



Société Algérienne de Nutrition

Nutr. Santé, 2015, Vol.04 N° 01, 1-43

# Nutrition & Santé

## Editorial

Vers la promotion et la qualification de la revue Nutrition & Santé

*Malika BOUCHENAK. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01:1-2*

1

## Le point sur

Impact de la nutrition précoce sur la santé à long terme

*Abdelghani YAGOUBI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01:3-5*

3

## Aliments et nutriments

Les protéines de sardine atténuent l'hyperglycémie et le stress oxydant chez le rat diabétique de type 2

*Nora BENAICHETA, Fatima Zohra LABBACI, Malika BOUCHENAK, Farida Ouda BOUKORTT. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 6-15*

6

La supplémentation en huile d'argan atténue l'hyperglycémie, la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse

*Nour El-Imene HARRAT, Zoubida Imene TAIR, Sabrina LOUALA, Faiza DEHIBA, Nabila BOUKHARI, Myriem LAMRI-SENHADJI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 16-26*

16

## Phytothérapie

Effets de l'huile de *Pinus Halepensis* sur l'hyperuricémie, la peroxydation lipidique et l'activité des enzymes antioxydantes chez le rat

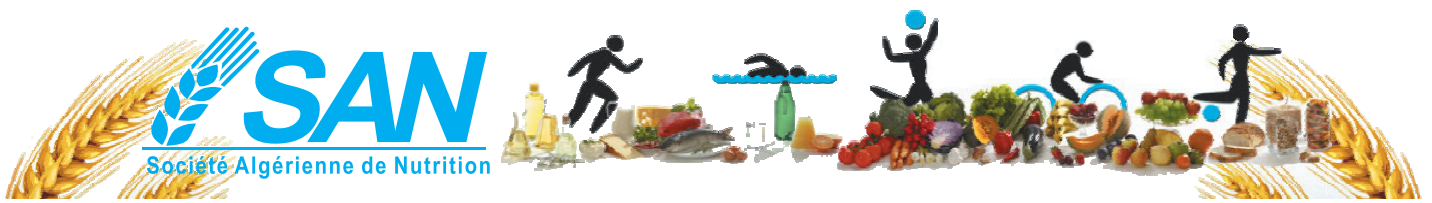
*Nesrine GDOURA, Jean-Claude MURAT, Khansa CHAABOUNI, Fatma MAKNI AYADI, Abdelfattah ELFEKI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 27-34*

27

Impact d'un extrait terpénique de gingembre sur la prolifération et le stress oxydatif des cellules cancéreuses Hep2 et des fibroblastes sains, *in vitro*

*Amina OTSMANE, Houda BENCHEIKH, Yasmina BENZAOUZ, Lynda BOUDAREN, Souhila AOUICHAT-BOUGUERRA. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 35-43*

35



# Les missions



PROMOUVOIR LA NUTRITION DANS TOUS LES DOMAINES D'APPLICATION  
santé, agronomie, agro-alimentaire, biotechnologies, environnement

CRÉER ET DÉVELOPPER DES LIENS ENTRE LA RECHERCHE FONDAMENTALE  
ET LA RECHERCHE APPLIQUÉE  
ainsi qu'avec les secteurs d'application pratique, administrative et institutionnelle  
et la population

ORGANISER OU SOUTENIR DES ACTIONS DE FORMATION, D'INFORMATION  
ET DE VULGARISATION DANS LES DOMAINES DE LA NUTRITION,  
en prenant en compte les priorités de Santé Publique

ORGANISER UNE OU PLUSIEURS RÉUNIONS SCIENTIFIQUES PAR AN  
seule ou en collaboration avec d'autres associations et organismes

SUSCITER DES TRAVAUX D'EXPERTISE COLLECTIVE

ENCOURAGER ET DIFFUSER LES INFORMATIONS ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES  
notamment par la création d'une revue

ASSURER UNE REPRÉSENTATION DES DOMAINES DE LA NUTRITION  
auprès des instances nationales et internationales

TRAVAILLER AVEC TOUTES LES INSTITUTIONS ET DÉPARTEMENTS MINISTÉRIELS  
INTÉRESSÉS PAR NOS OBJECTIFS  
pour organiser au mieux les actions et activités en nutrition

## Le bureau de la SAN

### Présidente

Malika BOUCHENAK

### Vice-Président

Elhadjahmed KOCEIR  
Djamel Eddine MEKHANCHA

### Secrétaire générale

Khedidja MEKKI  
Secrétaire ADJOINT  
Djamil KROUF

### Trésorier

Ahmed BOUALGA  
Trésorier adjoint  
Myriem LAMRI-SENHADJI

### Membres assesseurs

Souhila AOUICHAT-BOUGUERRA  
Said AZZOUG  
Mohamed BENALI  
Abbou KADDOUS  
Ali RIAZI  
Faiza ZERDOUMI  
Khaled KARA MOSTEFA

## Directeur de la publication

Société Algérienne de Nutrition

## Comité d'édition

### Présidente du comité

Malika BOUCHENAK

### Rédactrice en chef

Myriem LAMRI-SENHADJI

### Secrétaire de rédaction

Khedidja MEKKI

### Membres

Souhila AOUICHET-BOUGUERRA

Douja SENOUCI-TALEB

## Comité scientifique de la revue

### Président

Jacques BELLEVILLE, U. Dijon

### Membres

Souhila AOUICHET-BOUGUERRA, USTHB

Saïd AZZOUG, CHU Alger

Mohamed BENALI, U. Sidi Bel Abbès

Malika BOUCHENAK, U. Oran

Karim BOUZIANE NEDJADI, CHU Oran

Djamil KROUF, U. Oran

Marie-Aleth LACAILLE-DUBOIS, U. Dijon

Denis LAIRON, CHU Marseille

Myriem LAMRI-SENHADJI, U. Oran

Ascencion MARCOS, Madrid, Espagne

Corinne MEKHANCHA-DAHEL, U. Constantine

Khedidja MEKKI, U. Oran

Moncef NASRI, Sfax, Tunisie

Ali RIAZI, U. Mostaganem

ISSN 2253-0983



Société Algérienne de Nutrition  
Nutr. Santé, 2015, Vol.04 N° 01, 1-43

## Nutrition & Santé

<b>Editorial</b>	
Vers la promotion et la qualification de la revue Nutrition & Santé <i>Malika BOUCHENAK. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04, N°01:1-2</i>	1
<b>Le point sur</b>	
Impact de la nutrition précoce sur la santé à long terme <i>Abdelghani YAGHOUBI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04, N°01:3-5</i>	3
<b>Aliments et nutriments</b>	
Les protéines de sardine atténuent l'hyperglycémie et le stress oxydant chez le rat diabétique de type 2 <i>Nora BENAICHETA, Fatima Zahra LABBACI, Malika BOUCHENAK, Farida Ouda BOUKORTT. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04, N°01:6-15</i>	6
La supplémentation en huile d'argan atténue l'hyperglycémie, la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse <i>Nour El-Imene HARRAT, Zoubida Imene TAIR, Sabrina LOUALA, Faiza DEHIBA, Nabila BOUKHARI, Myriem LAMRI-SENHADJI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04, N°01:16-26</i>	16
<b>Phytothérapie</b>	
Effets de l'huile de <i>Pinus Halepensis</i> sur l'hyperuricémie, la peroxydation lipidique et l'activité des enzymes antioxydantes chez le rat <i>Nesrine GDOURA, Jean-Claude MURAT, Khansa CHAABOUNI, Fatma MAKNI AYADI, Abdelfattah ELFEKI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04, N°01:27-34</i>	27
Impact d'un extrait terpénique de gingembre sur la prolifération et le stress oxydatif des cellules cancéreuses Hep2 et des fibroblastes sains, <i>in vitro</i> <i>Amina OTSMANE, Houda BENCHEIKH, Yasmina BENAZZOUG, Lynda BOUDAREN, Souhila AOUICHAT-BOUGUERRA. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04, N°01:35-43</i>	35

Disponible en ligne: [www.nutrition-sante.dz](http://www.nutrition-sante.dz)

# SOMMAIRE

## Editorial

Vers la promotion et la qualification de la revue Nutrition & Santé  
*Malika BOUCHENAK. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01:1-2.....1*

## Le point sur

Impact de la nutrition précoce sur la santé à long terme  
*Abdelghani YAGOUBI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01:3-5..... 3*

## Aliments et nutriments

Les protéines de sardine atténuent l'hyperglycémie et le stress oxydant chez le rat diabétique de type 2  
*Nora BENAICHETA, Fatima Zohra LABBACI, Malika BOUCHENAK, Farida Ouda BOUKORTT. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 6-15.....6*

