République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Dr Yahia Farès de Médea

Faculté des Sciences

Mémoire
En vue de l'obtention du **Diplôme de Master**
En Science de la Nature et de la Vie
Spécialité : Biologie et Pathologies cellulaires

Sujet

Effet du cycle nycthéméral déphasé sur l'expression de la myéloperoxidase dans le tissu hépatique chez la gerbille *(Gerbillus tarabuli)*

Par :

Nasri Nour El Houda

Boufatah Soumia

Devant le jury composé de :

Mme Salem Sabiha	MAA	Université de Médéa	Examinatrice
Mme Zeghloul Nesrine	MAB	Université de Médéa	Examinatrice
Mme Derbouz Rouibate Amina	MAA	Université de Médéa	Promotrice

Année universitaire 2019/2020

Sommaire

- **Introduction…….....…..1**
- **Les Rythmes biologiques…….....5**
- **I.1.Généralités…….5**

  I.2.Le concept des Rythmes biologiques……...5
- **I.3.Les Rythmes circadiens……6**

- **I.3.1. Les noyaux suprachiasmatiques ……7**
- **Les horloges circadiennes……...9**
- **II.1.Les horloges circadiens périphériques……...9**
- **II.2. La synchronisation du rythme biologique ……10**
  - **II.2.1.Synchronisation Photiques ……...10**
  - **II.2.2.La synchronisation non photiques ……11**
- **II.3.La désynchronisations ……...12**
  - **II.3.1.La désynchronisation externe ……...12**
  - **II.3.2.La désynchronisation interne ……12**
- **La rythmicité du foie ……13**
- **Rappel anatomiques du foie ……13**
- **Histologie et fonctions hépatiques et biliaires……...14**
- **V.1. Les parenchymes hépatiques ……14**
  - **V.1.1.Les hépatocytes ……16**
  - **V.1.2.Les cellules endothéliales ……16**
  - **V.1.3.Les cellules de Kupffer ……17**
  - **V.1.4.Les cellules de Ito …….……17**
  - **V.1.5.Les cellule natural killer……..……..…17**
  - **V.1.6.Les cellules ovales ……17**
- **V.2.Vascularisation hépatiques …….....18**
  - **V.2.1.La veine porte ……...18**
  - **V.2.2.Les Artères hépatiques……..18**
- **V.3.les fonction hépatiques……..19**
- **V.3.1.Métabolisme des glucides et lipides ……19**
- **V.3.2.Détoxification ……19**
- **V.3.3.Fabrication d'énergie ……..…..20**
- **V.3.4.Métabolique et de stockage ……..20**
- **V.3.5.Dégradation et la formation de l'hémoglobine …….…..20**
- **V.3.6.Formation de la bile……...20**
- **VI.La myéloperoxydase (MPO) ……..……..21**
- **VI.1.Le Rôle de MPO……..……21**
  - **VI.2.Activité enzymatique de la MPO……....22**
    - **VI.2.1. Activité de chloration ……..22**
    - **VI.2.2. Activité de peroxydase……..22**

- **Matériel et méthode**
- **Model biologiques ……...26**
- **Conditionnement des animaux……...28**
- **Techniques histologiques ……....30**
- **Techniques immunohistologiques……....32**

- **Résultats**

  - **Etude de l'aspect structural du foie de *Gerbillus tarabuli* …..…….37**
  - **Etude de l'expression de la myéloperoxydases dans le parenchyme hépatique 37**

- **Discussion…….....44**
- **Conclusion ……49**
- **Références bibliographiques……51**
- **Les annexes……....63**

Remerciements

Nous tenons à remercier Allah notre créateur qui nous donné

La force afin d'élaborer ce travail.

Nous tenons à remercier infiniment Mme DERBOUZ ROUIBATE AMINA, Maître Assistant classe A à l'université Dr Yahia Farès de Médéa et chercheur au sein de l'équipe de Neurobiologie à l'USTHB, nous le remercions de nous avoir encadrés et orientés, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous remercions également les membres du jury : Mme S. SALEM et Mme N. ZEGHLOUL qui ont aimablement accepté d'évaluer notre travail et nous ont fait l'honneur d'apporter des suggestions constructives pour l'amélioration de ce mémoire

Nous tenons à remercier : le Groupe de bibliothèque, laboratoire et à tous et toutes nos collègues de Master pour leur aide et leur soutien.

Dédicaces

Tout d'abord louange à Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas. Je dédie ce mémoire :

À celle qui m'a toujours comblé par son amour et ces sacrifices, qui m'a consenti et m'a soutenue aux moments les plus difficiles de ma vie, à ma très chère maman «Mokhtari Houria» que je porte dans la prunelle de mes yeux et que je chérisse du plus profond de mon cœur. Grâce à toi j'ai appris à être ambitieuse et courageuse. Tous les mots de la terre ne suffiront pas à exprimer ma gratitude et mon amour.

À celui qui m'a servie de conseiller, à un homme que j'admire de plus en plus en découvrant à travers l'âge et le savoir son ultime sacrifice physique et matériel, mon cher papa «Boufatah Ahmed». Je te dédie ce travail qui couronne plusieurs années de dur labeur et qui est le fruit de ta confiance et de ton amour. Que dieu te garde pour nous.

À ma chère sœur «Ratiba» et mon frère «Adel.», je vous souhaite de réussir brillamment dans vos études. A tous mes camarades de la promotion Recevez mes sentiments les plus sincères.

Pour toutes les personnes qui ont été toujours près de moi, merci pour vos encouragements, soutient et amour.

SOUMIA

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail
Ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverai jamais à
Leur exprimer mon amour sincère.
A ma précieuse offre de dieu, qui m'a tout le temps soutenu et
Encouragé, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui doit
Ma vie, ma réussite et tout mon respect ; tes conseils sont gravés dans
Ma tête : mon adorable père ALI
A ma douce mère, ma confidente MABROUK MAHDJOUBA, quoi que je fasse
ou que je dise, je ne saurai
Point te remercier comme il se doit ; ton affection me couvre, ta
Bienveillance me guide, ta présence à mes cotés et tes prières ont
Toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.
A mon grand frère MOULOUD, et Mes sœurs, mes amies, HANEN,
DJAMILA, AMINA et MOUNIRA, qui m'avez toujours soutenu et encouragé
durant ces années d'études.
A ma petite sœur INES NOUR EL IMEN, qui sait toujours comment procurer
la joie et Le bonheur pour toute la famille.
A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus
De succès MERIEM, HAFIDA.
Sans oublier mon binôme SOUMIA pour son soutien moral et sa
Compréhension tout au long de ce projet.
A tous ceux que j'aime

Merci

NOUR EL HOUDA

La liste d’Abréviations :

- **ADN :** Acide Désoxyribonucléiques
- **CEN :** Cellules Endothélium
- **CEF :** Cellule Etoilée du foie
- **CK :** Cellule kupffer
- **H2O2 :** Peroxydase d’hydrogène
- **HOCL :** Acide hypochloreux
- **HC :** Horloge Circadien
- **L/D :** Lumière/Dark
- **LL :** Light/Light
- **MO :** Micro Organismes
- **MPO :** Méloperoxydase
- **NK :** Nature Killer
- **NSC :** Noyaux Suprachiasmatiques
- **PNN :** Polymorphonucléaires Neutrophiles
- **PX :** Peroxydase
- **RC :** Rythme Circadien
- **ROS :** Réactive Oxygène Species

La Liste Des Figures :

Figure 1 : Propriétés fondamentales de l'horloge des NSC : entraînement et «libre-cours».
Figure 2 : Schéma d'organisation du système circadien (NSC : noyaux suprachiasmatiques).
Figure 3 : La synchronisation interne du système circadien à partir de l'horloge principale des noyaux suprachiasmatiques (SCN).
Figure 4: Synchronisation externe du système circadien. L'horloge suprachiasmatique (SCN) est essentiellement remise à l'heure par la lumière.
Figure 5 : Anatomie générale du foie.

Figure 6 : Organisation de parenchyme hépatique**.**

Figure 7 : A. Organisation du lobule hépatique.
B. l'organisation histologique du lobule hépatique.
Figure 8: La structure de méyeloperoxydase.
Figure 9: Les activités de méyeloperoxydase.

Figure 10: Rôles de la MPO et de ses dérivés dans l'instabilité des plaques d'athérosclérose.

Figure11 : Photographie de Gerbillus Tarabuli.

Figure 12: Ville de Beni –Abbès, wilaya de Béchar.

Figure 13 : Schéma représentant les cycles de désynchronisation durant les semaines d'expérimentation.

Figure14 : Automate de déshydratation.

Figure 15: Obtention d'un ruban de coupes sur un microtome **(American Optical).**

Figure 16: Réaction d'immunohistochimie indirecte (Complexe Avidine-Biotine-Peroxydase).

Figure 17 : Les différences structurales du parenchyme hépatique entre les gerbilles témoins et désynchronisées.
Figure 18 : Les caractéristiques cellulaires du tissu hépatique les individus ayant subit une désynchronisation.

Figure 19 : Immunomarquage de la myéloperoxydase (MPO) au niveau du foie chez les deux lots de « *Gerbillus tarabuli* » observé au microscope photonique

Figure 20: Effet du cycle nycthéméral déphasé sur l'intensité du marquage de la myéloperoxydase au niveau des cellules hépatiques (les neutrophiles).

Résumé

Les rythmes biologiques se manifestent à tous les niveaux d'organisation des êtres vivants, dont le plus étudié est le rythme circadien, qui a une période d'environ 24h. Ce rythme est la résultante de composantes endogènes et exogènes. Notre étude a ciblé le cycle nycthéméral (12L/12D) chez *Gerbillus tarabuli* qui est modifié par l'allongement de la phase lumineuse (20L/4D) alterné par un cycle standard (12L/12D). Cette perturbation se caractérise par une altération du parenchyme hépatique montrant une dilatation des capillaires sinusoïdes, une prolifération des cellules de Kupffer, une importante infiltration leucocytaire, avec l'installation d'une fibrose hépatique. Cette étude a également révélé une augmentation de l'expression de la myéloperoxydase hépatocytaire (MPO) confirmant la présence et l'activation des neutrophiles. Nous concluons que toutes ces observations expriment une souffrance cellulaire et une baisse de l'activité hépatique

Mots clés : *Gerbillus tarabuli*, rythme circadien, tissu hépatique, myéloperoxydase.

Introduction

Introduction

Le système circadien est constitué d'une horloge principale, localisée dans les noyaux suprachiasmatiques, c'est un chef d'orchestre qui synchronise les horloges secondaires réparties dans l'ensemble du corps.

Tout être vivant possède une horloge circadienne, nécessaire à la régulation d'une multitude de systèmes physiologiques (**Ceriani *et al*., 1999).** En effet, Des horloges secondaires sont présentes dans le cerveau en dehors des noyaux suprachiasmatiques et dans la majorité des organes périphériques **(Challet *et al*., 2009).**

L'horloge biologique circadienne est un système physiologique permettant le contrôle temporel des activités physiologiques de l'organisme. Les concentrations hormonales, les performances cognitives, la puissance musculaire, le cycle veille-sommeil et le métabolisme **(Claude, 2015).**

L'horloge biologique interne est entraînée et synchronisée par la lumière (**Morris *et al*., 1998),** bien que cette horloge puisse fonctionner de façon autonome (c'est-à-dire sans repère temporel) **(Dardente et Cermakian, 2005).**

Cependant, si l'horloge biologique n'est plus en phase avec les signaux extérieurs majeurs il en résulte un dysfonctionnement qui conduit à la désynchronisation du système circadien de l'organisme **(Touitou *et al*., 1997).**

Le foie est un organe important pour maintenir l'homéostasie énergétique d'un organisme. Pour y parvenir, de nombreuses réactions biochimiques exécutées dans cet organe de manière rythmique en coordonnant l'expression temporelle des gènes pour les enzymes métaboliques reposent dans le lien vers le système de chronométrage circadien.

Les processus physiologiques spécifiques à cet organe obéissent à une synchronisation interne permettant un ajustement de ses activités à des moments de la journée utiles pour l'organisme. Le foie utilise ce système pour anticiper les changements récurrents de la fonction systémique et de l'environnement de façon proactive (**Reinke et Asher, 2016**).

Le foie est constitué de plusieurs types cellulaires dont les neutrophiles qui constituent un élément clef de la réponse inflammatoire, les infiltrations leucocytaires nombreuses dans le parenchyme suggèrent une intensification de l'activité des neutrophiles qui se traduit par un apport important en myéloperoxidase (MPO) : enzyme protéolytique responsable de l'acidification du milieu et impliquée dans les réponses inflammatoires des leucocytes polymorphonucléaires. En effet, la MPO est maintenant reconnue comme un marqueur de l'activation des neutrophiles et leurs infiltrations tissulaires **(McConnico *et al*., 1999; Zhang *et al*., 2001; Hoy *et al*., 2002).**

L’objectif de notre étude est d’analyser l’effet de la perturbation du cycle nycthéméral sur l’aspect morphologique de foie et l’intensité d’expression de la myéloperoxydase au niveau du parenchyme hépatique chez un rongeur de désert *« Gerbillus tarabuli »*.

Rappels Bibliographiques

I –Les rythmes biologiques

I-1.Généralités

Tous les organismes vivants ont évolué en réponse aux différents cycles auxquels ils ont été soumis par l'environnement. Mis à part les organismes vivant dans les grandes profondeurs marines ou ceux vivant dans des grottes à l'obscurité complète, tous ont été exposes, durant l'évolution et leur développement à l'alternance jour nuit de 24 heures **(Gronfier, 2009).** Certains organismes ont développé des mécanismes leur permettant de s'adapter aux variations cycliques de la lumière, de la température, de l'humidité, et sans doute de bien d'autres choses encore. Il n'est donc pas étonnant que les rythmes biologiques s'observent chez tous les organismes vivants **(Dunlap *et al*., 2004).**

La rythmicité est une caractéristique essentielle des phénomènes naturels et des êtres vivants. Depuis l'apparition des premiers organismes vivants sur la terre, ces derniers ont dû s'adapter aux cycles naturels tels que l'alternance de la lumière (L) et de l'obscurité (D), l'alternance des périodes de chaud et de froid. En effet, on retrouve l'existence des oscillations temporelles à tous les niveaux de l'évolution du vivant, des organismes unicellulaires aux organismes complexes (animal et végétal) **(Nelson *et al*., 1979 ; Bingham *et al*., 1982).**

Un rythme biologique se définit comme la variation périodique d'une mesure biologique au cours du temps. Cette définition désigne une grande variété de phénomènes biologiques rythmiques, couvrant des périodes allant de quelques millisecondes à plusieurs années et se produisant à l'échelle de différents systèmes biologiques **(Amdaoud, 2007).**

I-2. Le concept des rythmes biologiques

Les rythmes biologiques comptent parmi les propriétés fondamentales de la matière vivante. Les rythmes biologiques ont été observés chez l'homme, dans le monde animal et végétal **(Touitou et Haus, 1992).** Et à tout les niveaux d'organisations : écosystèmes, populations, individus, système d'organes, organe isolés, tissus, cellules et fractions subcellulaires **(Bogdan et Touitou, 2001).**

Les rythmes biologiques peuvent être classés en fonction de leur période **(Goldbeter *et al*., 2010).** On distingue alors :

-Les rythmes nycthéméraux ont une période voisine de 24 heures **(Halberg, 1959).** On parle plus couramment de rythmes **circadiens**.

-Les rythmes **ultradiens** ont une période inférieure à 20 heures et se superposent aux rythmes circadiens.

-Les rythmes **infradiens** ont une période supérieure à 28 heures **(Touitou et Haus, 1992).**

Jusqu'au début des années 1990, les mécanismes moléculaires à la base de ces horloges étaient peu connus. Grâce aux progrès réalisés dans le domaine de la biologie moléculaire et génétique, de nombreuses avancées ont été faites dans la compréhension du fonctionnement moléculaire des horloges de nombreux organismes **(Bell-pederson *et al*., 2005).**

Par ailleurs, quatre rythmes sont couramment nommés « circa- ». Il s'agit de rythmes qui, en conditions naturelles, sont synchronisés par des facteurs environnementaux **(Aschoff, 1981)** :

- le rythme circatidal, synchronisé par les marées,
- le rythme circadien, synchronisé par l'alternance jour/nuit,
- le rythme circalunaire, synchronisé par les phases de la lune,
- le rythme circannuel, synchronisé par les saisons **(Boujard et Leatherland, 1992).**

I-3. Les Rythmes Circadiens

Un les rythmes **circadiens,** du latin **circa** (environ) et **dies** (jour), dont la période est d'environ 24 heures **(Jessica *et al*., 2015)** .

En 1729, Jean-Jacques d'Ortous de Mairan a observé l'ouverture et la fermeture des feuilles de mimosa au cours du jour et de la nuit, même si la plante était en obscurité constante. Cette expérience démontrait qu'un facteur autre que l'environnement de la plante, possiblement un élément interne, pourrait expliquer ce phénomène. Par la suite, les observations des rythmes physiologiques ou comportementaux se sont accumulées au cours des siècles.

Cet études suggèrent une origine endogène des rythmes biologiques **(Aschoff, 1981; Klarsfeld, 2009).** Ce qui prouve l'existence d'une horloge biologique interne ne nécessitante pas de stimuli externes comme une variation périodique de la luminosité.

Tout êtres vivant possède une horloge circadienne, nécessaire à la régulation d'une multitude de systèmes physiologiques, L'horloge centrale des mammifères est située dans les noyaux Suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus antérieur **(Cermakian, 2005).** D'une part le NSC produit plusieurs neuropeptides de manière circadienne et envoie des signaux oscillants à la glande pinéale. Ces horloges physiologiques fonctionnent également en conditions constantes **(Reinberg, 1997).** D'autre part le NSC joue un rôle comme générateur fondamental de la

rythmicité sera également discuté à la lumière de résultats récents et un rôle central du NSC dans la production des rythmes circadiens **(Ralph *et al*., 1990)**.

