

MAG-151-2011/03

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr BELKAID Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature, de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER

EN

PHYSIOPATHOLOGIE CELLULAIRE

Inscrit Sous le N°: 1823
Date de: 24.04.2011
Cours:

Présenté par

M^{lle} AYACHI Rahma



ASPECT QUALITATIF ET QUANTITATIF
DES LIPOPROTEINES SERIQUES
CHEZ LE RAT WISTAR OBESE SOUS REGIME CAFETERIA

Soutenu le 26.04.2011 à 14h

Devant le jury composé de:

M ^r CHABANE-SARI D	Professeur, Université de Tlemcen	Président
M ^{me} MOKHTARI N	Maitre de conférences, Université de Tlemcen	Examinatrice
M ^{me} BOUCHERIT Z	Maitre de conférences, Université de Tlemcen	Examinatrice
M ^{me} MERZOUK H	Professeur, Université de Tlemcen	Promotrice
M ^{me} BOUANANE S	Maitre de conférences, Université de Tlemcen	Invitée

DEDICACES

À la mémoire de mes grands parents

À ma mère et mon père

À mes frères, mes sœurs et leurs enfants

À toute ma famille

À tous ceux qui éprouvent un sentiment d'amitié envers moi.

Je dédie ce travail.

REMERCIEMENTS

Mes premiers remerciements iront à ma directrice, Madame MERZOUK.H, Professeur à l'Université de Tlemcen qui m'a accueilli au sein de son laboratoire et qui a manifesté un intérêt à l'égard de mon travail; pour son guide précieux, ses judicieux conseils pratiques durant la préparation de ce mémoire. Je lui exprime ma vive reconnaissance et ma profonde et respectueuse considération.

Je remercie tout particulièrement Madame BOUANANE.S, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen pour son dévouement, sa présence, sa gentillesse, son enthousiasme, ses conseils et son implication dans ce travail en tant que co-encadreur.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Monsieur CHABANE-SARI.D, Professeur à l'Université de Tlemcen d'avoir accepté de présider ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Madame MOKHTARI.N, à Madame BOUCHERIT.Z, Maîtres de conférences à l'Université de Tlemcen pour m'avoir fait l'honneur d'être les examinatrices de ce mémoire.

Merci à tous mes amis (es) et mes collègues du laboratoire qui m'ont apporté leur aide et leur sympathie, je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite bonne continuation.

Je remercie enfin ma famille en particulier mes parents. Merci d'être là chaque jour à mes côtés pour me soutenir, m'encourager, m'écouter et m'aider. Sans vous, jamais je n'aurais pu accomplir ce travail.

Je finirai en remerciant tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire de Magister.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
SYNTHESE	
BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Régime alimentaire et obésité	3
II. Modèles animaux d'obésité expérimentale	7
III. Métabolisme lipidique et obésité.....	13
IV. Métabolisme protéique et obésité	21
MATERIELS ET METHODES	25
I. Protocole expérimental.....	25
II. Bilan nutritionnel.....	25
II.1. Détermination du contenu en azote.....	25
II.2. Détermination des teneurs en urée.....	27
II.3. Détermination des teneurs en créatinine.....	27
II.4. Détermination des teneurs en lipides.....	27
III. Sacrifices et prélèvement du sang.....	27
IV. Analyses biochimiques.....	27
IV.1. Détermination des paramètres lipidiques et protéiques au niveau du sérum et des différentes fractions des lipoprotéines.....	27
IV.1.1. Séparation des lipoprotéines.....	27
IV.1.2. Détermination des teneurs en triglycérides et en cholestérol total.....	28
IV.1.3. Dosage du cholestérol libre.....	28
IV.1.4. Détermination des teneurs en protéines totales.....	29
V. Analyse statistique.....	29
RESULTATS ET INTERPRETATIONS	30
I. Evolution du Poids corporel, Nourriture ingérée et Apport énergétique	30
I.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux.....	30
I.2. Chez les rates témoins et expérimentales.....	30
II. Lipides ingérés, excrétés et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD _L).....	30
II.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux.....	30
II.2. Chez les rates témoins et expérimentales.....	34
III. Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété.....	34

ABREVIATIONS

- AA: Acide aminé
- AG: Acide gras
- Apo: Apolipoprotéine
- BA: Bilan azoté
- β -VLDL: Béta- very low density lipoprotein (lipoprotéines de très basse densité)
- CE: Cholestérol estérifié
- CETP: Cholesterol-ester transfer protein (protéines de transfert des esters de cholestérol)
- CL: Cholestérol libre
- CM: Chylomicrons
- CO₂: Dioxyde de carbone
- CPE: Carboxypeptidase E
- CT: Cholestérol total
- CUD_L: Coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides
- CUD_N: Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote
- DIO: Diet induced obesity (obésité nutritionnelle)
- EC: Esters de cholestérol
- EDTA: Acide éthylènediamine- tétraacétique
- HDL: High density lipoprotein (lipoprotéines de haute densité)
- IDL: Intermediate density lipoprotein (lipoprotéines de densité intermédiaire)
- LCAT: Lécithine Cholestérol Acyl-Transférase
- LDL: Low density lipoprotein (lipoprotéines de basse densité)
- LepR: Récepteur de la leptine
- LH: Lipase hépatique
- LPL: Lipoprotéine lipase
- LRT: Lipoprotéines riches en triglycérides
- MC1-R: Récepteur mélanocortinergique de type 1
- MC4-R: Récepteur mélanocortinergique de type 4
- N: Azote
- NB: Nitrogen balance (balance azotée)
- NH₃: Ammoniac
- NH₄: Ammonium
- OMS: Organisation mondiale de la santé
- ONAB: Office national d'aliment de bétail

PL: Phospholipides

PLTP: Phospholipids transfer protein (protéines de transfert des phospholipides)

PT: Protéines totales

TG: Triglycérides

WHO: World Health Organisation

LISTE DES FIGURES

FIG 1: L'obésité, facteur de risque d'apparition de plusieurs maladies chroniques.....	P4
FIG 2: L'obésité, un désordre métabolique multifactoriel	P5
FIG 3: Les mécanismes physiologiques par lesquels le rat s'adapte à un régime hyperlipidique et hypercalorique (INSERM, 2004).....	P10
FIG 4: Modèles animaux d'obésité expérimentale.....	P12
FIG 5: Principales voies d'utilisation des graisses alimentaires (APFELBAUM et al., 2004).....	P14
FIG 6: Structure générale d'une lipoprotéine (CHAPMAN, 1982).....	P15
FIG 7: Métabolisme intra-vasculaire des lipoprotéines (RAISONNIER, 2004).....	P19
FIG 8: Métabolisme intra-vasculaire des lipoprotéines riches en triglycérides et formation des LDL petites et denses (ZIEGLER, 2001).....	P20
FIG 9 : Schéma général du métabolisme protéique (BEAUFRÈRE, 2005).....	P22
FIG 10: Poids corporel, Nourriture ingérée et Apport énergétique au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats mâles témoins et expérimentaux.....	P31
FIG 11: Poids corporel, Nourriture ingérée et Apport énergétique au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et expérimentales.....	P32
FIG 12: Teneurs en lipides ingérés, lipides fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats témoins et expérimentaux.....	P33
FIG 13: Teneurs en lipides ingérés, lipides fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et expérimentales.....	P35
FIG 14: Teneurs en Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats mâles témoins et expérimentaux.....	P36
FIG 15: Teneurs en Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et expérimentales.....	P37
FIG 16: Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote ($CUDN$) et bilan azoté (BA) au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats mâles témoins et expérimentaux.....	P38
FIG 17: Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote ($CUDN$) et bilan azoté (BA) au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et	P30

I. Régime alimentaire et obésité

L'obésité est devenue la première maladie non infectieuse de l'histoire. C'est une véritable épidémie qui frappe aussi bien les pays industrialisés que les pays en voie de développement (WHO, 2003; LECLERF, 2005; BRUFFAERT et al., 2008). L'augmentation de la prévalence de l'obésité dans le monde est une évidence; c'est une réalité épidémiologique quasi universelle puisqu'elle touche aujourd'hui autant les enfants que les adultes. D'après les dernières estimations mondiales de l'organisation mondiale de la santé pour 2005, environ 1.6 milliards d'adultes étaient en surpoids, au moins 400 millions étaient obèses et plus de 20 millions d'enfants sont pré obèses. L'OMS prévoit en outre que d'ici 2015, quelque 2.3 milliards d'adultes auront une surcharge pondérale et plus de 700 millions seront obèses (WHO, 2006). L'Algérie comme les autres pays est touchée par cette pandémie du siècle. Selon une étude, près de la moitié de notre population présente une obésité, 1/3 accuse un surpoids, 15.1 % ont une obésité modérée et 1.2 % une obésité morbide (KEMALI, 2003). On définit souvent l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de graisse dans le corps entier, pouvant engendrer des problèmes sanitaires et psychosociaux (LAURENCE et GENEVIEVE, 2007; LANGIN, 2009). Les conséquences les plus fréquentes sont l'hypertension et l'hyperlipidémie (principaux facteurs de risque de mortalité précoce), les coronaropathies, les accidents ischémiques cérébraux, le diabète de type 2, l'ostéoporose et certains types de cancer (FREEDMAN et al., 2001; ELHAFIDI et al., 2004; GOÛT, 2006). L'obésité est caractérisée par une augmentation de l'activité des radicaux libres et une réduction des défenses anti- oxydantes, marquant un stress oxydatif évident (FURUKAWA et al., 2004) (Figure 1).

Le lien entre santé et alimentation est plus que jamais d'actualité. En effet, les recherches récentes confirment que l'alimentation joue un rôle déterminant dans la survenue des maladies les plus répandues que sont les cancers, les maladies cardio-vasculaires et l'obésité (BESANÇON, 2001). Dans les dernières décennies, nos habitudes alimentaires se sont profondément modifiées accompagnant les transformations de la société dues à la mondialisation, l'industrialisation et l'urbanisation (AILHAUD, 2007). Ces modifications correspondent à une transition nutritionnelle qui est caractérisée par des profils alimentaires occidentalisés (abondance d'aliments gras et sucrés, de produits alimentaires industriels riches en énergie mais de faible densité nutritionnelle) et des styles de vie sédentaires. Cette transition nutritionnelle représente un facteur important dans la genèse de l'obésité en association avec d'autres facteurs comportementaux (la déstructuration des repas, le grignotage d'aliments, l'hyperphagie, la consommation des aliments de restauration rapide, de boissons gazeuses ...) et génétiques (JUNIEN et al., 2005) (Figure 2).



Figure 1: L'obésité, facteur de risque d'apparition de plusieurs maladies chroniques.

Selon certains auteurs, la composition du régime alimentaire, c'est-à-dire les proportions relatives de calories issues des lipides, des glucides et des protéines ainsi que l'apport de fibres, pourrait être un facteur favorisant essentiel parmi d'autres facteurs d'environnement ou génétique (KELLIE et al., 2009).

De ce fait, un bilan énergétique positif et un mode de vie sédentaire en sont les causes sous-jacente de l'obésité (CONSTANS et al., 2000; BRANCHI, 2001; SALTIEL et al., 2007).

Les lipides alimentaires, qui possèdent la plus forte densité énergétique (9kcal/g), représentent environ 40% de l'apport énergétique journalier alors que les apports nutritionnels conseillés sont inférieurs à 10% (MARTIN, 2001; KHAN et al., 2008). Cet excès de lipides est stocké sous forme de triglycérides dans les adipocytes en augmentant soit leurs tailles par hypertrophie soit leurs nombres par hyperplasie soit par les deux processus combinés (MICHALIK et al., 2000).

L'adoption d'un régime hyperlipidique et/ou hyperglucidique est essentiellement à l'origine de la surcharge pondérale. Chez l'homme comme chez l'animal, des études montrent une relation entre un excédent calorique (le plus souvent apporté par un excès de lipides) et une augmentation de la masse adipeuse (WEST et al., 1998; AILHAUD, 2007).

Au cours du développement comme au cours de la vie adulte, une augmentation de la masse adipeuse se trouve associée à un régime riche en lipides (KLESGES et al., 1992; TUCKER et KANO, 1992; GOLAY et al., 1997).

Ainsi, chez le rat adulte, un régime hyperlipidique ou hyperglucidique accru entraîne une augmentation de la masse adipeuse par un processus hypertrophique / hyperplasique combiné (AILHAUD, 1998). Ce phénomène se produit indépendamment du contenu calorique du régime (OSCAI et al., 1984).

