

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE A. MIRA DE BEJAIA



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE PHYSICO-CHIMIQUE
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE.

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

Master

Thème

**EFFET D'UN BETA 2 AGONISTE SUR LA PREVENTION D'UNE
STEATOSE HEPATIQUE NON ALCOOLIQUE INDUITE PAR UN REGIME
RICHE EN GRAS**

Réalisé par :

MOUHOU Amel & NAIT BENALI Ounissa.

Déposé le 12/09/2022 devant le jury d'examen composé de :

Mme Kasmi S.

MAA

Président

Mr Amirouche A.

MCB

Encadreur

Mme Benloukil M.

MAA

Examinatrice

Année universitaire 2021/2022



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à,

PAPA et MAMA,

Tout d'abord à mes très chers parents, Amran et Nassira, les phares et mentor de mon parcours instructif, éducatif et personnelle. Je vous suis profondément reconnaissante de la personne que je suis devenue aujourd'hui, je ne saurai vous remercier assez pour vos sacrifices, votre soutien, encouragements, prière, bénédictions et amour inépuisables. Ma réussite je la doit avant tout à vous. Aucun hommage ne sera assez élogieux pour exprimer ma gratitude, mon respect et mon amour. Je vous aime.

LOUIZA,

A ma grande sœur, mon exemple de vie, mon amie, mon soutien éternel, celle qui a toujours eu foi en moi et celle avec qui j'ai traversé tout les obstacles, un grand merci. Je t'aime.

MOHAMED,

La personne qui m'a soutenu, conseillé et guidé le plus après mes parents et ma sœur, je ne saurai te témoigné ma reconnaissance et mon affection. Merci.

MA FAMILLE,

Ma tante Soraya et mes chères cousines, Meriem, Noria, Khoukha et Farida qui ont été la durant tout mon parcours, elles sont plus que des cousines à mes yeux. Mon oncle Abdel Kader, nous n'avons pas eu le temps de profiter de lui assez, ma tante Hamama qui a été présente comme une seconde maman.

MES AMIS,

Ma meilleure amie, mon acolyte, ma complice et aussi mon binôme de ce travail Amel, à mes autres chères amies, Zineb, Anais, Katia et Lydia. Je vous remercie.

AMEL,

Mon binôme, celle avec qui j'ai traversé toutes les péripéties de ce travail, celle qui a su m'encourager et booster, me supporter pendant mes phases d'états d'âmes. Merci.

N. Ounissa.

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère NOURA et mon cher père KHALED

Pour leurs soutiens, confiances, amours, et présence pertinente à mes côtés, ils m'ont toujours motivé pour poursuivre mes rêves et n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, quoi que je fasse ou que je dise je ne saurai point vous remercier comme il se doit, je vous aime énormément.

A mon unique frère YANIS

Tu m'a toujours aidé à prendre les bonnes décisions, et tu as été là pour moi dans les bons comme les mauvais moments, tu m'as soutenue, réconforté et encouragé. Je te suis très reconnaissante je t'aime énormément.

A mes deux grandes sœurs DIHIA et OUISSAM

Vous êtes les grandes sœurs que tout le monde rêve d'avoir vous m'aviez épaulés depuis mon plus jeune âge, vous avez toujours su trouver les mots qu'il faut pour me réconforter et me donner la force dont j'ai besoin pour avancer et aller de l'avant.

A mes meilleurs amis ANAIS, LYES et KATIA

Vous m'avez toujours été d'une aide précieuse, vous êtes les personnes vers lesquelles je me suis toujours tourné quand j'allais le plus mal. Je sais que je peux compter sur vous car quoi que je traverse vous êtes toujours à mes côtés sans jugements. Je vous considère comme des membres de ma famille à présent, je vous aime.

A tous mes AMIS

*Même vous je ne serais oublier ce que vous avez fait pour moi vous m'avez tous encouragé et conseillé durant mon parcours je tenais à vous remercier pour ça, j'ai de la chance d'avoir des amies comme vous : **Samira, Cylia, Zineb, Younes, Vigou, Tinhinane, Adel, Hanafi, Ounissa, Narimane, Manel, Toufik, Amel, Sonia, Salma, Hakima, Sabrina** et à cet ami que je connais depuis peu et qui m'a encouragé comme jamais **Junior** un grand merci pour toi.*

A mon défunt meilleur ami MHAND OUAZAR

*Ta mort inattendu et rapide à laisser un grand vide parmi tous ceux qui t'ont aimé. Tu as toujours fait de ton mieux pour aider toute les personnes que tu croise nous sommes tous fier de t'avoir connue tu resteras à jamais dans notre cœur. Sans oublier ta chère maman **Khalti farida** la femme la plus courageuse que j'ai connue qui même après ta mort a non seulement su nous réconforter mais aussi nous encourager à continuer et avancer malgré tous, je te remercie énormément.*

A mon binôme OUNISSA

Avec qui j'ai eu l'opportunité de travailler et d'achever mon cycle de master. On a passé les bons comme les mauvais moments, tu as toujours été patiente et tu as supporté mes saut d'humeurs et je sais que c'est très difficile. Je te souhaite que de la réussite dans ta vie.

M.AMEL

Remerciements

Avant tout nous remercions le DIEU le tout puissant et le miséricordieux qui nous as donné le courage, la foi, la volonté, la patience et la santé pour finaliser se travaille et de nous avoir permis d'atteindre la fin de notre formation.

Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr AMIROUCHE Adel, nous le remercions aussi pour son encadrement tout au long de ce travail et son encouragement et son soutien scientifique et morale et sa disponibilité ainsi que la confiance qui nous as témoigné en nous confiant ce travail attrayant.

Un grand merci à nos famille et nos amis plus particulièrement à nos parents pour nous avoir soutenue et aider tout au long de nos études.

Notre remerciement s'adresse également a tout nos enseignants du département physico-chimique pour leur générosité et leur grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leur charges académiques et professionnelles.

Nous voudrions également remercier vivement les membres du jury qui nous ont honoré en acceptant d'examiner et d'enrichir ce travail.

Sommaire:

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre I : Epidémiologie mondiale de la NAFLD.....	3
I-1-Epidémiologie globale.....	3
I-2-Répartition de la NAFLD dans les cinq continents du globe.....	3
I-2-1-Prévalence en Europe.....	3
I-2-2-Prévalence aux Etats-Unis et en Amérique du Sud.....	4
I-2-2-1- Prévalence de la NAFLD aux Etats-Unis	4
I-2-2-2- Prévalence de la NAFLD en Amérique du Sud	5
I-2-3-Prévalence en Asie	6
I-2-3-1- Prévalence de la NAFLD en Asie-Pacifique	6
I-2-3-2- Prévalence de la NAFLD au milieu Est de l'Asie et Turquie	6
I-2-4-Prévalence en Afrique.....	7
I-2-5-Prévalence en Australie et Pays du Pacifique.....	8
Chapitre II : Pathogenèse de la NAFLD.....	9
II-1-L'origine de la maladie	9
II-1-1-Voies d'accumulation des lipides hépatiques	10
II-2-Symptômes.....	11
II-3-Facteurs	11
II-3-1-Facteurs génétiques.....	11
II-3-1-1-PNPLA3	11
II-3-1-2-TM6SF	12
II-3-1-3-GCKR.....	12
II-3-1-4-MBOAT7	13
II-4-Diagnostic	13
II-4-1-Les tests	13
II-4-1-1-Echographie.....	13
II-4-1-2-Tomodensitométrie.....	14
II-4-1-3-Imagerie par résonance magnétique(IRM) et spectroscopie	14
II-4-1-4- Elastométrie.....	14
II-4-1-5- Ponction biopsie hépatique.....	14
II-4-2-Marqueurs biologiques	15
II-4-2-1-Alanine aminotransferase(ALAT).....	15
II-4-2-2-Aspartate aminotransferase(ASAT)	15
II-4-2-3-Bilirubine.....	15
Chapitre III : Aspect moléculaire de la NAFLD	16
III-1-Métabolisme lipidique	16
III-1-1-Activation de la lipogenèse	16
III-1-2-Augmentation de la lipolyse	16
III-1-3-Baisse de l'exportation sous forme de VLDL	17
III-1-4-Altération de l'oxydation des acides gras	17
III-2-Voies de signalisations de la NAFLD.....	17
III-2-1-Voie d'inflammation	17
III-2-2-Marqueurs du stress oxydatif.....	18
III-2-3- Marqueurs d'apoptose	18
Chapitre IV : Différent traitement en recherche clinique	19
IV-1-Quelques traitements testés et disponibles sans preuves d'efficacité sur la NASH.....	19
IV-2-Traitements pharmacologiques en cours d'essai.....	19
IV-2-1-Ligands des récepteurs aux acides biliaires	19
IV-2-2-Hépatokines, incrétines et agoniste de récepteurs thyroïdiens	20
IV-2-2-1-Hépatokines	20

IV-2-2-2-Incrétines	20
IV-2-2-3-Agonistes des récepteurs thyroïdiens.....	20
IV-2-3-Anti-inflammatoires et inhibiteurs de l'apoptose	21
IV-2-4-Inhibiteurs de la lipogenèse de novo	21
Matériel et Méthodes.....	22
I-1-Animaux	22
I-1-1Condition d'hébergement	22
I-1-2-Protocole expérimental	23
I-2-Traitement	24
I-2-1-Dosage et prise de la molécule	24
I-3-Sacrifice.....	25
I-3-1-Sang	25
I-3-2-Tissus	26
I-4-Dosage biochimique.....	26
I-4-1-Dosage de la cholestérolémie.....	26
I-4-2-Dosage des triglycérides plasmatiques.....	27
I-4-3-Dosage des ASAT	27
Résultats	28
I- Analyse physiologique.....	28
I-1-L'évolution pondérale et de la croissance.....	28
I-2-Effet généraux des β 2 agonistes sur différents tissus.....	29
II- Analyses biochimiques sanguines	33
II-1-Bilan lipidique	33
II-1-1-Cholestérol	33
II-1-2-Tryglycérider.....	34
II-2-Analyse de la fonction hépatique	35
II-2-1-ASAT	35
Discussion	37
Conclusion.....	39
Références bibliographiques	40
ANNEXES	43

Liste des tableaux :

<u>Tableau I :</u> Poids des organes prélevés exprimés en pourcentage et valeurs absolues.....	31
<u>Tableau II :</u> Tableau du bilan lipidique exprimé en pourcentage et valeurs absolues	33
<u>Tableau III :</u> Tableau de l'analyse de la fonction hépatique exprimée en pourcentage et valeurs absolues.....	36

Liste des figures:

Figure 1 : Prévalence de la NAFLD en Europe	4
Figure 2 : Prévalence de la NAFLD aux Etats-Unis	5
Figure 3 : Prévalence de la NAFLD en Amérique du Sud.....	5
Figure 4 : Prévalence au milieu Est de l'Asie et Turquie	7
Figure 5 : Prévalence mondiale estimée de la NAFLD et distribution des génotypes PNPLA3	8
Figure 6 : Déséquilibre de la synthèse et de la dégradation des acides gras dans le foie au cours de la NAFLD.....	17
Figure 7 : Les 3 voies de signalisations pour prédire la NASH	18
Figure 8 : Photo du rat wistar.....	22
Figure 9: A: Photo des cages où les rats wistar ont été hébergé. B: Photo du régime riche en gras (HFD)	23
Figure 10: Photo de la molécule du formoterol 12 microgrammes.....	24
Figure 11 : Structure chimique du Formoterol.....	24
Figure 12 : Photo de tubes héparinés et étiquetés	25
Figure 13 : Photo des organes, A: TA, B: poumon, C: dissection du rat au niveau de l'abdomen (vue ventrale), D: rate, E: cœur, F: foie, G: pancréas, H: rein.	26
Figure 14 : Représentation graphique de l'évolution pondérale des différents lots.....	28
Figure 15 : Représentation graphique de l'évolution pondérale des différents lots	29
Figure 16 : A: Poids du foie des différents lots, B: Poids des reins des différents lots.....	30
Figure 17: Poids du tissu adipeux des différents lots.....	31
Figure 18 : A: Poids du cœur des différents lots, B: Poids du poumon des différents lots.....	32
Figure 19 : Cholestérol total des différents lots	34
Figure 20 : Triglycérides des différents lots	35
Figure 21 : ASAT des différents lots	36

Liste des abréviations :

AG : Acide gras.

ATP : Adénosinetriphosphate.

ACC : Acyl-CoAcarboxylase.

AAP :Aminoantipirina.

AGL : Acides gras libres.

Apo-B : Apolipoprotéines B.

AST : Aspartateaminotransférase.

ABS :Absorption.

AGPI : Acide gras polyinsaturé.

CHC : Aarcinome hépatocellulaire.

CRP : C-réactive.

CHE :Cholestérol estérase.

CHOD :Cholestérol oxydase.

CAL : Calibre.

POD :Peroxydase.

DNL :De novo lipogenesis.

DGAT : Diacylglycérolacyltransférase.

ERO :Espèces réactives de l'oxygène.

FDA : Food and Drug Administration.

FXR : Farnésoïdes X.

FGF19 :Facteur de croissance des fibroblastes19.

FGF21 : Facteur de croissance des fibroblastes 21.

GPT : Glutamate pyruvate transaminase.

GOT : Oxalique transaminase glutamique.

HSL :Lipase hormono-sensible.

HFD: High-fat diet.

HFD-F :High-fat diet formoterol.

HAA : Hépatite alcoolique aigue.

HDL : High densitylipoprotein.

HOMA-IR : Homeostatic model assessment for insulinResistance .

IL6 : Interleukine-6.

IR : InsulinoResistance.

IMC : Indice de masse corporelle.

LDL : Low density lipoprotein.

LDH : Les lactate déshydrogénase.

MAM : Membrane associée aux mitochondries.

MBOAT7 : Membrane Bound O-acyltransferase Domain-containing.

MDH : Malate déshydrogénase.

NAFLD : Non AlcoholicFattyLiverDisease.

NASH : Nonalcoholicsteatohepatitis.

OCA : Acide obéticholique.

PI : Phosphatidylinositols.

PNPLA3 : Patatin-like Phospholipase Domain-containing 3.

PPAR : Perliférateurs de peroxyosomes.

RE : Réticulum endoplasmique.

RMN : Résonance magnétique protonique.

SHIP :Study of Health in Pomerania .

SCD-1 : Stéaoryl-CoA désaturase-1.

SNP : Polymorphismes mononucléotidiques.

TG : Triglycéride.

TAG : Triacylglycérols.

T.A : Tissus adipeux.

TM6SF2 : Transmembrane 6 SuperfamilyMember 2

TNF-a : Tumornecrosisfactor .

TDM : Tomodensitométrie.

UH : Unités Hounsfield.

VLDL : Very low density lipoprotein.

INTRODUCTION

Le foie du grec hêpar, est l'un des plus grands organes du corps humain puisqu'il pèse entre 1,6 et 2 kg (**Arnaud, 2015**). Il est positionné à droite, sous le diaphragme, une capsule de Glisson, fibreuse l'entoure et le protège. Il est constitué de deux lobes distincts, séparés par le ligament falciforme, qui permet également de le relier à la paroi abdominale antérieure. Le hile, qui se situe sur la face inférieure du foie, correspond à la zone de passage des éléments vasculaires portaux et artériels et des conduits biliaires. Il permet l'assimilation de la plupart des nutriments et l'élimination des éléments toxiques ou pathogènes provenant du tractus digestif. Par ailleurs, la synthèse hépatique de la bile autorise l'absorption des lipides.