La supplémentation en huile d'argan atténue l'hyperglycémie, la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse  
*Nour El-Imene HARRAT, Zoubida Imene TAIR, Sabrina LOUALA, Faiza DEHIBA, Nabila BOUKHARI, Myriem LAMRI-SENHADJI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 16-26..... 16*

## Phytothérapie

Effets de l'huile de *Pinus Halepensis* sur l'hyperuricémie, la peroxydation lipidique et l'activité des enzymes antioxydantes chez le rat  
*Nesrine GDOURA, Jean-Claude MURAT, Khansa CHAABOUNI, Fatma MAKNI AYADI, Abdelfattah ELFEKI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 27-34.....27*

Impact d'un extrait terpénique de gingembre sur la prolifération et le stress oxydatif des cellules cancéreuses Hep2 et des fibroblastes sains, *in vitro*  
*Amina OTSMANE, Houda BENCHEIKH, Yasmina BENZAOUZ, Lynda BOUDAREN, Souhila AOUICHAT-BOUGUERRA. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 35-43..... 35*

# CONTENT

## Editorial

To promote and qualify the Nutrition & Santé review  
*Malika BOUCHENAK. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01:1-2.....1*

## The point on

Impact of early nutrition on long-term health  
*Abdelghani YAGOUBI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 3-5..... 3*

## Foods and nutrients

Sardine proteins mitigate hyperglycemia and oxidative stress in type 2 diabetic rat  
*Nora BENAICHETA, Fatima Zohra LABBACI, Malika BOUCHENAK, Farida Ouda BOUKORTT. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 6-15.....6*

Argan oil supplementation reduce hyperglycemia, dyslipidemia and oxidant stress in obese rats  
*Nour El-Imene HARRAT, Zoubida Imene TAIR, Sabrina LOUALA, Faiza DEHIBA, Nabila BOUKHARI, Myriem LAMRI-SENHADJI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 16-26..... 16*

## Phytotherapy

Effects of oil *Pinus Halepensis* on hyperuricemia, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in rat  
*Nesrine GDOURA, Jean-Claude MURAT, Khansa CHAABOUNI, Fatma MAKNI AYADI, Abdelfattah ELFEKI. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 27-34.....27*

Impact of ginger terpenic extract on proliferation and oxidative stress of *in vitro* human laryngeal squamous carcinoma cell: Hep 2 and *Rattus norvegicus* healthy fibroblasts  
*Amina OTSMANE, Houda BENCHEIKH, Yasmina BENZAOUG, Lynda BOUDAREN, Souhila AOUICHAT-BOUGUERRA. Nutr. Santé, 2015, Vol. 04.N°01: 35-43..... 35*

# 2

# ème CONGRÈS INTERNATIONAL CI-SAN 2015

## ALIMENTATION MÉDITERRANÉENNE ET SANTE

## ALGER - 2015 DU 13 AU 15 OCTOBRE

Date limite de soumission des résumés

**01 - 05 - 2015**

Date de notification

**15 - 06 - 2015**

Date d'inscription

**15 - 09 - 2015**

### **PARTENARIAT & EXPOSITION**

Si vous souhaitez participer en tant que sponsor et/ou exposant, si vous souhaitez organiser un symposium, la SAN est à votre écoute,

**[congres-nutrition@san-dz.org](mailto:congres-nutrition@san-dz.org)**



## Editorial

### Vers la promotion et la qualification de la revue Nutrition & Santé

To promote and qualify the review Nutrition & Santé

La Société Algérienne de Nutrition (SAN), par la publication de sa revue semestrielle Nutrition & Santé, souhaite offrir aux chercheurs algériens, et étrangers un espace d'expression à la mesure de leurs ambitions et de leurs domaines de recherche.

En effet, la politique du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique vise la promotion et la qualification des revues scientifiques algériennes, à l'indicateur des sociétés savantes, et/ou des institutions de recherche.

Dans ce cadre et afin de promouvoir la revue Nutrition & Santé au rang de revue de renom, visible et indexée dans des bases de données internationales, il est impératif que notre revue réponde aux critères de catégorisation C, B puis A, établis par la Commission Scientifique Nationale de Validation des Revues Scientifiques (CSNVRS). Ces critères concernent la forme et le contenu de la revue, ainsi que sa visibilité.

En effet, notre revue Nutrition & Santé répond à un certain nombre de critères de forme de la catégorie C, puisqu'elle existe depuis décembre 2012. Elle dispose d'un ISSN format papier (2253-0983) fourni par le Centre de Recherche sur l'Information Scientifique et Technique (CERIST) et d'un dépôt légal (3763-2012) au niveau de la Bibliothèque Nationale d'Algérie. En ce qui concerne la périodicité, il est impératif de s'y astreindre, tout en respectant les dates de parution des deux numéros annuels, le premier en juin et le second en décembre de chaque année. Dans les pages de présentation, les différents domaines scientifiques couverts sont mentionnés, de même que le public visé. La revue dispose d'un éditeur et d'un comité éditorial avec leur affiliation institutionnelle, ainsi que le lieu d'édition, apparaissant dans les pages de présentation de la revue. La revue N&S dispose des adresses postales et électroniques du secrétariat mentionnées dans les pages de présentation. Une feuille de style et les instructions aux auteurs sont présentées. La procédure de soumission, la numérotation des pages de chaque numéro édité, le sommaire indiquant le titre des articles, les auteurs et les pages initiales sont présentés. Dans chaque article de la revue, sont inclus l'affiliation institutionnelle des

auteurs, les dates de réception, de révision et d'acceptation, avec le résumé et les mots clés, ces deux derniers sont aussi présentés en anglais. Pour ce qui est des critères de contenu, au moins deux référés sont requis pour l'expertise de chaque article. Dans la présentation des instructions aux auteurs, la revue mentionne et exige l'originalité des travaux. Quant aux critères de visibilité, chaque numéro de la revue doit être indexé dans le portail des revues scientifiques algériennes géré par le CERIST (en cours). De même, la revue doit figurer dans le répertoire mondial des publications en série « *Ulrich's Periodicals Directory* » (en cours).

La revue Nutrition & Santé semble satisfaire à la majorité des critères correspondant à la catégorie C.

Pour la catégorie B, la revue doit satisfaire à des critères supplémentaires. Pour les critères de forme, les membres du comité éditorial de la revue dont l'affiliation institutionnelle est nationale ne doivent pas dépasser un tiers de la composante de ce comité. La présentation et la structuration de la revue doivent suivre les normes internationales (ISO). Les instructions aux auteurs doivent mentionner les formes de cession des droits d'auteurs. Chaque article de la revue doit inclure le titre, le résumé et les mots clés en anglais. Pour les critères de forme, les membres du comité éditorial doivent avoir au moins dix articles publiés dans des revues indexées dans des bases de données internationales durant leurs carrières, dont au moins cinq pour les sciences et technologie au cours des cinq dernières années. Dans chaque numéro de la revue, au plus 10 % des auteurs peuvent être membres du comité éditorial. Pour les critères de visibilité, la revue doit être indexée dans au moins une base de données bibliographique internationale.

Enfin, pour la catégorie A, la revue doit avoir

satisfait les critères de la catégorie B avec d'autres critères supplémentaires. Pour les critères de forme, les membres du comité éditorial de la revue dont l'affiliation institutionnelle est nationale ne doivent pas dépasser un tiers de sa composante. Les membres du comité éditorial sont des personnes scientifiquement reconnues à l'échelle internationale. Pour les critères de contenu, les membres du comité éditorial doivent avoir au moins dix articles publiés, durant leurs carrières, dans des revues indexées dans le Web Of Science (WOS) pour les ST, dont au moins cinq durant les cinq dernières années. Dans chaque numéro de la revue, 90 % des auteurs doivent être externes au comité éditorial. Dans chaque numéro de la revue, au moins 30% des auteurs ont une affiliation étrangère et sont hors du comité éditorial. Pour la visibilité, la revue N&S dispose d'une version électronique *via* un site web, qui est [www.nutrition-sante.dz](http://www.nutrition-sante.dz). Elle dispose aussi d'un ISSN électronique (ISSN 2353-026X) fourni par le CERIST. Le site web de la revue est mis à jour à chaque événement (nouveau numéro, changement dans le staff du comité éditorial, etc.). La revue doit adhérer au système DOI géré par l'International DOI Foundation (IDF), où chaque article doit inclure son identifiant DOI dans la revue.

Afin que la revue Nutrition & Santé puisse accéder à la catégorie A, et donc indexée dans des bases de données internationales, il est impératif que la qualité scientifique (du Comité éditorial de la revue, des nombreux référés sollicités pour l'expertise des manuscrits soumis et l'acceptation d'articles de haut niveau répondant aux domaines de la nutrition) soit indiscutable afin de pouvoir atteindre cet objectif.