De plus, il a été démontré qu'un régime hyperlipidique induit une obésité même en l'absence d'un excès calorique, indiquant une importante efficacité métabolique des régimes hypergras (PELLIZZON et al., 2002; AILHAUD, 2004). Chez l'adulte, contrairement aux protéines et aux glucides, une augmentation de la richesse en lipides de l'alimentation n'entraîne pas de réponse oxydative à court terme avec pour conséquence un stockage des lipides dans le tissu adipeux (SCHUTZ et al., 1989). Il est vraisemblable que les signaux satiétogènes générés par les lipides ne sont pas suffisamment efficaces pour contrôler l'excédent calorique ainsi apporté (BLUNDELL et al., 1995).

L'obésité apparaîtrait ainsi comme une réponse normale de nos gènes à un environnement inadéquat et non pas une réponse anormale à un environnement satisfaisant (AILHAUD, 2007).

II. Modèles animaux d'obésité expérimentale

Ces dernières années, l'accroissement dramatique de la prévalence de l'obésité et de ses conséquences morbides constituent un problème de santé publique important et justifient dès lors la mise en place de stratégies préventives et thérapeutiques efficaces. Les études expérimentales des maladies métaboliques et l'obésité sont longues et très difficiles chez l'homme en raison de la durée des différentes étapes de la vie et des multiples facteurs environnementaux.

Pour cela, l'utilisation d'un modèle expérimental animal permet de raccourcir les différentes étapes de la vie, d'étudier les activités métaboliques et de mieux comprendre les mécanismes responsables des altérations du métabolisme et la chronologie de leur apparition lors du développement de l'obésité afin de mener un traitement adapté.

II.1. Obésité génétique

Parmi les différents types d'obésité expérimentale, plusieurs résultent de mutations affectant un seul gène. Ces obésités monogéniques sont apparues spontanément dans divers élevages de rongeurs de laboratoire. Le développement de la technique du clonage positionnel a permis l'identification de cinq gènes responsables d'obésité à l'état muté (Tableau I). Depuis, les protéines correspondantes et leur rôle dans le développement de l'obésité ont été partiellement caractérisées, aboutissant à la découverte de nouvelles voies de contrôle de la prise alimentaire (GUERRE-MILLO, 2008).

Chez la souris (*Caenorhabditis elegans*) "*tubby*", une mutation du gène *tub* entraîne une perte de fonction de la protéine Tub dont le dysfonctionnement favorise l'accumulation de lipides aboutissant à une obésité tardive, associée à une cécité et à une surdité (STUBDAL et al., 2000; CARROLL et al., 2004; MUKHOPDHYAY et al., 2005). En effet, la protéine Tub est principalement exprimée dans les neurones et les tissus nerveux, mais ses gènes cibles restent à découvrir (KAPELLER et al., 1999; SANTAGATA, 2001). Ces travaux suggèrent que Tub est un acteur important de l'homéostasie énergétique et des fonctions neurosensorielles. À ce jour, l'équivalent de la mutation *tubby* n'a pas été détecté chez l'homme (GUERRE-MILLO, 2008). Contrairement à la mutation *tubby*, la mutation *fat* affecte un gène connu, qui code la carboxypeptidase E (CPE) qui est impliquée dans la maturation protéolytique de la pro-insuline (NAGGERT et al., 1995). En l'absence de la CPE fonctionnelle, les souris *fat/fat* présentent une hyperpro-insulinémie précoce et sévère et une obésité tardive. En effet, les auteurs suggèrent qu'un défaut de maturation de neuropeptides et/ou d'hormones compromettant l'homéostasie énergétique, conduit à l'obésité chez les souris *fat/fat* (BASDEVANT et al., 2004).

Tableau I: Cinq gènes responsables d'obésité chez les rongeurs (Souris/Rat) à l'état muté (GUERRE-MILLO, 2008).

<i>Protéines</i>	<i>Mutations</i>	<i>Espèces</i>	<i>Anomalies</i>
Agouti	$A^v A^{vy}$	Souris	Antagoniste du récepteur MC4-R
Leptine	<i>ob</i>	Souris	Absence de leptine fonctionnelle
Récepteur de la leptine	db, db^{3J}, db^{Pas} fa, fa^k	Souris/Rat	Absence de signal leptine
Carboxypeptidase E	<i>fat</i>	Souris	Défauts de maturation peptidique
Tub	<i>tubby</i>	Souris	Pas encore détectée

De plus chez la souris *agouti*, il existe deux mutations " A^v et A^{vy} " qui provoquent une obésité tardive et un pelage de couleur jaune (MICHAUD et al., 1994). L'explication du phénotype d'obésité est venue ultérieurement avec la découverte d'un récepteur mélanocortinergique, MC4-R, dans l'hypothalamus. En l'absence de ce récepteur, les souris développent une hyperphagie et deviennent obèses (HUSZAR et al., 1997). Or, la protéine *agouti* stimule la production d'un pigment jaune qui assure la coloration des phanères (MICHAUD et al., 1994) dont l'expression ectopique et continue de cette protéine rend compte du double phénotype des souris mutées. L'inhibition des deux récepteurs mélanocortinergiques distincts (MC1-R, MC4-R) altère à la fois la pigmentation et induit une hyperphagie conduisant à l'obésité (OLLMANN et al., 1997).

Ainsi, le clonage du gène *ob* a permis d'identifier une hormone adipocytaire satiétogène, la leptine (ZHANG et al., 1994). En l'absence de leptine fonctionnelle, les souris *ob/ob* sont hyperphages et massivement obèses (GUERRE-MILLO, 2002).

D'autres mutations dans le gène *db* ou *LepR* (code le récepteur hypothalamique de la leptine) ont été identifiées chez la souris *db/db* et chez le rat Zucker *fafa*, ainsi que chez le rat "VMH" lésé au niveau de l'hypothalamus au niveau du site potentiel d'expression du gène *ob* (OGAWA et al., 1995; CLEMENT et al., 1998; UNGER et al., 2003). Le récepteur muté bloque l'action de la leptine en induisant une hyperphagie et un excès de tissu adipeux, caractéristiques de l'obésité (MAFFEI et al., 1995; CONSIDINE et al., 1996).

II.2. Obésité nutritionnelle

Les modèles animaux d'obésité induite par un régime alimentaire permettent de mieux comprendre la physiopathologie du développement de ce désordre métabolique, ses effets sur le métabolisme et de ses conséquences associées ainsi pour pouvoir émerger des pistes de prévention d'ordre nutritionnelle. Dans ce contexte, des études expérimentales ont été réalisées principalement sur des rongeurs (Rat/Souris) qui sont physiologiquement plus proche de l'homme (Figure 3).

De ce fait, des études montrent qu'un régime hyperlipidique- hyperglucidique induit une obésité sévère, une hyperglycémie avec une hyperinsulinémie chez la souris C57BL/6J (B/6J) (SURWIT, 1995; BRENDA, 1996; RAUSCH et al., 2008). Chez le rat Wistar, un régime hyperglucidique et hyperlipidique peut induire une accumulation de graisse dans le corps avec une hypercholestérolémie et une intolérance au glucose (MAN et HE, 2009).

Ainsi, le rat Sprague-Dawley développera une obésité, un excès de tissu adipeux brun avec un changement dans les contenus hormonaux du cœur, des aortes et du pancréas après 3 mois du régime hyperlipidique et hyperglucidique (LEVIN et al., 1983).

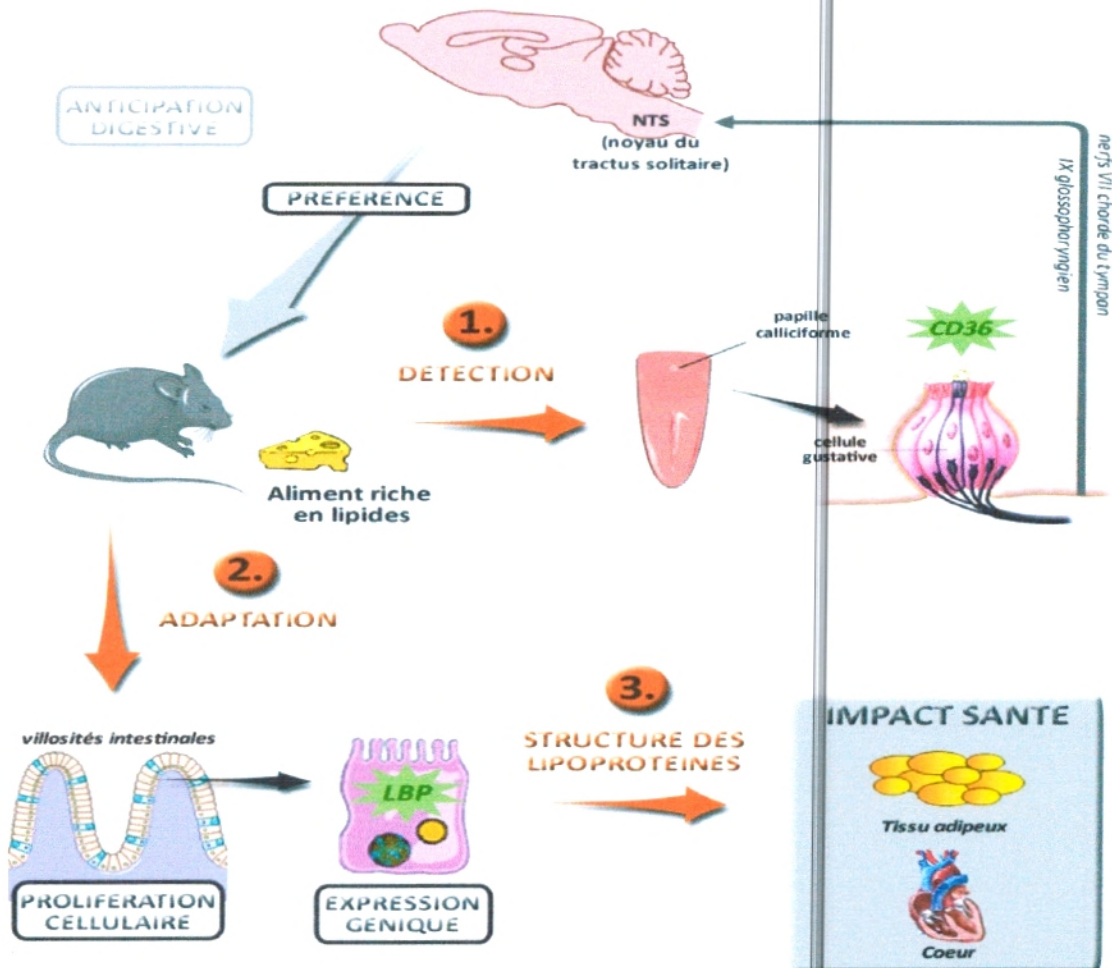


Figure 3: Les mécanismes physiologiques par lesquels le rat s'adapte à un régime hyperlipidique et hypercalorique (INSERM, 2004).

Chez l'animal, il est clairement établi que la consommation d'un régime alimentaire riche en lipides conduit à l'augmentation de la masse grasse (WEST et al., 1998).

De ce fait, un régime hyperlipidique chez le rat Wistar pendant deux mois induit une hyperphagie, une prise de poids, un excès de tissu adipeux associé à un taux plasmatique élevé de glucose, insuline et de leptine (MILAGRO et al., 2006). Cependant, des études récentes montrent que la souris B/6J est un bon modèle animal d'obésité incitée par un régime hypergras comparée au rat Wistar (CHEN et al., 2009).

En effet, il a été démontré que la souris Spiny présente une obésité, une intolérance au glucose, une hyperinsulinémie, une augmentation de glucagon plasmatique associée à une hyperglycémie si elle est soumise à un régime hyperlipidique (WEST et al., 1992). Ainsi, le régime hyperlipidique est un bon modèle expérimental d'étude de l'obésité puisqu'il induit l'excès de poids même en l'absence d'un excès calorique indiquant leur importante efficacité métabolique (PELLIZZON et al., 2002).

LEVIN et al. (1985) ont démontré qu'un régime hyperlipidique et hypocalorique pendant 5 mois chez le rat Sprague-Dawley induit une obésité, une hyperinsulinémie et une hyperplasie/hypertrophie des adipocytes dûe à l'excès de lipides.

