

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie

Département : Biologie Moléculaire
et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie

Thème

**Effet du picolinate de chrome sur le statut redox et
histopathologique des organes glucorégulateurs chez le rat
Wistar insulino-résistant**

Membres de Jury :

Présidente : Dr. Lahouel A.

Examinatrice : M^{me}. Hireche S.

Encadreur : Dr. Derai E-H.

Présenté par :

Cheniti Amina.

Djema Mohamed Abderrahmane.

Nafi Meroua.

Année universitaire : 2018-2019

Numéro d'ordre :

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu tout puissant de nous avoir donnés le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

Nous remercions vivement notre encadrante Dr DERRAI El-hedjla qui nous a encadrés durant la réalisation de ce projet. Nous lui sommes reconnaissant(e)s pour son appui, sa disponibilité, ses critiques et ses conseils qui furent précieux dans l'aboutissement de cette recherche.

Qu'il nous soit permis de remercier le directeur de l'hôpital Mohamed Seddik BenYahia de Jijel et toute l'équipe du service Cytologie et d'Anatomie Pathologique qui nous ont prodigués une aide précieuse tout au long de notre stage au sein de ce laboratoire ainsi qu'à tout l'ensemble des membres du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Seddik BenYahia Jijel.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Dr LAHOUEL Asma pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à M^{me} HIRECHE Saliha d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous remercions M^{me} Bouhafis Leila et nous tenons à lui exprimer notre grand respect.

Enfin, Tous nos remerciements à tous nos enseignants depuis le premier qui nous a accueilli à l'âge de cinq ans dans une classe, jusqu'à celles et ceux qui nous encadrent aujourd'hui et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Au nom d'Allah le tout miséricordieux le très
miséricordieux*

Je dédie ce mémoire à :

*À MES CHÈRES PARENTS : **Noureddine et Hassiba.***

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer la profondeur des sentiments d'affection , d'estime et de respect que je vous porte, pour l'amour dont vous m'avez toujours porté , l'éducation et le bien-être que vous m'assurez , pour votre soutien , vos sacrifices et vos prières indéfectibles et sans limites qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Ce travail n'aura jamais pu voir le jour sans vos encouragements. Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

A mes chères sœurs, mes frères, mon beau-frère et mon neveu adoré

Romi, Rodi, Médi, Hani, Mahfoud et Yanis.

Je ne pourrai jamais vous remercier assez pour votre soutien plus que précieux et vos sentiments d'amour aux moments les plus difficiles. Merci pour toutes vos qualités qui seraient très longues à énumérer, ma vie ne serait pas aussi magique sans votre présence. Je vous souhaite plein de succès, de joie, et de bonheur, que dieu vous garde et illumine vos chemins.

A mes chères ami(e)s, cousins, cousines et collègues de Royal School en particulier

Waffi, Wawa, Tithen et Mohamed.

Enfin merci à tous ceux qui ont participé au développement de ce travail, à tous ceux que j'ai oublié de les mentionner.

Amina

Dédicace

*Au nom d'Allah le tout miséricordieux le très
miséricordieux*

Je dédie ce mémoire à :

*À MES CHERS PARENTS **Souad** et **Messaoud**.*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

*À MON CHER ET UNIQUE FRÈRE : **Izak**,*

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, te protège et te garde pour moi.

*À mes ami(e)s et aux personnes qui me sont chères : **Waffi, Nina, Tithen, Hayet, Houria, et Mohamed**.*

*À ma grand-mère paternelle chérie **Tama**, ainsi qu'à la mémoire de mes grand-pères **Youcef** et **Houcine**, ma grand-mère maternelle **Khoudjia** et mon oncle **Samir Rabi yarhamhom**,*

À mes chers oncles, tantes, cousins, cousines et à toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail.

Maroua

Dédicace

*Au nom d'Allah le tout miséricordieux le très
miséricordieux*

Je dédie ce mémoire à :

*A la prunelle de mes yeux, mes très chers parents : **Messaoud et Messaouda.***

Aucun mot et remerciement ne saurait exprimer la gratitude, l'estime et le respect que je vous porte, pour tous les sacrifices que vous avez fournis, pour toutes les larmes que vous avez versées, pour votre constant soutien, vos précieux conseils et vos prières sans limites qui ont fait de moi l'homme que je suis aujourd'hui. Ce travail n'aura jamais pu voir le jour sans vos encouragements. Je prie dieu qu'il vous garde, vous protège et vous bénisse d'une longue et meilleure vie pleine encore de bonheur et de santé.

*A mes précieuses sœurs et mon cher frère : **Oumayma, Asma et Ahmed.***

Je vous remercie du plus profond de mon âme pour tout vos sentiments d'amour et de soutien dans tous ces moments vécus ensemble. Merci d'avoir toujours été à mes côtés surtout dans mes moments difficiles, je sais que sans vous ma vie ne serait pas aussi bénie. Je vous souhaite une longue vie plein de succès, de joie, et de bonheur, que dieu vous garde et illumine vos chemins.

*A mes Précieux ami(e)s et camarades surtout : **Amina, Maroua et Ishaq.***

J'exprime aussi ma profonde gratitude à : Mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines.

Je termine ces mots avec un grand merci à ceux qui, sans eux, ce travail n'aurait jamais vu le jour et ont participé au développement de ce dernier ainsi qu'à tous ceux que j'ai oublié de mentionner.

Mohamed

Liste des abréviations	i
Listes des figures	ii
Introduction	1

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : L'insulinorésistance

1. Généralités de l'insuline	3
1.1. Insuline et son récepteur	3
1.2. Les voies de signalisation de l'insuline	3
1.3. Contrôle négatif du signal de l'insuline	4
2. Fructose et insulinorésistance	5
2.1. Insulinorésistance	5
2.2. Mécanisme moléculaire de la résistance à l'insuline	6
2.3. Les organes glucorégulateurs	7
2.3.1. Les organes glucorégulateurs et leur mode d'action	7
2.3.2. Les organes à l'état insulinorésistant	11
2.4. Le fructose	12
2.4.1. Absorption et métabolisme du fructose	12
2.4.2. Effet du fructose sur l'homéostasie glucidique.....	13
2.4.3. Conséquences de la surconsommation de fructose	14
2.5. Relation entre le fructose et insulinorésistance	14
2.6. Fructose et stress oxydant	15
2.7. Insulinorésistance et stress oxydant	16

Chapitre II : le chrome et l'insulinorésistance

1. Généralités sur le chrome trivalent	17
2. Métabolisme du chrome	18
3. Le chrome dans les suppléments alimentaires	18
4. Rôle du chrome dans la régulation de la glycémie	18
5. Le chrome dans l'insulinorésistance	19
6. Chrome et stress oxydant	21

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**Chapitre III : Matériels et méthodes**

1. Matériels biologiques et conditions d'élevage	23
1.1. Produits utilisés	23
1.2. Répartition et traitement des animaux	23
2. Méthodes	23
2.1. Prélèvement des échantillons	23
2.1.1. Prélèvement sanguin	23
2.1.2. Prélèvement des organes	23
2.2. Dosage des paramètres biochimiques	26
2.2.1. La glycémie.....	26
2.2.2. Test de tolérance au glucose	26
2.2.3. L'insuline	26
2.2.4. Indice HOMA-IR	26
2.2.5. Le glycogène	27
2.3. Dosage des paramètres du stress oxydatif	27
2.3.1. Préparation de la fraction cytosolique	27
2.3.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)	27
2.3.3. Dosage du glutathion réduit (GSH)	28
2.3.4. Dosage de l'activité des enzymes antioxydantes	29
2.3.4.1. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique	29
2.3.4.2. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase	29
2.3.4.3. Dosage de superoxyde dismutase	30
2.4. Dosage des protéines tissulaires	31
3. Analyse histologique	31
4. Analyses statistiques	31

Chapitre IV: Résultats et interprétation

1. Influence du traitement sur le gain du poids des animaux	33
2. Les variations de l'insulino-résistance	34
2.1. Glycémie	34
2.2. Insulinémie	34
2.3. Indice HOMA	34
2.4. effet du traitement sur le test de tolérance au glucose.....	36
3. Variation du taux de glycogène hépatique et cardiaque	37
4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif des organes glucorégulateurs	38
4.1. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif hépatique	38
4.1.1. La malondialdéhyde (MDA) et le glutathion réduit (GSH)	38
4.1.2. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)	39
4.2. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif pancréatique	41
4.2.1. La malondialdéhyde (MDA) et le glutathion réduit (GSH)	41
4.2.2. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)	42
4.3. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif rénal	44
4.3.1. La malondialdéhyde (MDA) et le glutathion réduit (GSH)	44
4.3.2. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)	45
4.4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif cardiaque	47
4.4.1. La malondialdéhyde (MDA) et le glutathion réduit (GSH)	47
4.4.2. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)	48
5. Effet du traitement sur l'histologie des organes glucorégulateurs	52
5.1. Sur l'architecture hépatique	52
5.2. Sur l'architecture pancréatique	52
5.3. Sur l'architecture rénale	55
5.4. Sur l'architecture cardiaque	55
5.5. Sur l'architecture intestinale	58
5.6. Sur l'architecture cérébrale	58
Discussion	60

Conclusion	67
Annexes	69
Références bibliographiques	71

AcylCOA	Acyl-Coenzyme A	LMWCr	Low-Molecular-Weight Chromium-binding substance
AGL	Acides Gras Libres	LPL	Lipoprotein Lipase
Alcool DH	Alcool Déhydrogénase	MAPK	Mitogen-Activated Protein kinases
AMPK	Adenosin MonoPhosphate Kinase	PDE	Phosphodiesterase
Ang II	Angiotensine II	PDK	Pyruvate Déshydrogénase Kinase
ApoB100	Apolipoprotéine B100	PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
CPT1	Carnitine Palmytoyl COA Transferase 1	PKA	Protéine Kinase A
DAG	Diacylglycérol	PKB	Protéine Kinase B
DHAP	Dihydroxyacétone phosphate	PKC	Protéine Kinase C
DTNB	Acide 5,5' dithiobis 2-nitrobenzoic	PTP1B	Protéine Tyrosine Phosphatase 1B
ER	Endoplasmic reticulum	PTPase	Phosphatase
ERK	Extracellular-signal Regulated kinases	ROS	Reactive Oxygen Species
ERO	Espaces Réactives d'Oxygène	SFA	Saturated Fatty Acids
FFA	Free Faty Acid	TBA	Thiobarbituric Acid
FGF21	Fibroblast Growth Factor 21	TCA	Trichloroacetic Acid
Fr	Fructose	TG	Triglycéride
G6P	Glucose 6 Phosphate	TNFα	Tumor Necrosis Factor Alpha
G6Pase	Glucose 6 Phosphatase	TNFγ	Tumor Necrosis Factor Gamma
GIP	Glucose-dependent Insulinotropic Peptide	UA	Uric Acid
GLP-1	Glucagon Like Peptide-1	URL	Unités Relatives de Lumière
Grb2	Growth-factor Receptor-Bound protein 2	VLDL	Very Low Density Lipoprotein
HDL	High Density Lipoprotein		
HFCS	High Fructose Corn Syrup		
HOMA	Homeostasis Model Accessment of insuline resistance		
IKK	IKappaB Kinase		
IL	Interleukine		
IRS	Insulin Receptor Substrate		
KHK	Ketohexokinase		
LDL	Low Density Lipoprotein		

Figure 01 :	Voies de signalisation de l'insuline	4
Figure 02 :	Régulation négative des voies de signalisation de l'insuline	5
Figure 03 :	Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS	7
Figure 04 :	Les organes glucorégulateurs à l'état insulino-résistant	11
Figure 05 :	Résumé du métabolisme du fructose et des sites susceptibles d'être affectés par des déficiences	13
Figure 06 :	Conséquences de la surconsommation de fructose.....	14
Figure 07 :	Mécanismes par lesquels la consommation excessive de fructose induit une insulino-résistance hépatique	15
Figure 08 :	Stress oxydant et insulino-résistance : les bases moléculaires impliquées.....	17
Figure 09 :	Mécanisme d'action du chrome sur la signalisation de l'insuline	20
Figure 10 :	Mécanismes par lesquels le chrome augmente l'absorption cellulaire de glucose.....	21
Figure 11 :	Protocole expérimental	25
Figure 12 :	Evaluation du gain du poids chez les groupes T, Fr et Fr+Cr	33
Figure 13 :	Variation de la glycémie, insulino-résistance et l'indice HOMA-IR chez les groupes témoin, Fr, Fr+Cr	35
Figure 14 :	Evolution de la tolérance au glucose chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr)....	36
Figure 15 :	Variation de la concentration du glycogène dans le foie et le cœur chez les groupes T, Fr et Fr+Cr	37
Figure 16 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux de la MDA et la GSH hépatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr	38
Figure 17 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) hépatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.....	40
Figure 18 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux du MDA et du GSH pancréatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.....	41
Figure 19 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) pancréatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr	43
Figure 20 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux du MDA et du GSH rénale chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.....	44
Figure 21 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) pancréatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.....	46

Figure 22 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux du MDA et du GSH cardiaque chez les groupes T, Fr et Fr+Cr	47
Figure 23 :	Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) cardiaque chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.....	49
Figure 24 :	Observation microscopique d'une coupe histologique du foie.....	51
Figure 25 :	Observation microscopique d'une coupe histologique du pancréas.....	52
Figure 26 :	Observation microscopique d'une coupe histologique du rein.....	54
Figure 27 :	Observation microscopique d'une coupe histologique du cœur.....	55
Figure 28 :	Observation microscopique d'une coupe histologique de l'intestin.....	57
Figure 29 :	Observation microscopique d'une coupe histologique du cortex cérébral...	58

Introduction

La résistance à l'insuline, définie comme une altération de la réactivité de l'organisme à l'insuline et l'incapacité de ce dernier à stimuler l'utilisation du glucose, est un stade pré-diabétique dans la transition de l'obésité au diabète de type 2 à part entière (Muio et Newgard, 2008).

Durant ces dernières années, la consommation des sucres et en particulier du fructose a augmenté. Dans la même période, une élévation de l'incidence des maladies métaboliques a été constatée : rapidement, il fut incriminé dans les troubles métaboliques. Des études chez les rats soumis à un régime riche en fructose ont montré une réduction de la sensibilité à l'insuline au niveau des tissus (Basciano *et al.*, 2005). En conséquence, différentes études ont mis en évidence des dommages morphologiques et fonctionnels des organes participant à la régulation (Crescenzo *et al.*, 2017; Jin et Vos, 2015).

Il a été démontré que l'alimentation riche en fructose provoque des dommages oxydatifs et exerce des effets perturbateurs en diminuant les défenses anti-oxydantes et en augmentant la génération de radicaux libres dans les tissus (Reddy *et al.*, 2009). Le stress oxydatif était relié de manière fortuite à la résistance à l'insuline. Les stratégies de traitement se sont basées sur l'identification de la base moléculaire de la protection offerte par divers antioxydants qui se sont révélés efficaces pour prévenir la majorité des anomalies induites par un régime alimentaire riche en fructose (Faure *et al.*, 1999).

Récemment, Le picolinate de chrome a été proposé comme une telle intervention nutritionnelle (Cefalu *et al.*, 1999). Dans ce contexte, le chrome III considéré comme un micronutriment, mérite une attention particulière. Le rôle potentiel du chrome trivalent dans la régulation de la glycémie a été indiqué pour la première fois à la fin des années 1950 par Mertz et Schwarz (Mertz et Schwarz, 1959). Il est considéré comme un élément essentiel, à la fois en nutrition animale et humaine (Lewicki *et al.*, 2014). L'utilisation généralisée de ces suppléments a donné lieu à une controverse sur le rôle du chrome en tant que nutriment et son utilisation pour empêcher l'évolution de l'étape pré-diabétique vers le diabète type 2. Jusqu'à présent, les mécanismes mettant en jeu l'oligoélément ne sont pas encore élucidés et ses effets continuent d'être étudiés.

Le but de notre travail est d'évaluer l'effet protecteur d'un apport supplémentaire en picolinate de chrome sur l'insulinorésistance, le stress oxydatif et l'histologie des organes glucorégulateurs chez le rat Albinos Wistar sous un régime riche en fructose.

Etude bibliographique

Chapitre I : l'insulinorésistance

1. Généralités de l'insuline

1.1. Insuline et son récepteur

L'insuline est l'hormone anabolique primordiale, c'est un peptide de 51 acides aminés, produit et sécrété par les cellules β des îlots pancréatiques. Il est constitué de deux chaînes polypeptidiques, A et B, de 21 et 30 acides aminés, respectivement, qui sont reliées par des ponts disulfures (Olivares-Reyes et Arellano-Plancarte, 2008 ; De Luca et Olefsky, 2008). Son récepteur, qui appartient à la famille des récepteurs à activité intrinsèque de la tyrosine kinase (Tyr), est une glycoprotéine membranaire intégrale, qui est formée de deux sous-unités α et de deux sous-unités β . La liaison de l'insuline à une sous-unité du récepteur génère des changements conformationnels qui induisent son activation catalytique et son autophosphorylation de plusieurs résidus Tyr situés au niveau de la région cytosolique de la sous-unité β (Hubbard, 2013 ; Hubbard, 1997). Les résidus autophosphorylés sont ensuite reconnus par différentes protéines adaptatrices, qui incluent des membres de la famille du substrat du récepteur de l'insuline (IRS), parmi lesquels IRS-1 et IRS-2 sont les deux principaux substrats et les intermédiaires les plus courants du stade initial de propagation du signal d'insuline. L'IRS agit donc comme une molécule adaptatrice qui organise la formation de complexes moléculaires et déclenche des cascades de signalisation intracellulaire (Myers et White, 2002 ; Jensen et De Meyts, 2009).

1.2. Les voies de signalisation de l'insuline

La plupart des actions de l'insuline sont réalisées par l'activation de deux voies de signalisation principales: la voie phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) / Akt, également appelée protéine kinase B (PKB), responsable de la plupart de ses actions métaboliques et la protéine activée par le mitogène : voie kinases / Ras (MAPK / Ras), qui régule l'expression des gènes et les effets mitogéniques associés à l'insuline (White, 2003).

Dans le cas de la voie PI3K / Akt, la kinase Akt joue un rôle central dans la signalisation de l'insuline, car son activation conduit à la phosphorylation d'un nombre important de substrats jouant un rôle clé dans une grande variété de processus biologiques, y compris les enzymes, les facteurs de transcription, les protéines régulatrices du cycle cellulaire et protéines de l'apoptose et de survie (Manning, 2007). À ce jour, trois isoformes d'Akt ont été identifiées (Akt 1, 2 et 3), parmi lesquelles Akt2 semble jouer un rôle important dans les actions métaboliques de l'insuline, notamment l'absorption de glucose dans les muscles et le tissu adipeux par le biais de la translocation de GLUT4 des compartiments intracellulaires à la membrane cellulaire pour

augmenter l'absorption de glucose. D'autre part, on sait que l'insuline est un puissant facteur de croissance. Ses effets favorisant la croissance sont médiés par l'activation de la voie MAP / Ras (Taniguchi *et al.*, 2006 ; Olivares-Reyes, 2012).

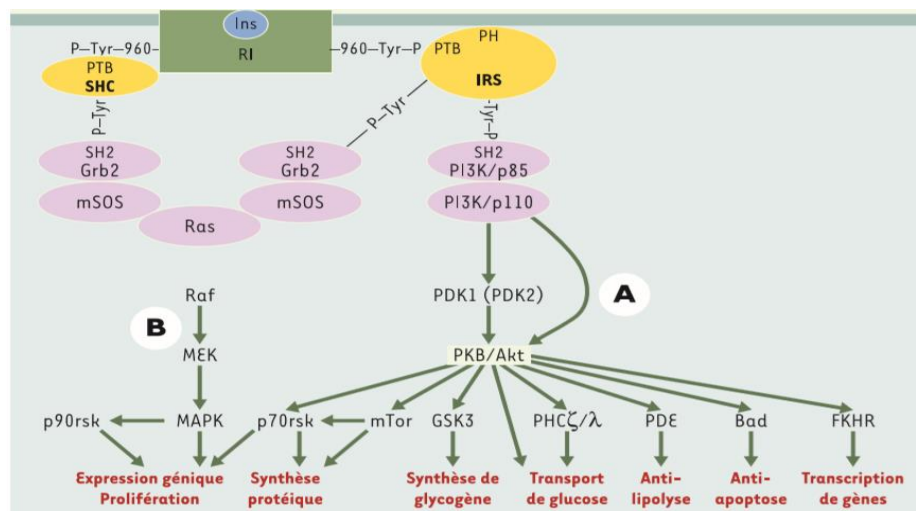


Figure 01 : Voies de signalisation de l'insuline (Capeau, 2003).

1.3. Contrôle négatif du signal de l'insuline

La fin du signal insuline implique la dégradation de l'hormone après internalisation des complexes insuline-récepteur dans les endosomes. La majorité des récepteurs est recyclée au niveau de la membrane, tandis que d'autres sont dégradés. Dans les conditions physiologiques, les récepteurs nouvellement synthétisés permettent de restaurer un nombre normal de récepteurs sur la cellule. En présence d'un hyperinsulinisme persistant, en revanche, les cycles d'internalisation/recyclage peuvent aboutir à une diminution du nombre de récepteurs à la surface, processus de down regulation participant de façon secondaire à l'installation d'un phénomène de résistance à l'insuline. La déphosphorylation des résidus tyrosine du récepteur et des protéines IRS requiert des tyrosines phosphatases (PTPases): les phosphatases PTP1B, cytosoliques, et LAR (leukocyte common antigen-related molecule), membranaires, ont été impliquées dans ces processus, notamment PTP1B, présente sur les récepteurs intracellulaires en cours d'endocytose (Kido *et al.*, 2001). 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. Des inhibiteurs de ces enzymes apparaissent ainsi constituer des outils thérapeutiques prometteurs (Capeau, 2003).

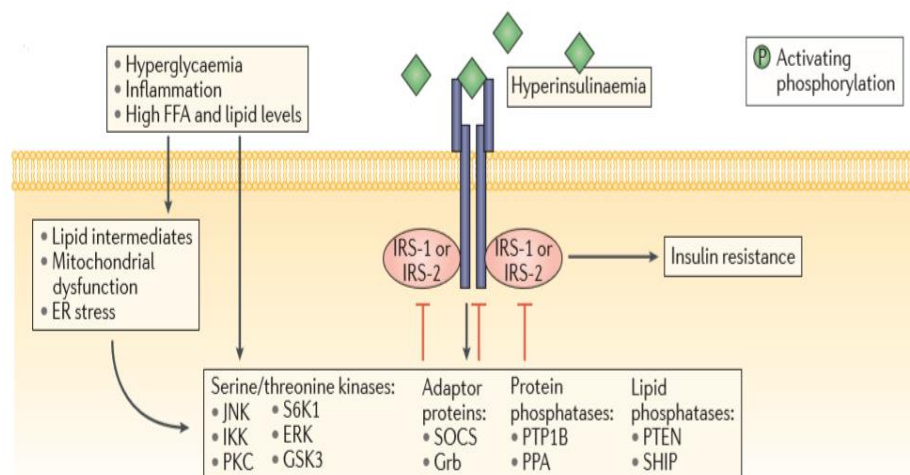


Figure 02 : Régulation négative des voies de signalisation de l'insuline (Artunc *et al.*, 2016).

L'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie, les taux plasmatiques élevés d'acides gras libres et l'inflammation activent les sérines / thréonine kinases, les protéines adaptatrices et les phosphatases, directement ou via des intermédiaires lipidiques, un dysfonctionnement mitochondrial ou l'induction d'un stress du réticulum endoplasmique. L'activation de ces régulateurs négatifs entraîne une réduction chronique de la réponse cellulaire à l'insuline.

2. Fructose et insulino-résistance

2.1. Insulino-résistance

La résistance à l'insuline est un état pathologique commun dans lequel les cellules cibles ne répondent pas aux taux ordinaires d'insuline en circulation. Il est fréquemment associé à un certain nombre de maladies, notamment les infections chroniques, l'obésité humaine et le diabète de type 2 (Virkamaki *et al.*, 1999). Au niveau moléculaire, une signalisation de l'insuline altérée résulte de mutations ou de modifications post-traductionnelles de l'IR lui-même ou de l'une de ses molécules effectrices en aval (Le-Roith et Zick, 2001).

Dans certains cas, la résistance à l'insuline pourrait être attribuée à un défaut de liaison de l'insuline à son récepteur (Roach *et al.*, 1994) ; Cependant, la résistance à l'insuline est le plus souvent attribuée à un défaut de liaison de l'action de l'insuline. Une réduction marquée de l'activité du récepteur kinase a été observée chez plusieurs patients (type A) présentant une résistance extrême à l'insuline, mais une liaison à l'insuline normale (Grunberger *et al.*, 1984 ; Grigorescu *et al.*, 1986). De même, des défauts graves de l'activité du récepteur kinase sont associés à des mutations naturelles du gène IR (Taylor *et al.*, 1992).

2.2. Mécanisme moléculaire de la résistance à l'insuline

Une caractéristique centrale de la DM2 est la résistance à l'insuline, une maladie dans laquelle les cellules ne répondent pas correctement à l'insuline (Boucher *et al.*, 2014). Cette signalisation déficiente en insuline est causée par différentes altérations, notamment des mutations et/ou des modifications post-traductionnelles du récepteur de l'insuline, de l'IRS ou de molécules effectrices situées en aval. Les altérations de résistance à l'insuline les plus courantes incluent une diminution du nombre de récepteurs d'insuline et de leur activité catalytique, un état de phosphorylation Ser/Thr accru dans le récepteur d'insuline et l'IRS, une augmentation de l'activité de la Tyr phosphatase, principalement de la déphosphorylation IRS, diminution de l'activité des kinases PI3K et Akt et défauts de l'expression et de la fonction de GLUT-4 (Olivares-Reyes, 2012). Ces altérations réduisent l'absorption de glucose dans les tissus musculaires et adipeux et favorisent les altérations au niveau métabolique (Gutiérrez-Rodelo *et al.*, 2017).

L'hyperphosphorylation des protéines IRS par Ser / Thr est un facteur essentiel de la résistance à l'insuline. L'hyperphosphorylation de l'IRS diminue sa phosphorylation chez Tyr et réduit son interaction avec la PI3K, modifiant ainsi la phosphorylation et l'activation de la kinase Akt. De plus, il a été rapporté que la phosphorylation sur les résidus Ser/Thr de l'IRS accélère sa dégradation. Différents agents, tels que les cytokines pro-inflammatoires, les acides gras saturés (SFA), les acides aminés, l'endothéline 1, l'angiotensine II (Ang II) et les états d'hyperinsulinémie (Montagnani *et al.*, 2002 ; Lee et Ragolia, 2006), augmentent l'activité des kinases, comme plusieurs isoformes de la PKC, JNK stress kinase, mTOR, protéine kinase ribosomale S6 de 70kDa, PKA et MAPK, qui phosphorylent IRS (Olivares-Reyes et Arellano-Plancarte, 2008).

Cette phosphorylation peut résulter d'un rétrocontrôle du signal insuline, ou de l'action d'autres agents comme le TNF α (tumor necrosis factor α) et les acides gras libres, mais aussi de l'IL (interleukine) 1 β , et même l'insuline. La kinase IKK β (inhibitor of nuclear factor κ B kinase), la MAP-kinase et surtout la Jun kinase (JNK) sont capables d'effectuer de telles phosphorylations. En phosphorylant la sérine 307 de l'IRS1 murin, la JNK empêche l'interaction du domaine PTB de IRS1/2 avec la tyrosine 960 phosphorylée du RI et donc la transmission du signal insulinique. Cette kinase est activée par l'insuline et par le TNF α (Gutiérrez-Rodelo *et al.*, 2017).

