

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République algérienne démocratique et populaire

Ministre de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Sedik Ben Yahia - Jijel

Faculté de sciences de la nature et de la vie

Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'étude

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

**Option : Biochimie**

**Thème**

**Evaluation biochimique et histopathologique de la  
fonction hépatique chez les insulino-résistances :  
Effet protecteur du picolinate de chrome**

**Membre de jury**

**Président : Dr BOUHAFS L**

**Examineur : Dr MEDOURI A**

**Encadreur. Dr DERAÏ E**

**Présenté par :**

**AMIRA Nassima**

**BOUFOULA Amina**

**Année universitaire : 2017-2018**

## **Remerciement**

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

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

*Nous remercions aussi notre examinateur Dr. **MEDOURI Asma** d'avoir accepté de juger le contenu du présent mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos grandes considérations à Mme. **BOUHAFS Leila**, pour avoir accepté de prendre part au jury de soutenance, tout le plaisir est pour nous ; nous la remercions pour sa grande gentillesse et sa disponibilité.*

*Nous ne serions bien sûr jamais arrivées là sans l'aide et le soutien de nos familles ; à nos parents et à nos frères et sœurs. Merci d'avoir soutenues dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils, de vos attentions constantes, merci pour tout. Nous espérons vous rendre le bonheur que vous nous apportez.*

<b>ADP</b> : Adénine diphosphates	<b>HK</b> :hexokinase
<b>ATP</b> : Adénosine monophosphate	<b>IL</b> : interleukine
<b>Akt</b> : sérine-thréonine kinase	<b>IL-6</b> : interleukine
<b>AGL</b> : Acide gras libre	<b>IRS</b> :InsulinReceptorSubstrates
<b>AG</b> : Acides gras	<b>IRS1</b> : Insuline receptor substrate-1
<b>CT</b> : domaine C-terminal	<b>IRS2</b> Insuline receptor substrate-2
<b>CAT</b> : catalase	<b>RI</b> : Récepteur à l'insuline
<b>Cr</b> : chrome	<b>JM</b> : domaine juxtamembranaire
<b>CrIII</b> : Le chrome trivalent	<b>JNK</b> : c-jun N-terminal kinase
<b>CrVI</b> : chrome hexavalent	<b>LAR</b> : leucocyte Common antigène-related molécule
<b>ERO</b> : espèces réactifs d'oxygènes	<b>MAPKinase</b> :Mitogenactivatinprotein kinase
<b>FK</b> : fructokinase	<b>PI3Kinase</b> : phosphoinositide3-Kinase
<b>Grb2</b> : grouwth factor receptor-boundprotéine 2	<b>PDK1</b> : 3 phosphoinositide-dependentprotéin Kinase 1
<b>GSH</b> : glutathion réduit	<b>PKC <math>\theta</math></b> : Protein Kinase ctheta
<b>GPX</b> : glutathion peroxydase	<b>PTP ases</b> : tyrosines phosphatases
<b>GLUT2</b> : Transporteur membranaire du glucose-2	<b>PKC</b> : Protein Kinase c
<b>GLUT4</b> : Transporteur membranaire du glucose-4	<b>Ser/Thr</b> : Serine /Thréonine
<b>GLUT5</b> : Transporteur membranaire du glucose-5	<b>SHP2</b> :domainprotein tyrosine phosphatase-2
<b>HMG CoA réductase</b> : hydroxy-méthyl-glutaryl-Coenzyme A réductas	<b>SOS</b> : son of sevenless
	<b>SOD</b> : superoxydedismutase
	<b>CYS</b> : cystéine
	<b>TK</b> : domaine tyrosine kinase
	<b>VLDL</b> : verylowdensityprotein



<b>Figure 1</b> : Structure primaire de l'insuline.....	02
<b>Figure 2</b> : schéma représente le récepteur a la structure de l'insuline.....	03
<b>Figure 3</b> : Mécanismes de la signalisation à l'insuline.....	04
<b>Figure 4</b> : action cellulaire de l'insuline sur le métabolisme glucidique.....	06
<b>Figure 5</b> : effets et troubles métaboliques de l'insulinorésistance.....	07
<b>Figure 6</b> : Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS.....	09
<b>Figure7</b> : Métabolisme hépatique et intestinal du glucose et du fructose.....	11
<b>Figure 8</b> :Les principales réactions conduisant à la production des ROS.....	12
<b>Figure 9</b> : mécanisme de développement de l'insulinorésistance induite par le fructose.....	13
<b>Figure 10</b> : Mécanisme d'action du chrome sur la signalisation de l'insuline.....	16
<b>Figure 11</b> : Mécanisme proposé pour l'activation de l'activité kinase du récepteur de l'insuline par la chromoduline, en réponse à une stimulation par l'insuline.....	17
<b>Figure 12</b> : Schémas représentatif du protocole expérimental.....	21
<b>Figure13</b> : Variation du poids corporelle chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) pendant 4 semaines du traitement.....	29
<b>Figure 14</b> : Variation de la glycémie à jeun l'insulinimie at l'indixe HOMA-IR chez les groupes(T), (Fr) et (Fr+Cr).....	31
<b>Figure 15</b> : Variation de l'activité enzymatique d'ALAT et ASAT et de la PAL des groupes (T), (Fr) et (Fr ) .....	33
<b>Figure 16</b> : Effet de picolinate de chrome sur le taux de MDA chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).....	35
<b>Figure 17</b> : Effet de picolinate de chrome sur l'activité enzymatique de la GSH chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).....	35
<b>Figure 18</b> : Effet de picolinate de chrome sur l'Activité enzymatique de la GPx , SOD er CAT chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).....	36
<b>Figure 19</b> : Coupes histologique de fois des rats témoins rats insulinorésistance supplémenté par le picolinate de chrome et intestine après coloration hématoxyline éosine.....	39

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

### **PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### **Chapitre I : L'Insulinorésistance**

1. L'insuline .....	2
1.1 Structure de l'insuline .....	2
1.2. Récepteur et signalisation .....	2
1.3. Rôle de l'insuline dans le métabolisme.....	5
2. L'insulinorésistance .....	6
2.1. Effet métabolique de l'insulinorésistance .....	7
2.2. Mécanisme moléculaire de l'insulinorésistance .....	8
3. Régime riche en fructose et l'insulinorésistance.....	9
3.1. Généralité sur le fructose .....	9
3.2. Métabolisme du fructose.....	10
3.3. Relation Fructose, insulinorésistance et stresse oxydants.....	11

#### **Chapitre II : Le chrome et l'insulinorésistance**

1. Généralités sur le chrome.....	14
1.1. Source besoins et apports alimentaires.....	14
1.2. Métabolisme de chrome .....	14
1.3. Le chrome dans les suppléments alimentaires .....	15
2. Rôle de chrome dans la réduction de l'insulinorésistance .....	15
2.1. Action de chrome sur la signalisation de l'insuline .....	15
2.2. Action de chrome via la chromoduline .....	16
2.3. Action de chrome sur le métabolisme des lipides.....	17
3. Chrome et stresse oxydante.....	18

### **DEUXIEME PARTIE : ETUDES EXPERIMENTALE**

#### **Chapitre III: Matériel et méthodes**

1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	19
2. Produits utilisés .....	19
3. Traitement des animaux .....	19
4. Prélèvement des échantillons .....	19
4.1. Prélèvement sanguin .....	19

4.2. Prélèvement des organes .....	20
5. Dosage des paramètres biochimiques .....	22
5.1. Bilan de l'insulinorésistance .....	22
5.1.1. La glycémie.....	22
5.1.2. L'insuline .....	22
5.1.3. Indice HOMA-IR.....	22
5.2. Bilan Hépatique .....	23
5.2.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT / TGO) .....	23
5.2.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT / TGP).....	23
5.2.3. Dosage de phosphatase alcaline (PAL).....	24
6-Dosage des paramètres du stress oxydatif dans l'intestin.....	24
6.1. Dosage du malonyldialdéhyde (MDA).....	24
6.2. Dosage du glutathion réduit (GSH) .....	25
6.3. Dosage de l'activité des enzymes antioxydantes .....	25
6.3.1 Préparation de la fraction cytosolique intestinal .....	25
6.3.2. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique.....	25
6.3.3. Mesure de l'activité de la glutathion peroxydase.....	26
6.3.4. Mesure de l'activité du superoxyde dismutase (SOD).....	27
6.3.5. Dosage des protéines tissulaires.....	27
7. Etude histologique.....	28
8. Analyses statistiques .....	28

#### **Chapitre IV : Résultats et interprétation**

1. L'influence du traitement sur l'évolution pondérale des animaux.....	29
2. Variation de l'insulinorésistance.....	30
2.1. Variation de la glycémie à jeun.....	30
2.2. Variation de l'insulinémie.....	30
2.3. L'indice HOMA.....	30
3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes hépatique .....	32
3.1. Sur l'activité des transaminases .....	32
3.2. Sur l'activité de la phosphatase alcaline .....	32
4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif .....	32
4.1. Sur le taux de malondialdéhyde (MDA) .....	34
4.2. Sur le niveau du GSH réduit .....	35
4.3. Sur l'activité des enzymes antioxydantes .....	36

5. Analyse histologique.....	38
5.1. Effet du traitement sur l’histologie hépatique .....	38
5.2. Effet du traitement sur l’histologie de l’intestin .....	38
<b>Conclusion</b> .....	40
<b>Référence</b> .....	41
<b>Annexes</b>	





# Introduction

---

## **Introduction**

La résistance à l'insuline est un phénomène qui se traduit comme une diminution de la capacité de l'insuline à faire entrer le glucose dans les tissus périphériques et à supprimer la production hépatique du glucose (Cherian *et al.*, 2009).

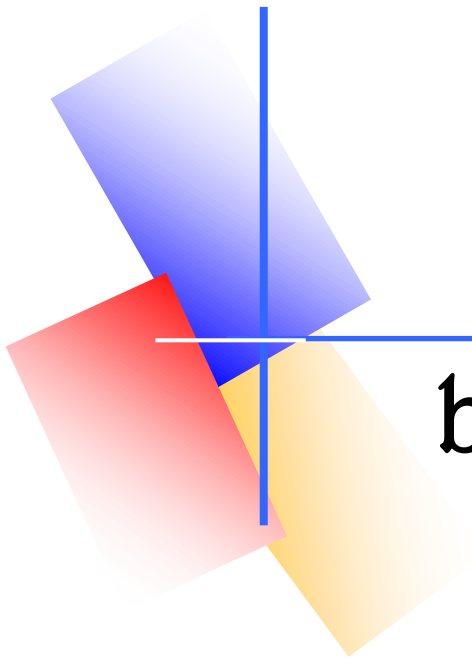
Bien que l'effet de l'insuline sur les cellules cibles soit multiple, le terme d'insulinorésistance se réfère presque exclusivement à l'effet de l'insuline sur le maintien de l'homéostasie du glucose (Del Prato, 1999).

L'insulinorésistance 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 (Bloch-Damti et Bashan, 2005).

Dans les sociétés modernes, la diminution globale de la dépense énergétique liée à l'activité physique et une alimentation déséquilibrée (riche en lipides et sucres simples comme le fructose) sont à l'origine du développement de l'obésité, qui est associé à l'explosion de la prévalence des pathologies métaboliques de surcharge comme le diabète de type 2 (Wild *et al.*, 2004).

Des études ont montré l'existence des liens métaboliques étroits qui lient le diabète type 2, l'insulinorésistance et le stress oxydant. Ce dernier est défini comme étant l'un des mécanismes à l'origine des effets délétères induits par le fructose. Les facteurs nutritionnels susceptibles de freiner le stress oxydant, d'améliorer la sensibilité à l'insuline devraient offrir des moyens, simples à mettre en œuvre de prévention de l'insulinorésistance et de ces conséquences pour la Santé de l'homme. De plus des travaux suggèrent que le picolinate de chrome, micronutriment essentiel, agit comme protecteur hépatique de la lipopéroxydation (Tezuka *et al.*; 1991) et augmente le pouvoir antioxydant global cellulaire chez le rat (Ueno *et al.*, 1988).

L'objectif de notre étude a été orienté vers l'évaluation expérimentale l'action potentialisatrice et antioxydante du picolinate de chrome sur l'insulinorésistance provoquée par le fructose chez des rats de souche wistar par : l'étude de l'effet de ce dernier sur la fonction hépatique et intestinale à travers la réalisation d'un bilan complet sérique et tissulaire.



Synthèse

bibliographique



# Chapitre I

---

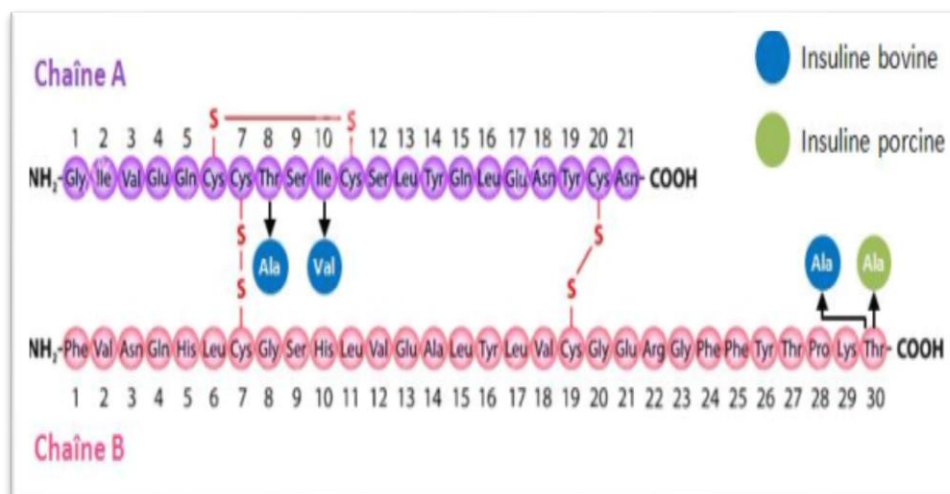
## L'insulinorésistance

## Chapitre I : L'insulinorésistance

### 1. Généralité sur l'insuline

Le maintien de l'homéostasie glucidique est primordial au bon fonctionnement de l'organisme. Il est assuré par différents signaux endocriniens, métaboliques ou nerveux. Lors d'une prise alimentaire, le glucose est absorbé par le tractus digestif : une hyperglycémie est alors détectée dans la veine porte hépatique (Burcelin, 2000) et plusieurs mécanismes entrent en jeu pour rétablir rapidement une glycémie normale. L'insuline est alors la principale hormone impliquée dans cette régulation. L'insuline est un hétéro dimère constitué de deux chaînes polypeptidiques. La chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés) sont reliées entre elles par deux ponts disulfures (Portha *et al.*, 2007).

Les deux chaînes sont attachées ensemble par deux liaisons disulfure inter-chaînes (CysA7-CysB7 et CysA20-CysB19), alors que la chaîne A contient une liaison disulfure intra-chaîne supplémentaire (CysA6-Cymaire) de l'insuline humaine (figure 01) (Dodson et Steiner., 1998).



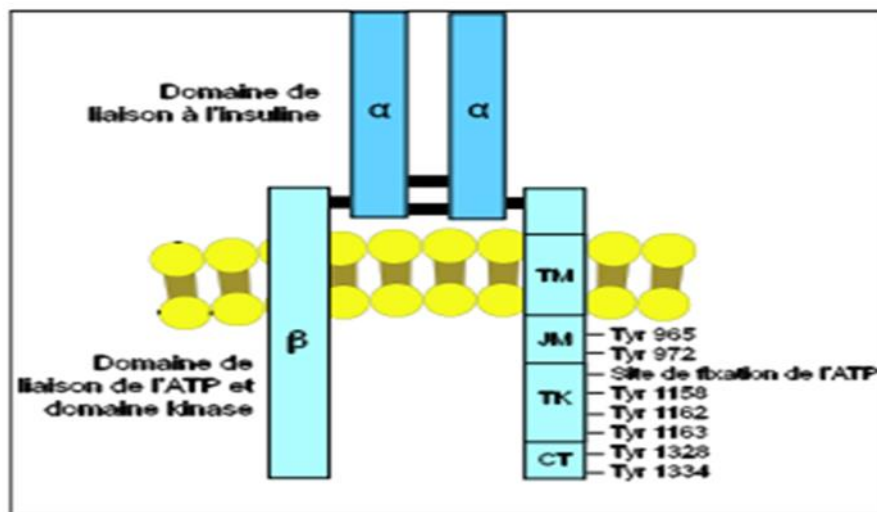
**Figure 01** : Structure primaire de l'insuline (Magnan and Ktorza, 2005.).

### 1.2. Récepteur et signalisation

#### 1.2.1. Récepteur à l'insuline

Il appartient à la famille des récepteurs de facteurs de croissance qui possèdent une activité tyrosine kinase dans leur domaine intracellulaire. Formé de deux chaînes  $\alpha$  extracellulaires reliées par des ponts disulfures à deux chaînes  $\beta$  transmembranaires. Chaque sous-unité  $\alpha$  possède un domaine complet de liaison de l'hormone situé de part et d'autre

d'une séquence riche en cystéines permettant l'établissement de ponts disulfure structurant ce domaine. Cependant, une seule molécule d'insuline, en se liant avec une haute affinité sur les deux sous-unités  $\alpha$ , va permettre d'activer complètement le récepteur. Les deux sous-unités  $\beta$  ont chacune un domaine transmembranaire donnant au récepteur une mobilité latérale. En l'absence d'insuline, les sous-unités  $\alpha$  exercent une contrainte inhibitrice et maintiennent le récepteur en configuration inactive. La liaison de l'hormone permet un rapprochement des deux sous-unités  $\beta$  et l'activation du récepteur. Chaque sous-unité  $\beta$  porte un domaine à activité tyrosine kinase intracellulaire possédant une boucle régulatrice qui occlut le site catalytique tyrosine kinase et le maintient à l'état inactif (Figure 02) (Kido *et al.*, 2001 ; Le Roith et Zick., 2001).



