ait pas encore été clairement identifié, des mécanismes actifs sont également envisagés (Cotte, 2010).

Le chrome très peu absorbé dans l'intestin ce dernier absorbant moins de 2% du chrome inorganique ; l'absorption du chrome contenu dans une formulation organique semble légèrement supérieure. Dans le sang la protéine transporteur principal pour le chrome est transferrine (Cefalu et Hu, 2004). L'albumine peut tout fois transporter le chrome lorsque le taux de saturation de la transferrine est élevé, les globulines (alpha et bêta) et les lipoprotéines peuvent également le lier. Le chrome tend à se concentrer dans le foie, les tissus mous ; la rate et l'os (Ferland, 2003).

Le chrome est principalement excrété par le rein avec une petite partie passe dans la bile, la sueur, cheveux (Krejpcio, 2001) et l'excrétion du chrome organique s'effectue via les fèces (Ferland, 2003).

1.4. Rôle physiologique du chrome

Le chrome est un nutriment impliqué dans le métabolisme du glucose et des lipides. (Anderson, 2000). En présence de chrome, la sensibilité à l'insuline est améliorée et l'utilisation cellulaire du glucose est régulée (Roussel et Hininger-Favier, 2009).

Le chrome intervient aussi dans le métabolisme lipidique en augmentant les taux sanguins de HDL (cholestérol high density lipoprotein) et en abaissant ceux de triglycérides (Roussel et Hininger-Favier 2009 ; Lewicki et al., 2014).

Le chrome est engagé dans le bon fonctionnement du système immunitaire. En présence de chrome les niveaux de plusieurs cytokines: IL-1, IL-2, IL-6, IFN (interféron) et TNF- α sont modifiés. (Lewicki et al., 2014).

1.5. Carence en chrome

Les situations de stress telles que l'âge, la grossesse, l'exercice intense, les traumatismes physiques aggravent les déficits de chrome, car les pertes urinaires sont accrues. Des apports insuffisants en chrome entraînent une augmentation de l'insulinémie, des taux plasmatiques de glucose, de cholestérol, de LDL (cholestérol low density lipoprotein), de triglycérides et une baisse des cholestérols HDL. L'ensemble de ces modifications s'accompagne d'une augmentation du risque cardiovasculaire et du risque de diabète.

1.6. Le chrome dans les suppléments alimentaires

Le Cr trivalent est trouvé également dans de nombreux suppléments multivitaminés / minéraux (Cefalu et Hu, 2004). Aussi on trouve des suppléments spécifiques comme le nicotinate de chrome, picolinate de chrome, levure de haut-chrome et le citrate de chrome, (Landman et al., 2014).

Le plus populaire de ces formes est le picolinate de chrome; un complément nutritionnel qui contient du Cr trivalent chélaté avec trois molécules d'acide picolinique, a été formulé dans le but d'augmenter l'absorption de Cr trivalent par rapport aux formes non chélatées, tels que le chlorure de chrome (Mozaffari et al., 2009; Stout et al., 2009).

1.7. Toxicité de chrome

Si la toxicité du chrome hexavalent est bien connue (Wise et Wise, 2012 ; Fang et al., 2014), le chrome trivalent est un oligoélément qui n'est pas aussi dépourvu de toxicité, globalement, les formes de Cr trivalent ont le potentiel pour produire des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent avoir des conséquences profondes sur l'ADN (acide désoxyribonucléique) en provoquant des mutations et des cassures chromosomiques aboutissant à l'instabilité génomique et des effets potentiellement cancérogènes (Wise et Wise, 2012). En outre une étude a montré que la liaison de

Cr trivalent à l'ADN conduit à une diminution de la fidélité et une augmentation de la processivité des polymérase d'ADN qui peut finalement conduire à une augmentation des mutations (Snow et Xu 1991 ; Dai et al., 2009).

Cependant, une étude réalisé sur 10 femmes volontaires obèses ayant reçus 400 µg/jour de picolinate du chrome pendant 8 semaines a montré que le picolinate de chrome n'augmente pas des dommages oxydatifs de l'ADN (Kato et al., 1998).

2. Rôle de chrome dans la réduction de l'insulinorésistance

2.1. Action du chrome sur la signalisation de l'insuline

Le rôle potentiel de chrome dans la régulation de la glycémie a été indiqué à la fin des années cinquante par Mertz et Schwarz, quand ils ont été suggéré que la levure de bière contient un facteur de tolérance au glucose (GTF) qui a empêché le diabète chez les animaux de laboratoire. (Cefalu et Hu, 2004 ; Hua et al., 2012). Il s'agit d'une structure moléculaire complexe qui contient deux molécules d'acide nicotinique par atome de Cr et trois acides aminés : la glycine, la cystéine et l'acide glutamique (Chowdhury et al., 2003 ; Burdin, 2014).Ce facteur joue le rôle de co-hormone de l'insuline et permet un transport vers les récepteurs cellulaires et la fixation de l'insuline sur les membranes par des ponts disulfures (Burdin, 2014).

Le mode d'action de chrome passe par une augmentation du nombre de récepteurs de l'insuline, une modification de la liaison insuline/récepteur et une augmentation de l'internalisation de l'insuline (Roussel et Hininger-Favier, 2009). Le chrome augmente aussi la phosphorylation de la tyrosine des récepteurs de l'insuline (Hua et al., 2012) et améliore son activité tyrosine kinase (Hua et al., 2012 ; Roussel, 2014). Par contre il inhibe la phosphotyrosine phosphatase (figure 8). L'activation du récepteur de l'insuline et l'inhibition de la kinase phosphatase conduirait à une phosphorylation accrue du récepteur de l'insuline et une sensibilité accrue à l'insuline (Cefalu et Hu, 2004).

Une étude a bien montré que le picolinate de chrome améliore la phosphorylation de l'insuline dans les muscle squelettique par une augmentation de phosphorylation de PI3-kinase stimulée par l'insuline (Wang et al., 2006). En outre une autre étude a montré que le triphenylalaninate de chrome améliore l'absorption de glucose dans les adipocytes par l'amélioration de la phosphorylation de Akt stimulée par l'insuline (Dong et al., 2008).

La régulation de la translocation de GLUT4 par le chrome peut être indépendante des protéines de signalisation insuline telles que l'IR, IRS-1, PI3-kinase, ou Akt. Au lieu de cela, le chrome augmente la fluidité de la membrane en diminuant le taux de cholestérol membranaire (figure 8). Il a été montré aussi que le chrome régule positivement la liaison de SREBP (Stérol Regulatory Element Binding Protein), un facteur de transcription liée à la membrane chargé de contrôler l'équilibre du cholestérol cellulaire (Pattar et al., 2006 ; Hua et al., 2012).