Par ailleurs, l'élévation des acides gras libres et l'accumulation de diacylglycérol et d'acylCoA pourraient conduire à une activation de la PKC θ et à une phosphorylation de l'IRS1 sur Ser/Thr (Capeau, 2003).

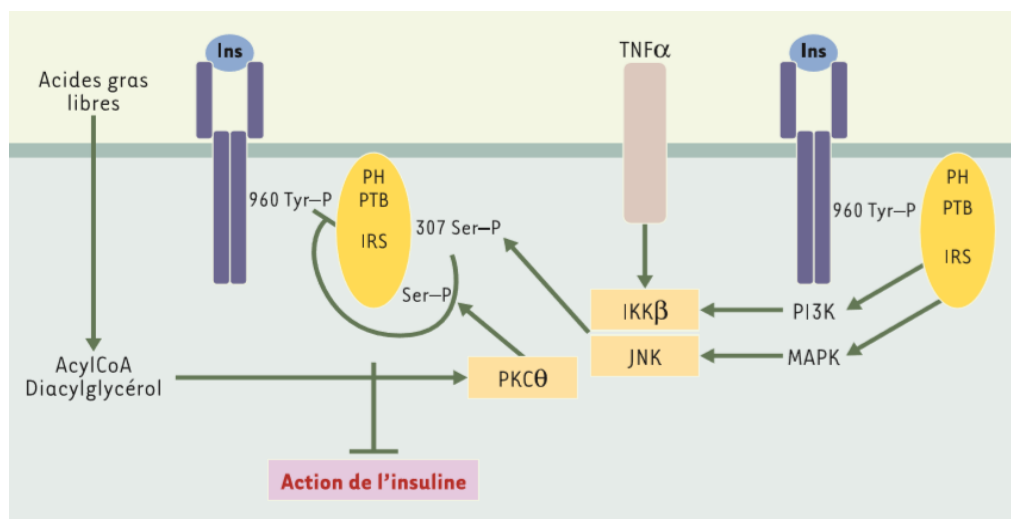


Figure 03 : Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS (Capeau, 2003).

2.3. Les organes glucorégulateurs

2.3.1. Les organes glucorégulateurs et leur mode d'action

L'homéostasie glucidique étant un équilibre entre les apports et les dépenses de glucose dans l'organisme, tous les organes sont, dans une certaine mesure, impliqués dans sa régulation en raison de leur consommation propre d'énergie (Lebreton, 2014).

Le foie constitue la source prédominante de glucose dans l'organisme en dehors des prises alimentaires. En effet, lors d'un apport en nutriments par l'alimentation, le foie stocke le glucose sous une forme polymérisée, le glycogène, ce qui lui permet par la suite d'approvisionner les autres organes en glucose entre deux prises alimentaires. L'équilibre entre la production et la recapture de glucose par le foie est atteinte pour une glycémie de 8,33 mM. En dessous de cette concentration, sous l'influence du glucagon (qui est une hormone hyperglycémiant sécrétée par le pancréas endocrine), le foie produit du glucose d'abord par glycogénolyse, puis par néoglucogenèse (principalement à partir d'acides gras) lorsque les stocks de glycogène sont épuisés, tandis que pour des niveaux sanguins de glucose plus élevés, l'utilisation du glucose par le foie augmente, stimulée par l'insuline hypoglycémiant (également sécrétée par le pancréas endocrine), et sert de substrat à la glycogénogenèse (Polakof *et al.*, 2011). La glycémie à l'état post absorptif étant d'environ 5 mM, 50% du glucose entrant dans la circulation provient de la glycogénolyse opérée par le foie. Au contraire, à l'état postprandial, qui est la période nécessaire à l'assimilation totale des nutriments issus d'un repas (d'une durée d'environ 5 à 6 heures), les apports de glucose dans la circulation sanguine ne proviennent non plus de la production hépatique mais de l'absorption intestinale des

nutriments. Dans ce cas, le foie cesse sa production de glucose et devient alors consommateur de glucose (~45% du glucose circulant) en produisant du glycogène (Shrayyef et Gerich, 2010). En raison de sa fonction de production de glucose endogène, le foie est l'une des cibles principales des mécanismes de régulation de la glycémie, notamment de l'insuline et du glucagon (Lebreton, 2014).

Le système rénal est un producteur de glucose endogène. Bien qu'il possède de faibles réserves de glycogène, il n'est pas capable de produire du glucose par glycogénolyse en raison de l'absence de la glucose-6-phosphatase dans les cellules rénales contenant du glycogène. La production de glucose par le rein provient donc en totalité de la néoglucogenèse. Pendant la phase post absorptive, la production rénale de glucose correspond au quart de la libération hépatique de glucose, cependant la participation rénale augmente au fur et à mesure que se prolonge le jeûne. Pendant la phase postprandiale, le rein utilise également du glucose (~10% du glucose circulant) en tant qu'énergie. En effet, de par son rôle de filtre, le système rénal met en jeu de multiples canaux ioniques et moléculaires reposant sur un mode de transport actif nécessitant de grandes quantités d'ATP. Enfin, en plus de sa production de glucose par néoglucogenèse et de sa propre utilisation de glucose, le rein peut également influencer l'homéostasie du glucose en opérant une réabsorption du glucose contenu dans le filtrat glomérulaire, équivalent à ~180 g de glucose réabsorbé chaque jour chez des sujets sains (Lebreton, 2014).

Les muscles squelettiques possèdent leurs propres réserves de glycogène. Cependant, à la différence du foie, ils ne sont pas capables de libérer du glucose dans la circulation. En revanche, la capacité du tissu musculaire à rapidement augmenter son utilisation de glucose en fait un acteur important dans la régulation de la glycémie, notamment juste après un repas. Cet organe est en effet le principal utilisateur de glucose en période postprandiale juste après le foie (~30% du glucose circulant). Le glucose capté par les muscles est alors soit utilisé immédiatement, soit utilisé comme substrat pour la glycogénogenèse afin d'entretenir ses réserves d'énergie (Lebreton, 2014). Enfin, les muscles squelettiques jouent un rôle additionnel dans la régulation de la glycémie en relargant dans la circulation sanguine des acides aminés qui seront utilisés par le foie pour la néoglucogenèse (Spargo *et al.*, 1979 ; Yang, 2014).

Le système nerveux est l'un des organes dont les besoins en énergie, et notamment en glucose, sont les plus élevés : il en utilise 120 g quotidiennement, ce qui équivaut à 60–70% du métabolisme glucidique de l'organisme entier. Le cerveau ne dispose pas de ses propres réserves d'énergie, de plus, il ne peut pas utiliser les acides gras libres car ceux-ci traversent difficilement la barrière céphalo-rachidienne. Le système nerveux influence donc la glycémie par son utilisation de glucose

(~15% du glucose circulant postprandial), mais également par tout un ensemble de mécanismes régulateurs intervenant à divers niveaux (Lebreton, 2014).

En effet, le système nerveux régule de multiples fonctions dans l'organisme, les comportements, perceptions, mouvements étant directement dirigés par cet organe. Les comportements alimentaires sont ainsi également contrôlés par le système nerveux central, qui intègre pour cela les signaux de satiété ou d'appétit provenant des organes périphériques impliqués dans la digestion ou le stockage de l'énergie, que ces signaux soient nerveux (relayés depuis les innervations sensorielles afférentes depuis le système gastro-intestinal, le pancréas, le foie ...) ou hormonaux (comme par exemple les adipokines sécrétées par le tissu adipeux, l'insuline sécrétée par le pancréas endocrine ou encore les incrétines provenant de l'intestin grêle) (Lebreton, 2014).

Le pancréas n'est pas un organe producteur de glucose, ni l'un des utilisateurs principaux. Il est néanmoins un organe indispensable dans la régulation de la glycémie. En effet, le pancréas comporte deux parties distinctes : le pancréas exocrine qui intervient dans le processus de digestion en libérant les sucs pancréatiques dans le duodénum, et le pancréas endocrine qui produit et sécrète deux hormones essentielles directement impliquées dans le contrôle glucidique : l'insuline et le glucagon (Lebreton, 2014).

L'insuline va agir au niveau de ses cibles pour diminuer la glycémie : globalement, elle inhibe la production de glucose (que ce soit la glycogénolyse ou la néoglucogenèse) au niveau du foie, des muscles et des reins, et elle stimule la captation de glucose dans les muscles et le tissu adipeux, ainsi que la glycolyse et la synthèse de glycogène. Elle a en outre un effet d'anabolisant protidique en augmentant la captation des acides aminés dans les muscles et le foie, ainsi qu'une action antilipolytique (inhibition des lipases responsables de la lipolyse) dans les adipocytes, dans lesquels elle favorise au contraire la formation de glycérol-phosphate. L'insuline induit ainsi une augmentation de la concentration des triglycérides dans le sang en favorisant la synthèse hépatique des lipoprotéines de très faible densité (Very Low Density Lipoprotein, VLDL). L'action de l'insuline sur les triglycérides est cependant double, étant donné qu'elle a également un effet inverse en favorisant la dégradation des chylomicrons et des VLDL par la lipoprotéine lipase (Cheatham et Kahn, 1995). Au niveau central, l'insuline agit au niveau hypothalamique en modulant les comportements alimentaires : elle inhibe la prise alimentaire en supprimant l'expression du neuropeptide Y (NPY), un neuropeptide orexigène. Son action au niveau hypothalamique interfère également avec la contre-régulation de l'hypoglycémie et régule indirectement la production endogène de glucose par le foie (Schwartz *et al.*, 1992). Ainsi, en

favorisant la consommation et le stockage du glucose et en inhibant la production endogène de ce nutriment, l'insuline remplit sa fonction hypoglycémiante (Lebreton, 2014).

Les îlots pancréatiques sécrètent également une autre hormone, le glucagon produit par les cellules α , et dont les effets sont antagonistes à ceux de l'insuline. En effet, en cas de chute de la glycémie, le glucagon exerce un effet hyperglycémiant en stimulant la glycogénolyse et la néoglucogenèse dans le foie afin de faire augmenter les taux sanguins de glucose. Le glucagon a également une action catabolique sur les protéines, en diminuant les taux sanguins d'acides aminés qui sont captés par le foie pour servir de substrat à la formation de glycogène. Il stimule aussi la lipolyse dans le tissu adipeux ainsi que dans le foie en activant la lipase hépatique, ce qui induit l'hydrolyse des triglycérides à l'intérieur du foie, et donc une augmentation de la production d'acides gras libres et de corps cétoniques. Tout comme l'insuline, le glucagon exerce des effets via le système nerveux central, en augmentant par exemple la consommation de nourriture, probablement par une modification du tonus vagal et de la vitesse de la vidange gastrique (Heppner *et al.*, 2010).

L'intestin grêle est l'organe chargé du transfert dans la circulation sanguine des nutriments essentiels issus de l'alimentation. Il a récemment été découvert que l'intestin était capable de produire du glucose par néoglucogenèse, la production intestinale de glucose représentant 20–25% de la production de glucose endogène totale pendant le jeûne (Mithieux et Gautier-Stein, 2014). Du point de vue phylogénétique, l'intestin et les cellules endocrines du pancréas faisaient initialement partie de la même structure anatomique. Cependant, ils ont gardé des traits communs, comme certains facteurs de transcription, un lignage et des fonctions cellulaires très proches. Ainsi, l'intestin grêle opère, tout comme le pancréas, une régulation hormonale de la glycémie en sécrétant des hormones peptidiques nommées incrétines lors du passage du bol alimentaire dans le tractus intestinal. Ces incrétines libérées dans la circulation sanguine vont préparer les cellules β endocrines du pancréas à l'augmentation imminente de la glycémie, ayant pour effet de potentialiser la réponse sécrétoire au glucose émise par celles-ci. Les hormones incrétines principales sont le glucagon-like peptide-1 (GLP-1), libéré par les cellules de type L de l'iléum, et le glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) libéré par les cellules de type K du duodénum et du jéjunum proximal. Le GLP-1 est synthétisé à partir du même gène codant pour le glucagon mais subit des modifications post traductionnelles différentes. Outre leur rôle dans la régulation de la sécrétion d'insuline, ces hormones interviennent également au niveau central dans la régulation de la prise alimentaire et en périphérie dans la régulation de l'utilisation ou de la production de glucose par les organes (Campbell et Drucker, 2013).

Le GLP-1 par exemple potentialise la sécrétion d'insuline en réponse au glucose par les cellules β et inhibe la sécrétion de glucagon par les cellules α . Il stimule la glycogénogenèse et diminue la production de glucose endogène au niveau hépatique. Il active également la captation du glucose et des lipides par le tissu adipeux blanc, où la lipolyse est alors augmentée. Dans les muscles squelettiques, le GLP-1 stimule l'oxydation de glucose et la glycogénogenèse. Il intervient également dans la digestion en augmentant la vidange et la sécrétion gastrique. Enfin, il agit au niveau central en augmentant la satiété et régule ainsi l'appétit (Cho *et al.*, 2014 ; Parker *et al.*, 2014).

2.3.2. Les organes à l'état insulino-résistant

L'insuline a des effets métaboliques sur le foie, les tissus adipeux et les muscles squelettiques et des effets non classiques sur d'autres organes, notamment le cerveau, les intestins, le pancréas, les vaisseaux sanguins et les reins. Ces effets sont altérés dans l'état insulino-résistant, ce qui entraîne une hyperglycémie et une hyperlipidémie, qui déclenchent plusieurs autres conditions physiopathologiques dans ces organes. De plus, l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie induisent une production d'adipokine et d'hépatokine dérégulée, une hyperinsulinémie et une inflammation infraclinique. Ces effets, associés à la dysbiose intestinale, conduisent à une diaphonie d'organes physiopathologique qui a un impact négatif sur les systèmes cardiovasculaire et rénal (Artunc *et al.*, 2016).

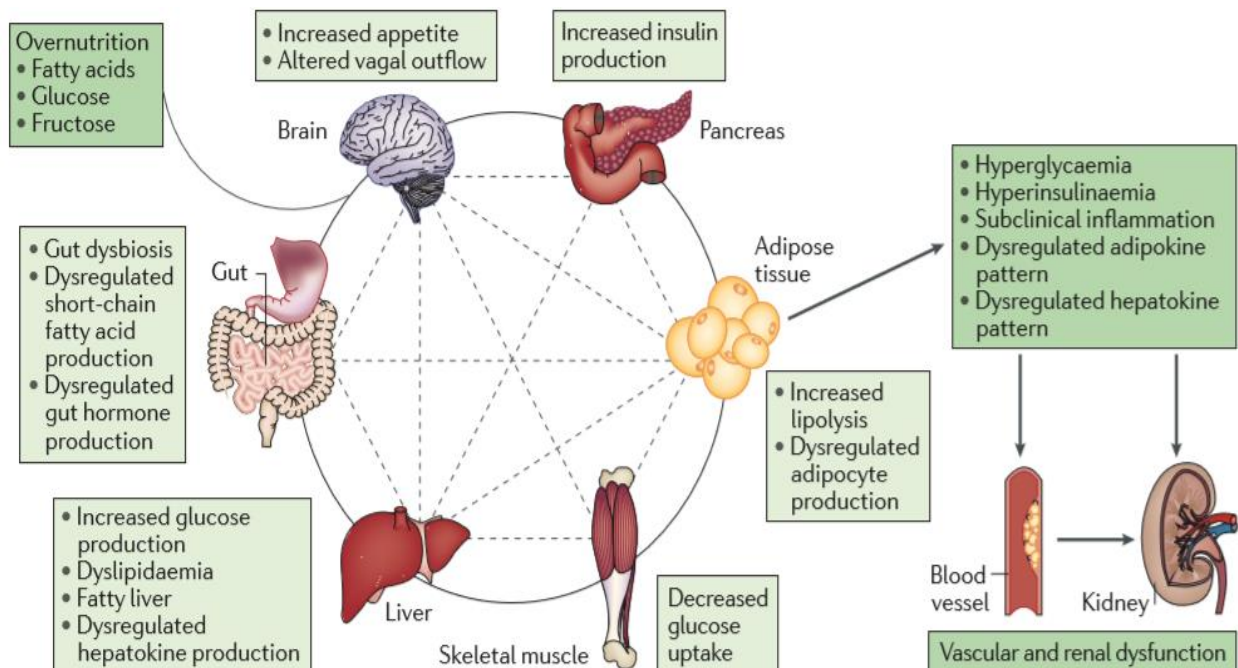


Figure 04 : les organes glucorégulateurs à l'état insulino-résistant (Artunc *et al.*, 2016).

2.4. Le fructose

Le fructose, un stéréoisomère du glucose, est un monosaccharide présent dans les fruits, les légumes et les nectars ou produits à base de nectar, tels que le miel. Au cours des trois derniers siècles, les développements successifs des processus de commerce et d'extraction ont entraîné une augmentation massive de la disponibilité de sucre ou de sucre de table, un disaccharide composé d'une seule molécule de glucose liée à une molécule de fructose (Johnson *et al.*, 2007). À partir des années 1960, la consommation de saccharose a été partiellement remplacée par le sirop de maïs à haute teneur en fructose, une solution contenant 42% ou 55% de fructose libre (HFCS-42 et HFCS-55 respectivement), le reste étant principalement du glucose libre et certains glucose-oligosaccharides (Hanover et White, 1993). La consommation totale de fructose a donc considérablement augmenté aux XIXe et XXe siècles pour représenter actuellement environ 10% de l'apport énergétique total, ou près de 50 g / jour, dans les pays les plus riches (Vos *et al.*, 2008).

2.4.1. Absorption et métabolisme du fructose

Le fructose est directement absorbé par le transporteur de glucose 5 (GLUT5) (Jones *et al.*, 2011) à travers la bordure en brosse de l'intestin grêle (Jones *et al.*, 2011). Il est ensuite transporté hors des entérocytes dans la circulation systémique par GLUT2, situé au pôle basolatéral (Jones *et al.*, 2011). Le fructose transporté est délivré dans le système circulatoire systémique et absorbé principalement par le foie. Plus de 50% du fructose est métabolisé par le biais de la fructolyse dans le foie. L'absorption extrahépatique et le métabolisme du fructose ont également lieu, car GLUT5 est également largement exprimé avec une grande spécificité dans le tissu adipeux, les reins, le tissu squelettique musculaire, les testicules et le cerveau (Jones *et al.*, 2011). GLUT2, un transporteur de fructose de faible affinité, est également situé de manière significative dans les reins et l'intestin grêle (Jones *et al.*, 2011). Au cours de la fructolyse, un niveau élevé de stress métabolique via une déplétion en ATP est détecté (Abdelmalek *et al.*, 2012). La suppression de l'ATP provoque des réactions d'oxydation et d'inflammation des récepteurs et des organes, ce qui entraîne une production anormale d'insuline, de cytokines inflammatoires, d'adiponectine, de leptine et d'endotoxines. Ces facteurs dangereux indirects sont sécrétés dans la circulation systémique, ce qui aggrave encore la charge métabolique dans les tissus et les organes et perturbe même l'appétit et la prise de nourriture (Hannou *et al.*, 2018).

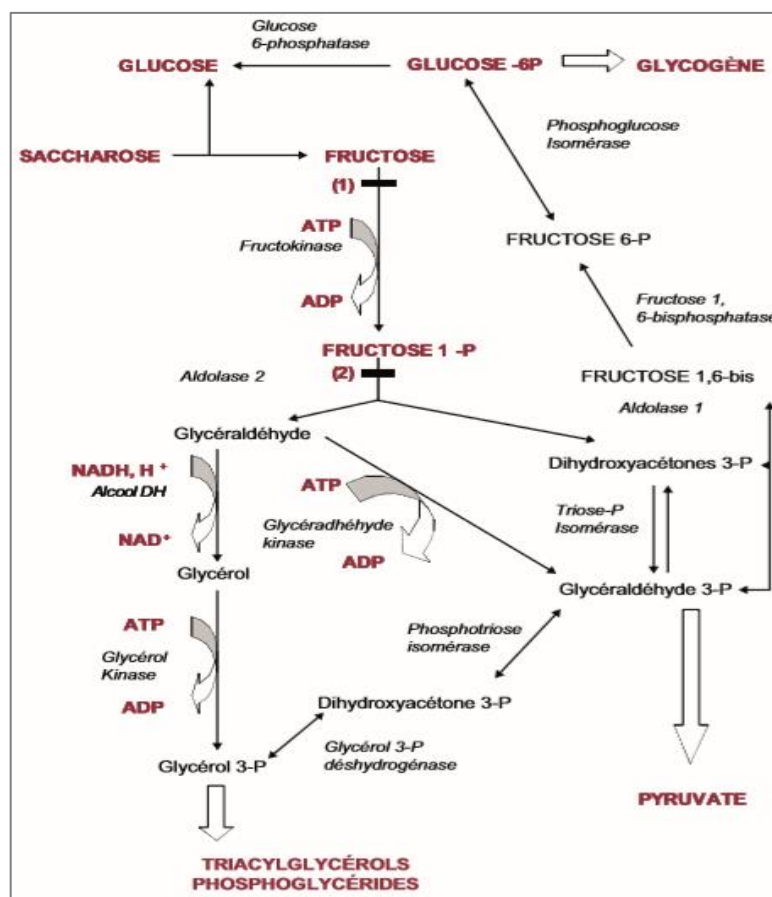


Figure 05 : Résumé du métabolisme du fructose et des sites susceptibles d'être affectés par des déficiences (Halimi *et al.*, 2010).

2.4.2. Effets du fructose sur l'homéostasie glucidique

Le fructose ne stimule pas directement la sécrétion d'insuline des cellules β du pancréas (Curry, 1989 ; Adams *et al.*, 2008). Cependant, une alimentation riche en fructose induit facilement une hyperinsulinémie chez les modèles animaux. De plus, l'hyperinsulinémie est plus prononcée chez les modèles rongeurs riches en fructose par rapport à une alimentation riche en dextrose, malgré des augmentations similaires du poids corporel et de l'adiposité (Blakely *et al.*, 1981 ; Beck-Nielsen *et al.*, 1980). De même, l'alimentation hypercalorique en fructose augmente l'insuline en circulation chez l'homme (Ter Horst *et al.*, 2016). L'hyperinsulinémie induite par le fructose, souvent considérée comme un indicateur indirect de la résistance à l'insuline, peut résulter de la résistance à l'insuline d'une combinaison du foie, des muscles et / ou du tissu adipeux. Les mécanismes par lesquels une alimentation riche en fructose provoque une hyperinsulinémie et une résistance à l'insuline demeurent incertains. La stéatose induite par le fructose peut contribuer à la résistance à l'insuline hépatique en augmentant l'accumulation hépatique de diacylglycérol, l'activation de la PKC et l'altération de l'activation de l'Akt2 induite par l'insuline (Nagai *et al.*, 2009 ; Samuel *et al.*,

2004 ; Kumashiro *et al.*, 2011). Cependant, la question de savoir si la stéatose peut entraîner une résistance à l'insuline hépatique reste controversée (Benhamed *et al.*, 2012 ; Farese *et al.*, 2012).

2.4.3. Conséquences de la surconsommation de fructose

Le métabolisme du fructose dans les tissus métaboliques clés, notamment l'intestin grêle, le foie et les reins peut contribuer à divers facteurs de risque cardiométaboliques, notamment la stéatose, l'augmentation de la production de glucose, l'hypertriglycéridémie, l'augmentation de l'adiposité et l'hypertension. Le fructose fournit un substrat aux processus métaboliques qui contribuent au risque cardiométabolique et engage les systèmes de signalisation cellulaires et hormonaux qui régulent ces processus métaboliques et pathologiques. LPL, lipoprotéine lipase (Hannou *et al.*, 2018).

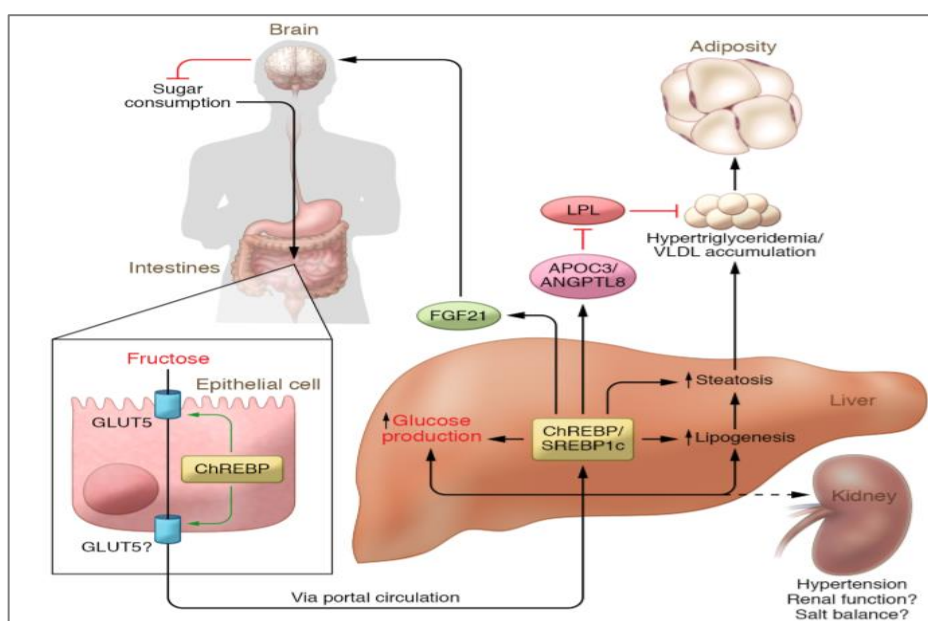


Figure 06 : Conséquences de la surconsommation de fructose (Hannou *et al.*, 2018).

2.5. Relation entre le fructose et insulino-résistance

Chez le rongeur, de nombreuses études ont démontré qu'une alimentation riche en fructose ou en saccharose entraîne, en l'espace de quelques semaines, le développement d'une obésité, d'une dyslipidémie, d'une résistance à l'insuline ou d'un diabète sucré, voire parfois d'une hypertension (Pagliassotti et Horton, 2004).

Parmi ces différents effets, plusieurs études montrent le développement d'une résistance à l'insuline après une suralimentation en fructose. Chez le rat, un régime riche en saccharose induit en quelques jours une résistance hépatique à l'insuline, suivie, au terme de quatre à cinq semaines, d'une résistance musculaire à l'insuline. Chez l'humain, le fructose induit également une résistance à

l'insuline au niveau hépatique, dont la sévérité varie selon la dose de fructose administrée (Faeh *et al.*, 2005 ; Le *et al.*, 2006).

Le fructose métabolisé en excès entraîne une stimulation de l'inflammation et la production de cytokines pro-inflammatoires comme $TNF\alpha$ et IL-6. Ces cytokines activent des protéines kinases comme JNK et $IKK\beta$ 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) (Jean, 2008).

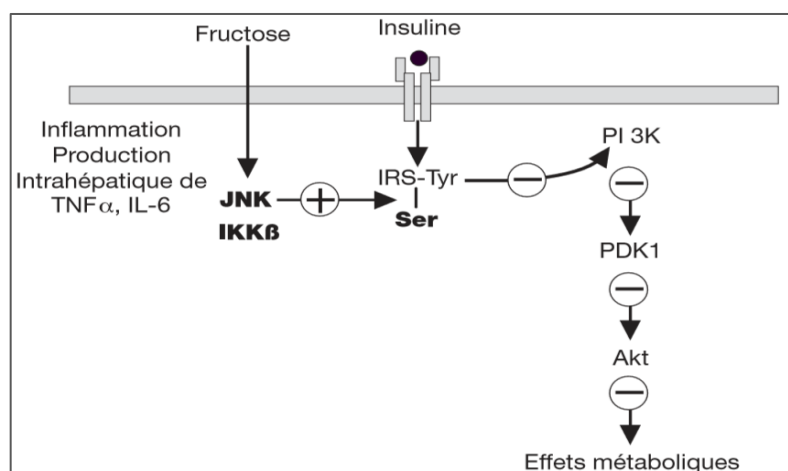


Figure 07 : Mécanismes par lesquels la consommation excessive de fructose induit une insulinorésistance hépatique (Jean, 2008).