L'exploration biochimique du foie est particulièrement importante étant donné ses fonctions physiologiques car c'est un lieu de synthèse essentiellement des particules lipoprotéiques, de stockage dont celui du glucose sous forme de glycogène, d'élimination et de transformation majeur pour de nombreuses molécules notamment des protéines, glucides et des lipides. La vascularisation riche de cet organe par le biais de l'artère hépatique et de la veine porte lui permet une assimilation des nutriments provenant de l'intestin et la production de bile qui est impliqué dans l'émulsion des lipides et leur absorption dans le tractus digestif. (**Desmoulière, 2021**)

Le foie est un organe où souvent les cellules hépatiques subissent des lésions et inflammations portent le nom générique d'hépatite, ce terme désigne tout processus inflammatoire du foie, le plus souvent causée par une infection virale (**Dharancy, 2012**). De nombreux virus sont capables d'entraîner des lésions hépatiques et à ce jour, 5 en sont identifiés et désignés par les lettres A, B, C, D, et E, différents par leur mode de transmission (féco-orale pour les virus A et E (**Cour, 2008**) et parentérale pour les virus B et C (**Cour, 2008**). Ces derniers peuvent conduire à un état de porteur chronique : le sujet ne se débarrasse jamais du virus induisant des années plus tard une cirrhose (**Desmoulière, 2021**) ou un cancer du foie CHC (carcinome hépatocellulaire) (**Desmoulière, 2021**).

Concernant les hépatites non virales, on en compte deux, l'hépatite alcoolique et l'hépatite non alcoolique qui va d'une simple stéatose à l'insuffisance hépatique à un CHC, cependant tout patient alcoolique avec un ictère récent doit être évalué par le score de Maddrey, (supérieur ou égal à 32) (**Dharancy, 2012**) à la recherche de la forme aiguë de cette dernière, se développant chez les patients atteints dans plus de 90 % des cas d'une cirrhose sous-jacente (**Warling, 2019**). Cliniquement, le diagnostic d'une hépatite alcoolique aiguë (HAA) est évoqué chez un patient ayant une consommation active et excessive d'alcool jusqu'à en moyenne 150 à 200 g/jours (**Accietto, 2003**), de ce fait sa forme sévère engage le pronostic à

court et moyen termes, avec une mortalité proche de 25 % à un mois et de 50 % à six mois. En l'absence de traitement, la mortalité spontanée évaluée à 28 jours est comprise entre 34,9 et 44% (**Dharancy, 2012**).

Par ailleurs, il y a aussi l'hépatite non alcoolique, une maladie progressive du foie qui débute par l'accumulation excessive de graisses dans les cellules de cet organe, appelée maladie du foie gras non alcoolique (Non Alcoholic Fatty Liver Disease : NAFLD) (**Takahashi, 2014**), c'est une condensation de graisses, particulièrement des TG (**rodolphe, 2019**), excédant 5% du poids du foie (**Lemoine, 2012**). La stéatose hépatique naît d'anomalies physiologiques à la fois de la synthèse et de la sécrétion des TG, cette dernière peut être causée : par une hausse de la libération d'AG au niveau du foie à partir des tissus adipeux, par une synthèse importante et une diminution d'oxydation des AG, ou par un dysfonctionnement de la sécrétion hépatique des TG (**Deschenes, 2002**). Elle a été décrite par Ludwig chez des patients dont les tests hépatiques étaient anormaux, qui ont révélé lors de la biopsie une stéatose hépatique, sans avoir d'antécédents de consommation importante d'alcool (**Russo, 2011**).

L'hypothèse actuelle est que deux mécanismes en sont responsables: le premier serait l'insulinorésistance, qui conduit à la rétention dans les hépatocytes des lipides, en particulier des TG, le mécanisme sous-jacent est une diminution de l'élimination des AG en raison de la faible activité β -oxydative des mitochondries (**Russo, 2011**). La stéatose macro vésiculaire dans les hépatocytes, qui résulte du premier mécanisme, donne un aspect grillagé à la biopsie du foie, le second mécanisme dit comme étant stress oxydatif provoque la peroxydation des lipides membranaires des hépatocytes et la production de cytokines (**Russo, 2011**).

Dans le but de comprendre la pathologie étudiée et d'évaluer l'effet du formoterol (β 2-agoniste) sur son développement, nous avons mené une étude sur un modèle de rat wistar par l'induction d'une pathologie via un régime riche en gras et en glucides, administré aux différents lots et ce durant 14 semaines et par la suite traités au formoterol.

CHAPITRE I : Epidémiologie mondiale de la NAFLD

I-1 Epidémiologie globale:

La stéatopathie métabolique ou NAFLD reste l'hépatopathie chronique la plus répandue dans le monde et deviendra sans doute la principale cause des pathologies hépatiques en phase terminale dans les décennies à venir, touchant à la fois les adultes et les enfants (**Dietrich, 2014**). Un grand nombre de patients atteints de NAFLD avec un potentiel de maladie hépatique en expansion crée des défis pour le dépistage, car son diagnostic nécessite une biopsie hépatique invasive. Toutefois, il est estimé que la propagation des cas atteints actuellement est de 25% de la population mondiale (**Badouard, 2019**). Les données appareillées à son incidence sont assez peu, mais elle serait comprise entre 28 et 52 cas pour 1000 personnes par an (**Badouard, 2019**). Donc la NAFLD, serait présente chez 1.5 à 6.5% de la population générale avec sévérité variable, pouvant se compliquer de fibrose, en cirrhose et en CHC, d'où sa première place en termes d'indication de transplantation hépatique aux Etats-Unis (**Badouard, 2019**). De plus, les personnes atteintes de NAFLD ont une cadence élevée de comorbidités métaboliques et pourraient exercer une pression croissante sur les systèmes de santé en raison de leur besoin de prise en charge (**Badouard, 2019**).

I-2 Répartition de la NAFLD dans les cinq continents du globe:

I-2-1 Prévalence en Europe :

En Europe, un gradient de prévalence remarqué comme étant en hausse du nord au sud a été décrit pour la plupart des formes chroniques virales ou non virales, mais cette observation ne vaut pas pour la NAFLD puisque son taux de prédominance varie d'un pays à un autre, néanmoins la mondialisation de cette dernière est parallèle à la prévalence de l'obésité et varie en conséquence, environ un quart de la population européenne est touchée par cette pathologie (**Younossi, 2019**). Une méta analyse publiée en 2016 par Younossi et al, fait le bilan d'une prévalence moyenne de 23,71 % en Europe, allant de 5 % à 44 % selon les pays (**Younossi, 2018**). Les données de la cohorte Study of Health in Pomerania (SHIP) qui ont été effectuées en se basant sur la population de la partie rurale du nord-est de l'Allemagne estiment la prévalence de la NAFLD à environ 29.9 % lorsqu'elle est diagnostiquée par échographie, seuls 15,9 % de ces patients présentaient des taux accrus d'alanine aminotransférase sérique (ALAT), ce qui confirme la théorie selon laquelle la prévalence de la NAFLD peut varier selon les méthodes de diagnostic (**Younossi, 2018**). Une autre étude communautaire basée au Royaume-Uni a noté que la NAFLD était l'étiologie la plus courante de la biochimie hépatique anormale asymptomatique, représentant 26,4 % des cas dont 7,6 % seraient dans un état avancé (**Younossi, 2018**).

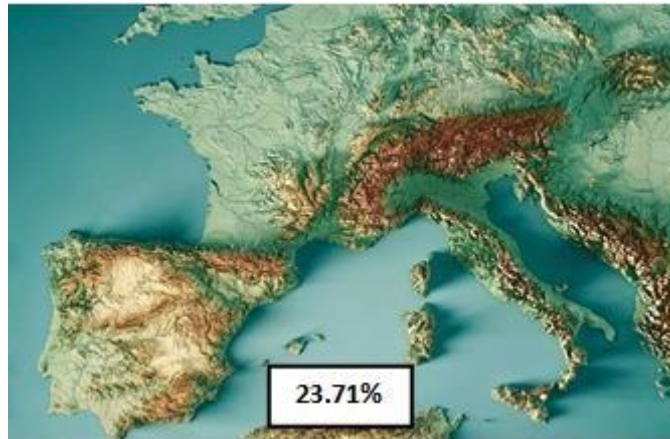


Figure 1:Prévalence de la NAFLD en Europe.

I-2-2 Prévalence aux États-Unis et en Amérique du Sud:

I-2-2-1 Prévalence de la NAFLD aux États-Unis:

Durant ces vingt dernières années, des chercheurs ont effectué de minutieuses études pour déterminer particulièrement l'incidence de la NAFLD aux États- Unis. Ces données ont été synthétisées dans une méta-analyse publiée en 2018 faisant état de sa prévalence mondiale (**Younossi, 2018**). Généralement, dans la plupart de ces études, la prédominance de la pathologie dans les populations communes a été détectée par imagerie ou par d'autres méthodes indirectes ultérieures. Par ailleurs, la prévalence de cette dernière aux États-Unis, diagnostiquée par échographie, a été estimée à 24,13 %. Dans ce même pays, cette donnée peut varier selon l'origine ethnique, dans ce cas sa valeur serait la plus élevée chez les Américains d'origine hispanique, suivis des Américains d'ascendance européenne, puis des Afro-Américains (**Younossi, 2018**). Malgré qu'ils n'aient pas encore entièrement trouvé les facteurs en causes, un certain nombre d'entre eux pourrait expliquer ces disparités ethniques signalées dans la prévalence de la NAFLD aux États-Unis, notamment des facteurs génétiques, des facteurs environnementaux, l'accès aux soins de santé et la présence de maladies chroniques telles que le syndrome métabolique (**Younossi, 2018**). Il a été constaté que la NAFLD est plus faible chez les Afro-Américains que les hispano-américains, ces résultats sont particulièrement surprenants en raison du taux d'obésité et d'hypertension qui est plus élevée chez les patients afro-américains (**Younossi, 2018**).



Figure 2:Prévalence de la NAFLD aux Etats-Unis.

I-2-2-2 Prévalence de la NAFLD en Amérique du Sud:

La prévalence de la NAFLD en Amérique du Sud semble être plus élevée que le taux rapporté aux États-Unis. Plus précisément, celle évaluée par échographie en Amérique du Sud a été estimée à environ 32 % (IC à 95 %: 22,74 à 39,4 %). La plupart des enquêtes faisant état du développement de la pathologie en Amérique du Sud ont été menées au Brésil (Younossi, 2018). En revanche, dans une étude faite au Chili, la prévalence de la NAFLD diagnostiquée à l'aide d'échographie a été estimée à 23 % (Younossi, 2018). D'autre part une étude colombienne, utilisant également l'échographie, rapporte une prévalence de 26,6 % chez les hommes particulièrement. En outre, les mêmes chercheurs ont estimé que la prévalence de la NAFLD, liée aux taux d'obésité, au Pérou, en Argentine, en Équateur, au Paraguay et en Uruguay, pourrait être aussi faible que 13% aux Pérou et aussi élevée que 24% aux Uruguay (Younossi, 2018). La même procédure concernant les différences ethniques ont également été



Figure 3:Prévalence de la NAFLD en Amérique du Sud.

notées en Amérique du Sud et le Brésil révélant une incidence plus élevée de NAFLD et une plus faible au Pérou.

I-2-3 NAFLD en Asie:

I-2-3-1 NAFLD en Asie-Pacifique:

En Asie, dans une région comptant au moins 55 pays présentant des disparités marquées, la prédominance de la NASH est entre 2 % à 3 %, et celle de la NAFLD varie entre 15 % à 40%, alors qu'en Inde rurale, une région caractérisée par des régimes alimentaires et des modes de vie traditionnels, celle-ci est passée de 28 % en 2015 à 31 % en 2016, aussi elle est estimée à 30,7 % dans la région urbaine de l'Haryana (**Younossi, 2018**). La NAFLD et la NASH ont également touché de nombreuses régions infranationales de Chine, tel que Chengdu située au sud-ouest de la Chine avec un taux de 12,5 %, Guangdong se trouvant au sud de la Chine avec 17 % , Shanghai de l'est de Chine qui varie de 3,87 % en 1995 à 15 % en 2002, 17,3 % en 2005 et 43,65 % en 2015 chez les adultes, puis le centre de Chine qui compte 24,5 % (**Younossi, 2018**). À Hong Kong, une étude communautaire utilisant la spectroscopie de résonance magnétique protonique (RMN) de pointe pour quantifier la graisse hépatique a estimé une prévalence de NAFLD est de 19,3 % chez les personnes non obèses et 60,5 % chez celles qui étaient obèses. Ensuite, une enquête échographique révèle que 5 % des 7229 écoliers de la région du delta du Yangtsé en Chine avaient une NAFLD de 7,5 % chez les garçons et 2,5 % chez les filles, 5,6 % chez les sujets souffrant d'obésité périphérique, 12,9 % chez ceux souffrant d'obésité abdominale et 44,8 % chez ceux avec obésité mixte (**Younossi, 2018**).

Il semble que les zones rurales dans les différents pays asiatiques aient une prévalence moindre de NAFLD et que le profil soit plus cohérent avec une NAFLD maigre, alors que dans les zones urbaines d'Asie, l'incidence et les profils de risque de la maladie sont similaires à ceux des pays occidentaux.

I-2-3-2 Prévalence au milieu Est de l'Asie et Turquie:

La prévalence de la NAFLD dans les pays du Moyen-Orient n'a pas été systématiquement étudiée. Une méta-analyse récente indique que la NAFLD est de 31,79 % (**Younossi, 2019**). Des données iraniennes suggèrent que 33,9 % de la population est atteinte (**Younossi, 2019**). Dans la partie centrale de l'Iran une étude similaire a été menée rapportant une incidence de 39,3 % de NAFLD. Ces taux sont nettement plus élevés que les 15,3 % signalés dans la

province rurale de Fars en Iran. Il existe également des preuves croissantes de l'augmentation de la NAFLD en Turquie qui a été rapportée à partir d'études mono centrées de petite taille, indiquant des taux de prévalence de 19,8%, 23,2% et 10,6%. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait qu'elles ont été menées soit dans des régions rurales du pays, soit chez des individus jeunes. Dans une enquête clinique en Turquie, ils ont constaté que la NAFLD maigre était de 7,6 %, et une autre basée sur l'autopsie de 330 enfants et adolescents a suggéré une prévalence de 6 %, avec des taux plus élevés de surpoids que de poids normal (Younossi, 2019).

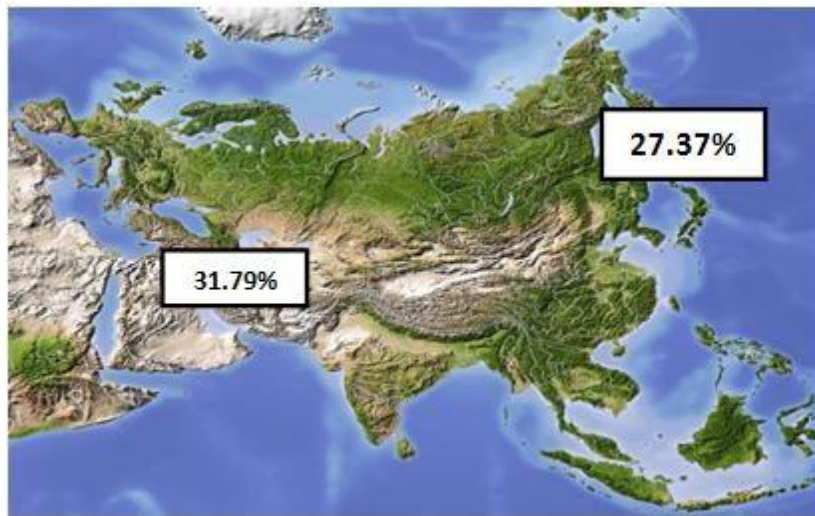


Figure 4: Prévalence au milieu Est de l'Asie et Turquie.