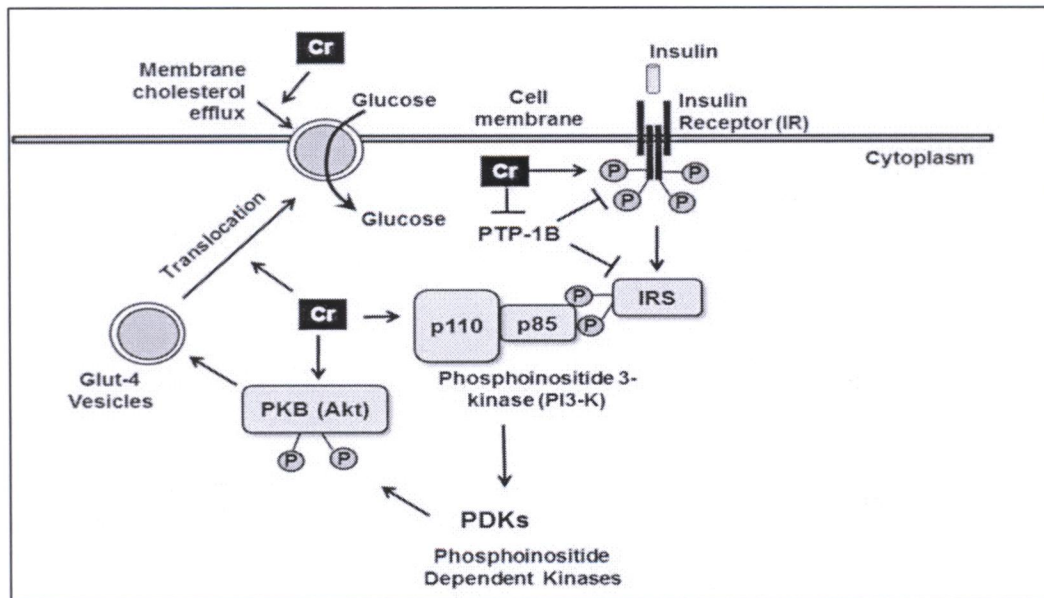


Figure 8 : Mécanismes moléculaires de chrome dans la réduction de résistance à l'insuline (Hua et al., 2012)

2.2. Action du chrome via la chromoduline

D'autre théorie qui explique l'impact de chrome sur le métabolisme de glucose est l'implication d'un oligopeptide, nommé chromoduline (aussi connue en anglais sous le nom de low-molecular-weight-chromium-binding substance (LMWCr). LMWCr est un petit peptide avec une masse d'environ 1500 kDa, construit uniquement des acides aminés: 2 glycine, 2 cystéine, 4 acide glutamique et deux molécules de l'acide aspartique (Lewicki et al., 2014).

L'activation de récepteurs de l'insuline par la liaison à son hormone déclenche le flux de chrome (probablement sous la forme de Cr-transferrine) de puis le sang vers les cellules insulinosensibles ou le chrome se lie à l'apochromoduline, le holochromoduline ou 4Cr-chromoduline obtenue se lie au récepteur de l'insuline et augmente son activité tyrosine kinase. Par contre lorsque la concentration plasmatique en insuline diminue, l'apochromoduline est incapable de se lier au

récepteur de l'insuline et donc de modifier l'activité kinase, on observe la relaxation conformationnelle du récepteur et l'holochromoduline est éliminée de la cellule (Vincent, 2000) et va migrer jusqu'au sang, où elle va ensuite être excrétée dans l'urine (Lamson et Plaza, 2002) (Figure9).

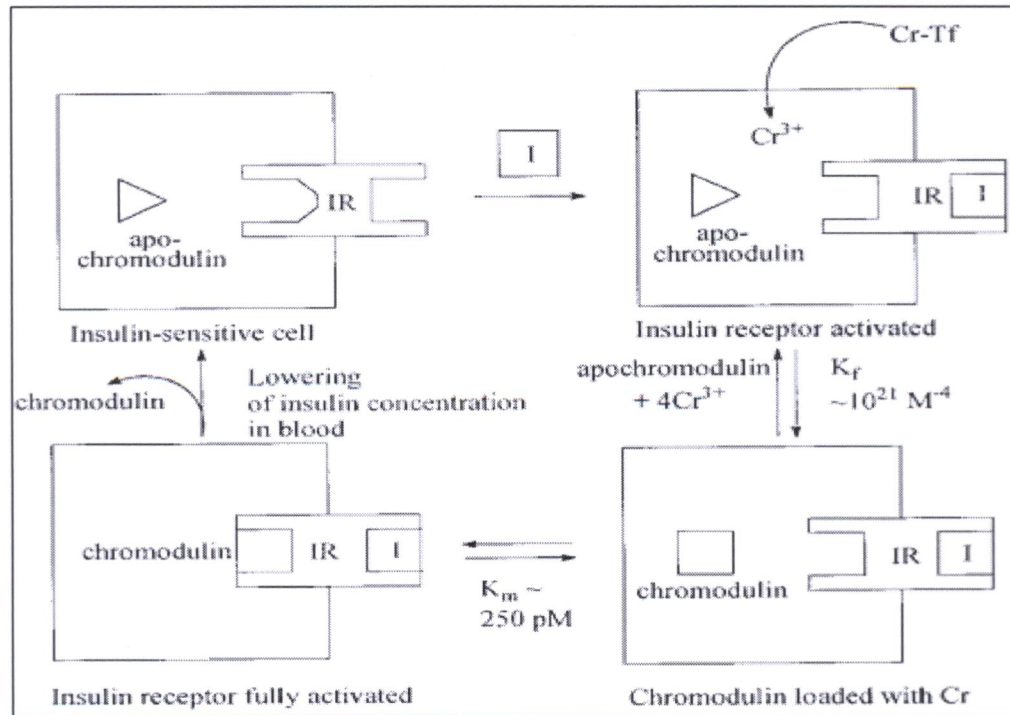


Figure 9 : Mécanisme proposé pour l'activation de l'activité kinase du récepteur de l'insuline par la chromoduline, en réponse à une stimulation par l'insuline (Vincent, 2000).

2.3. Action de chrome sur les lipides

L'insuline joue un rôle dans le métabolisme des lipides. Il semble donc logique que le chrome, en tant que potentialisateur de l'insuline, ait une action indirecte à ce niveau.

De plus, un effet indépendant de l'hormone a été évoqué : il semble que le chrome inhibe l'enzyme hépatique HMG-CoA réductase (hydroxyméthylglutaryl-Coenzyme A réductase), enzyme clé de la synthèse du cholestérol, d'où un effet hypolipémiant (Zima et al., 1998).

Chez les rats, plusieurs études ont montré que la supplémentation en chrome avait un effet bénéfique sur le profil lipidique : diminution des taux sériques de cholestérol total et de triglycérides, et augmentation du cholestérol HDL (Press et al., 1990 ; Jain et al., 2007).

3. Chrome et stress oxydatif

Plusieurs études d'intervention ont, de plus, rapporté un effet antioxydant de la supplémentation en chrome chez le diabétique de type II. Ces résultats suggèrent un effet antioxydant indirect qui

passerait par la régulation des cytokines proinflammatoires et par celle de l'insulinémie, marqueurs biologiques dont l'élévation dans le sang est associée à l'élévation du stress oxydant (Roussel et Hininger-Favier, 2009).