12.6. Fructose et stress oxydant

Le stress oxydant contribue à la mise en place de la résistance à l'insuline. Ce lien entre la résistance à l'insuline et le stress oxydant induit par un régime riche en fructose, est confirmé par différents études (Srividhya et Anuradha, 2002). Les régimes riche en fructose sont considérés comme des pro-oxydant, qu'il s'agisse d'effets directs ou de potentialisation d'un stress oxydant ou inflammatoire préexistant. Dès la première semaine d'un régime riche en saccharose ou en fructose, plusieurs auteurs rapportent une aggravation du stress oxydant, évalué par une diminution du taux plasmatique en glutathion réduit (GSH) et des enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase SOD, glutathion peroxydase GPx et catalase CAT) ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique (Armutcu *et al.*, 2005). Après seulement deux semaines de régime riche en fructose (60%), la quantité des espèces réactives d'oxygène produite est augmentée au niveau du cœur (Delbosc *et al.*, 2005). Mais ce résultat n'est pas retrouvé avec un régime riche en saccharose à 65%

(Busserolles *et al.*, 2002). Cette divergence de résultat pourrait s'expliquer par la mise en place de conditions expérimentales différentes.

Il est suggéré que l'augmentation du stress oxydant observée lors d'un régime riche en fructose est liée à une augmentation de la concentration plasmatique du glucose, puisque par ailleurs, l'auto-oxydation du glucose entraînant une augmentation de la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO) est bien décrite dans le diabète (Baynes, 1991).

Ainsi, l'implication des effets d'un régime riche en fructose dans le développement de l'insulinorésistance est bien admise, mais ses effets pro-oxydants pourraient également contribuer à la mise en place de la résistance à l'insuline (Mellouk, 2013).

2.7. Insulinorésistance et stress oxydant

L'insulinorésistance qui caractérise le syndrome métabolique, précède le plus souvent le diabète de type 2. Il est maintenant admis que l'insulinorésistance a une composante génétique, mais qu'elle peut être acquise par des facteurs environnementaux. Au début, la résistance est compensée par un hyperinsulinisme, ce qui permet de préserver la tolérance au glucose. La détérioration de la tolérance au glucose intervient quand la résistance à l'insuline augmente, ou que la réponse compensatoire de la sécrétion diminue, ou bien quand les deux phénomènes se produisent simultanément. Une augmentation de la concentration en insuline, en AGL (acide gras libre) et/ou en glucides augmente la production des ERO, induit un stress oxydant, et active les voies métaboliques génératrices d'ERO, ce qui en retour aggrave à la fois l'action et la sécrétion d'insuline, et, de ce fait, accélère l'installation du diabète de type 2. Enfin, l'attaque radicalaire modifie la transcription des transporteurs du glucose, et le taux de GLUT-1 est augmenté alors que le GLUT-4 est réduit (Bloch-Damti et Bashan, 2005). La capacité des ERO à oxyder et endommager l'ADN, les protéines, et les lipides ne serait donc pas le seul mécanisme en cause dans la toxicité des ERO, puisqu'ils seraient aussi capables de fonctionner comme des seconds messagers et d'induire des voies de signalisation cellulaires rédox-sensibles. L'activation de ces voies de signalisation a été mise en cause dans l'insulinorésistance, la diminution de sécrétion de l'insuline, et les dommages cellulaires responsables des complications cliniques du diabète. Ainsi, la production des ERO, induite par l'élévation de la glycémie et l'hyperlipidémie, joue un rôle clé dans l'insulinorésistance et le dysfonctionnement des cellules β -pancréatiques, par leur capacité à induire l'activation des voies de signalisation rédox-sensibles. L'efficacité de certains antioxydants comme l'acide lipoïque, la vitamine E, la vitamine C et le glutathion à améliorer la sensibilité à l'insuline, a été évaluée sur des modèles expérimentaux et dans des essais cliniques chez des

individus insulino-résistants et/ou chez des patients de type 2 (Evans et Goldfine, 2000). Bien que de faibles ampleurs et de courtes durées, ces essais cliniques ont aussi confirmé ce bénéfice (Maddux *et al.*, 2001 ; Rudich *et al.*, 1999). Il semble que le mécanisme impliqué dans les effets antioxydants soit médié par la translocation du GLUT-4 ou son activation (Estrada *et al.*, 1996 ; Konrad *et al.*, 2001 ; Ramrath *et al.*, 1999).

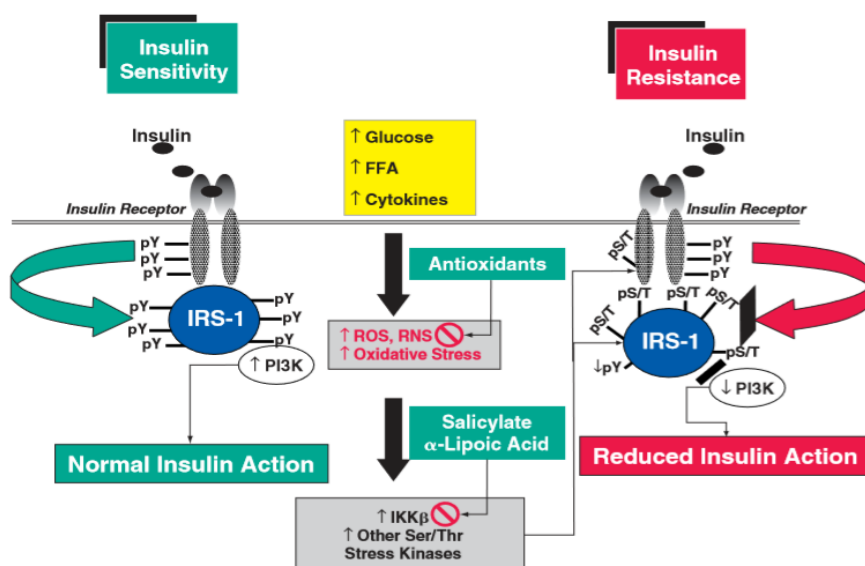


Figure 08 : Stress oxydant et insulino-résistance : les bases moléculaires impliquées (Evans *et al.*, 2005).

Chapitre II : le chrome et l'insulino-résistance

1. Généralités sur chrome trivalent

Le chrome est un oligo-élément dont la principale fonction est de réguler la sécrétion d'insuline par le pancréas afin de maintenir constante la glycémie. Les aliments les plus riches en chrome sont la levure de bière, le foie de veau mais également le brocoli, les haricots verts, les pommes de terre et le fromage. La carence en chrome résultant d'un régime alimentaire inadapté favoriserait l'apparition des facteurs de risque associés au syndrome métabolique : augmentation de la masse grasse et diminution de la masse maigre, augmentation du cholestérol total, LDL-cholestérol et taux de triglycérides et baisse du HDL-cholestérol ainsi qu'une hyperinsulinémie et intolérance au glucose. L'explication est la suivante : initialement, des taux élevés d'insuline circulante entraînent une mobilisation du chrome pour combattre le stress de l'hyperglycémie. Ce chrome utilisé n'est pas résorbé mais éliminé dans l'urine. Le chrome est donc davantage mobilisé et utilisé ce qui entraîne une hausse des pertes urinaires de Cr. Or, au fur et à mesure, les patients perdent la capacité de mobiliser assez de Cr car ils en sont déficitaires du fait d'apports alimentaires

inadéquats (alimentation à faible teneur en micronutriments) et donc la carence en Cr est responsable d'anomalies lipidique et glucidique car celui-ci ne compense plus les effets de l'hyperinsulinémie. Anderson et al. Résumant ce phénomène en expliquant que les facteurs qui affectent le métabolisme du glucose affectent également le métabolisme du Cr (Anderson *et al.*, 1990). L'utilisation des suppléments en Cr pour améliorer la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 2 est controversée du fait des résultats contradictoires des différentes études sur le sujet. Plusieurs études d'intervention et méta-analyses ont montré que l'administration de doses élevées de Cr (500 à 1000 g/j) sous forme biodisponible (picolinate) pouvait être bénéfique pour des patients insulino-résistants, alors que des apports plus bas (< 250 g/j) sous des formes peu biodisponibles étaient inefficaces (Roussel, 2017).

2. Métabolisme du chrome

Le parcours du chrome dans l'organisme dépend de son état d'oxydation. Le taux d'absorption du chrome hexavalent est plus élevé que celui du chrome trivalent. Cependant, ce premier est détruit et la majorité du chrome dans notre organisme est donc sous forme trivalente. L'absorption d'origine alimentaire est très faible, entre 0,5 et 2% de la dose ingérée (Anderson *et al.*, 1998). Une fois absorbé, le chrome est lié à la transferrine dans le sang et va se distribuer dans tout l'organisme : au niveau des os, du foie, de la rate, des poumons, des reins, des muscles et du tissu adipeux. Il peut être stocké pendant deux semaines dans les muscles et le tissu adipeux, et jusqu'à un an dans le foie et la rate. Enfin, l'excrétion rénale est la voie principale (à 80%), suivie par l'élimination biliaire (à 10%). L'excrétion urinaire peut être amplifiée par l'apport de sucres d'absorption rapide, le stress ou l'exercice (Roussel *et al.*, 2009).

3. Le chrome dans les suppléments alimentaires

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

L'effet bénéfique d'apports en picolinate de chrome, permettant de restaurer le statut redox et d'améliorer la sensibilité à l'insuline, a été rapporté par de nombreuses études (Wang *et al.*, 2005 ; Martin *et al.*, 2006 ; Sahina *et al.*, 2007 ; Król et Krejpcio, 2010).

4. Rôle du chrome dans la régulation de la glycémie

Le chrome serait impliqué dans les métabolismes glucidique et lipidique. Cette notion est surtout issue d'études animales. Deux molécules sont considérées comme étant les formes biologiquement

actives du chrome : la chromoduline et le chromate. Le chrome améliorerait la sensibilité à l'insuline (Lewicki *et al.*, 2014). L'hypothèse moléculaire est une régulation positive de la transduction du signal de l'insuline induite par l'insuline par le chrome (Lewicki *et al.*, 2014 ; Vincent, 2010). Le chrome améliorerait l'activité kinase de la sous-unité β du récepteur de l'insuline (Wang *et al.*, 2005) augmenterait l'activité des effecteurs d'aval de la voie de signalisation de l'insuline, PI3K et AkT (Wang *et al.*, 2006) et améliorerait la translocation de GLUT4 à la surface des cellules. De plus, le chrome éliminerait les régulateurs négatifs de la signalisation de l'insuline tels que PTP-1B, c-Jun N-terminal kinase (JNK) et IRS-1 sérine phosphorylation (Sreejayan *et al.*, 2008). Il améliorerait également transitoirement l'activité de l'AMPK pour augmenter l'absorption du glucose (Zhao *et al.*, 2009). Le chrome améliorerait également la synthèse de l'ARNm du récepteur de l'insuline et aurait la capacité d'augmenter la synthèse des récepteurs de l'*insuline like growth factor* qui sont capables de remplacer fonctionnellement le récepteur de l'insuline en cas de défaillance de celui-ci (Wiernsperger *et al.*, 2010).

5. Le chrome dans l'insulinorésistance

Le chrome agit comme potentialisateur de l'insuline et son mode d'action se déroule selon deux mécanismes :

- Le chrome a une action extra-cellulaire en agissant au niveau de plusieurs étapes du métabolisme de l'insuline.

Le chrome trivalent joue un rôle clé (Anderson, 2003 ; Vincent, 2000) dans l'homéostasie glucidique via un effet potentialisateur de l'insuline. En présence de chrome, la quantité d'insuline requise pour l'utilisation cellulaire du glucose est beaucoup moins importante. Cette propriété du chrome est précieuse dans les états développant une diminution de la sensibilité à l'insuline, au premier rang desquels on trouve le syndrome métabolique, l'obésité et le diabète. Le mode d'action du 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. Le chrome agit sur les réactions de phosphorylation/déphosphorylation. La liaison de l'insuline à la sous-unité alpha du récepteur est induite par une cascade de réactions de phosphorylation dues à la tyrosine kinase qui est activée par le chrome. Le chrome, parallèlement, inhibe la phosphotyrosine phosphatase qui, elle, inactive le récepteur de l'insuline. Comme cofacteur de l'insuline, le chrome intervient également dans le métabolisme lipidique. Le déficit en chrome est associé à une hypertriglycémie et une diminution du HDL-cholestérol.

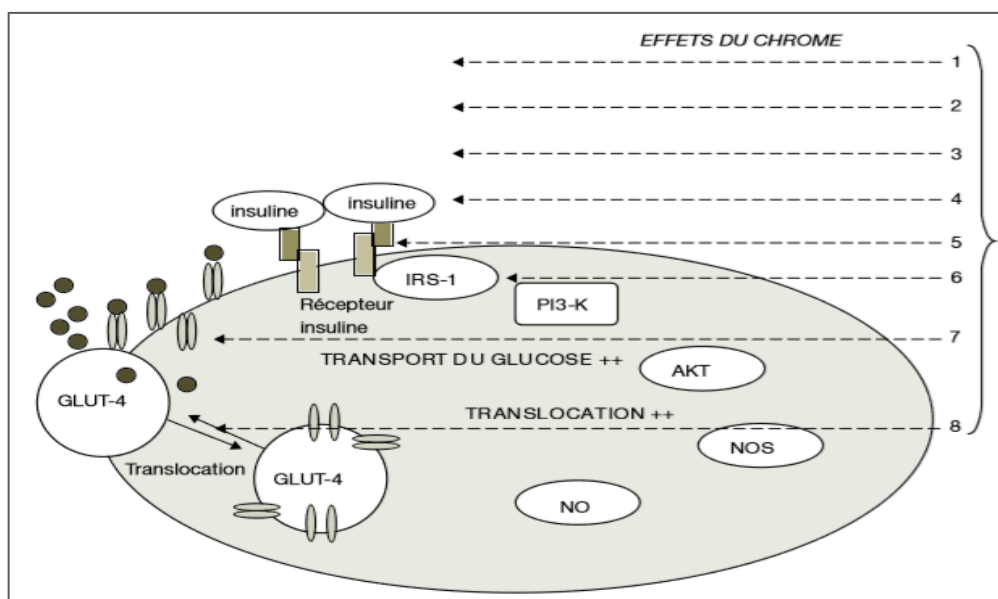


Figure 09 : Mécanisme d'action du chrome sur la signalisation de l'insuline (Anderson, 2003).

1 : activation de la tyrosine kinase ; 2 : inhibition IR Phosphatase ; 3 : augmente l'insuline Binding ; 4 : augmente le nombre des récepteurs à l'insuline ; 5 : augmente la phosphorylation des IR ; 6 : augmente la phosphorylation IRS-1 ; 7 : active le transport du glucose ; 8 : active la translocation des GLUT-4.

- Le chrome a un mécanisme intracellulaire via la chromoduline.

Cet oligopeptide de bas poids moléculaire (ou LMWCr) serait le vecteur du chrome et permettrait l'auto-amplification du système insulinaire. Yamamoto et son équipe, en 1981, ont révélé l'existence de la chromoduline dans les cellules du foie de la souris. Après deux heures d'une injection unique de chromate de potassium, la chromoduline se trouvait dans les urines et dans les selles. Cette molécule est donc formée dans le foie et participe à la rétention et à l'excrétion du chrome dans l'organisme. La chromoduline est stockée sous sa forme libre (apochromoduline) dans le cytosol ou dans les cellules hépatiques. Cette molécule est composée de quatre acides aminés (glycine, cystéine, glutamate, aspartate) et de groupements carboxylates, et peut lier jusqu'à quatre ions de Cr^{3+} . Une fois saturée en chrome, la chromoduline va pouvoir se fixer au récepteur de l'insuline, renforçant ainsi son activité tyrosine kinase (multipliée par 8). Elle est excrétée dans les urines et le chrome dans les urines est sous la forme de cet oligopeptide. En présence de chrome, la sensibilité à l'insuline est améliorée et l'utilisation cellulaire du chrome est régulée (Vincent, 2000).

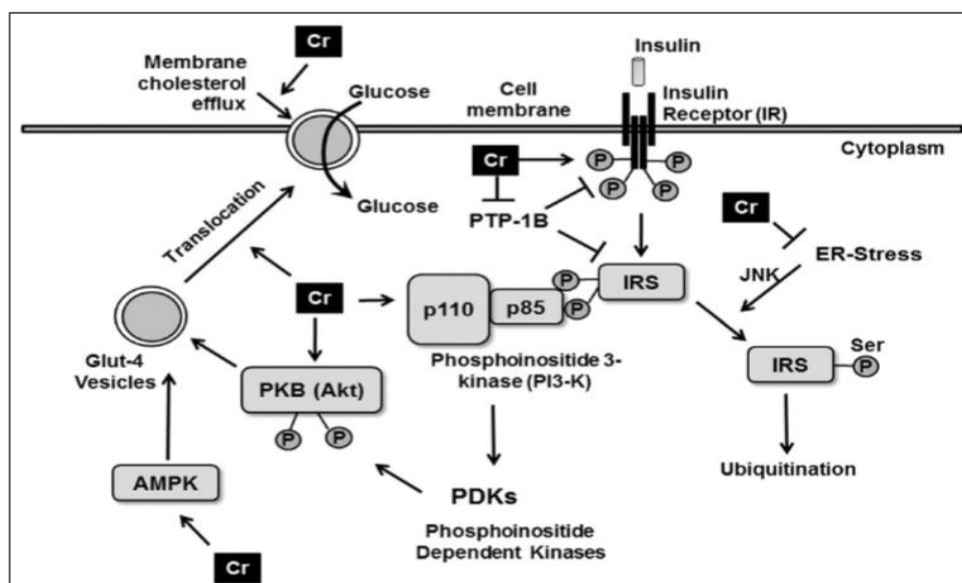


Figure 10 : Mécanismes par lesquels le chrome augmente l'absorption cellulaire de glucose (Hua *et al.*, 2012).

6. Chrome et stress oxydant

Le rôle des micronutriments antioxydants dans la prévention des complications du syndrome métabolique et du diabète est important. Paradoxalement, bien que la résistance à l'insuline soit une des principales causes de stress oxydant, le lien entre stress oxydant et résistance à l'insuline est peu pris en compte. Le chrome agissant comme potentialisateur de l'insuline et comme antioxydant pourrait être un élément clé de cette relation. Les complications oxydatives du syndrome métabolique sont un problème dans l'évolution de la maladie, et l'intervention nutritionnelle précoce, en apportant du chrome, pourrait prévenir chez les sujets à risque l'installation d'un stress oxydant non contrôlé et lié à l'hyperinsulinémie (Roussel, 2009) et augmente le pouvoir antioxydant global cellulaire chez le rat (Ueno *et al.*, 1988).

Etude expérimentale

Matériels et méthodes

1. Matériels biologiques et conditions d'élevage

Nous avons utilisé dans cette étude expérimentale des rats femelles adultes de souche *Wistar Albinos* pesant entre 106 et 140 g fournis par l'institut pasteur Alger (Algérie). Les rats sont maintenus à l'animalerie de l'université de Jijel dans des conditions standard d'élevage: cycle contrôlé de lumière/obscurité (12 h/12h), température ambiante maintenue à $(22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C})$, humidité 40%, nourriture et eau *ad libitum*.

1.1. Produits utilisés

Dans notre travail, nous avons utilisé le fructose (20%) 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 nu a été utilisé comme traitement.

1.2. Répartition et traitements des animaux

Après une période d'adaptation de deux semaines, les animaux ont été répartis en trois groupes expérimentaux dont chacun d'entre eux est soumis à un régime différent :

Groupe 1 : 3 rats sous un régime alimentaire normal. (Lot témoin **T**)

Groupe 2 : 4 rats sous un régime riche en fructose (20%) dans l'eau potable (Lot **Fr**).

Groupe 3: 3 rats sous un régime riche en fructose (20%) dans l'eau potable supplémenté en picolinate de chrome ($100\mu\text{g}/\text{kg}$) par gavage. (Lot **Fr+Cr**).

La prise de poids est notée trois fois par semaine. La glycémie à jeun a été mesurée après prélèvement du sang au niveau de la queue à l'aide du glucomètre avant le début du traitement et chaque semaine pendant la période d'expérimentation (4 semaines).

2. Méthodes

2.1. Prélèvement des échantillons

2.1.1. Prélèvement sanguin

Le sang est prélevé par décapitation sur des rats à jeun. Le sang est mis dans des tubes à héparine, centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le plasma est recueilli conservé à -20°C en vue d'analyse des paramètres biochimiques sériques (L'insuline).

2.1.2. Prélèvement des organes

Après la dissection, le foie, le pancréas, le rein, le cœur, l'intestin et le cerveau ont été prélevés, le pancréas a été débarrassé de son tissu adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0.9%, puis pesés.

Les organes destinés aux dosages des protéines, de glycogène, du MDA, du glutathion réduit et les enzymes antioxydantes (la catalase, la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase) ont été

maintenus immédiatement à -20°C. Les tissus destinés à l'étude histologique ont été conservés dans une solution de formol tamponné.

La figure (11) représente les différentes étapes du protocole expérimental suivi.

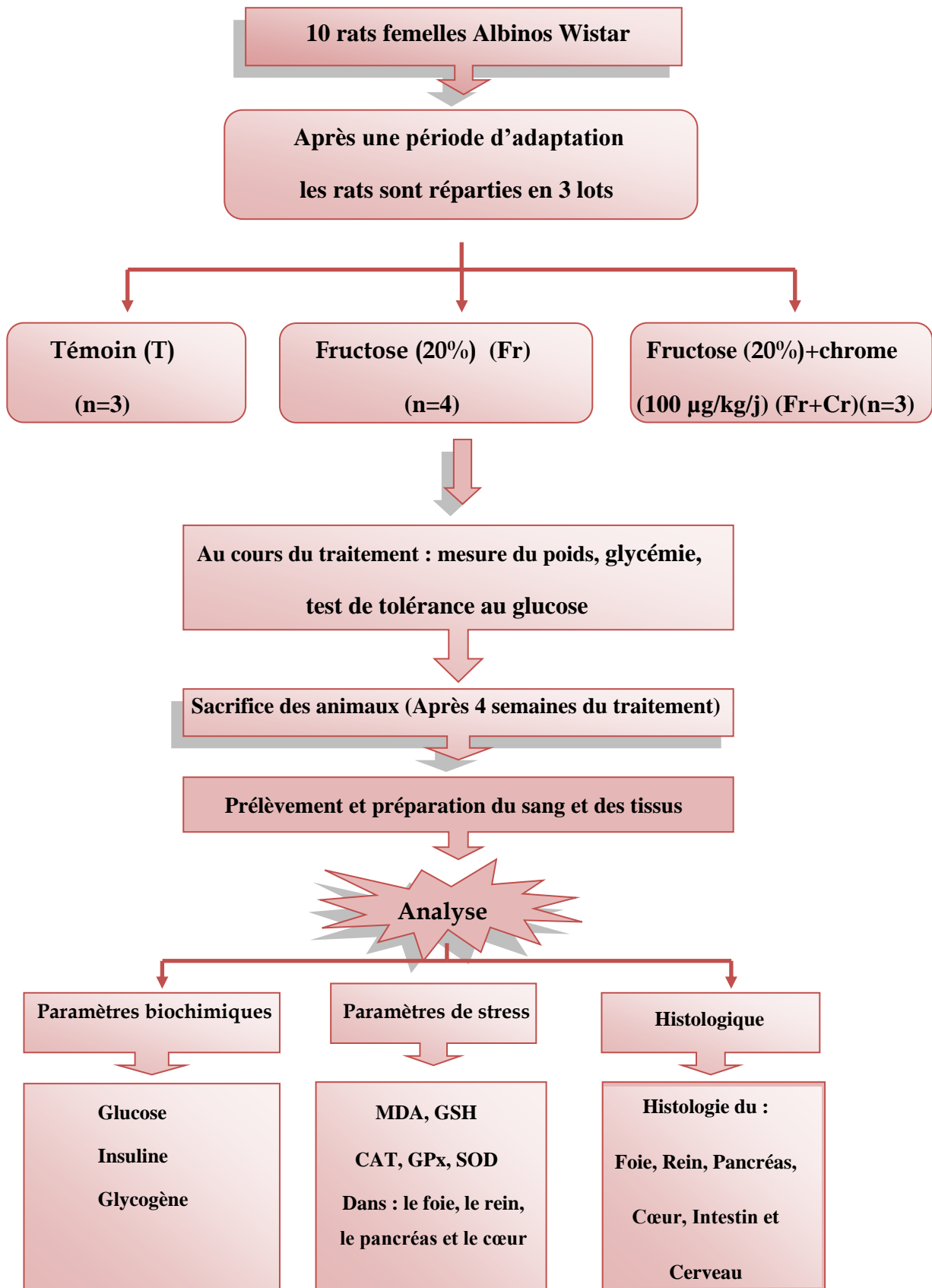


Figure 11: Protocole expérimental

2.2. Dosage des paramètres biochimiques

2.2.1. La glycémie

La glycémie à jeun est mesurée avant le début du traitement et chaque semaine pendant la période d'expérimentation par prélèvement du sang au niveau de la queue à l'aide d'un glucomètre.

2.2.2. Test de tolérance au glucose

Le test de tolérance au glucose a été réalisé au dernier jour de l'expérimentation. Pour ce faire, les rats ont été mis à jeun pendant 5h puis reçoivent par gavage une solution de glucose de 2 g/kg dans 4 ml de l'eau distillé provoquant ainsi chez les rats une hyperglycémie temporaire. Les échantillons de sang ont été prélevés au niveau de la queue par une légère blessure au début avant administration de glucose : temps 0 et à 30, 60, 90, 120 et 150 min après l'administration de glucose. Le niveau de glucose a été mesuré à l'aide d'un glucomètre (N'doua *et al.*, 2015).

2.2.3. L'insuline

Le dosage ARCHITECT® à l'insuline est un dosage immunologique chimiluminescent CMIA en une étape qui utilise des microparticules paramagnétiques recouvertes d'un anticorps monoclonal anti-insuline et d'un conjugué d'anticorps monoclonal anti-insuline marqué à l'acridinium. Les échantillons, les microparticules et le conjugué sont ajoutés à un récipient de réaction pour former un sandwich particule – insuline – conjugué.

Après l'incubation, le lavage élimine les matières non liées à la 1^{ère} étape. L'ajout du réactif de pré-déclenchement, qui comprend du peroxyde d'hydrogène, et du réactif déclencheur, qui comprend de l'hydroxyde de sodium, conduit à une chimioluminescence produite par l'acridinium, mesurée en unités de lumière relative (RLU). Les RLU sont proportionnelles à la concentration d'insuline dans l'échantillon et détectées par le système optique ARCHITECT i* (Moriyama *et al.*, 2006).

i*= dosage immunologique

2.2.4. Indice HOMA-IR

Le HOMA (Homeostasis Model Assessment) est l'index le plus utilisé pour caractériser les anomalies de la sensibilité à l'insuline et de la sécrétion d'insuline. Il est obtenu à l'aide de prélèvements à jeun. Il s'agit d'un modèle mathématique basé sur les réponses quantitatives des principaux organes impliqués dans l'homéostasie du glucose. Cette méthode permet de caractériser, avec deux formules différentes, les anomalies de la sensibilité et de la sécrétion insulinique à partir des concentrations à jeun de glucose et d'insuline. Elle correspond à la construction par modélisation mathématique montrant la correspondance entre insuline et glycémie de base, pour différents degrés d'insulinorésistance et de déficience des cellules bêta pancréatiques (Terrier et Mottet., 2013). L'index HOMA est donné par la formule suivant :

HOMA-IR= [insuline à jeun (μ IU/ml). glycémie à jeun (mmol/l)] / 22.5 (L., 2011).