Le rat des sables (*Psammomys obesus*) dont le régime alimentaire habituel est basé sur des plantes salées et hypocaloriques, développera une obésité associée à un diabète non insulino-dépendant à partir du 3^{ème} mois, s'il est soumis à un régime standard de laboratoire. Le rat des sables répond à l'augmentation alimentaire par un accroissement du poids corporel dû à un processus hypertrophique des adipocytes, une hyperinsulinémie et une intolérance au glucose (BENNANI-KABCHI et al., 2000).

Outre le régime hyperlipidique, l'obésité est induite par un régime cafeteria. Ce régime comporte une variété d'aliments riches en calories et agréables au goût consommés par l'homme, à savoir les chips, le chocolat, le pâté, les saucissons, le fromage, les biscuits etc.... dans des proportions variables (BARBARA et al., 1987).

Ce régime hyperlipidique et hypercalorique induit une hyperphagie et une obésité chez le rat Wistar (LOUIS-SYLVESTER, 1984). Ce modèle est proche au développement de l'obésité nutritionnelle chez l'homme suite à la surconsommation volontaire de ces aliments savoureux.

Il est clair que les modèles animaux actuels (Figure 4) sont une source précieuse d'informations et qu'ils contribueront encore à faire progresser nos connaissances dans le domaine des maladies métaboliques et de l'obésité.

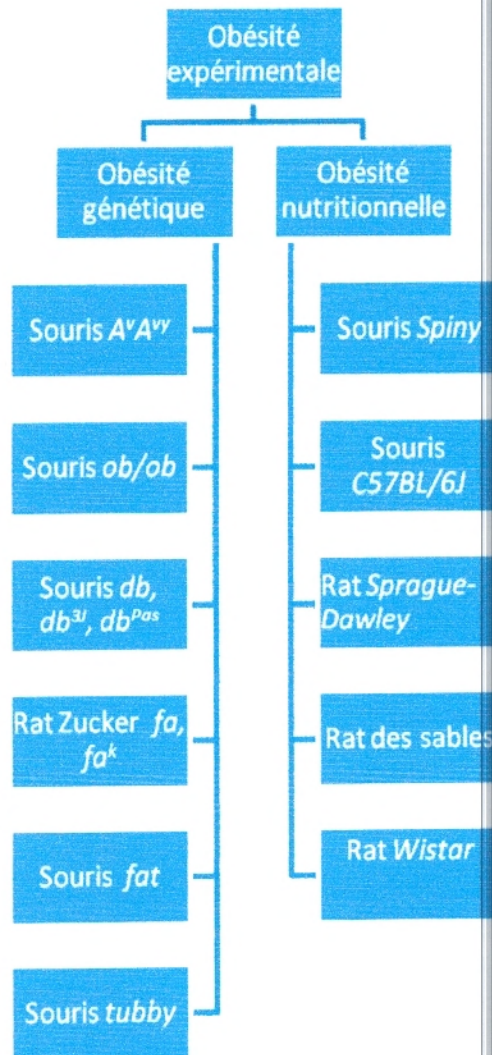


Figure 4: Modèles animaux d'obésité expérimentale.

III. Métabolisme lipidique et obésité

III.1. Rappel sur le métabolisme normal des lipides

Les lipides sont des substances organiques hétérogènes, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Elles sont formées d'acides gras unis à d'autres molécules telles que glycérol, cholestérol et certains alcools particuliers. Ces différents constituants jouent de façon directe ou indirecte, immédiate ou retardée, un rôle énergétique, structural et fonctionnel (Figure 5).

En effet, le transport des lipides endogènes et/ou exogènes dans le sang, leur distribution aux divers tissus et organes pour utilisation ou stockage est effectuée par des macromolécules complexes de forme sphérique résultant de l'association de protéines spécifiques nommées apolipoprotéines et de différents lipides [phospholipides, cholestérol libre (monocouche périphérique), triglycérides et esters de cholestérol (noyau central)]. Ces macromolécules sont appelées "lipoprotéines" (VOET et VOET, 2005) (Figure 6).

Ces dernières comprennent plusieurs familles de lipoprotéines différentes, qui ont une composition lipidique et apoprotéique variable, tant qualitativement que quantitativement (Tableau II). Cette variabilité confère d'importantes différences fonctionnelles à leurs constituants lipidiques (SCHAEFER et LEVY, 1985; SAILE et TAKI, 2007).

Ainsi, le métabolisme des lipoprotéines est un processus complexe impliquant de nombreuses réactions qui contrôlent la synthèse des lipides et des apoprotéines, l'assemblage et la sécrétion des lipoprotéines, leur catabolisme et leur utilisation au niveau des tissus (CHAPMAN, 1982). Le foie assure la synthèse de 90 % de l'ensemble des lipoprotéines, le reste étant synthétisé par l'intestin. Aussi, il sécrète des enzymes telles que la lipase hépatique, la "lecithin cholesterol acyl-transferase"(LCAT) et la "cholesterol-ester transfer protein" (CETP), qui sont indispensables au métabolisme des lipoprotéines (POLONOVSKI, 1989; GAW et al., 2004). Lors d'un repas, les lipides alimentaires, principalement constitués de triglycérides sont absorbés dans les entérocytes au sein desquels ils s'associent à des apoprotéines pour constituer les chylomicrons natifs qui passent dans la lymphe puis dans le sang. De ce fait, les chylomicrons plasmatiques sont épurés de 90 % de leurs triglycérides par la lipoprotéine lipase (LPL d'origine musculaire et/ou adipeuse). Les triglycérides hydrolysés sont utilisés soit comme substrats énergétiques par les cellules musculaires soit réestérifiés dans les cellules adipeuses sous forme de triglycérides de réserve (NUOFFER, 2005).

En effet, les chylomicrons libèrent des constituants de surface qui rejoignent le pool des HDL (naissantes). Les particules résiduelles appelées remnants de chylomicrons sont rapidement fixées par le foie grâce à un récepteur spécifique de l'apoprotéine E, puis leur catabolisme se

pour suit sous l'action de la lipase hépatique (PETIT, 2007).

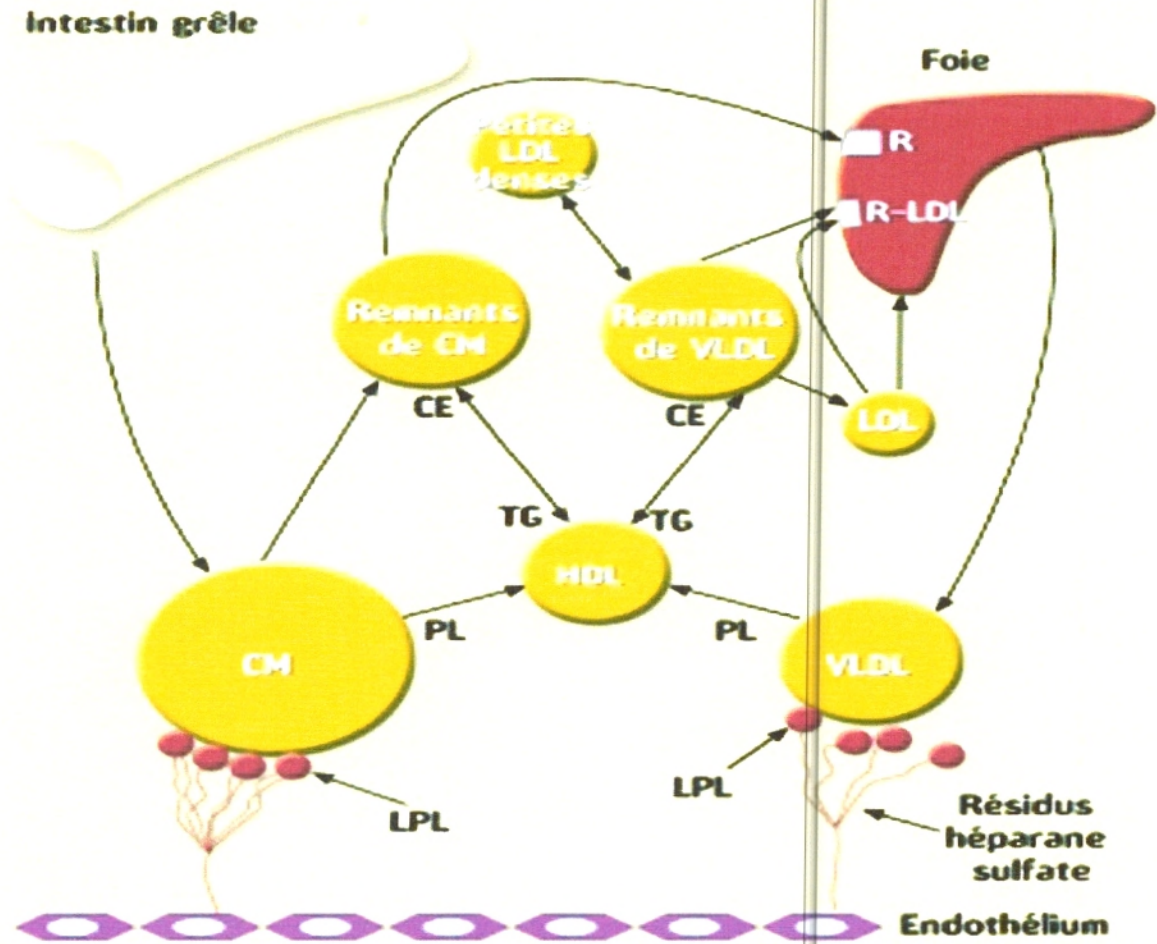


Figure 8: Métabolisme intra-vasculaire des lipoprotéines riches en triglycérides et formation des LDL petites et denses (ZIEGLER, 2001).

L'insulinorésistance pourrait constituer le dénominateur commun de ces perturbations car elle favorise l'augmentation de la production des lipoprotéines riches en triglycérides et la diminution de leur catabolisme. En effet, l'obésité et l'inactivité physique augmentent l'expression de ces anomalies du métabolisme des lipoprotéines (ZIEGLER, 2001).

IV. Métabolisme protéique et obésité

IV.1. Rappel sur le métabolisme normal des protéines

Les protéines sont des macromolécules composées d'un enchaînement d'acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques dont l'azote est le constituant chimique caractéristique des protéines. En outre, toutes les protéines sont synthétisées à partir d'un répertoire de 20 acides aminés différents. Or, ces acides aminés subdivisent en deux catégories: la première est celle des AA essentiels lorsqu'ils ne peuvent être synthétisés par l'organisme ce qui implique qu'ils doivent être apportés par l'alimentation; la deuxième est celle des AA non essentiels (synthétisés par l'organisme). De même, les protéines ont des fonctions extrêmement diverses. Ceci tient à leur exceptionnelle capacité de reconnaissance et d'interaction avec d'autres molécules. À ce titre, elles constituent les principaux régulateurs du métabolisme et contrôlent les transferts d'information, de matière et d'énergie. De plus, on trouve les protéines de structure (collagène, kératine), des protéines enzymatiques, hormonales (insuline), motrices (actine, myosine), de transport (Hémoglobine, albumine), de transduction du signal (protéines G, récepteurs...), immunitaires, etc. Malgré ces structures et fonctions très variables, toutes les protéines ont en commun le même métabolisme schématisé sur la Figure 9 (MAY, 1989; MARTIN, 2001; BEAUFRÈRE, 2005).

Ainsi, les protéines représentent environ 15% de la masse de notre organisme. Cette masse protéique varie chaque jour de quelques grammes, elle diminue à jeun (perte azotée) et est reconstituée au cours des repas. En effet, les principales voies de production et d'utilisation des acides aminés et des protéines sont :

- la synthèse protéique, elle se fait à partir d'un pool d'acides aminés libres de petite taille, environ 70 g (soit moins de 1 % des acides aminés de l'organisme) lui-même compartimenté en de multiples pools, notamment extracellulaire et intracellulaire;
- la protéolyse (ou dégradation protéique) libère des acides aminés dans le pool intracellulaire (DARMAUN, 2001).

Ces deux phénomènes de synthèse protéique et de protéolyse sont simultanés et constituent le renouvellement protéique (YOUNG et al., 1992).