I-2-4 Prévalence en Afrique:

La NAFLD varie considérablement en Afrique, par conséquent elle représente son plus grand fardeau en ces temps modernes. Contrairement à l'Amérique du Nord, l'Europe et l'Asie, il existe très peu d'informations sur l'épidémiologie. Une méta-analyse a indiqué la prévalence de la NAFLD en Afrique à 13,48 %. Compte tenu de la rareté des données et de la nécessité de collecter des informations supplémentaires sur cette dernière, un membre du Forum mondial a envoyé des enquêtes à 37 prestataires médicaux dans 21 pays africains. D'après les résultats de l'enquête, l'abondance de la NAFLD serait de 5 % en Éthiopie, 9,5 à 16,7 % chez les personnes atteintes de diabète et de 1,2 à 4,5 % chez les personnes non diabétiques au Nigeria, puis Une petite étude basée sur la population publiée en 2014 a suggéré une prévalence de 20 % dans la population soudanaise. Actuellement, il n'y a aucun programme qui permet d'avoir une approche systématique pour étudier la NAFLD en Afrique. Néanmoins, le problème de cette maladie dans ce continent peut être important, à

cause de sa progression hépatique qui non seulement est assez répandue, mais aussi aggrave potentiellement sa virologie (Younossi, 2018).

I-2-5 Prévalence en Australie et Pays du Pacifique:

Conformément aux données obtenues la NAFLD est la maladie du foie est la plus courante en Australie, affectant un tiers de la population soit 5,5 millions de personnes dont 40 % des adultes de 50 ans et 15% d'écoliers puis 13% de la population de la Nouvelle-Zélande. Ce n'est pas surprenant car l'Australie est l'un des pays les plus touchés par le surpoids et l'obésité avec 63,4 % des adultes en 2014-2015. Au cours des dernières décennies, il y a eu une appréciation croissante de la NAFLD en Australie et en Nouvelle- Zélande, via les diagnostics orientés par l'obésité, les caractéristiques du syndrome métabolique, la détection d'enzymes hépatiques élevées ou un foie brillant à l'échographie (Younossi, 2019).

On retient que la NAFLD est très répandue sur tous les continents, mais les taux les plus élevés sont signalés en Amérique du Sud 31 %, au Moyen-Orient 32%, suivis de l'Asie 27 %, des États-Unis 24 % et de l'Europe 23%, alors que la NAFLD est plus ou moins de 14 % en Afrique (Younossi, 2018).

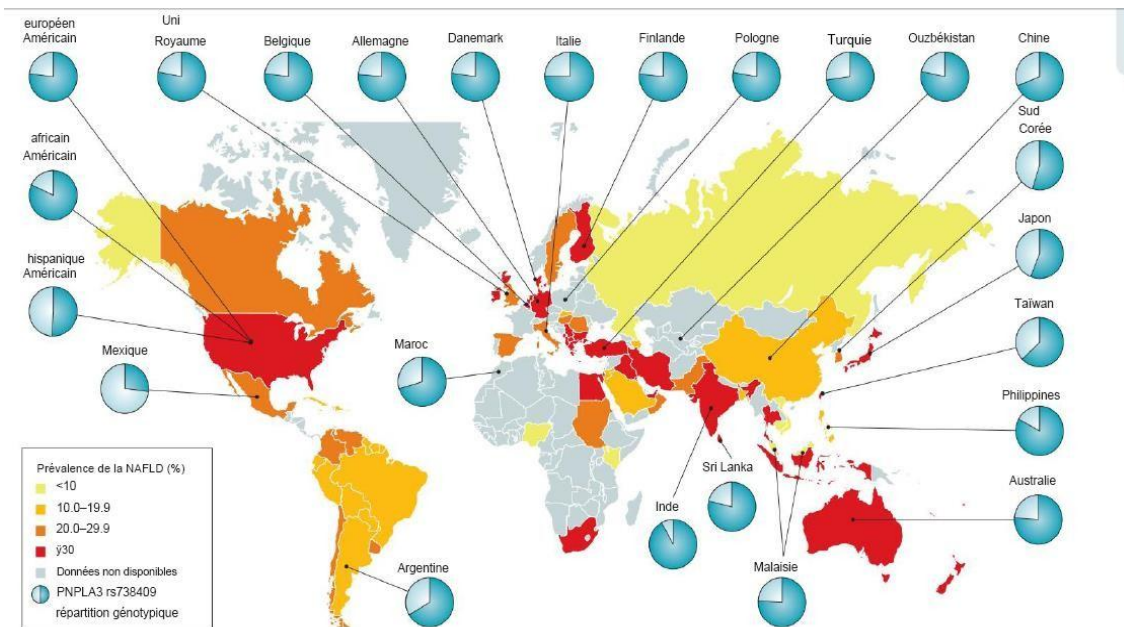


Figure 5:Prévalence mondiale estimée de la NAFLD et distribution des génotypes PNPLA3 (Younossi, 2018).

CHAPITRE II : Pathogenèse de la NAFLD

II-1-L'origine de la maladie:

La stéatose hépatique en l'absence de consommation d'alcool a été rapportée dès 1938 chez les sujets diabétiques et dès 1958 chez les sujets obèses. Plusieurs décennies plus tard, l'acronyme NASH pour nonalcoholic steatohepatitis fut crédité à Ludwig et al à la suite d'une étude de la fédération hospitalo-universitaire et de recherche américaine Mayo Clinic publiée en 1980 rapportant des caractéristiques histologiques hépatiques ressemblant au type d'hépatite rencontrée chez les alcooliques, mais trouvées chez des patients sobres. En 1999, Matteoni et al, ont étendu le concept de NASH à NAFLD pour inclure la stéatose simple en présence d'inflammation, de nécrose ou de fibrose du tissu hépatique **(Enoch, 2019)**.

Actuellement, il est incontestable (évident) que le foie joue un rôle important dans le métabolisme des lipides en tant que consommateur, producteur et exportateur de lipides. En temps normal cet organe n'est pas un stockeur de lipides comme le sont les adipocytes, par contre lorsque l'influx de lipides est augmenté, ce dernier emmagasine un apport en lipides plus important que la normal, par exemple lors d'obésité, de diètes riches en lipides, d'insulino-résistance et/ou de dyslipidémie **(Enoch, 2019)**.

D'une autre part, l'accumulation de TAG (Triacylglycérols) hépatiques entraîne le développement de la SHNA (Stéatose hépatique non-alcoolique primaire). Plusieurs éléments déclencheurs ont été proposés, mais la résistance à l'insuline semble être le centre de la pathogenèse de la NAFLD. La variante génétique de PNPLA3 (Patatin Like Phospholipase Domain Containing 3), une enzyme codant I148M (rs738409 C/G), impliqué dans l'hydrolyse des TAG dans les adipocytes, a été associée à NAFLD indépendamment du syndrome métabolique. De même, le variant génétique du transporteur lipidique situé sur le RE (réticulum endoplasmique), TM6SF2 (membre 2 de la superfamille transmembranaire 6) codant E167K (rs58542926 C/T), provoque l'augmentation de la fonction hépatique dépôt de TAG **(Enoch, 2019)**.

Donc la progression pathologique de la NAFLD suit provisoirement un processus en trois coups, à savoir la stéatose, la lipotoxicité et l'inflammation **(Enoch, 2019)**.

Tout d'abord la stéatose résulte de l'interaction entre l'alimentation et le microbiote intestinal. les facteurs génétiques, et la lipogenèse de novo. Principalement, AG sont stockés dans le tissu adipeux sous forme de TAG, cependant, chez les sujets obèses, les AG semblent être mal acheminés de leur site de stockage principal vers des sites ectopiques. De façon logique, une augmentation de la quantité de lipides intra hépatiques découle nécessairement d'un

déséquilibre entre les voies favorisant l'accumulation des lipides hépatiques et les voies en favorisant l'élimination. Ce dérèglement mènerai à l'accumulation de lipides hépatiques d'origine primaire et donc l'augmentation des AGL (Acides gras libres) circulants, suivi d'une stimulation de la lipogenèse hépatique et d'un mauvais ajustement de l'oxydation et de la sécrétion des lipides accumulés par l'organe (**Enoch, 2019**).

II-1-1- Voies d'accumulation des lipides hépatiques:

Les TAG hépatiques qui s'accumulent lors du développement de la NAFLD sont formés à partir d'AGL intracellulaires estérifiés à l'aide de l'enzyme diacylglycérol acyltransférase (DGAT) (**Enoch, 2019**). Ces AGL intrahépatiques proviennent principalement de la prise d'AGL plasmatiques par le foie et de la lipogenèse de novo. Ainsi, toute augmentation de l'activité de ces voies est susceptible de favoriser l'accumulation de TAG hépatiques et donc d'engendrer le développement de la NAFLD (**Enoch, 2019**). Un excès de graisse dans le foie induit une lipotoxicité et conduit à une défaillance des organites principalement, le dysfonctionnement mitochondrial et le stress du (RE : Réticulum endoplasmique) (**Enoch, 2019**). Les mitochondries dysfonctionnelles ont une forte capacité à oxyder les AG, entraînant la production de ERO (espèces réactives de l'oxygène) et un stress oxydatif dû à un déséquilibre entre la production d'ERO et d'oxydants protecteurs (**Enoch, 2019**). Le stress oxydatif chez les patients de la NAFLD est considéré comme la troisième raison conduisant à la mort des hépatocytes.

L'insuline a pour effet d'inhiber la lipase hormono-sensible (HSL) adipocytaire, ce qui réduit la lipolyse et donc la libération d'AGL dans la circulation sanguine. Ceci ne serait plus le cas lors d'une insulino-résistance périphérique caractéristique des obèses chez qui les adipocytes engorgés (saturés) de hauts taux d'AGL dans la circulation, même avec des concentrations plasmatiques d'insuline élevées. La hausse des AGL plasmatiques induit leur captation par les hépatocytes et ainsi contribue au développement de la NAFLD (**Enoch, 2019**).

D'ailleurs, un défaut dans l'effet supprimeur qu'exerce l'insuline sur la lipolyse adipocytaire a été notée chez des patients atteints. Cependant, dans une autre étude effectuée chez des rats sur la stéatose induite par une diète riche en lipides, permet de conclure que l'insulino-résistance périphérique n'est pas essentielle au développement de la NAFLD (**Enoch, 2019**). En effet, ces rats développent une stéatose hépatique en aussi peu que trois jours, bien avant de développer de l'insulino-résistance périphérique

La pathogenèse de la NAFLD semble être un cercle vicieux de stéatose, lipotoxicité et inflammation entraînant des altérations complexes des paramètres histopathologiques et caractéristiques biochimiques du foie (**Enoch, 2019**).

II-2-Symptômes:

Généralement, les patients atteints de NASH sont asymptomatiques, par contre ils peuvent se plaindre de fatigue, de malaise, ou parfois (bien que rarement) d'une gêne gastrique (**Deschenes, 2002**). Un examen physique ne révèle pas d'anomalies chez la plupart des patients. Contrairement à l'hépatite alcoolique, qui peut être associée à une hypertension portale malgré l'absence de fibrose, la NASH ne cause pas d'hypertension importante en l'absence de cirrhose. La présence de splénomégalie, d'ascite et d'angiomes stellaires chez un patient atteint de NASH laisse supposer une progression vers la cirrhose (**Deschenes, 2002**).

II-3-Facteurs:

II-3-1-Facteurs génétiques:

Le risque de développer une NAFLD varie selon plusieurs indices, notamment des facteurs de risque environnementaux, dont les habitudes alimentaires et physiques, mais aussi héréditaire (génétiques).

Dans un cas interindividuel, une NAFLD peut s'expliquer en partie par des facteurs héréditaires dit Polymorphismes mononucléotidiques (SNP) dans les gènes régulant la manipulation des lipides hépatiques. Parmi eux on distingue Patatin-like Phospholipase Domain-containing 3 (PNPLA3), Transmembrane 6 Superfamily Member 2 (TM6SF2) et Membrane Bound O-acyltransferase Domain-containing 7 (MBOAT7), toutefois ils ont été associés à la prédisposition de la NAFLD et à la progression vers la NASH et la fibrose (**Marica, 2019**).

II-3-1-1-PNPLA3:

Les principaux déterminants génétiques de la variation interindividuelle sont liés à l'origine ethnique et à la teneur de la graisse hépatique, soit le variant rs738409 C> G dans PNPLA3 aussi connu sous le nom d'adiponutrine (**Marica, 2019**). Celui-ci code pour la substitution d'acides aminés Isoleucine à Méthionine à la position 148 (appelée p.I148M) (**Marica, 2019**).

La PNPLA3 est une lipase membranaire intracellulaire, localisée principalement dans le réticulum endothélial (ER) et à la surface des gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes, les adipocytes et dans les cellules étoilées hépatiques (CSH : cellule souche hématopoïétique) (Marica, 2019).

Cette variante héréditaire influence particulièrement l'ensemble du spectre des lésions hépatiques liées à la stéatose hépatique, incluant la NASH, la fibrose sévère et le CHC, ayant même un impact sur les approches thérapeutiques (Marica, 2019).

II-3-1-2-TM6SF:

Le variant basse fréquence rs58542926 C>T dans TM6SF2, codant pour la mutation de perte de fonction appelée p.E167K est un autre déterminant de la NAFLD progressive (Marica, 2019).

Le mécanisme probable par lequel le variant E167K entraîne une augmentation de la graisse hépatique et altère la synthèse des lipides des AGPI(Acide gras polyinsaturé), est lié à la rétention des lipides et à l'altération de la libération des lipoprotéines de très basse densité (VLDL : very low density lipoprotein) par le foie (Marica, 2019). Une étude effectuée sur le déficit du TM6SF2 a révélé que la perte de fonction de ce dernier diminuait la clairance lipidique entraînant l'accumulation de TG (Marica, 2019).

II-3-1-3-GCKR:

Outre les variations PNPLA3 et TM6SF2, la variante commune de perte de fonction rs1260326 dans le gène GCKR, codant pour la substitution p.P446L, a été largement associée à une augmentation des concentrations de TG à jeun, à une stéatose et à des lésions hépatiques (Marica, 2019).

Cette dernière régule physiologiquement l'influx de glucose dans les hépatocytes et induit l'activation de DNL (de novo lipogenesis) (Marica, 2019).

II-3-1-4-MBOAT7:

En 2005, une étude démontra que le nouveau variant commun rs641738 C>T dans le locus MBOAT7-TMC4 sur le chromosome 19 augmentait la prédisposition à l'accumulation de

graisse hépatique et à l'ensemble du spectre des lésions hépatiques liées à la NAFLD, y compris le CHC (Marica, 2019).

Celui-ci contribue à l'augmentation des phospholipides saturés principalement les phosphatidylinositols (PI), qui induisent la synthèse de TG saturés et mono-insaturés, corroborant davantage le dépôt de graisse, ainsi il influence sur la susceptibilité génétique à développer une stéatose hépatique chez les porteurs de la variante rs641738 (Marica, 2019). Le MBOAT7 est situé dans la membrane associée aux mitochondries (MAM), qui relie le RE et les mitochondries où se produisent la biosynthèse des graisses et la formation de gouttelettes lipidiques (Marica, 2019).

De plus, il a été récemment souligné dans les modèles expérimentaux de NAFLD qu'une anomalie hépatique au niveau du MBOAT7 est une conséquence du dysfonctionnement de l'hyperinsulinémie héréditaire ou une induction alimentaire (obésité) (Marica, 2019).

II-4-Diagnostic:

A l'heure actuelle le diagnostic de la NAFLD nécessite la combinaison entre un historique médical accompagné de signes cliniques et surtout d'une biopsie hépatique (Isabelle, 2006).

II-4-1-Les tests:

II-4-1-1-Échographie :

L'échographie hépatique est très utilisée en pratique clinique courante pour le diagnostic de la stéatose. Celle-ci repose sur un aspect de plages hyperéchogène plus ou moins étendues et mal limitées du parenchyme qui apparaît brillant par rapport au cortex du rein droit pour cause que la physiologie du foie est nettement supérieure à celle du cortex rénal et qu'elle reste proportionnelle à la surcharge de lipides (Homer, 2008). Plusieurs études ont montré que la sensibilité et la spécificité de l'échographie pour la stéatose allaient respectivement de 60 à 95 % (Russo, 2011), ces résultats reposent sur différentes enquêtes rétrospectives par Vigil-De Gracia et Lavergne, ce qui leur a permis de confirmer le diagnostic dans neuf cas sur dix (Homer, 2008). Cheng et al. ont effectué pour leur part une étude prospective dans laquelle cet outil a été performant dans un tiers des cas. (Homer, 2008).