HOMA-IR > 1,8-2 : niveau indiquant une résistance à l'insuline (La Breque et al, 2012).

2.2.5. Le glycogène

Le dosage du glycogène consiste en premier lieu à extraire le glycogène du foie et du cœur puis dans un deuxième temps réaliser le dosage de l'échantillon obtenu par rapport à une gamme étalon. Un gramme de tissu (foie et cœur) frais est coupé en petits morceaux et bouillis ensuite dans 10 ml d'eau distillée pendant 2 minutes. Les fragments des deux organes sont égouttés à l'aide d'une passoire et broyés avec un mortier. 5 ml d'eau distillée sont ajoutés au broyat et la suspension obtenue est bouillie pendant 5 minutes. Le bouillonnât est centrifugé à 5000 tours/minute pendant 5 minutes puis le filtrat est récupéré avec 2 gouttes d'HCl (pour précipiter les protéines) et est centrifugé à nouveau à 5000 tours/minute pendant 5 minutes. Le filtrat est traité par 2 fois de son volume d'alcool 95% puis centrifugé, le culot final est repris avec 1 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 (Annexe 1) (Dedier, 1994).

2.3. Dosage des paramètres du stress oxydatif

2.3.1. Préparation de la fraction cytosolique

1 g de tissu (le foie, le pancréas, le rein et le cœur) est coupé et homogénéisé par un Potter en verre dans 3 volumes de la solution tampon phosphate (KH_2PO_4 0.1M pH 7.4) contenant le KCl (1.17%). Après découpage en morceaux fins et homogénéisation, l'homogénat est centrifugé à 2000 rpm pendant 15 minutes à 4°C pour séparer les débris cellulaires, le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 rpm pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source d'enzymes (Iqbal *et al.*, 2003).

2.3.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Principe

Le dosage du MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100°C), entre une molécule de MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique d'un pigment coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol.

Mode opératoire

Le MDA (Malonyldi aldéhyde) est un produit de l'oxydation des lipides membranaire par les ERO, Dans notre étude, la quantité du MDA hépatique, pancréatique, rénale et cardiaque a été évaluée selon la méthode de Sastre *et al.* (2000).

Pour réaliser ce dosage, 250µl de TCA (20%) et 500 µl de TBA (0.67 %) sont ajoutés à 250µl d'échantillon. Ensuite, le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 min, refroidis puis additionné 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 rpm, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm. Le MDA est exprimé en nmol /mg protéine. La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer Lambert en utilisant le coefficient d'extinction molaire, du complexe MDA-TBA. La concentration du malondialdéhyde (MDA) est calculée par la formule suivante : (Buege et Aust, 1978)

$$[\text{MDA}] \text{ (nmol/mg protéine)} = \text{DO échantillon} \times 10 / 1.56 / \text{mg protéine}$$

2.3.3. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé selon la méthode d'Ellman (1959).

Principe

La méthode du dosage de glutathion est basée sur l'évaluation de la réduction du réactif d'Ellman par les groupes (SH) en formant l'acide 2-nitro-5- mercaptobenzoïque ; ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense, ce qui permet sa quantification spectrophotométrique à 412 nm.

Mode opératoire

Un gramme de tissu (foie, pancréas, rein et cœur) est découpé, homogénéisé avec trois volumes de l'acide trichloracétique (TCA) (5 %). 50 µl de l'homogénat avec trois volumes (150 µl) de l'acide trichloracétique (TCA) (5 %), puis la centrifugation à 2000 rpm pendant 15min. Une aliquote de 50 µl du surnageant est ensuite diluée dans 10 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH = 8). À 3 ml de cette dilution, nous avons additionné 20 µl DTNB (acide 5, 5'dithiobis- 2-nitrobenzoic) (0,1 M). Après 5 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 par milligramme de protéines. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage. (Annexe 1)

2.3.4. Dosage de l'activité des enzymes antioxydantes

2.3.4.1. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée dans les tissus du foie, pancréas, rein et cœur selon la méthode de (Clairborne, 1985).

Principe

Le dosage de l'activité enzymatique du catalase est basé sur la diminution de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du superoxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la catalase.

Mode opératoire

Dans une cuve en quartz, 50µl de la source enzymatique sont mélangés avec 2.95 ml d'une solution de H₂O₂ frais à 19 mmol/ml préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M). Le changement de l'absorbance est suivi pendant deux minutes en prenant les valeurs à t₀ et après chaque minute.

Calcul

L'activité enzymatique est exprimée en UI / g de protéine selon la relation suivante :

$$\text{UI / g de protéine} = (2,3033/T \cdot \text{Log } A1/A2) / \text{mg protéines}$$

Sachant que :

A1 : Absorbance au temps 0 mn

A2 : Absorbance après 1 mn

T : Temps

2.3.4.2. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984).

Principe

Le dosage de la GSH-Px est basé sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px selon la réaction suivante :



Mode opératoire

0.2ml de surnageant est mélangé au milieu réactionnel contenant 0.2 ml tampon TBS (Tris 50 Mm NaCl 150 Mm pH 7.4), 0.4 ml de glutathion réduit à (0.1mM). Après une incubation au bain marrie

pendant 15 minutes à 25°C, 0.2 ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ à 1.3 mM) est ajouté pour initier la réaction, puis laisser agir pendant 10 minutes. 1 ml de TCA (1%) est ajouté pour arrêter la réaction, le mélange est placé dans la glace pendant 30 minutes puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Ensuite 0.48 ml de surnageant est prélevé et mélangé avec 2.2 ml du tampon TBS et 0.32 ml de DTNB (1mM), après 5 minutes, la DO est lue sur le surnageant à 412 nm.

Calcul

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

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

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

DO étalon : Densité optique de l'étalon.

0.04 : Concentration de substrat (GSH).

2.3.4.3. Dosage de Superoxyde dismutase (SOD)

Principe

La détermination de l'activité de la SOD est basée sur l'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par la fraction cytosolique qui contient la SOD (Marklund *et al.*, 1982).

Mode opératoire

Dans une cuve de mesure en quartz nous allons préparer une solution substrat composée de 850µL de tampon tris Hcl (50mM, Ph=8,2) ,10 à 20µl d'échantillon, 100µl EDTA (10mM) et 50µl pyrogallol (2,5Mm dans Hcl 10mM). La réaction est suivie par l'enregistrement de l'absorbance à 420 nm chaque minute pendant 5 minutes.

Calcul

La détermination de l'activité enzymatique de la SOD se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition total} = \text{DO blanc} - \text{DO échantillon} / \text{DO blanc} \times 100$$

$$\text{Activité de la SOD (UI/mg protéine)} = \text{Inhibition totale} / n \times 50$$

n : mg de protéine présenté dans le volume d'échantillon utilisé

2.4. Dosage des protéines tissulaires

Principe

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).

Mode opératoire

100µl de la fraction cytosolique diluée au 1/5^{ème} avec de l'eau distillée sont ajoutés à 4 ml du réactif (BBC). Après agitation au vortex et incubation à température ambiante pendant 5 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à 595 nm. La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions par la BSA. (Annexe 1)

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

3. Analyse histologique

La technique utilisée est celle décrite par Houlot (1984) qui consiste à faire couper les échantillons (le foie, le pancréas, le rein, le cœur, l'intestin et le cerveau) en petits morceaux puis les fixés dans le formol tamponné pour que les composants des tissus soient préservés. Ensuite pour couper les morceaux fixés en tranches fines, un processus de déshydratation est réalisé, dont les organes sont mis dans des bains successivement plus concentré d'éthanol puis l'éthanol absolu, et puisque l'alcool n'est pas miscible avec la paraffine, les morceaux des organes infiltrés sont baignés dans le xylène pour éliminer l'alcool, ensuite inclus dans des bains de paraffine et laissés se solidifier à froid.

Après la réalisation des blocs, des coupes de 5 µm d'épaisseur faites à l'aide du microtome.

Les coupes sont collées sur des lames et laissées à sécher pendant plusieurs heures à l'étuve à 37°C ; avant de faire la coloration, les coupes sont déparaffinées par le xylène puis réhydratées dans des bains d'éthanol successivement moins concentré, puis dans l'eau, ensuite colorées à l'Hématoxyline et Eosine (Hématoxyline colore les structures basophiles « noyau » en bleu violacé et l'Eosine colore le cytoplasme).

4. Analyses statistiques

Les données ont été exprimées en moyenne ± écart-type. Une comparaison des moyennes par le test t de Student a été effectuée entre le groupe T et Fr, entre le groupe Fr et Fr+Cr et entre le groupe T et Fr+Cr, à l'aide du logiciel de MINITAB (Min, Ver. 18,31). Des valeurs de p<0,05 sont considérées comme statistiquement significatives.

Etude expérimentale

Résultats et interprétation

1. Influence du traitement sur le gain du poids des animaux

La figure (12) montre les variations du gain de poids (g) chez les trois groupes expérimentaux.

Nos résultats révèlent que l'exposition des rats aux régimes enrichis en fructose entraîne une augmentation significative ($p < 0.05$) des gains du poids par rapport aux rats témoins à la fin de la période d'expérimentation (T : 9.55 ± 0.170 ; Fr : 12.66 ± 0.550). Alors que, l'administration du picolinate de chrome montre une réduction très hautement significative ($p < 0.001$) du gain de poids par rapport au groupe témoin et fructose (Fr+Cr : 6.62 ± 0.085).

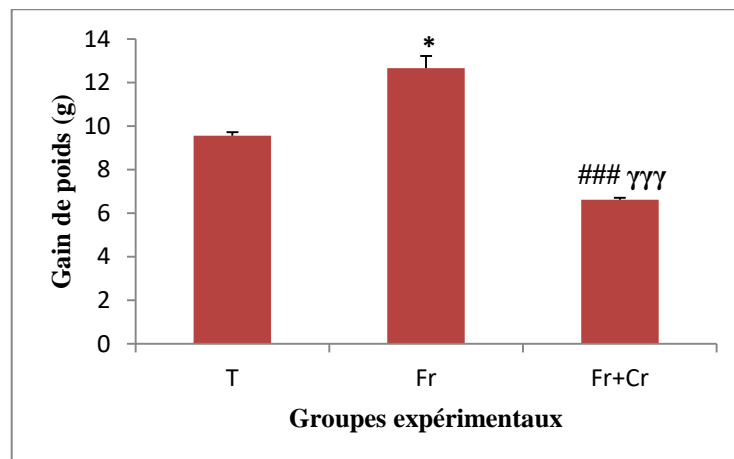


Figure 12 : évaluation du gain du poids chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

*Les valeurs sont données en moyenne ± écart type. Test de Student : comparaison entre groupes T et Fr : * $p < 0.05$; comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : ### $p < 0.001$ comparaison entre T et Fr+Cr : γγγ $p < 0.001$.*

2. Variations des paramètres de l'insulinorésistance

La figure (13) montre les variations de la glycémie à jeun (g/l), l'insulinémie et l'indice HOMA-IR chez les trois groupes expérimentaux.

2.1. Glycémie

Nos résultats présentent une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux sérique de glucose chez le groupe Fr par rapport au groupe T (Fr : 0.91 ± 0.085 g/l; T : 1.17 ± 0.020 g/l). En revanche l'administration du picolinate de chrome diminue la glycémie de façon significative ($p < 0.05$) par rapport au groupe Fr (Fr+Cr : 1.09 ± 0.0058 g/l).

2.2. Insulinémie

Nous avons constaté que la concentration sérique de l'insuline est significativement ($p < 0.05$) augmentée chez les rats de groupe Fr par rapport au groupe T (T : 4.880 ± 0.015 ; Fr : 6.065 ± 0.241 μ UI/ml). En revanche on assiste à une réduction significative ($p < 0.05$) de l'insulinémie chez les rats de groupe Fr+Cr en comparant avec le groupe Fr (Fr+Cr : 5.35 ± 0.025 μ UI/ml). Par ailleurs, une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) a été remarquée chez les rats de groupe Fr+Cr par rapport au groupe T.

2.3. Indice HOMA-IR

Le degré de la résistance à l'insuline, a été mesuré par l'indice HOMA. Nous avons remarqué que les rats de groupe Fr développent une insulinorésistance, en effet une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'indice HOMA-IR a été observée chez le groupe Fr par rapport au groupe T (Fr : 1.92 ± 0.05 ; T : 1.22 ± 0.14). En outre la comparaison entre le groupe Fr+Cr et le groupe Fr a permis d'enregistrer une diminution significative ($p < 0.05$) (Fr+Cr : 1.50 ± 0.08 ; Fr : 1.92 ± 0.05).

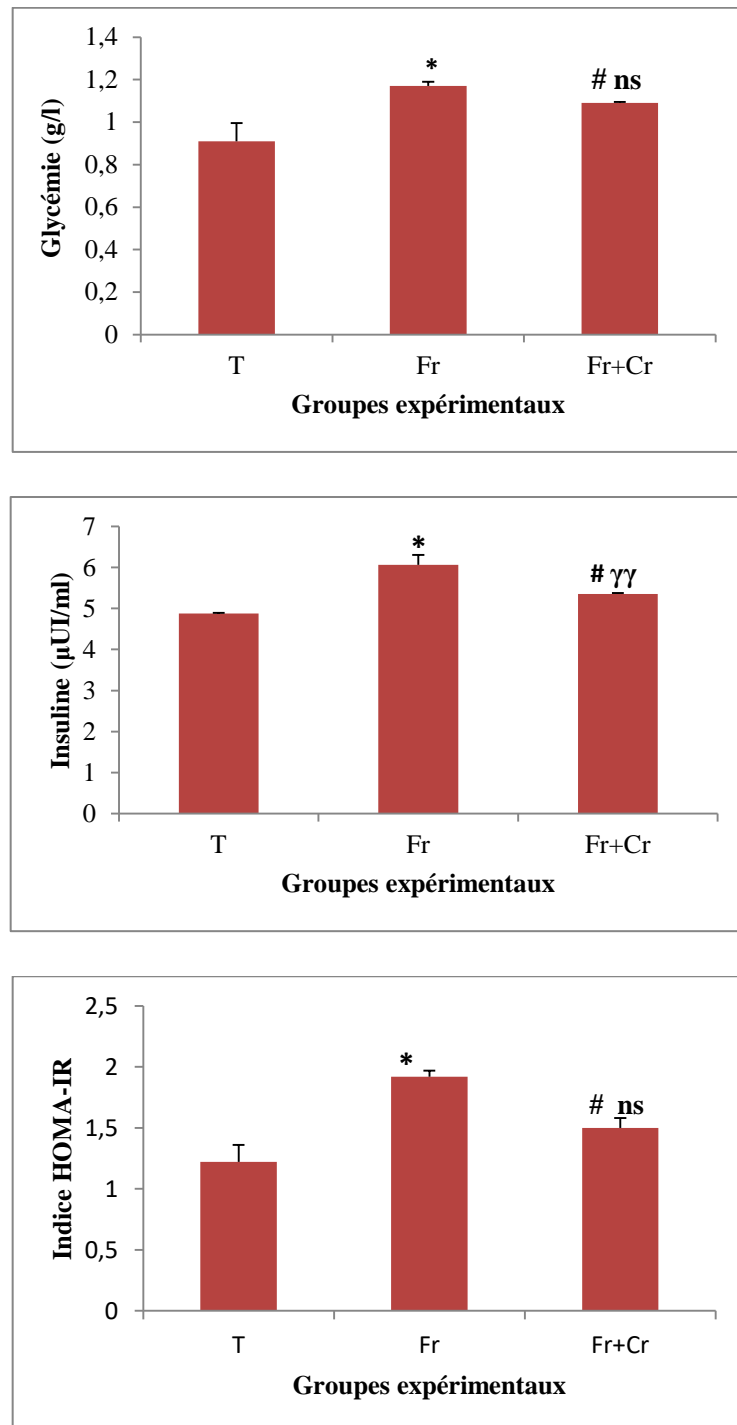


Figure 13 : Variation de la glycémie, insulïnémie et l'indice HOMA-IR chez les groupes témoin, Fr, Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student : comparaison entre groupes T et Fr : * $p < 0.05$; comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : # $p < 0.05$ comparaison entre T et Fr+Cr : γγ $p < 0.01$, ns $p > 0.05$.

2.4.Effet du traitement sur le test de tolérance au glucose

Les résultats de l'évolution de la tolérance au glucose chez les rats des trois groupes sont illustrés dans la figure (14).

Comme le montre la figure après que les rats ont reçu une charge de glucose par voie orale, ce dernier provoque une hyperglycémie temporaire qui atteint son maximum au bout de la 60^{ème} minute chez les trois groupes.

Tandis que la diminution du taux de glucose chez le groupe Fr était plus tardive et lente par rapport au groupe témoin et le groupe traité par le chrome (entre la 60^{ème} et la 150^{ème} minute).

En outre, le picolinate de chrome a abaissé de manière observable mais non significative ($P > 0,05$) la concentration de glucose à la fin du test de tolérance par rapport au groupe témoin (T) et le groupe nourri en fructose (Fr), alors que la glycémie par OGTT chez le groupe Fr reste plus élevée à la 150^{ème} min de l'administration du glucose par rapport aux autres groupes (T : 1.27; Fr : 1.38 ; Fr+Cr : 1.22).

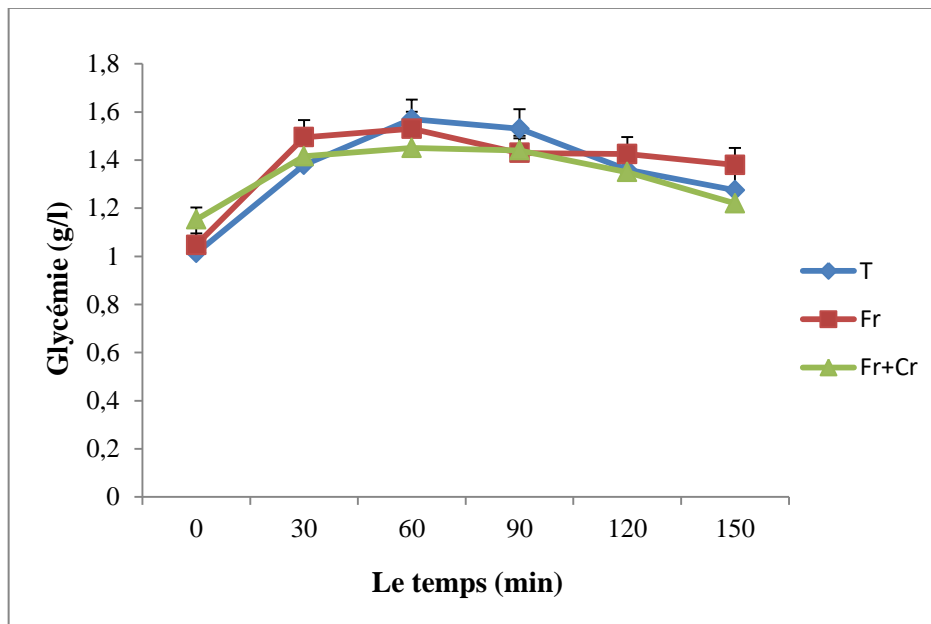


Figure14 : Evolution de la tolérance au glucose chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type.

3. Variation du taux de glycogène hépatique et cardiaque

La figure (15) illustre les variations du taux de glycogène (g/ml) hépatique et cardiaque chez les trois groupes expérimentaux.

Nous avons révélé une diminution significative ($p < 0.05$) du taux du glycogène hépatique chez le groupe Fr (15.51 ± 0.144 g/ml) par rapport au groupe T (16.74 ± 0.136 g/ml) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du taux du glycogène cardiaque chez le groupe Fr (13.85 ± 0.25 g/ml) par rapport au groupe T (15.6 ± 0.16 g/ml). Ainsi, la supplémentation en picolinate de chrome a augmenté le réserve en glycogène de manière significative ($p < 0,05$) dans le foie (16.38 ± 0.012 g/ml) et de manière non significative ($p > 0.05$) dans le cœur ($14.14 \pm 0,1$ g/ml) par rapport au groupe (Fr).

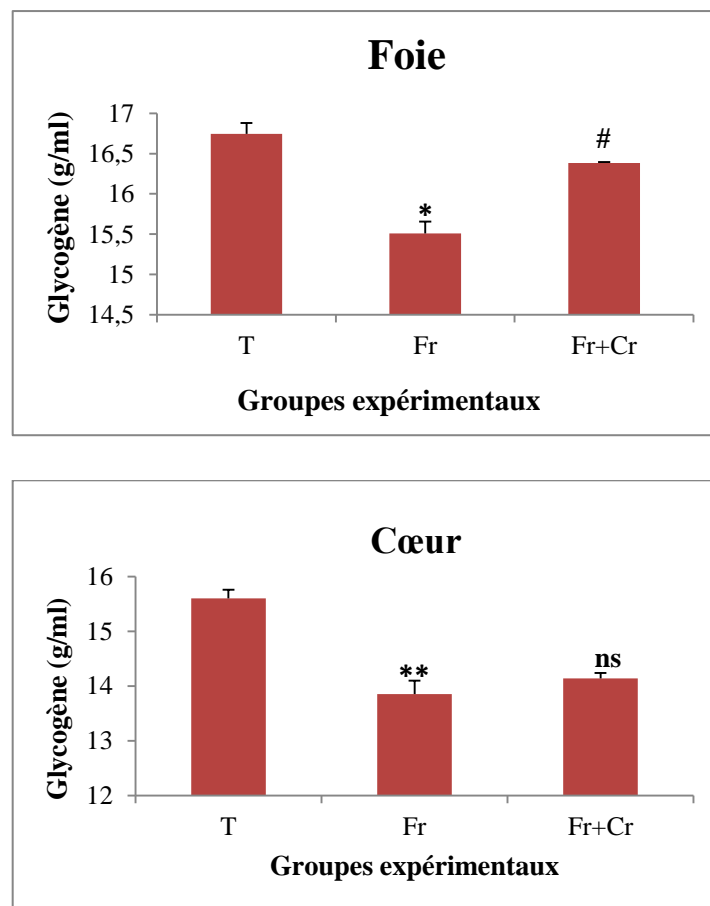


Figure 15 : Variation de la concentration du glycogène dans le foie et le cœur chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student : comparaison entre groupes T et Fr : ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$; comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : # $p < 0.05$, ns $p > 0.05$.

4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif des organes glucorégulateurs

4.1.Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif hépatique

4.1.1. Lamalondialdehyde (MDA) et la glutathion réduite(GSH)

La figure (16) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) et de GSH au niveau du foie.

Après les quatre semaines d'expérimentation, nous avons remarqué une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du MDA hépatique chez les groupes Fr (0.97075 ± 0.049 nmol) par rapport au groupe T (0.60625 ± 0.0114 nmol). L'administration journalière du picolinate de chrome provoque une diminution significative ($p < 0.05$) le taux du MDA hépatique Fr+Cr (0.67825 ± 0.0352 nmol) en comparaison avec les animaux sous un régime riche en fructose).

D'autres part, nous avons remarqué une diminution significative ($p < 0.05$) du taux du GSH chez le groupe Fr et Fr+Cr (Fr : 0.5312 ± 0.0072 mM/mg protéine; (Fr+Cr : 0.5925 ± 0.0085 mM/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (1.3575 ± 1.165 mM/mg protéine). La supplémentation en picolinate de chrome augmente les taux du GSH d'une manière significative ($p < 0.05$) chez le groupe Fr+Cr par rapport au groupe FR.

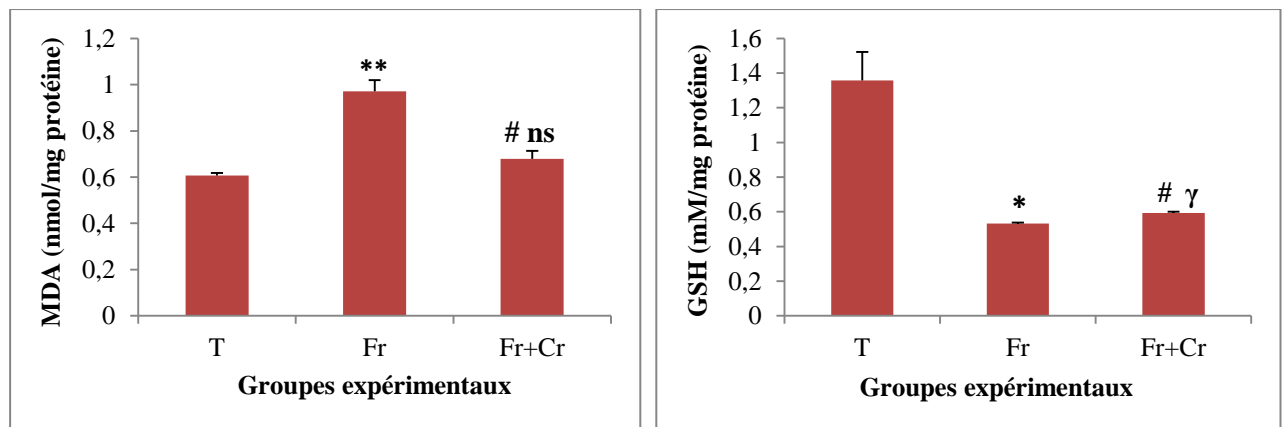


Figure 16 : Effet du picolinate de chrome sur le taux de la MDA et la GSH hépatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr ** $p < 0.01$ et* $p < 0.05$, comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr # $p < 0.05$, comparaison entre groupes Fr+Cr et T γ $p < 0.05$ et $\gamma\gamma$ $p < 0.001$.

4.1.2. L'activité des enzymes antioxydantes(CAT, GPx et SOD)

La figure (17) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) hépatique.

Nous avons enregistré une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de la catalase (CAT) hépatique chez le groupe Fr et Fr+Cr (Fr : 0.0033 ± 0.0001 UI/mg protéine ; Fr+Cr : 0.00525 ± 0.00055 UI/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (T : 0.0066 ± 0.0009 UI/mg protéine), la supplémentation en picolinate de chrome augmente significativement ($p < 0.05$) l'activité de la CAT hépatique chez le groupe Fr+Cr par rapport au groupe Fr.

En outre, nous avons constaté une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase hépatique chez le groupe (Fr) (3.645 ± 0.145 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe témoin T (5.836667 ± 0.040415 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine). La supplémentation en picolinate de chrome, augmente l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase hépatique de façon hautement significative ($p < 0.01$) Fr+Cr (4.985 ± 0.365 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport aux rats nourri en fructose.

Par ailleurs, nous avons constaté une diminution non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase dans le foie chez le groupe Fr et Fr+Cr (Fr : 0.311 ± 0.028 UI/mg protéine ; Fr+Cr : 0.274 ± 0.019 UI/mg protéine) par rapport au groupe T (0.582 ± 0.159 UI/mg protéine), l'administration journalière du picolinate de chrome provoque une augmentation non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie chez le groupe Fr+Cr (0.274 ± 0.019 UI/mg protéine) par rapport au groupe Fr.