**Figure 02** : Schéma représente le récepteur de l'insuline (Youngren, 2007)

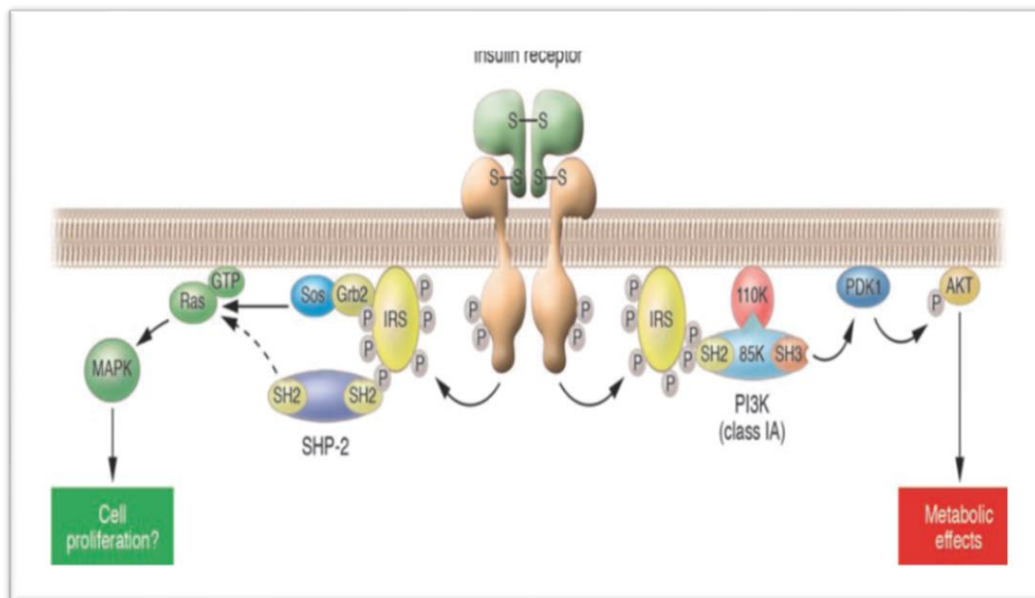
**TM** : transmembranaires ; **JM** : domaine juxta membranaire; **TK** : domaine tyrosine kinase ;  
**CT** : domaine C-terminal.

### 1.2.2. Signalisation à l'insuline

La liaison de l'insuline à son récepteur de surface cellulaire déclenche une cascade d'événements intracellulaires (Shulman., 2002) sous forme de phosphorylations de substrats par des tyrosines kinases (Bouglé *et al.*, 2009). Le récepteur à l'insuline s'autophosphoryle sur les tyrosines de la chaîne B lors de la fixation de l'insuline sur la chaîne A. Ce mécanisme permet l'activation d'une activité tyrosine kinase de la chaîne B. Cette activité tyrosine kinase induit également la phosphorylation des substrats tels que les Insulin Receptor Substrates (IRS), Il s'en suit deux voies principales d'activation : L'une des voies est le recrutement de la

protéine Sos (son of sevenless) via la protéine d'adaptation Grb2 (growth factor receptor-bound protéine 2). SOS active alors Ras qui est aussi dépendante de l'activation de SHP2 (domain protein tyrosine phosphatase-2). SHP2 a été phosphorylé par l'IRS. L'activation de Ras permet l'activation de la voie des MAPKinase (Mitogen activating protein kinase) dont les effets nucléaires favorisent la prolifération cellulaire (Kasuga, 2006) et l'apoptose (Bouglé *et al.*, 2009).

L'autre voie induite par phosphorylation de l'IRS active la phosphorylation de la PI3Kinase. Par réaction en cascade, elle active la PDK1 puis la phosphorylation de la protéine Akt (sérine-thréonine kinase) (Kasuga, 2006). Cette voie a été appelée la voie du signal métabolique, pour son rôle dans le contrôle des métaboliques protidiques, glucidiques et lipidiques (figure 3) (Bouglé *et al.*, 2009).



**Figure 03** : Mécanismes de signalisation de l'insuline (Kasuga, 2001).

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 (Kido *et al.*, 2001).

### **1.3. Rôle de l'insuline dans le métabolisme**

L'insuline joue un rôle anabolique majeur au niveau de l'organisme, dans la mise en réserve et l'utilisation des substrats énergétiques, qu'ils soient glucidiques ou lipidiques. Elle exerce également des fonctions sur le métabolisme protéique, la croissance, le contrôle de l'apoptose et le développement. L'ensemble de ces effets résulte de la liaison de l'hormone à un récepteur spécifique présent à la surface de toutes les cellules de l'organisme, mais exprimé surtout dans ses trois tissus cibles, le foie, le muscle et le tissu adipeux (Baldwin, 1993).

#### **1.3.1. Action de l'insuline sur le transport du glucose**

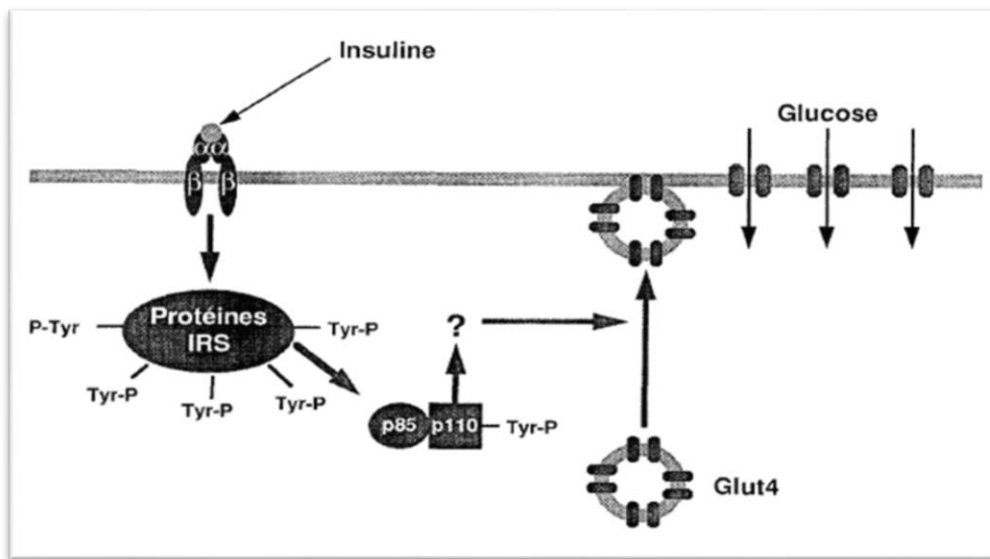
La pénétration du glucose vers l'intérieur de la cellule doit donc se faire à l'aide de transporteurs qui lui permettent de traverser les lipides membranaires (Baldwin, 1993). Deux types de transporteurs du glucose ont été identifiés : l'un permet le cotransport du sodium et du glucose, et l'autre la diffusion facilitée du glucose. Le co-transporteur sodium-glucose est impliqué dans la capture du glucose dans l'intestin grêle et dans le tube contourné proximal du rein. Dans les autres organes, la capture du glucose se fait par une diffusion facilitée à travers des protéines qui permettent un transport passif et saturable selon un gradient de concentration. Il existe cinq isoformes identifiées de ces transporteurs qui permettent de réguler la capture du glucose en fonction des tissus selon leur expression cellulaire. GLUT4 est présent uniquement dans les tissus où le transport du glucose est contrôlé par l'insuline, c'est-à-dire le muscle, le tissu adipeux et le cœur (Kahn, 1994).

#### **1.3.2. Action de l'insuline sur le métabolisme glucidique**

Le rôle de l'insuline sur le métabolisme du glucose s'exerce principalement dans le foie et le muscle squelettique. Dans le foie, elle stimule l'utilisation et le stockage du glucose sous forme de lipides et de glycogène. Dans les hépatocytes, l'insuline bloque la production et le relargage de glucose en inhibant l'expression d'enzymes intervenant dans la néoglucogenèse et la glycogénolyse en agissant directement sur son récepteur hépatique ou indirectement en diminuant la quantité d'acides gras libres dans la veine porte. Elle permet également l'augmentation de la lipogenèse à partir du glucose ainsi que la synthèse de glycogène par activation du glycogène synthase. Dans le muscle squelettique, l'insuline augmente l'expression de l'hexokinase II ce qui augmente la phosphorylation du glucose et diminue ainsi la quantité de glucose libre intracellulaire, la concentration en glucose étant une étape



limitante du transport du glucose. L'insuline stimule également la synthèse de glycogène (Figure 04) (Saltiel, 2001).



**Figure 04 :** Action cellulaire de l'insuline sur le métabolisme glucidique (Avignon *et* Monnier, 1999).

### 1.3.3. Action de l'insuline sur le métabolisme lipidique

L'insuline agit sur le stockage, la mobilisation et l'utilisation des acides gras en activant la lipogénèse et en stimulant l'expression des enzymes de synthèse de lipides (Saltiel, 2001). La synthèse d'acides gras dépendante de l'acétyl-CoA carboxylase est stimulée par l'insuline par la voie de la PI 3-kinase. La lipolyse est stimulée par la phosphodiésterase, elle-même inhibée par l'insuline via la PI 3-kinase et vraisemblablement la protéine kinase B (Moule *et al.*, 1995).

### 1.3.4. Action de l'insuline sur le métabolisme protéique

L'insuline stimule la synthèse protéique dans toutes les cellules de l'organisme, dans les minutes qui suivent leur exposition à l'hormone. Cette action semble se faire par la stimulation de la phase d'initiation de la traduction de l'ARNm (Hunter, 1994).

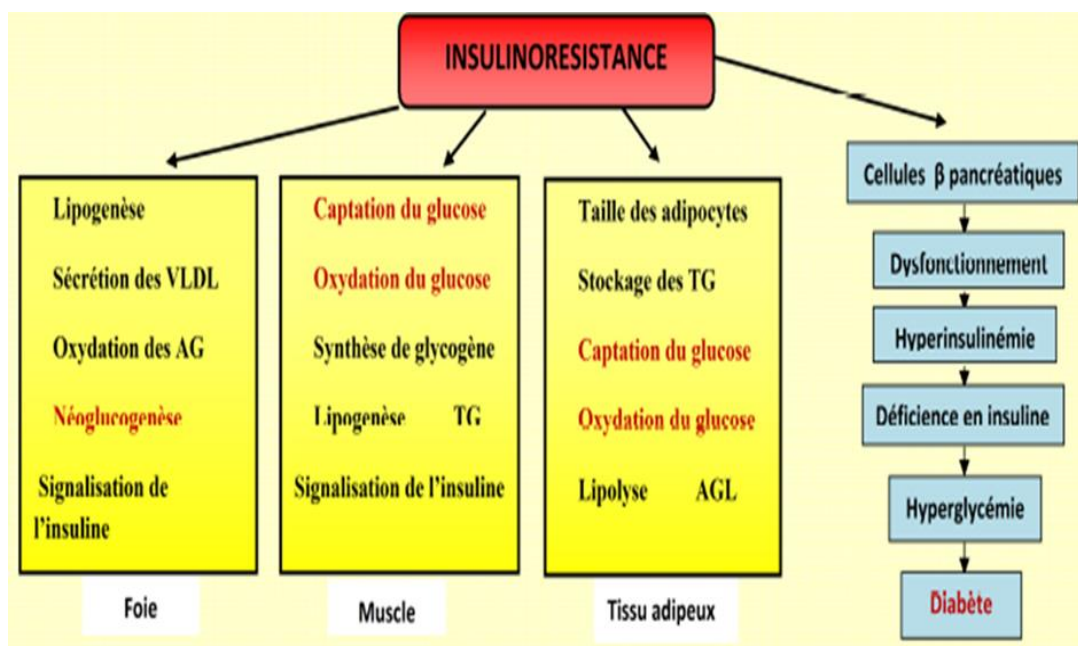
## 2. L'insulinorésistance

L'insulinorésistance est définie comme un défaut d'action de l'insuline sur ses tissus cibles (le muscle cardiaque, le muscle squelettique, le tissu adipeux et le foie), compensée par une hypersécrétion d'insuline et se traduisant par une hyperinsulinémie. Elle conduit à terme au diabète de type 2, qui associe un défaut de sensibilité à l'insuline et à un défaut de

sécrétion d'insuline. On parle parfois d'état « pré-diabétique », car l'insulinorésistance est longtemps silencieuse. L'insulinorésistance se manifeste principalement par un défaut de transport du glucose dans le muscle squelettique et le myocarde. Dans le tissu adipeux, elle conduit à un défaut d'inhibition de la lipolyse. Dans le foie, elle conduit à un défaut d'inhibition de la production de glucose et une altération du métabolisme lipidique (Hossain, 2007).

## 2.1. Effets métaboliques de l'insulinorésistance

Au niveau du muscle, le glucose est relativement moins capté. Le foie continue à fournir anormalement le glucose. Aussi devant l'incapacité de l'insuline à inhiber correctement la lipolyse, les cellules adipeuses enrichissent le sang en acides gras libres. Cet excès d'acides gras en retour concourt à diminuer encore la captation de glucose par le muscle (Figure 05) (Wémeau *et al.*, 2014).



**Figure 05** : Effets et troubles métaboliques de l'insulinorésistance (Dunning *et al.*, 2007)

L'intestin est considéré comme un organe sensible à l'insuline. Toutefois, il n'est toujours pas établi si l'intestin peut devenir résistant à l'insuline lors de situations métaboliques anormales. Si l'intestin peut effectivement développer une résistance à l'insuline, il serait alors possible que celui-ci présente certains défauts métaboliques, par exemple dans la régulation du métabolisme des lipides et des lipoprotéines, contribuant ainsi à l'apparition de la dyslipidémie caractéristique à l'obésité, à la résistance à l'insuline et au DT2 (Bastard *et al.*, 2006).

## 2.2. Mécanisme moléculaire de l'insulinorésistance

L'arrêt du signal insuline ou la résistance à l'hormone mettent en jeu plusieurs mécanismes. Un des plus étudiés actuellement implique la phosphorylation antagoniste de résidus sérine ou thréonine sur le récepteur et surtout sur les protéines substrats IRS. Plusieurs molécules métaboliques ou de signalisation sont capables d'induire cette phosphorylation, telles les acides gras libres et le glucose, mais également des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF (tumor necrosis factor)- $\alpha$  ou l'IL (interleukine)-1 $\beta$  ou même l'insuline, tous agents responsables de résistance à l'insuline (Bastard *et al.*, 2006).

### 2.2.1. TNF- $\alpha$

Cette cytokine pro-inflammatoire est produite par de nombreuses cellules mais en priorité par les macrophages et les lymphocytes (Bastard *et al.*, 2006). Le TNF- $\alpha$  active dans la cellule la cascade pro-inflammatoire NF $\kappa$ B qui via la kinase IKK $\beta$  peut phosphoryler les protéines IRS sur sérine et entraîner une résistance à l'insuline (Ruan *et al.*, 2002 ; Gao Z *et al.*, 2002). Aussi il y a d'autres kinases qui est la JNK empêche l'interaction du domaine PTB de IRS1/2 avec la tyrosine 960 phosphorylée du RI et induit un état de résistance à l'insuline (Figure 04). Cette kinase est activée par l'insuline elle-même, ce qui pourrait expliquer l'insulinorésistance associée aux états d'hyperinsulinisme (Lee *et al.*, 2002), mais aussi par le TNF $\alpha$  et les acides gras libres sécrétés par le tissu adipeux, qui sont impliqués dans la résistance à l'insuline en pathologie (Rui *et al.*, 2001 ; White, 2002 ; Hirosumi *et al.*, 2002).

### 2.2.2. Interleukine-6

L'interleukine-6 (IL-6) est également produite par de nombreux tissus dont le tissu adipeux. Sa production est augmentée dans l'obésité, 15-30 % de l'IL-6 circulante pouvant alors provenir du tissu adipeux et surtout des cellules non adipocytaires. Sa production par le tissu adipeux viscéral est plus importante que par le sous cutané. L'IL-6 agit de façon paracrine ou endocrine (Bastard *et al.*, 2006). Dans le foie, l'adipocyte, l'IL-6 induit une résistance à l'insuline et bloque sa différenciation (Lagathu *et al.*, 2003). Au niveau hépatique, l'IL-6 a des effets hépato protecteurs à court terme, mais augmente la sensibilité à l'apoptose à long terme (Jin *et al.*, 2006).