Cependant, l'échographie ne quantifie pas précisément la stéatose et ne détecte pas une stéatose inférieure à 30%. (Russo, 2011).

II-4-1-2-Tomodensitométrie:

La tomodensitométrie (TDM) est une technique qui permet également de détecter la stéatose par la mesure du rapport de densité foie/rate étant donné que Physiologiquement, la densité du foie, qui est de l'ordre de 60 unités Hounsfield (UH), est supérieure à celle de la rate d'au moins 10 UH, au cours de la maladie, on observe une inversion de ce gradient de densité entre le foie et la rate (**Homer, 2008**).

Par ailleurs l'utilisation de cet examen n'a pas été plus fréquente dans les études recensées soit 22 TDM pour 91 cas, avec des résultats voisins à ceux de l'échographie (39,1 %) (**Homer, 2008**).

II-4-1-3-L'imagerie par résonance magnétique(IRM) et spectroscopie:

La suspicion de NAFLD ne constitue pas à l'heure actuelle une indication à la réalisation d'une IRM. En effet, les modifications du signal du foie sont insuffisantes pour établir un diagnostic de certitude en dehors de la grossesse.

En IRM (**Russo, 2011**), les séquences en opposition de phase permettent de diagnostiquer une stéatose, dans ce cas, il apparaît une chute de l'intensité du signal du foie en rapport avec une infiltration lipidique (**Homer, 2008**) sur une séquence en T1 (**Russo, 2011**).

La spectrométrie du proton est une autre technique très prometteuse qui permettrait de détecter des stéatoses de l'ordre de 5 % mais qui est loin d'être réalisée en routine. (**Russo, 2011**).

II-4-1-4-Élastométrie:

Le Fibroscan®, repose sur la technique de l'élastométrie impulsionnelle et permet une quantification non invasive de la fibrose hépatique. L'appareil positionné entre deux côtes en regard du foie, génère une onde de choc indolore. Ce dernier est doté d'un transducteur ultrasonore et mesure la vitesse de propagation de l'onde à travers le parenchyme hépatique. Plus la vitesse de l'onde est élevée, plus le parenchyme est dur et plus elle est corrélée au degré de fibrose (**Russo, 2011**).

II-4-1-5- Ponction biopsie hépatique:

La ponction biopsie hépatique(PBH) est l'outil de diagnostic le plus sûr actuellement. L'observation anatomopathologique indique des lésions de stéatose typiquement Centro lobulaires, avec des hépatocytes plus volumineux contenant des microvésicules périphériques et dont le noyau a conservé sa position centrale (**Russo, 2011**). Cette description s'oppose aux lésions des stéatoses macro vacuolaires d'origine nutritionnelle et permet d'affirmer la NAFLD sur le plan histologique.

Aujourd'hui, face à une suspicion de NASH, et compte tenu des risques d'aggravation des lésions hépatiques, la (PBH) reste l'examen de référence (**Russo, 2011**).

II-4-2-Marqueurs biologiques:

A ce jour, il n'y a aucun test sérologique diagnostiquant la NASH (**Deschenes, 2002**). Habituellement, on observe une élévation minime des activités sériques des aminotransférases. Dans ce cas, les taux de ferritine sérique dans la NASH sont souvent en hausse, notamment ceux d'ALT (alanine aminotransférase) qui tendent à être plus élevés que les taux d'AST (aspartate aminotransférase). (**Deschenes, 2002**).

II-4-2-1-Alanine aminotransférase (ALAT) :

L'ALAT, également appelée glutamate pyruvate transaminase (GPT), est une enzyme synthétisée par les hépatocytes et relâchée spécifiquement en cas de lésion ou nécrose hépatocellulaire. Cette dernière, est exprimée en très faible concentration dans les autres tissus.

L'ALAT est considérées comme étant l'enzyme la plus sensible pour le dépistage d'une hépatopathie asymptomatique (**Bragança, 2017**).

II-4-2-2-Aspartate aminotransférase (ASAT):

ASAT, également appelée glutamate oxaloacétique transaminase (GOT), est une enzyme qui est à la fois exprimée par les hépatocytes, mais aussi par le cœur, le muscle squelettique, le cerveau et le sang. Celle-ci est moins sensible dans la détection de pathologies hépatiques et reste moins spécifique que l'ALAT (**Bragança, 2017**)

II-4-2-3-Bilirubine :

Il s'agit d'un produit de dégradation de l'hémoglobine. Sa forme non-conjuguée est transformée dans le foie en bilirubine conjuguée puis éliminée dans la bile. L'élévation de sa forme conjuguée reflète plus ou moins une maladie hépatique résultant souvent d'une cholestase intra-hépatique (hépatite, cirrhose, etc) (**Bragança, 2017**).

CHAPITRE III : Aspect moléculaire de la NAFLD

III-1-Métabolisme lipidique:

Sous le contrôle de l'insuline, le foie reste l'organe principal de l'oxydation des AG et de la lipogenèse. Récemment, il a été prouvé que la stéatose est le résultat d'un déséquilibre entre la synthèse d'AG et leur dégradation, lors de la b-oxydation pour synthétiser de l'ATP (acide adénosine-triphosphorique) et de l'exportation pour former des TG (**Lemoine, 2012**)

Dans ce dernier, plusieurs étapes entraînent l'accumulation de TG, tout d'abord la convergence d'AG secondaire à une hausse de la DNL, leur relargage via la lipolyse adipocytaire ensuite l'altération de leur exportation sous forme de VLDL et de leur oxydation mitochondrial (**Lemoine, 2012**).

III-1-1-Activation de la lipogenèse:

La lipogenèse est le mécanisme essentiel provoquant une stéatose. Il s'active en cas d'IR, par l'intermédiaire de certaines voies (figure 6). En premier, une augmentation d'insuline et de glycémie stimule l'activation du facteur de transcription (SREBP-1c) qui active à son tour la lipogenèse, mais aussi la production du MalonylCoA, ce qui se manifeste par une saturation de la capacité d'oxydation mitochondriale (**Lemoine, 2012**). Ensuite sous l'effet d'une hyperglycémie le ChREBP un autre facteur de transcription qui a pour rôle d'activer la pyruvate kinase hépatique, enzyme clef de la glycolyse, favorise la production d'AcétylCoA utilisé pour la synthèse d'acides gras, ce qui induit une dérégulation de l'AMP-kinase qui normalement stimule la b-oxydation mitochondriale et inhibe la lipogenèse (**Lemoine, 2012**).

III-1-2-Augmentation de la lipolyse:

Dans ce cas l'IR est aussi à l'origine d'une importante augmentation de la lipolyse adipocytaire et donc de la hausse du taux d'AGL dans le sang portal et dans le foie et ce proportionnellement à la masse graisseuse. (**Lemoine, 2012**).

III-1-3-Baisse de l'exportation sous forme de VLDL:

L'hyperinsulinémie réduit la synthèse de VLDL par le biais d'une importante dégradation hépatique des apolipoprotéinesB (apo-B). Ainsi, ils ont remarqué une détérioration de la synthèse d'apo-B, chez des patients atteints de NASH. (**Lemoine, 2012**).

III-1-4-Altération de l'oxydation des acides gras:

L'afflux excessif d'AG dans le foie est à l'origine d'une saturation de la capacité d'oxydation mitochondriale auto-entretenu par une dysfonction mitochondriale en partie liée aux produits de peroxydation lipidique L'accumulation excessive d'AG dans le foie induit une saturation de la capacité d'oxydation mitochondriale via un dysfonctionnement liée partiellement aux produits de peroxydation lipidique.(Lemoine, 2012).

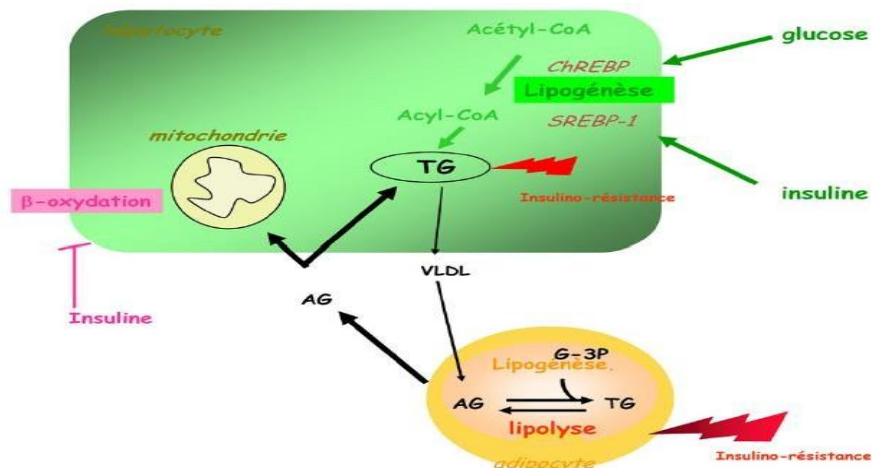


Figure 6: Déséquilibre de la synthèse et de la dégradation des acides gras dans le foie au cours de la NAFLD (Lemoine, 2012).

III-2-Voies de signalisations de la NAFLD :

III-2-1-Voie d'inflammation:

On compte aujourd'hui des marqueurs non spécifiques à l'inflammation, en revanche très sensibles à la NASH, la ferritine, la protéine C-réactive (CRP) et des différentes cytokines (Bragança, 2017).

Une étude a indiqué que des niveaux minimes d'adiponectine et des niveaux élevés de facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) sont aussi reliés à la hausse de dommages du foie. D'autre part, ils ont également trouvé que l'interleukine-6 (IL6) et l'interleukine-8 sont fortement corrélés à la maladie (Bragança, 2017).

III-2-2 Marqueurs du stress oxydatif:

Le stress oxydatif est un élément déclencheur de la pathogenèse de la NASH. Cependant, les résultats des LDL oxydées, du malonaldéhyde et des substances réactives à l'acide Thio barbiturique ne sont toujours pas suffisants pour prédire la maladie.

III-2-3 Marqueurs d'apoptose:

Parmi les filaments intermédiaires majeurs des hépatocytes, on trouve les fragments de cytokératine 18 (CK18) (Tsai, 2018), leurs taux sériques sont utilisés afin de jauger l'ampleur de la NASH via leur relation étroite avec les modifications histologiques et leur haute spécificité pour la NAFLD et la fibrose (Tsai, 2018) Néanmoins, un autre marqueur de la mort cellulaire a été étudié, le CK18-M65 (CK18 non clivée) qui a révélé une plus grande précision dans la prédiction NASH (Tsai, 2018).

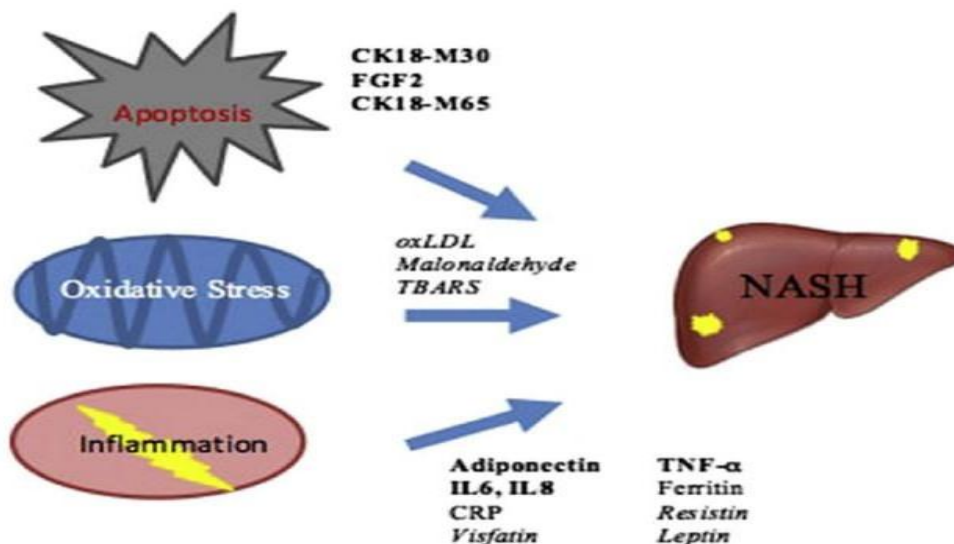


Figure 7: Les 3 voies de signalisations pour prédire la NASH. (Tsai, 2018).

CHAPITRE IV: Différent traitement en recherche clinique

À l'heure actuelle, il n'existe toujours pas de traitement approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) contre la NASH. Cependant il existe plusieurs molécules testé dont les agonistes FXR (l'acide obéticholique) et TGR5, agonistes PPAR alpha/ gama/ lamda, l'agoniste du récepteur thyroïdien beta 1 et les inhibiteurs de la lipogenèse, qui ont donné des résultats modeste mais encourageants (**Lanthier, 2020**).

Ce qui est visé avec les molécules qu'ils testent actuellement est une régression ou une disparition de la ballonnisation hépatocytaire, avec disparition de l'inflammation. Un traitement idéal devrait être dénué d'effets secondaires (**Lanthier, 2020**).

IV-1- Quelques traitements testés et disponibles sans preuve d'efficacité sur la NASH :

Une modification de l'hygiène de vie ainsi qu'une restriction calorique sont majoritairement suivie par une perte de poids pouvant améliorer les lésions histologiques. En effet la régression de la stéatose et de l'inflammation dépend d'une perte de poids d'environ 5% du poids initiale (**Lanthier, 2020**).

Si ces mesures hygiéno-diététiques sont respectées durant 1 année, elles peuvent induire une perte de 10% du poids initial entraînant une guérison de la NASH chez 90 % des patients (**Lanthier, 2020**). D'autres traitements tels que, les suppléments de vitamine E, la pioglitazone, la chirurgie bariatrique et la transplantation hépatique ont également fourni de bons résultats (**Lanthier, 2020**).

IV-2-Traitements pharmacologiques en cours d'essai :

IV-2- 1- Ligands des récepteurs aux acides biliaires:

Les acides biliaires aussi connu comme étant les ligands principaux des récepteurs farnésoïdes X (FXR) jouant un rôle notamment dans l'absorption des lipides mais également dans le métabolisme lipidique et glucidique (**Lanthier, 2020**). L'acide obéticholique (OCA) est un acide biliaire de nature semi-synthétique, un variant de l'acide chénodésoxycholique qui stimule le FXR et inhibe la lipogenèse (**Lanthier, 2020**). L'étude « FLINT » a souligné l'efficacité de l'OCA (25 mg/j versus placebo) dans la réduction de l'activité histologique de la pathologie (stéatose, inflammation et fibrose). Cependant, des effets indésirables ont été notés (prurit, augmentation du taux de cholestérol et du score d'insulinorésistance HOMA-IR), ce qui présente des obstacles potentiels à un traitement de longue dur (**Lanthier, 2020**).

IV-2-2- Hépatokines, incrétines et agonistes de récepteurs thyroïdiens:

IV-2-2-1- Hépatokines :

Parmi les hormones sécrétées par le foie (hépatokine), on trouve principalement le facteur de croissance des fibroblastes 21(FGF21) qui améliore l'insulinosensibilité, diminue le taux de TG et induit une perte pondérale (**Lanthier, 2020**).

IV-2-2-2-Incrétines:

Généralement après un repas les cellules L iléales secrètent du glucagon-like peptide 1(GLP-1), une incrétine qui provoque la sensation de satiété, l'insulinosensibilité et la sécrétion d'insuline en diminuant la sécrétion de glucagon (**Lanthier, 2020**).

Une étude de phase II (« LEAN ») de l'analogue du GLP-1 a indiqué de meilleurs résultats que le placebo pour traiter la NASH, sans toutefois avoir d'impact sur la fibrose, induisant ainsi, une perte significative de poids (5 %) participant certainement à l'effet bénéfique sur le foie. (**Lanthier, 2020**).