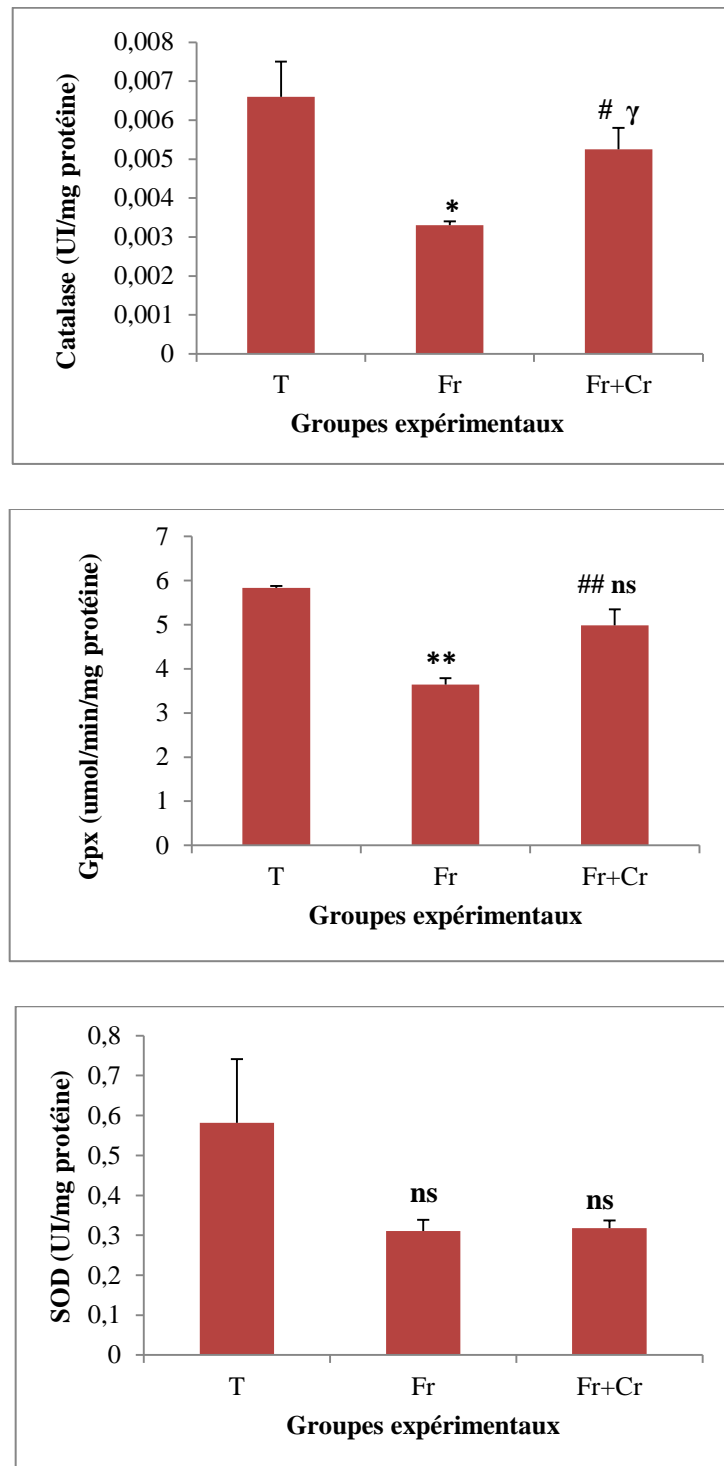


Figure 17 : Effet dupicolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) hépatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr ** $p < 0.01$ et * $p < 0.05$, comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr # $p < 0.01$, comparaison entre groupes T et Fr+ Cr $\gamma p < 0.05$ et ns $p > 0.05$.

4.2. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif pancréatique

4.2.1. La malondialdéhyde (MDA) et la glutathion réduite GSH

La figure (18) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) et de GSH au niveau du pancréas.

Après quatre semaines d'expérimentation, nous avons remarqué une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du MDA pancréatique chez le groupe Fr (0.38575 ± 0.0022 nmol) par rapport au groupe T (0.29125 ± 0.0148 nmol). La supplémentation journalière en picolinate de chrome diminue le taux du MDA pancréatique (0.3125 ± 0.0256 nmol) de manière non significative ($p < 0.001$) par rapport au groupe Fr.

Selon les résultats obtenus, nous avons remarqué une diminution significative ($p < 0.05$) du taux du GSH pancréatique chez le groupe Fr (1.04 ± 0.02 mM/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (1.2066 ± 0.03511 mM/mg protéine). La supplémentation en picolinate de chrome augmente les taux du GSH mais d'une manière non significative ($p > 0.05$) Fr+Cr (1.1733 ± 0.35501 mM/mg protéine) en comparaison avec le groupe sous un régime riche en fructose.

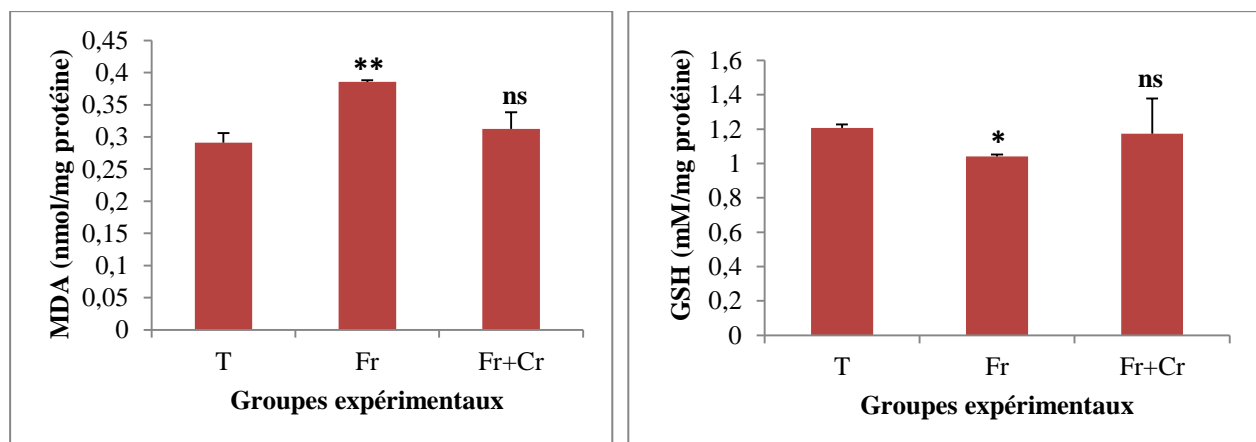


Figure 18 : Effet du picolinate de chrome sur le taux du MDA et du GSH pancréatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr : * $p < 0.05$ et ** $p < 0.01$, comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : ns $p > 0.05$.

4.2.1. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)

La figure (19) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) au niveau du pancréas.

Nous avons enregistré une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de la catalase CAT pancréatique chez le groupe Fr (0.005233 ± 0.000153 UI/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (0.0097 ± 0.0008 UI/mg protéine) et une augmentation de l'activité de la CAT d'une manière hautement significative ($p < 0.01$) chez le groupe Fr+Cr (0.00685 ± 0.00035 UI/mg protéine) par rapport au groupe Fr. Cette dernière (l'activité de la CAT) diminue significativement ($p < 0.05$) par rapport au groupe T.

Par ailleurs, nous avons constaté une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase pancréatique chez le groupe Fr (3.5825 ± 0.01 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe témoin T (5.5675 ± 0.333 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine), la supplémentation en picolinate de chrome provoque une augmentation non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase pancréatique chez le groupe (Fr+Cr) (4.0795 ± 0.698 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe Fr et une diminution non significative ($p > 0.05$) par rapport au groupe témoin.

En outre, les résultats montrent une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase pancréatique chez le groupe Fr (0.382 ± 0.024 UI/mg protéine) par rapport au groupe T (0.96 ± 0.106 UI/mg protéine) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) Fr+Cr (0.62625 ± 0.06 UI/mg protéine) par rapport au groupe Fr.

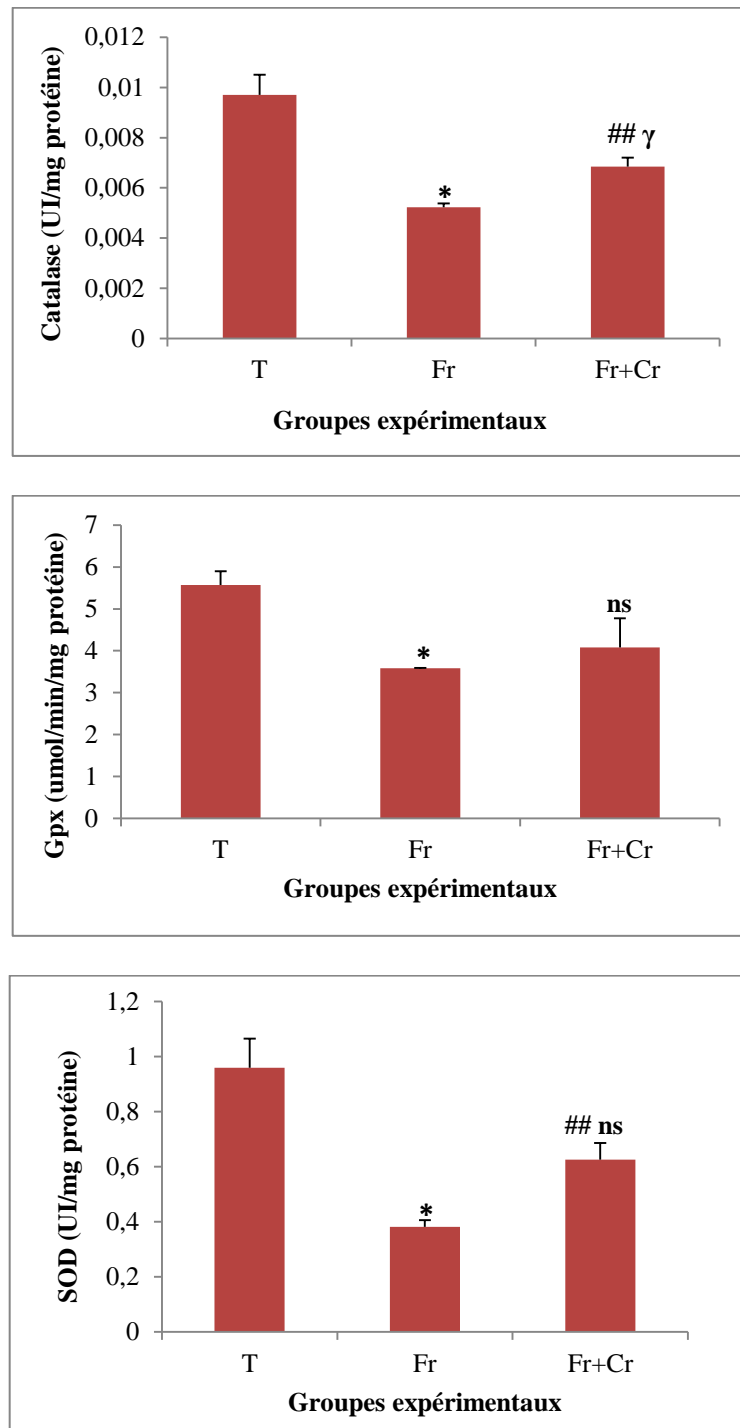


Figure 19 : Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) pancréatique chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr : * $p < 0.05$, comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : ## $p < 0.01$, ns $p > 0.05$; comparaison entre groupes T et Fr+ Cr: γ $p < 0.05$, ns $p > 0.05$.

4.3.Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif rénal

4.3.1. Lamalondialdéhyde (MDA) et la glutathion réduite GSH

La figure (20) illustre l'effet du picolinate de chrome sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) et de GSH au niveau du rein.

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du MDA rénal chez le groupe Fr (1.805 ± 0.0405 nmol) par rapport au groupe T (0.5345 ± 0.0415 nmol). Alors que, l'administration journalière du picolinate de chrome diminue le taux du MDA rénal Fr+Cr (1.48 ± 0.0108 nmol) de manière hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au groupe Fr. Et augmente la peroxydation lipidique de façon très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport au groupe T.

Ainsi, nous avons remarqué une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du taux du GSH rénal chez le groupe Fr (0.749 ± 0.023 mM/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (0.949 ± 0.021 mM/mg protéine). La supplémentation en picolinate de chrome provoque une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de GSH Fr+Cr (0.833 ± 0.013 mM/mg protéine) par rapport au groupe (Fr) et une diminution significative ($p < 0.05$) du GSH par rapport au groupe T.

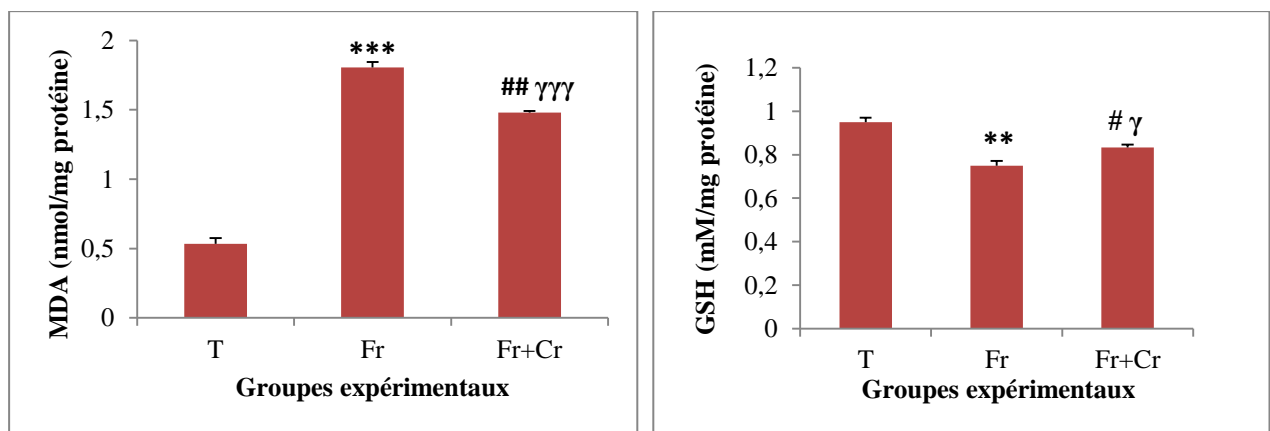


Figure 20 : Effet du picolinate de chrome sur le taux du MDA et du GSH rénaux chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr : ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$, comparaison entre groupes Fr+Cr et Fr : # $p < 0.05$ et ## $p < 0.01$; comparaison entre groupes Fr+ Cr et T : γ $p < 0.05$, $\gamma\gamma\gamma$ $p > 0.001$.

4.3.2. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)

La figure (21) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) au niveau du rein.

Nous avons enregistré une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de la catalase CAT rénale chez le groupe Fr (0.02036 ± 0.002 UI/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (0.05866 ± 0.0159 UI/mg protéine), la supplémentation en picolinate de chrome augmente significativement ($p < 0.05$) l'activité de la CAT rénale Fr+Cr (0.02994 ± 0.0047 UI/mg protéine) par rapport au groupe Fr.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase rénale chez le groupe Fr (4.84625 ± 0.218 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe témoin T (7.52625 ± 0.579 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine). Tandis que l'administration du picolinate de chrome a causé une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase rénale Fr+Cr (5.97625 ± 0.124 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe Fr et une diminution non significative ($p > 0.05$) en comparaison avec le groupe T.

Une diminution non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase dans le rein chez le groupe Fr (0.41 ± 0.06 UI/mg protéine) par rapport au groupe (T) (0.506667 ± 0.055076 UI/mg protéine) a été enregistré, ainsi qu'une augmentation non significative ($p > 0.05$) chez le groupe Fr+Cr (0.463333 ± 0.050332 UI/mg protéine) par rapport au groupe Fr et une diminution non significative en comparaison avec le groupe T.

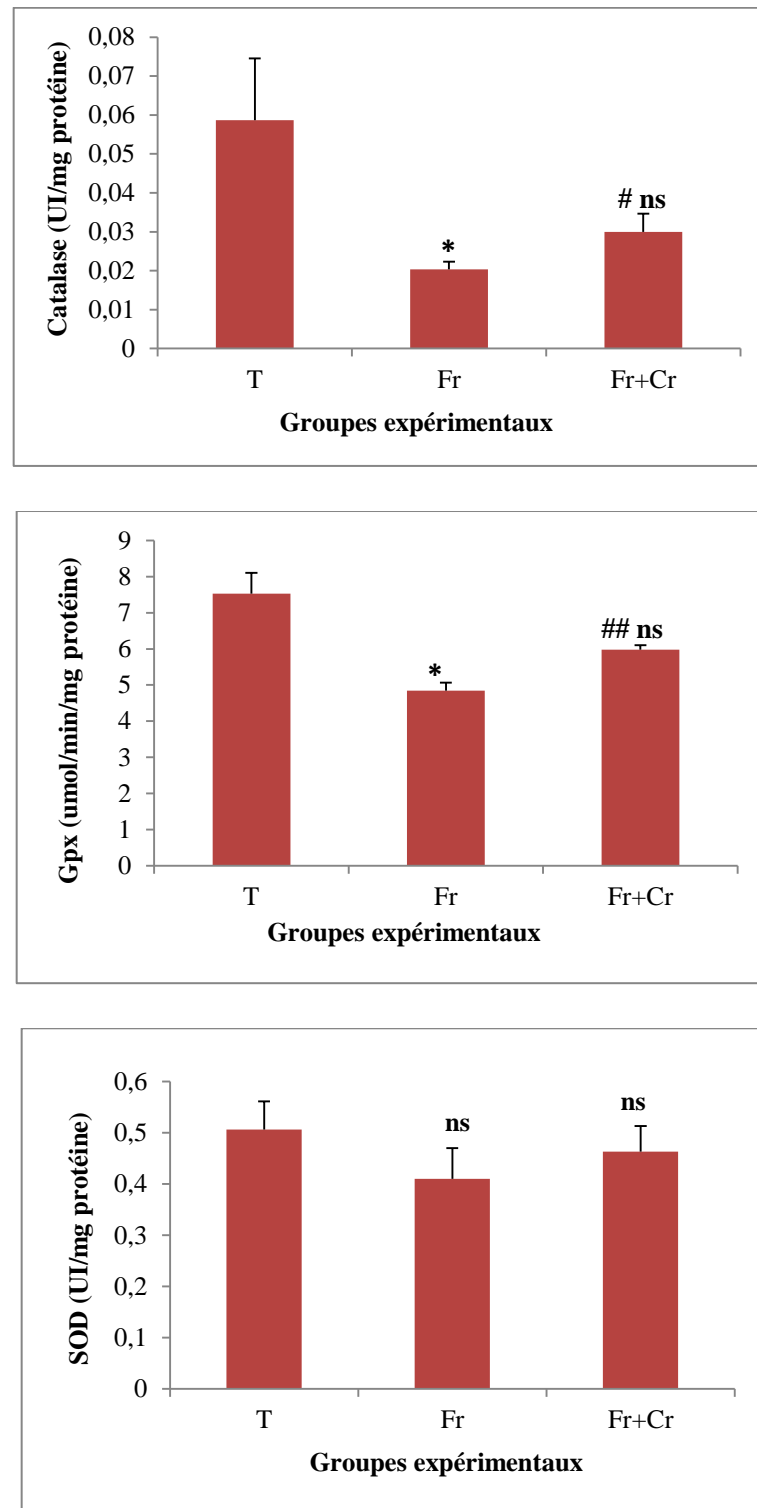


Figure 21 : Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) rénale chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr : * $p < 0.05$, ns $p > 0.05$; comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : ## $p < 0.01$, # $p < 0.05$ et ns $p > 0.05$; comparaison entre groupes T et Fr+ Cr: ns $p > 0.05$.

4.4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatifcardiaque

4.4.1. La malondialdéhyde (MDA) et la glutathion réduiteGSH

La figure (22) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) et de GSH au niveau du cœur.

Après quatre semaines d'expérimentation, nous avons remarqué une augmentation significative ($p < 0.05$) de la MDA cardiaque chez le groupe Fr (1.04 ± 0.102 nmol) par rapport au groupe T (0.48125 ± 0.0299 nmol) et une diminution significative ($p < 0.05$) de cette dernière chez le groupe supplémenté en picolinate de chrome (0.3925 ± 0.0085 nmol) par rapport au groupe sous un régime riche en fructose et non significative ($p > 0.05$) par rapport au groupe T.

D'autres part, nous avons remarqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux du GSH cardiaque chez le groupe Fr (1.04 ± 0.05 mM/mg protéine) par rapport au groupe témoin T (1.295 ± 0.045 mM/mg protéine). La supplémentation en picolinate de chrome augmente les taux du GSH d'une manière hautement significative ($p < 0.01$) de groupe Fr+Cr (1.28 ± 0.09 mM/mg protéine) par rapport au groupe Fr.

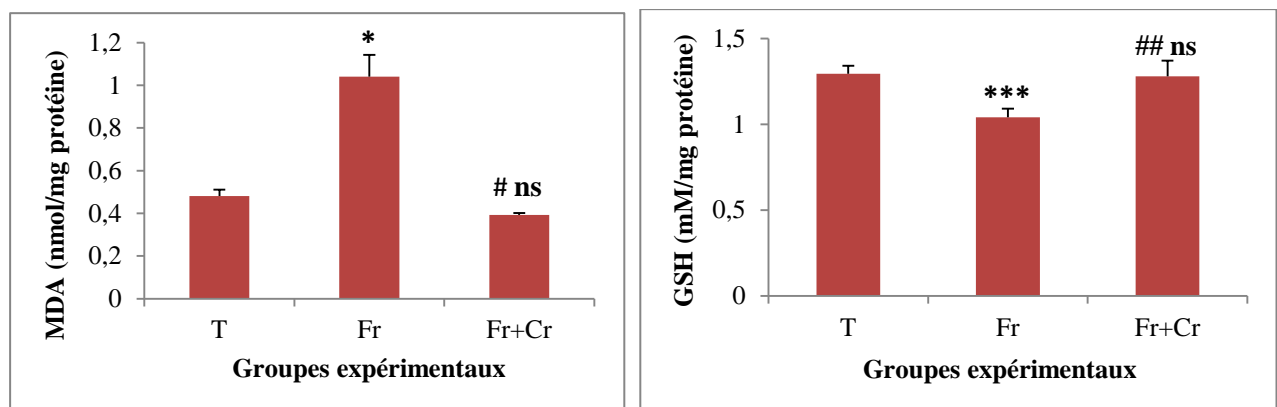


Figure 22 : Effet du picolinate de chrome sur le taux du MDA et du GSH cardiaque chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr : *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$; comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : # $p < 0.05$ et ## $p < 0.01$; comparaison entre groupes T et Fr+Cr : ns $p > 0.05$.

4.4.2. L'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD)

La figure (23) représente l'effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) au niveau du cœur.

Nous avons enregistré une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de la catalase cardiaque chez le groupe Fr (0.01145 ± 0.00055 UI/mg protéine) et significative ($p < 0.05$) chez le groupe Fr+Cr par rapport au T (0.027167 ± 0.00085 UI/mg protéine). La supplémentation en picolinate de chrome augmente significativement ($p < 0.05$) l'activité de la CAT cardiaque chez le groupe Fr+Cr (0.0178 ± 0.0032 UI/mg protéine) par rapport au groupe Fr.

D'autres part, nous avons constaté une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase cardiaque chez le groupe Fr (0.48175 ± 0.021422 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe témoin T (1.09675 ± 0.081049 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine), la supplémentation en picolinate de chrome provoque une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase cardiaque chez le groupe Fr+Cr (0.721258 ± 0.076852 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) par rapport au groupe Fr et une diminution significative ($p < 0.05$) en comparaison avec le groupe T.

Les résultats montrent une diminution non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase dans le cœur du groupe Fr et Fr+Cr (0.5675 ± 0.153704 UI/mg protéine) ; Fr+Cr (0.6 ± 0.068313 UI/mg protéine) par rapport au groupe (T) (0.615 ± 0.123962 UI/mg protéine). L'administration journalière du picolinate de chrome cause une augmentation non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la SOD dans le cœur chez le groupe Fr+Cr par rapport au groupe Fr.

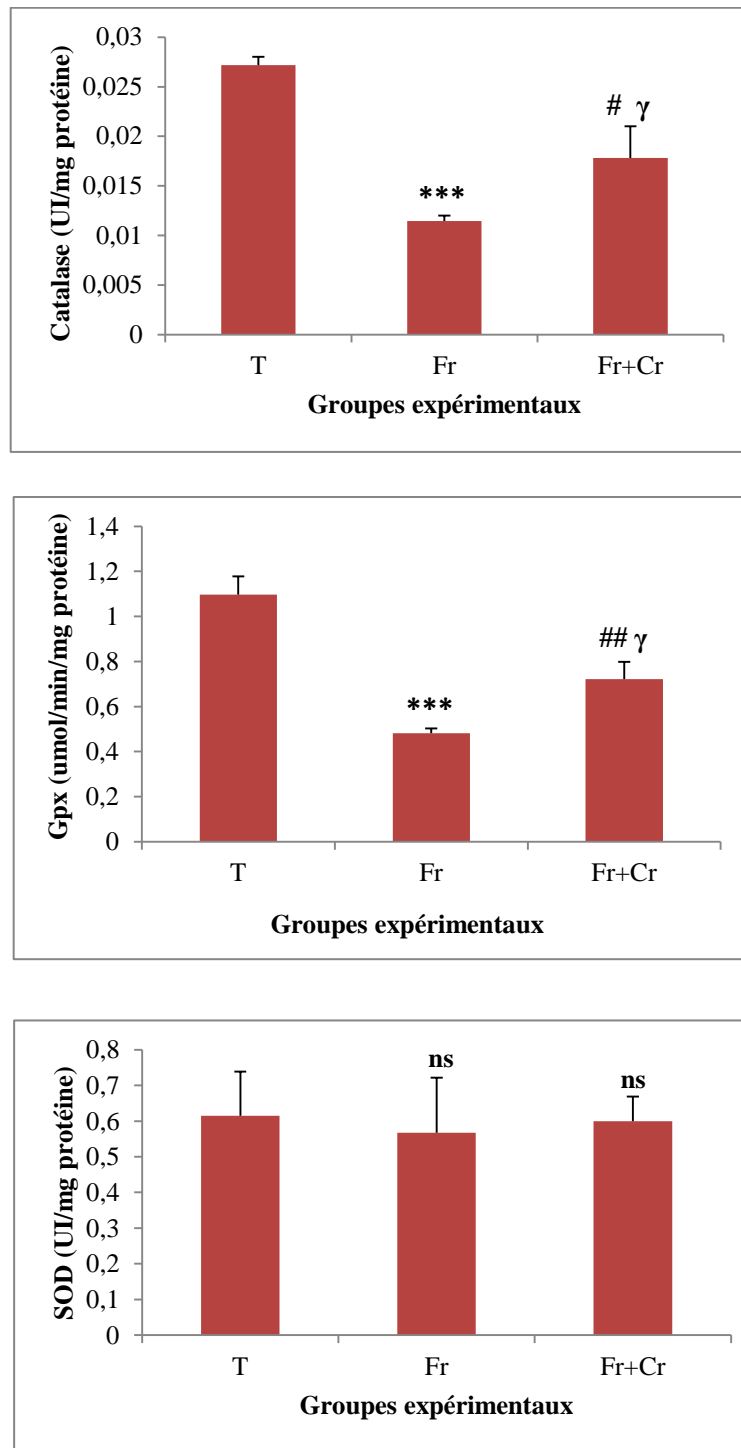


Figure 23 : Effet du picolinate de chrome sur le taux des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et SOD) cardiaque chez les groupes T, Fr et Fr+Cr.