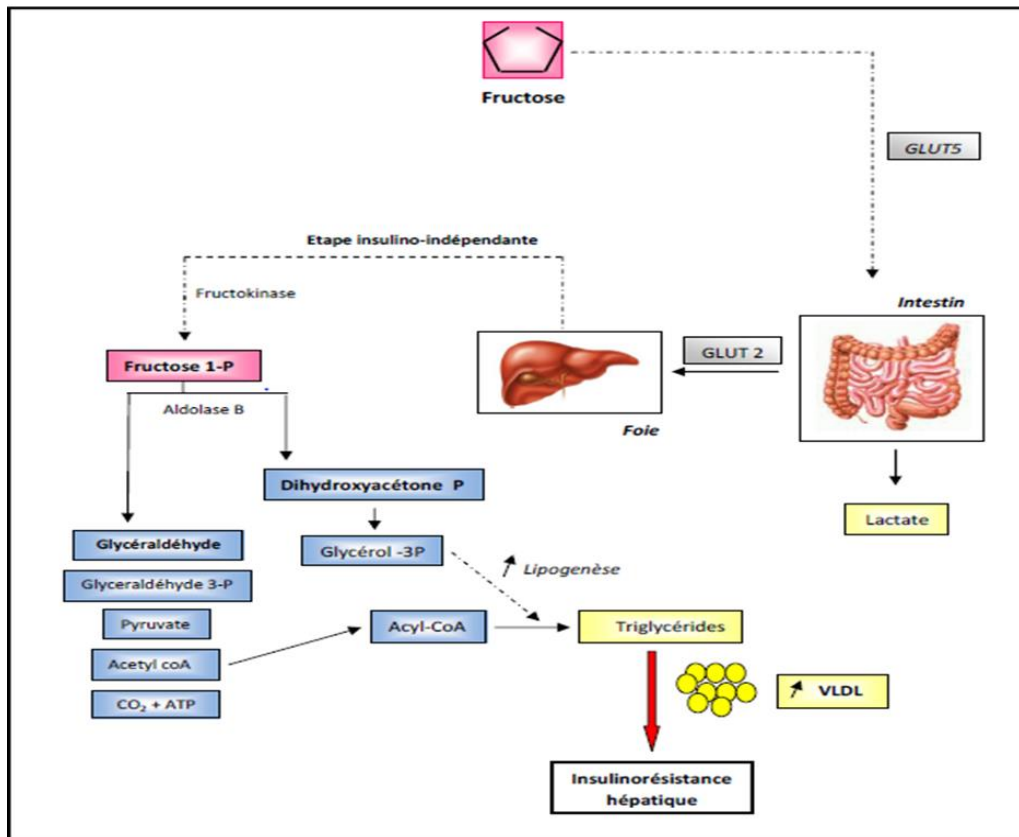
cristallin, les vésicules séminales et le placenta. Il peut également être produit à partir du glucose par la voie du sorbitol (Mayes, 1993).

### 3.2. Métabolisme du fructose

Le fructose est principalement métabolisé dans le foie. Dans ce tissu, ce sucre emprunte une voie métabolique particulière faisant intervenir trois enzymes spécifiques : la fructokinase (FK), l'aldolase type B et la triose kinase (Heinz *et al.*, 1968) qui permettent au fructose de rejoindre les voies de la glycolyse et de la néoglucogénèse. Le métabolisme du fructose, à la différence de celui du glucose, est indépendant de l'insuline jusqu'à son entrée dans ces deux voies métaboliques (Skoog and Bharucha, 2004).

Le fructose est absorbé par l'intestin par transport passif et par diffusion facilitée, grâce aux transporteurs GLUT5 au niveau de la lumière des entérocytes et GLUT2 au niveau basolatéral (Skoog and Bharucha, 2004). De même, il a été prouvé qu'un régime enrichi en fructose allait modifier l'absorption intestinale du glucose (Tobin *et al.*, 2008). Le fructose métabolisé dans les intestins donne principalement du lactate et du glucose (Tappy and Lé., 2010). Néanmoins, la majeure partie du fructose traverse intacte les entérocytes et parvient alors au foie par la veine porte, où il va être métabolisé. Lorsqu'il est non absorbé, le fructose induit des problèmes de transit et des crampes intestinales (Mayes, 1993).

Le foie est un excellent capteur de fructose. Près de 90% du fructose absorbé pénètre dans le foie où il est ensuite métabolisé (Mayes, 1993). Le fructose rentre dans les hépatocytes par l'intermédiaire de GLUT2 et subit ensuite de nombreuses modifications (Hallfrisch, 1990; Mayes, 1993). La première étape du métabolisme du fructose est sa phosphorylation. Cette dernière peut se faire par l'intermédiaire de deux enzymes : l'hexokinase, ubiquitaire, qui va phosphoryler le fructose sur le carbone 6 (F-6P) et la fructokinase, spécifique du foie, qui va phosphoryler le fructose sur le carbone 1 (F-1P). La fructokinase a une très forte affinité pour le fructose. Au niveau du foie c'est donc par elle que le catabolisme du fructose va passer (Figure 07) (Basciano *et al.*, 2005).

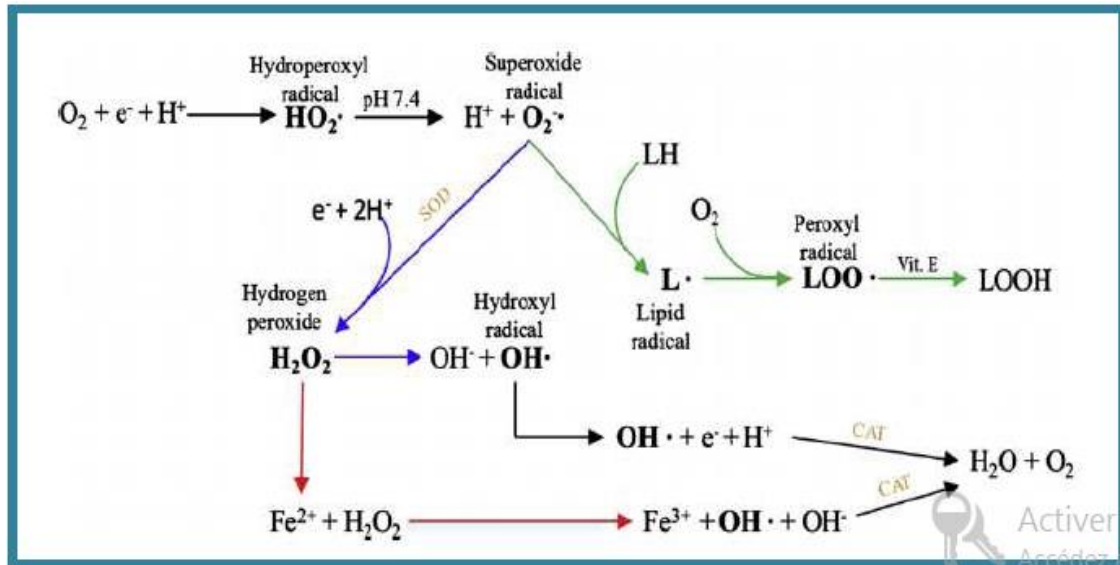


**Figure 07:** Métabolisme hépatique et intestinal du glucose et du fructose (Basciano *et al.*, 2005).

### 3.3. La Relation fructose, stress oxydatif et insulinorésistance

#### 3.3.1. Fructose et stress oxydant

Les radicaux libres (ROS) sont des molécules instables et fortement réactives (Suresh Kumar *et al.*, 2008), entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (Ratnam *et al.*, 2006). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece *et al.*, 2007). Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des ROS (Serdar *et al.*, 2006). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (Deaton et Marlin., 2003). Les ROS peuvent être divisés en deux catégories: les molécules d'oxygène qui ont un électron non apparié et les molécules d'oxygène qui sont dans un état excité. Le premier type comprend les radicaux d'anion Superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), les radicaux hydroxyles ( $OH^{\cdot}$ ), les radicaux peroxydes lipidiques ( $LOO^{\cdot}$ ), et les radicaux d'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ) (Figure 08) (Carocho et Ferreira, 2013).



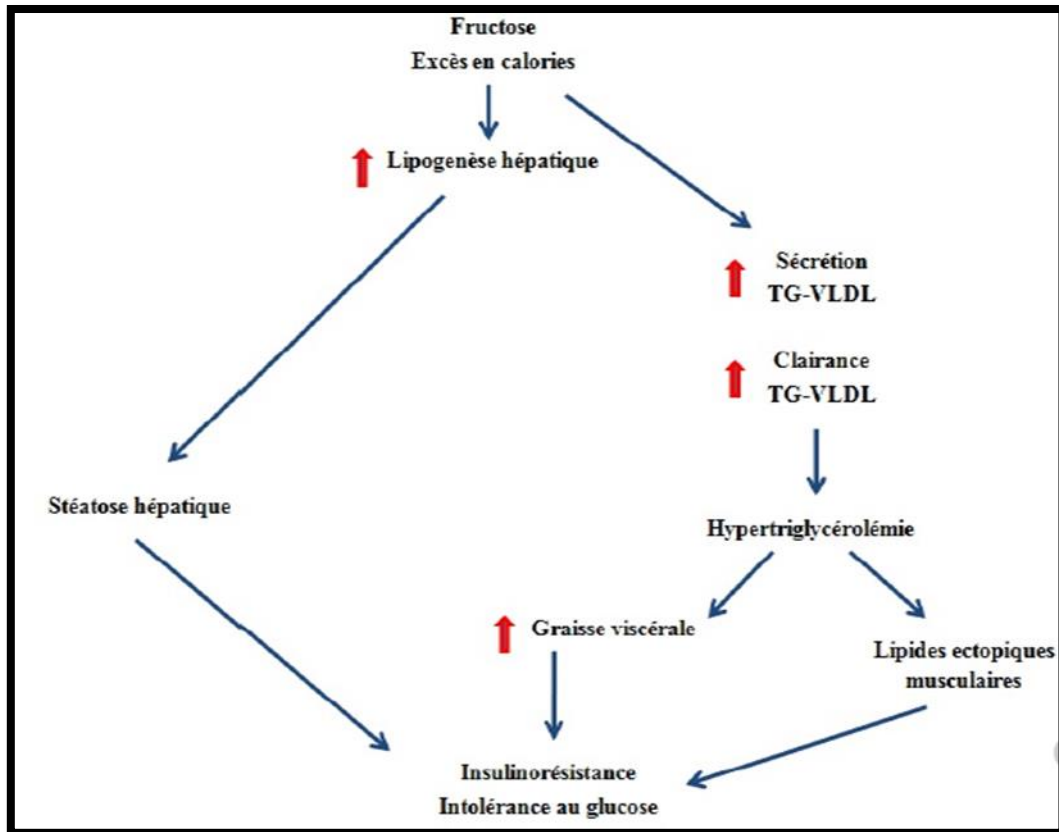
**Figure 08:** Les principales réactions conduisant à la production des ROS (Carocho et Ferreira, 2013)

Les régimes riches en fructose seraient pro-oxydants, qu'il s'agisse d'effets directs ou de potentialisation d'un stress oxydant ou inflammatoire préexistant, par exemple à la suite d'une carence en magnésium (Busserolles, 2003). Dès la première semaine d'un régime riche en saccharose ou en fructose, plusieurs auteurs rapportent une aggravation du stress oxydant, évaluée par une diminution du taux plasmatique en glutathion réduit (GSH) et des enzymes antioxydants (superoxyde dismutase SOD, glutathion peroxydase GPX et catalase CAT) ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique (Thirunavukkarasu and Anuradha, 2004; Armutcu *et al.*, 2005).

### 3.4. Fructose et insulino-résistance

Le fructose induit l'obésité, le diabète et la dyslipidémie et une diminution de la sensibilité à l'insuline dans le foie et dans le muscle aboutissant au développement de syndrome métabolique (Bizeau., 2005; Tappy *et al.*, 2010). En plus lorsqu'il est ingéré en grandes quantités dans le cadre d'un régime hypercalorique, il peut provoquer l'insulino-résistance hépatique, l'augmentation totale de la masse de graisse viscérale et l'accumulation de graisse ectopiques dans le foie et le muscle. Ces effets peuvent contribuer, à long terme, au développement de syndrome métabolique (Miller and Adeli., 2008). Plusieurs études ont apporté les effets délétères de la consommation de fructose sur l'hémostasie de glucose et de la sensibilité à l'insuline. La consommation de glucose induit l'augmentation de la glycémie (Liu *et al.*, 2006) et conduit à l'installation de l'insulino-résistance chez des sujets sains (Faech *et al.*, 2005).





**Figure 09 :** Effet de fructose sur le développement de l'insulinorésistance (Srividhya et Anuradha, 2002).

Le fructose contrairement au glucose ne stimule pas la sécrétion d'insuline par les îlots pancréatiques probablement par l'absence des transporteurs GLUT5 au niveau des cellules  $\beta$  pancréatiques (Bray *et al.*, 2004). L'insulinorésistance hépatique est marquée par la suppression de la production endogène de glucose (Pagliassotti *et al.*, 1996 ; Podolin *et al.*, 1998).

La cause majeure de l'insulinorésistance est l'augmentation des acides gras circulants estérifiés par la suite en TG qui sont accumulés dans le foie et le muscle suite à l'exposition à un régime enrichi en graisses ou en hydrates de carbone. L'insulinorésistance se manifeste par des altérations de métabolisme de glucose et de lipide dans les tissus insulinosensibles: foie, muscle et tissu adipeux (Chong *et al.*, 2007). Ainsi le développement de la résistance à l'insuline hépatique est observée juste à la suite de l'exposition à un régime riche en fructose tandis que l'apparition de la résistance à l'insuline du muscle est retardée (Dekker *et al.*, 2009). Ceci suggère que la résistance à l'insuline induite par le fructose est étroitement liée au dépôt lipidiques importants et de la lipotoxicité tissulaire-spécifique (Unger, 2003).





# Chapitre II

---

## Lø chromø

## Chapitre II : Le Chrome

### 1. Généralités

Le chrome est un élément chimique de symbole Cr et de numéro atomique  $Z=24$ . Il fait partie de la série des métaux de transition. Le chrome est naturellement présent dans l'environnement ( $\approx 0,02\%$  de la croûte terrestre). Il se trouve sous plusieurs degrés d'oxydation (Barceloux, 1999), les deux principaux sont : Le chrome trivalent III ( $\text{Cr}^{+3}$ ), oligo-élément essentiel et le chrome hexavalent VI ( $\text{Cr}^{+6}$ ), toxique mutagène, présent en milieu industriel (Cynober *et al.*, 2000). Le chrome trivalent est l'état le plus répandu dans la nature. C'est sous cette forme que l'on retrouve le chrome dans l'alimentation, les compléments alimentaires et les spécialités pharmaceutiques (Barceloux, 1999), par exemple, le picolinate de chrome, le polynicotinate de chrome, le chlorure de chrome (Anderson, 1998 ; Matey *et al.*, 2000; Roussel et Hininger, 2009). Le chrome sous forme de picolinate (le complexe le plus fréquemment retrouvé dans les compléments alimentaires, dans la plupart des pays) pénètre les cellules par un mécanisme différent. La libération du chrome à partir du picolinate de chrome (afin de permettre l'utilisation de l'oligoélément par les cellules) nécessite une réduction des ions Cr, processus pouvant potentiellement mener à la production de radicaux hydroxyles nuisibles (Vincent, 2000).

#### 1.1. Sources apport alimentaire

Les aliments les plus riches en chrome sont la levure de bière et le foie de veau, Le brocoli, les haricots verts, les pommes de terre, les céréales à grains entiers, le germe de blé, le gruyère, les prunes, les champignons, les asperges, les viandes, les jaunes d'œufs (Balk, Tatsioni *et al.*, 2007). L'apport alimentaire en chrome est sous-optimal chez les individus « normaux » et il semble pratiquement impossible d'atteindre les apports optimaux si l'apport calorique total est inférieur à 2500 kcal/j (Anderson, 1988), (apports quotidiens en Cr compris entre 50 et 200  $\mu\text{g}/\text{jour}$ ).

#### 1.2. Métabolisme du chrome

Le parcours du chrome dans l'organisme dépend de son état d'oxydation. 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.*, 1983).

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 Favier-Hininger, 2009).

### **1.3. Le chrome dans les suppléments alimentaires**

Le chrome trivalent est trouvé également dans de nombreux suppléments multivitaminés /minéraux (cefalu et Hu, 2004) et dans les suppléments spécifiques comme le nicotinate de chrome, levure de haut –chrome et le citrate de chrome, picolinate de chrome (landman *et al.*, 2014).

Le picolinate de chrome est un complément nutritionnel qui contient du chrome trivalent chélaté avec trois molécules d'acides picoliniques, ce complément a été formulé dans le but d'augmenter l'absorption de Cr trivalent (Mozaffari *et al.*, 2009; Stout *et al.*, 2009).

Le chrome sous forme de picolinate de chrome (le complexe le plus fréquemment retrouvé dans les compléments alimentaires, dans la plupart des pays) pénètre les cellules par un mécanisme différent. La libération du chrome à partir du picolinate de chrome (afin de permettre l'utilisation de l'oligoélément par les cellules) nécessite une réduction des ions  $\text{Cr}^{+3}$ , processus pouvant potentiellement mener à la production de radicaux hydroxyles nuisibles (Vincent, 2000).