Tableau III: Composition des régimes consommés par les rats (% pondéraux)

<i>Constituants en %</i>	<i>Régime standard</i>	<i>Régime cafeteria</i>
Protéines totales	19	16
Glucides totaux	57.5	27
Lipides totaux	06	40
Fibres	05	04
Humidité	07.54	09
Minéraux	04	03
Vitamines	01	01

$$BA(\%) = [(N_{\text{ingéré}} - (N_{\text{urines}} + N_{\text{féces}}) / N_{\text{ingéré}}] \times 100$$

$$CUDN(\%) = [(N_{\text{ingéré}} - N_{\text{féces}}) / N_{\text{ingéré}}] \times 100$$

II.2. Détermination des teneurs en urée urinaire

L'urée urinaire est dosée sur les urines par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du diacétylmonooxine et des ions Fe^{+3} (Kit Prochima). En présence d'ions Fe^{+3} et d'un réducteur, l'urée réagit avec le diacétylmonooxine pour donner un complexe coloré en rose. La coloration obtenue est proportionnelle à la quantité d'urée présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 525 nm.

II.3. Détermination des teneurs en créatinine urinaire

La créatinine urinaire est dosée par la méthode de Jaffé basée sur la réaction de l'acide picrique avec la créatinine en milieu basique formant un complexe coloré en jaune orange. L'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm (Kit Prochima).

II.4. Détermination des teneurs en lipides

Les lipides des régimes et des fèces sont extraits par l'utilisation d'hexane. Après évaporation totale de ce dernier, l'extrait lipidique (lipides totaux) est pesé plusieurs fois, jusqu'à poids constant. Entre chaque pesée, l'extrait lipidique est maintenu sous vide au dessiccateur.

Les coefficients d'utilisation digestive apparente des lipides (CUDL) sont déterminés selon la formule suivante:

$$CUDL(\%) = [(Lipides\ ingérés - Lipides\ fécaux) / Lipides\ ingérés] \times 100$$

III. Sacrifices et prélèvement du sang

A la fin de l'expérimentation qui correspond à 2 mois de l'âge des rats, six rats de chaque lot (témoins et expérimentaux; mâles et femelles) sont anesthésiés au chloral à 10% (0,3ml par 100g de poids corporel) et sont sacrifiés. Le sang est prélevé par ponction dans l'artère abdominale et récupéré dans des tubes secs.

Après coagulation du sang, les échantillons sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min.

Le sérum obtenu est récupéré puis conservé avec une solution de NaN_3 à 0,2% et de Na_2 EDTA à 10%, à raison de 10 μ l/ml à - 20°C en vue du dosage des différents paramètres biochimiques.

IV. Analyses biochimiques**IV.1. Détermination des paramètres lipidiques et protéiques au niveau du sérum et des différentes fractions des lipoprotéines****IV.1.1. Séparation des lipoprotéines**

Les différentes fractions des lipoprotéines sont séparées par précipitation selon la méthode de BURSTEIN et al. (1970, 1989). A pH neutre et en présence des cations divalents, les polyanions forment des complexes insolubles avec les lipoprotéines (lipopolyanions-cations)

car la précipitation se fait grâce aux polyanions qui se combinent aux lipides des lipoprotéines et non aux apolipoprotéines. Habituellement, les polyanions utilisés sont les sulfates (SO_4^{2-}), les polysaccharides (héparine) et l'acide phosphotungstique, alors que les cations sont les Ca^{2+} , Mn^{2+} et Mg^{2+} . L'utilisation du même réactif de précipitation à différentes concentrations permet de précipiter sélectivement les fractions des lipoprotéines. Ainsi à concentration de plus en plus élevée, ce réactif permet de séparer d'abord les VLDL, ensuite les LDL-HDL₁ et enfin les HDL₂₋₃.

Ce principe est analogue à celui de l'ultracentrifugation en gradient de densité des lipoprotéines. En effet, lorsque la concentration varie, la densité du milieu varie et permet une précipitation sélective.

Dans ce travail, les lipoprotéines sont précipitées par l'acide phosphotungstique et le MgCl_2 à différentes concentrations.

Les lipoprotéines précipitées sélectivement sont par la suite solubilisées grâce à une solution de solubilisation contenant du tampon citrate trisodique (pH = 7,6) et NaCl.

IV.1.2. Détermination des teneurs en cholestérol et triglycérides

Le cholestérol total et les triglycérides sont dosés sur le sérum total et les différentes fractions lipoprotéiques par des méthodes enzymatiques (kit Quimica Clinica Aplicada S.A, Espagne).

Les esters du cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre; le cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par un cholestérol oxydase en 4 Delta cholestérol et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge. A 505 nm, la concentration en quinone imine est proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon.

Les triglycérides sont hydrolysés par l'action d'une lipase en glycérol. Le glycérol produit en présence d'une glycérol kinase se transforme en glycérol 3 phosphate. Sous l'action d'une oxydase, ce dernier va se transformer en Dihydroxy-acétone phosphate et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de 4 amino-antipyrine et 4-chlorophénol et sous l'action d'une peroxydase, forme la quinone imine coloré en rose. La concentration en quinone imine mesurée à 505 nm est proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon.

IV.1.3. Dosage du cholestérol libre

Le dosage du cholestérol libre se fait au niveau du sérum par la méthode de GIRARD et ASSOUS (1962) utilisant la réaction au chlorure ferrique applicable sans déprotéinisation, ni extraction. En présence d'une solution de chlorure ferrique et d'acide sulfurique dilué par l'acide acétique, le cholestérol libre développe à 20°C une coloration rouge violacée sachant que les esters de cholestérol n'interviennent pas à ce degré de température (20°C); il est

nécessaire de faire un témoin pour chaque dosage. Le milieu réactionnel contient le sérum et l'acide acétique dans le tube dosage et témoin et la solution de chlorure ferrique dans le tube dosage. Après incubation au bain marie, un mélange acide acétique, acide sulfurique est ajouté. Les tubes sont agités énergiquement et sont maintenus une heure au bain marie à 20°C. La lecture se fait à une longueur d'onde de 500 nm. Pour chaque sérum, il faut faire la différence entre la densité optique du tube dosage et du tube témoin. Les concentrations en cholestérol libre sont déterminées à partir d'une gamme étalon de cholestérol (0,05%).

IV.1.4. Détermination des teneurs en protéines totales

Les protéines totales sont dosées sur les fractions des lipoprotéines selon la méthode de LOWRY et al. (1951). En milieu alcalin, les ions Cu^{2+} forment un complexe avec les liaisons peptidiques et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines sont réduits par le réactif de Folin. La coloration bleue développée est proportionnelle à la quantité de protéines de l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 689 nm.

Sur le sérum total, les protéines totales sont déterminées grâce à l'utilisation du réactif de Biuret (kit Quimica Clinica Aplicada S.A, Espagne). La réaction est déclenchée par l'ajout au sérum du réactif de Biuret; les protéines de l'échantillon se combinent au cuivre en milieu alcalin pour former un complexe violet dont l'absorption est mesurée à 546 nm.

V. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes est réalisée par le test "t" de Student pour les deux lots de rats étudiés (expérimentaux et témoins). Les mâles et les femelles sont étudiés séparément. Cette analyse est réalisée grâce au logiciel STATISTICA, version 4.1 (STATSOFT, TULSA, OK). Les différences sont considérées significatives à $P < 0.05$ et hautement significatives à $P < 0.01$.

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. Evolution du Poids corporel, Nourriture ingérée et Apport énergétique au cours des bilans nutritionnels BI et BII

I.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 10 et Tableau A1 en Annexe)

Au sevrage (J_{21}), les rats témoins sont séparés de leurs mères et consomment soit le régime standard ou le régime cafeteria. Après une semaine d'adaptation, les bilans nutritionnels commencent à J_{30} et se terminent à J_{60} .

*Au BI, aucune différence significative du poids corporel n'est notée chez les rats expérimentaux comparés à leur témoins, par contre une élévation hautement significative du poids corporel ($p < 0.01$) est observée entre les rats expérimentaux comparés aux témoins au cours du BII.

*La consommation alimentaire augmente significativement chez les rats expérimentaux ($p < 0.05$) par rapport à leurs témoins quelque soit le bilan.

*Quand à l'apport énergétique (exprimé en Kcal/j/rat), une élévation hautement significative ($p < 0.01$) est observée chez les rats expérimentaux comparés aux témoins et cela pour BI et BII respectivement.

I.2. Chez les rates témoins et expérimentales (Figure 11 et Tableau A1 en Annexe)

*Au cours du BI, aucune différence significative du poids corporel n'est marquée entre les deux groupes de rates. Au BII, une élévation hautement significative ($p < 0.01$) est observée entre les rates expérimentales comparées aux témoins.

*La quantité de la nourriture ingérée (exprimée en g/j/rat) chez ces rates expérimentales est significativement augmentée ($p < 0.05$) par rapport à celle des rates témoins pour les deux bilans.

*Les apports énergétiques chez les rates expérimentales sont plus élevés ($p < 0.01$) que ceux des rates témoins aux différents bilans (BI, BII).

II. Lipides ingérés, excrétés et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) au cours des bilans nutritionnels BI et BII

II.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 12 et Tableau A2 en annexe)

*De BI à BII, les quantités de lipides ingérés par les rats expérimentaux recevant le régime cafeteria (g/j/rat) sont plus élevées ($p < 0.01$) que celles des rats témoins soumis au régime standard.

*Du BI au BII, l'excrétion fécale des lipides (g/j/rat) est fortement élevée ($p < 0.01$) chez les rats expérimentaux par rapport à leurs témoins.

*Ainsi aux deux bilans, les CUD_L chez les rats expérimentaux sont significativement élevés ($p < 0.05$) que ceux des témoins.

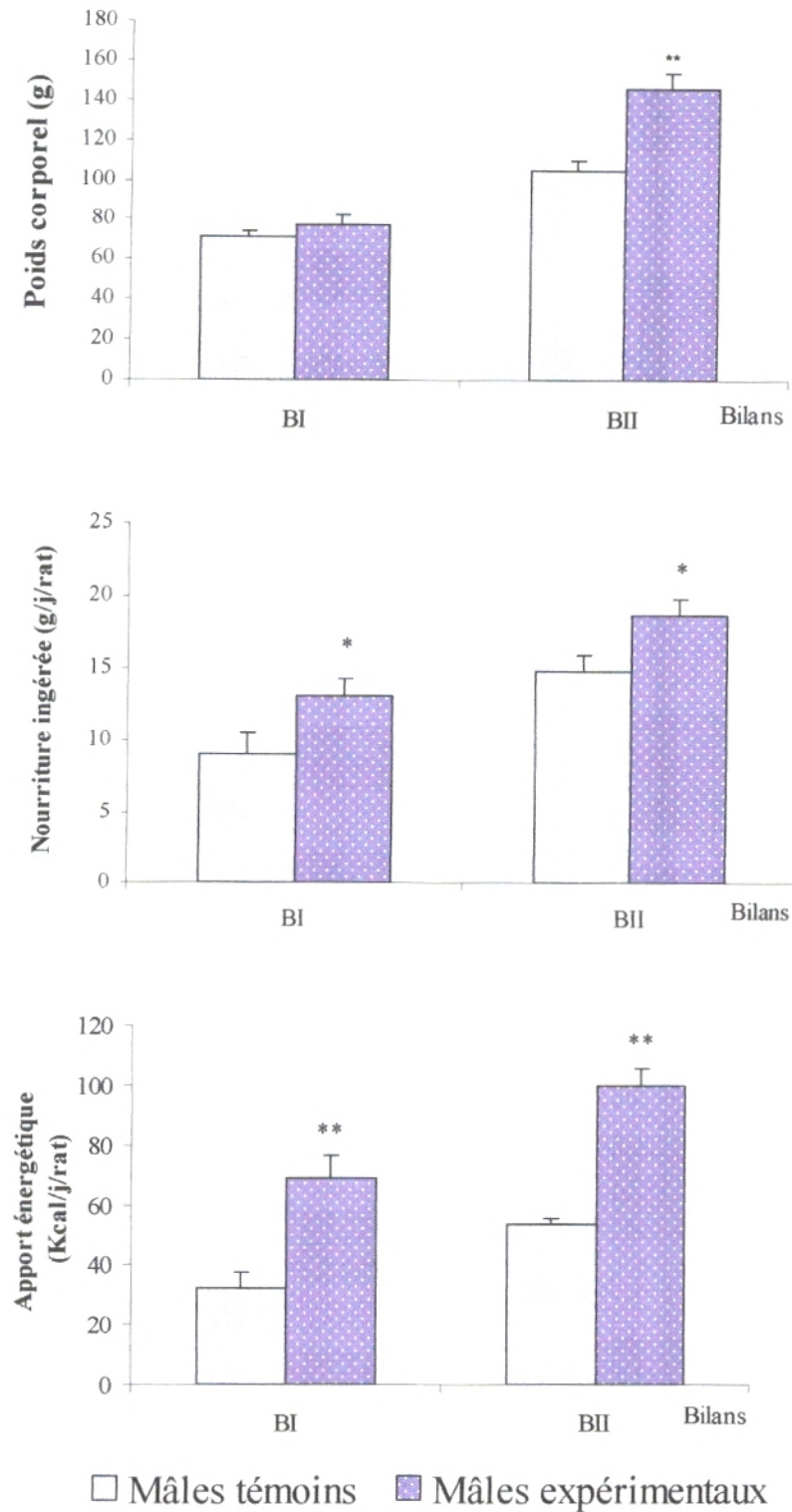


Figure 10: Poids corporel, Nourriture ingérée et Apport énergétique au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats mâles témoins et expérimentaux.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

