



Composés bioactifs

Les grignons d'olives réduisent la cholestérolémie et la triglycéridémie et atténuent la peroxydation lipidique sérique chez le rat consommant un régime enrichi en cholestérol

Olives cake reduces cholesterolemia and triglyceridemia and attenuates serum lipid peroxidation in rats fed cholesterol-enriched diet

Sherazede BOUDERBALA¹, Adila OUGOUAG, Jihane BENMANSOUR, Khiera MADOU, Mohammed KN. AL-HITI, Malika BOUCHENAK.

Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique. Département de Biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université d'Oran. BP 1524 El M'Naouer. 31000 Oran.

Reçu le 15 avril 2014, Accepté le 29 mai 2014

¹Auteur correspondant: bsherazede@yahoo.fr

Résumé Introduction. Les résidus d'huile d'olive après extraction représentent des ressources précieuses de nutriments susceptibles d'être utilisés comme suppléments. **Objectif.** L'effet des grignons d'olives (GO) est étudié sur les teneurs en lipides et sur la peroxydation lipidique du foie et du sérum, chez des rats consommant un régime enrichi en cholestérol. **Matériel et méthodes.** Des rats mâles de souche Wistar pesant 80 ± 5 g (n=24) sont soumis pendant 28 jours à un régime contenant 20% de caséine + 1% de cholestérol (HC) supplémenté ou non avec les grignons d'olives à 2,5%, 5% et 7,5% (HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}, respectivement). **Résultats.** Les rats hypercholestérolémiques soumis aux régimes supplémentés en GO sont comparés au groupe HC. Au niveau hépatique, les teneurs en cholestérol total (CT), cholestérol libre (CL) sont significativement plus faibles chez les groupes HC-GO_{7,5} et HC-GO₅. Les teneurs en triglycérides (TG) et phospholipides (PL) sont abaissées chez les groupes HC-GO₅, HC-GO_{7,5} et HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}, respectivement (P<0,05). Au niveau sérique, le contenu en CT est 1,5-, 1,7- et 2,1-fois plus faibles chez les groupes HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. Les concentrations en CL, TG, PL sont 1,6- et 1,8-, 4,3- et 3,5-, 1,7- et 2,2-fois diminuées chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. Les teneurs sériques en substances réactives à

l'acide thiobarbiturique sont significativement plus faibles chez groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} (P<0,05). **Conclusion.** Chez le rat rendu hypercholestérolémique, les grignons d'olive semblent avoir à effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant tout en diminuant la peroxydation lipidique du sérum.

Mots clés : Rat, Cholestérol alimentaire, Grignons d'olive, Foie, Sérum, lipides, TBARS

Abstract Introduction. Olive cake, after extraction, represents precious sources of nutrients which may be used as supplements. **Objectives.** The effects of olive cake (OC) were determined on liver and serum lipids contents and lipid peroxidation in rats fed a cholesterol-enriched diet. **Material and Methods.** Male Wistar rats (n = 24) weighing 80 ± 5 g were fed a diet containing 20% casein and enriched with 1% cholesterol (HC) supplemented or not with the OC at 2.5%, 5% and 7.5% (OC_{2,5}-HC, OC₅-HC and OC_{7,5}-HC, respectively) for 28 days. **Results.** Hypercholesterolemic rats fed diet supplemented with OC was compared to HC group. In liver, total cholesterol (TC) and unesterified cholesterol (UC) values were significantly lower in HC-GO_{7,5} and HC-GO₅ groups. Triacylglycerols (TG) and phospholipids (PL) contents were decreased in HC-GO₅, HC-GO_{7,5} and HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ and HC-GO_{7,5} groups respectively (P<0.05). In serum, TC content was 1.5- 1.7- 2.1-fold lower in OC_{2,5}-HC, OC₅-HC and OC_{7,5}-HC groups. UC, TG and PL concentrations were 1.6- and 1.8-, 4.3- and 3.5- and 1.7- and 2.2-fold decreased in OC₅-HC and OC_{7,5}-HC groups. Serum thiobarbituric acid reactive substances contents were significantly decreased in OC₅-HC and OC_{7,5}-HC groups (P<0,05). **Conclusion.** In hypercholesterolemic rats, olive cake seems to have a hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects and decreases serum lipid peroxidation.