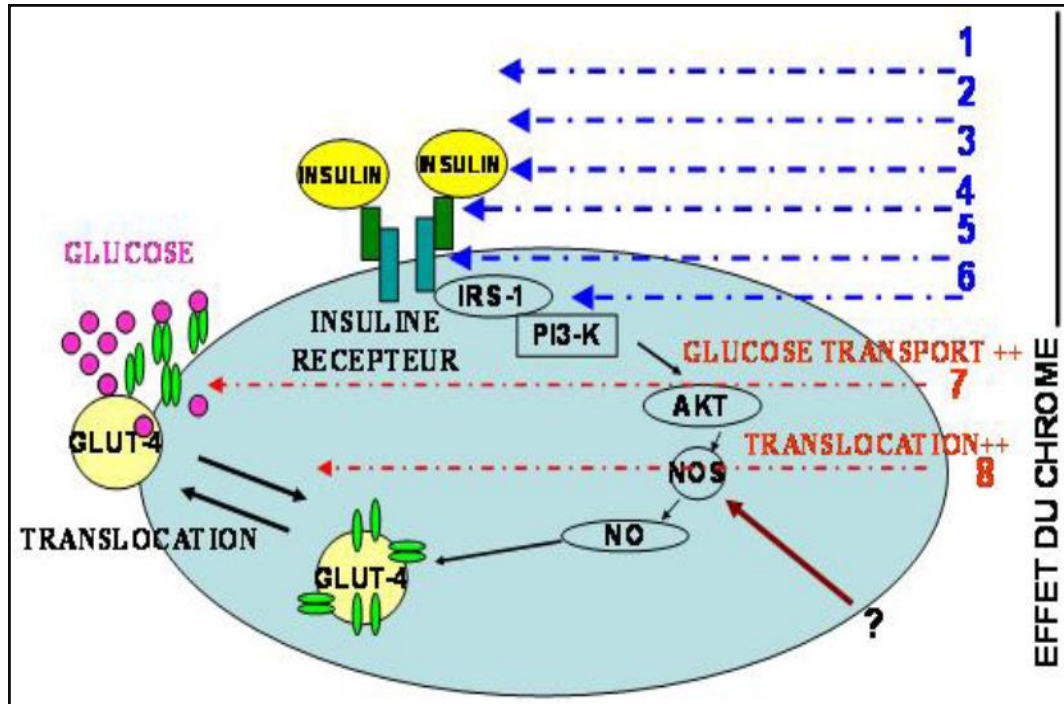
## **2. Rôle de chrome dans la réduction de l'insulinorésistance**

Le chrome, oligoélément essentiel, joue un rôle clef dans l'homéostasie glucidique via un effet potentialisateur de l'insuline, exerce plusieurs actions dans différents niveaux (Anderson, 2002).

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

Il existe un lien étroit entre le chrome et l'activation de l'insuline. Seul le chrome trivalent, nutriment essentiel, possède cette propriété (Mertz, 1993). 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 des récepteurs. La liaison de l'insuline à la sous-unité alpha du récepteur est induite par une cascade de réactions de phosphorylation par la tyrosine kinase qui est activée par le chrome. Le chrome, parallèlement, inhibe la phosphotyrosine phosphatase qui, elle, inactive le récepteur de l'insuline (Anderson, 1998).



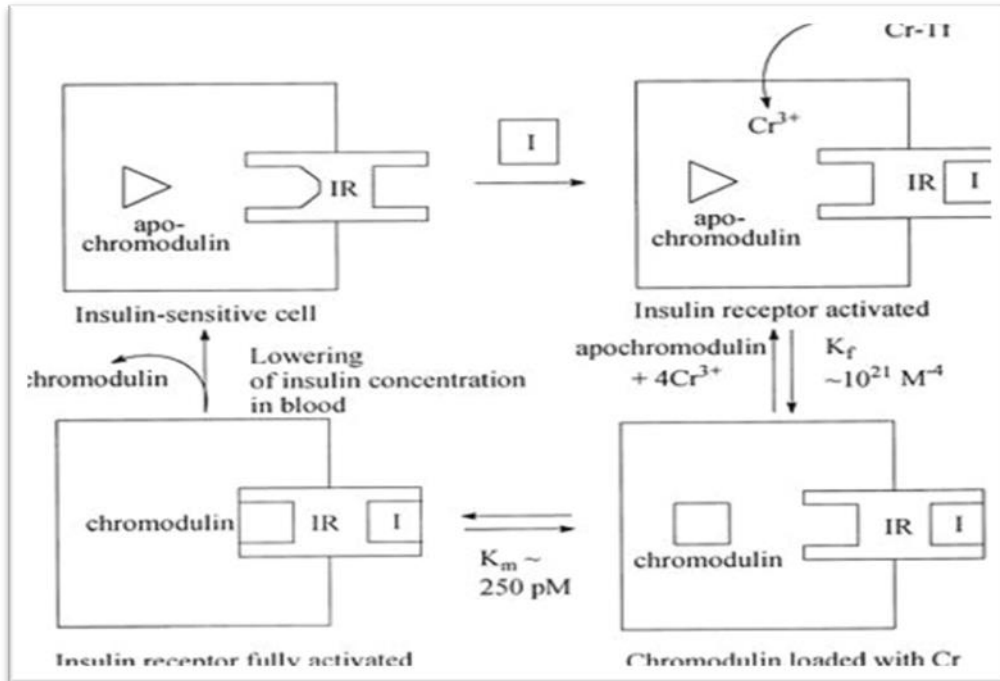
**Figure 09:** Mécanisme d'action du chrome sur la signalisation de l'insuline (Anderson, 2003). **1** : activation de la tyrosine kinase ; **2** : inhibition IR Phosphatase ; **3** : augmente l'insuline Binding ; **4** : augmente le nombre des récepteurs à l'insuline ; **5** : augmente la phosphorylation des IR ; **6** : augmente la phosphorylation IRS-1 ; **7** : active le transport du glucose ; **8** : active la translocation des GLUT-4.

## 2.2. Action de chrome via la chromoduline

Un oligopeptide de liaison du chrome, la chromoduline (low-molecular-weight-chromium-binding substance ou LMWCr) assurerait une fonction d'auto-amplification du système insulinaire (Yamamoto *et al.*, 1981). La chromoduline possède un poids moléculaire d'environ 1500 Da et se compose de seulement quatre types d'acides aminés, à savoir la glycine, la cystéine, le glutamate et l'aspartate (Davis et Vincent, 1997).

La chromoduline est stockée sous sa forme libre (apochromoduline) dans le cytosol (Yamamoto *et al.*, 1981) et le noyau des cellules hépatiques (Clodfelder *et al.*, 2001). Une fois saturée en chrome, la chromoduline va pouvoir se lier au récepteur de l'insuline,

renforçant ainsi son activité tyrosine kinase (Davis et Vincent, 1997). Une augmentation des concentrations plasmatiques d'insuline induit un flux de chrome depuis le sang jusqu'aux cellules insulinosensibles. Le transport du chrome semble être assuré par la protéine transferrine (Clodfelder *et al.*, 2001).



**Figure 10 :** Mécanisme proposé pour l'activation de l'activité kinase du récepteur de l'insuline par la chromoduline, en réponse à une stimulation par l'insuline (Davis et Vincent, 1997).

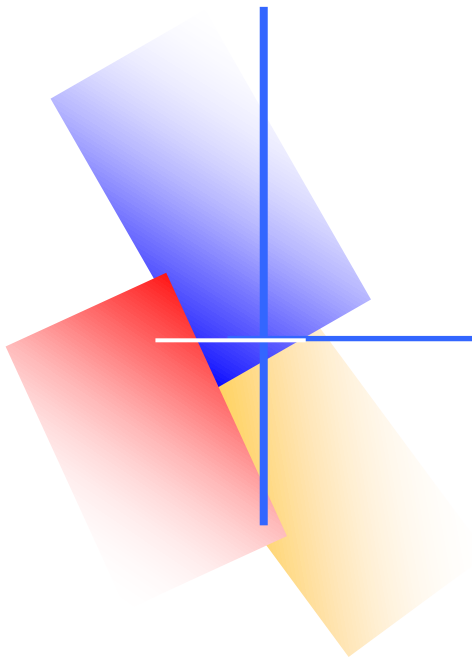
### 2.3. Action de chrome dans le métabolisme de lipide

L'insuline joue un rôle dans le métabolisme des lipides. Il semble donc logique que le chrome, en tant que potentialisateur de l'insuline, ait une action indirecte à ce niveau. De plus, un effet indépendant de l'hormone a été évoqué : il semble que le chrome inhibe l'enzyme hépatique hydroxy-méthyl-glutaryl-Coenzyme A réductase (HMGCoA réductase), enzyme clé de la synthèse du cholestérol, d'où un effet hypolipémiant (Zima *et al.*, 1998).

Dans une étude récente, Cefalu *et al* (2010), ont rapporté une baisse de la quantité de lipides myocellulaires, ainsi qu'une amélioration de la sensibilité à l'insuline, chez des sujets insulino-résistants recevant du Cr, et ont suggéré que le Cr pourrait modifier la sensibilité à l'insuline via une modulation du métabolisme des lipides dans les tissus périphériques.

### 3. 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 (Evans *et al.*, 2005). Le chrome présenterait un effet antioxydant indirect qui passerait par la régulation des cytokines pro-inflammatoires et de l'insulinémie, marqueurs biologiques dont l'élévation dans le sang est associée à l'élévation du stress oxydant (Roussel et Favier, 2009). Le chrome bloque également la sécrétion du TNF- $\alpha$  et la peroxydation lipidique dans les cellules soumises à un stress induit par le peroxyde d'hydrogène. Ces résultats suggèrent un effet antioxydant du chrome trivalent. Récemment, une autre étude a décrit un effet protecteur du chrome contre la glycosylation protéique dans les érythrocytes traités par une forte concentration en glucose (Jain *et al.*, 2006).



# Matériel et méthodes

---

## **1. Matériel biologique et conditions d'élevage**

Les rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats femelles adultes de souche *Wistar albinos*, pesant entre 106g et 140 g, fournis par l'Institut Pasteur (Algérie). Les rats sont maintenus à l'animalerie de l'université de Jijel dans les conditions standard ; à une température ambiante de 20-25°C et une photopériode de 12h/12h. Avant le début des expérimentations les rats sont nourris avec un régime standard.

## **2. Produits utilisés**

Dans notre travail, nous avons utilisé le fructose (25%) sous forme cristallisé dissout dans l'eau potable pour induire une insulino-résistance et le picolinate de chrome ; un supplément alimentaire sous forme de comprimé 100 µg/kg/j.

## **3. Traitement des animaux**

Les rats ont été répartis en 3 groupes :

**Le 1<sup>er</sup> Groupe:** 3 rats sous un régime alimentaire normal (**T**).

**Le 2<sup>ème</sup> Groupe:** 4 rats sous un régime riche en fructose (25%) dans l'eau de boisson (**Fr**) (Cancelas et al; 2008).

**Le 3<sup>ème</sup> Groupe 3 :** 3 rats sous un régime riche en fructose (25%) et supplémenté par une dose de 100 µg/kg/j de picolinate de chrome par gavage pendant 4 semaines (**Fr+Cr**) (Sahin et al ;2013).

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

## **4. Prélèvement des échantillons**

### **4.1. Prélèvement sanguin**

Au dernier jour du traitement, le sang est prélevé à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil. Pour chaque rat, les échantillons de sang prélevés ont été récupérés dans des tubes à EDTA, centrifugés à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes, le plasma a été récupéré, aliquoté et congelé à -20 °C pour le dosage des paramètres biochimiques.

### **4.2. Prélèvement des organes**

La paroi abdominale ouverte à la fin de délai d'administration, et après anesthésie légère par le chloroforme (pour immobiliser un peu l'animale et eu meme temps garder la circulation sanguine). Le cœur et les reins de toutes les rattes sont soigneusement prélevés, plongés et lavés dans l'eau physiologique (0,9%) pour éliminer le sang sont maintenus immédiatement à -20°C pour le dosage



des paramètres du stress oxydatif (MDA, GSH, CAT, GPx et SOD). Les tissus destinés à l'étude histologique (foie et intestin) ont été conservés dans une solution de formol tamponé.

La figure 12 représente les différentes étapes du protocole expérimental suivi.

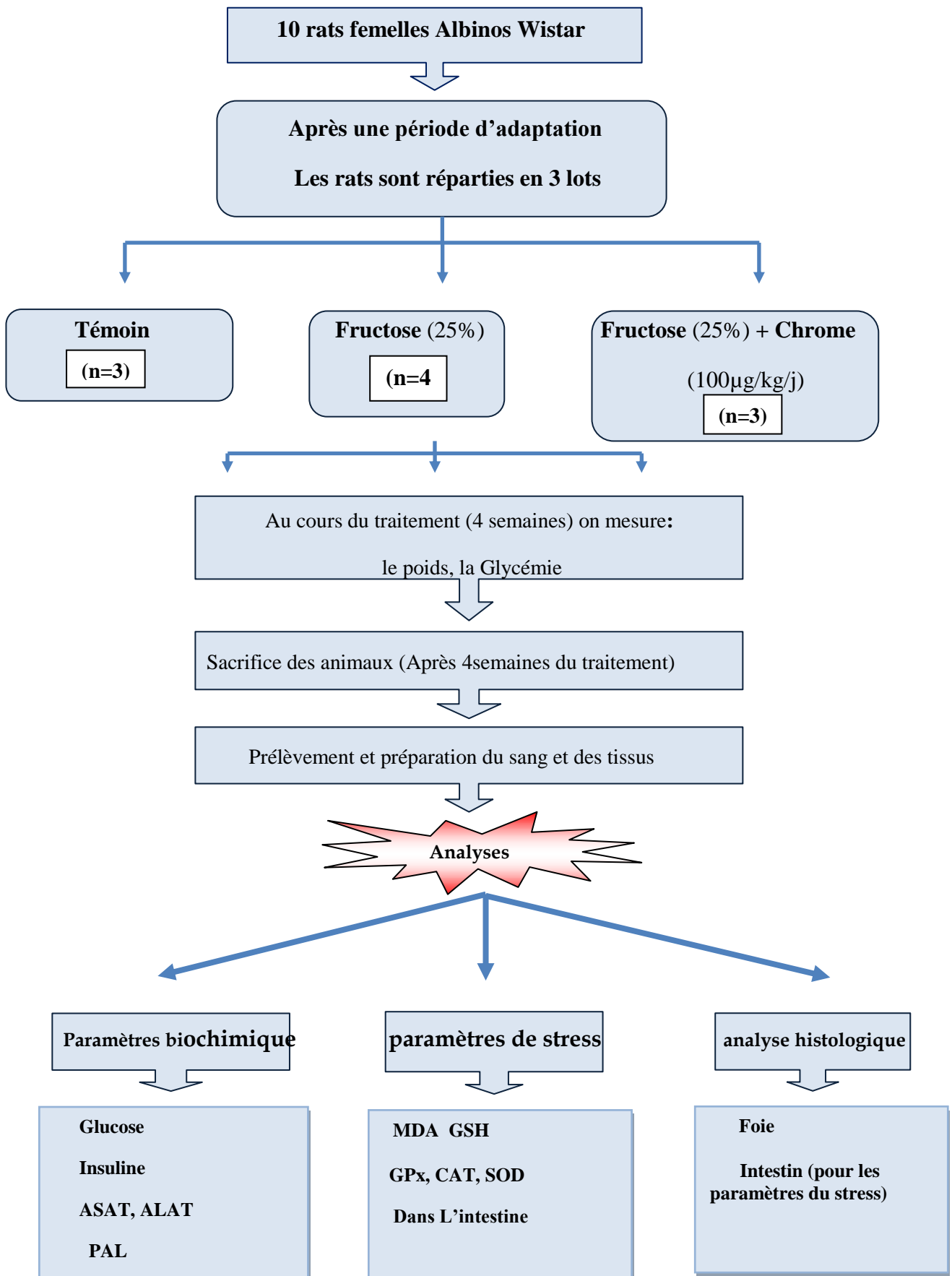


Figure 12 : Schémas représentatif du protocole expérimental.

## 5. Dosage des paramètres biochimiques

### 5.1. Bilan de l'insulinorésistance

#### 5.1.1. La glycémie

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

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

#### 5.1.2. L'insulinémie

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

Le test Elisa insuline est basé sur la capture simultanée de l'insuline humaine de la part de deux anticorps monoclonaux, un immobilisé dans la microplaque, l'autre conjugué avec la peroxydase. Après une période d'incubation déterminée, la séparation libre-lié s'obtient à travers un simple lavage de la phase solide. L'enzyme présente dans la partie liée catalyse la réaction entre le substrat ( $H_2O_2$ ) et le substrat TMB, en développant une coloration bleue qui vire au jaune après ajout de la Solution d'arrêt ( $H_2SO_4$ ). La concentration de l'insuline dans l'échantillon est calculée sur la base d'une série standard. L'intensité de la couleur développée est proportionnelle à la concentration d'insuline présente dans l'échantillon.

#### 5.1.3. Indice HOMA-IR

L'indice HOMA-IR (Homeostasis Assessment InsulinResistance) est basé sur la glycémie et l'insulinémie à jeun (Douglas et al., 2012). Il est calculé selon la formule suivante :

$$\text{HOMA-IR} = [\text{insuline à jeun } (\mu\text{IU/ml}) \cdot \text{glycémie à jeun (mmol/l)}] / 22.5$$

Ali et al.,

2014).