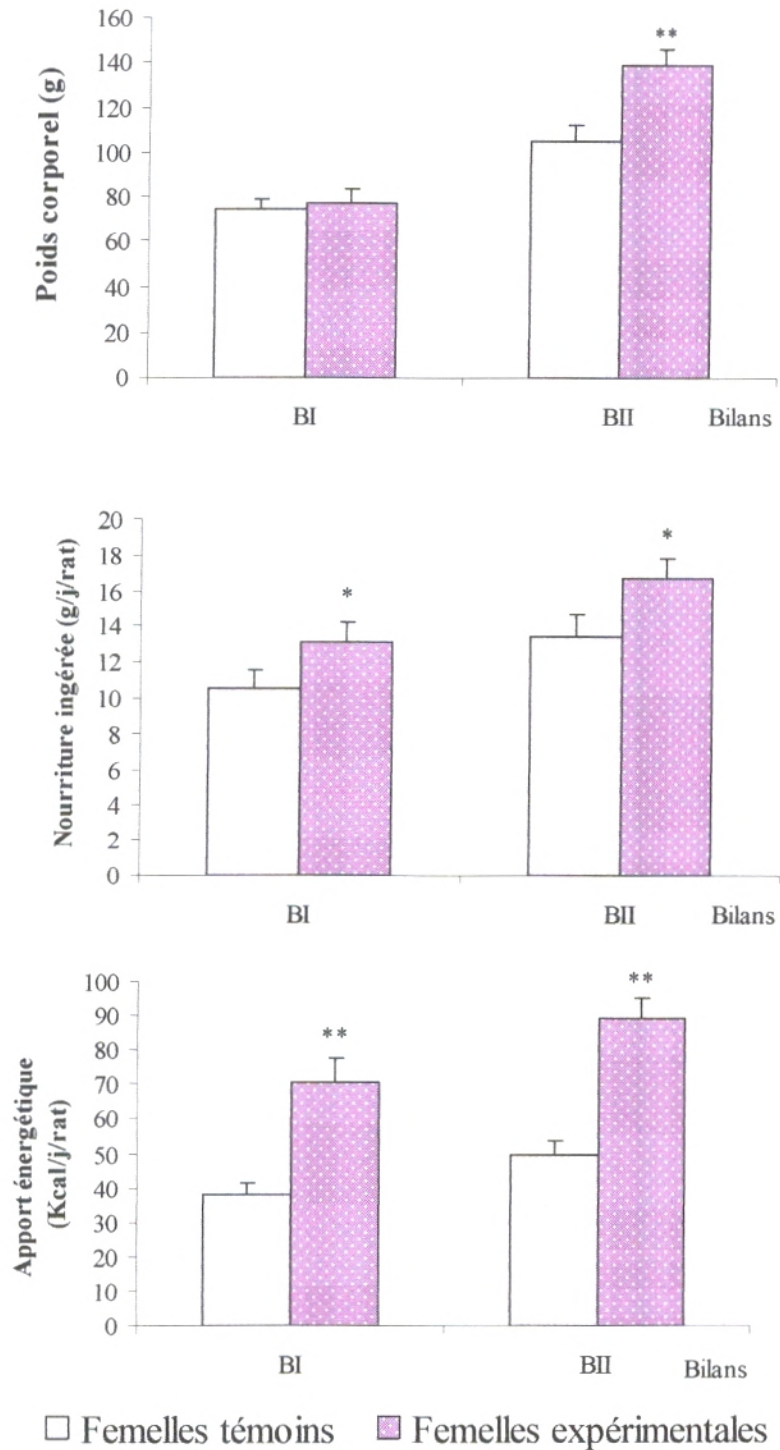


Figure 11: Poids corporel, Nourriture ingérée et Apport énergétique au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

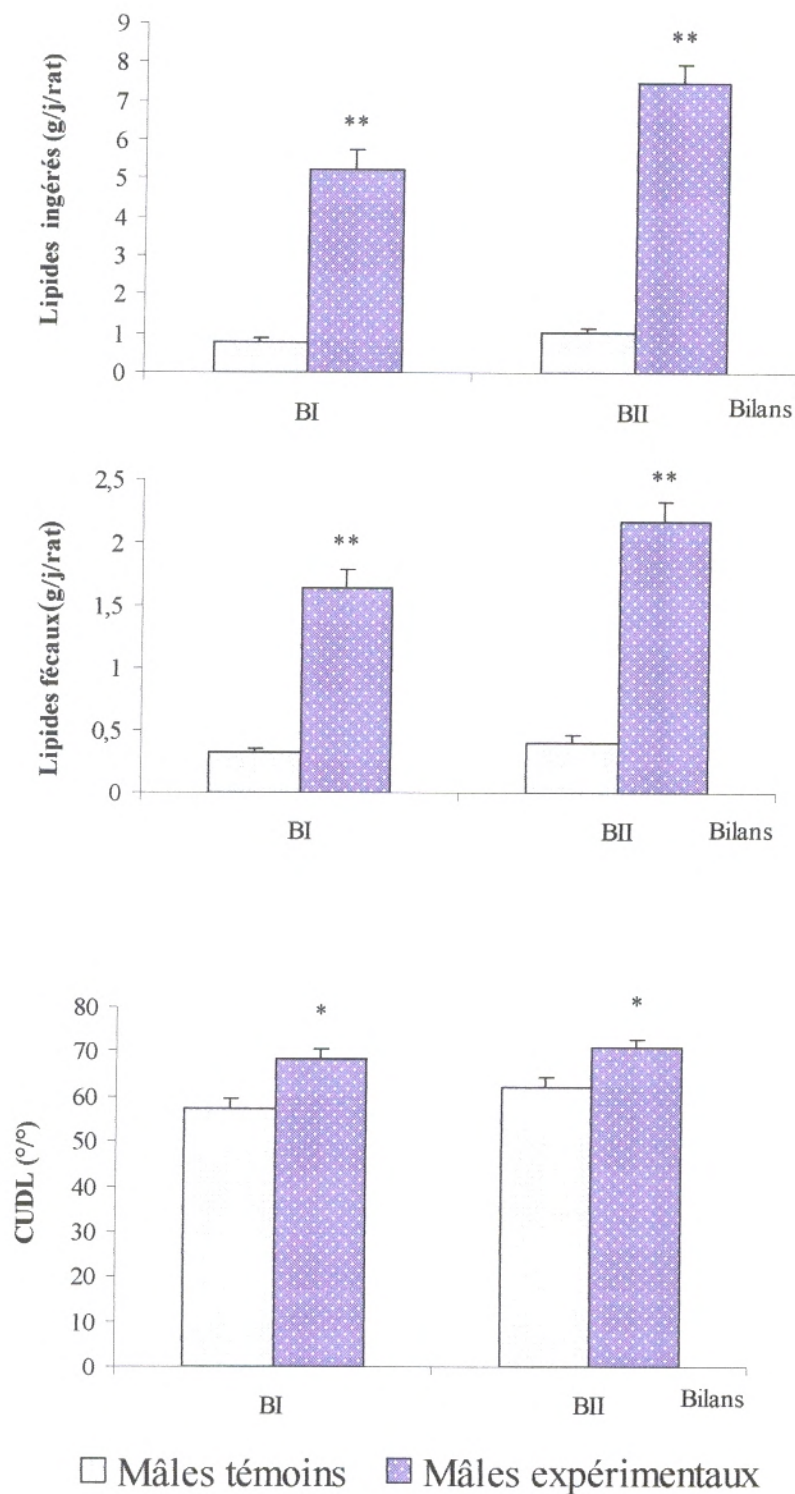


Figure 12: Teneurs en lipides ingérés, lipides fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats témoins et expérimentaux.

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

II.2. Chez les rates témoins et expérimentales (Figure 13 et Tableau A2 en annexe)

*Les quantités des lipides ingérés et des lipides excrétés chez les rates expérimentales sont fortement élevées ($p < 0.01$) que celles des rates témoins aux deux bilans. Cette évolution est proportionnelle à la nature du régime consommé.

*Ainsi au cours des deux bilans, les CUD_L sont élevés ($p < 0.05$) chez ces rates expérimentales par rapport à leurs témoins.

III. Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels BI et BII**III.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 14 et Tableau A3 en annexe).**

*Une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'azote ingéré (mg/j/rat) est observée chez les rats expérimentaux comparés aux rats témoins aux différents bilans (BI, BII).

*Les rats expérimentaux consommant le régime cafeteria présentent un taux d'azote excrété similaire à celui des rats témoins recevant le régime standard et cela pour BI et BII respectivement.

*De BI à BII, l'évolution de l'azote fécal et urinaire est comparable à celle de l'azote excrété chez les deux lots de rats étudiés.

III.2. Chez les femelles témoins et expérimentales (Figure 15 et Tableau A3 en annexe).

*L'azote ingéré chez les femelles expérimentales présente une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) par rapport aux rates témoins aux deux bilans.

*De BI à BII, aucune différence significative de l'azote excrété, urinaire et fécal n'est observée entre les deux groupes des rates.

IV. Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N) et bilan azoté (BA) au cours des bilans nutritionnels BI et BII**IV.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 16 et Tableau A4 en annexe).**

*Au deux bilans, les rats expérimentaux recevant le régime cafeteria présentent une augmentation significative ($p < 0.05$) des coefficients d'utilisation digestives de l'azote (CUD_N) par rapport à leurs témoins.

*Les bilans azotés sont très élevés ($p < 0.01$) chez les rats expérimentaux comparés aux témoins pour les deux bilans.

IV.2. Chez les femelles témoins et expérimentales (Figure 17 et Tableau A4 en annexe).

*On observe une augmentation significative ($p < 0.05$) des CUD_N et très significative ($p < 0.01$) des bilans azotés chez les rates expérimentales par rapport à leurs témoins au BI et BII respectivement.