I.3.1. Les noyaux suprachiasmatiques

Une des caractéristiques fondamentales des rythmes circadiens est leur endogenicité. Le rythme circadien généré par des molécules endogène pacemaker (**Lee *et al*., 2015).** Dans les années 1970, les scientifiques ont cherché à identifier la structure capable de générer les rythmes circadiens. Les travaux expérimentaux ont d'abord démontré que les noyaux Suprachiasmatiques NSC constituaient l'horloge unique de l'organisme **(Moore *et al*., 1972 ; Stephan *et al*.,1972).** Les NSC sont localisés à la base du 3ème ventricule dans l'hypothalamus antérieur au dessus du chiasma optique (d'où leur nom)**.** Ils sont constitués de deux groupes symétriques de neurones d'environ 10 000 chacun **(Moore, 1997; Ko *et al*., 2006; Mohawk *et al*., 2011).** Plusieurs expériences ont montré que les NSC généraient effectivement de nombreux rythmes physiologiques et comportementaux. En effet, La lésion du NSC chez les rongeurs s'accompagne d'une disparition de l'organisation circadienne de l'activité locomotrice **(Gérard et Michel, 1995)** et la destruction complète des NSC abolit les rythmes d'activité-repos **(Figure 1),** de la prise alimentaire, de la température corporelle, et le rythme de la sécrétion de mélatonine **(Stephan *et al*., 1972).** A l'inverse, la greffe de NSC fœtaux à un animal dont les NSC ont été préalablement détruits rétablit les rythmes abolis **(Ralph *et al*., 1990).** Enfin, les neurones de NSC mis en culture peuvent maintenir pendant plusieurs semaines un rythme circadien de leur activité électrique, même en absence d'un synchroniseur **(Welsh *et al*., 1995; Welsh *et al*., 2010).**

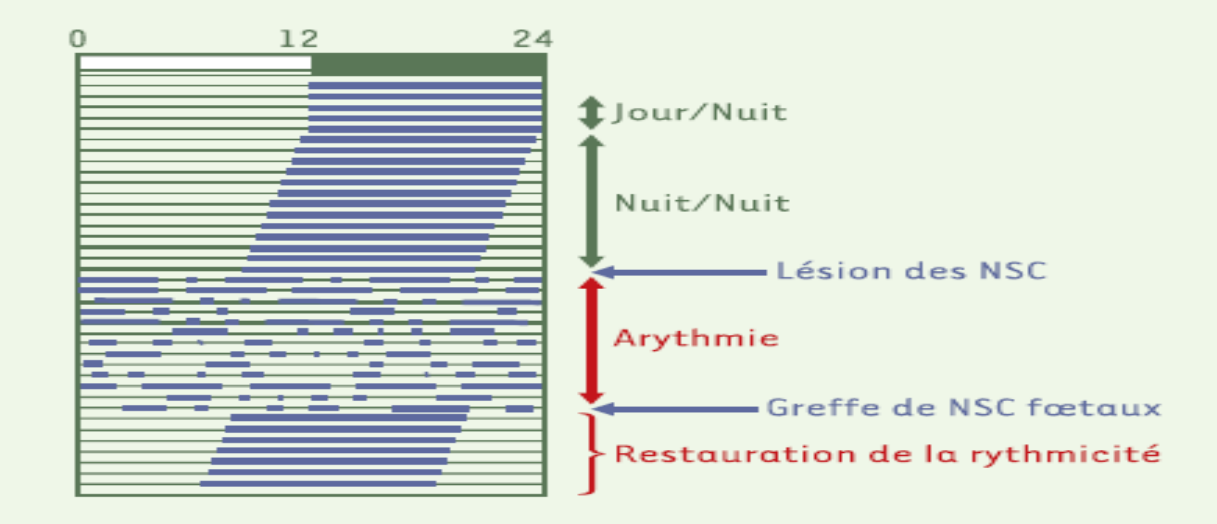


Figure 1 : Propriétés fondamentales de l'horloge des NSC : entraînement et «libre-cours» **(Cermakian, 2005).**

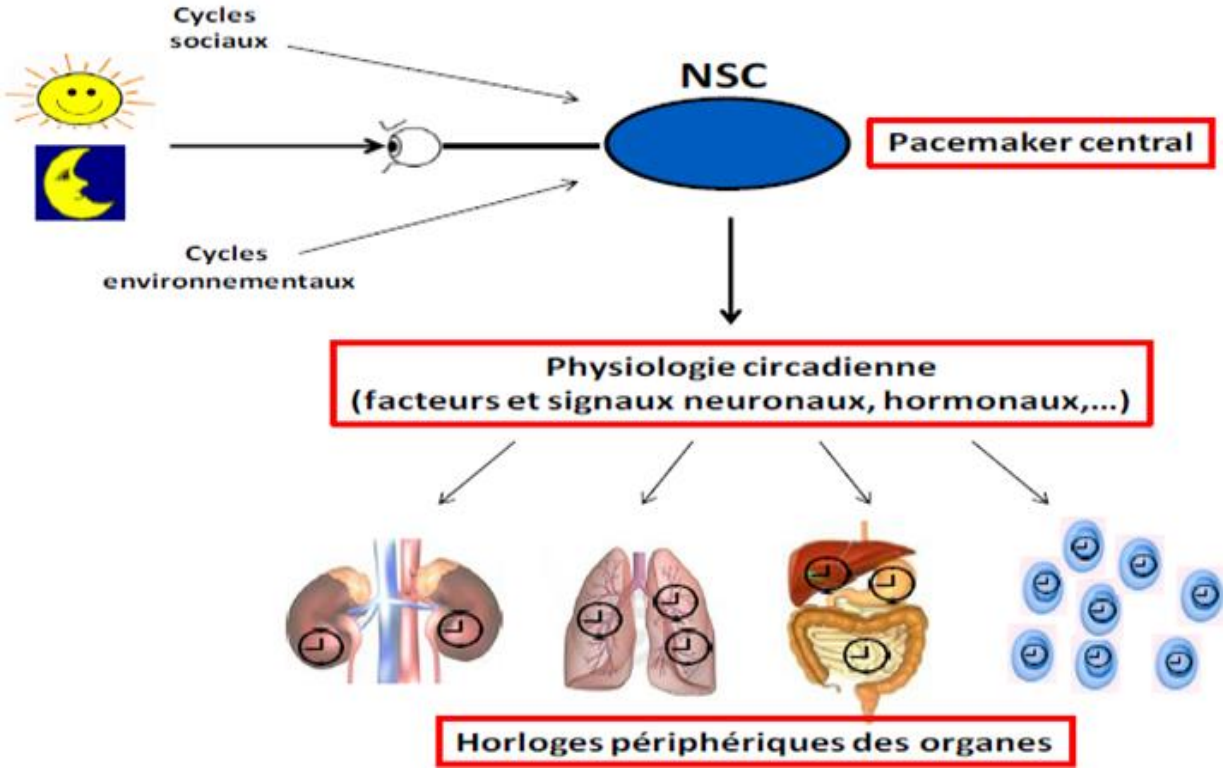


Figure 2 : Schéma d'organisation du système circadien (NSC : noyaux suprachiasmatiques) **(Mteyrek, 2014).**

II. Les Horloge circadiennes

II.1.Les horloges circadiennes périphériques

Les travaux des dix dernière années ont révélé que de nombreuses horloges secondaire sont présentes dans d'autres régions cérébrales que les noyaux Suprachiasmatiques (NSC), ainsi que dans la majorité des tissus périphériques dont le foie et le rein **(Yamazaki *et al*., 2000; Yoo *et al*., 2004).** La quasi-totalité des tissus, les tissus adipeux et le cœur (**Challet, 2009).** Les horloges circadiennes localisées dans les tissus ou organes sont appelées « horloges périphériques »**.** Ces dernières pourraient, en retour, influencer le NSC par des mécanismes de communication inconnus **(Hastings *et al*., 2003).**

L'horloge principale des NSC ajuste la phase des horloges secondaires, localisées dans le cerveau et la plupart des organes périphériques, via des signaux nerveux (système nerveux autonome) et hormonaux (mélatonine et glucocorticoïdes).

II.2. La synchronisation du rythme biologique

Chez l'homme, les neurones des noyaux Suprachiasmatiques (NSC) synthétisent des neurotransmetteurs qui n'ont jamais été mis en évidence dans le (NSC) d'autres espèces (**Moore, 1991).** En situation d'isolement temporel, les rythmes veille -sommeil et de température centrale suivent des périodes très différentes et non obligatoirement circadiennes, le seuil de luminance nécessaire pour les synchroniser étant bien plus élevé que celui qui est habituellement efficace chez les autres espèces diurnes **(Wever, 1986 ; Czeisler *et al*., 1989).**

Les rythmes circadiens RC endogènes sont modulés par les cycles exogènes appelés "synchroniseurs». Dans les conditions naturelles, un être vivant est soumis à l'action de plusieurs synchroniseurs sont les paramètres biochimiques, physiologiques et comportementaux **(Reinberg *et al*., 1991).** Les profils circadiens de production du cortisol et de la mélatonine constituent des bons marqueurs du rythme circadien **(Touitou *et al*., 1984).** Les rythmes de la température corporelle et des productions hormonales se mettent en place, tout comme le rythme veille-sommeil **(Kennaway, 1992).** La seconde fonction de l'horloge interne est de permettre à l'organisme de s'adapter aux modifications d'environnement liées aux alternances de la lumière (L) et de l'obscurité (D) (entre le jour et la nuit). Les cycles lumière-obscurité jouent un rôle essentiel dans la synchronisation des NSC par l'intermédiaire du tractus rétino-hypothalamique, des RC chez l'homme et l'exposition à un pulse lumineux est capable de décaler le pic de production d'une hormone **(Abramson, 2016).** Selon le moment de l'exposition, la phase sera avancée ou retardée **(Touitou *et al*., 1992 et Lemmer *et al*., 1994).**

II.2.1.La synchronisation photiques

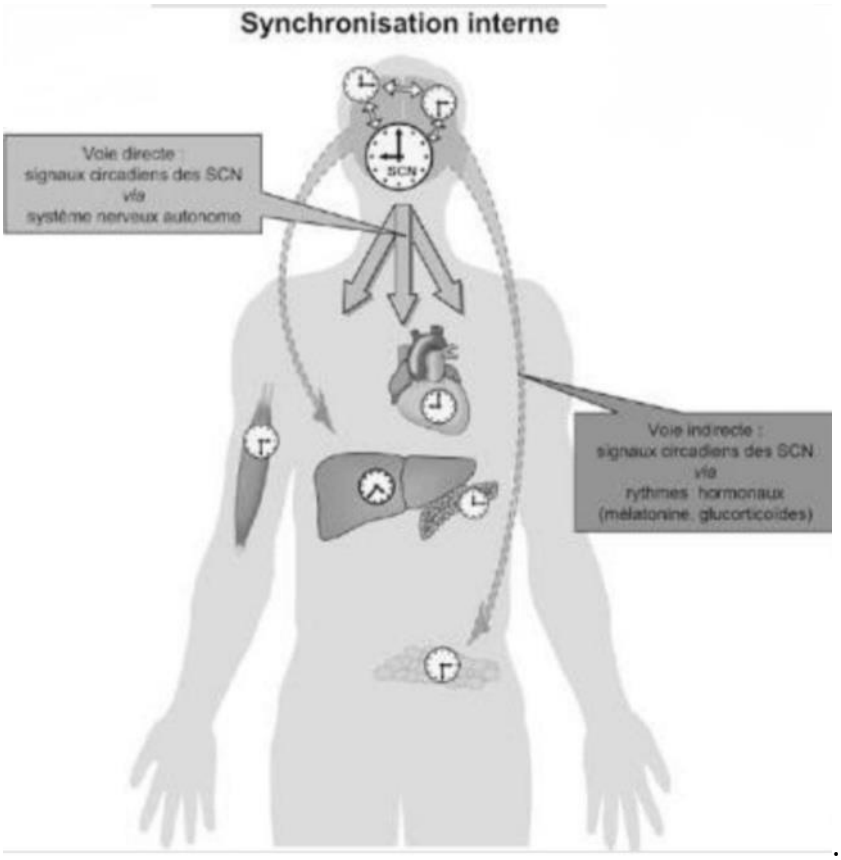
Lorsqu'il est isolé des cycles environnementaux, le corps exprime sa rythmicité endogène, qui peut facilement être détectée dans les comportements de sommeil et de vigilance chez l'homme. Généralement, la vigilance est associée à la phase claire de la journée, tandis que le sommeil est exprimé dans la partie sombre. Dans des conditions où il n'y a pas d'alternance régulière des niveaux de luminosité et d'autres indices temporels, la vigilance et le sommeil ont toujours des manifestations rythmiques. Cependant, ce cycle (sommeil / réveil) ne présente pas une période supplémentaire de 24h exacte. Le corps commence donc à déterminer la durée d'un cycle en utilisant une horloge interne comme orientation, définie comme période endogène. Chez l'homme, la période endogène habituelle des RC est légèrement supérieure à 24 h **(Aschoff, 1960).** Pour cette raison, les individus ont besoin d'indices temporels afin de se synchroniser avec l'environnement qui oscille sur une période de 24 h **(Flávio et Fabiano, 2007).** Le cycle géophysique L / D est le principal responsable de cette synchronisation à travers les voies photiques étant appelé synchroniseur photique, **(Moore *et al*., 1999).** Cet ajustement nécessite que nos rythmes soient quotidiennement avancés à travers un processus appelé drafting. Dans d'autres situations, par exemple, après des vols transméridiens, il est nécessaire qu'un retard dans nos rythmes se produise pour s'adapter à la nouvelle heure locale. Ces retards et avancées qui permettent à l'organisme de s'adapter aux changements réguliers de l'environnement sont appelés dislocations ou altérations de phase.

Le cycle naturel L / D est considéré comme le principal synchroniseur des rythmes circadiens **(Moore *et al*., 1999).** Il existe des photorécepteurs spécifiques situés dans la rétine, probablement les cellules ganglionnaires, qui présentent le pigment de mélanopsine **(Provencio *et al*., 2002).** Ces photorécepteurs reçoivent les informations sur les niveaux de luminosité de l'environnement et les envoient au NSC principalement par la voie rétine-hypothalamus et secondairement par le feuillet inter géniculé **(Menaker, 2003).** Des altérations sont provoquées dans l'horloge biologique principale; le NSC et par des voies efférentes informent d'autres oscillateurs qui sont phases, c'est-à-dire synchronisés avec l'oscillateur central et déclenchent les fonctions de manière rythmique et synchronisée avec l'environnement. Ce processus est appelé synchronisation photique **(Klerman *et al*., 2001).**

II.2.2.La synchronisation non photiques

Il existe d'autres agents de synchronisation en plus du cycle L/D qui influencent également les RC. Parmi eux, on peut citer les horaires de travail et scolaire **(Davidson et Menaker, 2000 ; Louzada, 2002).** Les heures de repas peuvent également provoquer une rédaction de phase

chez les individus **(Yoo *et al.*, 2004 ; Brandstaetter, 2004).** Le processus par lequel la synchronisation se produit dans ces cas est appelé non photique.



:

Figure 3 : La synchronisation interne du système circadien à partir de l'horloge principale des noyaux suprachiasmatiques (SCN). Cette horloge ajuste la phase des horloges secondaire, les localisées dans le cerveau et la plupart des organes périphériques (seule quelques exemples sont représentés ici) via des signaux nerveux (système nerveux autonome) et hormonaux (mélatonine et glucocorticoïdes) **(Challet, 2009).**

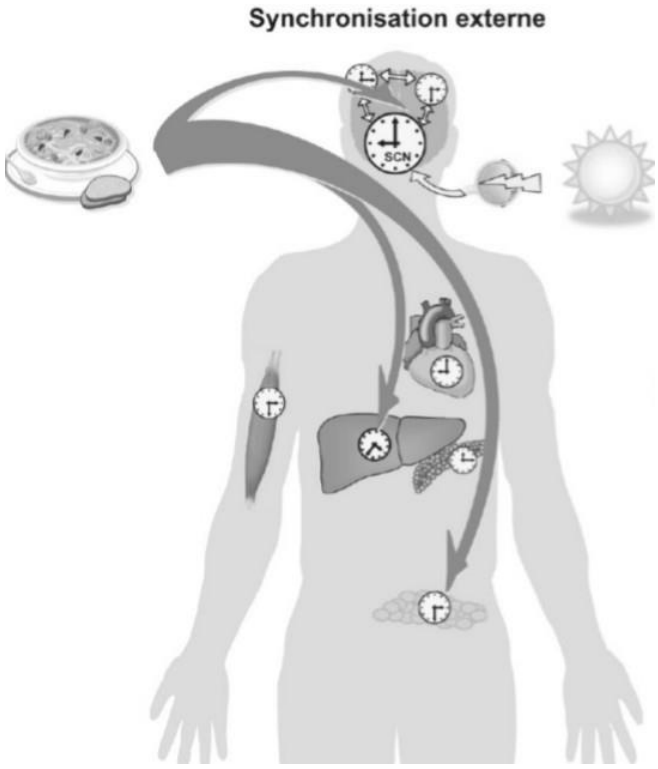


Figure 4: Synchronisation externe du système circadien. L'horloge suprachiasmatique (SCN) est essentiellement remise à l'heure par la lumière **(Challet, 2009).**

II.3.La désynchronisation

Un organisme dont les horloges circadiennes fonctionne en harmonie avec l'environnement, présente une bonne coordination de ses rythmes biologiques. Lorsque le système circadien reste coordonné mais n'est plus en phase avec les cycles de l'environnement qui le synchronisent, on parle d'une désynchronisation circadienne, qui peut se situer à deux niveaux : interne et externe.

II.3.1.La désynchronisation externe

La désynchronisation est dite externe en cas d'altération des rapports usuels de phase avec les cycles de l'environnement. Dans ce cas, les horloges biologiques peuvent marcher à contre-courant avec les cycles de l'environnement.

II.3.2.La désynchronisation interne

La désynchronisation interne ne dépend pas de l'alternance lumière/obscurité et des facteurs environnementaux et sociaux. Il s'agit au contraire d'une altération des relations physiologiques entre les phases de rythmes circadiens qui persistent. Au contraire, la disruption circadienne indique la suppression apparente des rythmes circadiens. Elle peut être provoquée par des modifications internes à l'organisme ou liées l'environnement.

III. La rythmicité du foie

La rythmicité journalière est une particularité commune à de multiples aspects de notre physiologie en général, et de notre métabolisme en particulier. Cette rythmicité apparente, qui se surajoute à la régulation homéostasique, est connue depuis longtemps.