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison entre le groupe T et Fr : *** $p < 0.001$, ns $p > 0.05$; comparaison entre groupes Fr et Fr+Cr : ## $p < 0.01$, # $p < 0.05$ et ns $p > 0.05$; comparaison entre groupes T et Fr+ Cr : γ $p < 0.05$, ns $p > 0.05$.

5. Effet du traitement sur l'histologie des organes glucorégulateurs

5.1. Sur l'architecture hépatique

L'analyse histologique du tissu hépatique montre que chez le groupe témoin (Figure 24-A) le foie est de structure normale contenant des veines Centro-lobulaire, des hépatocytes de forme habituelle, ainsi que des sinusoides et quelques cellules Kupffer éparpillés dans le tissu.

Des changements histologiques caractérisés par une dilatation et une congestion des veines Centro-lobulaires (dVC et cVC) et des sinusoides (SD) ont été observés chez le groupe (Fr) (Figure 24-B) par rapport au groupe témoin (Figure 24-A).

Par ailleurs, nous avons remarqué une hyperplasie des cellules Kupffer au niveau de l'histoarchitecture du foie des rats traités par le picolinate du chrome (Figure 24-C) associé à une légère amélioration de la congestion de la veine centro-lobulaire et de la dilatation du sinusoides par rapport au groupe (Fr).

5.2. Sur l'architecture pancréatique

L'histologie du tissu pancréatique montre que chez le groupe témoin (Figure 25-A), les îlots de Langerhans sont de taille habituelle ainsi qu'un aspect normal des acini.

La consommation d'un régime riche en fructose pendant 4 semaines du traitement (Figure 25-B) a entraîné un rétrécissement des îlots de Langerhans par rapport au groupe (T).

Une architecture histologique normale des îlots de Langerhans a été observée chez le groupe traités par le picolinate du chrome (Figure 25-C) par rapport groupe (Fr).

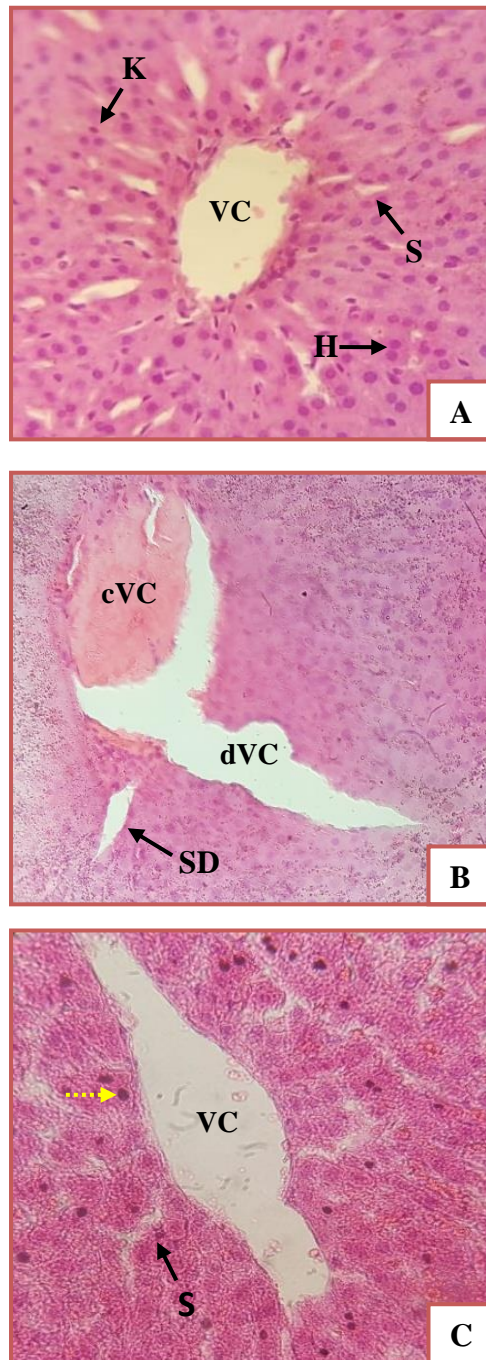


Figure 24 : Observation microscopique d'une coupe histologique du foie. (A) : d'un rat témoin ; (B) : d'un rat ayant reçu du fructose durant **4 semaines** ; (C) : d'un rat traité au picolinate du chrome durant **4 semaines**. Coloration H & E, (Gr x40).

(VC) : Veine centro-lobulaire ; (H) : Hépatocyte ; (K) : Cellule de Kupffer ; (S) : Sinusoïde ;
 (cVC) : Congestion de la veine centro-lobulaire ; (dVC) : Dilatation de la veine centro-lobulaire ;
 (SD) : Sinusoïde Dilaté.

[.....▶] Hyperplasie des cellules de Kupffer.

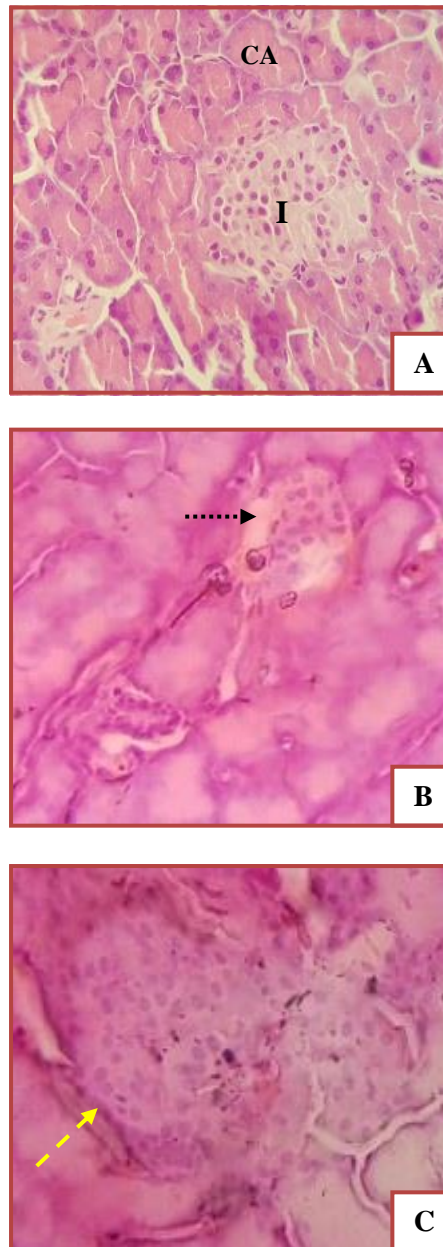


Figure 25 : Observation microscopique d'une coupe histologique du pancréas. (A) : d'un rat témoin ; (B) : d'un rat ayant reçu du fructose durant **4 semaines** ; (C) : d'un rat traité au picolinate du chrome durant **4 semaines**. Coloration H & E, (Gr x40).

(CA) : cellule acineuse ; (I) : îlots de Langerhans.

.....► Ilôt de taille réduite.

- - - ► Ilôt de taille normale.

5.3. Sur l'architecture rénale

L'analyse des coupes histologiques du tissu rénale montre que chez le groupe témoin (Figure 26A₁ et A₂) le rein a une architecture cellulaire normale marquée par la présence des glomérules entourés par la capsule de Bowman ainsi qu'un aspect normal des tubules rénaux proximaux et distaux.

Nous avons notés chez les rats traités au fructose des changements histologiques marqués par destruction glomérulaire (Figure 26-B₁) et une dilatation des tubules rénaux proximaux (Figure 26-B₂) par rapport aux rats témoins.

Une légère amélioration des lésions a été notée chez les rats traités par le picolinate du chrome présentée par un glomérule entouré par la capsule de Bowman (Figure 26-C₁), un aspect normal du tubule contourné proximal (Figure 26-C₂) par rapport aux rats recevant du fructose.

5.4. Sur l'architecture cardiaque

L'analyse histopathologique du tissu cardiaque montre que chez le lot témoin le cœur est de structure normale caractérisée par une bonne organisation des myofibres et des noyaux des cardiomyocytes (Figure 27-A₁), un réseau de Purkinje bien organisé (Figure 27-A₂), un aspect normal du tissu conjonctif (Figure 27-A₃), ainsi que des ramifications (Figure 27-A₄).

Des modifications histologiques du tissu cardiaque ont indiqué la lésion du myocarde. Des déformations des noyaux de cardiomyocytes, des désordres ou des myofibres cardiaques désordonnées (Figure 27-B₁), une désorganisation du réseau de Purkinje (Figure 27-B₂), des dilatations du tissu conjonctif (Figure 27-B₃) ainsi que la survenue d'un léger œdème (Figure 27-B₄) ont été observées chez les rats du lot expérimental traité au fructose par rapport au lot témoin.

Une amélioration des lésions a été marquée chez le lot traité par le picolinate du chrome. Des changements histologiques ont été mis en évidence, caractérisé par une architecture structurale améliorée présentée par une réorganisation des myofibres et des noyaux des cardiomyocytes (Figure 27-C₁), une réorganisation du réseau de Purkinje (Figure 27-C₂) ainsi qu'un rétrécissement du tissu conjonctif (Figure 27-C₃) par rapport au lot expérimental ayant reçu du fructose.

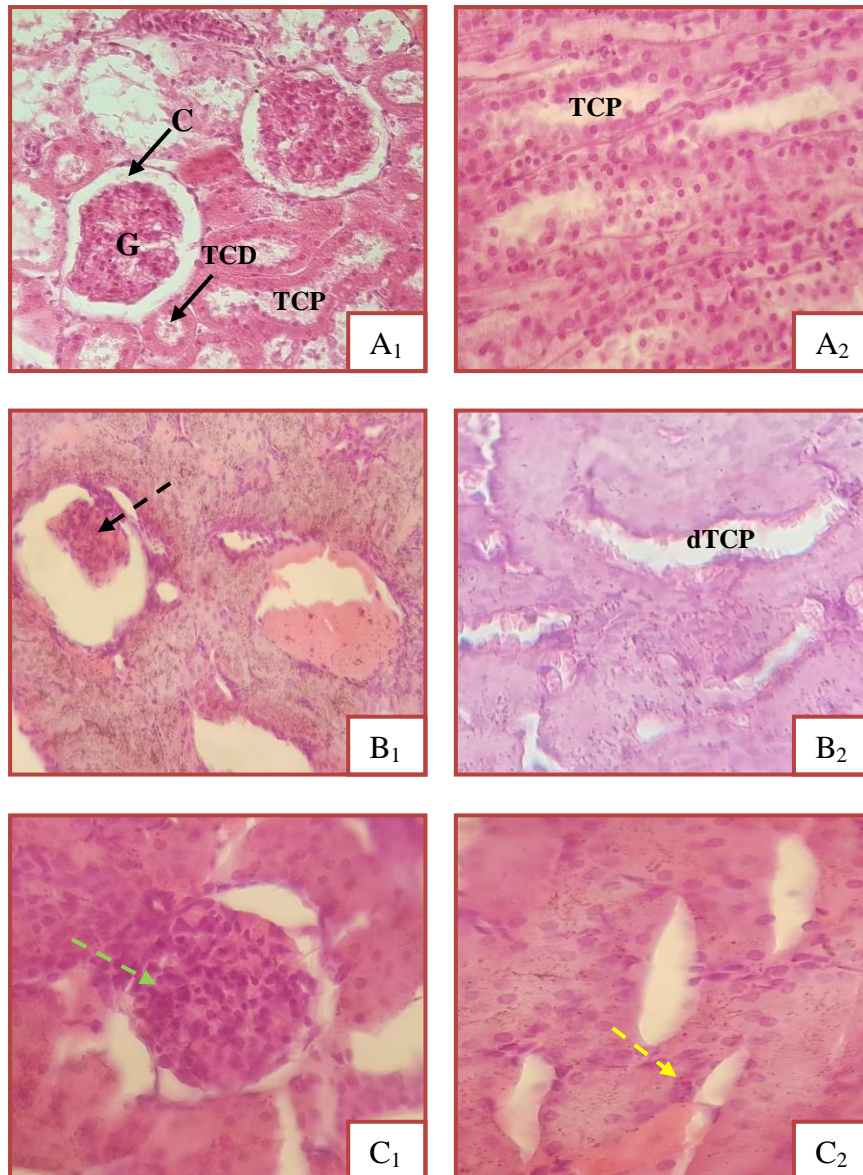


Figure 26 : Observation microscopique d'une coupe histologique du rein. (**A₁-A₂**) : d'un rat témoin ; (**B₁-B₂**) : d'un rat ayant reçu du fructose durant **4 semaines** ; (**C₁-C₂**) : d'un rat traité au picolinate du chrome durant **4 semaines**. Coloration H & E, (Gr x40).

(**G**) : Glomérule ; (**C**) : Capsule de Bowman ; (**TCP**) : Tubule Contourné Proximal ; (**TCD**) : Tubule Contourné Distal ; (**dTCP**) : Dilatation du Tubule Proximal; (**dC**) : Dilatation de la capsule de Bowman.

- → Destruction glomérulaire.
- → Aspect glomérulaire et capsulaire normal.
- → Glomérule non congestionné.
- → Tubule contourné proximal non dilaté.

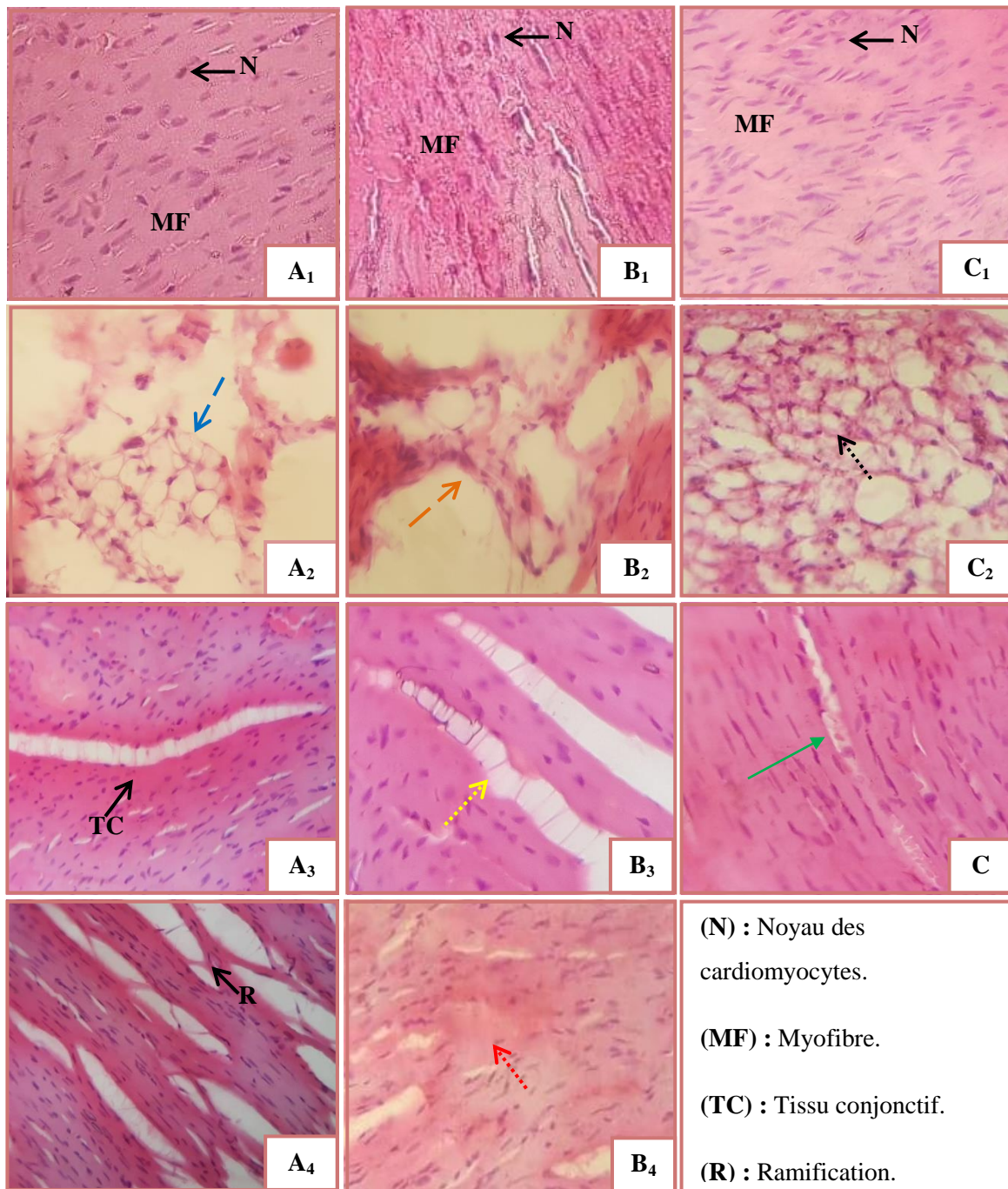


Figure 27 : Observation microscopique d'une coupe histologique du cœur. (**A₁-A₄**) : d'un rat témoin ; (**B₁-B₄**) : d'un rat ayant reçu du fructose durant **4 semaines** ; (**C₁-C₃**) : d'un rat traité au picolinate du chrome durant **4 semaines**. Coloration H & E, (Gr x40).

- > Réseau de purkinje.
 -> Tissu conjonctif dilaté.
 -> Œdème.
- > Réseau de purkinje altéré.
 -> Réseau de purkinje non altéré.
 - - -> Tissu conjonctif non dilaté.

5.5. Sur l'architecture intestinale

L'architecture histologique de l'intestin montre que chez le lot témoin (Figure 28-A) les villosités intestinales ont une structure normale.

Chez le lot traité par le fructose (Figure 28-B), une destruction des villosités intestinales a été remarquée par rapport au lot témoin.

Une morphologie normale des villosités a été mise en évidence chez les rats traités par le picolinate du chrome (Figure 28-C) par rapport au groupe (Fr).

5.6. Sur l'architecture cérébrale

La structure histologique du cortex cérébral révèle chez les rats témoins (Figure 29-A) une architecture normale caractérisée par des cellules pyramidales de forme ovoïde disposée de manière ordonnée, des cellules granulaires d'un aspect normal ainsi que des lymphocytes éparpillés dans le cortex.

Des altérations histologiques ont été provoquées par le fructose. Une dégénérescence des neurones pyramidaux et une perturbation de l'arrangement des différentes cellules lymphocytaires et granulaires ont été observées (Figure 29-B₁). En outre, l'architecture du cortex cérébral révèle une hémorragie cérébrale multifocale (Figure 29-B₂ et B₄), une congestion vasculaire (Figure 29-B₃) et une inflammation (Figure 29-B₅) par rapport aux rats témoins.

La réorganisation du cortex cérébral a été marquée chez les rats traités par le picolinate du chrome présentée par une régénérescence des neurones et une bonne disposition des cellules lymphocytaires et granulaires (Figure 29-C₁) ainsi que la disparition de l'inflammation et l'hémorragie (Figure 29-C₂) associé à une amélioration de la congestion (Figure 29-C₃) par rapport aux rats sous un régime riche en fructose.

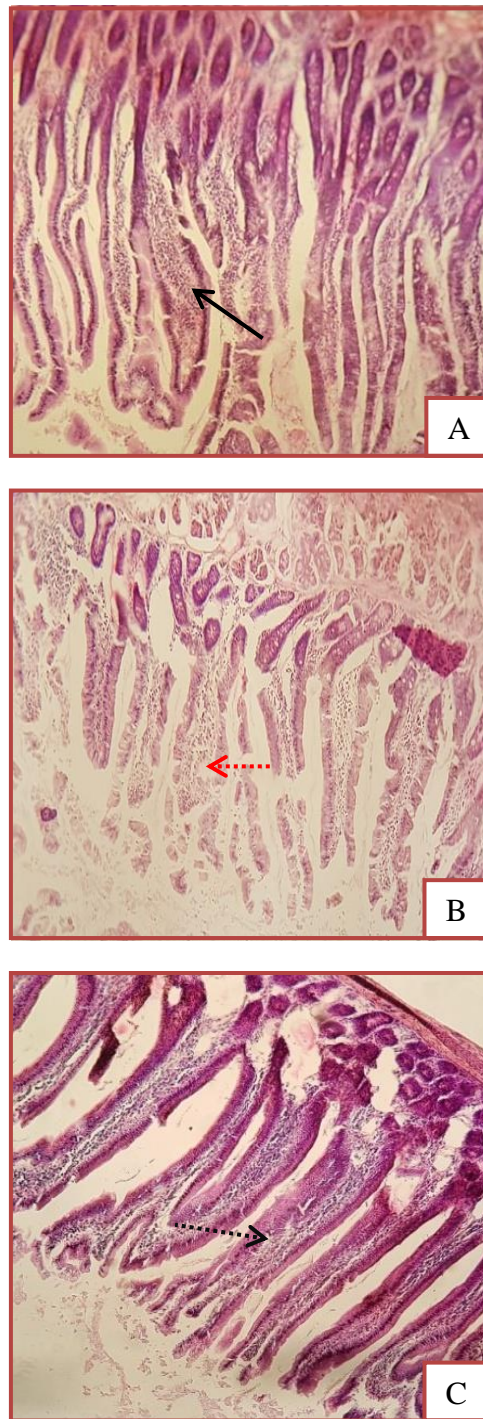


Figure 28 : Observation microscopique d'une coupe histologique de l'intestin. (A) : d'un rat témoin ; (B) : d'un rat ayant reçu du fructose durant **4 semaines** ; (C) : d'un rat traité au picolinate du chrome durant **4 semaines**. Coloration H & E, (Gr x10).

- Villosité intestinale normale.
-→ Destruction des villosités intestinales.
-→ Aspect normal des villosités intestinales.

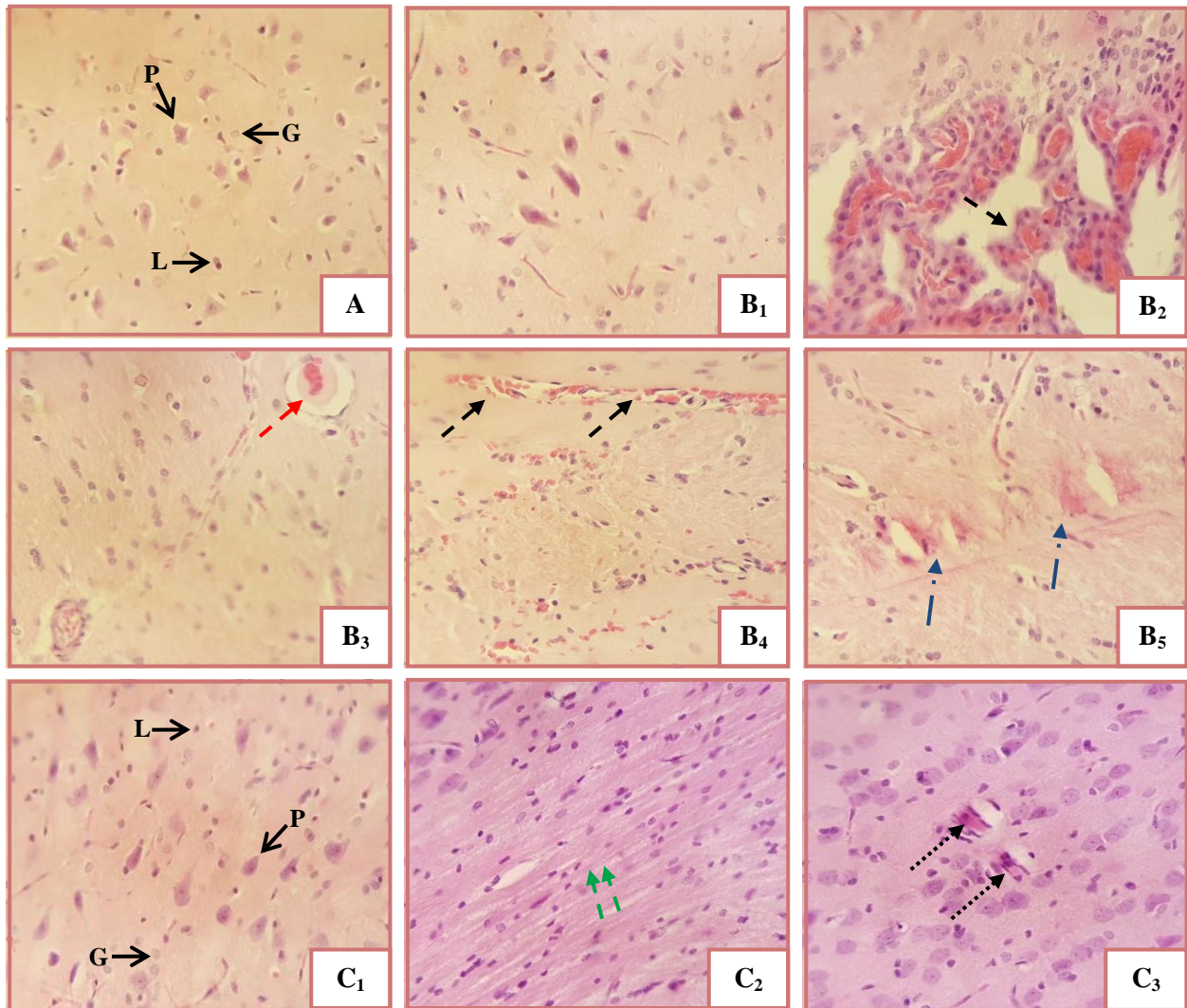


Figure 29 : Observation microscopique d'une coupe histologique du cortex cérébral. (A) : d'un rat témoin ; (B₁-B₅) : d'un rat ayant reçu du fructose durant **4 semaines** ; (C₁-C₃) : d'un rat traité au picolinate du chrome durant **4 semaines**. Coloration H & E, (Gr x40).

(P) : cellule pyramidale ; (G) : cellule granulaire ; (L) : Lymphocyte.

- ▶ Inflammation cérébral.
- - ▶ Congestion vasculaire.
-▶ Légère congestion vasculaire.
- - ▶ Absence de lésion cérébrale.
- - ▶ Hémorragie cérébral.

Discussion

La prévalence de la résistance à l'insuline et des maladies associées a considérablement augmenté dans le monde. La vue générale de l'action de l'insuline place cette hormone au point de multiples adaptations d'organes aux nutriments ingérés, en particulier les glucides alimentaires. Il a été établi que l'insulinorésistance, l'altération de la tolérance au glucose et l'hyperinsulinémie sont associées à la consommation de fructose chez des modèles animaux. Les rats ayant reçu de l'eau potable riche en fructose pendant quatre semaines pourraient constituer un modèle fiable pour l'étude de la résistance à l'insuline (Hsu *et al.*, 2007).

Le chrome trivalent (III) est un minéral essentiel qui semble jouer un rôle bénéfique dans la régulation de l'action de l'insuline, il a été prouvé qu'une supplémentation en chrome picolinate, une forme de chrome stable et hautement biodisponible, réduisait la résistance à l'insuline. Il est de plus en plus évident que le chrome pourrait faciliter la signalisation de l'insuline et que la supplémentation en chrome pourrait donc améliorer la sensibilité systémique à l'insuline (Hummel *et al.*, 2007).

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants / antioxydants » qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec altérations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes (Sergent *et al.*, 2001).

L'objectif de notre travail vise à évaluer l'effet protecteur de picolinate du chrome sur les altérations induite par l'insulinorésistance provoquée par un régime riche en fructose au niveau des organes glucorégulateurs.