Malika BOUCHENAK  
BOUCHENAK.Malika@san-dz.org





## Le point sur

### Impact de la nutrition précoce sur la santé à long terme

Impact of early nutrition on long-term health

*Abdelghani YAGOUBI*

Unité de gastroentérologie et explorations digestives pédiatriques.  
Service de pédiatrie. Etablissement public hospitalier Bologhine Ibn Ziri.  
Alger. Faculté de Médecine. Université d'Alger. Alger

Reçu le 29 novembre 2014, Révisé le 16 mars 2015, Accepté le 21 mars 2015

Email : [docyaqag@yahoo.com](mailto:docyaqag@yahoo.com)

**Mots clés :** *Nutrition, allaitement maternel, programmation, 1000 jours, prévention*

La population mondiale connaît ces dernières décennies une épidémie des maladies non transmissibles, tels que l'obésité, le diabète et les maladies cardiovasculaires (MCV). En 2012, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a recensé 56 millions de décès dans le monde, parmi lesquels 68% (38 millions de décès) étaient secondaires aux maladies non transmissibles, notamment les MCV (17,5 millions de décès) [1]. En Algérie, selon les données de l'Institut National de Santé Publique, les MCV constituent également la première cause de mortalité [2].

Malgré les importants progrès enregistrés dans leur prise en charge, la prévalence de ces pathologies ne cesse de croître, rendant leur prévention une priorité majeure, devant agir sur leur origine.

Il est actuellement admis que l'existence d'une maladie non transmissible ne peut s'expliquer que dans environ 20% par la transmission génétique et que notre santé est influencée en grande partie par des facteurs environnementaux, en particulier la nutrition.

Ce concept du rôle de l'environnement, et notamment la nutrition, sur la détermination de la santé future remonte au début des années 1970 avec les travaux de Dörner qui ont conclu à la possibilité de l'influence de la nutrition pré et/ou postnatale précoce sur le développement ultérieur de l'obésité et de l'athérosclérose [3]. Néanmoins, l'intérêt pour cette hypothèse s'est accentué avec l'étude de Barker *et al.*, (1989) [4] qui a montré une relation inversement proportionnelle entre le poids de

naissance et la mortalité par MCV à l'âge adulte. Cette étude avec d'autres qui l'ont suivi ont donné naissance à «l'hypothèse Barker» ou hypothèse sur la programmation fœtale qui stipule que «l'alimentation que reçoit un bébé de sa mère et son exposition aux infections après sa naissance détermineront sa susceptibilité aux maladies chroniques plus tard dans sa vie».

Ceci a été le point de départ de plusieurs travaux qui ont évalué l'impact de la nutrition durant la petite enfance sur l'apparition de certaines pathologies plus tard.

Plusieurs auteurs se sont intéressés à l'influence de l'allaitement maternel sur l'apparition de certaines pathologies. En effet, Gdalevich *et al.*, (2001) ont montré, dans deux méta-analyses [5,6], une baisse de l'incidence de la dermatite atopique et de l'asthme chez des enfants à risque (ayant un antécédent familial d'atopie) allaités exclusivement au lait maternel durant les trois premiers mois de vie. De même, une méta-analyse regroupant plus d'une trentaine d'études réalisées en Amérique du nord et en Europe occidentale a conclu à un rôle protecteur de l'allaitement maternel sur l'apparition de l'obésité à l'âge adulte [7]. Ceci pourrait être expliqué par la faible teneur en protéines du lait maternel (LM), comparé aux préparations pour nourrissons. En effet, le groupe d'étude européen sur l'obésité de l'enfant avait mené un essai randomisé avec 3 groupes de nourrissons : un groupe allaité avec une préparation à faible teneur en protéines (1,77 g de protéines/100 Kcal) presque égale à celle du LM (1,7 g de protéines/100 Kcal), un autre groupe allaité avec un apport protéique élevé (29 g de protéines/100 Kcal) et un 3<sup>ème</sup> groupe contrôle sous LM. La croissance staturo-pondérale de ces nourrissons a été évaluée de la naissance jusqu'à l'âge de 2 ans. Aucune différence significative n'a été notée pour la taille entre les 3 groupes, alors qu'une prise pondérale rapide a été observée durant la première année de vie et une tendance au surpoids chez le groupe avec un apport protéique élevé, comparé aux 2 autres groupes [8]. Selon Melnik *et al.*, [9], l'incidence élevée de l'allergie et de l'obésité chez les enfants non allaités au sein serait secondaire à l'apport protéique excessif des préparations pour nourrissons. Cet excès va sur-activer une protéine kinase essentielle mechanistic target of

rapamycin complex 1 (mTORC) aboutissant à une différenciation exagérée des adipocytes, ainsi qu'au déséquilibre de la balance des lymphocytes T helper en faveur de l'allergie *via* l'inhibition exagérée du forkhead box P3 (FOXP3), marqueur des lymphocytes T régulateurs. Un autre effet protecteur de l'allaitement maternel contre l'hypertension artérielle a été rapporté dans une méta-analyse [7]. Cet effet pourrait être dû aux acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC), comme il a été suggéré dans une étude randomisée ayant comparé un groupe de nourrissons sous préparation standard et un autre groupe sous préparation enrichie en acide arachidonique et en acide docosahexaénoïque (DHA). Les pressions artérielles moyenne et diastolique mesurées lors de la préadolescence étaient significativement plus élevées chez le groupe non supplémenté en AGPI-LC, avec une tendance non significative à l'augmentation de la pression artérielle systolique [10]. D'autres effets protecteurs de l'allaitement maternel ont été également rapportés vis-à-vis du développement ultérieur du diabète de type 2, de l'hypercholestérolémie et des troubles cognitifs [7].

En plus de ces travaux comparant l'allaitement maternel aux préparations pour nourrissons, des auteurs ont évalué l'impact de certains nutriments sur la santé future. Une étude s'était intéressée à l'impact de l'apport sodé chez le nouveau-né sur la tension artérielle à l'âge adulte. Elle a montré que la réduction de l'apport sodé s'accompagnait d'une fréquence moindre de l'hypertension artérielle à l'âge adulte [11]. Lozoff *et al.*, (2000) [12] ont évalué l'influence de la carence en fer chez le nourrisson sur le développement cognitif à 10 ans, et ont trouvé des tests plus bas à 10 ans dans le groupe initialement carencé.

Toutes ces études et d'autres renforcent l'idée de la programmation précoce des maladies, ce qui nécessite une action préventive au cours d'une période opportune durant laquelle une nutrition optimale permettrait le développement d'un individu sain. Cette période est celle des 1000 premiers jours de la vie, allant de la conception jusqu'au 2<sup>ème</sup> anniversaire de l'enfant. Ce concept a été adopté par l'OMS qui a lancé « le projet des 1000 jours » conduit par des experts mondiaux dans les domaines des sciences de la santé et de l'économie et qui vise à garantir une alimentation

adéquate pour les populations, notamment les enfants des pays en voie de développement, afin de leur assurer une bonne santé durable. Il apparaît donc nécessaire que tous les acteurs qui s'intéressent à la santé de la population s'unissent pour permettre la réussite de cette prévention. Celle-ci passe par quelques actions fondamentales, i.e. une alimentation adéquate des femmes en âge de procréer, la promotion de l'allaitement maternel et une bonne conduite de la diversification alimentaire des nourrissons et des petits enfants. L'aboutissement de ces actions permettrait d'asseoir de bonnes habitudes alimentaires qui joueraient un rôle important dans la baisse de la morbidité et de la mortalité par les maladies non transmissibles.