Le foie est un organe important pour maintenir l'homéostasie énergétique de l'organisme. Pour ce faire, de nombreuses réaction biochimiques sont exécutées dans cet organe de façon rythmique **(Schmutz *et al*., 2012),** par exemple, les niveaux d'acides gras plasmatiques non estérifiés ou de glycogène hépatiques présentent des variations journalières marquées **(Fuller *et al* .,1970).**

La principale réaction biochimique dans le foie est probablement la dégradation du glucose en petits carbohydrates et la production de l'énergie par l'intermédiaire du cycle de kreps. s'il y'a une énergie suffisante, l'excès de glucose est stocké sous forme des grains dans le foie **(Schmutz *et al*., 2012).** En raison de la conservation et de la dégradation rythmique du glycogène, la teneur en glycogène hépatiques vrai quotidiennement entre 1% et 10% de la masse totale du fois **(Schmutz *et al*., 2010).**

IV. Rappel anatomiques du foie

Le foie est le plus volumineux organe de l'organisme après la peau **(Lahlaidi, 1986).** D'un poids moyen de 1400 à 1600 g chez l'homme, il mesure une dizaine de centimètres dans sa plus grande hauteur **(Deugnier, 2005).**

L'anatomie morphologique « classique » du foie individualise deux lobes principaux (droit et gauche) **(Castaing et Veilhan, 2006).** Le foie est la plus grosse glande du corps. Il reçoit une vascularisation particulièrement abondante car, en plus d'être irrigué par l'artère hépatique, il est desservi par la veine porte qui lui livre toutes les substances absorbées au niveau de l'intestin, à l'exception des lipides **(Hould, 1983).**

Le foie est un organe central qui assure des fonctions essentielles à l'homéostasie de l'organisme. Il s'agit de fonctions de **synthèse** (de protéines), de **métabolisme** (du glucose), de **dégradation (**de médicaments) et d'**excrétion** (de bilirubine)**.**

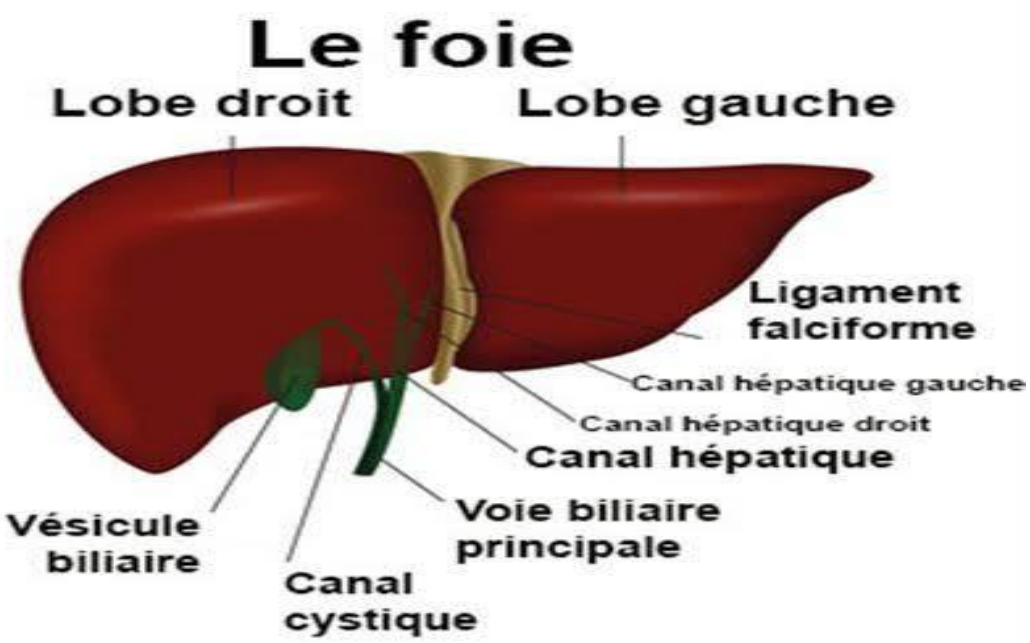


Figure 5 : Anatomie générale du foie **(Hagège, 2005).**

V. Histologie et fonctions hépatiques et biliaires

Le foie est un organe abdominal vital, situé sous le diaphragme et masquant l'estomac**.** Il est entouré par une capsule conjonctive (la capsule de Glisson) et présente un aspect rouge brunâtre. Il est très richement vascularisé, ce qui lui confère cette couleur foncée.

De forme ovoïde, le foie est composé de deux parties appelées lobes : un lobe droit volumineux (représentant 75% du volume) et un lobe gauche plus petit (25% du volume). Chez l'Homme, c'est la plus volumineuse glande de l'organisme qui assure nombreuses fonctions biologiques.

Et Histologiquement, le parenchyme hépatique est constitué de lobules, schématiquement hexagonaux, avec un espace porte à chaque sommet. Les lobules sont centrés par une veine centrolobulaire.

V.1. Les parenchymes hépatiques

Le foie est un organe hétérogène formé de plusieurs types cellulaires. Les cellules épithéliales hépatiques (hépatocytes et cholangiocytes) dérivent des hépatoblastes, d'origine endodermique. Les autres cellules (cellules étoilées, fibroblastes, cellules de Kupffer et cellules endothéliales) ont une origine mésodermique **(Laperche, 2003).**

Le foie adulte est constitué, pour environ 80 %, de travées unicellulaires d'hépatocytes séparées par des capillaires sinusoïdes eux-mêmes bordés par un endothélium fenestré contenant les cellules de Kupffer. Les cellules étoilées sont situées dans l'espace de Disse

entre les sinusoïdes et les travées cellulaires. Le foie est irrigué par l'artère hépatique et la veine porte qui se ramifient en artérioles et veinules pour déverser le sang artériel et portal dans les sinusoïdes convergeant vers la veine centrolobulaire. L'organisation du foie en lobules (unité structurale) résulte de ce réseau vasculaire. Chaque lobule, de forme polygonale, est centré sur une veine centrolobulaire et bordé par des « espaces portes » contenant les ramifications de la veine porte, de l'artère hépatique et des canaux biliaires. La bile est sécrétée par les hépatocytes dans les canalicules biliaires, qui convergent dans les canaux de Hering en périphérie du lobule et drainent la bile vers les canaux biliaires.

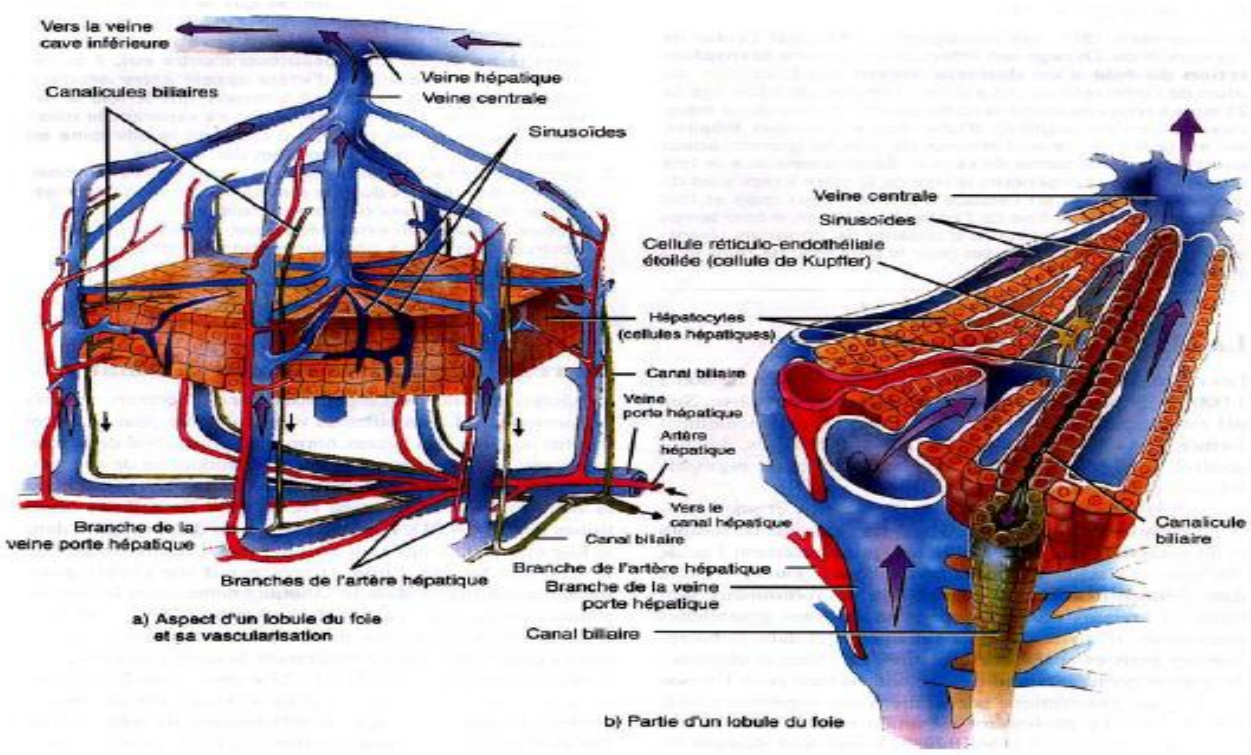


Figure 6 : Organisation du parenchyme hépatique **(Robert, 2016).**

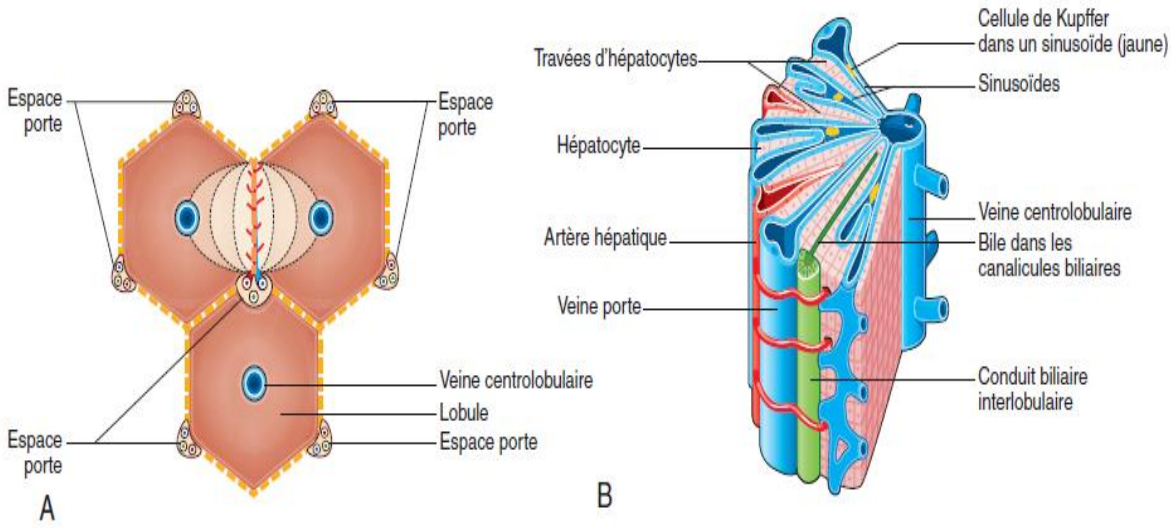


Figure 7 :

A. Organisation structurale du foie: Lobule et acinus **(CDU-HGE, 2014).**

B. Organisation du lobule hépatique.

V.1.1.Les hépatocytes

Les cellules hépatiques ont une durée de vie limitée (de 300 à 500 jours) **(Lambert, 2016).** Les hépatocytes sont empilés et forment des travées comprenant une seule épaisseur de cellules. Ces hépatocyte est au contact avec des capillaires sinusoïdes qui contenant les cellules de Kupffer. Les canalicules biliaires délimitent l'espace entre deux hépatocytes adjacents et les canaux de Hering désignent le passage entre les canalicules biliaires et les canaux biliaires intra hépatiques bordés de cholangiocytes.

Les sinusoïdes bordés par un endothélium fenêtré et discontinu, dépourvus de membrane basale et exprimant des marqueurs spécifiques. Les sinusoïdes transportent un sang d'origine mixte, portal et artériel, et assurent une perfusion unidirectionnelle des lobules hépatiques, de leur périphérie vers leur centre**.** Leur paroi régule les échanges entre les hépatocytes et le sang circulant et assure des fonctions spécifiques. Les sinusoïdes se drainent dans les veines centrolobulaire qui rejoignent, par l'intermédiaire de veines collectrices, les veines sus-hépatiques **(Jean, 2002).**

V.1.2.Les cellules endothéliales

La plupart des cellules endothéliales hépatiques bordent les capillaires sinusoïdes. Ces cellules sont particulières par leur cytoplasme fenêtré et l'absence de membrane basale. Ces deux caractéristiques permettent des échanges faciles entre le sang et les hépatocytes sous-

jacents à la barrière endothéliale ; les cellules endothéliales dérivent du mésenchyme embryonnaire **(Jean, 2002).**

V.1.3.Les cellules de Kupffer

Les cellules de Kupffer ont été décrites pour la première fois en 1876 et portent le nom du pathologiste allemand Karl Wilhelm von Kupffer **(Kupffer ,1876).** Les cellules de Kupffer sont des cellules endothéliales à l'intérieur de la sinusoïde et constituent la plus grande population de cellules immunitaires innées du foie **(Norifumi et Maurizio, 2015).** Ce sont des macrophages qui sont fixés dans les sinusoïdes du foie. Ils sont la source la plus abondante de macrophages fixes de l'organisme **(Thomas, 2011).**

Les cellules de Kupffer présentent une énorme plasticité; en fonction de l'environnement métabolique et immunitaire local **(Dixon *et al*., 2013).**

V.1.4.Les cellules de Ito (appelées également lipocytes ou stellate cells)

Ces cellules sont localisées dans l'espace périsinusoïdal de Disse, entre hépatocytes et cellules endothéliales. Leurs très longs prolongements cytoplasmiques entourent complètement plusieurs capillaires sinusoïdes adjacentes. Dans leur cytoplasme se trouvent des globules lipidiques contenant de la vitamine A. Elles ont occasionnellement des contacts étroits avec les hépatocytes **(Jean, 2002).**

V.1.5.Les cellule natural killer

De connaissance récente, sont des lymphocytes résidents possédant des activités antitumorales de type NK. Ils sont visibles dans la lumière capillaire mais peuvent avoir des prolongements pénétrant la barrière endothéliale **(Jean, 2002).**

V.1.6.Les cellules ovales

Il est maintenant admis que les cellules ovales dérivent de précurseurs intra hépatiques localisés au niveau des canaux de Hering; une origine médullaire a également été suggérée. Ces cellules sont au contact des hépatocytes à l'extrémité des travées et forment avec les cellules biliaires la paroi des canaux de Hering assurant la jonction entre les canalicules et les ductules biliaires **(Theise *et al*., 1999).** Cette localisation particulière, au contact des hépatocytes et des cellules biliaires, constituerait une « niche » permettant le maintien de cellules souches hépatiques à l'état de « vestiges embryonnaires » dans le foie adulte.

Une origine extrahépatique des cellules ovales a également été rapportée chez des rats qui, ayant reçu une greffe de moelle osseuse, ont été soumis à un protocole induisant une régénération hépatique.

V.2.Vascularisation hépatiques

La vascularisation est également indiquée: le sang pénètre par une branche de la veine porte et de l'artère hépatique, se répartit dans les sinusoïdes qui se jettent dans la veine centrolobulaire. L'agrandissement détaille l'organisation du canal de Hering. Les cellules faisant la jonction entre les hépatocytes situés à l'extrémité des travées et les cholangiocytes sont peut-être les cellules souches quiescentes à l'origine des cellules ovales. Le foie reçoit deux principaux vaisseaux : la veine porte et l'artère hépatique.

V.2.1.La veine porte

La veine porte est une grosse veine (mesurant un peu plus de sept centimètres de long) qui apporte au foie le sang provenant des intestins, riche en produits nutritifs résultant de la digestion. Parallèlement, l'apport en oxygène est assuré par l'artère hépatique. Dans le foie, la veine porte se ramifie en un réseau de capillaires. Tout le sang veineux du foie, chargé des déchets, est drainé ensuite par les veines sus- hépatiques qui ramènent le sang à la veine cave inférieure. Les veines du foie sont relativement larges pour pouvoir recevoir la grande quantité de sang qui circule dans cet organe. Le foie reçoit 28 % du débit sanguin cardiaque, soit l'équivalent de 1,4 litres de sang qui circule en une minute dans le corps humain d'un adulte moyen au repos **(Glossaire, 2018).**

V.2.2.Les Artères hépatiques

Les artères hépatiques sont en fait au nombre de deux : l'artère hépatique commune et l'artère hépatique propre. L'artère hépatique commune prend naissance de l'aorte au niveau du tronc cœliaque c'est à de la douzième vertèbre dorsale. L'artère hépatique propre prend naissance de l'artère hépatique commune**.** Ce sont des artères de l'abdomen destinées à l'apport de sang oxygéné au foie. Elles se situent dans la région de l'épigastre et de l'hypochondre droit. Elles irriguent aussi en partie l'estomac, le duodénum, le pancréas et le péritoine dans sa partie haute **(Taboola, 1978).**

V.3. Les fonctions hépatiques

Le sang de la veine porte parvient au foie chargé de très nombreuses substances issues de la digestion ou de l'activité des organes du système digestif **(Claire *et al*., 2014).** Ces molécules sont absorbées par les cellules du foie qui sont dotées d'enzymes spécifiques et permettent leur transformation chimique. Ces modifications effectuées par le foie sont vitales pour l'organisme; elles ont pour objectifs principaux :

- le stockage et la répartition des nutriments issus de la digestion.
- la dégradation des substances toxiques.

- la synthèse de la plupart des protéines du sang.
- la production de la bile.

V.3.1.Métabolisme des glucides et lipides

Les glucides (glucose : Le foie métabolise 25 à 30 % du glucose absorbé lors des repas pour l'oxyder, fructose et galactose) sont transformés en glycogènes et stockés au sein des hépatocytes. En fonction des besoins de l'organisme, le foie dégrade ensuite ce glycogène en glucose, et le libère dans la circulation sanguine. Si les réserves de glycogène sont épuisées, les cellules hépatiques peuvent aussi synthétiser du glucose à partir d'acides aminés glucoformateurs. Notamment, On parle alors de néo-glycogénèse **(Claire et Jean, 2014).**

Les lipides parvenant au foie sont transformés en triglycérides et stockés dans les cellules hépatiques. En réponse aux besoins énergétiques du corps, ces triglycérides peuvent être ensuite divisés en acides gras et utilisés, c'est une réaction d'hydrolyse.

V.3.2.Détoxification

Certaines substances qui arrivent au foie sont toxiques pour l'organisme : le rôle du foie est de dégrader ces substances en produits non-toxiques. Les produits liposolubles sont ensuite reversés dans la bile, puis dans l'intestin, et éliminés dans les selles. Les produits hydrosolubles sont reversés dans le sang, qui les mène jusqu'aux reins : ils sont éliminés par les urines **(Claire et Jean ,2014).**

Ainsi, l'ammoniaque, qui est naturellement produite par le colon lors de la décomposition du contenu digestif, possède une forte toxicité neurologique. Menée au foie par la veine porte, celle-ci est dégradée par les cellules hépatiques en urée, puis éliminée dans les urines **(Claire *et al*., 2014).**

V.3.3. Synthèse d'énergie

Tout ce qu'il reçoit lui vient de deux origines : l'artère hépatique quiète la veine porte. Le foie est le seul organe avec le poumon qui reçoive du sang veineux. Tous les autres organes ne fonctionnent qu'avec du sang artériel.