D'après les résultats obtenus au bout de la période d'expérimentation, nous avons enregistré une augmentation du gain de poids chez le groupe Fr par rapport au groupe T. Plusieurs études ont montré que le fructose n'affectait pas le gain de poids (Huang *et al.*, 2004 ; Tillman *et al.*, 2014), tandis que d'autres étaient d'accord avec notre conclusion d'augmentation de poids due au fructose (Bocarsly *et al.*, 2010 ; Michaelis *et al.*, 1984)

Tillman *et al.*, (2014) ont proposé que les différences de réponse pondérale au fructose puissent être attribuées à la manière dont le fructose était fourni aux animaux ou à la possibilité que les rats Wistar, la souche utilisée dans cette étude, présentent une réponse phénotypique différente à l'ingestion de fructose en ce qui concerne la masse corporelle. Cette augmentation du poids est peut-être causée par une lipogenèse de novo qui due à une transformation rapide du fructose en graisse en cas d'un apport trop important suite à leur absorption dans les intestins et leur métabolisme au niveau du foie (Berneis et Keller, 2006). En outre, il semble que le picolinate du

chrome a un effet protecteur contre le gain du poids marqué par une diminution de ce dernier dans nos résultats.

La résistance à l'insuline se définit comme la détérioration de la réponse des tissus-cibles de l'insuline à son action (Barquissau et Morio, 2011). Nos résultats indiquent que la consommation du fructose favorise, à court terme, l'apparition d'une insulino-résistance caractérisée par une augmentation de l'insulinémie à jeun, de l'indice HOMA, une détérioration de la tolérance orale au glucose et une glycémie à jeun normale. Ce régime constitue un modèle physiopathologique intéressant d'insulino-résistance. En effet, cette insulino-résistance pourrait résulter soit d'un déficit de la liaison de l'insuline à son récepteur par diminution du nombre et de l'affinité, soit d'un déficit en transporteurs de glucose ou en enzymes impliqués dans le métabolisme du glucose (Kim *et al.*, 2000 ; Kannappan et Anuradha, 2010 ; El-Mesallamy *et al.*, 2010). La glycémie est maintenue dans un premier temps, probablement grâce à l'augmentation de l'insulinémie, l'hyperglycémie ne s'installe qu'après 15 semaines de régime et semble être la conséquence d'une détérioration de la sécrétion d'insuline (Chicco *et al.*, 2003). Il nous paraît intéressant de noter que l'administration du picolinate de chrome entraîne une diminution de l'insulinémie à jeun, une meilleure sensibilité à l'insuline avec un indice HOMA plus faible et une amélioration de la tolérance au glucose. Ces résultats sont en accord avec une étude similaire (Madani *et al.*, 2012).

L'insuline joue un rôle direct dans le contrôle du métabolisme du glycogène hépatique par la régulation de la glycogénogénèse, laquelle contrôle ce processus en régulant la conversion d'une forme dépendante du glucose-6-phosphate en une forme de glycogène synthase indépendante du glucose-6-phosphate (Tan et Nuttall, 1976 ; Khandelwal *et al.*, 1977). Les niveaux de glycogène dans divers tissus, reflètent directement l'activité de l'insuline.

En effet, l'insuline favorise le dépôt intracellulaire de glycogène en stimulant la glycogène synthase et en inhibant la glycogène phosphorylase. Nos résultats concernant la diminution de la teneur en glycogène chez les rats sous régime riche en fructose est due à un défaut de stockage provoqué par l'insulino-résistance. Ces résultats sont compatibles avec ceux de Nandhini *et al.*, (2005) qui ont démontré une altération de l'activité des enzymes hépatiques de régulation tel que, la glucokinase, glucose-6-phosphate (G-6-P), glycogène synthase chez les rats recevant un régime enrichi en fructose induisant une insulino-résistance hépatique. Une augmentation significative de la teneur hépatique et cardiaque en glycogène chez les animaux prétraités par le picolinate de chrome peut être expliquée par l'élévation de la tolérance des tissus au glucose.

Les systèmes de piégeage des radicaux cellulaires incluent un système enzymatique tel que la superoxyde dismutase (SOD), qui piège les ions superoxyde en catalysant sa dismutation, la catalase (CAT), une enzyme hémique qui élimine le peroxyde d'hydrogène et non enzymatiques tel que le GSH qui est un puissant piègeur de ROS. La réduction de l'activité des enzymes (SOD, CAT et GPx) et du GSH entraîne un certain nombre d'effets délétères dus à l'accumulation des ROS ce qui conduit à l'augmentation du taux de la MDA témoignage de la peroxydation lipidique.

Il existe maintenant de nombreuses preuves que la consommation d'aliments riches en fructose contribue à la formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les capacités anti-oxydatives s'altèrent, la production de ROS s'élève et le déséquilibre s'installe. Cela conduit à l'induction du stress oxydatif et à une résistance à l'insuline (Houstis *et al.*, 2006).

Nous avons donc étudié le potentiel antioxydant. La diminution des taux du GSH hépatique, de l'activité des enzymes anti-oxydantes et l'augmentation des intermédiaires de la peroxydation lipidique dans le groupe Fr indiquent clairement le développement d'un stress oxydant chez ces animaux. L'augmentation des niveaux du malondialdéhyde est un signe évident de détérioration des lipides par la peroxydation. L'augmentation du catabolisme du fructose pourrait être associée à l'épuisement de l'énergie cellulaire qui peut augmenter la susceptibilité des cellules à la peroxydation des lipides (Rajasekar *et al.*, 2005). De plus, il a été postulé que le fructose peut accélérer la production de radicaux libres de manière similaire au glucose. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) peuvent elles-mêmes réduire l'activité d'enzymes antioxydantes telles que CAT et GPx (Datta *et al.*, 2000). La diminution de l'activité de la SOD chez les rats nourris au fructose peut être due à une glycation protéique accrue du fructose, car il s'agit d'un sucre réducteur plus réactif que d'autres (glucose et lactose) (McPherson *et al.*, 1988 ; Oda *et al.*, 1994). La diminution des taux du GSH dans le groupe Fr pourrait être due à une utilisation accrue de ce dernier pour piéger les radicaux libres et / ou à une diminution de la régénération, comme en témoigne l'activité réduite de l'enzyme glutathion réductase.

De plus, une augmentation de l'accumulation de ROS cellulaires déclenche directement l'activation de cascades de sérine / thréonine kinase qui, à leur tour, phosphorylent de multiples cibles, dont le récepteur de l'insuline, l'insuline et les protéines du substrat récepteur (IRS) (Evans *et al.*, 2005). L'augmentation de la phosphorylation de la sérine de l'IRS diminue directement sa capacité à subir la phosphorylation de la tyrosine et accélère la dégradation de l'IRS-1, ce qui entraîne une diminution de l'absorption du glucose dans le foie (Evans *et al.*, 2005).

Ainsi que la fructolyse rapide dans le foie, une teneur élevée en fructose provoque un épuisement de l'ATP qui déclenche une réponse inflammatoire et un stress oxydatif, perturbant ainsi les fonctions des tissus et des organes locaux. Par la suite, des cytokines inflammatoires, de l'adiponectine, de la leptine et des endotoxines sont produites et deviennent des facteurs dangereux indirects. Le fructose et ses métabolites provoquent directement et / ou indirectement une résistance à l'insuline (Zhang *et al.*, 2017). Ces effets néfastes du stress oxydatif ont été également confirmés par l'étude histopathologique du foie. Par ailleurs, le traitement avec le picolinate de chrome a amélioré le statut redox ainsi que l'architecture hépatique. Il a été démontré que le chrome exerce une action protectrice par le biais de plusieurs mécanismes, notamment ; l'augmentation du trafic de GLUT4 au niveau de la membrane plasmique et l'amélioration de la liaison à l'insuline, du nombre de récepteurs à l'insuline (Anderson, 2000 ; Kesavulu *et al.*, 2001).

Le pancréas est le seul organe à pouvoir réguler la glycémie par la sécrétion de l'insuline, les îlots pancréatiques sont identifiés comme des acteurs de cette régulation, car des anomalies à leur niveau sont associées à des troubles de la glycémie et d'insulinémie. En réponse à la résistance à l'insuline, les cellules pancréatiques sécrétant l'insuline ont tendance à en produire d'avantage (hyperinsulinémie) et peuvent finir par s'épuiser.

La consommation du fructose a modifié la sécrétion régulière de l'insuline qui s'est traduit par une hyperinsulinémie conduisant à un stress oxydatif provoqué dans divers tissus, notamment les cellules β pancréatiques en raison d'une faible expression pancréatique d'enzymes antioxydantes telles que la catalase et la glutathion peroxydase. En effet, les îlots pancréatiques sont considérées comme cible des lésions tissulaires induites par le stress oxydant, ceci est confirmé par une analyse histologique qui a montré un rétrécissement et une réduction de la taille des îlots (Kaneto *et al.*, 2006).

Par contre le picolinate de chrome a amélioré le statut oxydant/antioxydant et a diminué le taux de l'insuline sérique comme nos résultats le montre. Des études ont révélé que le chrome améliore la liaison à l'insuline, du nombre de récepteurs à l'insuline et de la sensibilité des cellules bêta (Anderson, 2000 ; Kesavulu *et al.*, 2001).

L'absorption extrahépatique et le métabolisme du fructose ont également lieu, car GLUT5 est également largement exprimé avec une grande spécificité dans les reins.

Notre étude a démontré que l'augmentation des niveaux de MDA et une diminution du statut antioxydant avec une alimentation en fructose peut être attribuée à une augmentation de la lipoxydation (Chen *et al.*, 2013). Les dommages du stress oxydatif sont les principales causes des

lésions des tissus rénaux. La peroxydation lipidique est considérée comme l'un des mécanismes de base des lésions tissulaires causées par les ROS (Kumar *et al.*, 2016).

D'autre part, les ROS stimulent l'inflammation qui joue un rôle important dans le développement de nombreuses maladies rénales. Hu *et al.*, (2012) ont montré que deux facteurs importants impliqués dans le processus inflammatoire, le TNF- α et l'IL-6, étaient régulés positivement dans les reins de rats sous un régime riche en fructose. L'histopathologie du rein dans nos résultats a montré des lésions glomérulaires, tubulaire chez des rats maintenues dans ce régime similaire à celles mentionnés précédemment par yang *et al.*, (2014).

Il semble que l'effet bénéfique du chrome pourrait être attribué à plusieurs de ses formes organiques car elles sont plus biodisponibles et moins toxiques (Sundaram *et al.*, 2013). En effet, la supplémentation du picolinate de chrome améliore le profil antioxydant par une augmentation significative de la GSH, CAT, GPx et le profil pro-oxydant par diminution de la concentration du MDA ainsi qu'une amélioration de l'aspect glomérulaire et tubulaire rénale.

La surproduction d'espèces réactives de l'oxygène semble être le premier et principal événement de l'activation des voies de signalisation conduisant à des troubles cardiaques tel que l'hypertrophie cardiaque (Lamb *et al.*, 2008 ; Liu *et al.*, 2010). Parmi les autres effets de l'augmentation de la production des ROS sur le système cardiovasculaire, citons la modification du flux des canaux ioniques ainsi que la pompe ionique membranaire qui fonctionnent biologiquement de manière significative dans le muscle cardiaque (Kourie, 1998). Les ROS ciblent des canaux calciques du sarcolemme et suppriment le courant de Ca^{2+} (Guerra *et al.*, 1996) en augmentant la concentration en Ca^{2+} cytosolique les réserves de Ca^{2+} intracellulaires et / ou par l'influx de Ca^{2+} extracellulaire (Tabet *et al.*, 2004 ; Yang *et al.*, 1999) conduisant à des altérations cardiaques. En effet les résultats de notre étude révèlent une attaque radicalaire au niveau du cœur qui se manifeste par une peroxydation lipidique significative, une altération du système antioxydant (diminution significative de la GSH, CAT et GPx) et des manifestations histopathologiques. Alors que la supplémentation au picolinate de chrome a amélioré le profil antioxydant et parallèlement l'architecture du tissu cardiaque.

Une destruction des villosités intestinales chez les rats sous un régime riche en fructose a été observée dans nos résultats histologiques. Effectivement, des études sur des modèles animaux ont attribué la résistance à l'insuline intestinale aux désordres caractérisé par une augmentation de la lipogenèse de novo intestinale, une élévation de la synthèse de novo du cholestérol, une modification des niveaux d'absorption des lipides par les entérocytes, une hausse de l'assemblage et

de la sécrétion des chylomicrons et une altération de la voie signalétique de l'insuline. Cela s'explique par la survenue d'une inflammation intestinale caractérisée par une infiltration de la muqueuse par des cellules immunitaires (lymphocytes intra-épithéliaux, macrophages, etc.) et par la production de cytokines, pro- ou anti-inflammatoires, par de nombreux types cellulaires y compris les entérocytes. La destruction des villosités s'explique donc par l'augmentation de la perméabilité intestinale conduisant à une réponse exacerbée de l'immunité locale et de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IFN- γ , etc.) qui altèrent les jonctions serrées, augmentant ainsi la translocation de macromolécules à l'origine d'un cercle vicieux (Beckers et Bazin, 1978). D'autres auteurs ont étudié les effets de l'insuline sur l'absorption du glucose à l'aide de jéjunum de rats. Leurs résultats suggèrent que l'insuline augmente l'entrée du glucose du côté apical des cellules mais certaines évidences suggèrent que l'intestin peut être lui aussi un organe sensible à l'insuline (Garait, 2006).

Nos résultats histologiques ont montré des troubles inflammatoires au niveau du cortex cérébral, cela peut être expliqué par des preuves croissantes qui suggèrent que l'insulinorésistance induite par le fructose est étroitement associée à une inflammation chronique, caractérisée par une activation signalant l'inflammation au niveau local, des tissus et organes, y compris le cerveau (Zhang *et al.*, 2017). Dans la présente étude, nous avons observé une amélioration des lésions du cortex cérébral après une supplémentation au picolinate du chrome.

Au final, on sait que l'hyperinsulinémie accentue le stress oxydatif dans le foie, les reins et d'autres organes (Oberley, 1988 ; Opara, 2002). Le picolinate de chrome pourrait réduire la peroxydation des lipides en modulant le système glucose / insuline (Anderson *et al.*, 2001). Ainsi, il est suggéré qu'une amélioration du statut antioxydant pourrait être associée à une amélioration de la sensibilité à l'insuline, qui pourrait être potentialisée par l'administration de chrome (Anderson *et al.*, 2001). Il a été démontré que l'action de chrome peut être par le biais de plusieurs mécanismes, notamment par l'augmentation du trafic de GLUT4 au niveau de la membrane plasmique, l'amélioration de la liaison à l'insuline, du nombre de récepteurs à l'insuline et de la sensibilité des cellules bêta (Anderson, 2000 ; Kesavulu *et al.*, 2001) et par la régulation du métabolisme des glucides et des lipides (Sundaram *et al.*, 2012 ; Sundaram *et al.*, 2013). Cependant, le mécanisme exacte par lequel le picolinate de chrome réduit le stress oxydatif n'est pas totalement compris (Uslu et Uslu, 2018).

Conclusion

Compte tenu des résultats de cette étude, on peut conclure que le régime alimentaire (régime riche en fructose 20%) administré aux animaux par voie orale pendant 4 semaines conduit à l'induction de l'insulino-résistance associée à des perturbations métaboliques comme une hyperinsulinémie, une glycémie normale, une diminution de l'absorption du glucose par les tissus périphériques avec une diminution de taux du glycogène hépatique et cardiaque, à l'induction d'un stress oxydatif caractérisé par une diminution du GSH, de l'activité des enzymes antioxydants (GPx, catalase et SOD) et par l'augmentation de la peroxydation lipidique (MDA), ainsi qu'à la survenue de quelques changements histologiques et morphologiques des organes gluco-régulateurs étudiés.

De plus, nous avons constaté de façon très remarquable d'après notre étude qu'une supplémentation par picolinate de chrome joue un rôle clef dans l'homéostasie glucidique notamment via le maintien de la tolérance au glucose dans les tissus cibles, le stockage du glycogène hépatique et cardiaque, la réduction de la peroxydation lipidique, la protection contre les dégâts des espèces réactives de l'oxygène et une amélioration des altérations histologiques observés au niveau des différents organes.

L'intérêt d'un apport en picolinate de chrome, par une source autre que l'alimentation traditionnelle, comme les compléments alimentaires, doit donc être considéré. D'autant qu'aucun effet toxique, directement imputable à l'oligoélément, n'a été souligné dans les différentes études de supplémentation réalisées à ce jour.

Bien entendu, Des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes moléculaire et cellulaire impliqués dans les différents effets observés.

Annexes

Annexe 01 : Courbes d'étalonnages

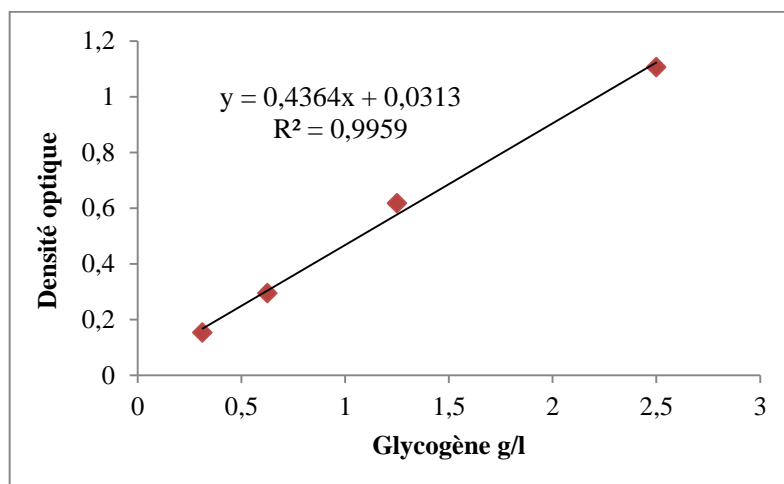


Figure 01 : courbe d'étalonnage du glycogène

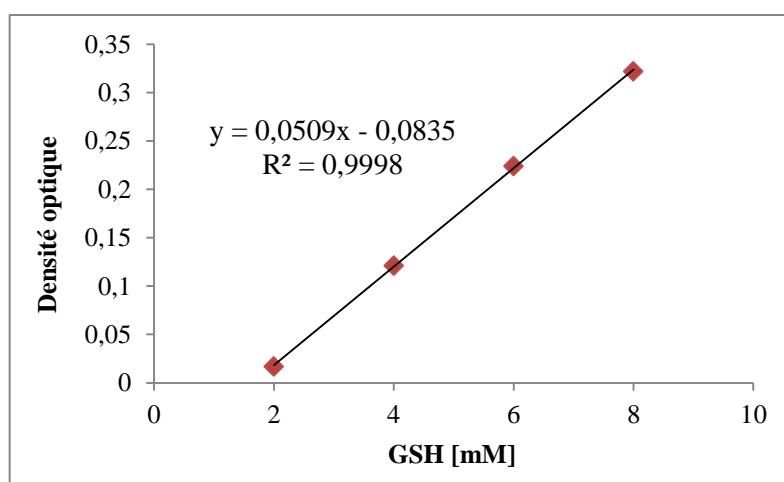


Figure 02 : courbe d'étalonnage du GSH

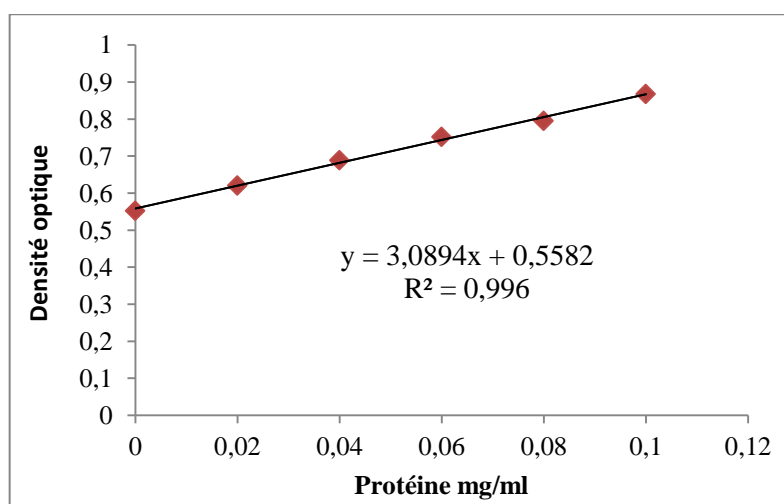


Figure 03 : courbe d'étalonnage de protéine

Références bibliographique

A

Abdelmalek M.F., Lazo M., Horska A., Bonekamp S., Lipkin E.W., Balasubramanyam A. Bantle J.P., Johnson R.J., Diehl A.M et Clark J.M. 2012. Higher dietary fructose is associated with impaired hepatic adenosine triphosphate homeostasis in obese individuals with type 2 diabetes. *Hepatology*, **56(3)**: 952–960.

Adams S.H., Stanhope K.L., Grant R.W., Cummings B.P et Havel P.J. 2008. Metabolic and endocrine profiles in response to systemic infusion of fructose and glucose in rhesus macaques. *Endocrinology*, **149(6)**: 3002–3008.

Ali A., Ma Y., Reynold J., Wise J. P., Inzucchi S. E., et Katz D. L. 2011. Chromium picolinate for the prevention of type 2 diabetes. *Treatment strategies. Diabetes*, **3(1)**: 34.

Anderson R. A., Roussel A. M., Zouari N., Mahjoub S., Matheau J. M., et Kerkeni A. 2001. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Nutrition*, **20(3)**: 212-218.

Anderson R.A. 1998. Effects of chromium on body composition and weight loss. *Nutrition Review*, **56(9)**: 266-270.

Anderson R.A. 2000. Chromium in the prevention and control of diabetes. *Diabetes and metabolism*, **26(1)**: 22-28.

Anderson R.A. 2003. Chromium and insulin resistance. *Nutrition Research Reviews*, **16**: 267-275.

Anderson R.A., Bryden N.A., Polansky M.M et Reiser S. 1990. Urinary chromium excretion and insulinogenic properties of carbohydrates. *The American journal of clinical nutrition*, **51(5)**: 864-868.

Armutcu F., Coskun Ö., Gürel A., Kanter M., Can M., Ucar F., et Unalacak M. 2005. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clinical biochemistry*, **38(6)**: 540-547.

Artunc F., Schleicher E., Weigert C., Fritsche A., Stefan N et Häring H.U. 2016. The impact of insulin resistance on the kidney and vasculature. *Nephrology*, **12(12)**: 727-737.

B

Barquissau V et Morio B. 2011. Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutrition clinique et métabolisme*, **25(3)**: 114-130.

Basciano H., Federico L et Adeli K. 2005. Fructose, insulin resistance and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & metabolism*. **2(1)**: 5.

Baynes J.W. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, **40(4)**: 405-412.

Beckers A et Bazin H. 1978. Incidence of spontaneous ileocecal immunocytomas in hybrids of LOU/C rats and rat strains with low spontaneous tumor incidence: Brief communication. *Journal of the National Cancer Institute*, **60(6)**: 1505-1508.

Beck-Nielsen H., Pedersen O et Lindskov H.O. 1980. Impaired cellular insulin binding and insulin sensitivity induced by high-fructose feeding in normal subjects. *The American journal of clinical nutrition*, **33(2)**: 273-278.

Benhamed F., Denechaud P.D., Lemoine M., Robichon C., Moldes M., Bertrand-Michel J et Girard J. 2012. The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans. *The Journal of clinical investigation*, **122(6)**: 2176-2194.

Berneis K et Keller U. 2006. L'augmentation de la consommation de fructose responsable du syndrome métabolique ? In *Forum Médical Suisse*, **6(08)**: 187-189.

Blakely S.R., Hallfrisch J., Reiser S et Prather E.S. 1981. Long-term effects of moderate fructose feeding on glucose tolerance parameters in rats. *The Journal of nutrition*, **111(2)**: 307-314.

Bloch-Damti A et Bashan N. 2005. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, **7(11-12)**: 1553-1567.

Bocarsly M.E., Powell E.S., Avena N.M et Hoebel B.G. 2010. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **97(1)**: 101-106.

Boucher J., Kleinridders A et Kahn C.R. 2014. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **6(1)**: a009191.

Buege J.A et Aust S.D. 1978. [30] Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology*. Academic Press, **52**: 302-310.

Busserolles J., Gueux E., Rock E., Mazur A et Rayssiguier Y. 2002. Substituting honey for refined carbohydrates protects rats from hypertriglyceridemic and prooxidative effects of fructose. *The Journal of nutrition*, **132(11)**: 3379-3382.

T

Campbell J.E et Drucker D.J. 2013. "Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action." *Cell metabolism*, **17(6)**: 819-837.

Capeau J. 2003. Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *Médecine/sciences*, **19(8-9)**: 834-839.

Cefalu W.T., Bell-Farrow A.D., Stegner J., Wang Z.Q., King T., Morgan T et Terry J.G. 1999. Effect of chromium picolinate on insulin sensitivity in vivo. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*, **12(2)**: 71-83.

Cefalu W.T et Hu F.B. 2004. Role of Chromium in human health and in diabetes. *Diabetes Care*, **27(11)**: 2741-2751.

Cheatham B., Kahn C.R. 1995. "Insulin action and the insulin signaling network." *Endocrine reviews*, **16(2)**: 117-142.

Chen K.N., Peng W.H., Hou C.W., Chen C.Y., Che H.H., Kuo C.H et Korivi M. 2013. Codonopsis javanica root extracts attenuate hyperinsulinemia and lipid peroxidation in fructose-fed insulin resistant rats. *Journal of food and drug analysis*, **21(4)**: 347-355.

Chicco A., D'Alessandro M. E., Karabatas L., Pastorale C., Basabe J. C et Lombardo Y.B. 2003. Muscle lipid metabolism and insulin secretion are altered in insulin-resistant rats fed a high sucrose diet. *The Journal of nutrition*, **133(1)**: 127-133.

Cho Y.M., Fujita Y et Kieffer T.J. 2014. "Glucagon-like peptide-1: glucose homeostasis and beyond." *Annual review of physiology*, **76**: 535-559.

Claiborne A. 1985. Handbook of methods for oxygen radical research. *Florida: CRC Press, Boca Raton.*

Crescenzo R., Mazzoli A., Di Luccia B., Bianco F., Cancelliere R., Cigliano L et Iossa S. 2017. Dietary fructose causes defective insulin signalling and ceramide accumulation in the liver that can be reversed by gut microbiota modulation. *Food & nutrition research*, **61(1)**: 1331657.

Curry D.L. 1989. Effects of mannose and fructose on the synthesis and secretion of insulin. *Pancreas*, **4(1)**: 2–9.

D

Datta K., Sinha S et Chattopadhyay P. 2000. Reactive oxygen species in health and disease. *National Medical Journal of India*, **13(6)**: 304-310.

Dedier P. 1994. Travaux pratique de biologie. *Editions Bordas*. pp. 54-83.

De Luca C et Olefsky J.M. 2008. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett*, **582(1)**: 97-105.

Delbosc S., Paizanis E., Magous R., Araiz C., Dimo T., Cristol J. P et Azay J. 2005. Involvement of oxidative stress and NADPH oxidase activation in the development of cardiovascular complications in a model of insulin resistance, the fructose-fed rat. *Atherosclerosis*, **179(1)**: 43-49.

E

El Mesallamy H.O., El-Demerdash E., Hammad L.N et El Magdoub H.M. 2010. Effect of taurine supplementation on hyperhomocysteinemia and markers of oxidative stress in high fructose diet induced insulin resistance. *Diabetology & metabolic syndrome*, **2(1)**: 46.

Ellman G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, **82(1)**: 70-77.

Estrada D.E., Ewart H.S., Tsakiridis T., Volchuk A., Ramlal T., Tritschler H et Klip A. 1996. Stimulation of glucose uptake by the natural coenzyme alpha-lipoic acid/thioctic acid: participation of elements of the insulin signaling pathway. *Diabetes*, **45(12)**: 1798-804.

Evans J.L et Goldfine I.D. 2000. Alpha-lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, **2(3)**: 401-413.