HOMA-IR > 1.8–2.0 : Niveau indiquant une résistance à l'insuline (LaBrecque, 2012)

## 5.2. Bilan Hépatique

### 5.2.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT / TGO)

Le dosage de l'aspartate aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

l'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH+H<sup>+</sup> selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H<sup>+</sup>, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'aspartate aminotransférase (Murray, 1984b).

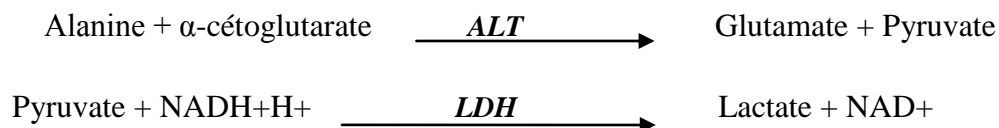
L'activité catalytique de l'ASAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de ASAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

### 5.2.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT / TGP)

Le dosage de l'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H<sup>+</sup>, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'alanine aminotransférase (Murray, 1984b).

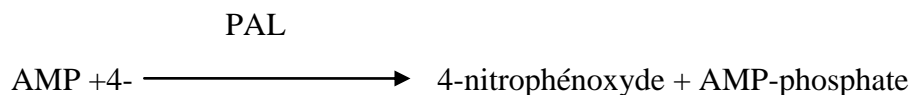
L'activité catalytique de l'ALAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de ALAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750.$$

### 2.3. Dosage de phosphatase alcaline (PAL)

Le dosage de phosphatase alcaline été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

La phosphatase alcaline (ALP) hydrolyse le 4-nitrophénylphosphate ester incolore (4-NPP) en 4-nitrophénoxyde et en phosphate. Le 4-nitrophénoxyde produit par l'hydrolyse enzymatique a une couleur jaune au pH de la réaction. L' amino-2 méthyl-1 propanol (-1) (AMP) joue le rôle d'accepteur de phosphate et de tampon (Tietz. et al , (1983)



La vitesse initiale de formation du 4-nitrophénoxyde est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALP. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 409 nm (Jaffé , 1886).

## 6-Dosage des paramètres du stress oxydatif dans l'intestin

### 6.1. Dosage du malonyldialdéhyde (MDA)

Le dosage de MDA a été fait au niveau du l'intestin. 1g de tissu a été mis en présence de 3 ml d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) à l'aide d'un broyeur pour obtenir un homogénat.

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres. Dans notre étude, le taux du MDA intestinal a été évalué selon la méthode d'Ohkawa et al. (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 532 nm, extractible par les solvants organiques comme le n- butanol.

La concentration du malondialdéhyde (MDA) est calculée par la formule suivante :

$$[\text{MDA}] \text{ (mmol/mg protéine)} = \text{DO échantillon} / l \times \epsilon$$

$L=1 \text{ cm}$  ;  $\epsilon$  = Coefficient d'extinction (MDA-TBA),  $\epsilon= 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Buege et Aust, 1978).

## **6.2. Dosage du glutathion réduit (GSH)**

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

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

1g du tissu est découpé, homogénéisé avec trois volumes de l'acide trichloracétique (TCA) (5 %) à l'aide d'un broyeur de DOUNCE, puis centrifugé à 2 000 rpm. Une aliquote de 50 µl du surnageant est ensuite diluée dans 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH = 8). À 3 ml du mélange de dilution, nous avons additionné 20 µl DTNB (acide 5, 5'-dithiobis- 2-nitrobenzoïc) (0,1 M). Après 15 minutes d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5 %).

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

## **6.3. Dosage de l'activité des enzymes antioxydants**

### **6.3.1 Préparation de la fraction cytosolique intestinal**

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

### **6.3.2. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique**

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode de Clairborne (1985). Le principe repose sur la disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 25°C par la présence de la source enzymatique dans la fraction cytosolique.

Dans une cuve de mesure en quartz nous allons préparer une solution substrat composée de 1 ml de tampon phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1M, pH : 7.4), 0,950 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,019 M), 0,025 ml de la source enzymatique (fraction cytosolique). La réaction est suivie par l'enregistrement de l'absorbance à 560 nm chaque minute pendant deux minutes. L'activité enzymatique est exprimée en UI•mg<sup>-1</sup> de protéine.

**- Calculs**

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante

Dont :

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

K : Constant de vitesse de l

T : Intervalle de temps

A1 : Absorbance dans le temps zéro

A2 : Absorbance après une minute

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine tissulaire selon la formule suivant. U/mg =  $\frac{K}{n}$

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

-UI/mg de Pro :  $\mu$ mole d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consommé/min/mg de protéines.

**6. 3. 3. Mesure de l'activité de la glutathion peroxydase**

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de Floheand Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GSH-Px.

0.4 ml de GSH (0.1 mM) est ajouté à 0.2 ml de l'homogénat, puis nous avons additionné 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), après 5min d'incubation 0.2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.3 mM) sont ajouté pour initier la réaction, après 120 min, 1 ml de TCA (1%) est additionné pour l'arrêter. Le mélange est mis dans un bain de glace pendant 30 minutes, puis centrifuger durant 10 minutes à 3000rpm. 2.2 ml de solution tampon TBS sont additionné à 0.48 ml de surnageant et 0.32 ml de DTNB (1.0 mM), après avoir mélangé 5 min la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm.

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

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

### **6.3.4. Mesure de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)**

La mesure de l'activité de SOD est basée sur la capacité de l'enzyme d'inhiber l'auto oxydation de pyrogallol. Cette mesure est basée sur la méthode modifiée de (Marklund et Marklund, 1974).

Dans une cuve de mesure en quartz nous allons préparer une solution substrat composée de 10 à 20µl de l'échantillon qui sont ajouté aux 850µl de tampon tris HCl (50mM, ph=7.8), puis nous avons additionné 100µl de EDTA(10mM), après nous avons ajoutée 50µl de pyrogallol (2.5mM). l'absorbance est effectuée à 420 nm après chaque minute dans un intervalle de 5 minute.

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

$$\text{UI de SOD / mg protéine} = \text{inhibition totale} / n \times 50$$

$$\text{Inhibition totale} = [\text{DO blan-DO echantillon} / \text{DO blan}] \times 100$$

n: mg de proteine présenté dans le volume d'echantillon utilisé

### **6.3.5. Dosage des protéines tissulaires**

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH<sub>2</sub>) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

5 ml du bleu de Coomassie est ajouté à 0.1 ml de la fraction cytosolique, puis nous avons fait une agitation. Après 5 min de repos, la lecture de la densité optique est effectuée à 595 nm contre le blanc. La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de protéine standard la SAB (Sérum Albumine Bovine).

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



## **7. Etude histologique**

Les coupes histologiques de foie et de l'intestine ont été réalisées selon les étapes suivantes :

La fixation des échantillons (fragment de chaque organe) dans le formole (10%).

Déshydratation des échantillons à l'aide d'un appareil automatique qui

Permet le passage automatique et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%)

- Inclusion et réalisation des blocs : Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5  $\mu\text{m}$  en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés « Microtomes ». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixés sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

-La coloration : Pour la coloration, la technique utilisée est celle à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2gouttes d'acide acétique).la coloration suit les étapes suivantes :

Déparaffinage et hydratation des lames à l'eau du robinet puis rinçage à l'eau distillée. Puis sont misent dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).Les lames sont plongées dans l'alcool acide; ensuite dans un bain d'eau du robinet avec vérification de la différenciation au microscope.

Misent dans un bain d'eau ammoniacale, puis dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 Minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont Séparés par des lavages à l'eau du robinet .Les préparations ont ensuite été séchées puis Observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo (Houlot;1984).

## **8. Analyses statistiques**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes  $\pm$  écart-types. La signification statistique des données a été évaluée par le test « t » de Student en utilisant le logiciel MINITAB 17. Une valeur de  $P < 0,05$  a été considérée comme indiquant une différence significative entre les groupes.



Résultats

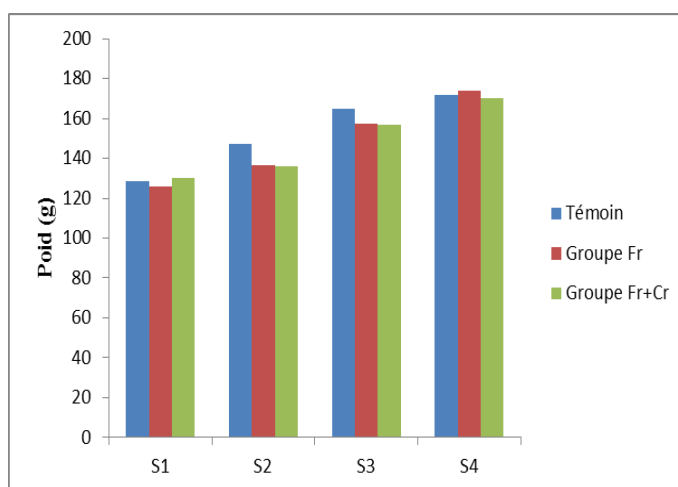
---

et discussion

## 1. Influence du traitement sur l'évolution pondérale des animaux

La Figure 13 représente l'évolution de la masse corporelle des rats durant 4 semaines du traitement.

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que l'exposition des rats aux régimes enrichis en fructose entraîne une augmentation du poids corporel chez le groupe traité par le fructose (Fr) (125,75±5,44 à 174±8,25 g) durant l'expérimentation et une augmentation aussi du poids chez le groupe traité par le fructose et picolinate de chrome (Fr+Cr) (130,33±2,83 à 170,33±6,84 g), mais reste toujours inférieure par rapport au groupe témoin (128,33±9,5 à 171,66±3,41 g).



**Figure 13 :** Variation du poids corporelle chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr) pendant 4 semaines du traitement

*Les résultats sont exprimés en moyenne ± écartype*

Nos résultats sont en accord avec une étude clinique qui a démontré que la supplémentation en picolinate de chrome diminue le gain de poids corporel par une augmentation de la masse maigre et une diminution de la masse viscérale (Martin *et al.*, 2006), de plus Kaats *et al.*, 1996 ont mentionné que le picolinate de chrome diminue les graisses corporelles. Le picolinate de chrome pouvait avoir un impact sur le comportement alimentaire en régulant l'appétit et en réduisant les fringales (Docherty *et al.*, 2005). Le chrome inhibe l'enzyme hépatique hydroxyméthyl-glutaryl-Coenzyme A réductase (HMG CoA réductase), enzyme clé de la synthèse du cholestérol, d'où un effet hypolipémiant (Zima *et al.*, 1998). Dans une étude récente, Cefalu *et al.*, (2010) ont rapporté une baisse de la quantité de lipides myocellulaires, ainsi qu'une amélioration de la sensibilité à l'insuline, chez des sujets insulino-résistants recevant du Cr, et ont suggéré que le Cr pourrait modifier la sensibilité à l'insuline via une modulation du métabolisme des lipides dans les tissus périphériques.

## 2. Variation de l'insulinoresistance

La Figure 14 représente la variation de la glycémie, l'insulinémie et l'indice HOMA-IR chez les groupes témoin, Fr et Fr+Cr

### 2.1. Variation de la glycémie à jeun

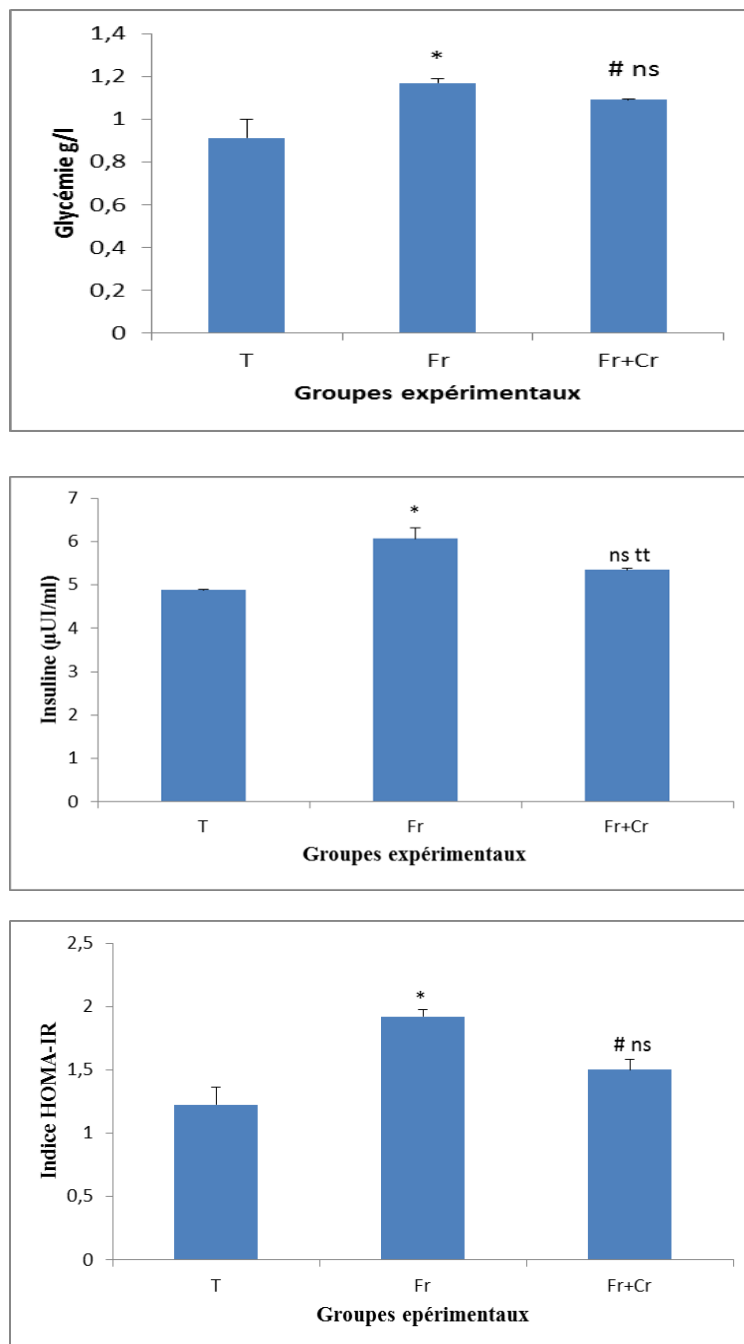
Après quatre semaines d'expérimentation, nous avons remarqué une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la glycémie chez les rats de groupe (Fr): ( $1,17 \pm 0,02$ ), par rapport au groupes témoin (T): ( $0,913 \pm 0,085$ ), mais reste à le norme, la comparaison entre les groupes (Fr) et (Fr+Cr) on observe une diminution significatif ( $p < 0,005$ ).

### 2.2. Variation de l'insulinémie

Nous avons constatés que la concentration sérique de l'insuline a été significativement ( $p < 0,05$ ) augmenté chez les rats de groupe (Fr) par rapport au groupe (T) ( $6,065 \pm 0,241$  vs  $4,880 \pm 0,015$   $\mu\text{UI/ml}$ ). En revanche on assiste à une réduction non significatif ( $p < 0,05$ ) de l'insulinémie chez les rats de groupe (Fr + Cr) en comparant avec le groupe (Fr) ( $6,065 \pm 0,241$  vs  $5,35 \pm 0,025$   $\mu\text{UI/ml}$ ). Par ailleurs, il y a une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) a été remarquée chez les rats de groupe (Fr+Cr) par rapport au groupe (T).

### 2.3. L'indice HOMA

Le calcul de l'indice HOMA-IR était dans le but de détecter une anomalie de sensibilité à l'insuline. Nous avons remarqué que les rats de groupe (Fr) développent une insulinoresistance, en effet une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de l'indice HOMA-IR a été observé par rapport à celui du groupe témoin ( $1,92 \pm 0,05$  vs  $1,22 \pm 0,14$ ). En outre la comparaison entre le groupe (Fr + Cr) et le groupe (Fr) a permet d'enregistrer une diminution significatif ( $p < 0,05$ ) ( $1,50 \pm 0,08$  vs  $1,92 \pm 0,05$ ). Par ailleurs la résistance à l'insuline a été diminué dans le groupe (Fr+Cr) par rapport au groupe témoin ( $1,50 \pm 0,08$  vs  $1,22 \pm 0,14$ ), cette différence été considérée comme statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ).



**Figure 14 :** Variation de la glycémie, l'insulinémie et l'indice HOMA-IR chez les groupes témoin, Fr et 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+ Cr) et Fr : #  $p < 0,05$  comparaison entre groupes T et (Fr+ Cr): ns  $p > 0,05$ ,  $^{††} p < 0,01$

Nos résultats montrent que le régime riche en fructose 25% entraîne une insulino-résistance caractérisée par une glycémie normale, et une hyperinsulinémie ces résultats sont en accord avec ceux Maiztegui *et al* ; 2009.

La consommation d'un excès de fructose entraîne des altérations de la sensibilité à l'insuline. Chez le rat, l'administration de régimes riches en fructose augmente la néoglucogénèse hépatique et induit une insulino-résistance hépatique. Ces adaptations sont rapides, Le fructose entraîne une diminution de la voie de signalisation de l'insuline : réduction de la phosphorylation d'IRS, de la PI3 kinase et d'Akt. Il a été suggéré qu'en présence d'un apport excessif de fructose, il y a une activation de la protéine kinase JNK et que celle-ci phosphoryle IRS sur des résidus sérine, ce qui réduit son interaction avec la PI3 kinase et la cascade de signalisation de l'insuline (Wei et al 2007).