De plus, il a été trouvé que le chrome inhibe la glycosylation des protéines et la peroxydation des lipides dans les érythrocytes exposés à des niveaux élevés de glucose (Hua et al., 2012).

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Les rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats femelles adultes de souche *Wistar albinos*, pesant entre 167 et 220 g, fournis par l'Institut Pasteur (Algérie). Les rats sont maintenus à l'animalerie de l'Université de Jijel dans les conditions standard ; à une température ambiante de 20-25°C et une photopériode de 12h/12h. Avant le début des expérimentations les rats sont nourris ad libitum avec un régime standard.

2. Produits utilisés

Dans notre travail, nous avons utilisé le fructose (15%) sous forme cristallisé dissout dans l'eau potable pour induire une insulino-résistance et le picolinate de chrome ; un supplément alimentaire sous forme de comprimé 100 µg/kg à été utilisé comme traitement.

3. Traitement des animaux

Les rats ont été répartis en 3 groupes :

- Groupe 1: 5 rats soumis à un régime alimentaire normal (**T**).
- Groupe 2 : 5 rats soumis à un régime riche en fructose (15%) dans l'eau potable pendant 6 semaines (**Fr**) (Hobara et al., 2012).
- Groupe 3 : 5 rats soumis à un régime riche en fructose (15%) dans l'eau potable et traité par une dose de 100 µg/kg/j de picolinate de chrome par gavage pendant 6 semaines (**Fr+Cr**) (Sahin et al., 2013).

La prise du poids est notée trois fois par semaine alors que le taux de consommation alimentaire et hydrique est évalué chaque jour. La glycémie à jeun est mesuré à la fin de chaque semaine à l'aide d'un glucomètre de type Acut Chek Go.

4. Test de tolérance au glucose

Après 6 semaines, la nourriture et l'eau contenant le fructose sont enlevées et les animaux sont mis à jeûne pendant 18 h. Une solution de glucose de 4 g/kg dans 4 ml de l'eau distillé est gavée à l'aide d'une sonde intra gastrique provoquant ainsi chez les rats une hyperglycémie temporaire.

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la veine caudale à des temps réguliers : 0, 30min, 60min, 90 min, 120min et 150 min. La glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur du glucose (glucomètre Accu-Chek Go à bandelettes réactives) (N'doua et al., 2015).

5. Prélèvement des échantillons

5.1. Prélèvement sanguin

Le sang est prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital sur des rats à jeun (18 heures). Le sang est mis dans des tubes secs, centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes.

Le sérum est recueilli dans des tubes Eppendorff, et conservé à -20°C en vue d'analyse des paramètres biochimiques sériques.

5.2. Prélèvement des organes

Après prélèvement sanguin, le foie, le pancréas et les reins sont soigneusement prélevés, rincés dans une solution de chlorure de sodium, puis pesés.

Un fragment du foie de chaque animal est maintenu à (-20 °C) pour le dosage du glycogène et des paramètres de stress oxydatif. Les tissus destinés à l'étude histologique ont été conservés dans une solution de formol tamponné.

6. Dosage des paramètres biochimiques

6.1. La glycémie

La glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur glucomètre à bandelettes réactives (glucomètre Accu-Chek Go à bandelettes réactives) sur une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des animaux (sang veineux).

Généralement les glucomètres sont constitués d'une couche absorbante sur laquelle la goutte du sang est déposée, finement poreuse ou recouverte d'une membrane sur sa face interne, elle retient les globules rouges et ne laisse diffuser que le plasma vers les couches inférieures où se trouve le réactif essentiellement la glucose-oxydase (éventuellement l'héxokinase) associée à un chromogène. La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans le lecteur de glycémie.

6.2. L'insuline

Le dosage de l'insuline a été réalisé selon la fiche technique (Menarini Diagnostics). Le kit insuline (Zenit) est un dosage immunoenzymatique direct en phase solide pour la détermination quantitative de l'insuline dans le sérum ou le plasma.

Le test Elisa insuline est basé sur la capture simultanée de l'insuline humaine de la part de deux anticorps monoclonaux, un immobilisé dans la microplaque, l'autre conjugué avec la peroxydase.

Après une période d'incubation déterminée, la séparation libre-lié s'obtient à travers un simple lavage de la phase solide. L'enzyme présente dans la partie liée catalyse la réaction entre le substrat (H₂O₂) et le substrat TMB, en développant une coloration bleue qui vire au jaune après ajout de la

Solution d'arrêt (H₂SO₄). La concentration de l'insuline dans l'échantillon est calculée sur la base d'une série standard. L'intensité de la couleur développée est proportionnelle à la concentration d'insuline présente dans l'échantillon.

6.3. Indice HOMA-IR

L'indice HOMA-IR (Homeostasis Assessment InsulinResistance) est basé sur la glycémie et l'insulinémie à jeun. Il est calculé selon la formule suivante :

$$\text{HOMA-IR} = [\text{insuline à jeun } (\mu\text{IU/ml}) \cdot \text{glycémie à jeun (mmol/l)}] / 22.5 \quad (\text{Ali et al., 2014}).$$

6.4. Le glycogène

Le dosage du glycogène consiste en premier lieu à extraire le glycogène du foie puis dans un deuxième temps réaliser le dosage de l'échantillon obtenu par rapport à une gamme étalon.

2.5 grammes de foie frais sont coupés en petits morceaux et bouillis ensuite dans 25 ml d'eau distillée pendant 2 minutes. Les fragments de foie sont égouttés à l'aide d'une passoire et broyés avec un mortier. 12.5 ml d'eau distillée sont ajoutés au broyat et la suspension obtenue est bouillie pendant 5 minutes. Le bouillon est centrifugé à 5000 tours/minute pendant 5 minutes puis le filtrat est récupéré avec 3 gouttes d'HCl (pour précipiter les protéines) et est centrifugé à nouveau à 5000 tours/minute pendant 5 minutes. Le filtrat est traité par 4 fois de son volume d'alcool 95% puis centrifugé, le filtrat final est repris avec 2 ml d'eau distillée.

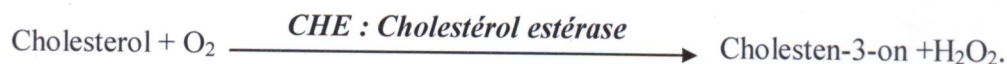
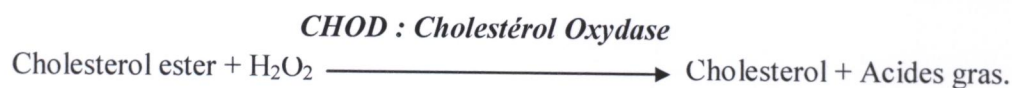
Pour doser le glycogène, 3 ml d'eau distillée et une goutte de l'eau iodée sont ajoutés à 1 ml d'extrait de glycogène obtenu et la densité optique de la coloration brune acajou est lue à 470 nm.