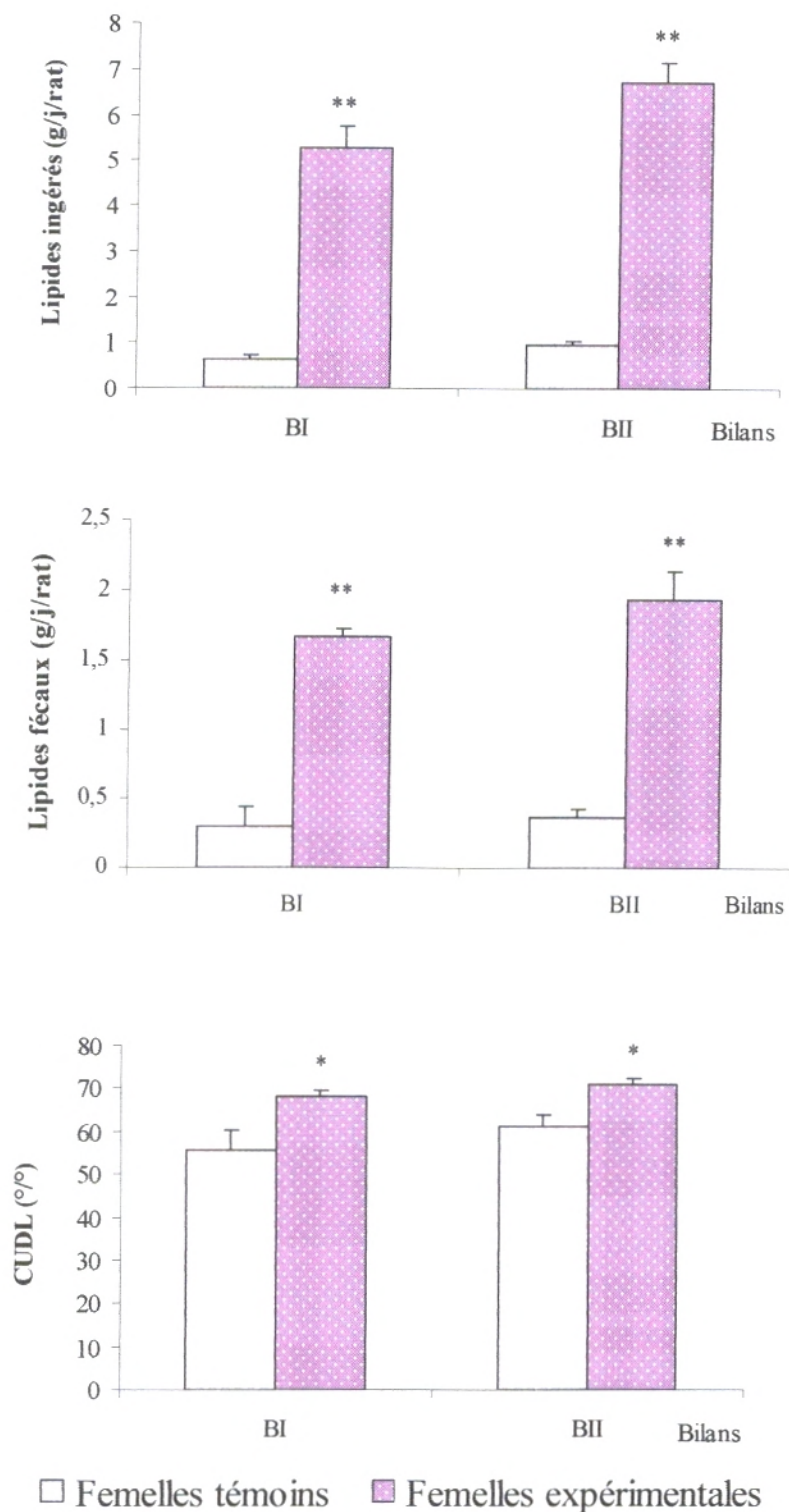


Figure 13: Teneurs en lipides ingérés, lipides fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD₁) au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

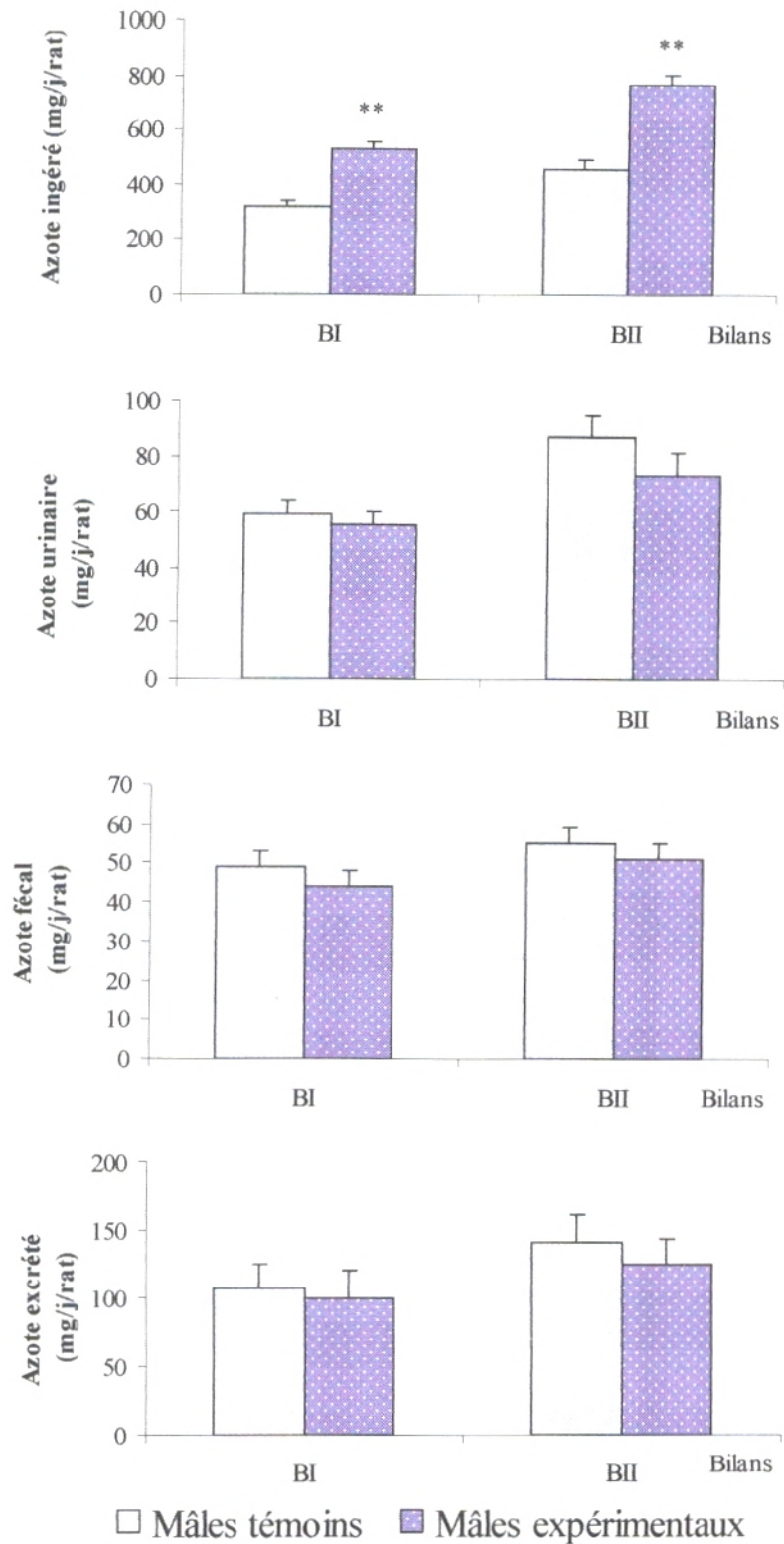


Figure 14: Teneurs en Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats mâles témoins et expérimentaux.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

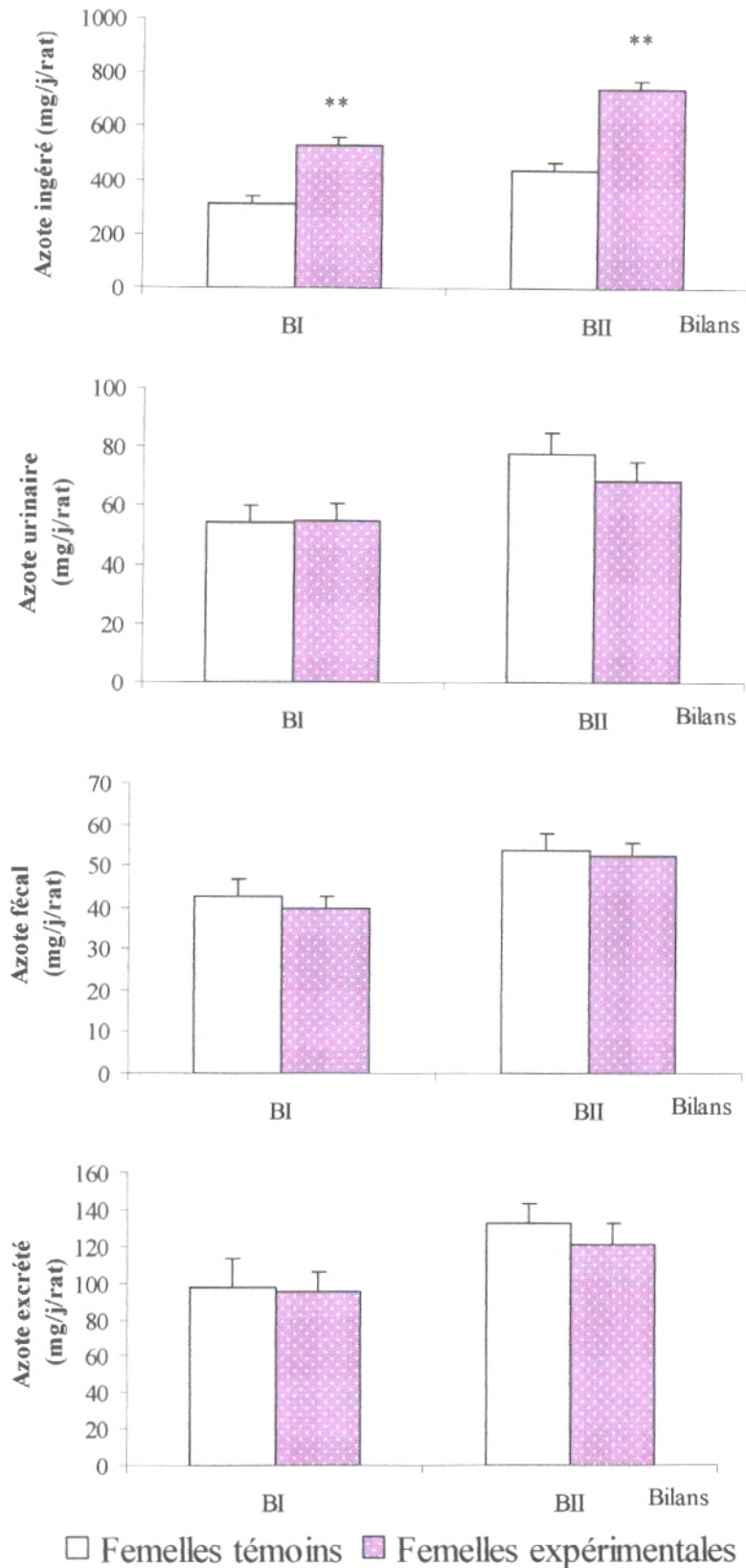


Figure 15: Teneurs en Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rates témoins et expérimentales. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student. Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

V. Teneurs urinaires en urée et créatinine au cours des bilans nutritionnels BI et BII

V.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 18 et Tableau A5 en annexe).

*Les teneurs en urée au niveau des urines présentent une diminution significative chez les rats expérimentaux comparés à leurs témoins aux deux bilans.

*Aucune variation des teneurs en créatinine urinaire n'est notée entre les rats des deux groupes quelque soit le bilan.

V.2. Chez les femelles témoins et expérimentales (Figure 19 et Tableau A5 en annexe).

*De BI à BII, les teneurs en urée urinaire sont diminuées de façon significative ($p < 0.05$) chez les rates nourries au régime cafeteria par rapport aux rates nourries au régime standard.

*Les rates expérimentales consommant le régime cafeteria présentent des teneurs en créatinine urinaire similaires à celles des femelles témoins quelque soit le bilan.

VI. Teneurs en Triglycérides du sérum et des lipoprotéines sériques chez les rats témoins et expérimentaux

VI.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 20 et Tableau A6 en annexe).

*Une augmentation significative ($p < 0.05$) des teneurs en triglycérides au niveau du sérum et au niveau des VLDL et LDL-HDL₁ est notée chez les rats expérimentaux comparés aux témoins. Par contre, une diminution significative ($p < 0.05$) des triglycérides des HDL₂₋₃ est observée chez ces rats expérimentaux par rapport à leurs témoins.

VI.2. Chez les femelles témoins et expérimentales (Figure 21 et Tableau A6 en annexe).

*Chez les rates expérimentales, les teneurs en triglycérides au niveau du sérum et au niveau des VLDL et des LDL-HDL₁ sont élevées ($p < 0.05$) par rapport à celles des femelles témoins. De plus, une diminution significative ($p < 0.05$) des teneurs en triglycérides des HDL₂₋₃ est observée chez les rates expérimentales comparées aux rates témoins.

VII. Teneurs en Cholestérol total du sérum et des lipoprotéines sériques chez les rats témoins et expérimentaux.

VII.1. Chez les rats mâles témoins et expérimentaux (Figure 22 et Tableau A6 en annexe).

*Au niveau du sérum et au niveau des VLDL et des LDL-HDL₁, les teneurs en cholestérol total sont plus élevées ($p < 0.01$) chez les rats expérimentaux par rapport à celles des témoins.

*En outre, les rats expérimentaux présentent une diminution significative ($p < 0.05$) des taux du cholestérol total des HDL₂₋₃ comparés aux rats témoins.

VII.2. Chez les femelles témoins et expérimentales (Figure 23 et Tableau A6 en annexe).