Keywords: Rat, Dietary cholesterol, Olive cake, Liver, Serum, Lipids, TBARS

Introduction

De nombreuses études se sont intéressées aux produits végétaux ainsi que leurs effets sur la prévention et/ou le traitement de certaines maladies [1]. Dans le bassin méditerranéen, la production d'huile d'olive représente un secteur économique important (environ 95% de la production mondiale) [2], dont 1% pour l'Algérie, en 2001 [3]. La production est en constante croissance, et les résidus après extraction d'huile d'olive représentent des ressources précieuses de nutriments susceptibles d'être utilisés comme suppléments. Ces résidus appelés grignons d'olive

sont composés de la peau, du résidu de la pulpe et des fragments de noyaux [4]. Ils constituent des produits importants, alors que les quantités rejetées par an sont inestimables, et deviennent, par la suite, un problème pour l'environnement écologique, en raison de leur grande disponibilité et des grandes surfaces agricoles qu'ils peuvent occuper [5]. L'effet des résidus d'olives est bien démontré. Ces produits résistent à la dégradation, puisqu'ils contiennent des polyphénols [6,7], en particulier l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'oleuropéine et l'acide caféique [8], et dont le taux diffère en fonction des saisons. De plus, les résidus d'olive sont riches en minéraux et en oligoéléments [9],

en pectines [10], en vitamines (tocophérols), en hydrocarbures (squalène) et en stérols (β -sitostérol), qui représentent un potentiel nutritionnel pour les ruminants [11]. En Algérie, aucune étude n'a été réalisée sur les résidus après extraction d'huile d'olive, d'où l'intérêt de cette étude qui consiste à déterminer leur effet sur les teneurs en lipides du foie et du sérum et sur la peroxydation lipidique, chez des rats consommant un régime enrichi en cholestérol.

Matériel et Méthodes

Détermination de la composition nutritionnelle des grignons d'olives

Les grignons d'olives (GO) sont collectés après extraction de l'huile d'olive (Ouest algérien), séchés à 60°C puis broyés finement. La composition nutritionnelle des grignons d'olives est déterminée. La teneur en sels minéraux s'obtient par incinération de l'échantillon à 550°C. Les lipides sont dosés selon la méthode de DELSAL (1944) [12]. Il s'agit d'une extraction à froid des lipides sur 1g d'échantillon en présence d'un mélange chloroforme/méthanol, (4/1, V/V). Les fibres totales sont dosées selon la méthode de Weende basée sur la solubilisation de la fraction non cellulosique dans des solutions d'acide sulfurique (H_2SO_4) et d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'analyse des protéines consiste à doser l'azote total après minéralisation selon la méthode colorimétrique de Nessler, (1957) et ensuite multipliée par un facteur conventionnel (N total x 6,25). Les polyphénols sont obtenus selon la méthode de Singleton et *al.*, [13]. La composition des grignons est présentée dans le tableau I.

Tableau I. Caractéristiques chimiques des grignons d'olives

	Grignons d'olives
Matières azotées (g/100g)	5,01 \pm 0,20
Protéines (g/100g)	31,31 \pm 1,25
Glucides (g/100g)	31,08 \pm 1,02
Fibres (g/100g)	37,11 \pm 2,14
Matières minérales (g/100g)	5,71 \pm 0,30
Lipides (g/100g)	11,96 \pm 0,43
Polyphénols (mg/g)	0,98 \pm 0,12

Des rats mâles de souche Wistar (n = 24) (Iffa Credo, l'Arbresle, Lyon, France), pesant 45 \pm 5 g sont soumis pendant 4 jours à un régime standard contenant 20% de caséine + 0,3% de méthionine, combiné à 5% d'huile de tournesol (Tableau II). Après cette phase d'adaptation, les rats sont divisés en 4 groupes: un groupe hypercholestérolémique (HC) consomme le même régime enrichi avec 1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique pendant 28 jours. Les trois autres groupes hypercholestérolémiques sont soumis au même régime enrichi avec 1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique et supplémenté avec des grignons d'olives à 2,5%, 5% et 7,5% (HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}, respectivement) pendant 28 jours.