Cependant, il y'a aussi l'analogue du facteur de croissance des fibroblastes 19 (FGF19) sécrété par l'intestin après réabsorption d'acides biliaires qui montre une régression rapide de la stéatose (**Lanthier, 2020**). Toutefois suivis d'effets secondaires tels que des réactions au site d'injection, des problèmes abdominaux et une augmentation du LDL cholestérol (**Lanthier, 2020**).

IV-2-2-3-Agonistes des récepteurs thyroïdiens:

Situés au niveau du foie et du rein, l'expression des récepteurs d'hormones thyroïdiennes, jouent un rôle dans le métabolisme des lipides et du cholestérol. Le MGL-3196 ou resmetirom est un agoniste sélectif, son étude en phase 2 a montré une réduction rapide de la stéatose dès 12 semaines de traitement ainsi qu'une régression de la NASH à 36 semaines et une amélioration du profil lipidique (**Lanthier, 2020**).

IV-2-2-4-Anti-inflammatoires et inhibiteurs de l'apoptose:

Certains agonistes des récepteurs aux chémokines C-C 2 et 5 (CCR2/5), tel que le cenicriviroc diminue le recrutement des monocytes-macrophages au niveau du foie ainsi que l'activation des cellules stellaires. Cependant les résultats obtenus lors de l'étude de phase II (**Lanthier, 2020**).

IV-2-2-5-Inhibiteurs de la lipogenèse de novo :

L'aramchol est un complexe d'acide arachidonique et cholique qui inhibe la stéaoryl-CoA désaturase-1 (SCD-1), d'une autre part le GS-0976 et le PF-05221304 inhibent l'acétyl-CoA carboxylase (ACC). SCD-1 et ACC sont deux enzymes de la lipogenèse de novo (**Lanthier, 2020**). C'est un traitement qui vise une approche métabolique induisant le traitement de la NASH en ciblant un des mécanismes menant à la stéatose. Le PF-05221304 a aussi indiqué une nette régression de la stéatose et une amélioration de l'insulinorésistance (**Lanthier, 2020**).

MATERIEL ET METHODES

I-1-Animaux:

Dans le but d'une étude qui vise à améliorer et confirmer une hypothèse, 24 rats albinos wistar (mâles) pesant environ 100 g, d'âge moyen ont été importés de l'institut pasteur (d'Alger)

Ces rats de laboratoire sont des descendants du rat sauvage *Rattus norvegicus* par hybridation consanguine exécutée à l'institut Wistar, appartenant à l'ordre des rongeurs (muriés), ces derniers représentent le meilleur choix scientifique pour des études physiologiques, comportementales et des pathologies humaines complexes, en effet ces rats représentent 90 % de similarité de leur gène avec l'humain.

Ces rongeurs se caractérisent par une espérance de vie allant de 2 à 3 ans avec une alimentation omnivore et une taille pouvant atteindre en moyenne jusqu'à 27 cm à l'âge adulte.



Figure 8: Photo du rat wistar.

I-1-1-Conditions d'hébergement:

Les rats ont été entretenus à l'animalerie de l'université dans un environnement favorable à l'expérimentation: une température ambiante, dans des cages en plastique, étiquetées, tapissées de résidus de bois, avec une fermeture en acier inoxydable. Ils ont suivi un régime riche en gras et glucides d'environ 14 semaines (du 04/04/2022 au 21/07/2022) et de l'eau dans des biberons, le tout à volonté.

Pour ce qui est du contrôle négatif (boîte 19 et 20), ils ont reçu une alimentation standard.



Figure 9: A: Photo des cages où les rats wistar ont été hébergés. B: Photo du régime riche en gras (HFD).

I-1-2-Protocole expérimental:

Le protocole consiste à l'induction de la stéatose hépatique non alcoolique par le biais d'une alimentation que nous avons préalablement préparé, afin de réaliser une évaluation de la progression de la pathologie, entre les rats contrôle négatif, les rats contrôle positif et les rats traités avec la molécule pure du Formoterol (12 microgrammes/ Kg). Ces derniers ont été identifiés à l'aide d'un système de couleur au niveau de leur queue par des feutres indélébiles (rouge /vert / noir) et ils ont été pesés quotidiennement.

Les 24 rats wistar ont été répartis sur 3 groupes comme suit:

HFD: High-fat diet :

- Groupe témoin (groupe contrôle négatif CRTL) : il consiste en un lot de 6 rats recevant un régime standard et de l'eau à volonté pendant 14 semaines.
- Groupe contrôle positif HFD: il consiste en un lot de 9 rats recevant un régime riche en matière grasse + glucides et de l'eau à volonté pendant 15 semaines.
- Groupe essais (HFD-F) : il consiste en un lot de 9 rats recevant un régime riche en gras + glucides et de l'eau à volonté pendant 14 semaines, pour ensuite être traité avec du formoterol (12 microgrammes) pour une durée de 15 jours.



Figure 10: Photo de la molécule du formoterol 12 microgrammes.

I-2-Traitement:

Une molécule pure de formotérol qui est un bêta-agonistes à action prolongée à été sélectionné afin de déterminer son effet curatif sur la stéatose hépatique non alcoolique qui a été induite par la prise du régime alimentaire riche en gras et sucre.

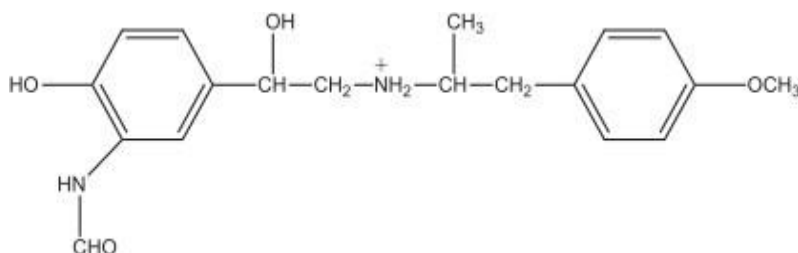


Figure 11: Structure chimique du Formoterol. (David, 2012).

I-2-1 Dosage et prise de la molécule:

Le traitement du Formotérol à été préparés au niveau du laboratoire physico-chimique de l'université sous forme de solution injectable:

Dans un tube à eppendorf nous avons mélange 3 ml de sérum physiologique avec 5 gélules (60 microgramme) de la molécule pure.

- Passer le tube à l'homogénéisateur.
- Répartir la solution sur 2 minis tubes à eppendorf avec une micropipette.
- Prélever 30 microlitres avec des seringues.
- Injection du traitement par voie intrapéritonéale (IP) pendant 2 semaines.

I-3-Sacrifice:

Dans un dessiccateur en verre d'anesthésie, les rats ont été placés sous la cloche où un bout de coton imbibé de chloroforme CHCl_3 , émet une vapeur anesthésiante, après anesthésie, ils ont été sacrifiés à tour de rôle, puis un prélèvement sanguin a été effectué au niveau de la veine jugulaire.

Les organes ont été prélevés et pesés (foie, cœur, tissu adipeux (T.A), reins, pancréas, poumon et rate), puis conservés au réfrigérateur à $-20\text{ }^\circ\text{C}$.

I-3-1-Sang:

Pendant le sacrifice, le sang à été récupéré dans des tubes héparinés et étiquetés, ensuite, ces échantillons ont été centrifugés en deux temps:

- La première consiste à centrifuger les tubes héparinés à 1000 rpm pendant 10 min à $4\text{ }^\circ\text{C}$, le sérum récupéré a ensuite été pipeté dans des minis tubes eppendorf pour la deuxième centrifugation.
- Celle-ci consiste à centrifuger les minis tubes à eppendorf à 2000 rpm pendant 10 min à $4\text{ }^\circ\text{C}$ et ce dans le but d'enlever les amas cellulaires formés au niveau du culot et récupérer le sérum qui sera stocké au réfrigérateur à $-20\text{ }^\circ\text{C}$, afin de l'utiliser ultérieurement dans les différents tests biochimiques.



Figure 12:Photo de tubes héparinés et étiquetés.

I-3-2- Tissus:

Après le sacrifice, les rats ont été disséqués et leurs différents organes vitaux, foie, cœur, reins, poumon, rate, pancréas et T.A ont été pesés et stockés dans des minis tubes eppendorf et conservés au réfrigérateur à -20 °C.

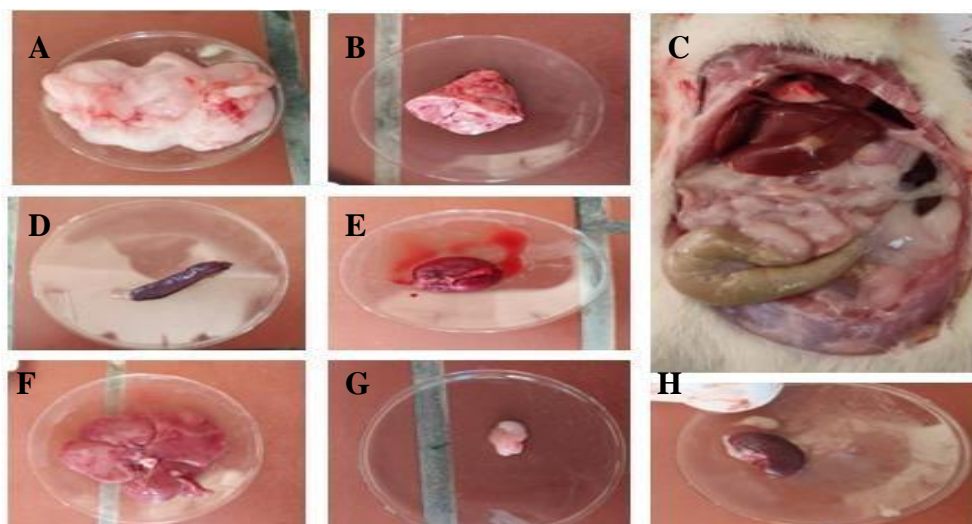
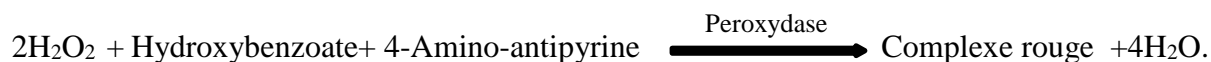
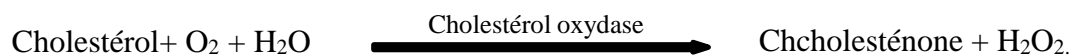
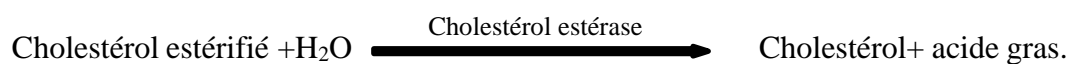


Figure 13: Photo des organes, A: TA, B: poumon, C: dissection du rat au niveau de l'abdomen (vue ventrale), D: rate, E: cœur, F: foie, G: pancréas, H: rein.

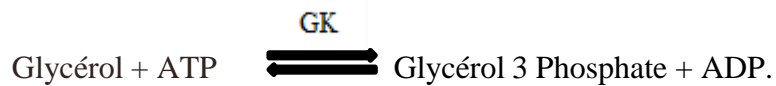
I-4-Dosages biochimiques :**I-4-1-Dosage de la cholestérolémie :**

Le dosage quantitatif du cholestérol plasmatique a été mesuré par la méthode enzymatique au cholestérol estérase selon la réaction suivante :



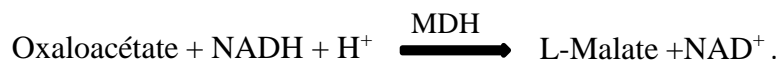
I-4-2-Dosage des triglycérides plasmatiques :

La mesure de la concentration en triglycérides sanguins est importante dans le diagnostic et le suivi des hyperlipidémies selon la réaction suivante :



I-4-3-Dosage d'ASAT :

La détermination quantitative de ASAT se fait selon la méthode de l'IFCC (2002) en suivant la réaction suivante :



RESULTATS

I- Analyse Physiologique :

Les résultats de cette étude ont démontré un grand potentiel de la molécule du formotérol, β_2 -agoniste à durée d'action longue (long-acting β_2 -agonists ou LABAs), pouvant ainsi être exploitée dans le traitement de la stéatose hépatique non alcoolique, qui à l'ordre du jour ses mécanismes physiopathologiques ne sont toujours pas résolus à 100 %.

I-1-L'évolution pondérale et de la croissance :

L'évolution pondérale pendant 12 semaines avant le traitement, n'a montré aucun changement significatif du poids corporel chez les lots CTRL versus HFD (figure 14). Tandis que l'évolution pondérale pendant les 2 semaines du traitement a montré une baisse considérable au niveau de la première semaine pour le lot traité au Formotérol (HFD-F) par rapport au lot témoin CTRL (figure 15).

Donc on peut dire globalement que la prise du poids des lots n'est pas due au régime alimentaire (régime riche en gras).

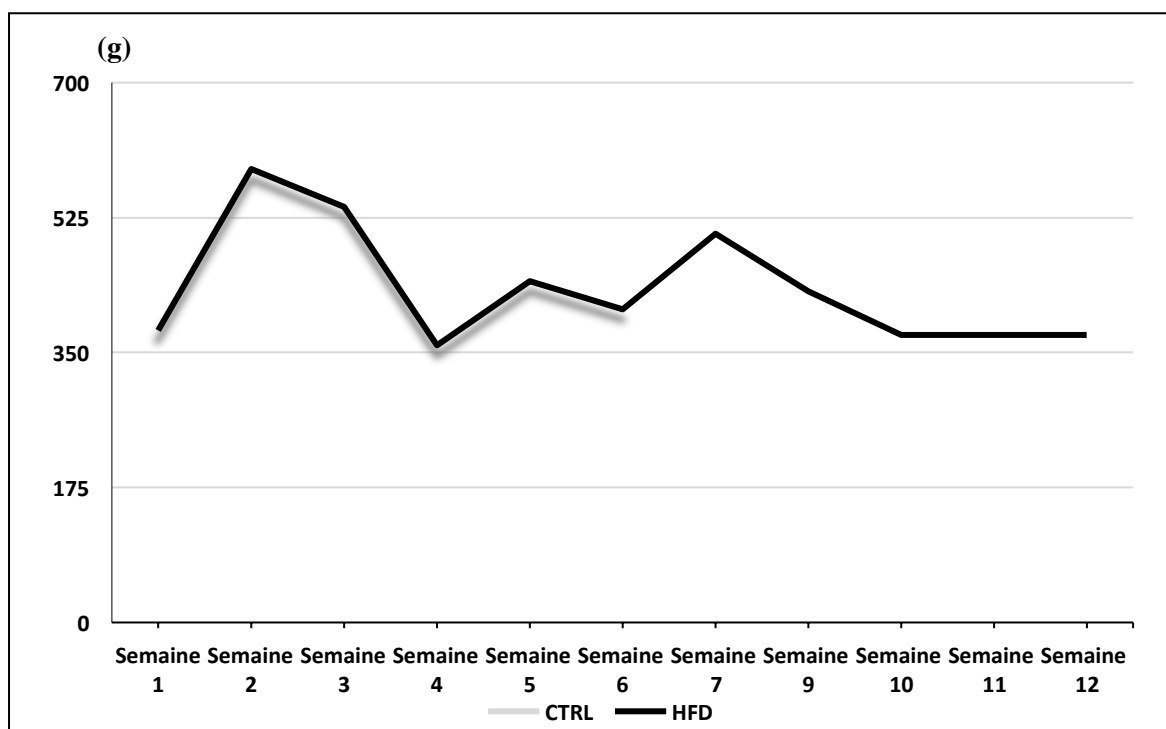


Figure 14: Représentation graphique de l'évolution pondérale des différents lots (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6), représentés en valeurs absolues.