La veine porte apporte les nutriments absorbés par l'intestin aux cellules du foie qu'on appelle les hépatocytes. Ceux-ci vont transformer immédiatement ces substances en énergie ou en produits dérivés ».

V.3.4.Fonction de stockage

Le foie a une fonction de stockage telles que le fer, le cuivre et les vitamines lipophiles (vitamines A, D, E et K **(Gandillet, 2004)** et le sucre comme le glucose: lorsque le glucose est en excès dans le sang (hyperglycémie) suite à un repas par exemple, le pancréas sécrète de

l'insuline qui ordonne au foie de capter et stocker ce glucose sous forme de glycogène. Cela permet de ramener la glycémie à un niveau normal. Dans la situation inverse, lorsque le niveau de glucose est trop faible dans le sang (hypoglycémie), le pancréas sécrète du glucagon qui ordonne au foie de libérer le glucose qu'il a stocké afin de ramener la glycémie à un niveau normal **(Dauvillier, 2017).** D'où l'intérêt qu'ils soient stockés sous forme de glycogène, sorte de sucre géant et compacté.

V.3.5. Formation et dégradation de l'hémoglobine

Le foie joue aussi un rôle essentiel dans le cycle de décomposition de l'hémoglobine. Les globules rouges ont une durée de vie d'environ 120 jours. À l'issue de cette période, ils sont détruits dans la rate, où la dégradation de l'hémoglobine produit de la bilirubine libre. La bilirubine libre est toxique et peut être nocive; elle possède une couleur jaune caractéristique. Elle parvient au foie par voie sanguine et y est transformée en bilirubine conjuguée, non toxique. Celle-ci est ensuite déversée dans la bile, dont elle est un des composants majeurs : c'est elle qui est responsable de la couleur jaunâtre de la bile et, lors de son évacuation par l'intestin, donne la couleur jaune / marron des selles **(Claire *et al*., 2014).**

V.3.6.Formation de la bile

Les cellules du foie secrètent de la bile de façon continue qui contient de la bilirubine, des acides biliaires, du cholestérol, de la lécithine et de nombreux autres composants. Les acides biliaires et d'autres composants de la bile interviennent dans la digestion des graisses qui se déroule dans l'intestin grêle. La bile a aussi pour fonction de transporter jusqu'à l'intestin les produits liposolubles à éliminer après leur passage dans le foie **(Claire *et al*, 2014).**

La bile sert à éliminer de l'organisme la bilirubine, produit de dégradation de l'hémoglobine. D'autre part elle est indispensable à la formation des graisses qui arrivent dans le duodénum. La bile joue donc aussi ce rôle d'émulsifiant : elle se lie aux graisses et ainsi les rend absorbables par les intestins, d'abord elle facilite la dégradation des graisses dans le duodénum.

VI. La Myéloperoxydase (MPO)

La MPO est une protéine précurseur de 75 à 80 kDa et une peroxydase hémique (EC 1.11.1.7) est le produit du gène situé sur le bras long du chromosome 17 q23.1, mesure environ 11 kb et se compose de 11 introns et 12 exons (**Van der Veen *et al*., 2009**). L'enzyme est présente en concentrations importantes dans les granules primaires des cellules polynucléaires neutrophiles (PNNs) **(Kisic *et al*., 2016)**. Elle est largement utilisée comme un marqueur biochimique pour l'infiltration des neutrophiles **(Li *et al*., 2015).**

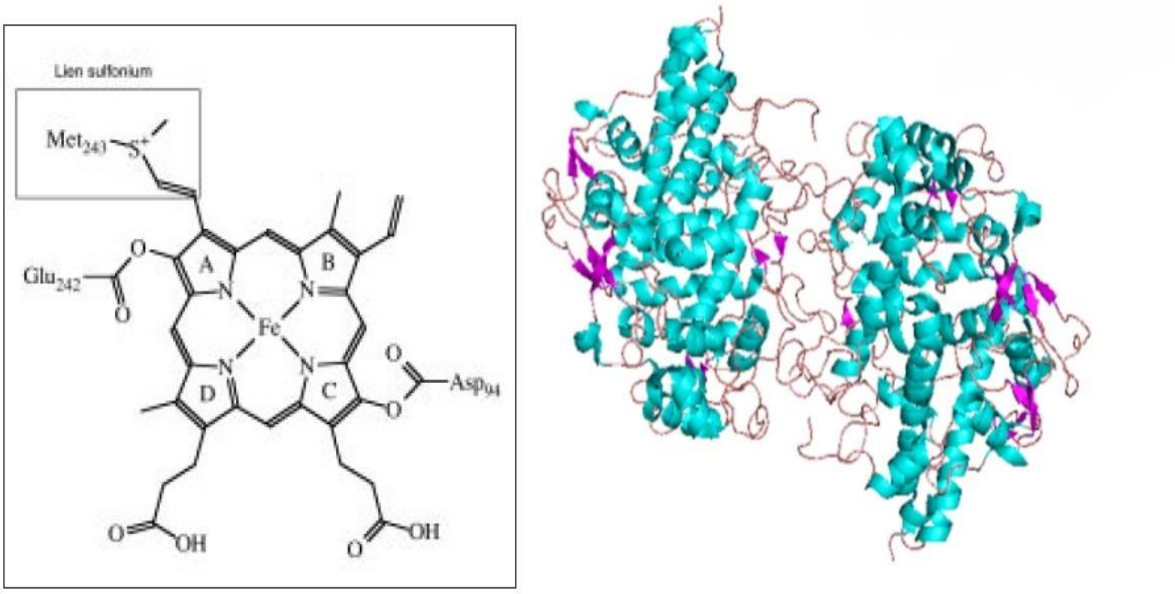


Figure 8: Structure de myéloperoxydase **(Serteyn *et al*, 2003).**

VI.1.Le Rôle de MPO

La (MPO) est une peroxydase contenant de l'hème exprimée principalement dans les neutrophiles et à un moindre degré dans les monocytes. En présence de peroxyde d'hydrogène et d'halogénures, le MPO catalyse la formation d'intermédiaires réactifs de l'oxygène, y compris l'acide hypochloreux (HOCl).

Le système MPO / HOCl joue un rôle important dans la destruction microbienne par les neutrophiles. De plus, le MPO s'est révélé être un médiateur local des lésions tissulaires et de l'inflammation qui en résulte dans diverses maladies inflammatoires. Ces résultats ont impliqué MPO comme une cible thérapeutique importante dans le traitement des conditions inflammatoires. Contrairement à ses effets nocifs sur les sites d'inflammation, des études récentes utilisant des modèles animaux de diverses maladies inflammatoires ont démontré que la carence en MPO entraîne l'exagération de la réponse inflammatoire, et qu'il affecte les fonctions des neutrophiles, y compris la production de cytokines. Compte tenu de ces divers effets, un intérêt croissant a émergé pour le rôle de cette enzyme bien étudiée dans la santé et la maladie **(Aratani, 2018)**

La MPO joue un rôle majeur dans l'atténuation des lésions tissulaires collatérales lors d'attaques antimicrobiennes oxydantes, en convertissant H_2O_2 en HOCl hautement réactif, microbicide et localement confiné au phagosome. L'augmentation des dommages oxydatifs pendant les infections chez les patients déficients en MPO pourrait avoir des conséquences néfastes cumulatives au cours de la vie d'un individu. Si ces dommages se répètent, ils

pourraient contribuer à l'émergence de différentes maladies, comme les maladies neurodégénératives et le cancer dans le cas d'une carence totale en MPO **(Lanza, 1998).**

VI.2.Activité enzymatique de la MPO

MPO est contient deux groupes hème-prothétique et est une peroxydase unique (le peroxyde d'hydrogène comme substrat) qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène (H2O2) et du chlorure (Cl) en acide hypochloreux (HOCl) **(Anthony *et al*., 1994).**

La MPO sous forme pro-MPO et MPO mature exerce une activité de peroxydase et une activité de chloration **(Jungbluth, 2008).** Ces deux activités complexes sont indissociables car elles sont à l'origine de composés intermédiaires communs.

VI.2.1. Activité de chloration

L'enzyme native (MPO-Fe(III)) peut être oxydée en son composé I (Cd I), ce dernier est une MPO qui porte un radical libre sur un acide aminé de la chaîne protéique ce qui lui confère une grande capacité oxydante. Cependant, il réagit avec l'ion chlorure (Cl) pour former l'acide hypochloreux (HOCl) et ainsi restituer l'enzyme native MPO-Fe(III) **(Jungbluth, 2008).**

VI.2.2. Activité de peroxydase

Les peroxydases sont des protéines a hème, capable de catalyser l'oxydation d'une grande variante de substrats, en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène **(Challet *et al*., 2004).**

Le Cd I peut également réagir avec divers substrats réducteurs (notés DH) **(Serteyn *et al*, 2003).** Il forme alors une espèce radicalaire D.et le composé II (Cd II). Ce dernier n'a plus de radical contrairement au Cd I. Le retour à l'état de MPO native se fait alors grâce à l'oxydation d'une nouvelle molécule de DH. Il y a donc production d'une autre molécule D. rapporte une conversion du composé II en MPO native par l'anion superoxyde **(Serteyn *et al*., 2003).**

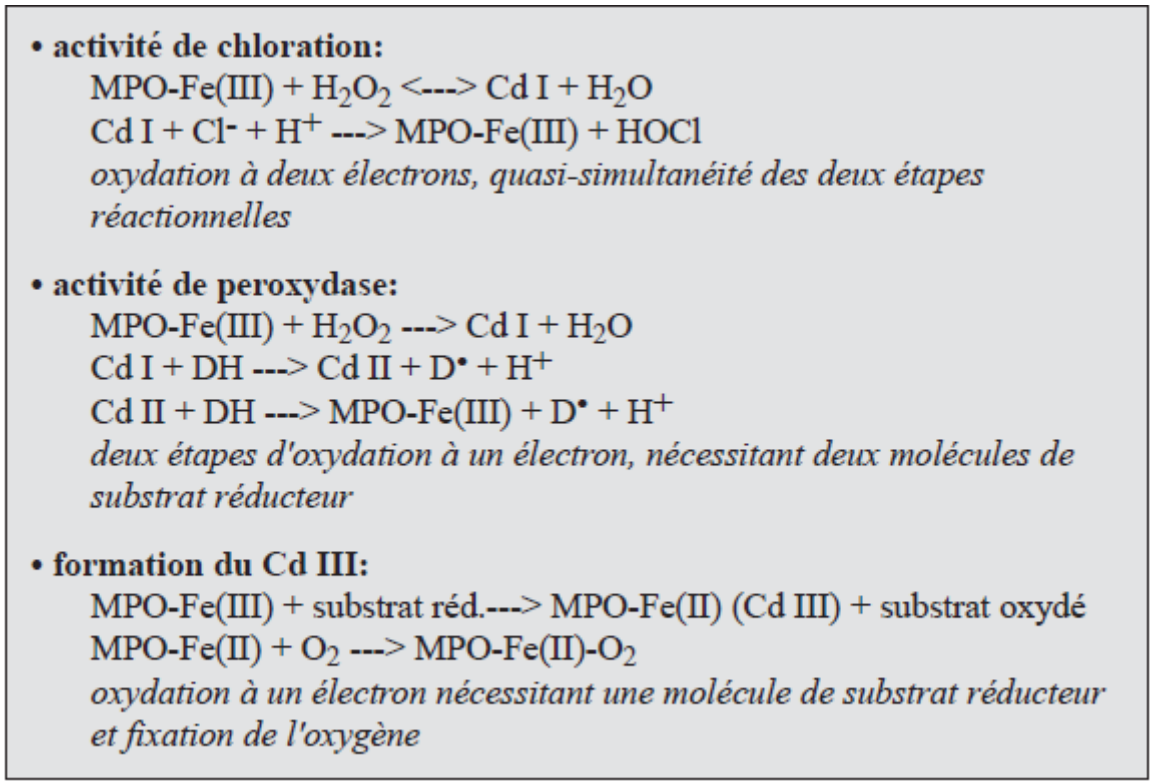


Figure 9: Les activités de myéloperoxydase **(Serteyn *et al*, 2003).**

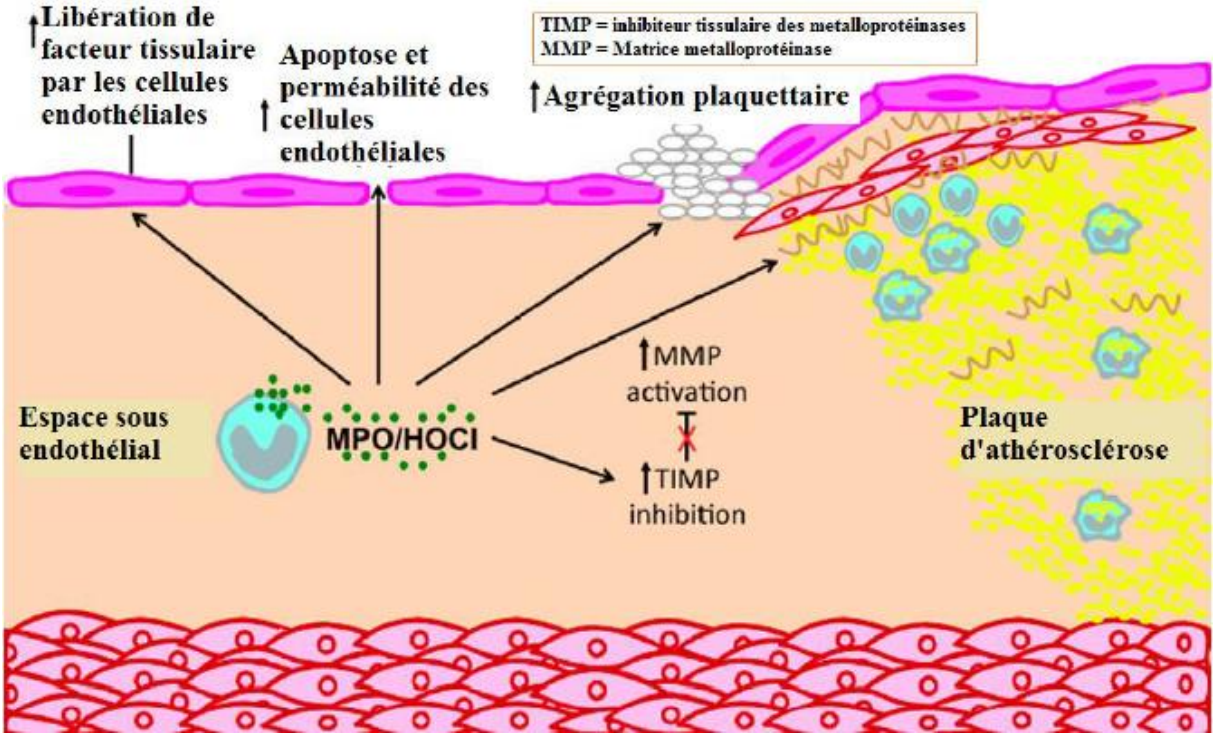


Figure 10: Rôles de la MPO et de ses dérivés dans l'instabilité des plaques d'athérosclérose **(D'après Teng *et al.*, 2017).**

Matériel et méthodes

I- Modèle biologique

Le modèle de choix pour notre étude, est un rongeur nocturne déserticole : *Gerbillus tarabuli***),** appartenant à la famille des Muridae.

Les gerbilles sont largement distribuées dans tout le nord de l'Afrique du Maroc à la Lybie, et de la Mauritanie au Tchad, et leur présence au Sénégal est considérée comme un indicateur de désertification du milieu **(Grajon el al, 1990)**.

Les animaux utilisés dans notre étude proviennent de la région de Beni-Abbès, Wilaya de Bechar 30°7 latitude nord et 2°10 longitude ouest. Cette région est caractérisée par un climat désertique, chaud et aride avec une température annuelle moyenne de 23 °C, une pluviométrie rare et irrégulière et un taux d'humidité faible.

Gerbillus tarabuli, peut survivre sur un régime sec et être indépendant de l'eau exogène, ***(*Petter ,1961)**, Elle est marquée par un manque de glandes sudoripares, l'excrétion d'une urine très concentrée et une production significative d'eau métabolique **(Berre et al, 1990)**.

Gerbillus tarabuli présente une corrélation hautement significative positive avec les facteurs thermiques. Ce résultat indique que cette espèce est thermophile **(Djelaila et al, 2010)**. Elle rentre en activité sexuelle au début de l'hiver, les naissances passent par un maximum au printemps, régressent en été et son réduites en automne **(Amirat et al, 1977).**

Cette espèce se nourrit de grains, de fruits (dattes), de feuilles, de tige et d'insectes elle creuse son terrier dans du sable, sur le flanc d'une dune, a pied d'un palmier, et prés d'un buisson **(Petter, 1961).** La gerbille à un mode de vie nocturne, restant tous le jour dans leur terrier ou l'air est saturé en humidité, elle sort pendant la nuit, quand le degré hygrométrique extérieur est le plus élevé **(Poulet, 2004).**



Figure 11 : photographie de *Gerbillus tarabuli.*



Figure 12 : Ville de Beni-Abbèse, Wilaya de Béchar.