Les animaux sont placés dans une animalerie où la température est maintenue à 22°C, avec un rythme circadien de 12h jour/ 12h nuit et une hygrométrie constante de 60%. L'eau et la nourriture sous forme de poudre sont données à volonté. Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis [14] et le protocole et l'utilisation de rats ont été approuvés par le comité d'éthique de notre Université. Afin d'évaluer la digestibilité des lipides, les six rats de chaque groupe soumis ou non au régime contenant les grignons d'olives sont placés individuellement dans des cages à métabolisme durant toute l'expérimentation. Les animaux et la quantité de nourriture ingérée sont pesés quotidiennement. Les fèces sont collectées du 21^{ème} au 28^{ème} jour de l'expérimentation, débarrassées de toute nourriture, séchées dans une étuve à 60°C, broyées et conservées à -20°C.

Prélèvement du sang et du foie

Au 28^{ème} jour de l'expérimentation, après 12 h de jeûne, 6 rats de chaque lot sont anesthésiés par injection intra péritonéale de pentobarbital sodique (6 mg/100 g de poids corporel) (Coopération Pharmaceutique Française, 77000, Melun). Le sang est prélevé par l'aorte abdominale puis recueilli dans des tubes secs et centrifugé à 4000 trs/min pendant 15 min à 4°C. Le sérum est conservé à -20°C avec de l'EDTA-Na₂ à 0,1% (P/V). Le foie est rincé avec une solution de NaCl à 0,9%, excisé, séché, pesé et conservé à -20°C.

Analyses biochimiques**Détermination des teneurs en lipides totaux**

La quantité des lipides totaux est déterminée selon la technique de Delsal (1944) [12] décrite précédemment.

Détermination des différents composants lipidiques hépatiques et sériques

Le cholestérol total (CT) et les triglycérides (TG), le cholestérol libre (CL) et les phospholipides (PL) sont déterminés respectivement par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biocon, Germany, Kit CHOD-PAP et BIOLABO SA, France et Cypress, Belgium). Le cholestérol estérifié (CE) est obtenue par différence entre CT et CL puis multiplié par 1,67 (poids moléculaire moyen d'un acide gras qui estérifie le cholestérol) pour calculer les esters de cholestérol (EC).

Mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) du foie et du sérum

Les teneurs sériques en TBARS sont déterminées par la méthode de Quintanilha *et al.*, (1982) [15] sur

0,5 mL de sérum dilué avec de l'eau distillée (qsp 1 mL) (la concentration finale en protéines est d'environ 2 mg/mL). À cette solution sont rajoutés 2 mL de mélange réactionnel contenant 0,017 mM d'acide thiobarbiturique (TBA) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) et 3,36 μ M de buthyl-hydroxy-toluène (BHT) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany). Après incubation à 100°C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace, les échantillons sont centrifugés 10 min à 2000 x g. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 535 nm. Le malondialdéhyde (MDA) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) est utilisé pour établir une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en nmol de TBARS.L⁻¹ de sérum. La peroxydation lipidique du foie est déterminée par la mesure des TBARS selon la technique d'Ohkawa *et al.*, (1979) [16] sur 100 mg de tissu sont broyés dans 0,9 mL de KCl à 1,15%. Le milieu réactionnel contient 0,2 mL d'homogénat tissulaire, 0,2 mL d'une solution contenant du sodium dodecyl sulfate (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) à 8,1% et 1,5 mL d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 mL de TBA à 0,8%

Tableau II. Composition des régimes en g/kg de régime¹

Ingrédients	Caséine	Caséine + GO 2,5%	Caséine + GO 5%	Caséine + GO 7,5%
Caséine ²	200	200	200	200
Méthionine ³	3	3	3	3
Grignon d'olive ⁴	-	25	50	75
Amidon de maïs ⁵	582	557	532	507
Saccharose ⁶	40	40	40	40
Huile de tournesol ⁷	50	50	50	50
Cellulose ⁸	50	50	50	50
Mélange vitaminique ⁹	20	20	20	20
Mélange minéral ¹⁰	40	40	40	40
Cholestérol ¹¹	10	10	10	10
Acide cholique ¹²	5	5	5	5