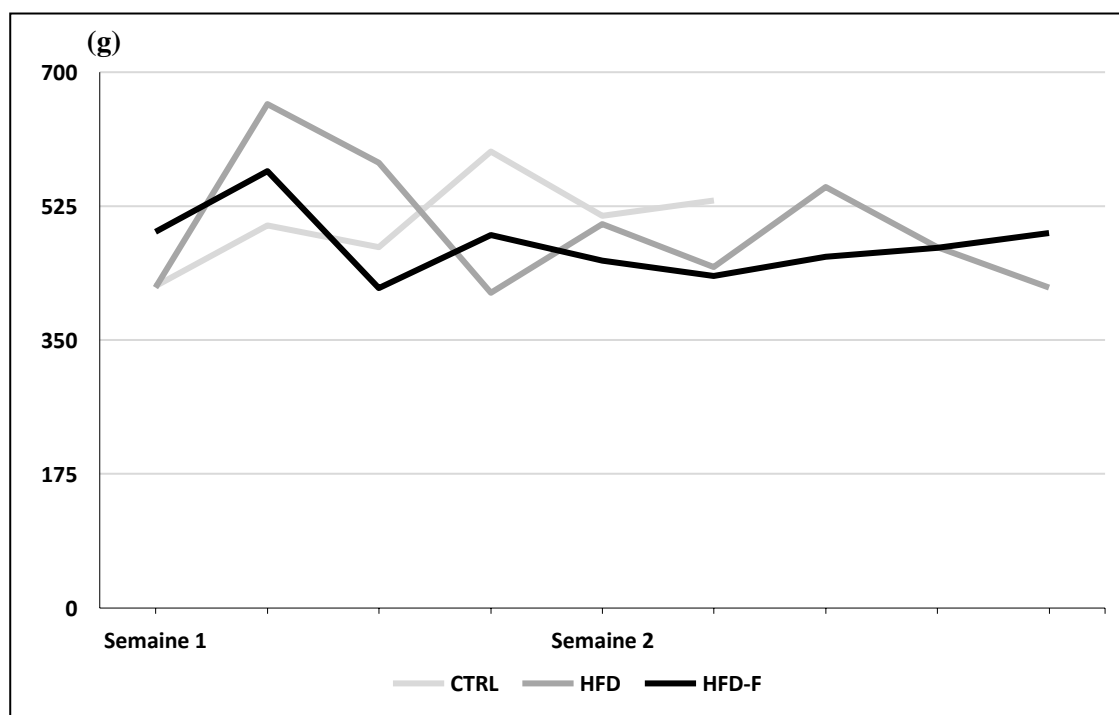


Figure 15: Représentation graphique de l'évolution pondérale des différents lots (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet-Formoterol(n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6), représentés en valeurs absolues.

I-2-Effets généraux des β 2-agonistes sur différents tissus :

Le régime riche en gras adapté, a bel et bien induit la pathologie voulu chez les rats Wistar. Il est à noter que le rat Wistar est un excellent modèle d'étude, il représente un modèle sain sans graisse (lot témoin).

Après le sacrifice en n'a pu récupérer tous les organes vitaux dont : le foie, les reins, pancréas, cœur, poumon, la rate et le TA. Nous avons dans un premier temps vérifié les conséquences d'utilisation du formotérol sur la composition corporelle des animaux. Le formotérol semble avoir un effet sur la masse absolue du foie et du rein respectivement avec une diminution de 11 % et 14 % par rapport au groupe contrôle (figure 16). En revanche, contrairement au formotérol, le régime alimentaire n'induisait pas une modification de la masse du foie et du rein (Tableau I).

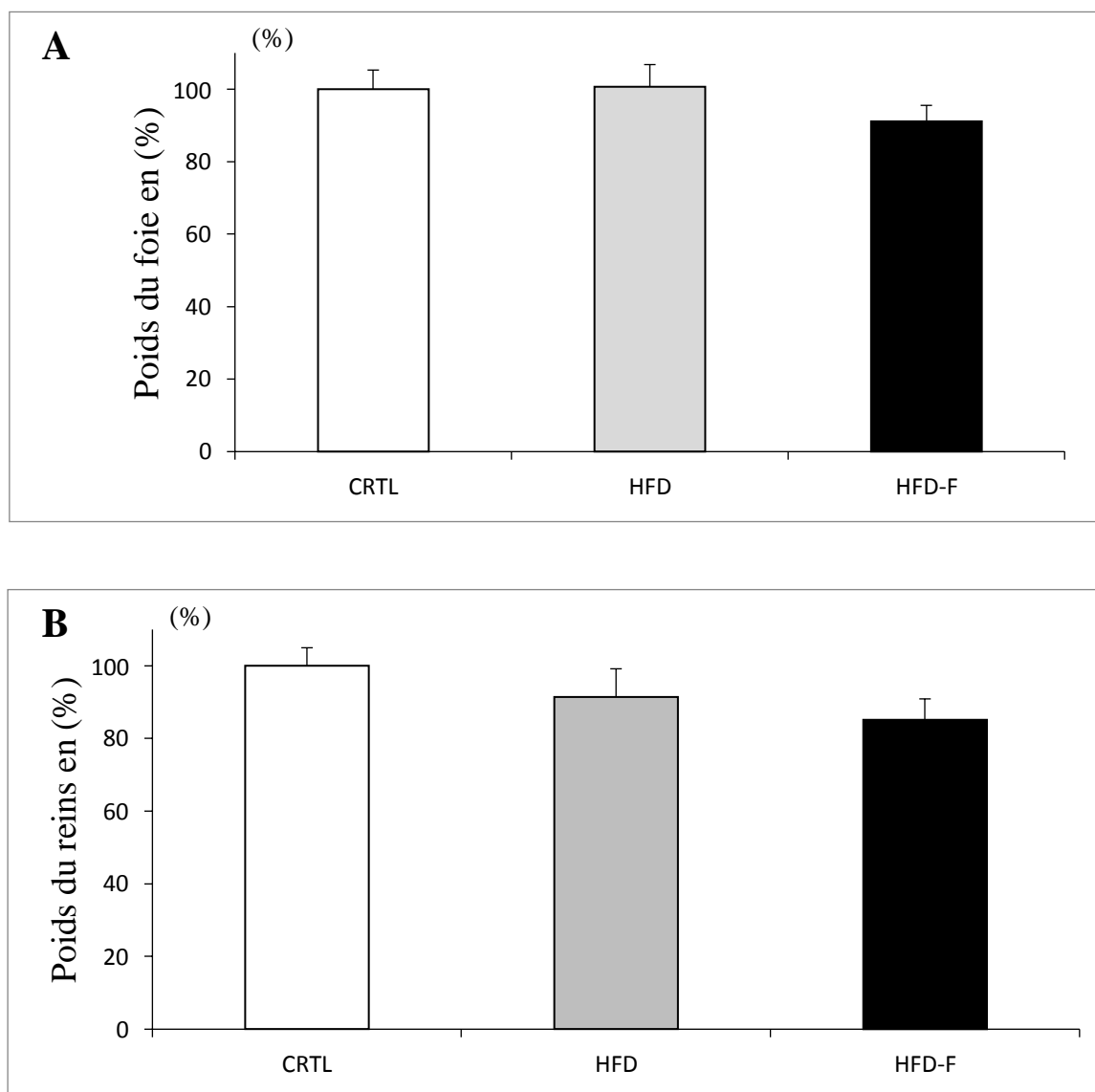


Figure 16: A: Poids du foie des différents lots (HFD : groupe high-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet-Formoterol(n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages \pm SEM. *P < 0,05 : ne sont pas significative en comparaison avec le groupe contrôle (CTRL), B: Poids des reins des différents lots (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages \pm SEM. P < 0,05 : ne sont pas significative en comparaison avec le groupe contrôle (CTRL).

Tableau I : Poids des organes prélevés exprimés en pourcentage et valeurs absolues. (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet-Formoterol (n=9) et CTRL: groupe contrôle (n=6).les résultats à P < 0,05: ne sont pas significatifs en comparaison avec le groupe contrôle (CTRL).

	CTL	HFD	HFD-F
Foie	100 %	100,67 %	91,13 %
	11,65 g	11,73g	10,62g%
Cœur	100 %	78,70 %	96,06 %
	1,44 g	1,28g	1,38 g
Reins	100 %	91,4%	85,13%
	1,23g	1,13 g	1,05g
Poumon	100 %	106,10%	132.03%
	1,62g	2,21g	2,14g
Tissus adipeux		100%	53,32%
	0	17,30 g	9,22g

L'administration de formotérol pendant 14 jours (20 µg.kg-1) est associée à une diminution très significative (p<0.001) de 47 % de la masse du tissu adipeux (Figure 17). Cependant, le formotérol ne semble pas avoir d'effet sur l'atrophie du myocarde (Figure 18). Enfin, il faut aussi noter une augmentation significative (p<0.05) de 23 % du poids du poumon chez les rats traités au formotérol par rapport au groupe contrôle (Figure 18).

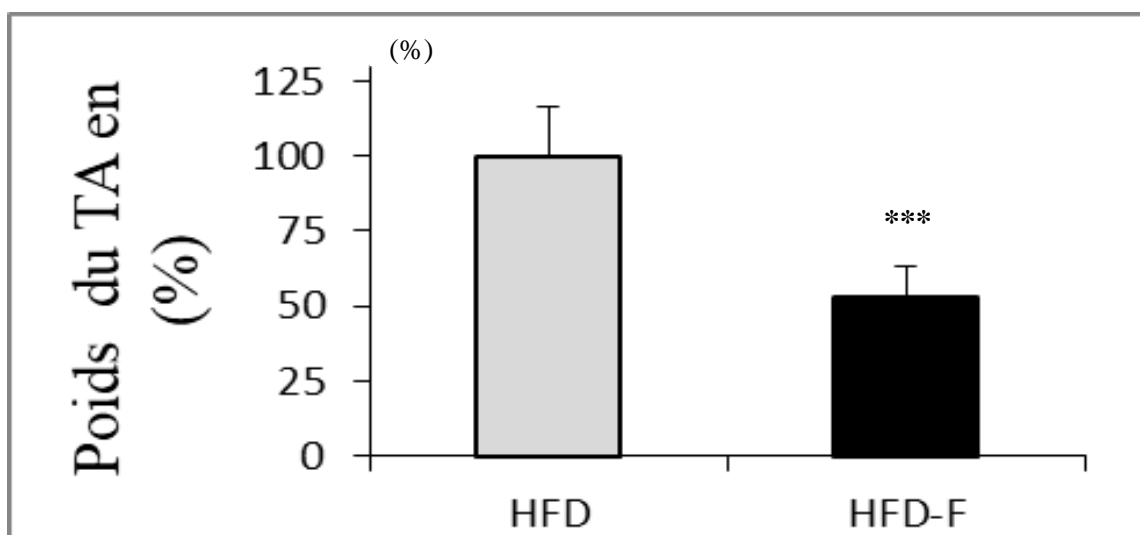


Figure 17: Poids du tissu adipeux des différents lots (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet(n=9). Les valeurs sont exprimées en pourcentages ± SEM. *P < 0,05 ; **P < 0,01 ; *P < 0,001 : très hautement significative en comparaison avec le groupe HFD.**

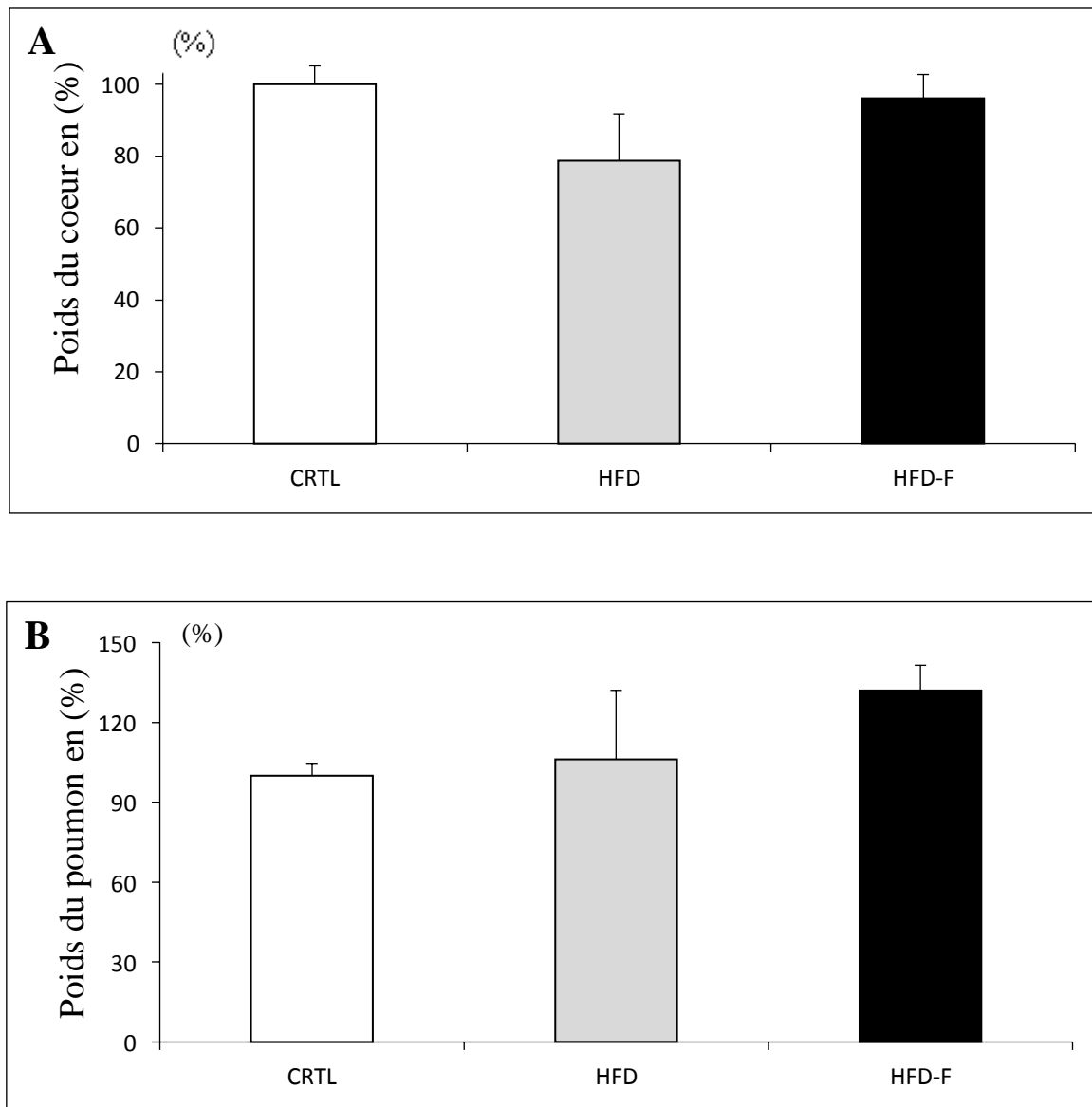


Figure 18: A: Poids du cœur des différents lots (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet (n=9) et CTRL: groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages \pm SEM. *P < 0,05; **P < 0,01; *P < 0,001: ne sont pas significative en comparaison avec le groupe contrôle (CTRL), B: Poids du poumon des différents lots (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages \pm SEM. *P < 0,05 ; **P < 0,01 ; ***P < 0,001 : significativement différent du groupe contrôle (CTRL).**

II-Analyses biochimiques sanguines :

II-1-Bilan lipidique :

II-1-1-Cholestérol :

Le cholestérol est une substance naturelle grasseuse indispensable à l'organisme, transportée par le sang, utile notamment pour la croissance et le renouvellement cellulaire, mais l'excès de cette dernière induit le risque de développer une maladie cardiovasculaire.