- ✓ **Position systématiques de l'animal (GRAY, 1825).**

Rène : Animalia

Sous-rène : Metazo

Super embranchement : Deuterostomia

Embranchement : Chortbrata

Classe : Mammalia

Sous-classe : Theria

Infra –classe : Eutheria

Ordre : Rodenta

Sous-ordre : Myomorpha

Famille : Muridae

Sous –famille : Gerbillidae

Genre : Gerbillus

Espèce : tarabuli

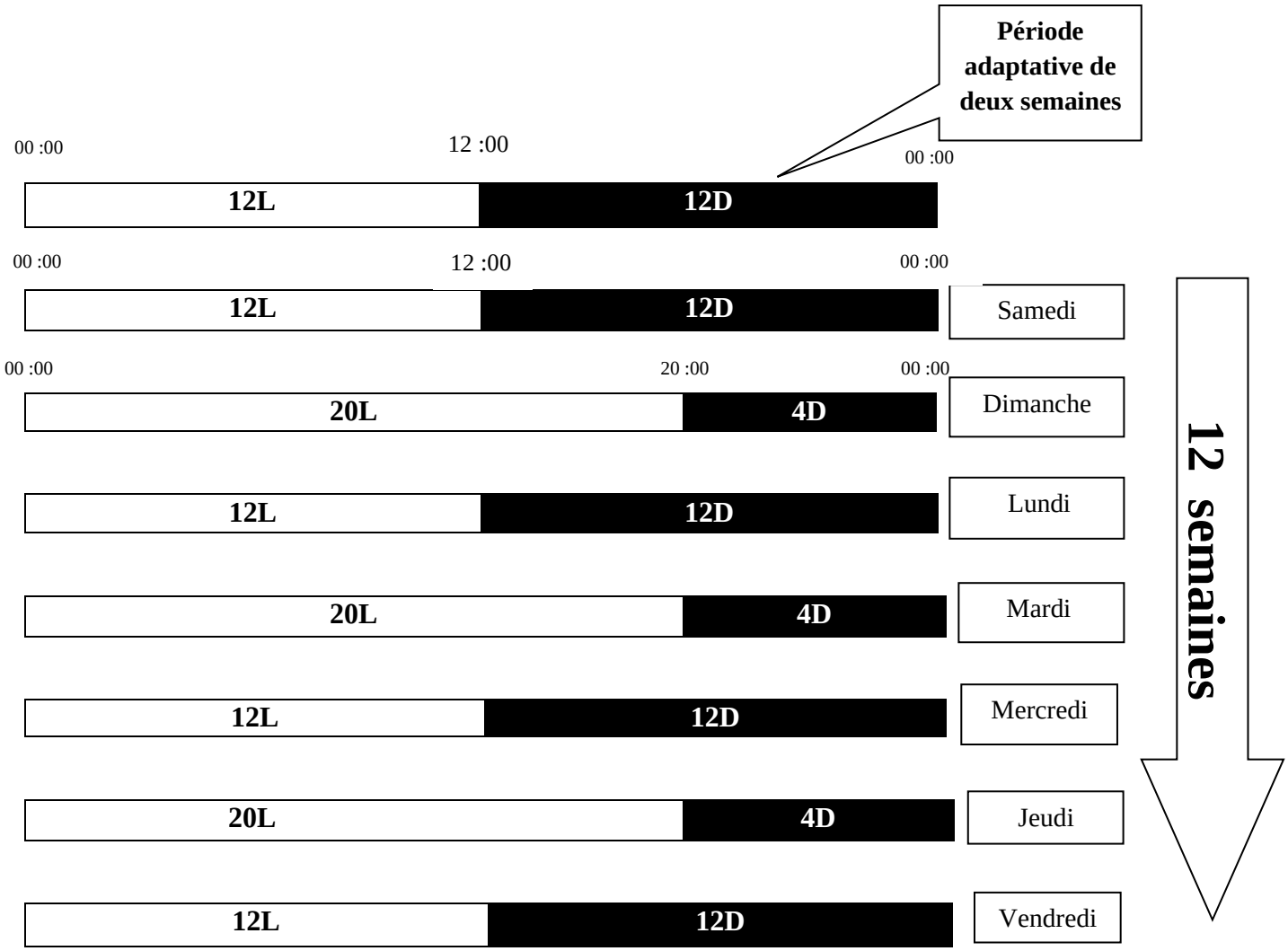
II - Conditionnement des animaux

Des gerbilles de sexe male et femelle n = 20 et d'un poids corporel moyen de 42 g ont été gardées au niveau de l'animalerie et logées dans des cages individuelles et maintenues à une photopériode standard, 12 h lumière /12h obscurité (12 L/12D), la température est de 22 ± 2°C, avec un accès libre à une nourriture constituée de grains d'orge et sans eau de boisson.

Après la période d'acclimatation, les animaux ont été séparés en deux lots et placés dans une chambre chronobiotique :

- Lot témoin (n=10) soumis à un cycle nycthéméral standard (12L/12D).
- Lot désynchronisé (n=10) soumis à une perturbation chronique du cycle lumière-obscurité, en alternant un cycle standard (LD de 12:12) par un cycle perturbé (LD de 20:4) pendant 12 semaines **(Figure 13).**

➢ La désynchronisation choisie a été réglée à l'aide d'une minuterie**.**



12D /12L : Cycle nycthéméral standard.

4D/20D : Cycle désynchronisé.

Figure 13: Schéma représentant les cycles de désynchronisation appliqués durant les semaines d'expérimentation.

III- Techniques histologiques et immunohistochimiques

- ✓ **Dissection de l'animal**

D'abord, on réalise une incision au niveau de l'abdomen et afin de permettre l'accès à la cage thoracique, on sectionne le diaphragme. Une section latérale des cotes à gauche et à droite de ligne médiane est ensuite pratiquée, ce qui va permettre de soulever la cage thoracique et libérer le cœur.

Pour éviter la coagulation, une perfusion intracardiaque débute par une solution d'héparine à raison de 0.125 ml suivie du liquide fixateur. Cette étape est réalisée par l'introduction de l'aiguille du système de perfusion au niveau du ventricule gauche ce qui entraine le fixateur dans la circulation général et l'amène vers tous les organes (foie, cerveau, reins ...), une fente de l'oreillette droite est pratiqué afin d'évité l'éclatement des organes par la surcharge du fixateur.

La perfusion a été réalisée avec un volume total de fixateur d'environ 150ml/ animal et à un débit d'une goutte/seconde pendant 15minutes.

III.1. Prélèvement tissulaire

A la fin des 12 semaines d'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés, Les sacrifices ont toujours eu lieu entre 9h et 12h du matin. Les prélèvements tissulaires ont porté sur le foie.

Les autres organes (cœur, pancréas, rate, muscle et reins) ont été prélevés et fixés pour des travaux ultérieurs.

III.2. Fixation

Une fois prélevé, le foie est fixé dans des fixateurs adéquats en vue d'un examen morphologique et immunohistochimique :

- Le Bouin aqueux pour l'étude topographique **(Annexe 01).**
- Le Paraformaldéhyde à 4% pour l'analyse immunohistochimique **(Annexe 02).**

III.3. Préparation des coupes

Afin d'étudier l'aspect histologique et immunohistochimique comparé du foie chez les deux groupes de gerbilles (témoin, et traitées), des coupes histologiques à paraffine ont été

réalisées. La confection de ces coupes à paraffine comporte plusieurs étapes **(Martoja et martoja-pierson, 1967).**

III.3.1. Déshydratation

Cette opération consiste à supprimer toute l'eau contenue dans l'organe. Elle se fait progressivement en passant l'organe dans des bains d'alcool à degrés croissant (70°, 95°, 100°) pendant 20 min chacun, les pièces sont ensuite maintenues dans un liquide d'attente : le butanol : 3 bains pendant 8h chacun, avant de procéder à leur imprégnation.



Figure 14 : Automate de la déshydratation.

III.3.2. Imprégnation

Elle se fait dans 3 bains successifs de 2 heures chacun. Le premier bain est composé d'un mélange égal de butanol-paraffine. Le deuxième et le troisième renferment de la paraffine pure.

III.3.3. Inclusion

Les organes ainsi traités sont inclus dans de la paraffine pure, elle se pratique dans des cassettes et la paraffine fondue sera versée, lorsque la paraffine commence à durcir sur les bordures, on saisit l'organe avec une pince chauffée au bec Bünsen, et on la plonge dans la paraffine encore molle.

III.3.4. Confection des coupes et collage La cassette est collée sur le porte-objet qui est fixé sur le microtome**,** de façon à ce que les arêtes de face soient parallèles au fil du rasoir. Des

coupes de 4 à 7 µm d'épaisseur sont récoltées sous forme d'un ruban, ensuite étalées sur des lames à l'aide de l'eau gélatine **(Annexe 3).**



Figure15: Obtention d'un ruban de coupes sur le microtome **(Leica RM2235V1.3Nussloch).**

III.3.5. Coloration topographique :

Pour l'étude morphologique, le foie est coloré au Trichrome de Masson **(Annexe 4) (Martoja et Martoja-Pierson, 1967)** qui révèle le cytoplasme en rose, les fibres de collagène en vert et les noyaux en brun.

Après coloration, les coupes ont été déshydratées puis montées entre lame et lamelle à l'aide de l'Eukitt.

L'observation des coupes est faite au microscope photonique (Zeiss Axoplan). Les photos ont été prises avec un appareil numérique (HIROCAM Digital Microscope Eyepiece ; High Résolution Optics Camera, MA88-500 ,5.0Megapixel) adapté à ce dernier et sont par la suite analysées et évaluées.

IV. Technique immunohistochimie

- **Principe**

Les techniques d'immunohistochimiques reposent sur la détection et la localisation, sur tissus, molécules endogènes, par utilisation d'anticorps primaires spécifiques (Ac I^{aire}). La mise en évidence des réactions immunes se fait par utilisation d'anticorps secondaire (Ac II^{aire}) dirigés contre les immunoglobulines de l'espèce ayant produit les premiers Ac. L'Ac II ^{aire} est couplé à un marqueur qui le rend détectable et qui permet de visualiser le complexe Ag-Ac I^{aire} **(Genton, 2006).** Dans notre étude, l'Ac II^{aire} utilisé est couplé à une enzyme : la péroxydase.

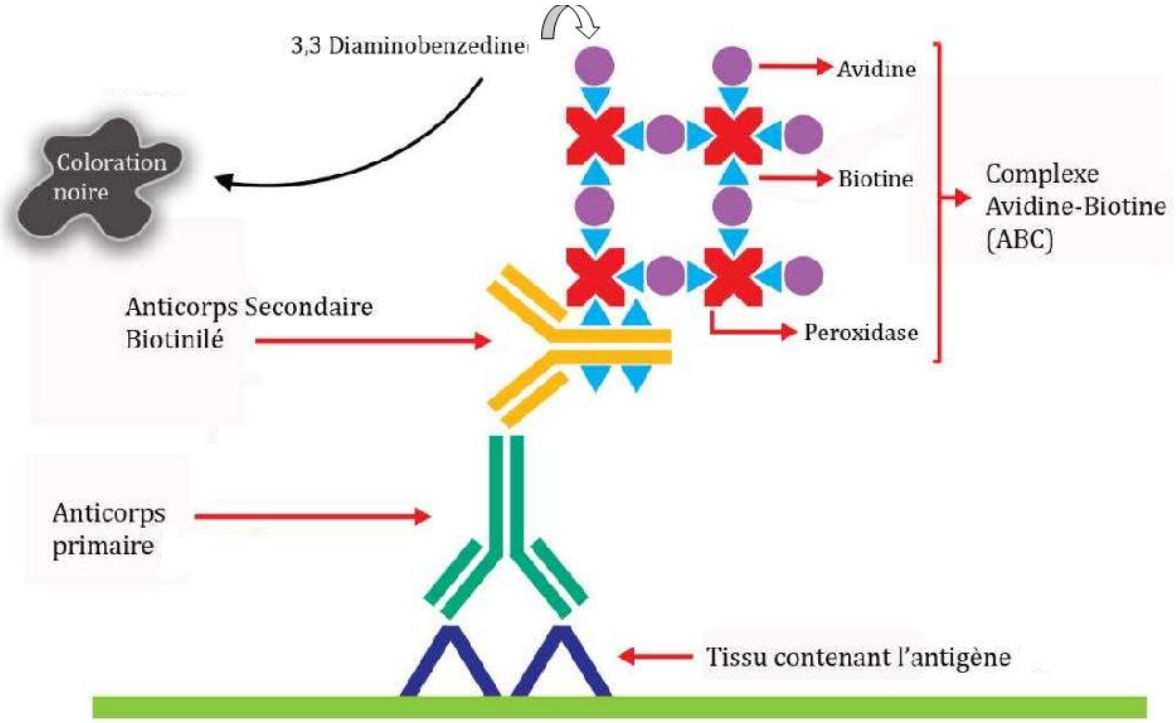


Figure 16: Réaction d'immunohistochimie indirecte (Complexe Avidine-Biotine-Peroxydase).

La méthode indirecte a été mise au point pour palier au problème de la faible intensité du signal de la méthode directe. L'anticorps primaire se lie à l'antigène, puis un anticorps secondaire (marqué) se lie à l'anticorps primaire. Le signal est amplifié du fait que plusieurs anticorps secondaires sont liés à un anticorps primaire unique. Autre avantage de cette méthode : un seul anticorps marqué est nécessaire pour différentes substances cibles, ce qui permet de réduire les coûts. Son inconvénient vient du fait que les liaisons non spécifiques sont plus fréquentes qu'avec la méthode directe.

- **Etapes de l'immunoistochimie**

Déparaffinage et hydratation : les coupes du foie ont subi un déparaffinage dans un bain de xylène (15 min) puis hydratées en passant dans des bains d'éthanol à concentration décroissante (100°, 90°, 70°) de 10 min chacun, puis dans l'eau distillée.

Démasquage antigénique

Les lames sont placées dans un bac rempli de 250 ml de tampon citrate (pH=7.4), chauffées à 95 C° pendant 25 min puis laissées refroidir pendant 20 min à température ambiante.

Rinçage : les coupes sont rincées par deux immersions successives de 5min chacun par le PBS (0.1M) **(Annexe5).** Avant l'incubation avec les anticorps primaires, il faut égoutter et essuyer autour des coupes.

Cerclage des coupes au stylo DakoPen.

L'immunomarquage est réalisé à température ambiante, en plusieurs étapes :

- Perméabilisation des membranes par PBS tween 0.05 M pendant 15 min.
- Blocage des sites non spécifiques par une solution de blocage ou BSA (Bovin Serum Albumin), puis lavées au PBS (3x5 min).
- Après les coupes sont incubées pendants 15 min dans l'eau oxygénée (H_2O_2) pour inhiber l'activité péroxydasique endogène
- Incubation avec l'Ac I^{aire} (polyclonal rabbit anti-human MPO ready-to-use (prediluted primary antibody, Dako code IR511) pendant une nuit. Les lames sont placées dans une chambre humide et conservées à + 4°C.
- Après rinçage au PBS tween (0.1M) (3x5 min), les lames sont incubées pendants une heure dans une solution d'Ac II^{aire} (EnVision FLEX/HRP SM802 (K8000; Dako UK Ltd)) biotinylé, en suite un rinçage a été effectué par PBS tween (0.1M) (3x5 min).
- Les coupes sont ensuite incubées dans une solution du complexe Avidine-Biotine-Peroxydase pendant une heure, puis rincées par PBS tween (0.1M) (3x5 min).
- Révélation du marquage : les différentes étapes qui suivent, se déroulent dans l'obscurité. La révélation de l'activité peroxydase se fait par l'application du chromogène DAB ou diaminobenzidine pendant 5 min, puis un rinçage par le PBS tween (0.1M) (3x5 min). ce chromogène est oxydé par la peroxydase et donne un précipité brun foncé, cette réaction est bloquée par rinçage au PBS (3x5 min). Montage des lames et observation microscopique : après déshydratation, et passage dans deux bains de xylène, les coupes ont été recouvertes d'une lamelle à l'aide de l'Eukitt. Ainsi les coupes sont prêtes à l'observation et la prise de photos réalisée au microscope photonique (Zeiss Axoplan).

- **Analyse des images par Image J**

Le logiciel « Image J» établi par l'institut américain de la santé en 1997, a été utilisé pour l'estimation de l'intensité de l'immunomarquage. Cette méthode offre la possibilité d'utiliser des méthodes statistiques pour la validation des résultats.

Pour cela nous avons utilisé Image J pour quantifier l'intensité moyenne du marquage de la myéoperoxydase dans les coupes chez les deux groupes. En moyenne 10 mesures par animal ont été effectuées sur 4 animaux par lot.

IV. Statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne (SEM). La signification statistique des moyennes entre les deux groupes expérimentaux est évaluée par le test « *t* » de Fisher- Student à un seuil de 0,05.

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité « p », lu en fonction du nombre de degrés de liberté (ddl = $n1+n\ 2-2$) est égale ou inferieure à 5%.

Si p> 0,05 : la différence est non significative (NS)

Si p< 0,05 : la différence est significative (*)

Si p< 0,01 : la différence est très significative (**)

Si p< 0,001 : la différence est hautement significative (***).

Résultats et Discussion

Résultats

I. Etude de l'aspect structural du foie de *Gerbillus tarabuli*

L'étude histologique et l'observation au microscope photonique nous a permis de voir les différences structurales du parenchyme hépatique entre les gerbilles témoins et désynchronisées. Nos observations ont mis en évidence que le foie de *Gerbillus tarabuli* témoin, montre une structure normale de l'unité parenchymateuse ou lobule qui est polyédrique avec des espaces portes à chaque somme **(Figure 17, A)**, ces derniers sont occupés par les branches des veines portes, des artères portes et des canaux biliaires **(Figure 17, C).** Les hépatocytes sont des cellules polyédriques parfois binucléées sont agencées en travées (de Remak) disposées radiairement autour de la veine centrolobulaire. Notons aussi des capillaires sinusoïdes qui occupent les espaces entre les travées **(Figure 18, B).**

L'étude comparée chez les individus qui ont subit une perturbation du cycle nycthéméral, à montré une altération de l'architecture tissulaire par l'apparition de nombreux foyers inflammatoires **(Figure 17, D)** et une dilatation des capillaires sinusoïdes (**Figure 17, E).** Notons également au niveau des espaces portes **(Figure 17, F),** un contingent de cellules inflammatoires.

Chez ce groupe de gerbille, les foyers inflammatoires montrent une importante infiltration leucocytaire d'incidence intra-lobulaire et péri-portale **(Figure 18, A)**.

Notons aussi l'abondance des cellules à petit noyau dense plaquées contre l'endothélium représentent les cellules Kupffer **(Figure 18, B)** au niveau de capillaires sinusoïdes dilatés tandis que chez les gerbilles contrôles les cellules de Kupffer sont à peine discernables.

Nous avons remarqué que les limites entre les hépatocytes et les sinusoïdes sont bordées par des fibres colorés en bleu, les fibres de collagènes qui marquent l'installation d'une fibrose **(Figure 18, C),** Cette trame conjonctive reste fine chez le groupe témoins. Aussi, l'apparition des cellules libres à noyau clair correspondrait aux cellules d'Ito (cellules étoilées) **(Figure 18, D)**.

II. Etude de l'expression de la myéloperoxydases dans le parenchyme hépatique

L'observation au microscope photonique des différentes coupes de foie de *Gerbillus tarabuli* témoins et celles soumises à une perturbation du cycle nycthéméral nous a permis de déterminer la distribution de la myéloperoxydase, ainsi que l'impact de la perturbation photique sur son expression.