### Conflit d'intérêts

Aucun

### Références

1. Organisation mondiale de la santé. Morbidité et mortalité des maladies non-transmissibles. [http://www.who.int/gho/ncd/mortality\\_morbidity/en/](http://www.who.int/gho/ncd/mortality_morbidity/en/).
2. Belamri S. Principales causes de décès en Algérie – Année 2010. Infos santé : Bulletin d'information de santé publique. Mars 2014. N° 07. <http://www.and.s.dz/insp/insp-accueil.htm>.
3. Gluckman PD., Hanson MA. Developmental plasticity and the developmental origins of health and disease. In: Newnham JP, Ross MG (eds): Early Life Origins of Human Health and Disease. Basel, Karger, 2009, pp 1–10.
4. Barker DJP., Winter PD., Osmond C., Margetts B., Simmonds SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *The lancet* 1989;334:577-80.
5. Gdalevich M., Mimouni D., David M., Mimouni M. Breast-feeding and the onset of atopic dermatitis in childhood: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:520-7.
6. Gdalevich M., Mimouni D., Mimouni M. Breastfeeding and the risk of bronchial asthma in childhood: A systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr* 2001;139:261-6.
7. Horta BL., Bahl R., Martines JC., Victoria CG. Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic reviews and meta-analyses. World Health Organization. 2007.
8. Koletzko B, Von Kries R, Closa R., Escribano J., Scaglioni S., Giovannini M. *et al.* Lower protein in infant formula is associated with lower weight up to age 2 y: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1836–45.
9. Melnik BC. The potential mechanistic link between allergy and obesity development and infant formula feeding. *Allergy Asthma Clin Immunology* 2014;10:37.
10. Forsyth JS., Willatts P., Agostoni C., Bissenden J., Casaer P., Boehm G. *et al.* Long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infant formula and blood pressure in later childhood: follow up of a randomised controlled trial. *BMJ* 2003;326:953-7.
11. Geleijnse JM., Hofman A., Witteman JCM., Hazebroek AAJM., Valkenburg HA., Grobbee, DE. Long-term effects of neonatal sodium restriction on blood pressure. *Hypertension* 1997;29:913-7.
12. Lozoff B., Jimenez E., Hagen J., Mollen E., Wolf AW. Poorer behavioral and developmental outcome more than 10 years after treatment for iron deficiency in infancy. *Pediatrics* 2000; 105: e51-e61.



## Aliments et nutriments

### Les protéines de sardine atténuent l'hyperglycémie et le stress oxydant chez le rat diabétique de type 2

Sardine proteins mitigate hyperglycemia and oxidative stress in type 2 diabetic rat

Nora BENAICHETA<sup>1</sup>, Fatima Zohra LABBACI, Malika BOUCHENAK, Farida Ouda BOUKORTT

Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université d'Oran1. BP 1524 El M'Naouer, 31000 Oran, Algérie.

Reçu le 26 novembre 2014, Révisé le 22 mars 2015, Accepté le 9 avril 2015

<sup>1</sup> Auteur correspondant : [nbenaicheta@gmail.com](mailto:nbenaicheta@gmail.com) (BENAICHETA Nora)

**Résumé Introduction.** Le diabète s'accompagne d'un stress oxydant favorisant le développement de la maladie. **Objectif.** L'effet des protéines de sardine (PS) est déterminé sur l'équilibre glycémique, et le statut antioxydant chez des rats présentant un diabète de type 2. **Matériel et méthodes.** Des rats mâles consomment un régime hyperlipidique (RH) pendant 5 semaines, suivi de l'injection d'une faible dose de streptozotocine. Les rats diabétiques (n = 24) sont répartis en 4 groupes et sont soumis à un régime à 20% de caséine (CAS) ou de PS associées à 5 ou 30% de lipides (RH-CAS ou RH-PS), pendant 28 jours. **Résultats.** Une réduction du glucose sérique, de l'HbA1c et de l'insulinémie est notée chez le groupe PS vs CAS. De plus, l'indice HOMA-IR diminue chez le groupe PS vs CAS associé à 5 ou 30% de lipides. Des concentrations élevées en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont notées avec RH au niveau du cœur et des reins. Les teneurs en carbonyles sont augmentées au niveau de tous les organes chez le groupe RH-CAS vs CAS, alors que les PS entraînent une diminution des teneurs en TBARS et en carbonyles au niveau des tous les organes. Chez le groupe RH-CAS vs CAS, l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxidase (GPx) est réduite au niveau de tous les organes, et celle de la catalase (CAT) au niveau du foie et des reins. De plus, l'activité de la SOD et de la GPx est réduite au niveau des reins chez le groupe RH-PS vs PS, alors que les PS

augmentent l'activité de toutes les enzymes tissulaires, quelle que soit la teneur en lipides dans le régime. **Conclusion.** Les PS améliorent l'équilibre glycémique et atténuent les marqueurs du stress oxydant en stimulant l'activité des enzymes antioxydantes tissulaires.

**Mots clés :** Rat, régime hyperlipidique, protéines de sardine, diabète de type 2, stress oxydatif, enzymes antioxydantes

**Abstract Introduction.** Diabetes is accompanied by oxidative stress favoring the disease development. **Objectives.** This study was undertaken to investigate the effect of sardine proteins on glycemic control and antioxidant status, in type 2 diabetic rats. **Material and Methods.** Male rats fed with high fat diet (HF, 30% lipids) for 5 weeks, and injected intraperitoneally with low dose of streptozotocin, were used. Diabetic rats (n=24) were divided into 4 groups and fed casein (CAS) or sardine proteins (SP) combined with 5 or 30% lipids, for 28 days. **Results.** Serum glucose, HbA1c and insulinemia decreased in SP vs CAS. In CAS-HF vs CAS, high values were observed in *thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)* of heart and kidney and in carbonyls of all tissues. In contrast, SP lowered TBARS and carbonyls in all tissues. In CAS-HF vs CAS, decreased activity was observed in superoxide dismutase (SOD), glutathion reductase (GSSH-Red), glutathione peroxidase (GPx), and catalase (CAT) in liver and kidney. In SP-HF vs SP, SOD and GPx activities were reduced in kidney. In contrast, SP with 5 or 30% lipids increased SOD, GPx, GSSH-Red and CAT activities in all tissues. **Conclusion.** SP improve glycemic control and attenuate oxidative stress by increasing antioxidant enzymes activities.

**Key words:** Rat, high fat diet, sardine proteins, type 2 diabetes, oxidative stress, antioxidant enzymes

## Introduction

Le diabète sucré, en particulier le diabète de type 2 (DT2), l'un des facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (MCV), représente un enjeu majeur de santé publique. Sa prévalence a augmenté de façon exponentielle au cours des 20 dernières années et selon les prévisions de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 350 millions de personnes dans le monde seront touchées par cette pathologie en 2020 [1]. Cette prévalence augmente en raison d'une prédisposition génétique couplée à une modification rapide du mode de vie.

Les phénomènes physiopathologiques menant au DT2 et aux MCV peuvent être modulés par le régime alimentaire. En effet, les acides gras polyinsaturés oméga-3 et les protéines de poisson ont des effets bénéfiques sur plusieurs facteurs de

risque des MCV. Plusieurs études ont été effectuées afin d'observer les effets de la protéine de poisson sur le métabolisme de l'insuline et du glucose. Il a été démontré, notamment, que la consommation des protéines de morue améliore la sensibilité du muscle à l'insuline, chez des patients insulino-résistants [2] et augmentent l'absorption du glucose, chez des rats normoglycémiques [3]. Ce phénomène a été également observé chez des rats obèses [4]. De plus, des études ont rapporté que les protéines de sardine entraînent une réduction de la glycémie et de l'HbA1c chez des rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine [5].

De nombreuses études suggèrent que le diabète s'accompagne d'un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie, en perturbant l'insulino-sécrétion, en favorisant l'insulino-résistance et les complications cardiovasculaires

qui y sont associées. Ce stress oxydant est dû à une rupture de l'équilibre entre les molécules oxydantes et les systèmes de défense antioxydants [6]. En effet, il a été montré que l'hyperglycémie induit la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) *via* plusieurs mécanismes : auto-oxydation du glucose, voie des polyols, glycation avancée des protéines [7]. Ces ERO réagissent sur les molécules lipidiques, protéiques, glucidiques et nucléiques, à l'origine des complications dégénératives de la maladie [8]. A ce jour, très peu d'études se sont intéressées aux effets des protéines de poisson sur le stress oxydatif accompagnant le diabète. Celle qui existe rapporte l'effet bénéfique des protéines de poisson sur le stress oxydatif, chez des rats hypertendus et diabétiques [9].

Dans cette optique, l'objectif de cette étude est donc d'examiner si les protéines de sardine purifiées sont susceptibles d'atténuer les perturbations de l'homéostasie glucidique ainsi que le stress oxydatif chez des rats présentant un diabète de type 2.

## Matériel et méthodes

### Préparation des protéines de sardine

Les protéines de sardine sont isolées à partir des filets de sardine selon la méthode de Undeland *et al.*, (2002) [10]. Cent g de farine de sardine délipidée sont dilués dans 1 L d'eau distillée glacée. Le pH est ajusté à 10,8 avec de la soude (2N), sous agitation, afin de solubiliser les protéines. Le mélange est centrifugé à 4°C à 10.000 x g, pendant 40 min afin d'éliminer les composés non solubles. Le culot contenant les protéines est récupéré et séché à l'étuve à 45°C, pendant 2 jours. Les protéines sont broyées, pesées et conservées dans un bocal hermétiquement fermé au frais. Les protéines purifiées contiennent 92% de protéines, 0,2% de lipides et 4,8% de sels minéraux.