La concentration du glycogène est déduite à partir d'une gamme étalon établie avec du glycogène pure comme standard (Dedier, 1994).

6.5. Le cholestérol total

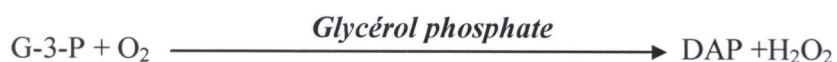
Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



6.6. Les triglycérides

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres par la lipoprotéine-lipase (LPL). Le glycérol sous l'effet du glycérol kinase forme le glycérol -3-phosphate (G3P) qui est oxydé en H_2O_2 . Ce dernier forme avec le 4-aminophénol et le p-chlorophénol en présence de peroxydase un complexe rouge, selon les quatre réactions suivantes:



6.7. L'acide urique

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

L'acide urique est oxydé par l'uricase à allantoïne et eau oxygénée ($2 \text{H}_2\text{O}_2$) qui sous l'influence de peroxydase (POD), 4-Aminophénol (4-AP) et le 2-4 Dichlorophénolsulfonate (DCPS) forme un complexe rouge (quinoneimine).



7. Dosage des paramètres du stress oxydatif

7.1. Préparation de la fraction cytosolique hépatique

1 g du foie a été prélevé et directement plongé dans trois volumes de tampon phosphate (0,1 M à pH 7,4) contenant du KCl 1,17 %. Après avoir découpé en morceaux fins et homogénéisation à l'aide du broyeur de DOUNCE, l'homogénat est centrifugé à 800 rpm pendant 15 minutes à 4 °C pour éliminer les débris nucléaires; le surnageant est ensuite centrifugé à 9 600 tour/min pendant 45 minutes à 4 °C. Le surnageant final est utilisé comme source d'enzymes cytosoliques (Iqbal et al., 2003).

7.2. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode de Clairborne (1985). Le principe repose sur la disparition de l' H_2O_2 à 25°C par la présence de la source enzymatique dans la fraction cytosolique.

Dans une cuve de mesure en quartz nous allons préparer une solution substrat composée de 1 ml de tampon phosphate (KH_2PO_4 0.1M, pH : 7.4), 0,950 ml de H_2O_2 (0,019 M), 0,025 ml de la source enzymatique (fraction cytosolique). La réaction est suivie par l'enregistrement de l'absorbance à 560 nm chaque minute pendant deux minutes. L'activité enzymatique est exprimée en $\text{UI}\cdot\text{mg}^{-1}$ de protéine.

- Calculs

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine tissulaire (foie).

$$K = \frac{2.303}{T} \cdot \log \frac{A1}{A2}$$

K : Constant de vitesse de la réaction

T : Intervalle de temps

A1 : Absorbance dans le temps zéro

A2 : Absorbance après une minute

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante : $\text{U/g} = \frac{K}{n}$

-n: mg de protéines en g présentent dans le volume de l'échantillon utilisé.

-UI/mg de Pro : $\mu\text{mole d}'\text{H}_2\text{O}_2$ consommé/min/mg de protéines.

7.3. Dosage du glutathion réduit

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé selon la méthode d'Ellman (1959). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance à 412 de l'acide 2-nitro-5-mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion.

1g du foie est découpé, homogénéisé avec trois volumes de l'acide trichloracétique (TCA) (5 %) à l'aide d'un broyeur de DOUNCE, puis centrifugé à 2 000 rpm. Une aliquote de 50 μl du surnageant est ensuite diluée dans 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH = 8). À 3 ml du mélange de dilution, nous avons additionné 20 μl DTNB (acide 5, 5'-dithiobis- 2-nitrobenzoic) (0,1 M). Après 15

minutes d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5 %).

Les concentrations ont été exprimées en millimoles de glutathion par gramme de foie. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage.

7.4. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de Flohe and Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GSH-Px.

0.4 ml de GSH (0.1 mM) est ajouté à 0.2 ml de l'homogénat, puis nous avons additionné 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), après 5min d'incubation 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) sont ajouté pour initier la réaction, après 120 min, 1 ml de TCA (1%) est additionné pour l'arrêter. Le mélange est mis dans un bain de glace pendant 30 minutes, puis centrifuger durant 10 minutes à 3000rpm. 2.2 ml de solution tampon TBS sont additionné à 0.48 ml de surnageant et 0.32 ml de DTNB (1.0 mM), après avoir mélangé 5 min la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GSH-Px } (\mu\text{mol GSH/ mg protéine}) = [(\text{DO échantillon} \times \text{DO blanc})/0.04]/\text{DO blanc}$$

7.5. Dosage des protéines tissulaires

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

5 ml du bleu de Coomassie est ajouté à 0.1 ml de l'homogénat, puis nous avons fait une agitation. Après 5 min de repos, la lecture de la densité optique est effectuée à 595 nm contre le blanc.

La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de protéine standard la SAB (Sérum Albumine Bovine).

Les résultats sont exprimés en équivalent-albumine [Sérum Albumine Bovine SAB (1mg/ml)] (Annexe 2).

8. Etude histologique

Les reins et les pancréas sont pesés et fixés par immersion dans du formol tamponné (10%). Après 24 heures, les organes sont transférés à une solution d'alcool à 70%, après l'étape de l'inclusion dans la paraffine. Les tissus sont découpés en sections de 5 μm et colorées à l'hématoxyline / éosine pour un examen histopathologique (Houlot, 1984).

9. Analyses statistiques

Les données ont été exprimées en moyenne \pm écart-type (SD). La signification statistique des données a été évaluée par le test de Student. Une valeur de $P < 0,05$ a été considérée comme indiquant une différence significative entre les groupes.

Résultats et interprétation

1. L'influence de l'administration du fructose et du picolinate de chrome sur le poids corporel

L'évolution de la masse corporelle des animaux est représentée ci-dessous (Figure 10). Au début de l'expérimentation, les animaux pèsent en moyenne 197.99 ± 1.85 g. Les résultats obtenus dans notre étude ont montré une augmentation du poids corporel chez les rats de groupe T (199.66 à 217.406 g) et de groupe Fr (198.33 à 207.36 g).

Par ailleurs, les rats de groupe traité par le picolinate de chrome présentent une augmentation du poids seulement dans les 3 premières semaines de l'expérimentation (196 à 202.12g) après une diminution a été constaté dans les semaines suivantes (202.12 à 197.09 g).