Le marquage immunohistochimique de la myéloperoxydase dans les deux groupes a révélé un nombre hautement significatif de MPO positive dans les neutrophiles **(Figure 19, B, C et D)**

avec une intensité moyenne de 173,03 ± 2,26 et une valeur de $P < 0,001$ comme indiqué dans la figure 20, exprimés par un cytoplasme brun positif dans le groupe désynchronisé tandis que le groupe témoin a montré une expression négative de la MPO dans les neutrophiles neutrophiles **(Figure 19, A)** avec une intensité moyenne de 159,70 ± 3,10 **(Figure. 20**). Notons que l'immunoréactivité de la MPO a également augmenté au niveau des foyers inflammatoires qui montrent une importante infiltration et accumulation leucocytaire d'incidence de l'activité des neutrophiles dans le groupe désynchronisé.

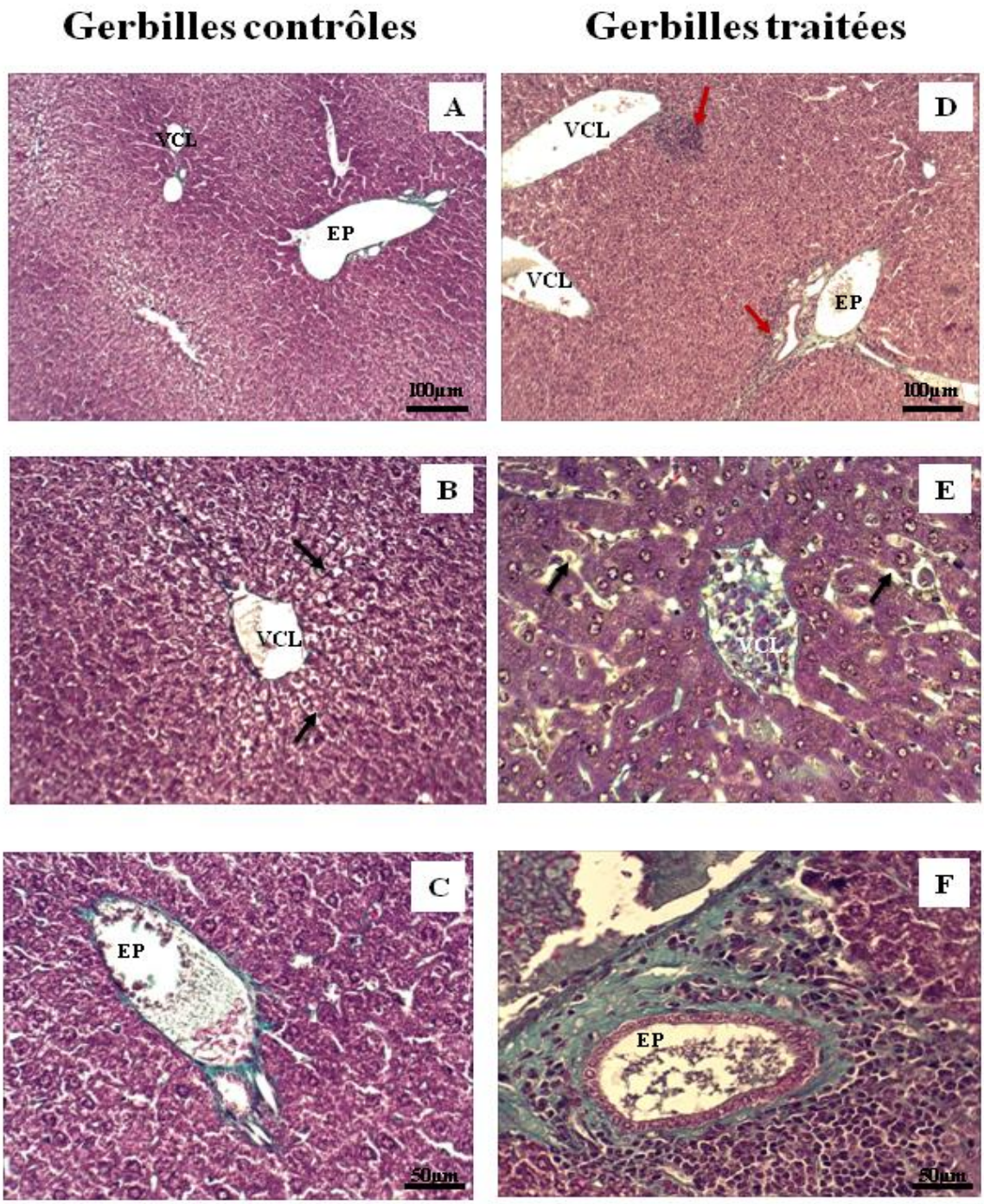

Gerbilles contrôles
Gerbilles traitées
A
VCL
EP
100µm
D
VCL
VCL
EP
100µm
B
VCL
E
VCL
C
EP
50µm
F
EP
50µm

Figure 17 : Les différences structurales du parenchyme hépatique entre les gerbilles témoins et désynchronisées.

Le tissu hépatique de gerbilles témoin **(A)** montre une structure classique en lobule centré par une veine centre- lobulaire (VCL) et délimité par des espaces portes (EP).

A fort grossissements **(B)**, cette coupe nous montre l'organisation des hépatocytes en travées de Remak sous forme de cordons cellulaires qui convergent vers la VCL. Ces travées sont séparées par des sinusoïdes **(Flèche Noire).**

En (**C),** Les espaces portes (EP) sont occupés par les branches des veines portes, des artères portes et des canaux biliaires.

Chez les gerbilles soumises à une désynchronisation photique **(D**), on remarque l'apparition de nombreux foyers inflammatoires **(flèche rouge)** conduisant à une altération de tissu hépatique, avec en **(E)** une dilatation des capillaires sinusoïdaux **(flèche Noir).** Notons aussi au niveau des espaces porte **(F),** un contingent inflammatoire.

A, B, C, D, E et F Coloration : Trichome de Masson.

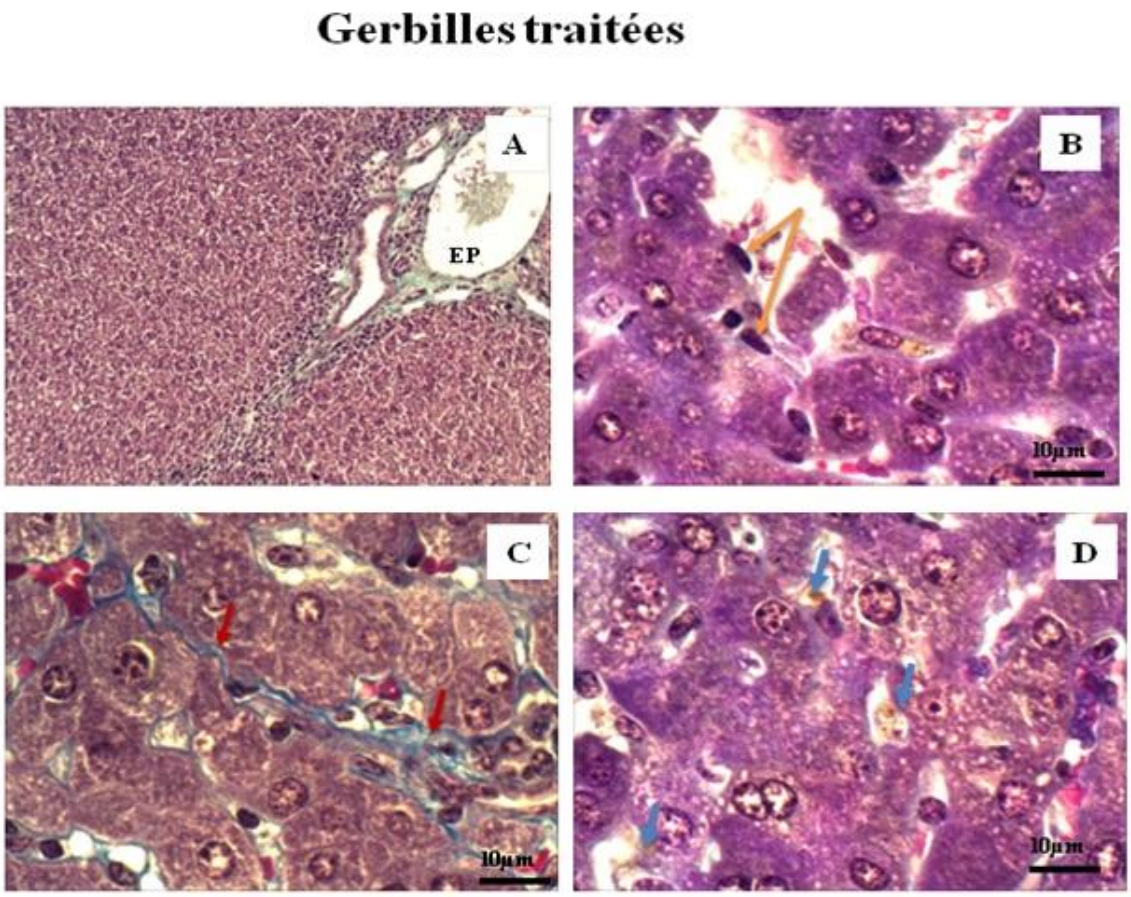


Figure 18 : les caractéristiques cellulaires du tissu hépatique des individus ayant subit une désynchronisation.

La coupe **(A)** nous montre que les altérations sont plus fréquentes dans les zones péri-lobolulaire formées d'amas de leucocytes infiltrés à localisation péri-portale (**EP).**

Notons aussi au niveau de **(B)** une abondance des cellules de Kupffer **(Flèches orange)** dans les sinusoïdes élargis.

Nous remarquons en (**C**) que les limites hépatocytaires sont obstruées par un dépôt excessif de collagène (**flèches rouges**) qui pourrait caractériser l'installation d'une fibrose.

En **(D)** on note l'extension des cellules peri-sinusoidales riches en graisses, les cellules **Ito (flèches bleues)** qui envahissent la lumière des sinusoïdes.

A, B, C et D : coloration : Trichomes de Masson.

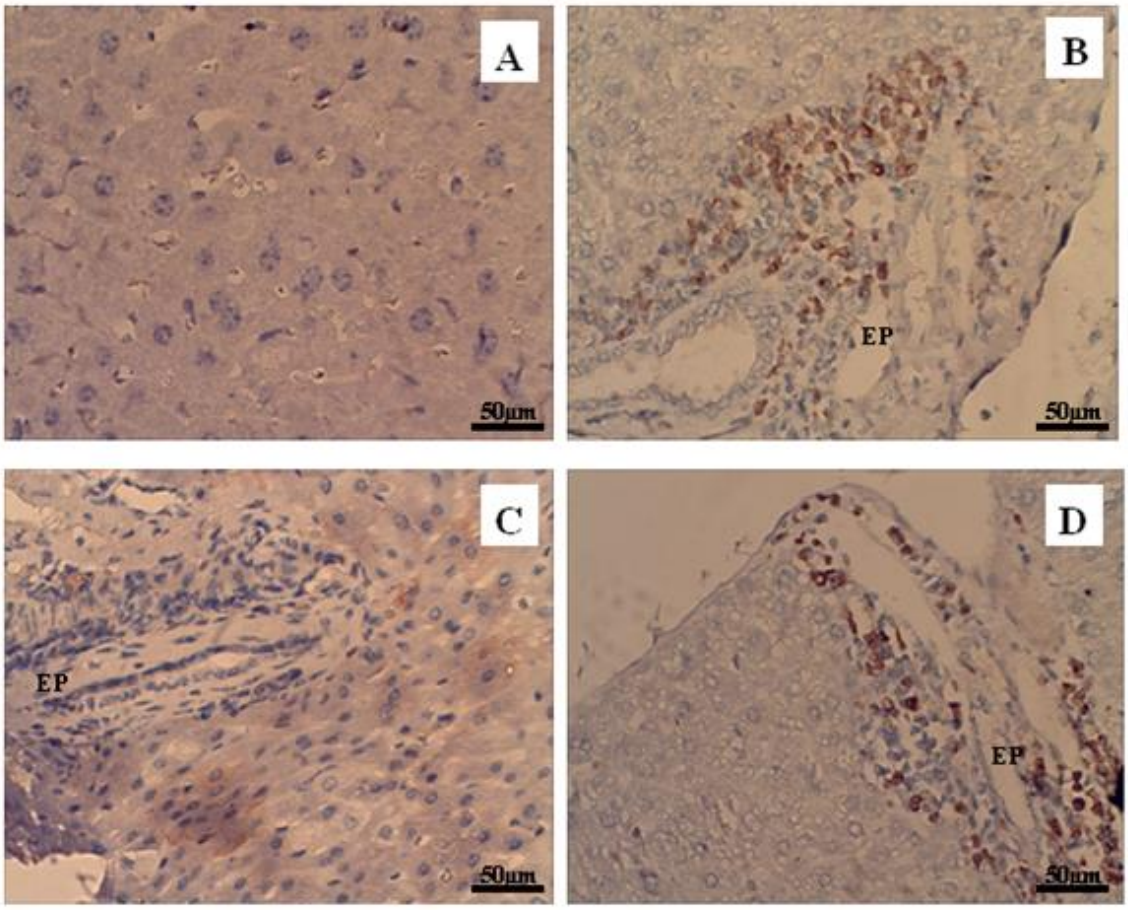


Figure 19 : Immunomarquage de la myéloperoxydase (MPO) au niveau du foie chez les deux lots de « *Gerbillus tarabuli* » observé au microscope photonique, grossissement x 40. Contre coloration : Hématoxyline de Groat, **EP** : espace porte.

A : gerbilles contrôles

B, C et **D** : gerbilles désynchronisées

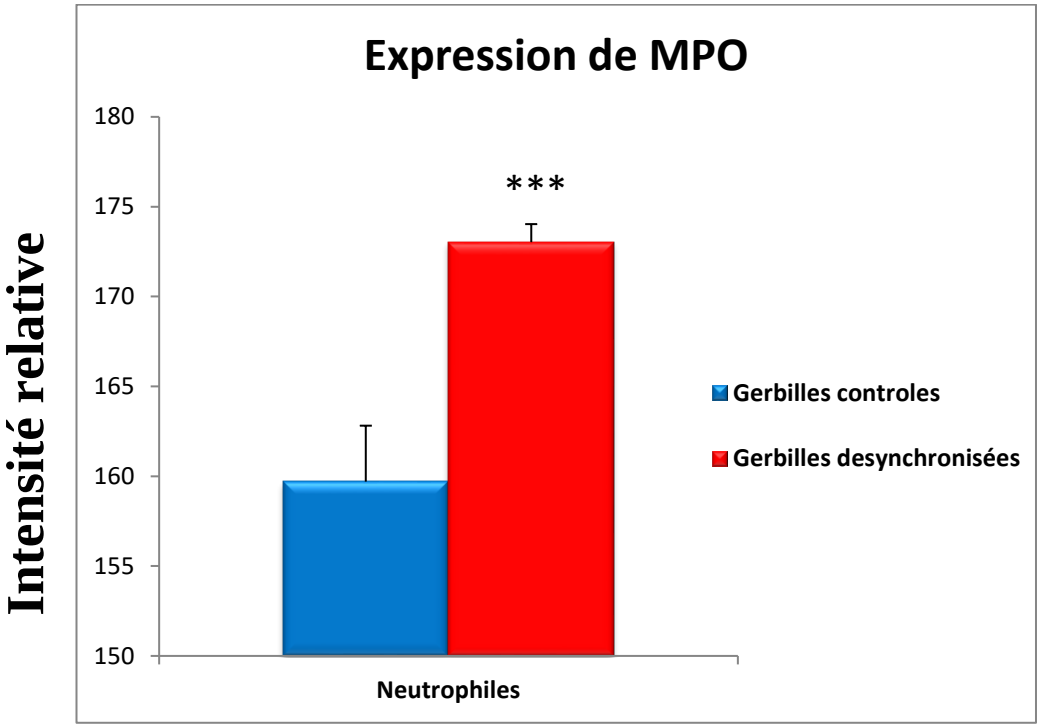


Figure: 20 : Effet du cycle nycthéméral déphasé sur l'intensité du marquage de la myéloperoxydase au niveau des cellules hépatiques (les neutrophiles).

Les valeurs sont représentées par (moyenne ± erreur standard), *** P < 0.01, Test de Student.**

Discussion

Dans ce travail, nous avons étudié l'effet de l'alternance entre un cycle standard (12L/12D) et un cycle artificiel de 20L/4D pendant 12 semaines sur le parenchyme hépatique et sur l'expression d'une enzyme spécifique : la myéloperoxydase au niveau hépatique chez un rongeur déserticole nocturne : *Gerbillus tarabuli*.

Au niveau structural, l'allongement de la phase lumineuse a entraîné une perte de l'architecture du parenchyme hépatique caractérisée par l'apparition de plusieurs foyers lésionnels, siège d'un processus inflammatoire associant une dilatation des capillaires sinusoïdaux, une prolifération des cellules de Kupffer et une infiltration leucocytaire. Ce tableau reflète un état inflammatoire qui pourrait être consécutif à l'activation des cellules de Kupffer qui participent au chimiotactisme des neutrophiles.

Nous avons également relevé chez ces gerbilles désynchronisées, une immunoréactivité intense de la myéloperoxydase (MPO) essentiellement localisée dans les neutrophiles. Nos résultats sont en accord avec d'autres études **(Abdel-Hamid *et al*., 2018; Bekheet *et al*., 2009)** qui ont montré le rôle de la myéloperoxydase dans le processus d'hépatocarcinogenèse induite par le virus de l'hépatite C.