¹Les régimes sont iso-énergétiques et donnés sous forme de poudre. ²Prolabo-Paris France. ^{3,11,12}Merck, Darmstadt, Germany. ⁴Extrait au laboratoire. ⁵ONAB, Sidi Bel Abbès, Algérie. ⁶ENASUCRE, Sfisef, Algérie. ⁷CEVITAL, Bejaïa, Algérie. ⁸Prolabo, Paris, France. ⁹UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay, S/Orge, France), Mélange vitaminique (mg/kg de régime): Vit A, 39600UI; Vit D3, 5000UI; Vit B1, 40; Vit B2, 30; Vit B3, 140; Vit B6, 20; Vit B7, 300; Vit B12, 0,1; Vit C, 1600; Vit E, 340; Vit K 3,80; Vit PP, 200; Choline, 2720; Acide folique, 10; Acide PAB, 100; Biotine, 0,6; Cellulose qsp, 20g. ¹⁰UAR 205B (Villemoisson, 91360, Epinay, S/Orge, France), Mélange minéral (mg/kg de régime) CaHPO₄, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄, 7H₂O, 200; MnSO₄, H₂O, 98; CuSO₄, 5H₂O, 20; ZnSO₄, 7H₂O, 80; CuSO₄, 7H₂O; KI, 0,32.

sont rajoutés, le volume final est ajusté avec 4 mL d'eau distillée puis chauffé à 95°C pendant 60 min. Après refroidissement, 1 mL d'eau distillée et 5 mL d'un mélange n-butanol-pyridine (15:1, V:V) sont rajoutés dans des tubes puis sont vigoureusement agités et centrifugés à 200 x pendant 10 min. Les TBARS hépatiques sont estimés par spectrophotométrie à 532 nm, utilisant le MDA comme courbe de référence. Les résultats sont exprimés en nmol.mg⁻¹ de protéines tissulaires.

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard (M \pm ES) de 6 rats par groupe. La comparaison entre les groupes de rats hypercholestérolémiques soumis à un régime supplémenté avec des grignons d'olive (HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} respectivement) ou non (HC) est réalisée par le test 't' de student (Logiciel Statistica, Statsoft 97). Les moyennes sont considérées comme significativement différentes à P<0,05.

Résultats

Poids corporel, nourriture ingérée, digestibilité des lipides et valeurs absolue et relative du poids du foie (Tableau III)

Après 28 jours de consommation du régime supplémenté en grignons d'olives, le poids corporel est

1,5- et 1,2-fois plus faible chez les groupes HC-GO_{2,5} et HC-GO₅ respectivement, comparés au groupe HC, alors qu'aucune différence significative n'est notée chez le groupe HC-GO_{7,5}. La nourriture ingérée est 1,3-fois plus faible chez le groupe HC-GO_{2,5} comparé au groupe HC, alors qu'elle est similaire chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. L'apport en lipides et en cholestérol est semblable chez les différents groupes. L'excrétion fécale des lipides est 2,8-fois plus faible chez le groupe HC-GO₅ comparé au groupe HC, alors qu'aucune différence significative n'est notée chez les groupes HC-GO_{2,5} et HC-GO_{7,5}. Cependant, l'excrétion fécale du cholestérol est 2,9-, 2,3- et 2,4-fois plus élevée chez les groupes HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} par rapport au groupe HC. La digestibilité des lipides est semblable chez les différents groupes hypercholestérolémiques supplémentés ou non avec les grignons d'olives. Le poids du foie est significativement diminué chez les groupes hypercholestérolémiques soumis aux régimes supplémentés, respectivement avec 5 et 7,5% de grignons d'olives, comparés au groupe HC (p<0,05). Le poids relatif du foie (exprimé en g.100⁻¹ g de PC), qui renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier est 1,5-fois augmenté chez les groupes HC-GO_{2,5}, et 1,4- et 1,3-fois diminué chez HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}, respectivement comparés au groupe HC.