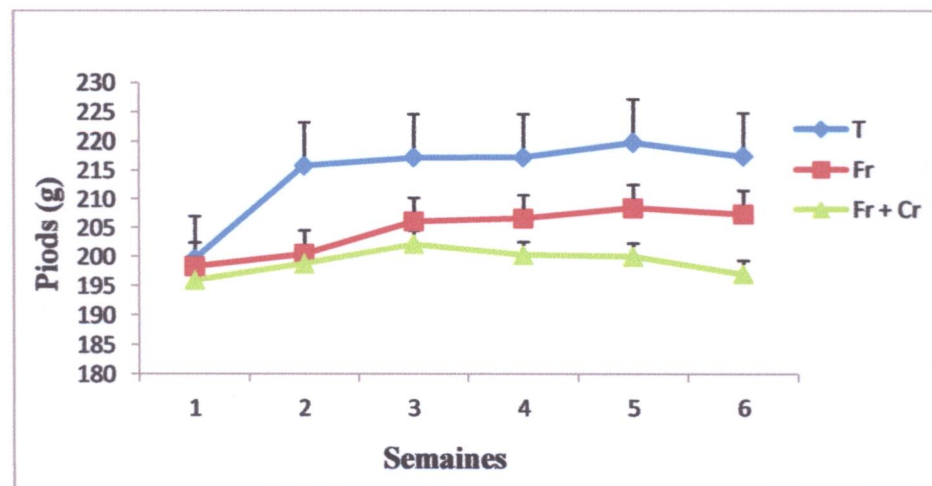


Figure 10 : Variation du poids corporelle chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) pendant 6 semaines. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type.

2. Evaluation de la consommation de la nourriture et de l'eau

La figure 11 représente la variation de la consommation journalière de la nourriture chez les rats des trois groupes tout au long de l'expérimentation.

Les résultats obtenus ont montré une diminution très significative ($p < 0.01$) de la consommation journalière d'aliment chez les rats du groupe (Fr) par rapport au groupe témoin (51.99 ± 11.43 vs 74.55 ± 4.10 g).

Chez les rats du groupe traité par le picolinate de chrome une réduction significative ($p < 0.05$) du taux de consommation d'aliment a été observée chez ce groupe par rapport au groupe T (55.99 ± 11.43 vs 74.55 ± 4.10 g).

Aucune variation significative ($p > 0.05$) de la consommation d'aliment n'a été observée chez le groupe Fr par rapport au groupe Fr + Cr (51.99 ± 11.43 vs 55.98 ± 4.86 g).

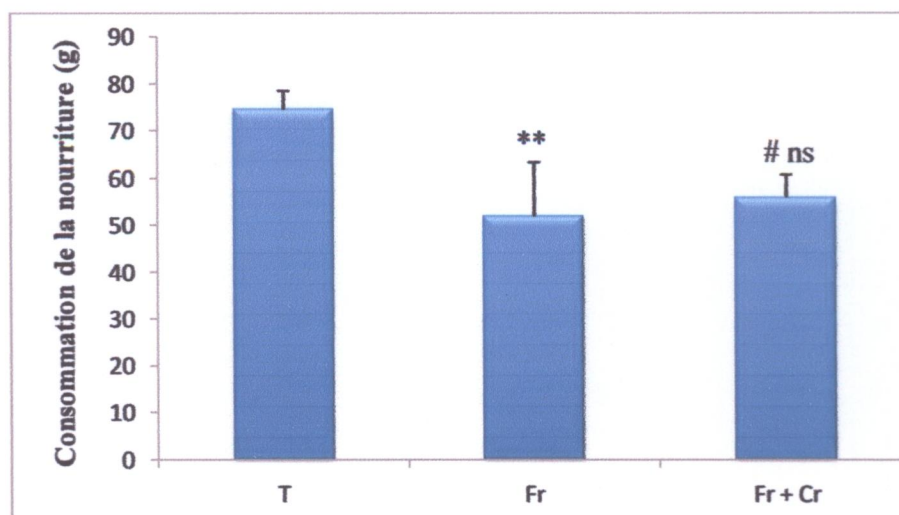


Figure 11 : La variation de la consommation journalière de la nourriture chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type. Test de Student : comparaison entre groupes T et Fr : ** $p < 0.01$, comparaison entre groupes T et Fr+ Cr : # $p < 0.05$, comparaison entre groupes (Fr+ Cr) et (Fr) : ^{ns} $p > 0.05$.

Concernant la consommation de l'eau (figure 12), une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) a été observé chez le groupe Fr par rapport à celui du groupe T (175.153 ± 3.95 vs 138.225 ± 5.88 ml).

Une diminution hautement significativement ($p < 0.001$) de la consommation de l'eau a été observé chez les rats du group Fr + Cr par rapport au groupe Fr (134.442 ± 3.50 vs 175.153 ± 3.95 ml).

Par ailleurs aucune variation significative ($p > 0.05$) n'a été remarquée chez les rats de Fr + Cr par rapport au groupe témoin (134.442 ± 3.50 vs 138.225 ± 5.88 ml).

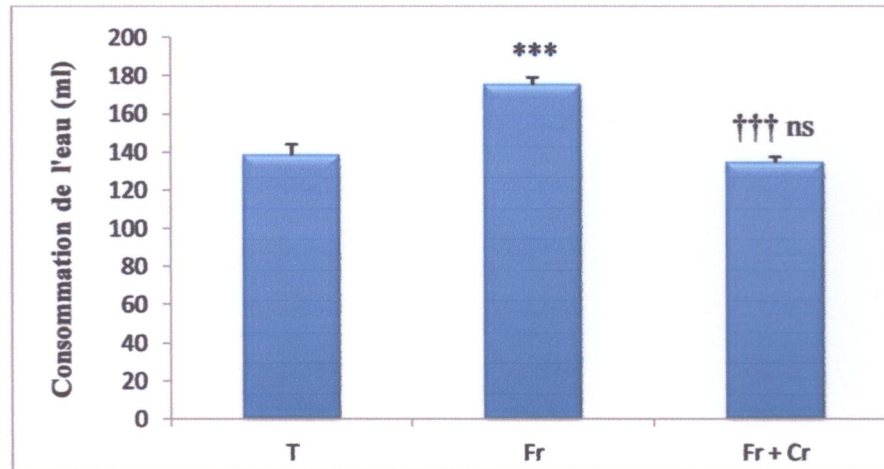


Figure 12 : La variation de la consommation hydrique chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) pendant 6 semaines. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student: comparaison entre groupes (T) et (Fr) : *** $p < 0.001$, comparaison entre groupes T et Fr+ Cr : ^{ns} $p > 0.05$, comparaison entre groupes (Fr+ Cr) et (Fr) : ††† $p < 0.001$.

3. Variation de l'insulinémie chez les rats

L'insulinémie à jeun a été évalué après 3 semaines d'expérimentation (figure 13), Nous avons constatés que la concentration sérique de l'insuline a été très significativement ($p < 0.01$) augmenté chez les rats de groupe Fr par rapport au groupe T (8.35 ± 0.10 vs 7.62 ± 0.26 μ UI/ml). En revanche on assiste à une réduction hautement significatif ($p < 0.001$) de l'insulinémie chez les rats de groupe Fr + Cr en comparant avec le groupe Fr (6.37 ± 0.31 vs 8.35 ± 0.10 μ UI/ml).