Dans un but purement expérimental et afin de déterminer le bon déroulement physiologique de certains organes, une analyse biochimique du marqueur du cholestérol a donné les résultats suivants : une diminution très hautement significative ($***p < 0.001$ est 37 %) du taux de cholestérol total chez le lot HFD-F par rapport au groupe HFD sans traitement et une augmentation significative ($*p < 0.05$ est 26 %) du taux de cholestérol chez le lot HFD par rapport au groupe CTRL (Tableau II et Figure 19). De plus, nous notons également une réduction significative du taux de cholestérol total chez les rats traités au formotérol par rapport au groupe contrôle (11 %) (Tableau II et Figure 19).

Tableau II : Tableau du bilan lipidique exprimé en pourcentage et valeurs absolues. (HFD : groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F : High-Fat Diet-Formoterol (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). *P < 0,05, *p<0.001: significativement différent du groupe contrôle (CTRL) et (HFD).**

	Cholestérol	TG
CRTL	100%	100%
	0,107	0,116
HFD	126,291%*	269,88%*
	0,134	0,31
HFD-F	88,78%***	195,5%***
	0,09	0,2

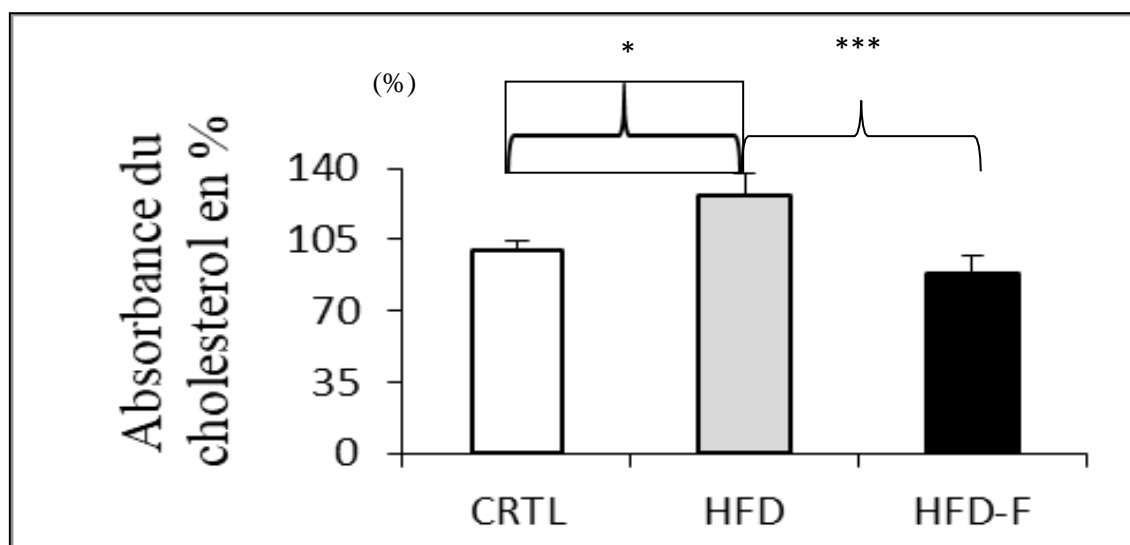


Figure 19: Cholestérol totales différents lots (HFD : groupe high-fat diet (n=9), groupe HFD-F :High-fat diet-Formotérol (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages \pm SEM. *P < 0,05;***p<0.001 significativement différent du groupe contrôle (CTRL) et (HFD).

II-1-2-Triglycéride:

Pour évaluer les effets de l'activation de la signalisation induite par les récepteurs β 2-adrénergiques sur le bilan lipidique, nous avons administré pendant 14 jours le traitement au formotérol.

Les TG sont des esters d'AG et de glycérol représentant le principal composant lipidique des graisses alimentaires et des dépôts de graisse des animaux. La suite de l'analyse précédente pour ce marqueur indique aussi une baisse très hautement significative (**p<0.001) de 59 % chez les rats traités au formotérol HFD-F) par rapport au groupe HFD sans traitement (Tableau II et Figure 20), une augmentation significative de (*p<0.05 est 64 %) du taux du TG chez le lot HFD par rapport au groupe CTRL (Tableau II et Figure 20).

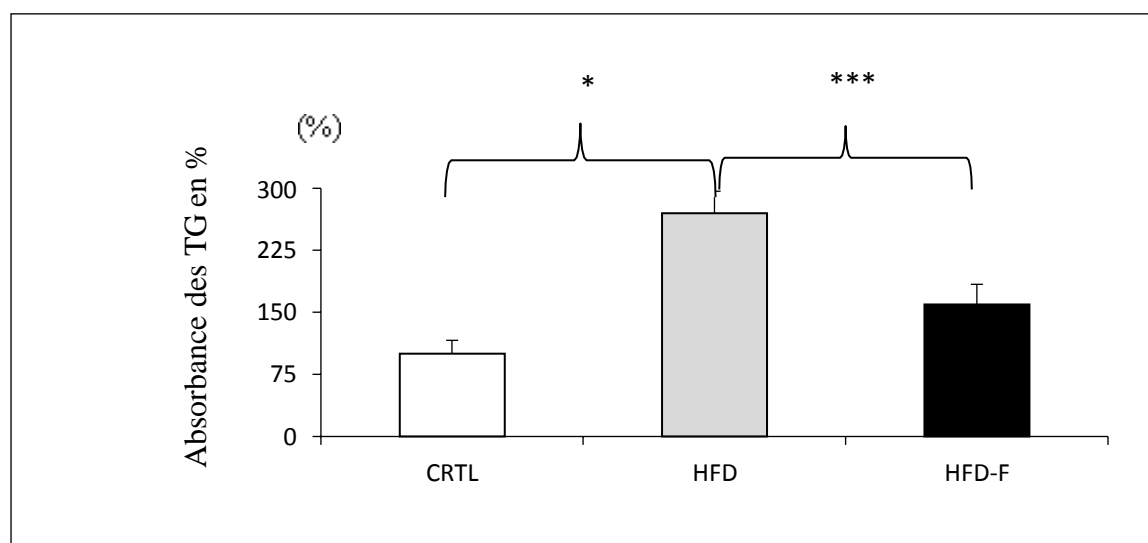


Figure 20: Triglycérides des différents lots (HFD : groupe high-fat diet (n=9), groupe HFD-F :high-fat diet-Formotérol (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages \pm SEM. *P < 0,05, ***p<0.001: significativement différent du groupe contrôle (CTRL) et (HFD).

II-2-Analyse de la fonction hépatique:

II-2-1-ASAT:

L'aspartate aminotransférase fait partie du groupe d'enzymes des aminotransférases ou transaminases, intervenant notamment dans la navette malate-aspartate de transfert des électrons, c'est une enzyme spécifique au foie.

En continuité avec le test précédent, ASAT marque une diminution significative (*p<0.05 est 31%) de sa valeur chez les rats traités au formotérol (HFD-F) par rapport au lot HFD sans traitement. Et une augmentation très hautement significative (***p <0.001 est 20 %) du taux d'ASAT chez le lot HFD par rapport au groupe CTRL.

Tableau III : Tableau de l'analyse de la fonction hépatique exprimée en pourcentage et valeurs absolues. (HFD: groupe High-Fat Diet (n=9), groupe HFD-F: High-Fat Diet-Formoterol (n=9) et CTRL: groupe contrôle (n=6). *P<0,05, *P<0.001 : significativement différent du groupe contrôle (CTRL) et (HFD).**

	ASAT
CTRL	100%
	234,438
HFD	71,757% *
	168,225
HFD-F	107,053% ***
	250,973

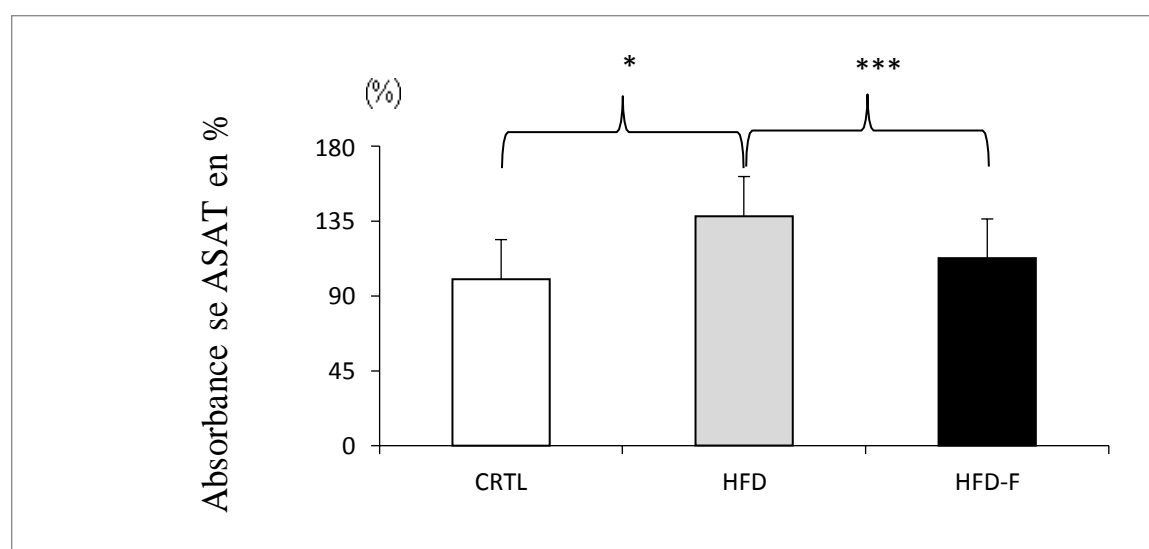


Figure 21: ASAT des différents lots (HFD : groupe high-fat diet (n=9), groupe HFD-F :high-fat diet-Formotérol (n=9) et CTRL : groupe contrôle (n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentages ± SEM. *P<0,05, *P<0.001 : significativement différent du groupe contrôle (CTRL) et (HFD).**

DISCUSSION

Dans l'essai expérimental que nous avons effectué sur la molécule du β_2 agoniste du Formotérol et son incidence sur l'évolution de la stéatose hépatique non alcoolique qui résulte d'un régime HFD ce qui a été le cas des résultats de Yang et al., (Yang, 2019) et de Q. Pan et al (Pan Q, 2021)., adopté sur les rats Wistar, un modèle plus prédisposés au développement de la pathologie.

Depuis la fin des années 1990, de nombreuses études se sont intéressées aux effets des β_2 -agonistes sur une variété importante d'espèces animales. En particulier, l'intérêt de ces études s'est porté sur les β_2 -agonistes et les conséquences de son utilisation sur la composition corporelle de ces espèces animales. Dans ce travail, on a pu constater que le traitement par voie intrapéritonéale au Formotérol a eu une répercussion significative sur l'évolution pondérale des rats (Yang, 2019). Ce qui concorde avec les résultats de l'étude faite par Yang et al., sur l'effet thérapeutique de la myriocin sur une NAFLD induite par HFD sur 10 rats mâles Sprague-Dawley et ce pendant 8 semaines. (Yang, 2019). Comme cité précédemment, lors de la pesée des organes, on a pu noter une diminution de la masse absolue du foie et du rein. Il a été rapporté que l'administration de clenbutérol est associée à une diminution de 8 % à 17 % de la masse du foie (Reeds, 1986; Choo, 1992) et du rein (Reeds, 1986). Contrairement à d'autres β_2 -agonistes comme le fénotérol (Emery, 1984), le salbutamol (Choo et al., 1992; Moore et al., 1994) et la terbutaline (Auman, 2001) qui n'ont pas d'effet sur la masse du foie.

Il est décrit dans la littérature une hypertrophie du myocarde est couramment rapportée chez le rat après traitement au clenbutérol (Oishi, 2002), au formotérol et au fénotérol (Ryall, 2004). Cette hypertrophie, caractérisée par une augmentation du contenu protéique du cœur induite par les β_2 -agonistes, s'accompagne de profondes modifications structurelles et fonctionnelles du muscle cardiaque. Pourtant, ces résultats n'ont pas été confirmés après l'administration de formotérol pendant 14 jours. Ainsi l'effet des β_2 -agonistes serait dépendante des doses et de la voie d'administration de ces derniers.

L'analyse biochimique sanguine du sérum récupéré et traité chez les rats a indiqué au niveau du bilan lipidique des taux de cholestérol total (Pan Q, 2021) et de TG (Zhang R, 2016), inférieures chez le lot HFD-Fen comparaison au lot HFD. Ces résultats sont en accord avec ceux présentés dans d'autres études utilisant du clenbutérol, β_2 -agoniste à durée d'action courte. En effet, l'administration de clenbutérol est associée à une diminution significative de

la masse de tissu adipeux (Kearns, 2001; Bricout, 2004). Cette diminution s'observe aussi bien chez des rats jeunes (3 mois) que chez des rats âgés (23 mois) (Carter, 1991). De manière intéressante, des études menées sur une lignée cellulaire d'adipocytes 3T3-L1 (*in vitro*), modèle de différenciation adipocytaire en culture, traités au clenbutérol montrent une limitation de l'adipogénèse, formation d'adipocyte à partir d'une cellule progénitrice, par le β_2 -agoniste qui s'ajoute à une augmentation de la lipolyse. Ainsi, le clenbutérol et l'isoprotérénol augmentent la libération de glycérol due à l'hydrolyse des triglycérides (Kim, 2010). De plus, Le clenbutérol, augmenterait l'apoptose du tissu adipeux (Page, 2004) et diminuerait la taille des cellules adipeuses en réduisant le contenu en gouttelettes lipidiques (Zhang, 2007).

Il semblerait que les β_2 -agonistes n'affectent pas la fatigabilité chez l'humain (Crivelli, 2011). Enfin, aucune augmentation de la fatigue n'a été reportée en présence de formotérol chez l'animal (Harcourt, 2007) et de salbutamol chez l'humain (Fowler, 2004), soulignant l'intérêt du développement de molécules de nouvelle génération. En conclusion, l'utilisation des β_2 -agonistes pour le traitement de la stéatose hépatique doit faire appel au préalable à une analyse détaillée du rapport bénéfice/risque.

CONCLUSION

Avec une prévalence dépassant les autres maladies, la NAFLD devient plus qu'une menace pour la santé mondiale et cela sans aucune discrimination hiérarchique.

Grâce au scientifique qui se donne corps et âme chaque jour, aujourd'hui les raisons de cette maladie ne nous sont pas totalement méconnaissables, en on compte la malnutrition ainsi qu'une faible activité physique autrement dit la sédentarité, ces derniers peuvent provoquer une obésité mais également une résistance à l'insuline qui est actuellement reconnue comme étant un mécanisme sous-jacent important. Favorisé par la cascade d'événements inflammatoires, ceux-ci à leur tour sont impliqués dans l'induction de la stéatose hépatique non alcoolique.

A la lumière des résultats obtenus au cours de la présente recherche, nous pouvons déduire que le formoterol constitue une bonne initiative pour le traitement de la NAFLD. On observe un important changement au niveau de l'analyse biochimique des différents paramètres, plus précisément dans le bilan lipidique (infériorité du taux de TG et cholestérol).

Les différents tests effectués dans cette étude ouvrent de nouvelles perspectives dans le but de connaître l'effet exact du formoterol dans la prévention de la stéatose hépatique non alcoolique :

- Nous pouvons espérer que cette molécule devienne un éventuel traitement pour la NAFLD, un résultat digne d'être plus approfondi cliniquement.
- Compléter le bilan sanguin avec la réalisation de coupes histologiques qui sont nécessaires pour confirmer l'effet du formoterol sur la NAFLD.
- Des tests plus approfondis sont nécessaires pour déterminer la dose curative exacte du formoterol.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Accietto C. Alcohol use identification test. Thèse de doctorat université de Genève 2003, 1-56.

Apperley DC, Markwell AF, Harris RK, Hodgkinson P. NMR characterisation of structure in solvates and polymorphs of formoterol fumarate: NMR characterisation of formoterol fumarate. *Magn Reson Chem.* oct 2012;**50**(10):680-90.

Arnaud E. Le foie, un organe multifonction. *Hirslanden cliniquement vôtre.*2015 :11-13.