### Animaux et régimes

Des rats mâles de souche Wistar (Institut Pasteur, Alger) (n = 24), pesant 260±25 g sont utilisés dans cette étude. Les animaux sont maintenus dans une animalerie dans des conditions environnementales standard (23±1°C, 55±5% d'humidité

et un cycle de lumière de 12h jour/nuit) et sont soumis à un régime standard (ONAB) (Office National de l'aliment de Bétail, Oued Tlalat, Oran). Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis [11].

Le diabète est induit par un régime hyperlipidique contenant 30% de lipides dont 67% d'acides gras saturés provenant du beurre, combinés à 20% de caséine pendant 5 semaines. A la fin de cette période, une injection intrapéritonéale d'une faible dose de streptozotocine (STZ) (35 mg/kg de poids corporel (PC)) diluée dans du tampon citrate (0,05 mol/L, pH 4,5) est administrée aux rats. L'hyperglycémie est confirmée 48 heures après injection de STZ, sur un prélèvement sanguin effectué au niveau de la veine de la queue en utilisant un glucomètre (Glucotrend, Meylan, Germany). Les rats diabétiques sélectionnés sont, ensuite, répartis en 4 groupes de 6 rats chacun et reçoivent pendant 28 jours des régimes contenant 20% de caséine ou de protéines de sardine, combinées soit à 5% d'un mélange d'huiles (huile de tournesol 0,1% ; olive 3,9% ; noix 1%) (CAS, PS) ou à 30% de lipides (beurre) (RH-CAS, RH-PS).

La composition pondérale des régimes est présentée dans le Tableau I. Les régimes et l'eau sont donnés à volonté.

### Prélèvement des échantillons sanguins et des organes

Après 28 jours d'expérimentation, les 4 groupes de rats sont anesthésiés, après 12 h de jeûne, par injection intrapéritonéale d'une solution de chloral à 10% (300 mg/kg PC). Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale dans des tubes contenant 0,1% d'EDTA-Na<sub>2</sub> et centrifugé à 1000 x g pendant 20 min à 4°C. Le sérum est récupéré. Les organes (foie, cœur, reins) sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0,9% et pesés. Le sérum et les organes sont conservés à -70°C.

### Analyses biochimiques

#### Détermination du glucose, insuline, hémoglobine glycosylée (HbA1c) et indice HOMA-IR

La teneur en glucose est déterminée par méthode enzymatique (Kit Spinreact, Spain). Le dosage de

l'insuline s'effectue selon une technique immuno-enzymatique (kit EIA, Spi-Bio, France).

L'HbA1c est déterminée par méthode chromatographique sur microcolonne (kit Biosystem, Spain). Après préparation de l'hémolysat, la fraction labile est éliminée. Les hémoglobines sont retenues par une résine échangeuse de cations. L'HbA1c est spécifiquement éluée après élimination par lavage de la fraction HbA1a+b, et quantifiée par spectrophotométrie à 415 nm. La proportion d'HbA1c est donnée en pourcentage de l'hémoglobine totale dans l'échantillon.

L'Homeostasis model assessment (HOMA-IR) permet de mettre en évidence une insulino-résistance périphérique. Il est calculé par la formule suivante :  $[\text{Glycémie (mmol/L)} \times \text{Insulinémie (\mu U/mL)}] / 22,2$  [12].

**Tableau I. Composition pondérale et énergétique des régimes (g/kg de régime)**

Composition	CAS	PS	RH-CAS	RH-PS
Caséine <sup>1</sup>	200	-	200	-
Protéine de sardine	-	200	-	200
Saccharose <sup>2</sup>	50	50	50	50
Amidon <sup>3</sup>	590	590	340	340
Cellulose <sup>1</sup>	50	50	50	50
Vitamines <sup>4</sup>	20	20	20	20
Sels minéraux <sup>7</sup>	40	40	40	40
Huiles <sup>6</sup> (olive <sup>7</sup> , tournesol <sup>8</sup> , noix <sup>9</sup> )	50	50	-	-
Beurre <sup>10</sup>	-	-	300	300
Energie (MJ)	15,92	15,92	21,15	21,15

Les régimes sont donnés sous forme de poudre. <sup>1</sup>Prolabo, Paris, France. <sup>2</sup>Enasucré, Sfisef, Algérie <sup>3</sup>ONAB, sidi Bel Abbés, Algérie. <sup>4</sup>UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/Orge, France). Composition du mélange vitaminique(mg/kg) : rétinol, 12; inositol, 300; cyanocobalamine, 0,1; acide ascorbique, 1600; dl- $\alpha$ -tocophérol, 340; ménadione, 80; acide nicotinique, 200; acide para-aminobenzoïque, 100; acide folique,10; biotine,0,6. <sup>5</sup>UAR 205 B (Villemoisson, 91360, Epinay/Orge, France). Composition du mélange minéral (g/kg de régime) : Ca, 4 ; K, 2,4 ; Mg, 0,4; Fe, 0,12 ; éléments (traces) : Mn, 0,032 ; Cu, 0,005 ; Zn, 0,018 ; Co, 0,00004 ; I, 0,00002, complété à 40000 avec la cellulose. <sup>6</sup>Le mélange d'huile est constitué de : 3,9% d'huile d'olive, 1% d'huile de tournesol, et 1% d'huile de noix avec un rapport n-6 /n-3=7. <sup>7</sup>Huile d'olive, IFRI, Bejaïa, Algérie. <sup>8</sup>Cevital, Bejaïa, Algérie. <sup>9</sup>Cauvin, France. <sup>10</sup>Beurre en vrac, Oran, Algérie.

### **Dosage du cholestérol total et triglycérides du foie et du sérum**

Les lipides totaux du foie sont extraits avec un mélange chloroforme : méthanol (2 : 1, v : v) selon la technique de Delsal (1944) [13]. Les

concentrations en cholestérol total (CT) et en triglycérides (TG) du sérum et de l'extrait lipidique du foie sont déterminées par méthode colorimétrique enzymatique (kits Spinreact, Espagne). La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 500$  nm.

### **Détermination des marqueurs du stress oxydatif**

#### *Dosage tissulaire des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)*

La peroxydation lipidique au niveau tissulaire est déterminée par la mesure des TBARS, selon la technique de Salih *et al.*, 1987 [14]. Les homogénats tissulaires sont préparés à raison de 100 mg de tissu broyé dans 1,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10%. Le milieu réactionnel contient 0,25 ml d'homogénat, 0,25 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) (0,02 M) et 10  $\mu$ L du buthylhydroxytoluène (BHT à 1  $\mu$ g/mL d'éthanol). L'incubation dans des tubes à vis bouchés se fait à 100°C pendant 30 min. Les tubes sont placés dans un bain glacé pendant 45 min. La concentration en TBARS est mesurée à 532 nm et les résultats sont exprimés en  $\mu$ mol/g de tissu. La concentration en TBARS est déterminée par la formule suivante :  $C (\mu\text{moles de MDA /g}) = \text{densité optique} \times 10^4 \times \text{pesée}^{-1} \times \text{volume TCA} \times 0,641 \times 1/2 \text{ dilution}$ .

#### *Dosage des dérivés carbonylés tissulaires*

Le dosage des dérivés carbonylés tissulaires se fait selon la méthode de Levine *et al.*, (1990) [15] en utilisant le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH). 100 mg de tissu sont homogénéisés dans 2,4 mL de tampon incubés pendant 15 min à température ambiante et ensuite centrifugés à 11000 x g. Dans 2 tubes, sont déposés 100  $\mu$ L d'homogénat ou 100 $\mu$ L de sérum. Dans l'un des tubes, sont ajoutés, soit 0,5 mL d'HCl (2,5 M) (blanc échantillon), soit 0,5 mL de DNPH (10 mM) (à l'abri de la lumière). L'incubation se fait pendant 1h à température ambiante à l'obscurité en agitant toutes les 10-15 min. 0,5mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 20% est ajouté dans chaque tube. Après homogénéisation, les tubes sont centrifugés à 11000 x g, 3 min à 20°C. Le surnageant est éliminé et le culot (contenant le DNPH, seulement) est lavé 3 fois avec 1 mL d'un mélange éthanol-acétate d'éthyle (1 : 1, v : v), puis centrifugé. Le surnageant

est éliminé à chaque fois. Les protéines précipitées sont dissoutes dans 0,6 mL d'une solution de guanidine 6M et incubées 15 min à 37°C. Une centrifugation à 11000 x g pendant 3 min, permet d'éliminer les débris insolubles. Un spectre d'absorption est réalisé entre 250 et 300 nm et la différence de DO entre blanc (traité avec HCl) et échantillon est estimée. Le contenu en dérivés carbonyles est calculé en utilisant un coefficient d'absorption molaire  $\epsilon = 22000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Les concentrations en protéines totales sont déterminées par la méthode de Lowry *et al.*, (1951) [16].

#### Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes tissulaires

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD), de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion réductase (GSSH-Red) est déterminée par méthode enzymatique (Kits Cayman Chemical Compagny). L'activité de la catalase est mesurée selon la méthode de Aebi, (1974) [17] par mesure du taux de décomposition du  $\text{H}_2\text{O}_2$  à une longueur d'onde égale à 420 nm.

#### Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard ( $M \pm ES$ ) de 6 rats par groupe. Après analyse de variance (ANOVA), la comparaison des moyennes entre les 4 groupes de rats diabétiques est réalisée par le test LSD, à l'aide du logiciel STATISTICA (Version 6.0, Statsoft, USA). Les moyennes sont considérées comme significativement différentes lorsque  $P < 0,05$ . \*PS vs CAS, \*RH-PS vs RH-CAS, #RH-PS vs PS, #RH-CAS vs CAS.

## Résultats

#### Glucose sérique, insulïnémie, HbA1c et HOMA-IR

Le régime hyperlipidique associé à la CAS comparé au régime normolipidique induit une augmentation de 37% de l'indice HOMA-IR. Par ailleurs, le régime hyperlipidique associé aux protéines de sardine comparé au régime contenant 5% de lipides entraîne une

augmentation du glucose sérique (+87%) et de l'insulïnémie (+106%), ainsi que de l'indice HOMA-IR (+132%).

**Tableau II. Glucose sérique, insulïnémie, HOMA-IR et HbA1c**

Composition	CAS	PS	RH-CAS	RH-PS
Glucose sérique (mmol/L)	21,35 $\pm$ 2,83	7,75 $\pm$ 0,41 <sup>†</sup>	23,15 $\pm$ 1,71	14,49 $\pm$ 2,07 <sup>#</sup>
Insuline (ng/ml)	1,69 $\pm$ 0,13	0,82 $\pm$ 0,25 <sup>†</sup>	1,92 $\pm$ 0,14	1,69 $\pm$ 0,13 <sup>#</sup>
HOMA-IR	36,88 $\pm$ 1,94	10,73 $\pm$ 2,54 <sup>†</sup>	50,54 $\pm$ 4,14 <sup>#</sup>	24,90 $\pm$ 1,50 <sup>#</sup>
HbA1c (%)	12,41 $\pm$ 1,73	7,36 $\pm$ 0,36 <sup>†</sup>	11,70 $\pm$ 1,51	8,32 $\pm$ 0,84 <sup>†</sup>

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test LSD (Least significant difference test)\* PS vs CAS, RH-PS vs RH-CAS, #RH-CAS vs CAS, #RH-PS vs PS.

Les protéines de sardine montrent une diminution significative du glucose sérique, du taux d'HbA<sub>1c</sub> et de l'indice HOMA-IR, quelle que soit la teneur en lipides dans le régime (5% ou 30%). De plus, la concentration sérique en insuline diminue de 51% chez le groupe PS vs CAS (Tableau II).

#### Teneurs sériques et hépatiques en cholestérol total (CT) et triglycérides (TG)

Les concentrations sériques et hépatiques en CT et en TG sont augmentées significativement chez les rats consommant le régime hyperlipidique, comparé à ceux soumis au régime normolipidique. A l'inverse, une diminution significative des teneurs en CT et TG est observée chez le groupe PS vs CAS associé à 5% ou 30% de lipides dans le régime (Tableau III).

**Tableau III. Concentrations sériques et hépatiques en CT et TG**

	CAS	PS	RH-CAS	RH-PS
<b>Sérum</b>				
TC (mmol.L <sup>-1</sup> )	3,18 $\pm$ 0,37	1,90 $\pm$ 0,12 <sup>†</sup>	4,71 $\pm$ 0,73 <sup>#</sup>	2,51 $\pm$ 0,44 <sup>#</sup>
TG (mmol.L <sup>-1</sup> )	1,75 $\pm$ 0,22	1,06 $\pm$ 0,20 <sup>†</sup>	3,51 $\pm$ 0,43 <sup>#</sup>	1,97 $\pm$ 0,58 <sup>#</sup>
<b>Foie</b>				
TC ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	17,00 $\pm$ 1,05	12,28 $\pm$ 1,25 <sup>†</sup>	29,92 $\pm$ 1,21 <sup>#</sup>	16,01 $\pm$ 1,15 <sup>#</sup>
TG ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	24,15 $\pm$ 1,55	16,50 $\pm$ 3,70 <sup>†</sup>	35,65 $\pm$ 2,33 <sup>#</sup>	19,89 $\pm$ 1,30 <sup>#</sup>

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test LSD (Least significant difference test)\* PS vs CAS, RH-PS vs RH-CAS, #RH-CAS vs CAS, #RH-PS vs PS.

#### Teneurs tissulaires en TBARS

Le RH vs le régime normolipidique, quelle que soit la protéine associée, entraîne une augmentation significative des concentrations en TBARS au

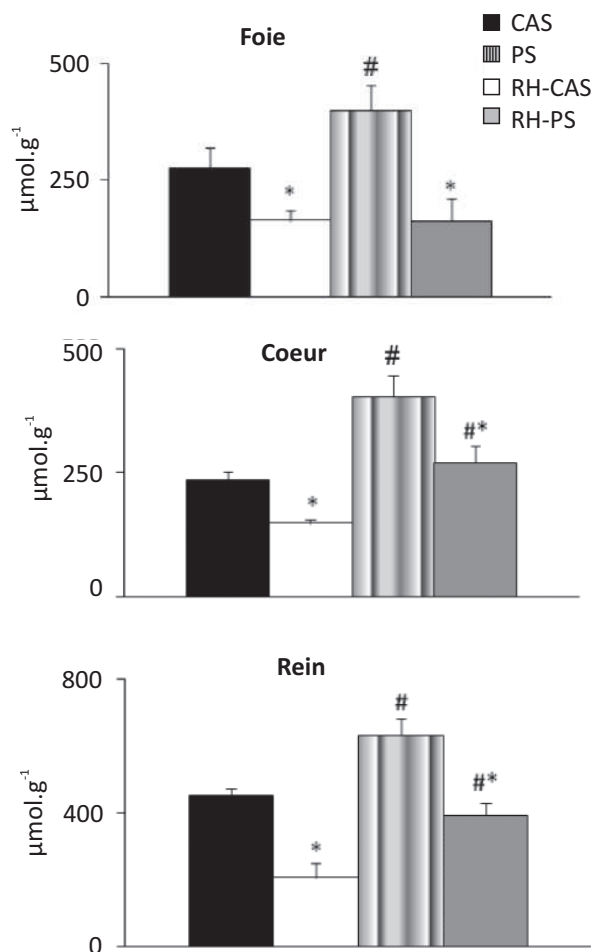


niveau du cœur et des reins. De plus, ces teneurs sont 1,4-fois plus élevées au niveau du foie chez le groupe RH-CAS.

Les PS, combinées à 5 ou 30 % de lipides, diminuent significativement ces concentrations au niveau du foie (-41% et -59%, respectivement), du cœur (-37% et -33%, respectivement) des reins (-54% et -38%, respectivement) (Fig. 1).

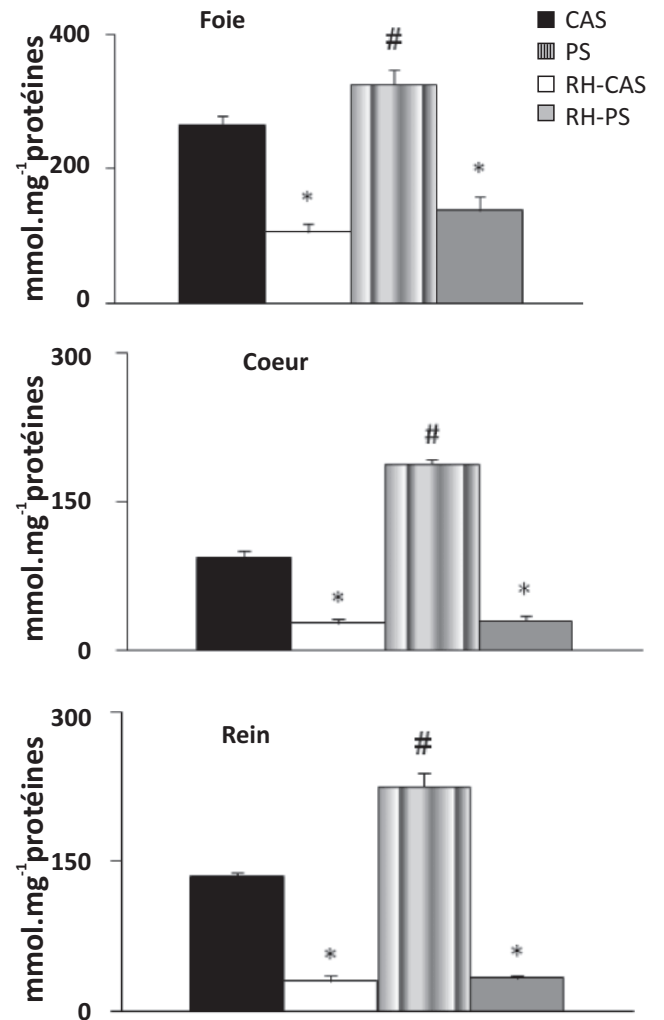
### Teneurs tissulaires en carbonyles

Les teneurs en carbonyles sont augmentées significativement de 22%, 102% et 67% au niveau du foie, du cœur et des reins, respectivement, chez le groupe RH-CAS comparé au groupe CAS. Les protéines de sardine comparées à la caséine entraînent une diminution significative des teneurs en carbonyles au niveau de tous les organes, quelle que soit la teneur en lipides dans le régime (5 ou 30% de lipides) (Fig. 2).