Par ailleurs aucune variation significative ($p > 0.05$) n'a été remarquée chez les rats de Fr + Cr par rapport au groupe T (6.37 ± 0.31 vs 7.62 ± 0.26 μ UI/ml).

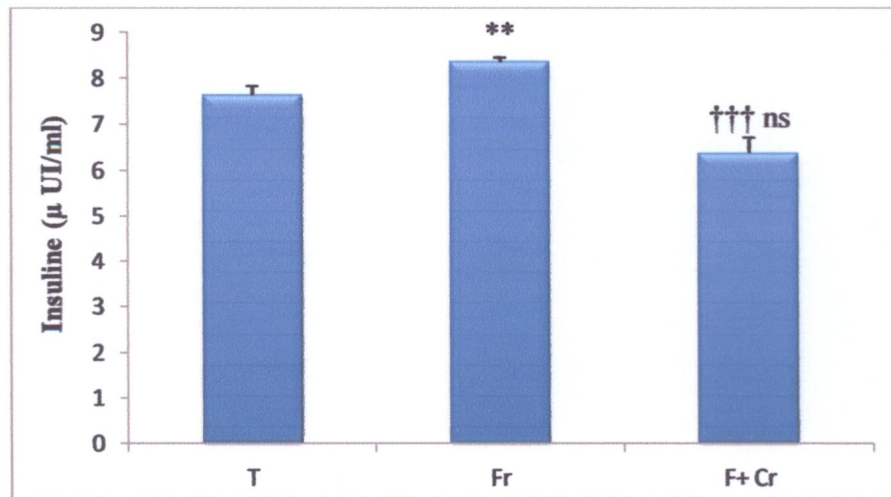


Figure 13 : Variation des concentrations plasmatiques en insuline chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student: comparaison entre groupes (T) et (Fr) : ** $p < 0.01$, comparaison entre groupes (Fr+ Cr) et (Fr) : ††† $p < 0.001$, comparaison entre groupes (T) et (Fr+ Cr) : ^{ns} $p > 0.05$.

4. Evaluation de l'insulinorésistance

Le calcul de l'indice HOMA-IR était dans le but de détecter une anomalie de sensibilité à l'insuline (figure 14).

Nous avons remarqué que les rats de groupe (Fr) développent une insulinorésistance, en effet une augmentation très significative ($p < 0.01$) de la résistance à l'insuline a été observé par rapport à celui du groupe témoin (1.90 ± 0.05 vs 1.60 ± 0.06).

Par ailleurs la résistance à l'insuline a été diminué dans le groupe Fr+Cr par rapport au groupe témoin (1.43 ± 0.012 vs 1.60 ± 0.08), cette différence été considérée comme statistiquement significative ($p < 0.05$). En outre une comparaison entre le groupe Fr + Cr et le groupe Fr a permet d'enregistrer une diminution hautement significatif ($p < 0.001$) (1.43 ± 0.012 vs 1.90 ± 0.05).

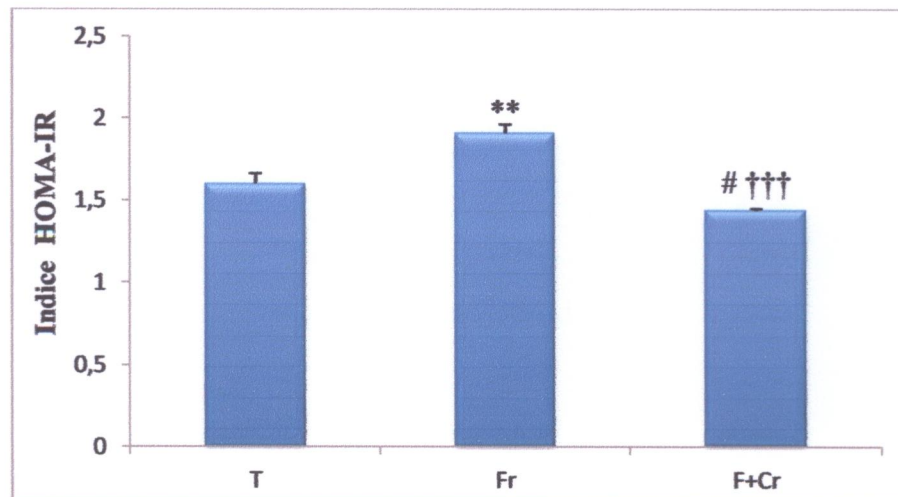


Figure 14 : Indice de résistance à l'insuline des groupes expérimentaux. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student: comparaison entre groupes (T) et (Fr): ** $p < 0.01$, comparaison entre groupes (Fr+ Cr) et Fr : ††† $p < 0.001$, comparaison entre groupes T et (Fr+ Cr): # $p < 0.05$.

5. Variation de la glycémie à jeun chez les rats

La figure 15 représente les moyennes de la glycémie à jeun (mg/dl) chez les rats des trois groupes en présence ou non du picolinate de chrome.

Après six semaines d'expérimentation, nous avons remarqué aucune variation significative ($p > 0.05$) de la glycémie chez les rats de groupe T et de groupe Fr (79.66 ± 5.5 et 80.66 ± 1.52 mg/dl) par rapport à la glycémie initiale (95.33 ± 4.61 , 87.66 ± 5.29 mg/dl).

Par ailleurs la supplémentation du picolinate de chrome n'a entraîné aucune différence significative ($p > 0.05$) par rapport à la glycémie basale (87.6 ± 7.36 , 82.66 ± 5.43 mg/dl).

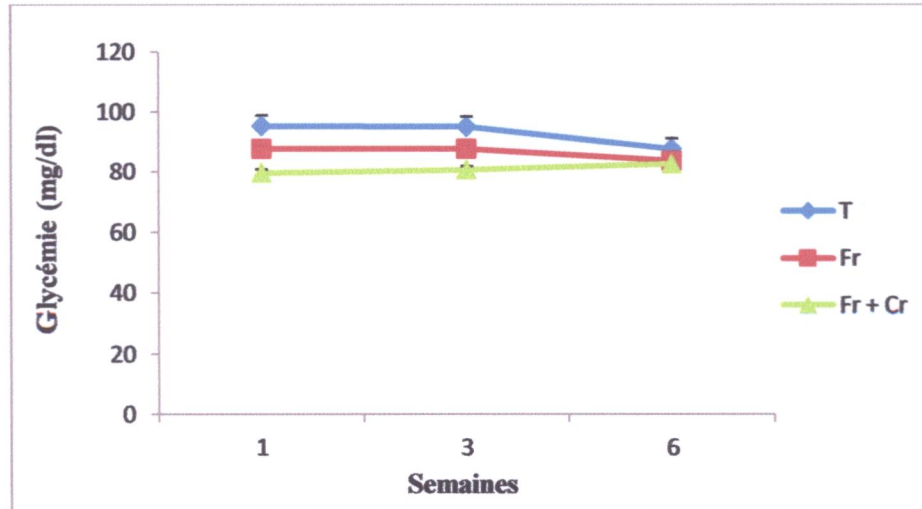


Figure 15 : Variation de la glycémie à jeûne (mg/dl) chez les rats groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type.