Tableau III. Poids corporel, nourriture ingérée, digestibilité des lipides et poids du foie

	HC	HC-GO _{2,5}	HC-GO ₅	HC-GO _{7,5}
Poids corporel (g)	230,00 \pm 10,11	150,00 \pm 11,17*	190,00 \pm 13,40*	225,00 \pm 9,50
Nourriture ingérée (g.j ⁻¹ .rat ⁻¹)	19,00 \pm 2,50	15,00 \pm 1,40*	16,00 \pm 0,90	20,00 \pm 1,17
Lipides ingérés (mg.j ⁻¹ .rat ⁻¹)	950 \pm 130	750 \pm 70	800 \pm 40	1000 \pm 60
Lipides fécaux (mg.j ⁻¹ .rat ⁻¹)	28,9 \pm 8,1	17,5 \pm 0,3	10,5 \pm 0,5*	27,0 \pm 3,6
Cholestérol ingéré (mg.j ⁻¹ .rat ⁻¹)	190 \pm 30	150 \pm 10	160 \pm 10	200 \pm 10
Cholestérol fécal (mg.j ⁻¹ .rat ⁻¹)	0,022 \pm 0,006	0,065 \pm 0,005*	0,051 \pm 0,016*	0,052 \pm 0,004*
Digestibilité des lipides (%)*	96,96	96,87	98,69	97,30
Poids du foie (g)	8,5 \pm 0,3	7,97 \pm 1,18	4,89 \pm 0,61*	6,20 \pm 0,28*
Poids relatif du foie (g.100 ⁻¹ g PC)	3,7 \pm 0,1	5,33 \pm 0,87*	2,57 \pm 0,29*	2,75 \pm 0,11*

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de student. *P<0,05. HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ ou HC-GO_{7,5}: groupes hypercholestérolémiques supplémentés, respectivement avec 2,5, 5 ou 7,5% de grignons d'olive, HC: groupe hypercholestérolémique.

*Digestibilité des lipides = [(lipides ingérés – lipides excrétés)/lipides ingérés] x 100

Tableau IV. Teneurs en lipides du foie ($\mu\text{mol.g}^{-1}$) et du sérum (mmol.L^{-1})

	HC	HC-GO _{2,5}	HC-GO ₅	HC-GO _{7,5}
Sérum				
CT	7,40±1,01	4,95±0,73*	4,28±0,56*	3,52±0,42*
TG	2,18±0,94	1,42±0,57	0,51±0,19*	0,61±0,14*
CL	0,59±0,03	0,62±0,07	0,38±0,007*	0,32±0,07*
PL	3,79±0,12	2,93±0,56	2,24±0,57*	1,68±0,58*
EC	11,20±1,77	6,73±0,95*	6,52±0,93*	5,47±0,64*
Foie				
CT	118,72±37,80	139,87±15,75	113,06±24,24	95,62±17,19*
CL	60,88±2,52	65,25±3,62	50,81±3,25*	53,25±7,62
TG	48,28±5,56	39,96±3,18	37,72±0,01*	17,66±4,43*
PL	69,56±3,52	51,35±2,24*	58,32±1,78*	50,94±9,19*
EC	129,73±32,90	124,62±23,30	127,26±1,15	54,33±17,91*

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de student. * $P < 0,05$. HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ ou HC-GO_{7,5}: groupes hypercholestérolémiques supplémentés, respectivement avec 2,5, 5 ou 7,5% de grignons d'olive, HC: groupe hypercholestérolémique. EC: esters de cholestérol, CL: cholestérol libre, CT: cholestérol total, PL: phospholipides, TG: triglycérides.

($p < 0,05$). Le poids relatif du foie (exprimé en g.100^{-1} g de PC), qui renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier est 1,5-fois augmenté chez les groupes HC-GO_{2,5}, et 1,4- et 1,3-fois diminué chez HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}, respectivement comparés au groupe HC.

Teneurs en lipides du foie et du sérum (Tableau IV)

Au niveau hépatique, les teneurs en cholestérol (CT) total ne présentent aucune différence significative chez les groupes consommant le régime supplémenté avec 2,5% et 5% de grignons d'olives, alors que les valeurs sont 1,3-fois plus faibles chez le groupe HC-GO_{7,5} comparés au groupe HC. Les concentrations en cholestérol libre (CL) sont 1,2-fois plus faibles chez le groupe HC-GO₅, comparé au groupe HC. Les teneurs en esters de cholestérol (EC) sont significativement diminuées chez le groupe HC-GO₇, comparé au groupe HC ($P < 0,05$). Les concentrations en triglycérides (TG) sont 1,3-et 2,7-fois plus faibles chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} comparés au groupe HC. Le contenu en phospholipides (PL) est réduit chez les groupes HC-GO_{2,5} (-74%), HC-GO₅ (-84%) et HC-GO_{7,5} (-73%), comparés au groupe HC. Au niveau sérique, les teneurs en CT sont réduites de 67%, 58% et 48% respectivement, chez les groupes HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} comparés au groupe HC. Les valeurs du CL sont