**Fig. 1. Teneurs tissulaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test LSD (Least significant difference test) \* PS vs CAS, RH-PS vs RH-CAS, # RH-CAS vs CAS, # RH-PS vs PS.



**Fig. 2. Teneurs tissulaires en carbonyles**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test LSD (Least significant difference test) \* PS vs CAS, RH-PS vs RH-CAS, # RH-CAS vs CAS, # RH-PS vs PS.

### Activité des enzymes antioxydantes au niveau du foie, du cœur et des reins

L'activité de la SOD est diminuée significativement au niveau du foie (-47%), du cœur (-27%) et des reins (-32%), chez RH-CAS vs CAS. Par ailleurs, chez le groupe RH-PS vs PS, l'activité de la SOD est réduite de 56% au niveau des reins. Inversement, cette activité est augmentée significativement au niveau du foie (+58%), du cœur (+93%) et des reins (+63%), chez le groupe PS vs CAS. D'autre part, chez RH-PS vs RH-CAS, l'activité de la SOD augmente au niveau du foie (+194%) et du cœur (+28%) (Fig.3).

Une diminution significative de l'activité de la GPx est observée au niveau du foie (-65%) et des reins (-25%), chez RH-CAS vs CAS. De même, cette activité est diminuée au niveau du rein (-20%), chez le

groupe RH-PS vs PS. Une augmentation significative de la GPx est notée au niveau du foie (+79%), du cœur (+51%) et des reins (+50%), chez le groupe PS vs CAS, et chez le groupe RH-PS vs RH-CAS, foie (+424%), cœur (+73%) et reins (+81%) (Fig. 3).

L'activité de la GSSH-Red diminue au niveau du foie (-39%), du cœur (-29%) et des reins (-39%), chez le groupe RH-CAS vs CAS. En revanche, cette activité augmente chez le groupe consommant les PS, quelle que soit la quantité de lipides dans les régimes, au niveau du foie et des reins (Fig. 3).

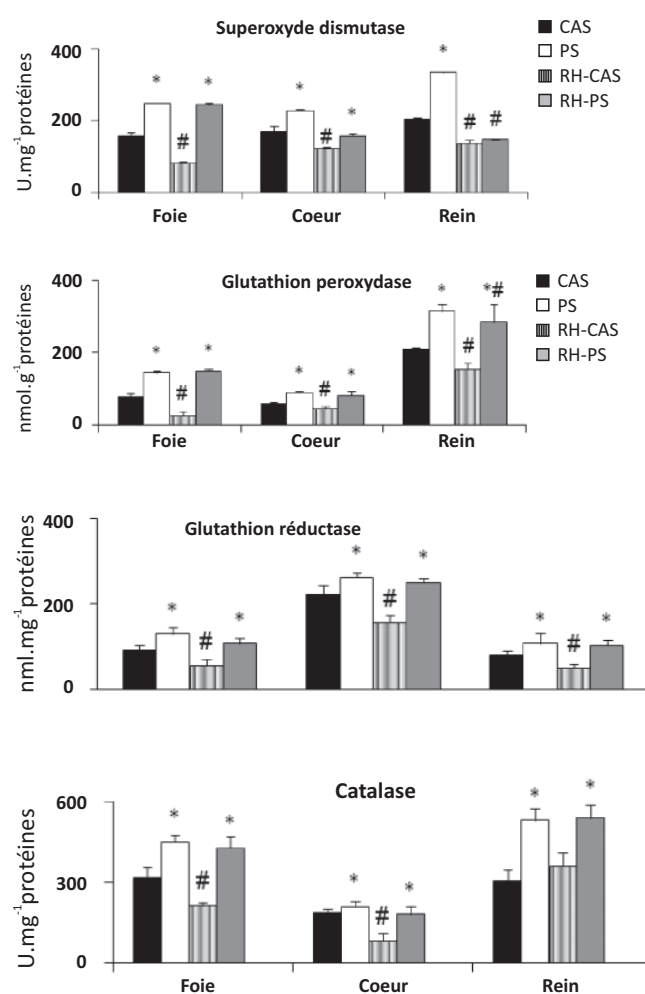
L'activité de la catalase est diminuée significativement au niveau du foie (-33%) et du cœur (-51%), chez le groupe RH-CAS vs CAS, alors que celle des reins ne montre aucune différence significative. En revanche, l'activité de la catalase est augmentée significativement au niveau du foie (+41%), du cœur (+98%) et des reins (+74%), chez le groupe PS vs CAS. Par ailleurs, chez le groupe RH-PS vs RH-CAS, l'activité de la catalase est augmentée au niveau du foie (+99%), du cœur (+184%) et des reins (+48%) (Fig. 3).

## Discussion

Le but de ce travail est d'évaluer si les protéines de sardine peuvent améliorer les marqueurs de l'hyperglycémie et le stress oxydatif chez des rats présentant un diabète de type 2. Dans cette étude, le DT2 est induit par l'ingestion d'un régime hyperlipidique, pendant 5 semaines, suivi de l'injection d'une faible dose de STZ. La pathogenèse du DT2 est caractérisée par l'insulino-résistance et la dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques [18].

Les résultats montrent que les protéines de sardine ont un effet hypoglycémiant, indiquant ainsi leur rôle bénéfique sur l'hyperglycémie. Ces résultats concordent avec ceux de Hurley *et al.*, (1995) [19] et Lavigne *et al.*, (2000) [3] qui rapportent que la consommation des protéines de poisson, en l'occurrence la protéine de morue, améliore la sensibilité du muscle à l'insuline et augmente l'absorption du glucose, chez des rats normoglycémiques. Ce phénomène a été également observé chez des rats obèses [4] et chez l'homme [2]. En effet, dans ce travail, l'effet hypoglycémiant noté serait probablement directe-

ment lié à la composition en acide aminés des protéines. Joydeep *et al.*, (2012) [20] ont rapporté une diminution de la glycémie avec l'administration de taurine, chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane. En effet, la protéine de sardine est riche en taurine [21], ce qui permet d'expliquer l'effet hypoglycémiant de ces protéines. De plus, l'apport en arginine pourrait également favoriser une meilleure régulation glycémique [22], par l'intermédiaire de l'oxyde nitrique (NO) qui influence la captation du glucose. D'autre part, la composition des protéines de sardine en méthionine, en cystéine et en glycine [23] peut être responsable de cet effet. Sutochama *et al.*, (2002) [24] ont rapporté que l'administration de l'alanine, la glycine, l'acide aspartique et l'acide glutamique diminuent la glycémie, chez des patients diabétiques de type 2.



**Fig. 3. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires**  
Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. Après ANOVA, la comparaison des moyennes est réalisée par le test LSD (Least significant difference test) \* PS vs CAS, RH-PS vs RH-CAS, # RH-CAS vs CAS, # RH-PS vs PS.