6. Evaluation de la tolérance au glucose

Les résultats de l'évaluation de la tolérance au glucose chez les animaux sont illustrés dans la figure 16.

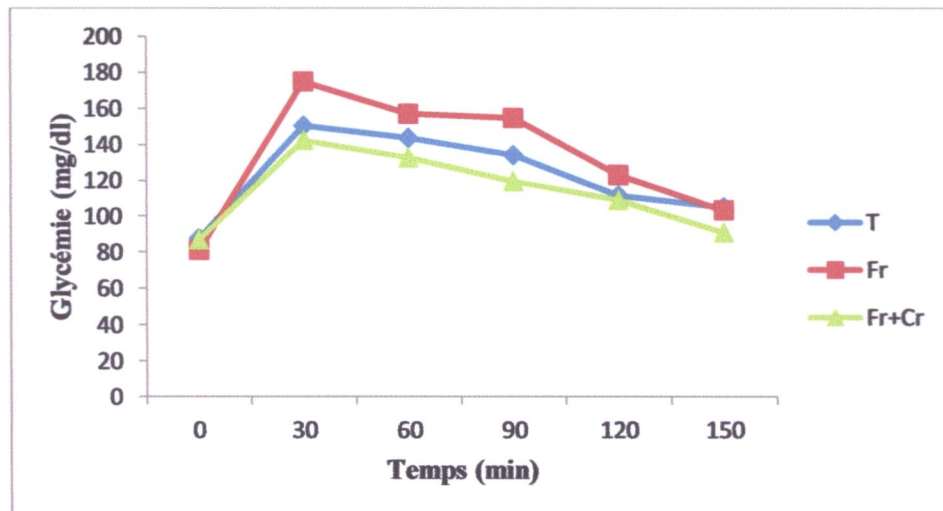


Figure 16 : Evolution de la tolérance au glucose chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type.

Chez les rats des trois lots, l'administration de glucose entraîne une hyperglycémie temporaire avec un pic qui apparaît au bout de 30 min.

Chez les rats qui consomment un régime standard, le glucose administré entraîne une augmentation significative de la glycémie ($p < 0.05$), avec un pic d'hyperglycémie qui est de l'ordre

de 150.4 mg/dl. Deux heures 30 minute après du gavage, nous avons constaté une correction de l'hyperglycémie par rapport à la glycémie basale.

Par ailleurs le groupe qui reçoit une dose de 15% du fructose enregistre une hyperglycémie hautement significative ($p < 0.001$), en outre un plateau a été constaté dans l'intervalle de 60 et 90 min dans lequel la glycémie était d'environ 155.8 ± 1.69 mg/dl. Le début de la réduction de la glycémie était tardive chez les rats de ce groupe par rapport au rats de groupe témoin et traité (90 min contre 60 min respectivement) et le retour à la glycémie initiale apparait après 2 heures 30 min du gavage.

En outre chez les rat traités par le picolinate de chrome, l'augmentation de la glycémie était hautement significatif ($p < 0.001$), en effet l'hyperglycémie qui apparait 30 minutes après l'administration du glucose était de 149 mg/dl. Par la suite, l'hyperglycémie est progressivement réduite et la glycémie basale est retrouvée.

7. Effet de picolinate de chrome sur le taux de glycogène

L'analyse des résultats obtenus pour le dosage du glycogène, présentée dans la figure 17, montre une diminution non significative ($p > 0.05$) de glycogène hépatique stocké chez le groupe Fr (1.823 ± 0.41 g/l) par rapport au groupe T (2.158 ± 0.318 g/l) et groupe Fr+Cr (1.823 ± 0.41 g/l).

On assiste également à aucune variation significative ($p > 0.05$) en comparant le groupe Fr + Cr au groupe T (2.130 ± 0.483 vs 2.158 ± 0.318 g/l).

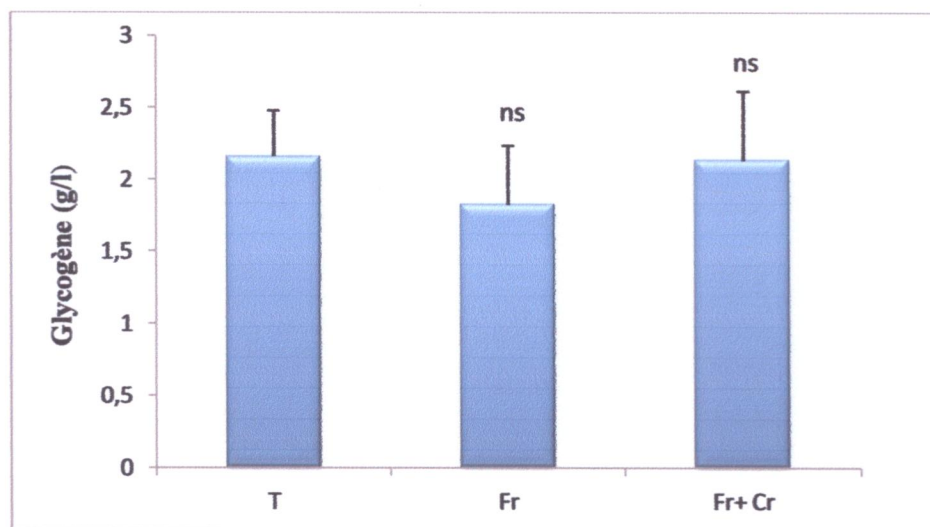


Figure 17 : Variation de la quantité du glycogène hépatique stocké chez groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre les trois groupes deux a deux : $^{ns}p > 0.05$.

8. Evaluation des paramètres biochimiques

Les résultats de la variation des concentrations sériques des paramètres lipidiques et de l'acide urique sont rassemblés dans le tableau 1.

Nous avons remarqué une augmentation très significative ($p < 0.01$) de la triglycéridémie chez les rats de groupe Fr par rapport au groupe témoin (0.54 ± 0.02 vs 0.38 ± 0.07 g/l).

Par contre, chez les rats du groupe Fr +Cr nous avons constaté que l'administration journalière de picolinate de chrome à une dose de 100 $\mu\text{g/kg}$ a baissé très significativement ($p < 0.01$) la concentration sérique des triglycérides (0.36 ± 0.09 g/l) par rapport au groupe Fr (0.54 ± 0.02 g/l), cette concentration ne présente aucune différence significative par rapport au groupe témoin (0.38 ± 0.07 g/l).

Néanmoins, l'étude statistique n'a révélé aucune différence significative des concentrations sériques de cholestérol, HDL et LDL entre les rats des trois groupes.

Tableau 1 : Variation de la concentration sérique des paramètres lipidiques et de l'acide urique des groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) après 6 semaines d'expérimentation.