Auman JT, Seidler FJ, Tate CA & Slotkin TA. Beta-adrenoceptor-mediated cell signaling in the neonatal heart and liver: responses to terbutaline. *Am J PhysiolRegulIntegrCompPhysiol.*2001;**281**, R1895-1901.

Badouard T. Évaluation de la valeur pronostique du FibroScan chez les patients ayant fait un accident cardiovasculaire ischémique. *sciences du vivant.*2019 :1-75.

Bessaguet F, Desmoulière A. Le foie. *Actualités Pharmaceutiques.* avr 2021;**60**(605):57- 61.

Bricout VA, Serrurier BD & Bigard AX. Clenbuterol treatment affects myosin heavy chain isoforms and MyoD content similarly in intact and regenerated soleus muscles. *Acta physiologicaScandinavica.*2004.;**180**, 271-280.

Carter WJ, Dang AQ, Faas FH & Lynch ME. Effects of clenbuterol on skeletal muscle mass, body composition, and recovery from surgical stress in senescent rats. *Metabolism: clinical and experimental.*1991;**40**, 855-860.

Choo JJ, Horan MA, Little RA & Rothwell NJ. Anabolic effects of clenbuterol on skeletal muscle are mediated by beta 2-adrenoceptor activation. *The American journal of physiology.*1992;**263**, E50-56.

Cours:Item 83 : Hépatites virales. Anomalies biologiques hépatiques chez un sujet asymptomatique. 2008, 1-37.

Crivelli G, Millet GP, Gremion G & Borrani F. Effects of salbutamol on the contractile properties of human skeletal muscle before and after fatigue. *Acta physiologica (Oxford, England).* 2011 ;**203**, 311-320.

Deschênes M. La stéatohépatite non alcoolique. *Le Médecin du Québec.*2002 ;**37**(10) :47-52.

Dietrich P, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* août 2014;**28**(4):637-53.

Emery P.W, Rothwell N.J, Stock M.J and Winter P.D. Chronic effects of β_2 agonists on body composition and protein synthesis in the rat. *Biosci Rep* .1984 ; **4** (1): 83–91.

Fowler EG, Graves MC, Wetzel GT & Spencer MJ. Pilot trial of albuterol in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neurology*.2004;**62**, 1006-1008.

Harcourt LJ, Schertzer JD, Ryall JG & Lynch GS. Low dose formoterol administration improves muscle function in dystrophic mdx mice without increasing fatigue. *NeuromusculDisord*.2007;**17**: 47-55.

Homer L, Hebert T, Nousbaum J-B, Bacq Y and Collet M. Comment confirmer le diagnostic de stéatose hépatique aigue" gravidique en urgence. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*.2008.37 :246-251.

Kearns CF, McKeever KH, Malinowski K, Struck MB & Abe T. Chronic administration of therapeutic levels of clenbuterol acts as a repartitioning agent. *J ApplPhysiol*.2001;**91**: 2064-2070.

Kim HK, Della-Fera MA, Hausman DB & Baile CA. Effect of clenbuterol on apoptosis, adipogenesis, and lipolysis in adipocytes. *Journal of physiology and biochemistry*.2010;**66**: 197-203.

Lemoine M, Serfaty L. Stéatopathies métaboliques. La Presse Médicale. févr 2012;**41**(2):169-89.

Mathurin P, Louvet A et Dharancy S.Prise en charge de l'hépatite alcoolique sévère. *Post'U*.2012 :185-190.

Moore NG, Pegg GG & Sillence MN. Anabolic effects of the beta 2-adrenoceptor agonist salmeterol are dependent on route of administration. *The American journal of physiology*.1994 ;**267**: E475-484.

Oishi Y, Imoto K, Ogata T, Taniguchi K, Matsumoto H & Roy RR. Clenbuterol induces expression of multiple myosin heavy chain isoforms in rat soleus fibres. *Acta physiologicaScandinavica*.2002;**176**: 311-318.

Page KA, Hartzell DL, Li C, Westby AL, Della-Fera MA, Azain MJ, Pringle TD & Baile CA. beta-Adrenergic receptor agonists increase apoptosis of adipose tissue in mice. *Domestic animal endocrinology*.2004;**26**: 23-31.

Pan Q, Lin S, Li Y, Liu L, Li X, Gao X, et al. A novel GLP-1 and FGF21 dual agonist has therapeutic potential for diabetes and non-alcoholic steatohepatitis. *EBioMedicine*. janv 2021;**63**:103202.

Reeds PJ, Hay SM, Dorwood PM & Palmer RM. Stimulation of muscle growth by clenbuterol: lack of effect on muscle protein biosynthesis. *The British journal of nutrition*.1986;**56** : 249-258.

Références bibliographiques :

Rodolphe A et Philippe G. Physiopathologie des stéatoses hépatiques métaboliques. *Presse Med.* 2019 ;**48**: 1468-1483.

Rodolphe A et Philippe G. Physiopathologie des stéatoses hépatiques métaboliques. *Elsevier.* 2019: 1-36.

Russo M, Zacks S. Maladies du foie. In: Médecine interne de Netter. Elsevier; 2011:487-94.

Ryall JG, Plant DR, Gregorevic P, Sillence MN, Lynch GS. Beta 2-agonist administration reverses muscle wasting and improves muscle function in aged rats. *Journal of Physiology* 2004; **555**: 175-88.

Takahashi Y. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World Journal of Gastroenterology.* 2014;**20**(42):15539.

Warling O, Oger AF, Lamproye A, Bernard V, Marting A, Detry O, Louis E et Delwaide J.L'hépatite alcoolique aiguë. *Rev Med Liege.* 2019; **74**:327.

Yang RX. Therapeutic effect and autophagy regulation of myriocin in nonalcoholic steatohepatitis. 2019;**18** :179.

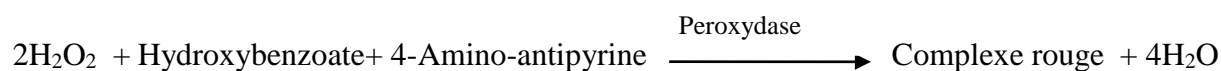
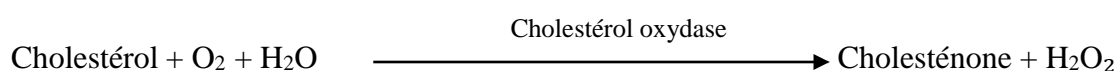
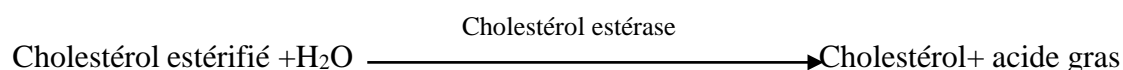
Zhang J, He Q, Liu QY, Guo W, Deng XM, Zhang WW, Hu XX & Li N. Differential gene expression profile in pig adipose tissue treated with/without clenbuterol. *BMC genomics.* 2007 ;**8** :433.

Zhang R, Yu Y, Hu S, Zhang J, Yang H, Han B, et al. Sesamin ameliorates hepatic steatosis and inflammation in rats on a high-fat diet via LXR α and PPAR α . *Nutrition Research.* sept 2016;**36**(9):1022-30.

ANNEXES

ANNEXES :**FICHE TECHNIQUE DU CHOLESTEROL****REF: 87356H****I. Principe :**

Le dosage quantitatif est basé sur la réaction enzymatique suivante :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la présence du cholestérol dans l'échantillon.

II. Milieu réactionnelle :

Le milieu de la réaction se compose de :

R1	
Tampon de Good ph 6,7	50 mmol/L
(CHE) Cholestérol estérase	≥ 300 U/L
(CHOD) Cholestérol oxydase	≥ 100 U/L
(POD) Peroxydase	≥ 500 U/L
(4-AAP) Aminoantipirina	0,3 mmol/L
Acide hydroxybenzoïque	12 mmol/L
Azoture de sodium	≤ 0,095 g/L
Hydroxyde de sodum	≥ 0,1%
CAL	
Cholestérol 200 mg/L, Tensioactif ≥ 5%	

III.Méthode de contrôle :

Laisser les réactifs atteindre les températures de fonctionnement avant usage :

Longueur d'onde: 510 nm (500-546nm)			
Trajet lumineux : 1 cm			
Température : 37°C			
	Blanc	Calibrant	Echantillon
Réactif	1000uL	1000uL	1000uL
Eau distillée	10uL	-	-
Calibrant	-	10uL	-
Echantillon	-	-	10uL
Mélanger et incuber à 37°C pendant 10 min, lire les absorbances du calibrant et de l'échantillon contre le blanc.			

1. IV.Calcul des résultats :

Cholestérol (mg/dl) = (Abs échantillon/ Abs calibrant) *200mg/dl.

Facteur de conversion :

Cholestérol (mg/dl)* 0,02586 = Cholestérol (mmol/L)

FICHE TECHNIQUE DE ASAT

**REF80125A , REF80125AM,
REF80125AS**

I. Intérêt clinique :

Déterminer quantitativement des ASAT dans le sérum et le plasma

II. Principe de la procédure :

L'enzyme aspartate aminotransférase catalyse la réaction transaminase entre le L-aspartate et le 2-Oxoglutarate. Le 2-Oxalacétate formé est réduit en malate en présence de MDH.

Au fur et à mesure que les réactions se déroulent, le NADH est oxydé en NAD. La disparition du NADH par unité de temps est suivie de la mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm. La présente méthode a été élaborée selon l'IFCC (2002).



Remarque : la diminution de m'absorption est due à la conversion du NADH en NAD⁺

III. Composition du réactif :

Composition	Quantité
Tampon de tris	≤ 90 mM pH 7.65
L-Aspartate	≤ 250 mM
2-Oxoglutarate	≤ 14 mM
NADH	≤ 0.18 mM
MDH	≥ 600 U/L
LDH	≥ 900 U/L

IV. Préparation des réactifs :

Mélanger 4 volumes de réactif R1 (tampon, enzymes) avec 1 volume de réactif R2 (substrat). Les réactifs sont stables entre +20 et +8°C si les flacons sont fermés. Agiter doucement le flacon de réactif R2 avant de verser son contenu dans des flacons de réactif R1 et incubé pendant 5 minutes à 37 °.

V. Procédure :

- Echantillon : dans des tubes héparinés.
- Méthode : spectrophotométrie.
- Longueur d'onde : 340nm.
- Température : 37°C.

VI. Mode opératoire :

	Tube échantillon
Réactif	1000UL
Echantillon	100 UL

- Facteur de calcul : 1746.
- Bien mélanger après ajouter l'échantillon
- Lire l'absorbance initiale après 60 secondes, puis chaque 15 minutes pendant 3 minutes.

VII. Calcule :

Effectuer le calcul en unités par litre, en multipliant le DA/min par le facteur tel qu'indiqué: Le calcul fait en U/L : DA/min x 1746

FICHE TECHNIQUE DU TRIGLYCERIDE

REF87319 , REF80019

I. Intérêt clinique :

La mesure de la concentration en triglycérides sanguins est importante dans le diagnostic et le suivi des hyperlipidémies. Son augmentation peut être d'origine génétique ou secondaire à d'autres désordres métaboliques. Une élévation des triglycérides est aussi un facteur de risque athérogène.

II. Principe :

Triglycéride $\xrightarrow{\text{Lipase}}$ Glycérol + acide gras libre

Glycérol + ATP $\xrightleftharpoons{\text{GK}}$ Glycérol 3 Phosphate + ADP

Glycérol 3 Phosphate + O₂ $\xrightleftharpoons{\text{GPO}}$ DihydroxyacétonePhosphate + H₂O₂

H₂O₂ + -chlorophénol + PAP $\xrightarrow{\text{POD}}$ Quinonéimine (rose) + H₂O

L'absorbance du complexe coloré (quinonéimine). Proportionnelle à la concentration en triglycérides dans l'échantillon, est mesuré à 500 nm

III. Réactif :

R1 : Tampon.

Composante de R	Quantité (mmol/L)
Pipes	100
Chlorure de magnésium	9.8
Chloro-4-phénol	3.5
Conservateur	/

R2 : Enzyme.

Composante de R	Quantité
Lipase	≥ 1000 UI/L
Péroxydase (POO)	≥ 1700 UI/L
Glycérol 3 phosphate oxydase (GPO)	≥ 3000 UI/L
Glycérol Kinase (GK)	≥ 660 UI/L
4 - Amino - antipyrine(PAP)	0.5 mmol/L
Adénosine triphosphate NA (ATP)	1. 3 mmol/L

R3 : Etalon 2g/L (2.8mmol/L).

Composante R	Quantité
Glycérol	2.28 (mmol/L)
Triglycérides	2 g/L

IV. Préparation des réactifs :

Verser sans délai le contenu d'un flacon R2 (enzyme). Dans un flacon R1 (tampon) et agiter doucement jusqu'à complète dissolution avant d'utiliser le réactif (environ 2 minutes).

V. Mode opératoire (technique manuelle) :

Réactif + échantillon à température ambiante.

Mensurer dans des tubes a essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	1mL	1mL	1mL
Eau déminéralisé	10UL		
Etalon		10UL	
Echantillon			10UL

Mélanger et laisser reposer 5 min à 37°C, lire l'absorbance a 500 nm contre le blanc réactif

VI. Calcule :

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs}(\text{dossage})}{\text{Abs}(\text{etalon})} * \text{concentration de l'étalon.}$$

RESUME

Abstract :

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), is the most common chronic liver disease, that's prevalence is leading worldwide. Therefore, the severe form of this disease, (NASH) nonalcoholic steatohepatitis, may progress to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). Despite this, there is no effective pharmacotherapy as treatment to this day. The Formoterol, a long-acting β 2-agonists, at therapeutic dose may be the solution. In this study we aimed to explore whether this drug has a beneficial effect on animal model of induced NAFLD via HFD.

Wistar rats were randomly divided into three groups: standard chow (n = 6), high-fat diet (HFD) (n = 9) and HFD-F (n = 9): combined with intraperitoneal administration of Formoterol (20 μ g /kg within 14). Blood tests were carried out, a lipid profile (cholesterol and triglyceride) as well as an analysis of the hepatic function (ASAT enzymatic activity). Experimentally, formoterol at concentration 10 folds lower than the therapeutic dose, was associated with a significant reduction in adipose tissue mass, as well as significant increase of lipolysis. Furthermore, our results constitute proof of principal showing that pharmacological activation of β 2-agonists via formoterol may prove beneficial as a novel therapeutic approach for NAFLD.

Key words : NAFLD, HFD, Formoterol, liver, In vivo.

Résumé:

La stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) est la maladie chronique la plus répandue du foie, dont la prévalence est la plus importante au monde. La forme grave de cette maladie, la stéatohépatite non alcoolique (NASH), peut évoluer vers une cirrhose du foie et un carcinome hépatocellulaire (CHC). Malgré cela, il n'existe à ce jour aucune pharmacothérapie efficace comme traitement. Le Formotérol, un β 2-agoniste à longue durée d'action, à dose thérapeutique pourrait être la solution. Dans cette étude, nous avons cherché à explorer si ce médicament a un effet bénéfique sur le modèle animal de NAFLD induite via HFD.

Des rats Wistar ont été divisés aléatoirement en trois groupes : groupe contrôle (n = 6), régime riche en graisses (HFD) (n = 9) et HFD-F (n = 9) : combiné avec une administration intrapéritonéale de Formotérol (20 μ g /kg dans 14). Des analyses sanguines ont été réalisées, un profil lipidique (cholestérol et triglycéride) ainsi qu'une analyse de la fonction hépatique (activité enzymatique ASAT).

Expérimentalement, l'administration de β 2-agonistes à des doses 10 fois inférieurs à la dose thérapeutique montre une diminution significative de la masse de tissu adipeux ainsi qu'une lipolyse importante. En conclusion l'activation de β 2-agonistes via le formoterol pourrait avoir un potentiel thérapeutique pour le traitement de la NAFLD.

Mots clés : NAFLD, HFD, Formotérol, foie, In vivo.