Evans J.L., Maddux B.A et Goldfine I.D. 2005. The molecular basis for oxidative stress induced insulin resistance. *Antioxidants & redox signaling*, **7(7-8)**: 1040-1052.

F

Faeh D., Minehira K., Schwarz J.M., Periasamy R., Park S et Tappy L. 2005. Effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes*, **54(7)**: 1907-1913.

Farese Jr.R.V., Zechner R., Newgard C.B et Walther T.C. 2012. The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Cell metabolism*, **15(5)**: 570–573.

Faure P., Rossini E., Wiernsperger N., Richard M.J., Favier A et Halimi S. 1999. An insulin sensitizer improves the free radical defense system potential and insulin sensitivity in high fructose-fed rats. *Diabetes*, **48(2)**: 353–357.

Flohé L et Günzler W.A. 1984. Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymology*, **105**: 114-120.

G

Garait B. 2006. Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®.Thèse de doctorat.

Grigorescu F., Flier J.S et Kahn C.R. 1986. Characterization of binding and phosphorylation defects of erythrocyte IRs in the type A syndrome of insulin resistance. *Diabetes*, **35(2)**: 127–138.

Grunberger G., Zick Y et Gorden P. 1984. Defect in phosphorylation of IRs in cells from an insulin-resistant patient with normal insulin binding. *Science*, **223(4639)**: 932–934.

Guerra L., Cerbai E., Gessi S., Borea P. A et Mugelli A. 1996. The effect of oxygen free radicals on calcium current and dihydropyridine binding sites in guinea-pig ventricular myocytes. *British journal of pharmacology*, **118(5)**: 1278-1284.

Gutiérrez-Rodelo C., Roura-Guiberna A et Olivares-Reyes J.A. 2017. Molecular mechanisms of insulin resistance: An update. *Gaceta medica de Mexico*, **153(2)**: 214-228.

H

Halimi S., Studer N et Faure P. 2010. Le fructose: effet des régimes riches en fructose sur l'incidence de l'obésité, du syndrome métabolique, du diabète de type 2 et le risque cardiovasculaire et rénal. *Médecine des maladies Métaboliques*, **4(5)**: 521-529.

Hannou A.S., Haslam E.D., McKeown M.N et Herman A.M. 2018. Fructose metabolism and metabolic disease. *The Journal of clinical investigation*, **128(2)**: 545-555.

Heppner K.M., Habegger K.M., Day J., Pfluger P.T., Perez-Tilve D., Ward B., Gelfanov V., Woods S.C., DiMarchi R et Tschop M. 2010. Glucagon regulation of energy metabolism. *Physiology & Behavior*, **100(5)**: 545-548.

Houlot R. 1984. Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. (ed.) Maloine, **19-21**: 225-227.

Houstis N., Rosen E.D et Lander E.S. 2006. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, **440(7086)**: 944.

Hsu J.H., Wu Y.C., Liu I.M et Cheng J.T. 2007. Dioscorea as the principal herb of Die-Huang-Wan, a widely used herbal mixture in China, for improvement of insulin resistance in fructose-rich chow-fed rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **112(3)**: 577-584.

Hu Z., Ren L., Wang C., Liu B et Song G. 2012. Effect of chenodeoxycholic acid on fibrosis, inflammation and oxidative stress in kidney in high-fructose-fed Wistar rats. *Kidney and Blood Pressure Research*, **36(1)**: 85-97.

Hua Y., Clark S., Ren J et Sreejayan N. 2012. Molecular mechanisms of chromium in alleviating insulin resistance. *The Journal of nutritional biochemistry*, **23(4)**: 313–319.

Huang B.W., Chiang M.T., Yao H.T et Chiang W. 2004. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, **6(2)**: 120-126.

Hubbard S.R. 1997. Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *The EMBO journal*, **16(18)**: 5572-5581.

Hubbard S.R. 2013. The insulin receptor: both a prototypical and atypical receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **5(3)**: a008946.

Hummel M., Standl E et Schnell O. 2007. Chromium in metabolic and cardiovascular disease. *Hormone and metabolic research*, **39(10)**: 743-751.

J

Iqbal M, Sharma SD, Okazaki M. Jujisawa Y et Okada S. 2003. Dietary supplementation of curcumin enhanced antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddYmale mice: Possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacol. Toxicology*, **92**: 33-38.

J

Jean G. 2008. Effets métaboliques différentiels des sucres. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **43(2)**: 2S12-2S16.

Jensen M et De Meyts P. 2009. Molecular mechanisms of differential intracellular signaling from the insulin receptor. *Vitamins & Hormones*, **80**: 51-75.

Jin R et Vos M.B. 2015. Fructose and liver function—is this behind nonalcoholic liver disease?. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, **18(5)**: 490-495.

Johnson R.J., Segal M.S., Sautin Y., Nakagawa T., Feig D.I., Kang D.H., Gersch M.S., Benner S et Sanchez-Lozada L.G. 2007. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of

hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, **86(4)**: 899–906.

Jones H.F., Butler R.N et Brooks D.A. 2011. Intestinal fructose transport and malabsorption in humans. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **300(2)**: G202–G206.

K

Kaneto H., Nakatani Y., Kawamori D., Miyatsuka T., Matsuoka T. A., Matsuhisa M et Yamasaki Y. 2006. Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic β -cell dysfunction and insulin resistance. *The international journal of biochemistry & cell biology*, **38(5-6)**: 782-793.

Kannappan S et Anuradha C.V. 2010. Naringenin enhances insulin-stimulated tyrosine phosphorylation and improves the cellular actions of insulin in a dietary model of metabolic syndrome. *European journal of nutrition*, **49(2)**: 101-109.

Kesavulu M.M., Rao B.K., Giri R., Vijaya J., Subramanyam G et Apparao C. 2001. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes research and clinical practice*, **53(1)**: 33-39.

Khandelwal R. L., Zinman S. M et Zebrowski E. J. 1977. The effect of streptozotocin-induced diabetes and of insulin supplementation on glycogen metabolism in rat liver. *Biochemical Journal*, **168(3)**: 541-548.

Kido Y., Nakae J et Accili D. 2001. Clinical review 125: The insulin receptor and its cellular targets. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **86(3)**: 972-979.

Kim J.K., Gavrilova O., Chen Y., Reitman M.L et Shulman G.I. 2000. Mechanism of insulin resistance in A-ZIP/F-1 fatless mice. *Journal of Biological Chemistry*, **275(12)**: 8456-8460.

Konrad D., Somwar R., Sweeney G., Yaworsky K., Hayashi M., Ramlal T et Klip A. 2001. The antihyperglycemic drug alpha-lipoic acid stimulates glucose uptake via both GLUT4 translocation and GLUT4 activation: potential role of p38 mitogen-activated protein kinase in GLUT4 activation. *Diabetes*, **50(6)**: 1464-1471.

Kourie J.I. 1998. Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **275(1)**: C1-C24.

Król E et Krejpcio Z. 2010. Chromium (III) propionate complex supplementation improves carbohydrate metabolism in insulin-resistance rat model. *Food and Chemical Toxicology*, **48(10)**: 2791-2796.

Kumar V., Kalita J., Bora H.K et Misra U.K. 2016. Relationship of antioxidant and oxidative stress markers in different organs following copper toxicity in a rat model. *Toxicology and applied pharmacology*, **293**: 37-43.

Kumashiro N., Erion D.M., Zhang D., Kahn M., Beddow S.A., Chu X et Petersen K.F. 2011. Cellular mechanism of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108(39)**: 16381-16385.

L

LaBrecque D. 2012. Stéatose hépatique non alcoolique et stéato-hépatite non alcoolique. *World Gastro enterology Organisation Global Guidelines*, **2012**: 1-32.

Lamb R.E et Goldstein B.J. 2008. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *International journal of clinical practice*, **62(7)**: 1087-1095.

Landman G.W., Bilo H.J.G., Houweling S.T et Kleefstra N. 2014. Chromium does not belong in the diabetes treatment arsenal: Current evidence and future perspectives. *World Journal of Diabetes*, **5(2)**: 160-164.

Le Roith D et Zick Y. 2001. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes care*, **24(3)**: 588-597.

Lebreton F. 2014. Signaux électriques des îlots pancréatiques enregistrés sur matrices de microélectrodes: caractérisation et application au phénotypage d'animaux transgéniques. Thèse de doctorat.

Lee J.H et Ragolia L. 2006. AKT phosphorylation is essential for insulin-induced relaxation of rat vascular smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **291(6)**: 1355-1365.

Lewicki S., Zdanowski R., Krzyzowska M., Lewicka A., Debski B., Niemcewicz M et Goniewicz M. 2014. The role of Chromium III in the organism and its possible use in diabetes and obesity treatment. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **21(2)**.

Liu C., Cao F., Tang Q.Z., Yan L., Dong Y. G., Zhu L.H. et Li H. 2010. Allicin protects against cardiac hypertrophy and fibrosis via attenuating reactive oxygen species-dependent signaling pathways. *The Journal of nutritional biochemistry*, **21(12)**: 1238-1250.

M

Madani Z., Louchami K., Sener A., Malaisse W.J et Ait Yahia D. 2012. Dietary sardine protein lowers insulin resistance, leptin and TNF- α and beneficially affects adipose tissue oxidative stress in rats with fructose-induced metabolic syndrome. *International journal of molecular medicine*, **29(2)**: 311-318.

Maddux B.A., See W., Lawrence J.C., Goldfine A.L., Goldfine I.D et Evans J.L. 2001. Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes*, **50(2)**: 404-410.

Manning B.D et Cantley L.C. 2007. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, **129(7)**: 1261-1274.

Marklund S et Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, **47(3)**: 469-474.

Martin J., Wang Z.Q., Zhang X.H., Wachtel D., Volaufova J., Matthews D.E et Cefalu T.W. 2006. Chromium picolinate supplementation attenuates body weight gain and increases insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, **29(8)**: 1826-1832.

McPherson J.D., Shilton B.H et Walton D.J. 1988. Role of fructose in glycation and cross-linking of proteins. *Biochemistry*, **27(6)**: 1901-1907.

Mellouk Z. 2013. Effet de la supplémentation en compléments alimentaires à base d'acides gras polyinsaturés ω 3 et d'acides gras linoléiques conjugués sur la réponse métabolique et oxydative : application sur un modèle animal de syndrome métabolique induit par le fructose. Thèse de Doctorat. Université d'Oran, Algérie.

Mertz W et Schwarz K. 1959. Relationship of glucose tolerance to impaired intravenous glucose tolerance of rats on stock diets. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, **196(3)**: 614–618.

Michaelis I.V., O.E., Ellwood K.C., Judge J.M., Schoene N.W et Hansen C.T. 1984. Effect of dietary sucrose on the SHR/N-corpulent rat: a new model for insulin-independent diabetes. *The American journal of clinical nutrition*, **39(4)**: 612-618.

Mithieux G et Gautier-Stein A. 2014. "Intestinal glucose metabolism revisited." *Diabetes research and clinical practice*, **105(3)**: 295-301.

Montagnani M., Ravichandran L.V., Chen H., Esposito D.L et Quon M.J. 2002. Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells. *Molecular endocrinology*, **16(8)**: 1931-1942.

Moriyama M., Hayashi N., Ohyabu C., Mukai M., Kawano S et Kumagai S. 2006. Performance evaluation and cross-reactivity from insulin analogs with the ARCHITECT insulin assay. *Clinical chemistry*, **52(7)**: 1423-1426.

Muoio D.M et Newgard C.B. 2008. Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology*, **9(3)**: 193.

Myers M.G Jr., White M.F. 2002. The Molecular Basis of Insulin Action. En: **Gruenberg G., Zick Y.,** (ed.). Insulin Signaling: From cultured cells to animal models. *Taylor & Francis*, Nueva York, pp. 55-87.

N

Nagai Y., Yonemitsu S., Erion D. M., Iwasaki T., Stark R., Weismann D et Cresswell J. 2009. The role of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 β in the pathogenesis of fructose-induced insulin resistance. *Cell metabolism*, **9(3)**: 252-264.

Nandhini A.A., Thirunavukkarasu V., & Anuradha C.V. 2005. Taurine modifies insulin signaling enzymes in the fructose-fed insulin resistant rats. *Diabetes & metabolism*, **31(4)**: 337-344.

N'doua L.A.R., Abo K.J.C., Aoussi S., Gbogbo M., Yapo A.P et Ehile E.E. 2015. Effets hypoglycémique et antihyperglycémique de l'extrait éthanolique 70 % de racines de *rauvolfia vomitoria* afzel (apocynaceae). *European Scientific Journal*, **11(6)**: 176-190.



Oberley L.W. 1988. Free radicals and diabetes. *Free radical biology and medicine*, **5(2)**: 113-124.

Oda A., Bannai C., Yamaoka T., Katori T., Matsushima T et Yamashita K. 1994. Inactivation of Cu, Zn-superoxidedismutase by in vitro glycosylation and in erythrocytes of diabetic patients. *Hormone and metabolic research*, **26(01)**: 1-4.

Olivares-Reyes J.A. 2012. Bases moleculares del síndrome metabólico y resistencia a la insulina. En: **Garibay Nieto G.N., García Velasco S.**, (ed.). *Obesidad en la edad pediátrica: prevención y tratamiento. Ciudad de México: Corinter*, pp. 185-214.

Olivares-Reyes J.A et Arellano-Plancarte A. 2008. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, **27(1)**: 9-18.

Opara E.C. 2002. Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *The journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, **122(1)**: 28-34.




Pagliassotti M.J et Horton T.J. 2004. Sucrose, insulin action and biologic complexity. *Res Dev Physiol*, **2**: 337-53.

Parker H.E., Gribble F.M et Reimann F. 2014. "The role of gut endocrine cells in control of metabolism and appetite." *Experimental physiology*, **99(9)**: 1116-1120.

Polakof S., Mommsen T.P et Soengas J.L. 2011. Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **160(4)**: 123-149.



- Rajasekar P., Ravichandran M.K et Anuradha C.V.** 2005. Intraperitoneal L-carnitine regulates lipid metabolism and reduces oxidative stress in fructose-induced hyperlipidemic rats. *Diabetologia Croatica*, **34(3)**: 87-96.
- Ramrath S., Tritschler H.J et Eckel J.** 1999. Stimulation of cardiac glucose transport by thioctic acid and insulin. *Hormone and Metabolic Research*, **31(12)**: 632-635.
- Reddy S.S., Ramatholisamma P., Karuna R et Saralakumari D.** 2009. Preventive effect of *Tinospora cordifolia* against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in male Wistar rats. *Food and chemical toxicology*, **47(9)**: 2224-2229.
- Roach P., Zick Y., Formisano P., Accili D., Taylor S.I et Gorden P.** 1994. A novel human IR gene mutation uniquely inhibits insulin binding without impairing posttranslational processing. *Diabetes*, **43(9)**: 1096– 1102.
- Roussel A.M.** 2009. Chromium and the metabolic syndrome. *Elsevier*, **3(5)**: 483-485.
- Roussel A.M.** 2017. Déficits en micronutriments dans le surpoids et l'obésité : conséquences métaboliques et cliniques. *Nutrition clinique et métabolisme*, **31(4)**: 268-275.
- Rudich A., Tirosh A., Potashnik R., Khamaisi M et Bashan N.** 1999. Lipoic acid protects against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase B and glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*, **42(8)**: 949-957.
- 
-
- Sahina K., Ondercib M., Tuzcuc M., Ustundagd B., Cikime G., İbrahim H., Ozercanf, Sriramojug V., Juturuh V., James R et Komorowskih.** 2007. Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism Clinical and Experimental*, **56(9)**: 1233–1240.
- Samuel V.T., Liu Z.X., Qu X., Elder B.D., Bilz S., Befroy D et Shulman G.I.** 2004. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Biological Chemistry*, **279(31)**.
- Sastre J., Pallardo F., Garcia J et Vina J.** 2000. Mitochondria oxidative stress and aging. *Free Radical Research*, **32**: 189-198.

Schwartz M.W., Figlewicz D.P., Baskin D.G., Woods S.C et Porte Jr.D. 1992. "Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance." *Endocrine reviews*, **13(3)**: 387-414.

Sergent O., Griffon B., Cillard P et Cillard J. 2001. Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, **49(9)**: 689-695.

Shrayyef M.Z et Gerich, J.E. 2010. Normal glucose homeostasis. In *Principles of diabetes mellitus*. Springer, Boston, MA, pp.19-35.

Spargo E., Pratt O.E et Daniel P.M. 1979. Metabolic functions of skeletal muscles of man, mammals, birds and fishes: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, **72(12)**: 921-925.

Sreejayan N., Dong F., Kandadi M.R., Yang X et Ren J. 2008. Chromium alleviates glucose intolerance, insulin resistance, and hepatic ER stress in obese mice. *Obesity*, **16(6)**: 1331–1337.

Srividhya S et Anuradha C.V. 2002. Metformin improves liver antioxidant potential in rats fed a high-fructose diet. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, **11(4)**: 319-322.

Sundaram B., Aggarwal A et Sandhir R. 2013. Chromium picolinate attenuates hyperglycemia-induced oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **27(2)**: 117-121.

Sundaram B., Singhal K et Sandhi R. 2013. Anti-atherogenic effect of chromium picolinate in streptozotocin-induced experimental diabetes. *Journal of diabetes*, **5(1)**: 43-50.

Sundaram B., Singhal K et Sandhir R. 2012. Ameliorating effect of chromium administration on hepatic glucose metabolism in streptozotocin-induced experimental diabetes. *Biofactors*, **38(1)**: 59-68.

J

Tabet F., Savoia C., Schiffrin E.L et Touyz R.M. 2004. Differential calcium regulation by hydrogen peroxide and superoxide in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*, **44(2)**: 200-208.

Tan A.W et Nuttall F.Q. 1976. Regulation of synthase phosphatase and phosphorylase phosphatase in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, **445(1)**: 118-130.

Taniguchi C.M., Emanuelli B et Kahn C.R. 2006. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature reviews Molecular cell biology*, **7(2)**: 85-96.

Taylor S.I., Cama A., Accili D., Barbetti F., Quon M.J., Sierra M.D., L.L et Moncada V.Y. 1992. Mutations in the insulin receptor gene. *Endocrine Reviews*, **13(3)**: 566-595.

Ter Horst K.W., Schene M.R., Holman R., Romijn J.A et Serlie M.J. 2016. Effect of fructose consumption on insulin sensitivity in non diabetic subjects: asystematic review and meta-analysis of diet-interventiontrials. *The American journal of clinical nutrition*, **104(6)**: 1562–1576.

Terrier J.E et Mottet N. 2013. Syndrome métabolique et insulino-résistance chez les patients atteints de cancer de la prostate traités par suppression androgénique hormonale. *Progrès en urologie*, **23(2)**: 88-95.

Tillman E.J., Morgan D.A., Rahmouni K et Swoap S.J. 2014. Three months of high-fructose feeding fails to induce excessive weight gain or leptin resistance in mice. *PloS one*, **9(9)**.

U

Ueno S., Susa N., Furukawa Y., Aikawa K., Itagaki I., Komiyama T et Takashima Y. 1988. Effect of chromium on lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, **50(1)**: 45-52.

Uslu H et Uslu G.A. 2018. Effects of chromium picolinate on oxidative stress and hyperglycemia in experimental type 2 diabetic rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **11(10)**: 532-535.

V

Vincent J.B. 2000. Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. *Accounts of chemical research*, **33(7)**: 503-510.

Vincent J.B. 2010. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? *Dalton Transactions*, **39(16)**: 3787–3794.

Virkamaki A., Ueki K et Kahn C.R.1999. Protein protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulinresistance. *The Journal of clinical investigation*, **103(7)**: 931–943.

Vos M.B., Kimmons J.E., Gillespie C., Welsh J et Blanck H.M. 2008. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *The Medscape Journal of Medicine*, **10(7)**: 160.

W

Wang H., Kruszewski A., Brautigan D.L. 2005. Cellular chromium enhances activation of insulin receptor kinase. *Biochemistry*, **44(22)**: 8167–8175.

Wang Z.Q., Zhang X.H., Russell J.C., Hulver M et Cefalu W.T. 2006. Chromium picolinate enhances skeletal muscle cellular insulin signaling in vivo in obese, insulin-resistant JCR:LA-cp rats. *The Journal of nutrition*, **136(2)**: 415–420.

White M.F. 2003. Insulin signaling in health and disease. *Science*, **302(5651)**: 1710-11.

Wiernsperger N et Rapin J. 2010. Trace elements in glucometabolic disorders: an update. *Diabetology & metabolic syndrome*, **2(1)**: 70.

Y

Yamamoto A., Wada O et Ono T. 1981. A low-molecular-weight, chromium-binding substance in mammals. *Toxicology and applied pharmacology*, **59(3)**: 515-523.

Yang J. 2014. "Enhanced skeletal muscle for effective glucose homeostasis." In *Progress in molecular biology and translational science*, **121**: 133-163.

Yang M., Liu C., Jiang J., Zuo G., Lin X., Yamahara J et Li Y. 2014. Ginger extract diminishes chronic fructose consumption-induced kidney injury through suppression of renal overexpression of proinflammatory cytokines in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, **14(1)**: 174.

Yang Z.W., Zheng T., Wang J., Zhang A., Altura B.T et Altura B.M. 1999. Hydrogen peroxide induces contraction and raises $[Ca^{2+}]_i$ in canine cerebral arterial smooth muscle: participation of cellular signaling pathways. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, **360(6)**: 646-653.

Z

Zhang D.M., Jiao R.Q et Kong L.D. 2017. High dietary fructose: direct or indirect dangerous factors disturbing tissue and organ functions. *Nutrients*, **9(4)**: 335.

Zhao P., Wang J., Ma H., Xiao Y., He L., Tong C et Ren J. 2009. Chromium complex-chromium (D-phenylalanine) 3 activates AM and stimulates glucose transport. *Biochemical pharmacology*, **77(6)**: 1002-1010.

Réalisé par:

Cheniti Amina
Djema Mohamed Abderrahmane
Nafi Meroua

Encadré par :

Dr.Derai.E-H

Effet du picolinate de chrome sur le statut redox et histopathologique des

Résumé organes glucorégulateurs chez le rat Wistar insulino-résistant

La prévalence de l'insulino-résistance est fortement associée à une augmentation de la consommation du fructose. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à étudier le potentiel protecteur du chrome trivalent sous forme de picolinate de chrome sur les altérations des organes gluco-régulateurs pouvant être induites par une insulino-résistance provoquée par un régime enrichi en fructose pendant 4 semaines. Des rats de souche Wistar ont consommé un régime standard et ont été répartis en trois groupes, le premier groupe est le groupe témoin (T), le deuxième groupe a reçu du fructose (Fr) (20%) et le troisième groupe a été supplémenté en picolinate de chrome (Fr+Cr)(100 µg/kg). Après 4 semaines, les marqueurs associés à l'insulino-résistance et au stress oxydatif sont évalués. De plus, un examen histologique des organes glucorégulateurs a été fait. Les résultats obtenus révèlent que les régimes riches en fructose favorisent l'apparition d'une insulino-résistance caractérisée par une augmentation de l'insulinémie à jeun, de l'indice HOMA, une détérioration de la tolérance au glucose et une diminution du taux de glycogène hépatique et cardiaque ainsi qu'une diminution des paramètres du stress enzymatique (SOD, CAT, GPx) et non enzymatique (GSH) au niveau du foie, rein, cœur et pancréas avec une augmentation de la peroxydation lipidique (MDA). Nos résultats montrent aussi l'effet délétère d'un régime riche en fructose sur la morphologie de chacun des tissus mentionnés : foie, rein, cœur, pancréas, cerveau et intestin. Par ailleurs, le picolinate de chrome exerce des effets bénéfiques en améliorant la résistance à l'insuline, atténuant les dommages oxydatifs et améliorant les changements histologiques observés au niveau des organes glucorégulateurs.

Mots clés : insulino-résistance, fructose, picolinate de chrome.

ملخص

يرتبط انتشار مقاومة الأنسولين ارتباطاً قوياً بزيادة استهلاك الفروكتوز. قمنا بدراسة القدرة الوقائية لثلاثي الكروم في شكل بيكولينات الكروم على التغيرات في الأجهزة التنظيمية للسكر، والتي يمكن أن تحدثها مقاومة الأنسولين الناتجة عن نظام غذائي غني بالفروكتوز لمدة أربع أسابيع، استهلك فئران من سلالة ويستار نظام غذائي قياسي وقد تم تقسيمهم إلى ثلاثة مجموعات: المجموعة الأولى تلقت نظاماً غذائياً عادياً، أما المجموعة الثانية تلقت نظاماً غذائياً عادياً بالإضافة إلى الفروكتوز (20%)، في حين تلقت المجموعة الثالثة نظاماً غذائياً يحتوي على الفروكتوز (20%) مدعماً بالكروم (100 ميكروغرام/كغ/اليوم). بعد أربع أسابيع المعايير المرتبطة بمقاومة الأنسولين وبالإجهاد التأكسدي تم تقييمها، بالإضافة إلى فحص نسيجي للأعضاء المشاركة في تنظيم نسبة السكر في الدم، حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الوجبات الغذائية الغنية بالفروكتوز أدت إلى حدوث مقاومة الأنسولين التي تميزت بزيادة في نسبة الأنسولين والمؤشر هوما (HOMA) وتدهور تحمل الجلوكوز مع انخفاض كمية الجليكوجين الكبدية والقلبية وكذلك انخفاض في النشاط الأنزيمي (SOD، CAT، GPX) والغير أنزيمي (GSH) على مستوى الكبد، الكلى، القلب والبنكرياس، مع زيادة في بيروكسيد الدهون (MDA)، أظهرت النتائج التأثير الضار لنظام غذائي عالي الفروكتوز على مورفولوجيا كلا من الأعضاء المذكورة: الكبد، الكلى، القلب، البنكرياس، الدماغ والأمعاء، بالإضافة إلى ذلك كان لإدارة بيكولات الكروم تأثيرات مفيدة من خلال تحسين مقاومة الأنسولين وتخفيف الأضرار المؤكسدة، وتحسين التغيرات النسيجية المرصودة للأعضاء المشاركة في تنظيم نسبة السكر في الدم.

الكلمات المفتاحية : مقاومة الأنسولين، الفروكتوز، بيكولينات الكروم.

Abstract

The prevalence of insulin resistance is strongly associated with an increase in fructose consumption. In this study, we investigated the protective potential of trivalent chromium in the form of chromium picolinate on the alterations of gluco-regulatory organs that can be induced by insulin resistance caused by a diet enriched with fructose for 4 weeks. Wistar strain rats consumed a standard diet and were divided into three groups, the first group was the control group (T), the second group received fructose (Fr) (20%) and the third group was supplemented with chromium picolinate (Fr + Cr) (100 µg / kg). After 4 weeks, the markers associated with insulin resistance and oxidative stress are evaluated. Further, histological examination of gluco-regulatory organs was done. The results obtained reveal that the high fructose diets favor the appearance of insulin resistance characterized by an increase in fasting insulinemia, the HOMA index, a deterioration of glucose tolerance and a decrease in hepatic and cardiac glycogen levels as well as a decrease in the parameters of enzymatic stress (SOD, CAT, GPx) and non-enzymatic stress (GSH) in the liver, kidney, heart and pancreas with an increase in lipid peroxidation (MDA). Our results also show the deleterious effect of a high fructose diet on the morphology of each of the tissues mentioned: liver, kidney, heart, pancreas, brain and intestine. In addition, Chromium picolinate has a beneficial effect by improving insulin resistance, attenuating oxidative damage and improving histological changes observed in gluco-regulatory organs.

Keywords: insulin resistance, fructose, chromium picolinate.