diminuées de 64% et 54%, respectivement chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} par rapport au groupe HC. Une diminution significative des concentrations en EC est notée chez les groupes HC-GO_{2,5} (-60%), HC-GO₅ (-58%) et HC-GO_{7,5} (-49%), comparés au groupe HC. Les valeurs des TG sont 4,3- et 3,5-fois plus faibles respectivement, chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. Les teneurs en PL sont 1,7-et 2-fois plus faibles chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} comparés au groupe HC, alors que ces valeurs ne présentent aucune différence significative chez le groupe HC-GO_{2,5}.

Teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) (Tableau V)

Comparé au groupe HC, les teneurs sériques en TBARS sont 1,4-fois plus faibles chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. Au niveau du foie, aucune différence significative n'est notée entre les différents groupes hypercholestérolémiques supplémentés ou non avec les grignons d'olives.

Discussion

Dans ce travail, l'effet des grignons d'olives sur les teneurs en lipides et sur la peroxydation lipidique du foie et du sérum est étudié chez le rat rendu hypercholestérolémique, par ingestion d'un régime

Tableau V. Teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique du foie et du sérum

	HC	HC-GO _{2,5}	HC-GO ₅	HC-GO _{7,5}
Sérum (mmol.L ⁻¹)	15,05±4,58	15,67±5,08	10,73±1,37 [*]	10,65±2,20 [*]
Foie (mmol.mg ⁻¹ protéines)	4,30±0,20	6,20±2,40	4,00±1,30	5,60±1,20

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de student. ^{*}P<0,05. HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ ou HC-GO_{7,5}: groupes hypercholestérolémiques soumis aux régimes supplémentés, respectivement avec 2,5, 5 ou 7,5% de grignons d'olive, HC: groupe hypercholestérolémique.

enrichi en cholestérol. Le modèle utilisé est le rat en croissance qui a suffisamment d'analogies avec l'espèce humaine sur le plan métabolique, souvent utilisé dans l'étude des effets des régimes alimentaires sur le métabolisme lipidique. En général, les régimes enrichis en cholestérol alimentaire entraînent une augmentation du poids corporel chez le rat [17]. Après 28 jours d'expérimentation, le poids corporel est diminué chez les groupes HC-GO_{2,5} et HC-GO₅ comparés au groupe HC, ce qui peut être dû probablement à la faible quantité de nourriture ingérée par ces animaux. Chez le groupe HC-GO_{7,5}, le poids augmente et devient similaire à celui du groupe HC, ce qui laisse suggérer que les grignons d'olive à cette dose ont bien été acceptés par le rat. Fki *et al.*, [18] ont observé une diminution du poids corporel chez les rats soumis à un régime supplémenté en cholestérol (1%) et traités avec de l'hydroxytyrosol extrait des grignons d'olive pendant 16 semaines.

Suanarunsawat *et al.*, [19] ont montré que chez le rat hypercholestérolémique, le poids du foie est 3-fois plus important comparé au rat témoin. Nos résultats montrent que le poids du foie est diminué chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. D'autre part, le poids relatif du foie qui renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme, est plus élevé chez le groupe HC-GO_{2,5}, cette augmentation est probablement due à une accumulation des lipides au niveau hépatique. Par ailleurs, le poids relatif est diminué chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} par rapport au groupe HC, ceci peut être due à la quantité des grignons d'olives contenant de l'huile riche en acide oléique et en polyphénols et qui pourrait réduire l'accumulation des lipides au niveau du foie. Le foie est le principal organe responsable du maintien de l'homéostasie du cholestérol. Plusieurs études ont montré que, chez