Paramètre lipidique	Témoin (T) (n = 5)	Fructose (Fr) (n=5)	Fructose + chrome (Fr+Cr) (n=5)
Triglycéride (g/l)	0.38 ± 0.07	$0.54^{**} \pm 0.02$	$0.36^{\dagger} \pm 0.096$
Cholestérol (g/l)	0.77 ± 0.01	$1.90^{ns} \pm 0.83$	$1.23^{ns} \pm 0.62$
HDL (g/l)	0.61 ± 0.24	$0.77^{ns} \pm 0.05$	$0.7^{ns} \pm 0.09$
LDL (g/l)	0.27 ± 0.26	$0.92^{ns} \pm 0.94$	$0.44^{ns} \pm 0.50$
Acide urique (mg/l)	32.66 ± 1.52	$38.66 \pm 1.52^{**}$	$32 \pm 2^{\dagger\dagger}$

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student : comparaison entre groupes T et Fr : $**p < 0.01$, comparaison entre groupes Fr et Fr + Cr : $^{\dagger\dagger}p < 0.01$, Comparaison entre les trois groupes deux a deux : $^{ns}p > 0.05$.

Nous avons remarqué une augmentation très significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de l'acide urique chez les rats du groupe Fr (38.66 ± 1.52 mg/l) par rapport au groupe T (32.66 ± 1.52 mg/l) et le groupe Fr + Cr (32 ± 2 mg/l).

On outre nous avons remarqué que la supplémentation de picolinate de chrome a rendu la concentration sérique de l'acide urique similaire à celle des rats témoins (32 ± 2 vs 32.66 ± 1.52 mg/l).

9. Effet de picolinate de chrome sur les paramètres du stress oxydatif

9.1. Sur le taux du GSH hépatique

Les résultats de l'étude de l'influence de picolinate de chrome sur le taux hépatique du GSH sont rassemblés dans la figure 18.

D'après les résultats obtenus une diminution non significative ($p > 0.05$) du glutathion réduit a été observé chez le groupe Fr (2.713 ± 2.012 mM/ mg pro) et Fr + Cr (2.719 ± 0.010 mM/ mg pro) par rapport au groupe témoin (2.745 ± 0.01 mM/ mg pro). En outre, aucune variation significative ($p > 0.05$) n'a été enregistré chez le groupe Fr + Cr par rapport au groupe Fr (2.719 ± 0.010 vs 2.713 ± 2.012 mM/ mg pro).

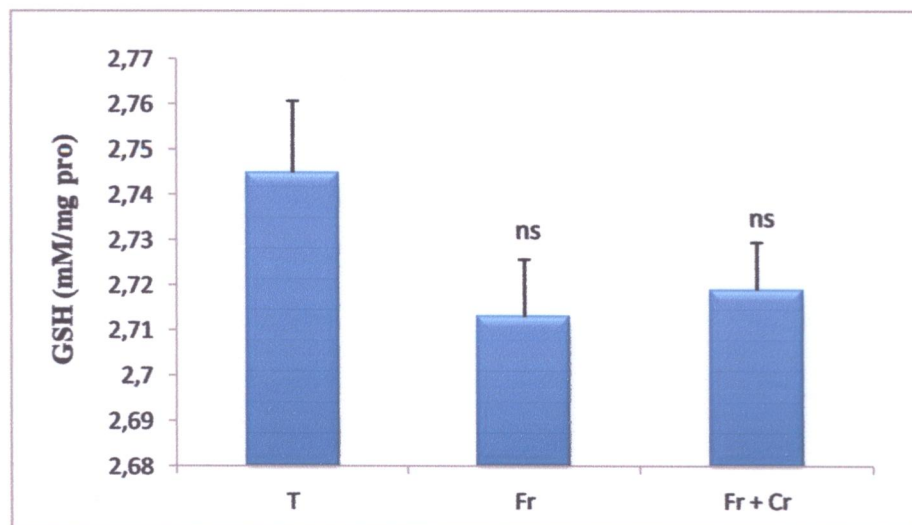


Figure18 : Taux hépatique du glutathion réduit chez groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre les trois groupes deux a deux : ^{ns} $p > 0.05$.

9.2. Sur l'activité de la glutathion peroxydase

La figure 19 illustre l'effet de picolinate de chrome sur la variation de la glutathion peroxydase (GSH-Px) dans les hépatocytes chez les rats des trois groupes.

Nos résultats montrent une diminution non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase chez le groupe Fr ($1.884 \pm 0.486 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg pro}$) et Fr + Cr ($1.912 \pm 0.330 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg pro}$) par rapport au groupe T ($2.102 \pm 0.205 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg pro}$). Par ailleurs aucune variation significative ($p > 0.05$) n'a été enregistrée entre le groupe Fr et Fr + Cr (1.884 ± 0.486 vs $1.912 \pm 0.330 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg pro}$).

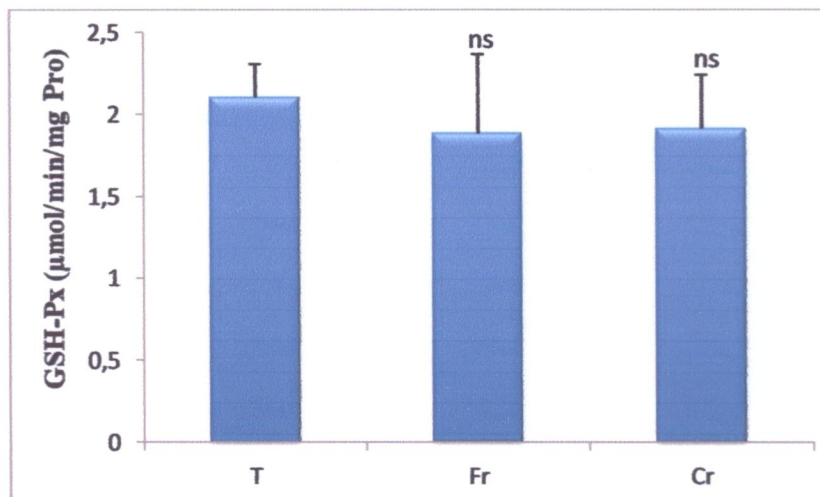


Figure 19 : Effet de picolinate de chrome sur l'activité enzymatique de GSH-Px chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre les trois groupes deux à deux : $^{ns}p > 0.05$.

9.3. Sur l'activité enzymatique de la catalase

La figure 20 représente les variations de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) chez les rats des trois groupes.

Nous avons constaté une réduction hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de la CAT au niveau du foie chez les rats de groupe Fr par rapport à celles des rats témoins (0.056 ± 0.009 vs 0.174 ± 0.019 UI/ mg pro). Par contre une supplémentation de picolinate de chrome induit une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de la catalase par rapport au groupe Fr (0.161 ± 0.020 vs 0.056 ± 0.009 UI/ mg pro).

Par ailleurs aucune variation significative ($p > 0.05$) n'a été observée chez le groupe Fr + Cr par rapport au groupe T (0.161 ± 0.020 vs 0.174 ± 0.019 UI/ mg pro).