Il est bien connu que la MPO est un marqueur de l'activation des neutrophiles et de l'infiltration tissulaire. De nombreux auteurs suggèrent que l'expression de la MPO a également été utilisée dans de nombreux contextes, comme un indicateur fiable de l'inflammation **(Jawhara *et al*, 2008; Kim *et al*, 2008; Venge, 1994)**, étant plus sensible que l'examen histopathologique des tissus **(Faith *et al*., 2008).**

En effet, il a été rapporté que l'activité de la MPO hépatique est également plus élevée dans les modèles expérimentaux **(Sener *et al*., 2006).** Ainsi, Sener et ses collaborateurs ont constaté qu'un traitement au mercure se manifeste par l'augmentation de l'activité de la MPO dans plusieurs organes **(Sener *et al*., 2003).** Il est également rapporté que l'augmentation de l'activité de la MPO dans le foie de rats diabétiques pourrait refléter une infiltration de leucocytes secondaire au diabète **(Uluoglu *et al*., 2008).** De plus, Il se fonde sur plusieurs études qui ont suggéré que l'augmentation de l'activité de la MPO pourrait être liée aux conditions d'inflammation et d'infection **(Guven *et al*., 2013; Kothari *et al*., 2011).**

La myéloperoxydase peut avoir un effet bénéfique ou néfaste selon l'endroit et le moment ou se produit la réaction inflammatoire **(Dupont, 2018)**. En effet, Il a été signalé que plusieurs types de lésions tissulaires, les maladies du foie et le diabète seraient liés aux oxydants dérivés de la MPO. Ainsi, le niveau accru d'activité de la MPO est l'un des meilleurs outils de diagnostic des biomarqueurs du stress inflammatoire et oxydatif dans ces maladies courantes

(Khan *et al*., 2018). Aussi, l'activité de la MPO est un marqueur de l'accumulation de neutrophiles dans les tissus enflammés **(Guney *et al*., 2007).**

Il est bien documenté que les neutrophiles sont les cellules inflammatoires prédominantes dans les lésions hépatiques **(Voigt *et al*., 2018),** ils représentent une source potentielle de radicaux libres d'oxygène **(Weiss et Ward, 1982)** et sont considérés comme des cellules effectrices majeures dans les lésions tissulaires qui se produisent dans plusieurs maladies inflammatoires **(Heinzelmann *et al*., 1999; Zimmerman *et al*., 1990).** De plus, les neutrophiles contiennent de la myéloperoxydase **(Odobasic *et al*., 2016)** qui est libérée par les neutrophiles polymorphonucléaires activés **(Voigt *et al*., 2018).** La myéloperoxydase est le pro-inflammatoire le plus abondant, c'est une enzyme stockée dans les granules azurophiles des granulocytes. Elle représente un marqueur de l'activation des neutrophiles et de l'infiltration tissulaire **(Schultz et Kaminker, 1962),** on peut donc émettre l'hypothèse que la quantification de MPO permettrait d'estimer l'intensité du recrutement et de l'activation des neutrophiles et donc indirectement l'importance du processus inflammatoire dans le tissu ou il apparait.

La MPO fournit également une estimation du stress oxydatif dans les maladies inflammatoires car l'activité peroxydasique de la MPO est corrélée à un afflux d'espèces réactives de l'oxygène **(Khan *et al*., 2018).** Ces données corrélées à l'augmentation hautement significative de l'immunoréactivité de la myéloperoxydase observée au niveau du parenchyme hépatique altéré chez les gerbilles désynchronisées traduisant une souffrance hépatique.

Ainsi, les espèces réactives générés par la myéloperoxydase peuvent à leur tour peroxyder les lipides, ce qui augmente la production de collagène par les cellules étoilées activées **(Parola *et al*., 1993).** Ces observations mettent en évidence une nouvelle voie d'oxydation par laquelle les cellules Kupffer pourraient participer aux lésions hépatiques **(Bekheet *et al*., 2009)** et entraînant la production d'oxydants et l'altération des événements de la signalisation **(Altamirano *et al*., 2014; Beard et Jones, 2006).**

La MPO est l'enzyme protéolytique responsable de l'acidification du milieu **(Heinecke, 1999; Christophe, 2018)**. La dégranulation locale des neutrophiles induirait la libération de la MPO dans la matrice extracellulaire **(McConnico *et al*., 1999; Zhang *et al*., 2001; Hoy *et al*., 2002).** Le mécanisme biochimique complet de la dégranulation des neutrophiles n'est pas encore clair, mais le stress oxydatif joue un rôle clé dans la libération de MPO par ces cellules **(Lacy, 2006; Naegelen *et al*., 2015).**

La MPO adhère aux membranes cellulaires et produit à partir de peroxyde d'hydrogène l'acide hypochloreux (HOCl) qui traverse facilement la membrane plasmique, pour épuiser le glutathion intracellulaire **(Nahon *et al*., 2009).** Le glutathion réduit (GSH) est un antioxydant biologique important et est probablement une cible de choix pour l'HOCl généré par la myéloperoxydase **(Winterbourn et Brennan, 1997).**

Nos observations ont également montré chez les gerbilles désynchronisées, l'abondance des cellules stellaires hépatiques (les cellules étoilées) et l'installation d'une fibrose hépatique due à l'accumulation excessive de matrice extracellulaire dans le parenchyme hépatique. Ce phénomène résulte d'un déséquilibre entre une synthèse accrue des composants de la matrice et une diminution de leur dégradation. Il est rapporté que l'accumulation de produits de dégradation provoque une fibrose hépatique **(Chen et Raghunath, 2009)** qui forme un tissu cicatriciel qui remplace les cellules endommagées **(Albanis et Friedman, 2001).** Ces résultats confortent les observations relevées par l'immunomarquage de la MPO hépatique. D'ailleurs, il a été signalé que les dommages oxydatifs résultant de l'action de la myéloperoxydase pourraient contribuer aux lésions hépatiques aiguës et à la fibrogenèse hépatique **(Brown *et al*., 2001).**

La myéloperoxydase peut stimuler la production de protéines de la matrice extracellulaire par des cellules Kupffer, ainsi l'altération de la matrice a été liée à l'activation des cellules hépatiques étoilées, ce qui constitue une étape critique dans le développement de la fibrose hépatique **(Abdel-Hamid *et al*., 2018; Bekheet *et al*., 2009; Gressner & Bachem, 1995; Jarnagin *et al*., 1994),** en effet, les cellules étoilées deviennent la principale source d'accumulation de la matrice extracellulaire dans le foie en cas de blessure **(DeLeve *et al*., 2011; Friedman, 2008).** D'autre part, Bekheet et ses collaborateurs ont rapporté une augmentation de l'expression de MPO dans les cellules Kupffer au fur et à mesure que la fibrose progresse et ont constaté également que la fibrose hépatique était associée à une augmentation de nombre de macrophages exprimant la myéloperoxydase **(Bekheet *et al*., 2009),** ce qui pourrait expliquer le rôle des radicaux libres produits par la MPO dans la pathogenèse du foie **(Lonardo *et al*., 2004; Poli, 2000).** Cependant, les ROS et les produits de peroxydation des lipides activent également les cellules étoilées, entraînant ainsi une fibrose **(Fromenty *et al*., 2004).**

D'autres auteurs indiquent que la fibrose est également une conséquence de l'activation inflammatoire et participe à la chimiotactique polynucléaire et à la libération de cytokines pro-inflammatoires **(Tilg and Diehl, 2000).** Ces données corroborent la présence de foyers

inflammatoires observés dans le parenchyme hépatique des gerbilles soumises à une perturbation photique.

Conclusion

et

Perspectives

Conclusion et perspectives :

La présente étude a permis de montrer l'effet de la perturbation du cycle (lumière /obscurité) sur la structure du parenchyme hépatique et sur l'expression de la myéloperoxidase au niveau tissulaire chez la gerbille saharienne (*Gerbillus tarabuli)* Capturée dans la région de Beni abbès (Bacher, Algerié).

Nos résultats indiquent clairement une altération de l'architecture tissulaire d'ordre inflammatoire chez les gerbilles soumises à un cycle modifié par l'allongement de la phase lumineuse (20L/4D) alterné par un cycle nycthéméral standard (12L/12D), ces altérations se manifestent par une dilatation des capillaires sinusoïdes, une prolifération des cellules de Kupffer, une importante infiltration leucocytaire, avec l'installation d'une fibrose hépatique suite à l'augmentation des constituants fibrillaires de la matrice extra cellulaire. Toutes ces observations expriment une souffrance cellulaire et une baisse de l'activité hépatique.

Par ailleurs, l'étude immunohistochimique révèle après 12 semaines de désynchronisation temporelle, une forte intensité de l'immunomarquage de la myéloperoxydase (MPO) au niveau des neutrophiles hépatiques chez les gerbilles désynchronisées tandis que l'immunomarquage chez les gerbilles contrôles était faible.

Ces résultats sont interprétés comme étant une réponse à l'allongement de la phase lumineuse du cycle L/D correspondant à la phase de repos de l'animal.

Dans leur ensemble, nos résultats témoignent d'un dysfonctionnement hépatocellulaire et mettent en lumière le rôle du signal photique dans l'entrainement non seulement de l'horloge centrale mais aussi des horloges périphériques précisément l'horloge hépatique.

Des investigations plus poussées seraient nécessaires. Ainsi :

- Il conviendra d'étudier le processus inflammatoire en utilisant la microscopie électronique à transmission pour identifier les différentes altérations ultrastructurales et morphologiques survenues dans cette perturbation photique.
- Il est également intéressant de doser le taux plasmatique de la myéloperoxydase dans le but de renforcer l'importance de cette enzyme comme marqueur fiable de l'inflammation.
- le suivi des mêmes paramètres après une désynchronisation par allongement de la phase obscure (4L/20D), phase d'activité de l'espèce, pour mieux cerner les interactions entre les facteurs photiques et le processus inflammatoire.

Références bibliographiques

- **Abdel-Hamid, M., Nada, O. H., Ellakwa, D. E.-S., & Ahmed, L. K.** (2018). Role of Myeloperoxidase in hepatitis C virus related hepatocellular carcinoma. *Meta Gene*, *18*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.mgene.2018.07.008
- **Abramson, I**. (2016). Les troubles du sommeil chez le nourrisson. Psychologie clinique, (2), 62-75.
- **Acosta-Galvan G, Yi C-X, van der Vliet J, Jhamandas JH, Panula P, Angeles-Castellanos M, Del Carmen Basualdo M, Escobar C, Buijs RM .**(2011) .Interaction between hypothalamic dorsomedial nucleus and the suprachiasmatic nucleus determines intensity of food anticipatory behavior. Proc Natl Acad Sci USA 108:5813–5818.
- **A Lambert**. (2016).https://www.universalis.fr › 2-le-foie....
- **Altamirano, J., Miquel, R., Katoonizadeh, A., Abraldes, J. G., Duarte-Rojo, A., Louvet, A., Augustin, S., Mookerjee, R. P., Michelena, J., Smyrk, T. C., Buob, D., Leteurtre, E., Rincón, D., Ruiz, P., García-Pagán, J. C., Guerrero-Marquez, C., Jones, P. D., Barritt, A. S., 4th, Arroyo, V., … Bataller, R.** (2014). A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*, *146*(5), 1231–1239.e1–e6. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.018
- **Amdaoud, M.** (2007).Stabilité du rythme circadien des cyanobactéries: Investigation d'un couplage entre oscillateurs (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- **Amirat Z .Khammar f.,Brudieux R.** (1977).Variation saisonnières comparée de l'activité sexuelles (donnés pondérale) chez deux espèces de rongeurs (psammomys obseus et Gerbillus gerbillus) du sahara occidental algérien .Mammalia ;41,3 ;341-356
- **Anthony J. Kettle Christine C. Winterbourn.** (1994). Dosages de l'activité de chloration de la myéloperoxydase 76-6879(94)33056-5.
- **Aschoff**. (1960). Composantes exogènes et endogènes dans les rythmes circadiens. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol; 25: 11-28.
- **Aratani Yasuaki**. (2018).Myeloperoxydase: ilt role for host defense ,inflammation ,and neutrophil function,640,47-52.

- **Beard, M. R., & Jones, B. E.** (2006). Hepatitis C virus and oxidative stress: a dangerous liaison. In *Future Virology* (Vol. 1, Issue 2, pp. 223–232). https://doi.org/10.2217/17460794.1.2.223
- **Bekheet, I. W., Madkour, M. E., Abdel Ghaffar, N., Nosseir, M. M. F., Moussa, M. M., Ibraheim, R. A., & Ateya, M. E.** (2009). The Role of Myeloperoxidase in Hepatitis C Virus Infection and Associated Liver Cirrhosis. *The Open Tropical Medicine Journal*, *2*(1), 1–7. https://doi.org/10.2174/1874315300902010001.
- **Bell-pederson, D., Cassone, V. M., Earnest, D. J., Golden, S. S., Hardin, P. E., Thomas, T. L. and Zoran, M. J**. (2005).Circadien rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. Nature reviews Genetics; 6:544-556.
- **Bingham C, Arbogast B, Guillaume GC, Lee JK, Halberg F.** (1982).Inferential statistical methods for estimating and comparing cosinor parameters. Chronobiologia 9(4)**:** 397-439.
- **Bogdan A. et Touitou Y**. (2001).Rythme biologiques, nutrition et métabolisme .Elsevier Masson ,334 :59-63.
- **Brandstaetter R.** (2004). Circadiens leçons des horloges périphériques: le temps du pacemaker mammifère est-il écoulé? Proc Natl Acad Sci USA. 101: 5699-5700.
- **Brown, K. E., Brunt, E. M., & Heinecke, J. W.** (2001). Immunohistochemical Detection of Myeloperoxidase and Its Oxidation Products in Kupffer Cells of Human Liver. In *The American Journal of Pathology* (Vol. 159, Issue 6, pp. 2081–2088). https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63059-3.
- **CDU-HUG.Elesevier, Masson**. (2014).les fondamentaux de la pathologie digestive, p 1-39.
- **Cermakian Nicolas.** (2005). Les noyaux suprachiasmatiques : une horloge circadienne composéeHow many pieces to build a circadian clock, p. 66,722005 URI https://id.erudit.org/iderudit/009993ar
- **Challet E.** (2009). Horloges circadiennes, troubles métaboliques et chronobésité circadiens clochs, metabolic disorders and chronobesity. Obes, 3 :73-85.
- **Chen, C. Z. C., & Raghunath, M.** (2009). Focus on collagen: in vitro systems to study fibrogenesis and antifibrosis _ state of the art. *Fibrogenesis Tissue Repair*, *2*(1), 7. https://doi.org/10.1186/1755-1536-2-7

- **Claire Mony, Pr. Jean-Charles Duclos-Vallée.** (2014). Centre Hépato-Biliaire - Hôpital Universitaire Paul Brousse - 12-14 avenue Paul Vaillant Couturier - F-94800 Villejuif – France.
- **Czeisler CA, Kronauer RE, Allan JS, et al.** (1989). Bright light induces strong type 0 resetting of the human circadian pacemaker. Science**;** 244: 1328-1332.
- **Dardente, H. & Cermakian, N.** (2005). Les noyaux suprachiasmatiques : une horloge circadienne composée. M/S: médecine sciences, 21 (1), 66–72.
- **Davidson AJ, Menaker M.** (2003). Oiseaux d'une horloge à plumes ensemble parfois: synchronisation sociale des rythmes circadiens. Curr Opin Neurobiologies. ; 13: 765-769.
- **DeLeve, L. D., Jaeschke, H., Kalra, V. K., Asahina, K., Brenner, D. A., & Tsukamoto, H.** (2011). 15th International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid, 2010. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, *31*(6), 762–772. https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02527.x
- **Djelaila A Y,Baziz B , et Doumandji S .** (2010). la gerbille de Lybie Gerbillus tarabuli (Gerbillinae,Rodentia) A elbayadh indicatrice de desertification du milieu et sarelation avec les condition climatiques .département de zoologie agricole et forestière E.N.S.A.EL Harrach ,Alger .Algérie.
- **Dictionnaire médical de Doctissimo contient des milliers de définitions. Termes médicaux et scientifiques, abréviations, maladies.** (2018).
- **Dunlap JC, Loros JJ, DeCoursey PJ**. (2004). Chronobiology: biological timekeeping. Sunderland, MA: Sinauer Associates**:** 406 p.
- **Dupont Christophe.** (2018). Les Granulocytes neutrophiles : Morphologie, Fonction et Méthodes et modes de quantification dans l'espace Bovine, 3 – 4061.
- **Étienne Delannoy, Philippe Marmey, Claude Penel & Michel Nicole.** (2004). Les peroxydases végétales de classe III, Acta Botanica Gallica, 151:4, 353-380.
- **Faith, M., Sukumaran, A., Pulimood, A. B., & Jacob, M.** (2008). How reliable an indicator of inflammation is myeloperoxidase activity? *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, *396*(1-2), 23–25. https://doi.org/10.1016/j.cca.2008.06.016.

- **Friedman, S. L.** (2008). Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiological Reviews*, *88*(1), 125–172. https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2007
- **Fromenty, B., Robin, M. A., Igoudjil, A., Mansouri, A., & Pessayre, D.** (2004). The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. *Diabetes & Metabolism*, *30*(2), 121–138. https://doi.org/10.1016/s1262-3636(07)70098-8.
- **Fuller R W.et Diller E R.** (1970).Diurnal variation of liver glycogène and plasma free fatty acides in rats Fed ad libitum or single Daily meal.*Metabolism,*19 :226-229.
- **Gérard Mick et Michel Jouvet**. (1995). Rythmes circadiens : leurs bases anatomiques, fonctionnelles et moléculaires médecine/sciences, l : 52-61.
- **Gray, J.E.** (1825). A list and description of some species of shells not taken notice of by Lamarck. *Annals of Philosophy*. 2(9): 134-140, 407-415., *available online at* http://biodiversitylibrary.org/page/15880862page(s): 408
- **Gressner, A. M., & Bachem, M. G.** (1995). Molecular mechanisms of liver fibrogenesis--a homage to the role of activated fat-storing cells. *Digestion*, *56*(5), 335–346. https://doi.org/10.1159/000201257
- **Guney, Y., Hicsonmez, A., Uluoglu, C., Guney, H. Z., Ozel Turkcu, U., Take, G., Yucel, B., Caglar, G., Bilgihan, A., Erdogan, D., Nalca Andrieu, M., Kurtman, C., & Zengil, H.** (2007). Melatonin prevents inflammation and oxidative stress caused by abdominopelvic and total body irradiation of rat small intestine. In *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (Vol. 40, Issue 10, pp. 1305–1314). https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006005000156.
- **Guven, F. M. K., Aydin, H., Yildiz, G., Engin, A., Celik, V. K., Bakir, D., & Deveci, K.** (2013). The importance of myeloperoxidase enzyme activity in the pathogenesis of Crimean–Congo haemorrhagic fever. In *Journal of Medical Microbiology* (Vol. 62, Issue 3, pp. 441–445). https://doi.org/10.1099/jmm.0.047589-0
- **Halberg F.** (1959).Physiologic 24-h periodicity: general and procedural considerations with reference to the adrenal cycle. Z Vitam Horm Fermentforsch; 10:225-296.
- **Harrison DG.** (1997). Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction.J Clin Invest.; 100:2153–2157. Doi: 10.1172/JCI119751.
- **Hastings M H., Reddy A B. ET Maywood E S.** (2003). A clockwork web: circadian timing in brain in brain and periphery, in health and disease. Nat Rev Neurosci, 4:649-661.