*Chez les rates expérimentales recevant le régime cafeteria, les teneurs sériques en cholestérol total et au niveau des VLDL et des LDL-HDL₁ sont plus élevées ($p < 0.01$) comparés à celles des témoins consommant le régime standard.

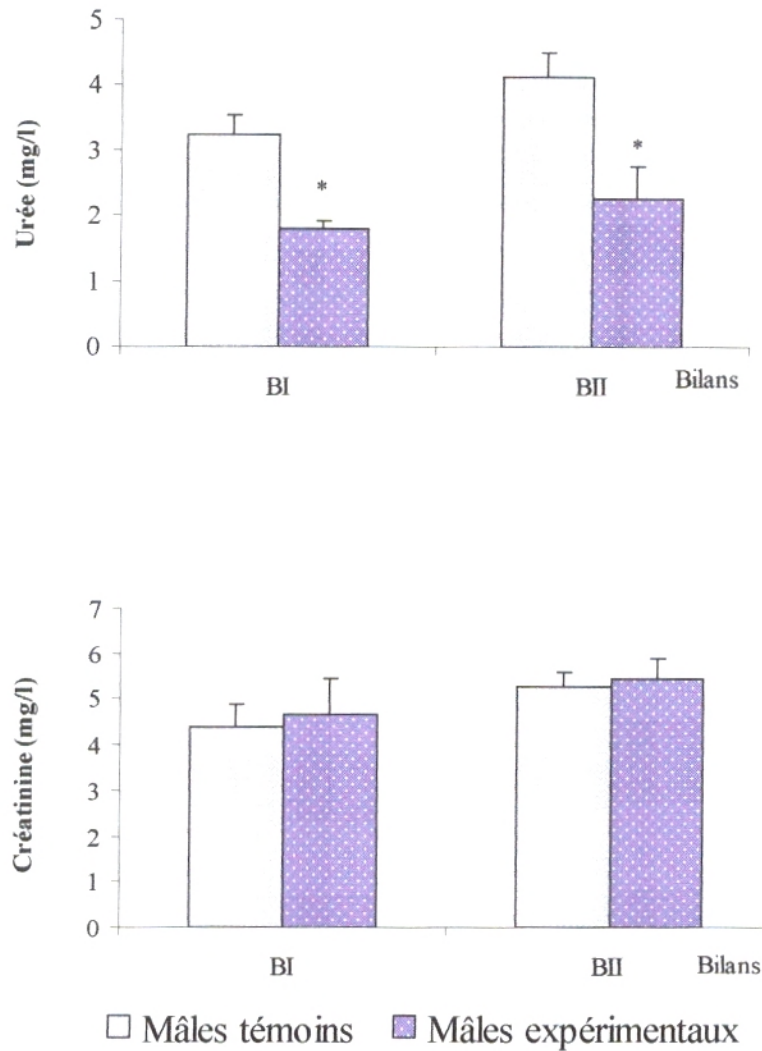


Figure 18: Teneurs urinaires en urée et créatinine au cours des bilans nutritionnels (BI, BII) chez les rats mâles témoins et expérimentaux.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. BI: 30^{ème} au 37^{ème} jour de l'âge des rats; BII: 53^{ème} au 60^{ème} jour de l'âge des rats. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins, au même bilan et au même sexe : *p<0.05; ** p<0.01.

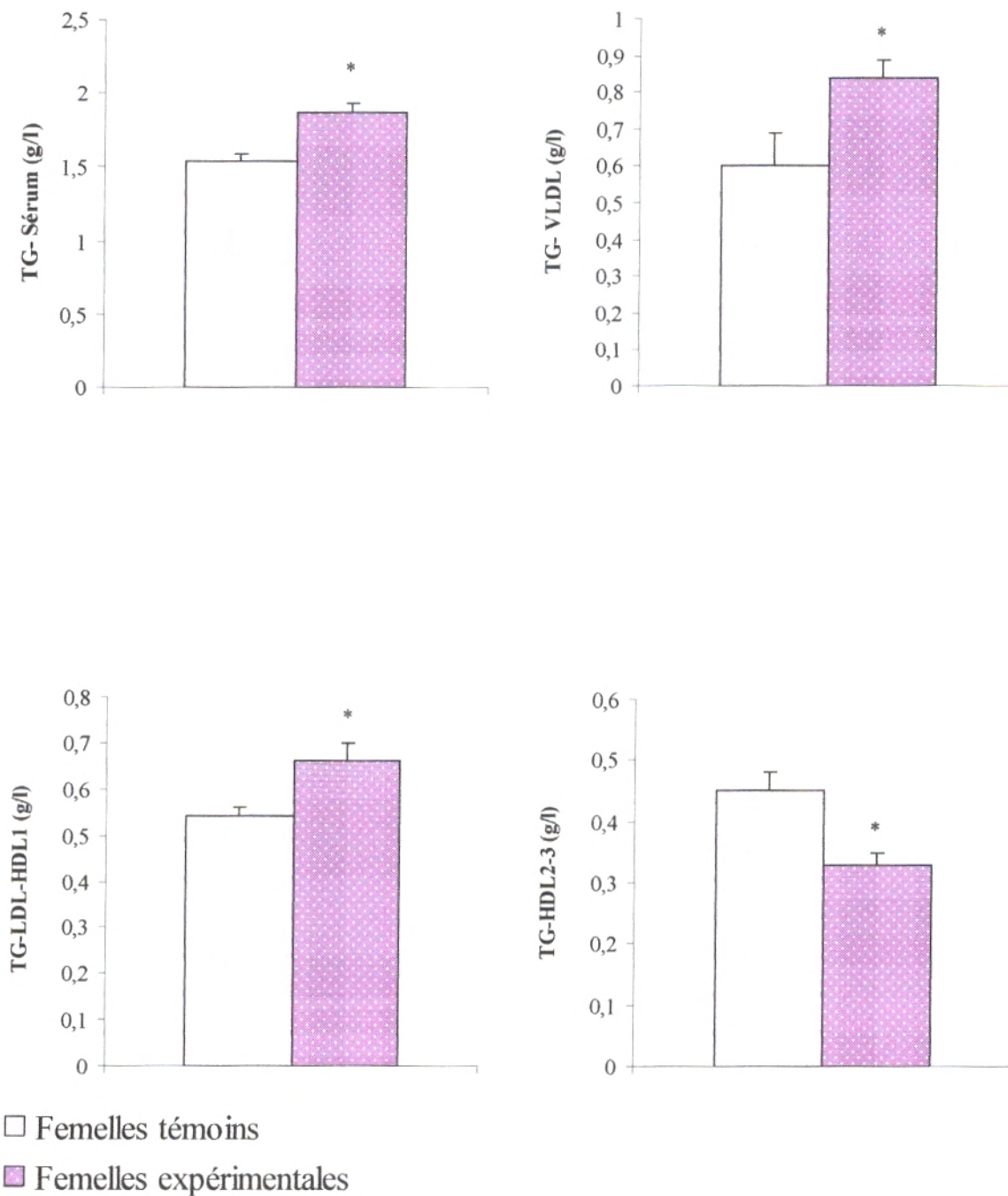


Figure 21: Teneurs en Triglycérides du sérum et des différentes fractions des lipoprotéines chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student.

Expérimentaux comparés aux témoins: * P<0.05; ** p<0.01.

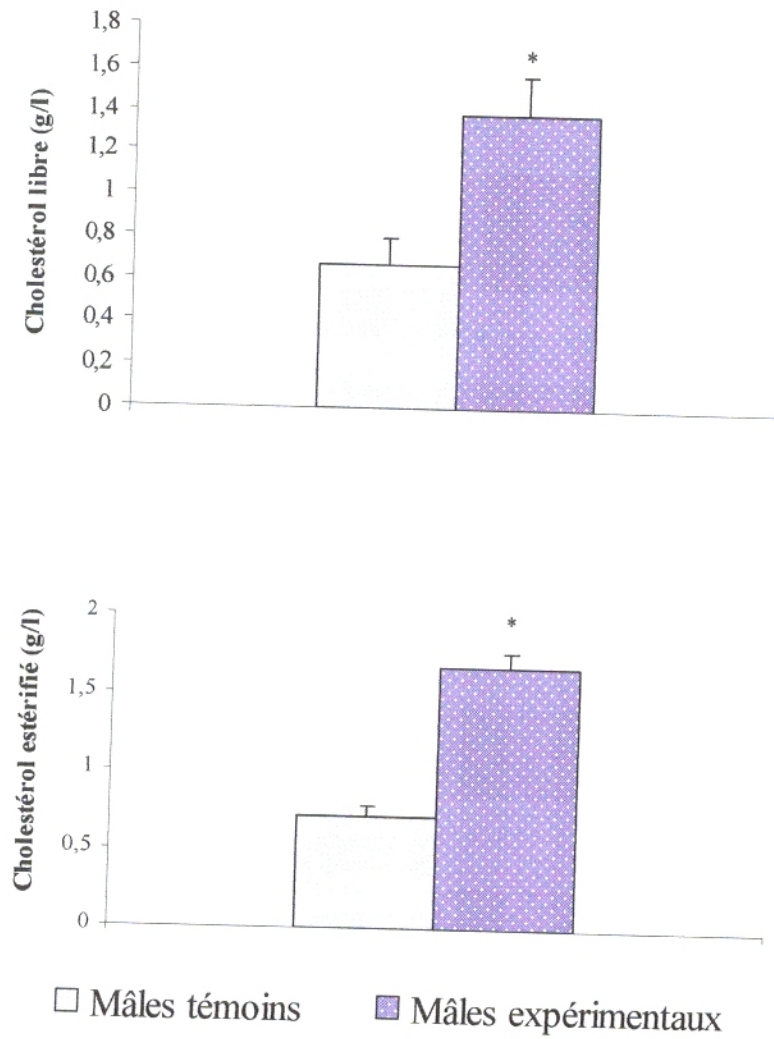


Figure 24: Teneurs en Cholestérol libre et en Cholestérol estérifié chez les rats mâles témoins et expérimentaux. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rats témoins sont nourris au régime standard, alors que les rats expérimentaux sont nourris au régime cafeteria. La comparaison est effectuée par le test "t" de Student. Expérimentaux comparés aux témoins: * P<0.05; ** p<0.01.

résultats des études précédentes (ARMITAGE et al., 2005). Dans notre étude, une élévation hautement significative des lipides excrétés est notée chez les rats sous régime cafeteria comparés aux rats sous régime standard aux différents bilans. Cette évolution est proportionnelle à la quantité importante de lipides ingérés. Par ailleurs, les coefficients d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) chez les rats expérimentaux des deux groupes restent élevés que ceux des rats témoins. Ces observations sont bien connues lorsque le régime est riche en lipides, aussi bien chez l'homme que chez le rat (KERFELEC et al., 2004; BADMAN et FLIER, 2005). Ainsi, des données expérimentales démontrent qu'une alimentation hyperlipidique modifie la composition de la flore intestinale en augmentant l'absorption des lipides (NATHALIE et al., 2008).

Nos résultats montrent aussi qu'au cours des deux bilans nutritionnels, la quantité d'azote ingéré est très élevée chez les deux groupes de rats expérimentaux comparés aux témoins alors que l'azote excrété fécal ou urinaire ne présente aucune variation significative. Les valeurs similaires de l'azote fécal correspondent à l'azote non absorbé et à l'azote endogène, signe d'une bonne assimilation protéique.

En outre, la voie préférentielle d'élimination de l'azote est le cycle de l'urée qui représente environ 80 % de l'azote urinaire total (MEDART, 2004). Notre étude montre que l'excrétion de l'urée chez les rats sous régime cafeteria est significativement diminuée par rapport aux rats sous régime standard quelque soit le bilan. Cette diminution est expliquée par la diminution de la quantité de substrat NH_3 issu de la désamination oxydative des acides aminés, ce qui est le signe de leur meilleure utilisation pour les synthèses protéiques. Par ailleurs, la réduction de la synthèse d'urée est probablement dûe à la réduction de l'activité des enzymes hépatiques intervenant dans le cycle d'urée (MUNRO, 1978; MEIJER et HENSGENS, 1982; BARBER et al., 1985).