le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol, les teneurs hépatiques en cholestérol [19] et en triglycérides [17] sont augmentées, comparé au témoin. La consommation de grignons d'olives diminue les teneurs en CT, TG et PL au niveau du foie, en particulier chez le groupe HC-GO_{7,5} comparé au groupe HC, ce qui est probablement due à une synthèse diminuée et/ou un catabolisme augmenté du contenu hépatique en TG et en cholestérol. Plusieurs travaux ont montré l'effet du cholestérol alimentaire sur la cholestérolémie. La supplémentation des régimes alimentaires avec 0,5% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique [20] ou avec deux doses de cholestérol (0,5% et 4%) avec ou sans acide cholique [21] entraîne une augmentation du CT sérique. Nos résultats montrent que la consommation des grignons d'olives, quelle que soit la dose administrée (2,5%, 5% ou 7,5%), diminue les teneurs sériques en cholestérol, laissant suggérer que les grignons d'olives agissent sur les deux enzymes clés du métabolisme du cholestérol: l'hydroxy-méthylglutary-coenzyme A réductase, enzyme responsable de la régulation de la biosynthèse du cholestérol et la cholestérol 7 α -hydroxylase, enzyme impliquée dans la transformation du cholestérol en acides biliaires. Chez les groupes HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} comparés au groupe HC, une élimination considérable du cholestérol au niveau fécal est notée, probablement due à une baisse de l'absorption intestinale du cholestérol. De plus, nos résultats montrent une diminution des teneurs sériques en TG chez les groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}. L'effet hypotriglycéri-démiant peut être expliqué probablement par l'augmentation du catabolisme des lipoprotéines de très faible densité (VLDL), fraction qui permet l'exportation des TG hépatiques due à une augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase post-héparinée,

enzyme localisée au niveau de l'endothélium des capillaires sanguins de nombreux tissus périphériques. Cette enzyme hydrolyse les TG des VLDL en libérant des acides gras qui sont soit captés par le tissu adipeux en vue de leur stockage, ou bien captés par le muscle pour être oxydés, conduisant ainsi à la formation de particules ayant perdu les deux tiers de leur contenu en TG, appelés «remnants des VLDL» qui sont eux même captés via des récepteurs spécifiques situés au niveau du foie. Les produits collectés après extraction de l'huile d'olive contiennent des pectines [22]. Plusieurs études ont montré que les pectines contenus dans les végétaux et les fruits réduisent la cholestérolémie et augmentent l'activité de la lipoprotéine lipase du tissu adipeux qui peut être responsable de la diminution des TG sériques [23]. L'effet hypotriglycéridémiant et hypocholestérolémiant des polyphénols contenus dans les grignons d'olives est bien démontré. Chez les rats, la consommation d'un régime enrichi en cholestérol et supplémenté avec de l'oléuropéine, l'oléuropéine aglycone ou l'extrait hydroxytyrosol obtenus à partir des grignons d'olives réduisent les teneurs en CT et TG au niveau sérique [18]. Nos résultats indiquent que les doses de grignons d'olives à 2,5%, 5% et 7,5% contiennent suffisamment de polyphénols pour induire une diminution des teneurs en CT et en TG. La peroxydation lipidique, induite par les radicaux libres ou le stress oxydatif est connue dans la pathogenèse de plusieurs maladies, le niveau des TBARS étant un bon indicateur.

L'hypercholestérolémie induit non seulement l'athérosclérose, mais produit également un grand nombre de radicaux libres dans le sang et les tissus. Malgré l'activité antioxydante des grignons d'olives démontré par certains auteurs [24], nos résultats ne présentent aucune différence significative dans les teneurs en TBARS au niveau hépatique, chez tous les groupes consommant le régime à base de grignons d'olive (HC-GO_{2,5}, HC-GO₅ et HC-GO_{7,5}), alors qu'elles sont diminuées au niveau sérique chez groupes HC-GO₅ et HC-GO_{7,5} ce qui laisse suggérer que ces doses sont suffisantes pour réduire la peroxydation lipidique au niveau sérique.

Conclusion

En conclusion, il ressort de cette étude que chez le rat rendu hypercholestérolémique, la supplémentation des régimes avec les grignons d'olives, en particulier avec la dose 7,5%, entraîne une augmentation du poids corporel et réduit les teneurs en lipides dans le foie. De plus, ces grignons diminuent la cholestérolémie et la triglycéridémie et atténuent la peroxydation lipidique sérique entraînée par la consommation du cholestérol alimentaire.

Remerciements

Cette étude entre dans le cadre d'un Programme National de Recherche en Sciences fondamentales (PNR N°46) financé par L'agence Thématique de Recherche en Sciences de la Santé (ATRSS).