Le mode d'action du chrome passerait par une augmentation du nombre de récepteurs à l'insuline, une modification de la liaison insuline/récepteur et une augmentation de l'internalisation de l'insuline (Anderson, 1997b). Une autre étude (Vincent; 2004) repose sur la capacité du chrome à se lier à la chromoduline, en réponse à l'insuline, ce qui stimule l'activité tyrosine kinase du récepteur à l'insuline, provoquant ainsi une amplification du signal insulinémique.

### **3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes hépatique**

#### **3.1. Sur l'activité des transaminases**

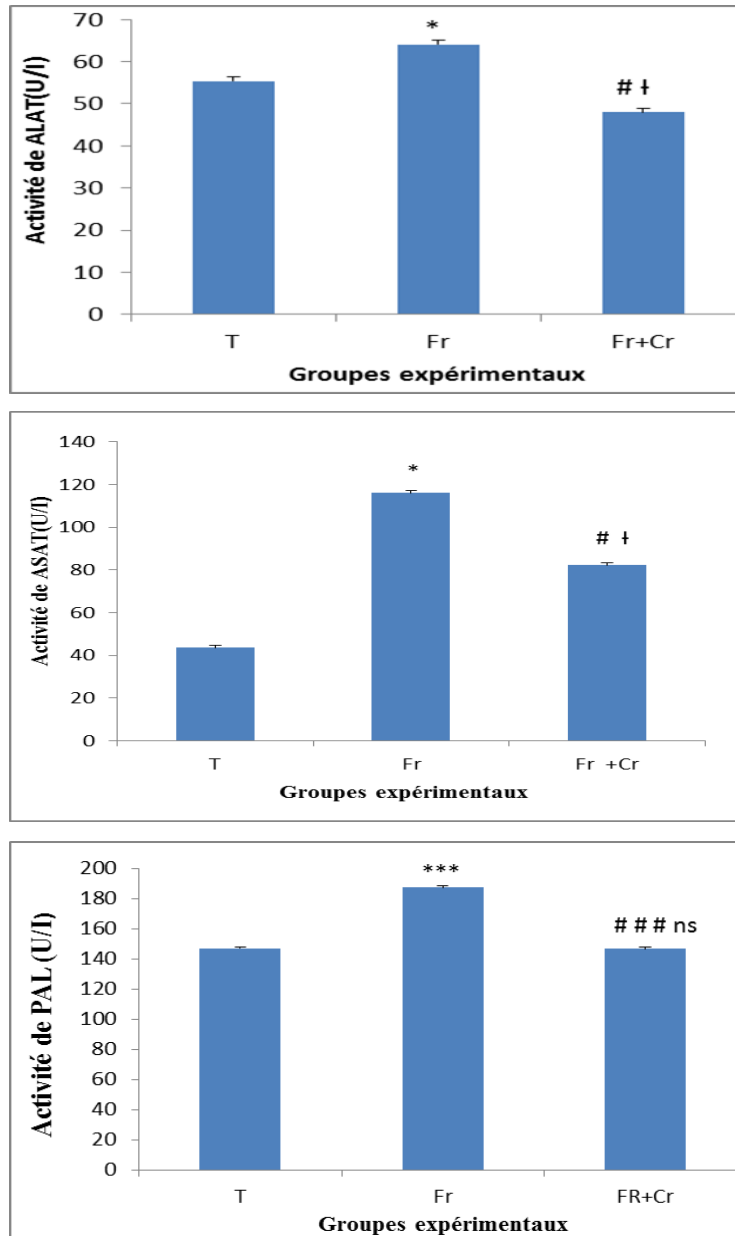
Les résultats de la variation de l'activité enzymatique des transaminases (ALAT et ASAT) et de phosphatase alcaline sont présentés dans la figure (17), Nous avons remarqué une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) de l'activité des transaminases (ALAT et ASAT) chez les rats de groupe (Fr) par rapport au groupe (T) (ALAT :  $64.05 \pm 2.32$  vs  $35.37 \pm 0.18$ ), (ASAT :  $116 \pm 5.61$  vs  $43.5 \pm 0.65$ ).

La supplémentation de picolinate de chrome diminue l'activité enzymatique des transaminases (ALAT et ASAT) de manière significative ( $p < 0.05$ ) par rapport au groupe (Fr) (ALAT:  $47,95 \pm 2.32$  vs  $64.05 \pm 2.32$ , ASAT:  $82,16 \pm 5.49$  vs  $116 \pm 5,61$ ).

#### **3.2. Sur l'activité de la phosphatase alcaline**

On note une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de la phosphatase alcaline chez les rats de groupes (Fr) par rapport au groupe (T) (PAL :  $187.25 \pm 3.27$  vs  $146.87 \pm 1.67$ ).

Et aussi on note une diminution très hautement significative de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline chez le groupe (Fr+Cr) ( $p < 0.001$ ) par rapport au groupe (Fr) (PAL:  $146.43 \pm 0.2$  vs  $187.25 \pm 3.27$ ).



**Figure 15:** Variation de l'activité enzymatique des transaminases et de la PAL des groupes (T), (Fr) et (Fr +Cr)

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type. Teste de student : comparaison entre groupes (T) et (Fr) : \*  $p < 0.05$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  ; comparaison entre groupes (Fr) et (Fr +Cr) ####  $p < 0.001$  comparaison entre groupes (T) et (Fr +Cr): ns  $p > 0.05$

En ce qui concerne les enzymes hépatiques (TGO, TGP et PAL), nous avons remarqué une augmentation significative de leur activité sérique chez les rats sous un régime riche en fructose par rapport aux témoins, ceci est expliqué par la destruction des cellules hépatiques (cytolyse hépatique) (Barbosa, 2006). Cette augmentation peut être dû principalement à la fuite de ces enzymes du cytosol du foie dans la circulation sanguine (Navarro *et al.*, 1993).

Le stress oxydant et ses effets sur les cellules de l'organisme est un phénomène très étudié car il est responsable de l'induction de plusieurs maladies et peut entraîner des lésions graves. Les ROS sont le facteur clé qui induit l'inflammation par la production des cytokines pro-inflammatoire. (Rolo, 2012 ; Mohamed Salih *et al.*, 2009, Marra *et al.*, 2008) et entraîné une inflammation, qui peut être conduit Au développement de la lésion grave du foie.

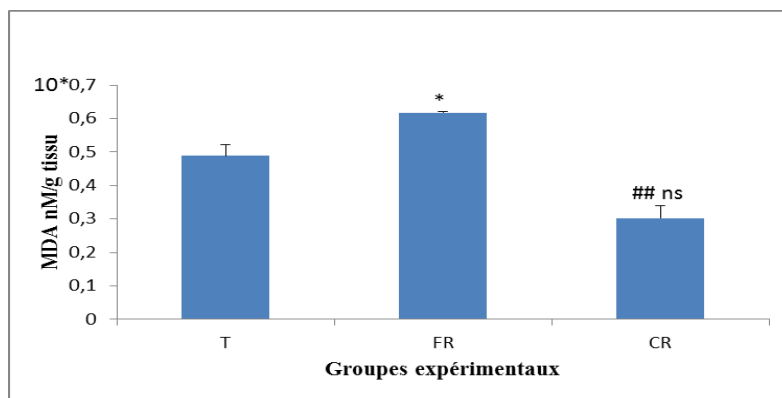
Des études montre que l'administration d'un régime riche en fructose est peut augmenter la translocation d'endotoxine bactérienne (LPS). Ces derniers sont une composante de la membrane des bactéries Gram négatif. Il est suggéré que ces bactéries peuvent activer les cellules Kupffer du foie. Cette dernière relâcheraient alors des cytokines telles que le TNF- $\alpha$  par la voie de NF- $\kappa$ B, pourraient activer l'induction de signaux pro-apoptotiques et engendrer des dommages au foie (Bilzer *et al.*, 2007). Le LPS endogène pourrait aussi être transporté à partir de l'intestin dans les chylomicrons formés en réponse à une alimentation riche en matières grasses. Les chylomicrons provoqueraient une augmentation de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires suite à leur liaison avec les récepteurs TLR (toll-like receptors) (Miura *et al.*, 2010) . D'après les résultats obtenus, l'administration concomitante du chrome a réduit de manière significative l'activité enzymatique de l'ALAT, L'ASAT et la PAL. Cela révèle la capacité du chrome administré simultanément d'atténuer les lésions hépatiques induites par le fructose.

#### **4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant**

##### **4.1. Sur le taux de malondialdéhyde (MDA)**

La figure (18) représente l'effet du traitement sur le taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau intestinal. Après quatre semaines d'expérimentation, une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de MDA intestinal a été marquée chez le groupe (Fr) ( $6,2 \pm 0,002$  nmol/g) par rapport aux groupes(T) ( $4,57 \pm 0,035$  nmol/g). L'administration journalière du picolinate< de chrome diminue le taux de MDA intestinal du groupe (Fr+Cr) ( $3,35 \pm 0,036$  nmol/g) de manière hautement significatif ( $p < 0,01$ ) par rapport au groupe (Fr).



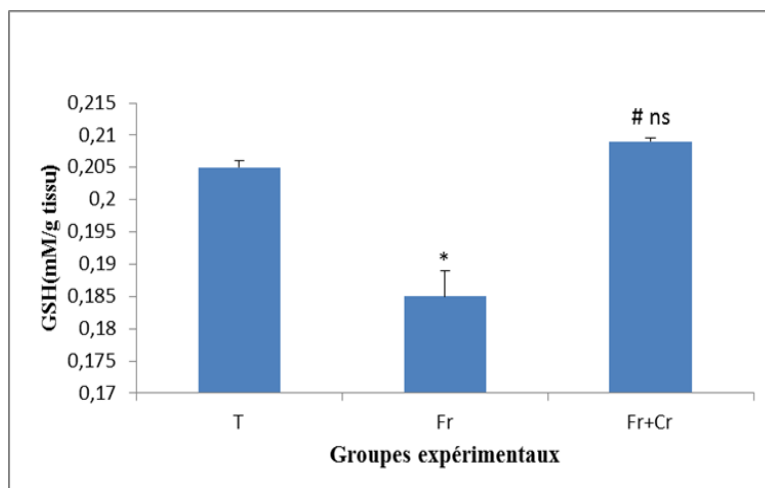


**Figure 16 :** Effet de picolinate de chrome sur le taux de MDA intestinal chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

*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 < 0,01 ; comparaison entre (T) et (Fr+Cr) : ns p < 0,05.*

#### 4.2. Sur le niveau du GSH réduit

Nous avons remarqué une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du taux de GSH intestinale chez le groupe (Fr) ( $0,205 \pm 0,001$  mM/g/ tissu) par rapport au témoin ( $0,205 \pm 0,001$  mM/g /tissu). La supplémentation du chrome augmente le taux de GSH intestinale de manière significative ( $p > 0,05$ ) ( $0,209 \pm 0,0005$  mM/g tissu) par rapport au groupe (Fr) (Figure 19).

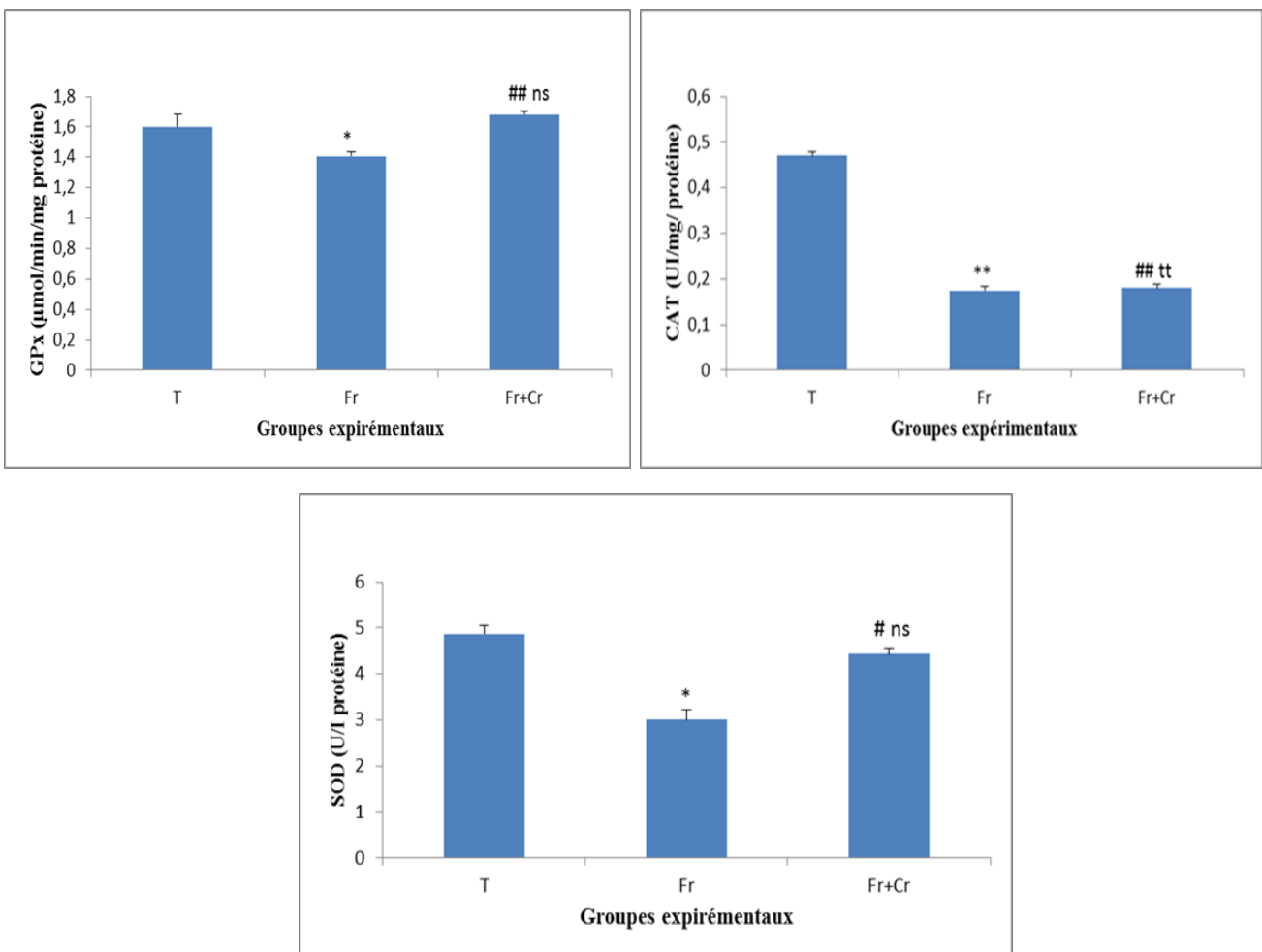


**Figure 17 :** Effet de picolinate de chrome sur l'activité enzymatique de la GSH intestinal chez les groupes (T), (Fr) et (Fr+Cr).

*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 < 0,05 ; comparaison entre (T) et (Fr+Cr) : ns p < 0,01.*

### 4.3. Sur l'activité des enzymes antioxydants

Nos résultats montrent une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ( $1,4 \pm 0,027 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  protéine), la Superoxyde dismutase ( $3,005 \pm 0,222 \text{ UI}/\text{mg}$  protéine) et la catalase ( $p < 0,01$ ) ( $0,174 \pm 0,006 \text{ UI}/\text{mg}$  protéine) intestinale chez le groupe (Fr) par rapport au groupe (T). L'administration journalière du picolinate de chrome augmente l'activité enzymatique de manière hautement significative ( $p < 0,01$ ) de la GPx ( $1,68 \pm 0,022 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  protéine), et de la catalase ( $0,18 \pm 0,007 \text{ UI}/\text{mg}$  protéine), et de manière significative ( $p < 0,05$ ) de la Superoxyde dismutase ( $4,43 \pm 0,131 \text{ UI}/\text{mg}$  protéine) par rapport au groupe témoin (Fr).



**Figure 18 :** Effet de picolinate de chrome sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase, Superoxyde dismutase et de la Catalase intestinal 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) : (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ ); comparaison entre groupes (Fr) et (Fr+Cr): (##  $p < 0,01$ ,##  $p < 0,01$ ,#  $p < 0,05$ ) ; comparaison entre (T) et (Fr+Cr):(ns  $p < 0,05$ ,<sup>††</sup>  $p < 0,01$ ,ns  $p < 0,05$ ).

Les rats soumis au régime riche en fructose développent une résistance à l'insuline. McDonald (1995) définit le stress oxydant comme étant l'un des mécanismes à l'origine des effets délétères induits par le fructose. Dès la première semaine d'un régime riche en saccharose ou fructose, différents marqueurs reflètent une aggravation du stress oxydant, et ce à travers une diminution du contenu en glutathion réduit (GSH) et des enzymes antioxydantes (SOD, GPx, catalase) ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique (Armutcu *et al*, 2005 ; Busserolles *et al*, 2002 ; Faure *et al*, 1997 ; Srividhya & Anuradha, 2002 ; Thirunavukkarasu & Anuradha, 2004).