D'un autre côté, les rats expérimentaux des deux sexes présentent des coefficients d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N) élevés avec pour conséquence une augmentation hautement significative des bilans azotés (BA) comparés aux rats témoins et cela pour BI et BII. Un bilan azoté positif est un signe d'état anabolique confirmant la meilleure utilisation métabolique de l'azote par ces rats sous régime cafeteria ainsi leur meilleure capacité de rétention azotée (LACROIX et al., 2007). De plus, une augmentation de l'apport énergétique améliore spectaculairement la balance azotée. Certaines études montrent aussi que les lipides ont un effet supérieur en terme d'épargne azotée ce qui est en accord avec nos résultats (HILLESTAD et JOHNSEN, 1994; BOIRIE et al., 1995; WILLIAM et al., 2004).

Concernant les teneurs en créatinine urinaire, aucune différence significative n'est notée entre les quatre groupes de rats étudiés quelque soit le bilan. En effet, la créatinine est le résultat de

l'hydratation de la créatine et créatine phosphate après une contraction musculaire (CYNOBER, 2001). Les valeurs similaires de créatinine, signe d'absence de fonte musculaire, indiquent que l'azote excrété est bien d'origine alimentaire.

On constate que le régime cafeteria induit chez les rats expérimentaux mâles et femelles une hyperphagie associée à une meilleure rétention des protéines et des lipides en favorisant un gain de poids important.

Dans notre travail, les rats expérimentaux mâles et femelles ont développé une prise de poids consécutive à une hyperphagie volontaire des aliments riches en énergie, en accord avec les études de GOLAY (1998) qui a montré qu'un régime hyperlipidique et hypercalorique conduit à une accumulation de tissu adipeux avec une prise de poids chez le rat. Ainsi, le libre accès des rats à ce régime entraîne en 10 jours une prise de poids ce qui confirme les résultats de notre étude (LOUIS-SYLVESTRE et MAGNEN, 1983). L'excès pondéral des rats nourris au régime cafeteria est associé à l'accumulation des graisses dans le tissu adipeux en augmentant la taille des adipocytes par hypertrophie et/ou hyperplasie, confirmant ainsi les propriétés obésogènes de ce régime qui à leur tour altèrent le métabolisme glucidique, lipidique et protéique (KOPELMAN, 2000). Nos résultats supportent ces données puisque le régime cafeteria entraîne chez les rats un gain pondéral lié à des anomalies lipidiques, qualitatives et quantitatives. Par ailleurs, les rats expérimentaux des deux sexes présentent une augmentation des taux sériques de triglycérides et de cholestérol. Cette hypertriglycéridémie sera toujours liée à une lipémie postprandiale augmentée avec la quantité de graisse ingérée (GUIMONT, 1998) d'une part, d'autre part elle sera probablement due à une réduction du catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides qu'elles soient d'origine exogène (chylomicrons) ou endogène (VLDL) (CHEN et al., 1991; JEUSETTE et al., 2004). Par ailleurs, l'hypertriglycéridémie peut être liée à une surproduction hépatique des VLDL suite à une augmentation du flux d'acides gras libres au foie et/ou à une résistance à l'effet inhibiteur de l'insuline sur la sécrétion des VLDL (STEINER et al., 1984; MALMSTROM et al., 1997; ZIEGLER et al., 1998; VERGES, 1999). D'autres travaux expérimentaux indiquent que les animaux soumis à un régime riche en graisses présentent une augmentation des teneurs sériques en cholestérol total confirmant nos résultats (INKELES et al., 1981, JEUSETTE et al., 2004). Ainsi, l'hypercholestérolémie peut être le résultat d'une hyperproduction hépatique du cholestérol et/ou une diminution de leur catabolisme. Cette surproduction est due à l'excès en acides gras qui peut entraîner une diminution de la synthèse des récepteurs hépatiques des LDL et une réduction de leur captation par les tissus périphériques avec pour conséquence une augmentation de la synthèse endogène du cholestérol dont l'excès correspond à l'élévation de la cholestérolémie (REINEHR et al., 2005). De plus, on constate que les TG-HDL_{2,3} sont

L'utilisation d'un modèle expérimental, le rat wistar nourri au régime cafeteria nous a permis de mieux comprendre le rôle de ce régime hyperlipidique et hypercalorique dans l'installation d'obésité et les troubles métaboliques associés.

L'ensemble de ces résultats a montré que le régime cafeteria induit chez le rat et quelque soit le sexe une prise de poids consécutive à une consommation alimentaire accrue associée à une meilleure rétention des protéines et des lipides indiquant une bonne efficacité nutritionnelle de ce régime. Ceci témoigne que le régime cafeteria est un bon modèle expérimental d'obésité nutritionnelle.

Même si notre étude est réalisée sur une période courte d'un mois, néanmoins elle nous a permis de montrer que le régime cafeteria entraîne chez les rats des anomalies lipoprotéiques, quantitatives et qualitatives.

En effet, les altérations quantitatives notées chez les rats consommant le régime hyperlipidique et hypercalorique comprennent une augmentation des teneurs sériques en triglycérides, cholestérol total, du cholestérol-LDL-HDL₁ et du cholestérol estérifié avec une diminution du cholestérol-HDL₂₋₃.

Ces rats présentent aussi des anomalies qualitatives potentiellement athérogènes. Ces modifications comprennent une élévation du rapport Cholestérol/ triglycérides au sein des VLDL, un enrichissement en triglycérides des LDL-HDL₁ avec pour conséquence des changements de la composition des lipoprotéines. Ces anomalies lipidiques peuvent altérer le métabolisme des lipoprotéines chez les rats consommant le régime cafeteria.

Il apparaît clairement qu'un régime riche en graisses et en calories a des effets néfastes sur le métabolisme lipidique. Pour cela, nous souhaitons prendre en compte les résultats de cette étude pour une meilleure analyse des altérations du métabolisme lipidique liées au surpoids ainsi que pour une meilleure stratégie de prévention. Nous souhaitons continuer ce travail par l'étude des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines afin de confirmer les altérations métaboliques associées à la consommation du régime cafeteria.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AILHAUD, G. (1998) L'adipocyte, cellule sécrétrice et endocrine. *Med/ Sci*, **14**: 858-886.
2. AILHAUD, G., HAUNER, H. (2004) Development of white adipose tissue. In: Bray AG, Bouchard C, eds. *Handbook of Obesity: Etiology and Pathophysiology*, 2nd Ed. New York. *INC.17*: 481- 514.
3. AILHAUD, G. (2007) Développement du tissu adipeux: importance des lipides alimentaires. *Centre de Biochimie, UNSA, Nice*: 4-6.
4. APFELBAUM, M., ROMON, M., DUBUS, S. (2004) Diététique et nutrition. 4^{eme} Ed: *Masson*. Paris: 160-162.
5. ARMITAGE, J.A., TAYLOR, P.D., POSTON, L. (2005) Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to energy rich diet during development *J Physiol*. **565**: 3-8.
6. BADMAN, M.K., FLIER, J.S. (2005) The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. *Science*. **307**: 1909-1914.
7. BARBARA, J., MOORE, A. (1987) The cafeteria diet an inappropriate tool for studies of thermogenesis. *JN The journal of Nutrition*. **117**: 227-231.
8. BARBER, T., VINA, J.R., VINA, J.T., CABO, J. (1985) Decreased urea synthesis in cafeteria- diet- induced obesity in the rat. *Biochem J*. **230**: 675-681.
9. BARTER, P. (2004) Metabolic abnormalities: high density lipoproteins. *Endocrinol Metab Clin North Am*. **33**: 393- 403.
10. BASDEVANT, A., GUY-GRAND, B. (2004) Médecine de l'obésité. Ed. *Flammarion*: 30-40.
11. BEAUFRÈRE, B., BOIRIE, Y. (2005) Métabolisme protéique. *Cah Nutr Diet*. **40**: 53-64.
12. BENNANI- KABCHI, N., FDHIL, H., CHERRAH, Y., ELBOUAYADI, F., KEHEL, L., MARQUIE, G. (2000) Effet thérapeutique des feuilles d'Olea europea Var.oleaster sur le métabolisme glucido-lipidique chez le rat des sables (*Psammomys Obesus*) obèse prédiabétique. *Annales pharmaceutique françaises*. **58**: 271-277.
13. BESANÇON, B. (2001) Besoins alimentaires et qualité nutritionnelle des aliments. *Lavoisier*. **5**: 89-134.
14. BLUNDELL, J.E., COTTON, J.R., DELARGY, H and GREEN, S., GREENOUGH, A. (1995) The fat paradox: fat-induced satiety signals versus high fat over consumption. *Int J Obes*. **19**: 832-835.
15. BOIRIE, Y., BEAUFRÈRE, B. (1995) Control of amino acid metabolism by lipid, ketone bodies and glucose substrates. In: *Amino acid metabolism and therapy in health and*

Résumé

Notre travail s'inscrit dans l'étude de l'impact d'un régime hypergras et hypercalorique sur l'aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines et de l'efficacité nutritionnelle de ce régime. Dans ce contexte, nous avons utilisé un modèle animal d'obésité nutritionnelle, le rat Wistar âgé d'un mois nourri pendant 4 semaines au régime cafeteria, hyperlipidique et hypercalorique, comparé à un régime témoin. Les rats de chaque lot sont mis dans des cages à métabolisme individuelles durant la première et la dernière semaine d'expérimentation, afin de réaliser les bilans nutritionnels. Les dosages des paramètres lipidiques et protéiques sont réalisés au niveau du sérum et des différentes fractions des lipoprotéines chez les rats expérimentaux et témoins ainsi que le dosage de quelques paramètres urinaires (urée et créatinine), BA%, CUD_L, CUD_N.

Nos résultats montrent qu'un régime hyperlipidique et hypercalorique induit une prise de poids chez le rat Wistar mâle et/ou femelle associée à une dyslipidémie caractérisée par des anomalies qualitatives et quantitatives de différentes classes des lipoprotéines. L'élévation des BA%, CUD_L et CUD_N indique une bonne efficacité nutritionnelle du régime cafeteria.

Mots clés: régime cafeteria, rat wistar, lipoprotéines, lipides, bilan azoté.

Abstract

The aim of our work is to study the impact of high-fat and high-caloric diet on the qualitative and quantitative aspect of lipoproteins and to determine the food efficiency of this diet. In this context, we used an animal model of diet induced obesity, the Wistar rat of 1 month fed the cafeteria diet (hyperlipidic and hypercaloric), during four weeks compared to control diet. These rats are put in individual metabolic cages during the first and the last week of experiment, to realize the nutritional balance. Lipids and proteins parameters are analysed in serum and in the different fractions of lipoproteins of experimental and control rats as well as the dosage of some urinary parameters (urea, NB%...).

Our results show that hyperlipidic and hypercaloric diet leads to a Weight gain in Wistar rat (male/female) associated with a dyslipidemia characterized by qualitative and quantitative abnormalities of various classes of lipoproteins. Increased nitrogen balance indicated a good nutritional efficiency of cafeteria diet.

Keywords: cafeteria diet, wistar rat, lipoproteins, lipids, nitrogen balance.

ملخص

سجل عملنا لدراسة تأثير نظام غذائي غني بالدهون و السعرات الحرارية على المظهر الكمي و النوعي للبروتينات الليبيدية إضافة إلى تبيان القيمة الغذائية لهذا النظام.

لهذا الغرض تم استعمال نموذج تجريبي للسمنة الغذائية، تمثل في إطعام فئران بيضاء (ذكور و إناث) البالغة شهرا بغذاء "كفتيريا" المتميز بارتفاع نسبة دهونه و سعراته الحرارية خلال أربعة أسابيع مقارنة مع نظام شاهد.

كما تمنا بوضع هذه الفئران في أقفاص انفرادية خلال الأسبوع الأول و الأخير من مدة التجربة بغية تحديد قدرة الاستيعاب الغذائية لديها. تحاليل الثوابت الليبيدية و البروتينية أجريت على مستوى مصلى الدم و مختلف أجزاء البروتينات-الليبيدية عند الفئران التجريبية و الشواهد أيضا تحاليل بعض المؤشرات البولية و الحصيلة الأزوتية.

أثبتت دراستنا أن النظام الغذائي، الغني بالدهون و السعرات الحرارية (حمية كفتيريا) أدى إلى زيادة وزن الفئران ذكور و إناث، مصحوبة باضطرابات أيضية ليبيدية كمية و نوعية لمختلف أجزاء البروتينات-الليبيدية، كما سجلنا ارتفاعا في مؤشري النيتروجين و الدهون مما يدل على امتياز القيمة الغذائية لهذا النظام.

الكلمات المفتاحية: حمية كفتيريا، فأر، البروتينات-الليبيدية، دهون، الحصيلة الأزوتية.