Conflits d'intérêts

Aucun

Références

1. Bisht K., Wagner KH., Bulmer AC. Curcumin, resveratrol and flavonoids as antiinflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology* 2009; 211:25-4.
2. Albuquerque JA., González J., García D., Cegarra J. Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two phase centrifugation method for olive oil extraction. *Waste Res* 2004; 92:195-200.
3. Lazzeri Y. Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne. Centre d'Etudes et de Recherches Internationales et Communautaires & Université Paul Cézanne Aix Marseille III. 2009; 24: 2-3.
4. Chiofalo B., Liotta L., Zumbo A., Chiofalo V. Administration of olive cake for feeding: effect on milk yield composition. *Small Ruminant Res* 2004; 55:169-6.
5. Theodora I., Andriana E., Lazou V., Sinanoglou E. Phenolic and antioxidant potential of olive wastes. *Food Chemistry* 2010; 176:88-98.

6. Ait Baddi G., Albuquerque J.A., Gonzalvez J., Cegarra J., Hafidi M. Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes. *Inter Biodeterior Biodegrad* 2004; 54:39-4.
7. Sayadi S., Allouche N., Jaoua M., Aloui F. Detrimental effects of high molecular-mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment. *Process Biochemistry* 2000; 35:725-35.
8. Cardinali A., Cicco N., Linsalata V., Minervini F., Pati S., Pieralice M., et al. Biological activity of high molecular weight phenolics from olive mill wastewater. *J Agric Food Chemical* 2010; 11:8585-90.
9. Paredes C., Cegarra J., Roig A., Sanchez-Montero MA., Bernal MP. Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agriculture purposes. *Bioresource Technology* 1999; 67:111-5.
10. Cardoso SM., Coimbra MA., Lopes da Silva JA. Calcium mediated gelation of an olive pomace pectic extract. *Carbohydrate Polymers* 2003; 52:125-33.
11. Tabera J., Guinda A., Ruiz-Rodriguez A., Senorans F.J., Ibanez E., Albi T. et al. Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves. *J Agric Food Chemical* 2004; 52:4774-9.
12. Delsal J. Nouveaux procédés d'extraction des lipides du sérum par la méthylal: application aux microdosages du cholestérol total, des phosphoaminolipides et des protides. *Bull Soc Biol* 1944; 26:99-104.
13. Singleton VL., Orthofer R., Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 1999; 299:152-78.
14. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigation. Official J 1987 L358 of 18-12-1986; Corrigendum Official J. L117 of 05-05-1987.
15. Quintanilha AT., Packer L., Davies JM., Racanelli TL., Davies KJ. Membrane effects of vitamin E deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Annals NY Academy Sci* 1982; 393:32-7.
16. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-58.
17. Xie N., Cui Y., Yin Y-N., Zhao X., Yang JW., Wang ZG., et al. Effects of two *Lactobacillus* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high-cholesterol diet. *BMC Complement Altern Med* 2011; 11:53.
18. Fki I., Sahnoun Z., Sayadi S. Hypocholesterolemic effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol recovered from olive mill waste water in rats fed a cholesterol-rich diet. *J Agric Food Chem* 2007; 55:624-31.
19. Suanarunsawat T., Ayutthaya DNA., Songsak T., Thirawarapan S., Pongshompoo S. Lipid-lowering and antioxidative activities of aqueous extracts of *ocimum sanctum* L. leaves in rats fed with a high-cholesterol diet. *Oxid Med Cell Longev* 2011; 2011:1-9.
20. Minhajuddin M., Beg ZH., Iqbal J. Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats. *Food Chem Toxicol* 2005; 43:747-53.
21. Tanaka M., Nakaya S., Kumai T., Watanabe M., Matsumoto N., Kobayashi S. Impaired testicular function in rats with diet-induced hypercholesterolemia and/or streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Endocr Res* 2005; 27:109-17.
22. Cardoso SM., Coimbra MA., Lopes da Silva JA. Calcium mediated gelation of an olive pomace pectic extract. *Carbohydr Polym* 2003; 52:125-33.
23. Hirunpanich V., Utaipat A., Morales NP., Bunyaphatsara N., Sato Y., Herunsale A., et al. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. in hypercholesterolemic rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 103:252-60.
24. Lafka TI., Lazou AE., Sinanoglou VJ., Lazos ES. Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. *Food Chem* 2010; 125:92-8.