Cependant, un régime riche en fructose (25%), une stimulation des défenses antioxydantes est observée (Spolarics, 1999 ; Spolarics & Meyenhofer, 2000). Les activités de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) et du glutathion réduit (GSH) sont en effet augmentées dans différents types cellulaires du foie de ces rats. La G6PDH fournit du NADPH à la glutathion peroxydase (GPx) et peut également initier l'augmentation du GSH. Tout ceci concourt à une meilleure détoxification de la cellule en convertissant l' $H_2O_2$  en  $H_2O$ . Par contre, différents marqueurs reflètent une aggravation du stress oxydant. Dès la première semaine d'un régime riche en saccharose ou fructose, différents marqueurs reflètent une aggravation du stress oxydant, et ce à travers une diminution du contenu en glutathion réduit (GSH) et des enzymes antioxydantes (SOD, GPx, catalase) ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique (Spolarics, 1999 ; Spolarics & Meyenhofer, 2000).

Nos résultats suggèrent que le picolinate de chrome possède une activité antioxydante reposant sur l'élimination des radicaux libres et la restauration de la balance oxydants/antioxydants durant la toxicité induite par le fructose. L'effet bénéfique d'apports en chrome, permettant de restaurer le statut et d'améliorer la sensibilité à l'insuline, la modulation du TNF $\alpha$ , car l'importance de l'obésité est corrélée à ce facteur, qui favoriserait l'insulino-résistance des cellules (Kraegen *et al.*, 2001).

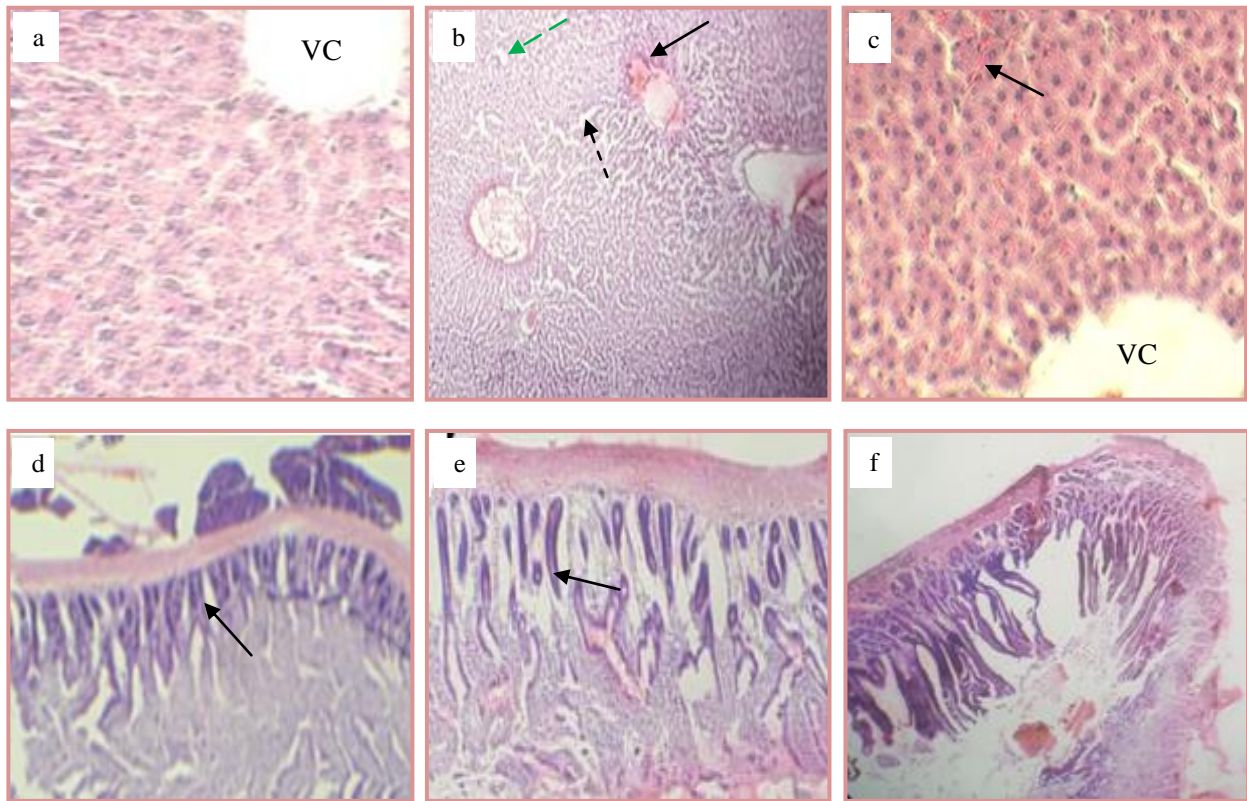
## **5. Analyse histologique**

### **5.1. Effet du traitement sur l'histologie hépatique**

L'analyse histopathologique du tissu hépatique montre que chez le lot témoin (figure 19 a) le foie est de structure normale, les hépatocytes forment des travées bien agencées autour de la veine centro-lobulaire; Ces travées sont séparées par des sinusoides. Chez le lot traité par le fructose, le parenchyme hépatique révèle une désorganisation architecturale des mailles hépatocytaires (figure 19 b). En fait le fructose a provoqué une dégénérescence des lames hépatocytaires ainsi qu'une congestion entre les travées et au niveau sinusoidale, une inflammation et une vacuolisation. Les dommages sévères du foie ne sont pas ont radicalement amélioré chez les rats supplémentés par le chrome, nous notons la présence de la congestion et la vacuolisation.

### **5.2. Effet du traitement sur l'histologie de l'intestin**

L'analyse histopathologique de l'intestin montre que chez le lot témoin (figure 19 d) les villosités ont de structure normale. Chez le lot traité par le fructose, l'architecture intestinale révèle une inflammation intense bien définie, avec destruction des villosités intestinales (figure 19 e). Nous notons chez le groupe insulino-résistant supplémenté par le picolinate de chrome une inflammation légère moins intense de la structure des villosités.



**Figure** : Coupes histologiques de foie des rats témoins (photos a), rats insulinoresistants (photos b) et insulinoresistant supplémenté par le picolinate de chrome (photo c) et intestin après coloration hématoxyline éosine ( photo d, e et f)

*a* : Le foie est de structure normale, *b* : Desorganisation architecturale des lames hépatocytaires et vacuolisation.

*d* : Villosité normale, *e*) destruction des villosités intestinales *f* : inflammation légère moins intense

—▶ Vacuolisation

- - -▶ Desorganisation architecturale des lames hépatocytaires

VC : Veine centro-lobulaire



# Conclusion

Le chrome trivalent est un oligo-élément essentiel, nécessaire au métabolisme glucidique et lipidique. Le statut en picolinate de chrome, essentiel à la fois aux fonctions insuliniques, aux régulations lipidiques et glucidiques.

L'ensemble de nos résultats devrait permettre de tester sur le modèle Wistar albinos, l'effet du chrome trivalent (picolinate de chrome) sur l'insulinorésistance induite par un régime riche en fructose. D'après notre étude, le régime riche en fructose suivi durant 4 semaines provoque : Des effets métaboliques très néfastes au niveau du métabolisme des carbohydrates et l'insulinorésistance qui est caractérisé par : une hyperinsulinémie, une glycémie normale, et une augmentation des enzymes hépatiques, cette augmentation sérique est confirmé par les résultats de l'étude histologique qui montrent une altération de la structure architecturale du foie. L'induction d'un stress oxydatif au niveau intestinale, caractérisé par une diminution de taux GSH et les enzymes antioxydantes (catalase, glutathion peroxydase et superoxyde dismutase). Il est confirmé aussi par les études histologiques de l'intestin qui montrent par une inflammation intense bien définie, avec destruction des villosités intestinales.

Le traitement des rats par le picolinate de chrome exerce un effet bénéfique sur l'insulinorésistance par l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, la fonction hépatique et intestinale.



Références

---

bibliographiques



## A

**Anderson RA, Polansky MM, Bryden N A, Roginski E E, Mertz W, Glinsmann W.** Chromium supplementation of human subjects : effects on glucose, insulin, and lipid variables. *Metabolism*, 1983, 32(9): 894-899.

**Anderson RA.** Chromium in human nutrition. *Nutr. Rev*, 1988, 46 : 271-272.

**Anderson RA.** Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr*, 1998, 17: 548-55.

**Avignon A, Monnier L.** Homéostasie glucidique et insulino-résistance. Application aux situations de stress, *Nutr Clin Métabol*, 1999, 13: 5-16.

**Althuis M D, Jordan N E, Ludington E A, Wittes J T.** Glucose and insulin responses to dietary chromium supplements: a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002. 76 : 148–155.

**Armutcu F, Coskun O, Gurel A, Kanter M, Can M, Ucar F and Unalacak M.** Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin Biochem*, 2005, 38, 540-547.

**Ali A, Ma Y, Reynolds J, Wise JP, Inzucchi SE et Katz DL.** Chromium Picolinate for the Prevention of type 2 diabetes. *Treat Strategies Diabetes*, 2014, 3(1):1-13.

## B

**Baldwin S A.** Mammalian passive glucose transporters: members of an ubiquitous family of active and passive transport proteins. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1154 : 17-49.

**Balk E M, Tatsioni A .** Effect of chromium supplementation on glucose metabolism and lipids: a systematic review of randomized controlled trials. *Diabetes Care*, 2007; 30(8): 54-63.

**Barceloux D G.** Chromium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol*, 1999, 37 : 173-194.

**Barbosa N B V, Rocha J BT, Wandracek D C, Perottoni J, Zeni G and Nogueira W.** Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia: possible relationship with oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 2006. 163 : 230-238.

**Bastard J P , Maachi M, Lagathu C.** Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*, 2006, 17 : 4-12.

**Bhosale S H, Rao MB, Deshpande VV.** Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiol Rev*, 1996, 60: 280–300.

**Bizeau M E, Pagliassotti M J.** Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metab Clin Exp*, 2005, 54(9) :1189-1201.

**Bloch-Damti A, Bashan N.** Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7:1553-1567.

**Bouglé A, Annene D.** Les effets de l'insuline : de la cellule à l'organisme entier. *Annales Francaise d'Anesthésie et de Réanimation*, 2009, 28: 193-199.

**Bray GA, Nielsen S J, Popkin B M.** Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in epidemic of obesity. *Am. J. Clin. Nutr*, 2004, 79 : 537-543.

**Burcelin R, Dolci W, and Thorens B.** Portal glucose infusion in the mouse induces hypoglycemia: evidence that the hepatoportal glucose sensor stimulates glucose utilization. *Diabetes*, 2000, 49:1635-42.

**Busserolles J, Mazur A, Gueux E, Rock E and Rayssiguier Y** (2002a) Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the pro-oxidant effect of a high sucrose diet. *Exp Biol Med* (Maywood), 2002, 227, 837-842.

**Busserolles J, Gueux E, Rock E, Demigne C, Mazur A, Rayssiguier Y.** Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and pro-oxidative effects of a high fructose diet in rats. *J. Nutr*, 2003, 133:1903-1908.

## T

---

**Carocho M, Ferreira IC.** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, 2013, 51 : 15-25.

**Cherian B.** Therapeutic implications of diabetes in cardiovascular disease. *Am J Ther*, 2009. 16(6): p. e51-9.

**Chevenne D, Fonfrede M.** Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *Immunoanal Biol Spéc*, 2001, 16 : 215-229.

**Chicco A, D'Alessandro ME, Karabatas L, Pastorale C, Basabe JC and Lombardo YB.** Muscle lipid metabolism and insulin secretion are altered in insulin-resistant rats fed a high sucrose diet. *J Nutr*, 2003, 133, 127-133.

**Chong MF, Fielding BA, Frayn KN.** Mechanism for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85 : 1511-1520.

**Clodfelder BJ, Emamaullee J, Hepburn D D, Chakov NE, Nettles HS, Vincent JB.** The trail of chromium (III) in vivo from the blood to the urine: the roles of transferrin and chromodulin. *J. Biol. Inorg. Chem*, 2001, 6: 608-617.

**Cohen AM, Briller S and Shafir.** Effect of longterm sucrose feeding on the activity of some enzymes regulating glycolysis, lipogenesis and gluconeogenesis in rat liver and adipose tissue. *Biochim Biophys Acta* (1972) 279, 129-138.

**Cynober L, Alix E, Arnaud-Battandier F, Bonnefoy M, Brocker P, Cals MJ, Cherbut C, Coplo C, Ferry M, Ghisolfi-Marque A et al.** Apports nutritionnels conseillés chez la personne âgée. *Nutri Clin Métabol*, 2000, 14 Suppl 1: 3-60.

## D

---

**Davidson JR, Abraham K, Connor KM, McLeod M N.** Effectiveness of chromium in atypical depression: a placebo controlled trial. *Biol Psychiatry*, 2003, 53: 261-4.

**Davis CM, Vincent JB.** Isolation and characterization of a biologically active chromium oligopeptide from bovine liver. *Arch. Biochem. Biophys*, 1997, 339 : 335-343.

**Deaton CHM, Marlin DJ.** Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract*, 2003, 2(3) : 278-91.

**Dekker MG, Baker C, Ruttledge AC, Adeli K.** Fructose, a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis and metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001, 299 :685-694.

**Delbosc S, Paizanis E, Magous R, Araiz C, Dimo T, Cristol JP, Cros G and Azay J.** 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*, 2005, 179, 43-49.

**Del Prato S.** Measurement of insulin resistance in vivo. *Drugs*, 1999,6 (58) : 75-82.

**Dodson G, Steiner D.** The role of assembly in insulin biosynthesis. *Curr. Opin. Struct. Biol*, 1998, 8(2): 189-194.

## E

---

**Ece A, Gürkan F, Celik F, Boşnak M, Yel S, Balik H., Erel O.** Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clin Biochem*, 2007, 40(9-10) : 634-9.

**Evans J L, Goldfine I D, Maddux B A and Grodsky GM.** Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*, 2003, 52: 1-8.

**Evans J L, Maddux BA, Goldfine I D.** The molecular basis for oxidative stress induced insulin resistance. *Antioxid. Redox. Signal*, 2005, 7 : 1040-1052.

## F

---

**Faure P, Rossini E, Lafond JL, Richard MJ, Favier A and Halimi S (1997)** Vitamin E improves the free radical defense system potential and insulin sensitivity of rats fed high fructose diets. *J Nutr*, 1997, 127, 103-107.

**Feach D, Minehira K, Schwarz j, SeongusP, Tappy L.** effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy males. *Diabetes*. 2005, 5 :1907-1913.

## G

---

**Gao Z, Hwang D, Bataille F et al.** Serine phosphorylation of insulinreceptorsubstrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J BiolChem*, 2002, 277 : 48115-21.

## H

---

**Hallfrisch J.** Metaboliceffects of dietary fructose. *FASEB J*, 1990, 4: 2652–60.

**Heinz F., Lamprecht., W and Kirsch, J.** Enzymes of fructose metabolism in humanliver. *J Clin Invest* 47, 1826-32. -Heinz F. The enzymes of carbohydrate degradation. *Prog Biochem Pharmacol*, 1968, 8: 1–56, 1973.

**Hirosumi J, Tuncman G, Chang L et al.** A central role for JNK in obesity and *insulinresistance*. *Nature*, 2002, 420: 333-6.

**Hunter J.** A treatise on the blood, inflammation and gun shotwounds. London, John Richardson, 1994.

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

## I

---

**Iritan I .** Effect of high-fat feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adult rats. *Br J Nutr*, 1991, 90, 953-960.

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

## J

---

**Jacqueline C .**Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulinorésistance.*Medecine/Sciences*, 2003, 19 : 834-9.

**Jain SK, Patel P, Rogier K.** Trivalent chromium inhibits protein glycosylation and lipid peroxidation in high glucose-treated erythrocytes. *Antioxid. Redox Signal*, 2006, 8 : 238-241.

**Jin X , Zimmers TA, Perez EA, Pierce RH, Zhang Z, Koniaris LG.** Paradoxicaleffects of short- and long-term interleukin-6 exposure on liverinjury and repair. *Hepatology*, 2006, 43 : 474-84.

## K

---

**Kahn CR.** Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes*, 1994, 43 : 1066-84.

**Kasuga M.** Insulin resistance and pancreatic  $\beta$  cell failure. *Pol j environ stud*, 2001, 48: 2791-2796.

**Kakkar P, Das. B, Viswanathan .PN** A modified spectro-photometric assay of superoxide dismutase. *Indian J BiochemBiophys* 1984.21(2):130–132

**Kraegen ;** Effects of caloric restriction on mitochondrial function and gene transcripts in rat muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 283, E38-43.

**Kido Y, Nakae J., Accili D.** Clinical review 125: The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86: 972-9.

## **L**

---

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

**Lagathu C, Bastard J, Auclair M, Maachi M, Capeau , Caron M.** Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte : prevention by rosiglitazone. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311 : 372-9.

**Landman GW, plaza SM.** The Safety and Efficacy of High-Dose Chromium. *Alternative Medicine Review*, 2002, (7): 218-235.

**Lee AY and Chung SS.** Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *Faseb J*, 1999, 13, 23-30.

**Lee YH , Giraud J, Davis RJ, White MF.** cJUN N-terminal kinase (JNK) mediates feedback inhibition of the insulin signaling cascade. *J Biol Chem* 2002; -White MF. IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 283: E413-22.