- **Heinecke, J. W.** (1999). Mechanisms of oxidative damage by myeloperoxidase in atherosclerosis and other inflammatory disorders. *J. Lab. Clin. Med.*, *133*(4), 321–325. https://doi.org/10.1016/s0022-2143 (99)90061-6.
- **Heinzelmann, M., Mercer-Jones, M. A., & Passmore, J. C.** (1999). Neutrophils and renal failure. In *American Journal of Kidney Diseases* (Vol. 34, Issue 2, pp. 384–399). https://doi.org/10.1016/s0272-6386(99)70375-6.
- **Hoy, A., Leininger-Muller, B., Kutter, D., Siest, G., & Visvikis, S.** (2002). Growing significance of myeloperoxidase in non-infectious diseases. *Clin. Chem. Lab. Med.*, *40*(1), 2–8. https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.002
- **Jarnagin, W. R., Rockey, D. C., Koteliansky, V. E., Wang, S. S., & Bissell, D. M.** (1994). Expression of variant fibronectins in wound healing: cellular source and biological activity of the EIIIA segment in rat hepatic fibrogenesis. *The Journal of Cell Biology*, *127*(6 Pt 2), 2037–2048. https://doi.org/10.1083/jcb.127.6.2037
- **Jawhara, S., Thuru, X., Standaert-Vitse, A., Jouault, T., Mordon, S., Sendid, B., Desreumaux, P., & Poulain, D.** (2008). Colonization of mice by Candida albicans is promoted by chemically induced colitis and augments inflammatory responses through galectin-3. *The Journal of Infectious Diseases*, *197*(7), 972–980. https://doi.org/10.1086/528990
- **Jean-Yves Scoazec.** (2002). Laboratoire central d'anatomie et cytologie pathologiques, hôpital Édouard Herriot, place d'Arsonval, 69437 Lyon cedex 03 France.
- **Jessica M.Ferrell, JohnY.L.Chiangn.** (2015).Circadian rhythms in liver metabolism and disease, 5(2); 113-122.
- **Julie Dauvillier.** (2017). système hépato-digestif, la fonction hépatique.
- **Granjon L., Bonnet A .,HamdineW .and volobouev V .** (1999). Réévaluation of the taxonomic status of north African gerbils usually referred to as .Gerbillus pyramidium .(Gerbillune ,Rodentia) :chronomosomal and biometrical data 1.Z.Sauegetier kunde ,64 :298-307.
- **Kennaway DJ. J clin endocrinol metab.** (1992). Development of melatonin production in infants and the impact of prematurity, 75: 367-369.
- **Khan, A. A., Alsahli, M. A., & Rahmani, A. H.** (2018). Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Medical Sciences (Basel, Switzerland)*, *6*(2). https://doi.org/10.3390/medsci6020033

- **Kim, H.-W., Uh, D.-K., Yoon, S.-Y., Roh, D.-H., Kwon, Y.-B., Han, H.-J., Lee, H.-J., Beitz, A. J., & Lee, J.-H.** (2008). Low-frequency electroacupuncture suppresses carrageenan-induced paw inflammation in mice via sympathetic post-ganglionic neurons, while high-frequency EA suppression is mediated by the sympathoadrenal medullary axis. *Brain Research Bulletin*, 75(5), 698–705. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.11.015
- **Kothari, N., Keshari, R. S., Bogra, J., Kohli, M., Abbas, H., Malik, A., Dikshit, M., & Barthwal, M. K.** (2011). Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis. *Journal of Critical Care*, *26*(4), 435.e1–e7. https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2010.09.001
- **Lacy, P.** (2006). Mechanisms of Degranulation in Neutrophils. In *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* (Vol. 2, Issue 3, p. 98). https://doi.org/10.1186/1710-1492-2-3-98
- **Lanza F.** (1998). Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. J Mol Med (Berl); 76: 676–681.
- **Lee IT, Chang AS, Manandhar M, Shan Y, Fan J, Izumo M, Ikeda Y, Motoike T, Dixon S, Seinfeld JE.** (2015). Neuromedin s-producing neurons act as essential pacemakers in the suprachiasmatic nucleus to couple clock neurons and dictate circadian rhythms. Neuron; 1085:1086-1102.
- **Lonardo, A., Adinolfi, L. E., Loria, P., Carulli, N., Ruggiero, G., & Day, C. P.** (2004). Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology*, *126*(2), 586–597. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2003.11.020
- **Louzada F.** (2002). Um estudo sobre a expressão da ritmicidade biológica em diferentes contextos socioculturais: o ciclo vigília-sono de adolescentes. Tese de doutorado Neurociências e Comportamento, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brésil.
- **Martoja R. et Martoja-Pierson M.** (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Paris, Masson. 345 p.

- **McConnico, R. S., Weinstock, D., Poston, M. E., & Roberts, M. C.** (1999).Myeloperoxidase activity of the large intestine in an equine model of acute colitis. *Am. J. Vet. Res.*, *60*(7), 807–813.
- **Menaker Michael**. (2003). Photoréception de Menaker M. Circadian. Science.; 299(5604) : 213-214.
- **Moore RY.** (1997). Circadian rhythms: basic neurobiology and clinical applications. Annual review of medicine 48: 253-266.
- **Moore RY.** (1999) .Calendrier circadien 25.
- **Moore RY.** (1991)**.** Human circadian rhythms. In: Moore RY, Klein DC, Rerpert SM, eds.Suprachiasmatic nucleus. The mmd's clock. New York: Oxford University Press: 430-443.
- **Moore RY, Eichler VB.** (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. Brain research 42(1): 201-206.
- **Mteyrek Ali.** (2014). Rôle de l'horloge circadienne dans la cancérisation hépatique expérimentale et sa prévention,
- **Naegelen, I., Beaume, N., Plançon, S., Schenten, V., Tschirhart, E. J., & Bréchard, S.** (2015). Regulation of Neutrophil Degranulation and Cytokine Secretion: A Novel Model Approach Based on Linear Fitting. In *Journal of Immunology Research* (Vol. 2015, pp. 1–15). https://doi.org/10.1155/2015/817038
- **Nahon, P., Sutton, A., Rufat, P., Ziol, M., Akouche, H., Laguillier, C., Beaugrand, M.** (2009). Myeloperoxidase and superoxide dismutase 2 polymorphisms comodulate the risk of hepatocellular carcinoma and death in alcoholic cirrhosis. *Hepatology*, *50*(5), 1484–1493. https://doi.org/10.1002/hep.23187
- **Odobasic, D., Richard Kitching, A., & Holdsworth, S. R.** (2016). Neutrophil-Mediated Regulation of Innate and Adaptive Immunity: The Role of Myeloperoxidase. In *Journal of Immunology Research* (Vol. 2016, pp. 1–11). https://doi.org/10.1155/2016/2349817
- **Parola, M., Pinzani, M., Casini, A., Albano, E., Poli, G., Gentilini, A., Gentilini, P., & Dianzani, M. U.** (1993). Stimulation of Lipid Peroxidation or 4-Hydroxynonenal Treatment Increases Procollagen α1 (I) Gene Expression in Human Liver Fat-Storing Cells. In *Biochemical and Biophysical Research Communications* (Vol. 194, Issue 3, pp. 1044–1050). https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.1927

- **paul K., Bauer G**. (2001).Promyelocytic HL-60 cells induce apoptosis selectively in transformed cells: involvement of myeloperoxidase, nitric oxide and target cell-derived superoxide anions. Anticancer. Res, 21, 3237- 3246.
- **Peter Thomas**. (2011). Départements de chirurgie et des sciences biomédicales Creighton University Omaha USA.
- **Petter, F.** (1961). Répartition géographique et écologie des rongeurs désertiques de la région paléarctique. Université, Faculté des Sciences.
- **Provencio I, Rollag MD, Castrucci AM.** (2002).Filet photorécepteur dans la rétine des mammifères. Ce maillage de cellules peut expliquer comment certaines souris aveugles peuvent encore distinguer le jour de la nuit. La nature. ; 415: 493.
- **Poli, G.** (2000). Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine*, *21*(3), 49–98. https://doi.org/10.1016/s0098-2997(00)00004-2
- **Poulet S.** (2004). les gerbilles : nouveaux rongeurs de compagnie .Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- **Ralph M R, RG Foster et Menaker M.** (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. Science, 247(4945):975-978.
- **Reinberg A, Labrecque C, Smolensky MH**. (1991). In : Chronobiologie et chronothérapeutique Flammarion Paris, : 200 p.
- **Robert sacha.** (2016).Caractérisation des signaux de danger et de la signalisation cellulaire dans le développement de la fibrose hépatiqueBiologie cellulaire. Université Rennes 1, 2016. Français. NNT : 2016REN1B016 https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01505338
- **Schultz, J., & Kaminker, K.** (1962). Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization. In *Archives of Biochemistry and Biophysics* (Vol. 96, Issue 3, pp. 465–467). https://doi.org/10.1016/0003-9861(62)90321-1
- **Schmutz I., Albrecht U.et Ripperger J.A.** (2012).the role of clock genes and rhythmicity in the liver .molecular and cellular endocrynology,349 :38-44.
- **Schmutz I., Reinberg J.,Baeriswyl S. Albrecht U.**(2010).The mammaline clock compontent periode2 coordinates circadian output by interaction with nuclear receptors.*Genes Dev*,24,345-375.
- **Sener, G., Kabasakal, L., Sehirli, O., Ercan, F., & Gedik, N.** (2006). 2-Mercaptoethane sulfonate (MESNA) protects against biliary obstruction-induced

oxidative damage in rats. *Hepatology Research: The Official Journal of the Japan Society of Hepatology*, *35*(2), 140–146. https://doi.org/10.1016/j.hepres.2006.02.009

- **Sener, G., Sehirli, A. O., & Ayanoglu-Dülger, G.** (2003). Melatonin protects against mercury(II)-induced oxidative tissue damage in rats. *Pharmacology & Toxicology*, *93*(6), 290–296. https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.2003.pto930607.x
- **Taboola.** (1978).le figaro sante**,** https://sante le figaro .fr/sante/organe/artère hépatiques
- **Theise ND, Saxena R, Portmann BC.** (1999). the canals of Hering and hepatic stem cells in humans. Hepatology; 30: 1425-1433.
- **Tilg, H., & Diehl, A. M.** (2000). Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N. Engl. J. Med.*, *343*(20), 1467–1476. https://doi.org/10.1056/NEJM200011163432007
- **Tiruppathi C, Naqvi T, Wu Y, Vogel SM, Minshall RD, Malik AB.** (2004).Albumin mediates the transcytosis of myeloperoxidase by means of caveolae in endothelial cells.Proc Natl Acad Sci USA.; 101:7699–7704.
- **Touitou Y, Benoit O, Foret J, Aguirre A, Bogdan A, Clodoré M, Touitou C.** (1992). Effects of 2 hour early awakening and bright light exposure on plasma patterns of cortisol, melatonin, prolactin and testosterone in man. Acta Endocrinol, 126: 201-205.
- **Touitou Y, Fevre M, Bogdan A, Reinberg A, De Prins J, Beck H, Touitou C.** (1984). Patterns of plasma melatonin with ageing and mental condition: stability of nyctohemeral rhythms and differences in seasonal variations. Acta Endocrinol, 106(2): 145-151.
- **Touitou Y, Haus E.** (1992). In: Biologic rhythms in clinical and laboratory medicine, Springer-Verlag, Berlin .6-34.
- **Uluoglu, C., Cimen, B., Ozbey, G., Karasu, C., Durakoglugil, D. B., Gunes, A., Turkozkan, N., & Zengil, H.** (2008). The effect of experimental diabetes on the circadian pattern of adenosine deaminase and myeloperoxidase activities in rat liver. *General Physiology and Biophysics*, *27*(1), 25–31. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18436980
- **Venge, P.** (1994). The monitoring of inflammation by specific cellular markers. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. Supplementum*, *219*, 47–54. https://doi.org/10.3109/00365519409088578

- **Voigt, R. M., Forsyth, C. B., Shaikh, M., Zhang, L., Raeisi, S., Aloman, C., Preite, N. Z., Donohue, T. M., Jr, Fogg, L., & Keshavarzian, A.** (2018). Diurnal variations in intestinal barrier integrity and liver pathology in mice: implications for alcohol binge. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, *314*(1), G131–G141. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00103.2017
- **Von Kupffer C, der Leber Uber Sternzellen** .1876.Arch Mikr Anat 12: 353–358.
- **Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M.** (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. Science 288(5466): 682-685.
- **Yannick Laperche.** (2003). Les cellules ovales et la régénération du foie, 19 :697-698.
- **Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey PL, Shimomura K, Ko CH, Buhr ED.** (2004). PERIOD2: LUCIFERASE real time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101(15): 5339-5346.
- **Weiss, S. J., & Ward, P. A.** (1982). Immune complex induced generation of oxygen metabolites by human neutrophils. *Journal of Immunology* , *129*(1), 309–313. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6282966
- **Weiss S.J., Peppin G., Ortiz X., Ragsdale C., Test S.T.** (1985). Oxidative autoactivation of latent collagenaseby human neutrophils. Science, 227, 747-749.
- **Winterbourn, C. C., & Brennan, S. O.** (1997). Characterization of the oxidation products of the reaction between reduced glutathione and hypochlorous acid. *Biochem. J*, *326 (Pt 1*, 87–92. https://doi.org/10.1042/bj3260087
- **Welsh DK, Logothetis DE, Meister M, Reppert SM**. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. Neuron 14(4): 697- 706.
- **Welsh DK, Takahashi JS, Kay SA.** (2010). Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. Annual review of physiology 72: 551-577.
- **Wever RA.** (1986). Characteristics of circadian rhythms in human functions. J Neural Trans; 21 (suppl): 323-373.
- **Zhang, C., Patel, R., Eiserich, J. P., Zhou, F., Kelpke, S., Ma, W., White, C. R.** (2001). Endothelial dysfunction is induced by proinflammatory oxidant hypochlorous

acid. *Am.* ***J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 281*****(4), H1469--75.** https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.281.4.H1469

- **Zimmerman, B. J., Grisham, M. B., & Granger, D. N.** (1990). Role of oxidants in ischemia/reperfusion-induced granulocyte infiltration. In *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* (Vol. 258, Issue 2, pp. G185–G190). https://doi.org/10.1152/ajpgi.1990.258.2.g185

Les Annexes

Les Annexe

Annexe 01 : Bouin aqueux

_ Solution aqueuse d'acide picrique. . . .. …….30 ml.

_ Formol……...10 ml.

-Acide acétique ……..…2 ml.

Annexe 02 : Paraformaldéhyde

Remarque : cela doit être fait dans une chambre à fumée avec des gantes, des lunettes de sécurités et un masque facial.

Pour prépares une solution à 4% PFA dans PBS :

Poudre de paraformaldéhyde..... 4g.

Paraformaldéhyde Granulé ou en granulé à de eau (H2O).

Utilises plaque chauffants en remuant pour chauffer la solution à 60°Celsius.

NaOH.....1M.

Solution saline tamponnée au phosphates(PBS) 10x et laisser le mélange refroidir.

HCl .....1 M.

PBS……1ml.

Annexe 03 : Eau gélatinée

Dissoudre 0,4g de gélatine en poudre dans 100ml d'eau distillée, après chauffage et dissolution, ajouter une pincé de thymol puis filtrer et laisser refroidir.

Annexe04 : Trichrome de Masson

- Hématoxyline de Groat:

* Solution **A**:

Acide sulfurique concentré……...0,8ml .

Alun de fer……..……....1g .

Eau distillée…….....50ml .

*Solution **B**:

Hématoxyline …….……0, 5g.

Alcool 95° ……....50ml.

- Fuchsine-ponceau

Fuchsine acide…….0.1g.

Ponceau…….…….0,2g .

Eau distillée……..300ml.

Après dissolution ajouter:

Acide acétique……...0,6ml .

- Bleu d’aniline

Bleu d’aniline.....0,5g.

Eau distillée…….…….100ml.

Porter à ébullition, laisser refroidir et filtrer; ajouter:

Acide acétique ……....8ml.

Cette solution est utilisée après dilution:

Solution Mère…….….1V.

Eau distillée……..……..2V.

Annexe 5 : Solution salin tamponnée au phosphate : PBS

Solution :

Eau distillée…….800ml**.**

Na Cl…….……8g.

KCl…….……200mg.

Na2HPO…….……..1,44g.

KH2PO4…….…….……..245g.

Ajuster la solution au PH souhaité (Généralement PH=7,4).

Eau distillée……..…….1L.

summary

Biological rhythms are manifested at all organizational levels of living things, the most studied of which is the circadian rhythm, which has a period of about 24 hours. This rhythm is the result of endogenous and exogenous components. Our study targeted the nycthemeral cycle (12L / 12D) in Gerbillus tarabuli which is modified by the lengthening of the light phase (20L / 4D) alternated by a standard cycle (12L / 12D). This disturbance is characterized by an alteration of the hepatic parenchyma showing dilation of the sinusoid capillaries, proliferation of Kupffer cells, significant leukocyte infiltration, with the installation of hepatic fibrosis. This study also revealed an increase in the expression of hepatocyte myeloperoxidase (MPO) confirming the presence and activation of neutrophils. We conclude that all these observations express cellular distress and decreased liver activity.

Key words: *Gerbillus tarabuli*, circadian rhythm, liver tissue, myeloperoxidase.

ملخص

تتجلى الإيقاعات البيولوجية في جميع مستويات تنظيم الكائنات الحية ، وأكثرها دراسة هو الإيقاع اليومي ، والذي تبلغ مدته حوالي 24 ساعة. هذا الإيقاع ناتج عن مكونات داخلية وخارجية. استهدفت دراستنا دورة nycthéméral (12L / 12D) في *Gerbillus tarabuli* والتي تم تعديلها بإطالة مرحلة الضوء (20L / 4D) بالتناوب بواسطة دورة قياسية (12D / 12D)يتميز هذا الاضطراب بتغيير الحمة الكبدية التي تظهر تمدد الشعيرات الدموية الجيبية ، وتكاثر خلايا كوبفر ، وتسلل كبير في الكريات البيض ، مع تركيب تليف الكبد. كشفت هذه الدراسة أيضًا عن زيادة في التعبير عن خلايا الكبد الميلوبيروكسيديز (MPO) مما يؤكد وجود العدلات وتفعيلها. نستنتج أن كل هذه الملاحظات تعبر عن ضائقة خلوية وانخفاض نشاط الكبد.

الكلمات المفتاحية : *Gerbillus Tarabuli* ، إيقاع الساعة البيولوجية ، أنسجة الكبد ، myeloperoxidas.