**Le Roith D, Zick Y.** Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care*, 2001, 24: 588-97.

**Liu J, Grundy SM, Wang W, Smith SC JR, Vega GL, Wu Z, Zeng Wang W, Zhao D.** Ethnic-specific criteria of the metabolic syndrome : evidence from China. *Diabetes Care*, 2006, 29 : 1414-1416.

*M*

**Magnan C**

---

**and Ktorza A .** Production et sécrétion de l'insuline par la cellule B pancréatique. *EMC-Endocrinologie*, 2005, 2: 241-264.

**Maiztegui B, Borelli MI, Raschia MA, Zotto HD et Gagliardino JJ.** Islet adaptive changes to fructose-induced insulin resistance :  $\beta$ -cell mass, glucokinase, glucose metabolism, and insulin secretion. *Journal of Endocrinology*, 2009, 200: 139–149.

**Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR.** Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. *Lancet*, 1992, 340(8825):925–9.-Masato Kasuga, Insulin resistance and pancreatic  $\beta$  cell failure, *J Clin Invest*, 2006, 116(7):1756-1760.

**Mayes PA.** Intermediary metabolism of fructose. *J Clin Nutr*, 1993, 58: 754S–765.

**Matey P, Allison Kp, Sheehan TM, Gowar JP.** Chronic acid burns : early aggressive excision is the best method to prevent systemic toxicity. *J Burn Care Rehabil*, 2000, 21 (3): 5-241.

**Maulik SK , Prabhakar P , Dinda. AK , Seth S.** Genistein prevents isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in rats. *Can J Physiol Pharmacol* (2012), 90(8):1117–1125.

**McDonald RB (1995).** Influence of dietary sucrose on biological aging. *Am J Clin Nutr* 62, 284S-292S, discussion 292S-293S.

**Melloul D, Marshak S, Cerasi E. Regulation of insulin gene transcription.** *Diabetologia* 2002; 45: 309–26.

**Mert W.** Chromium in human nutrition: a review. 1993. *J Nutr* 123, 626-33.  
-Miller A., Adeli k. (2008). Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Current Opinion in Gastroenterology*. 24: 204-209.

**Moule SK, Edgell NJ, Welsh GI, Diggle TA, Foulstone EJ, Heesom KJ et al.** Multiple signaling pathways involved in the stimulation of fatty acid and glycogen synthesis by insulin in rat epididymal fat cells. *Biochem J*, 1995, 311 : 595-601.

**Mozaffari MS, AbdelSayed R, Liu JY, Wimborne H El –Remessy A et El-Marakby A .** Effects of chromium picolinate on glycemic control and kidney of the obese Zucker rat. *Nutrition and métabolisme*, 2009, 6(51) : 1-11.

## *N*

---

**Navarro CM, Montilla, PM, Martin A, Jimenez J, and Utrilla , PM.** Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of Rosmarinus, *Plant Medicine* ,1993.59:312-314.

**Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B and Betteridge DJ .** Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia*, 1997, 40, 647-653

**N'doua LAR, Abo KJC, Aoussi S, Gbogbo M, Yapo AP et Ehile EE.** Effets hypoglycémique et anti-hyperglycémique de l'extrait éthanolique 70 % de racines de *rauvolfia vomitoria* afzel (apocynaceae). *European Scientific Journal*, 2015, 11(6): 176-190.

## *P*

---

**Pagliassotti MJ, Prach PA, Koppenhafer TA, Pan DA.** Changes in insulin action, triglycerides, and lipid composition during sucrose feeding in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 1996, 271 : 1319-1326.

**Paolisso G, Gambardella A, Tagliamonte MR, Saccomanno F, Salvatore T, Gualdiero P, D'Onofrio MV and Howard BV.** Does free fatty acid infusion impair insulin action also through an increase in oxidative stress? *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81, 4244-4248.

**Portha B.** Signalisation intracellulaire et exocytose de l'insuline. *MTE*, 2000, 2:37–46.

**Portha B.** Insuline : de la production au mode d'action. In Cano N, Barnoud D, Schneider SM et al : *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. 3e éd. Paris: Springer, 2007, 161-164

**Petersen KF, Shulman GI.** Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* , 2002, 90: G11-8.



---

**Roberts CK , Barnard RJ, Sindhu RK, Jurczak M, Ehdaie A and Vaziri ND.** Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabolism*, 2006, 55, 928-934.

**Roussel AM. Hininger-Favier I.** Élément trace essentielle en nutrition humaine chrome, sélénium, zinc et fer. *Endocrinologie-Nutrition*, 2009, 10 (10) : 1-16.

**Roussel AM.** Chrome et syndrome métabolique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 2009, 3(5) : 484-485.

**Ruan H, Hacohe N, Golub TR, Van Parijs L, Lodish HF.** Tumornecrosis factor- $\alpha$  suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes : nuclear factor- $\kappa$ B activation by TNF- $\alpha$  is obligatory. *Diabetes* , 2002, 51 : 1319-36.

**Rui L, Aguirre V, Kim JK et al.** Insulin/IGF-1 and TNF- $\alpha$  stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest*, 2001, 107: 181-9.



---

**Saltiel AR and Kahn CR .** Signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 2001, 414:799-806.

**Serdar Z, Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A.** Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem*, 2006, 39(8) : 794-803.

**Shulman GI.** Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*, 2000, 106:171-176.

**Skoog SM, Bharucha AE.** Dietary fructose and gastro intestinal symptoms: a review. *Am J - Samuel and V. T ; Shulman G. I ; Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links, Cell*, 2012, 148, 852–871.

**Spruss and A , Bergheim I.** Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease, *J. Nutr. Biochem* , 2009, 20, 657–662. *Gastroenterol*, 2004, 99: 2046–50.



**Spolarics ZA.** carbohydrate-rich diet stimulates glucose-6-phosphate dehydrogenase expression in rat hepatic sinusoidal endothelial cells. *J Nutr*, 1999, 129, 105-108.

**Spolarics Z , and Meyenhofer M.** Augmented resistance to oxidative stress in fatty rat livers induced by a short-term sucrose-rich diet. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1487, 190-200.

**Sreekumar R, Unnikrishnan J, Fu A, Nygren J, Short KR, Schimke J, Barazzoni R and Nair KS.** Impact of high-fat diet and antioxidant supplement on mitochondrial functions and gene transcripts in rat muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282, E1055-1061.

**Srividhya S, Anuradha Cv.** Metformin improves liver antioxidant potential in rats fed a high-fructose diet. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2002, 11: 319-322.

**Stout MD, Nyskab A, Collinsa BJ, Witta KL, Kisslinga GE, Malarkeya DE, H ootha MJ.** Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies of Chromium picolinate Monohydrate Administered in Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice for 2 Years .*Food Chem Toxicol*, 2009, 47(4): 729-733.

**Suresh Kumar K, Ganesan K , Subba Rao PV.** Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—An edible seaweed. *Food Chem*, 2008, 107(1) : 289-95.

*J*

---

**Tappy L, Lê K, Tran C, Paquot N.** Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition*, 2010, 26: 1044–9.

**Tappy L, Lê KA.** Metabolic effects of fructose and the world wide increase in obesity. *Physiol Rev*, 2010, 90: 23–46.

**Tezuka M, Ishii S and Okada S.** Chromium (III) decreases carbon tetrachloride originated trichloromethyl radical in mice. *J Inorg Biochem*, 1991, 44, 261-5.

**Thirunavukkarasu V, and Anuradha CV.** Influence of alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant defence system in blood of insulin-resistant rats. *Diabetes Obes Metab*, 2004, 6, 200-207.

**Tobin V, Le Gall M, Fioramonti X, Stolarczyk E, Blazquez AG, Klein C, Prigent M, Serradas P, Cuif MH, Magnan C, Leturque A, Brot-Laroche E.** Insulin internalizes

GLUT2 in the enterocytes of healthy but not insulin-resistant mice. *Diabetes*, 2008, 57: 555–62.

**Tobin V** . Insulin internalizes GLUT2 in the enterocytes of healthy but not insulin-resistant mice. *Diabetes*, 2008, 57(3): p. 555-62.

## U

---

**Ueno S, Susa N, Furukawa Y, Aikawa K, Itagaki I, Komiyama T and Takashima, Y.** Effect of chromium on lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *Nippon Juigaku Zasshi*, 1988, 50, 45-52.

**Unger RH.** Minireview : weapons of lean body mass destruction : the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology*, 2003, 144 : 5159-5165.

## V

---

**Velasco-Reynold C, Navarro-Alarcón M, De La Serrana HL-G, Perez-Valero V, Lopez-Martinez MC.** Determination of daily dietary intake of chromium by duplicate diet sampling : in vitro availability study. *Food. Addit. Contam*, 2008, 25 : 604-610.

**Vincent JB.** The biochemistry of chromium. *J. Nutr*, 2000, 130 : 715-718.

## W

---

**Wémeau JL, Vialettes B, Schlienger JL.** *Endocrinology, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien*. Paris, france: Masson, 2014, ISBN:9782294715846.

**Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H.** Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *DiabetesCare*, 2004, 27(5):1047–53.

**Wei Y, Wang D, Topczewski F, Pagliassotti MJ.** Fructose-mediated stress signaling in the liver: implications for hepatic insulin resistance. *J. Nutr. Biochem*, 2007, 18, 1-9.

## Y

---

**-Yamamoto A, Wada O, Ono T.** A low-molecular-weight, chromium-binding substance in mammals. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 1981, 59 : 515-523.

**Youngren JF.** Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64:873-91.

## Z

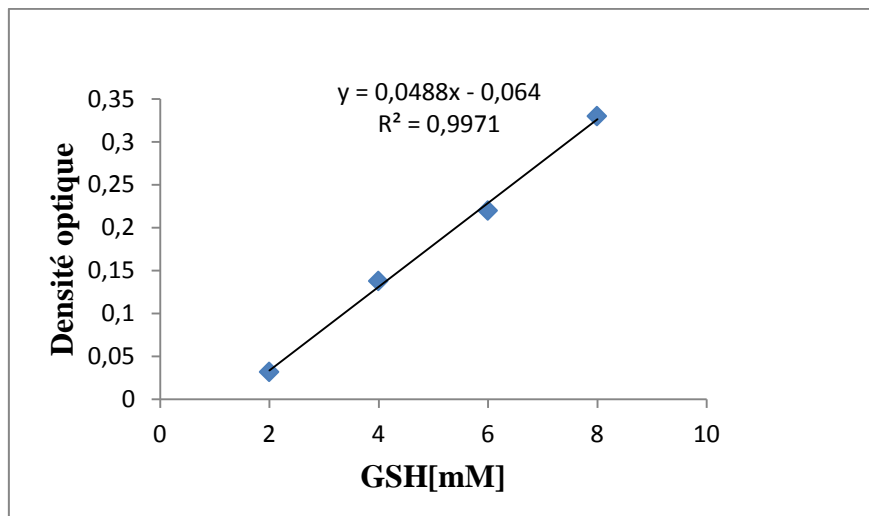
---

**Zima T, Mestek O, Tesar V .** Chromium levels in patients with internal diseases. *Biochem. Mol. Biol. Int*, 1998, 46: 365-374.

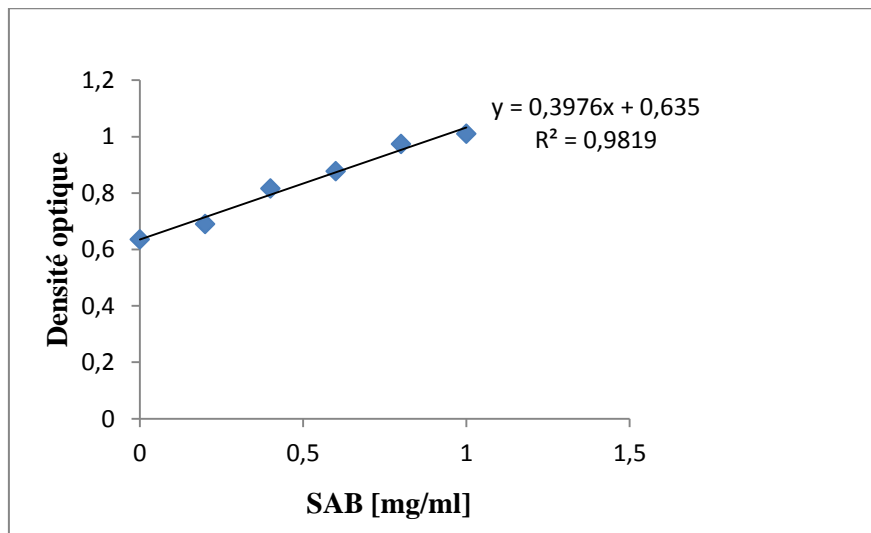


# Annexes

---



**Fig.1 :** Courbe d'étalonnage de GSH.



**Fig.2:** Courbe d'étalonnage du dosage des protéines (sérum albumine bovine).

Présenté par : Amira Nassima  
Boufoula Amina

Encadreur : Dr . DERAÏ . E

Date de soutenance : 09/07/2018

**Evaluation biochimique et histopathologique de la fonction hépatique chez les  
insulinorésistances : Effet protecteur du picolinate de chrome**

**Résumé**

L'incidence de l'insulinorésistance (IR) est fortement associée à une augmentation de la consommation de sucres simples et principalement le fructose. Ce travail vise à étudier l'effet de picolinate de chrome sur l'insulinorésistance induite par le fructose. Dans cette étude trois groupes de rats ont été utilisé, les rats de premier groupe (témoin) nourris par un régime standard, le deuxième groupe reçoit un régime standard plus fructose (25%) (Fr) et le troisième groupe reçoit un régime riche en fructose (25%) plus 100 µg/kg de picolinate de chrome (Fr+Cr). Après 4 semaines les marqueurs associés à l'insulinorésistance sont évalués, De plus un examen histologique de foie et du l'intestin a été fait. La consommation du fructose induite une insulinorésistance caractérisée par une augmentation de l'insulinémie, des enzymes hépatique ALAT, ASAT et PAL et de MDA intestinale. Aussi ce régime réduit l'activité enzymatique de la catalase, SOD, GPX et GSH Intestinale avec des changements histologiques marqués dans le foie et l'intestin. Le traitement par le picolinate de chrome atténue les marqueurs de la maladie avec une augmentation de la sensibilité à l'insuline. Les résultats de notre travail révèlent les effets bénéfiques de la supplémentation du picolinate de chrome dans l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et réduire le stress oxydatif des cellules.

**Mots clés :** Picolinate de chrome, insulinorésistance, fructose, Insuline.

**Abstract**

The incidence of insulin resistance (IR) is strongly associated with an increase in the consumption of simple sugars and mainly fructose. The aim of this study was to investigate the effect of chromium picolinate on fructose-induced insulin resistance. In this study three groups of rats were used, the first group (control) fed a standard diet; the second group received a standard diet enriched with fructose (25%) (Fr) and the third group received a diet enriched with in fructose (25%) and 100 µg / kg chromium picolinate (Fr + Cr). After 4 weeks the markers associated with insulin resistance are evaluated, further histological examination of liver and intestine was done. The consumption of fructose induced insulin resistance characterized by an increase in insulinemia, liver ALAT, ASAT and PAL enzymes and intestinal MDA. Also this diet reduces enzymatic activities of catalase, SOD, GPX and Intestinal GSH level with marked histological changes in the liver and intestine. Treatment with chromium picolinate attenuates the markers of the disease with an increase in insulin sensitivity. The results of our work reveal the beneficial effects of chromium picolinate supplementation in improving insulin sensitivity and reducing the oxidative stress of cells.

**Key words:** Chromium picolinate, insulin resistance, fructose, Insulin.

**ملخص**

زيادة استهلاك السكريات البسيطة خاصة الفركتوز يؤدي الى حدوث مقاومة الانسولين . الهدف من هذه التجربة هو دراسة تأثير بيكولينات الكروم علي مقاومة الانسولين الناتجة عن حمية غنية با لفركتوز. في هذه الدراسة تم استخدام ثلاث مجموعات من الفئران .فئران المجموعة الأولى بقية شاهدة و تلقت نظاما غذائيا عاديا بينما تتلقى فئران المجموعة الثانية نظاما غذائيا يحتوي علي (25%) من الفركتوز اما المجموعة الثالثة فتلقت نظاما غذائيا غني بالفركتوز (25%) بالاضافة الي جرعة 100ميكروغرام /كلغ من بيكولينات الكروم. بعد اربع اسابيع من التجربة تم تقييم المعايير المرتبطة بمقاومة الانسولين و فحص نسيج الكبد و الامعاء.استهلاك الفركتوز ادى الي حدوث مقاومة الانسولين تميزت بارتفاع نسبة الانسولين في الدم كما اظهرت النتائج زيادة في مستوى انزيمات الكبد النتائج المتحصل عليها بينت ايضا انخفاضاً في النشاط الانزيمي للكبد GPX وSOD في الامعاء بالاضافة الي حدوث تغيرات في نسيج الكبد و الامعاء. اضافة بيكولينات الكروم خفضت علامات المرض و منعت حدوث مقاومة الانسولين.نتائج هذه الدراسة بينت التأثير الايجابي لبيكولينات الكروم في تحسين الحساسية تجاه الانسولين .

الكلمات المفتاحية : بيكولينات الكروم الانسولين الفركتوز مقاومة الانسولين