Par ailleurs, les protéines de sardine entraînent une réduction de l'insulinémie et une amélioration de l'insulino-résistance, par augmentation de l'indice HOMA-IR. Ces résultats sont en accord avec ceux de Lavigne *et al.*, (2000) [3] et Tremblay *et al.*, (2003) [4]. L'effet protecteur des protéines de sardine pourrait probablement être lié à l'augmentation de la sensibilité à l'insuline des tissus périphériques, essentiellement le muscle [4], et par la diminution de la sécrétion de l'insuline pancréatique ou par l'augmentation de l'extraction hépatique de l'insuline [3]. De plus, nos résultats indiquent une diminution de l'HbA1c, chez les rats consommant les protéines de sardine, quelle que soit la teneur en lipides (5 ou 30% de lipides). Ces résultats sont en accord avec nos travaux antérieurs [5] montrant une diminution de l'HbA1c, chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Le diabète s'accompagne également d'une dyslipidémie, caractérisée par une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie. Nos résultats révèlent que la consommation d'un régime hyperlipidique entraîne une augmentation des teneurs en cholestérol et en triglycérides sériques et hépatiques. Des résultats similaires sont observés par Choi *et al.*, (2007) [25] et Jang *et al.*, (2008) [26]. À l'inverse, les PS entraînent une hypocholestérolémie qui pourrait être liée à la diminution de la synthèse endogène de cholestérol et l'inhibition de son absorption au niveau intestinale [27]. De plus, comparée à la caséine, la composition des protéines de sardine en taurine, en méthionine, en cystéine et en glycine [21] est faible, et la diminution du rapport lysine/arginine [23] laisse suggérer l'effet hypocholestérolémiant des protéines de sardine. Par ailleurs, les PS induisent une hypotriglycéridémie, résultant probablement d'une diminution de la synthèse hépatique des TG. En effet, le faible taux de synthèse des TG est positivement corrélé avec leur taux de circulation. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs [28,29].

Le stress oxydatif induit par le diabète est associé à une réduction du statut antioxydant, d'où une augmentation des effets délétères dus aux radicaux libres [30]. En effet, les systèmes de défense antioxydante enzymatiques, tels que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase et non enzymatiques (glutathion,

vitamines C et E) sont altérés au cours du diabète [6].

Une augmentation des concentrations en TBARS et carbonyles est notée au niveau du foie, du cœur et des reins, chez les rats soumis à un régime hyperlipidique. Cependant, les protéines de sardine entraînent une diminution de la concentration en TBARS, qui sont les marqueurs de la peroxydation lipidique les plus utilisés. Une diminution des concentrations tissulaires en carbonyles est aussi notée. Ces résultats sont probablement dus à une inhibition de la génération des radicaux libres oxygénés, secondaire à la réduction de la glycémie et de la glycation de l'hémoglobine avec les protéines de sardine.

Une augmentation de l'activité de la SOD, la GPx, la GSSH-Red et la CAT est notée au niveau du foie, du cœur et des reins, chez les rats consommant les protéines de sardine, quel que soit le contenu en lipides (5 ou 30%). Ces résultats concordent avec ceux de nos travaux précédents [9] rapportés chez le rat hypertendu rendu diabétique par la STZ.

## Conclusion

Chez le rat diabétique, le régime hyperlipidique induit une hyperglycémie associée à une augmentation de l'indice HOMA-IR et de l'HbA1c. De plus, une augmentation des marqueurs du stress oxydatif et une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes sont notées. Cependant, les protéines de sardine diminuent l'hyperglycémie, l'insulinémie, l'indice HOMA-IR et le taux d'HbA1c, rendant compte d'une amélioration de l'homéostasie glucidique. De même, les protéines de sardine atténuent le stress oxydatif en stimulant l'activité des enzymes antioxydantes.

Ainsi, les protéines de sardine pourraient ouvrir de nouvelles perspectives de recherche de substances protectrices contre les dommages métaboliques et oxydatifs induits par le diabète.

## Remerciements

Cette étude a été financée par la Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique (DGRS-DT) du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRS).

## Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt par rapport à cette étude.

## Références

1. Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047-53.
2. Ouellet V., Marois J., Weisnagel S.J., Jacques H. Dietary cod protein improves insulin sensitivity in insulin-resistant men and women: a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2007;30:2816-21.
3. Lavigne C., Marette A., Jacques H. Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278:491-500.
4. Tremblay F., Lavigne C., Jacques H., Marette A. Dietary cod protein restores insulin-induced activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and GLUT4 translocation to the T-tubules in skeletal muscle of high-fat-fed obese rats. *Diabetes* 2003;52:29-37.
5. Mellouk Z., Ait Yahia D., Boukourt FO., Benai-cha N., Madani Z., Bouchenak M. Dietary sardine (*Sardina pilchardus*) protein attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and ameliorates tissue morphology changes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metab Funct Res Diab* 2009;2:45-54.
6. Maritim AC., Sanders RA., Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Molec Toxicol* 2003;17:24-38.
7. Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J.L., Théron P., Peynet J., Legrand A., Delattre J. Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm Fr* 2004; 62:147-57.
8. Rains JL., Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011;50:567-75.
9. Boukourt FO., Girard A., Prost J., Ait Yahia D., Bouchenak M., Belleville J. Fish protein improves the total antioxidant status of streptozotocin-induced diabetes in spontaneously hypertensive rats. *Med Sci Monit* 2004;10:397-404.
10. Undeland I., Kelleher S.D., Hultin H.O. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. *J Agric Food Chem* 2002;50:7371-9.
11. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Off J Eur Communities (JO86/609/CEE)* 1986; L358:1-28.
12. Matthews DR., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
13. Delsal J. Nouveau procédé Down regulation d'extraction des lipides du sérum par le méthylal. Application aux microdosages du cholestérol, des phosphoaminolipides et des protéines. *Bull Soc Chim* 1944; 26: 99-105.
14. Salih A.M., Smith D.M., Price J.F., Dawson L.E. Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation. *Poult Sci* 1987; 66:1483-8.
15. Levine RL., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Clement I., Lenz A.G. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186:464-78.
16. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
17. Aebi H. Methods of Enzymatic Analysis. Seconded. Verlagchemie, Weinheim, Germany, 1974;673-84.
18. Kahn S.E., Hull R.L., Utzschneider K.M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006;444:840-6.
19. Hurley C., Galibois I., Jacques H. Fasting and postprandial lipid and glucose metabolisms are modulated by dietary proteins and carbohydrates : Role of plasma insulin concentrations. *J Nutr Biochem* 1995;6:540-6.
20. Joydeep D., Vandana V., Parames C., Sil P.C.

- Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012;258:296-8.
21. Shirai N., Terayama M., Takeda H. Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine "*Sardinops melanostictus*". *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol* 2002;131:387-93.
  22. Flynn NE., Meininger CJ., Haynes TE. The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. *Biomed Pharmacother* 2002;56:427-38.
  23. Spielmann J., Noatsch A., Brandsh C., Stangl Gl., Eder K. Effect of various dietary arginine and lysine concentrations on plasma and liver cholesterol concentrations in rats. *Ann Nutr Metab* 2008;53:223-33.
  24. Sutochama KN., Lakshmi S., Punitham R., Arokiasamy T., Sukuman B., Ramakishman S. Effect of oral supplementation of free amino acids in type 2 diabetic patients. A Pilot clinical trial. *MedSci Monit* 2002;8:131-7.
  25. Choi I., Seog H., Park Y., Kim Y., Choi H. Suppressive effects of germinated buckwheat on development of fatty liver in mice fed with high-fat diet. *Phytomed* 2007;14:563-7.
  26. Jang A., Srinivasan P., Lee NY., Song HP., Lee JW., Lee M. Comparison of hypolipidemic activity of synthetic gallic acid-linoleic acid ester with mixture of gallic acid and linoleic acid on high-fat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc mice. *Chem Biol Interact* 2008;174:109-117.
  27. Hosomi R., Fukunaga K., Arai H., Kanda S., Nishiyama T., Yoshida M. Fish protein decreases serum cholesterol in rats by inhibition of cholesterol and bile acid absorption. *J Food Sci* 2011;76;4:116-21.
  28. Boukourt FO., Girard A., Prost J., Belleville J., Bouchenak M. Les protéines de poisson modulent le métabolisme des triglycérides ainsi que les activités de la triglycéride lipase hépatique et des lipoprotéines lipases tissulaires, chez le rat spontanément hypertendu (SHR) et le SHR diabétique. *Arch Mal Cœur*; 2006;99:727-31.
  29. Demonty I., Deshaies Y., Lamarche B., Jacques H. Cod protein lowers the hepatic triglyceride secretion rate in the rat. *J Nutr*; 2003; 133: 1398-402.
  30. Kumar G., Banu GS., Murugesan AG. Effect of *Helicteresisora* bark extracts on heart antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin diabetic rats. *J App Biomed* 2008;6:89-95.

## Aliments et nutriments

### La supplémentation en huile d'argan atténue l'hyperglycémie, la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse

Argan oil supplementation reduces hyperglycemia, dyslipidemia and oxidant stress in obese rats

Nour El-Imene HARRAT, Zoubida Imene TAIR, Sabrine LOUALA, Nabila BOUKHARI, Faiza DEHIBA, Myriem LAMRI-SENHADJI<sup>1</sup>

Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université d'Oran 1. BP 1524 El M'Naouer. 31000 Oran.

Reçu le 28 décembre 2014, Révisé le 20 mars 2015, Accepté le 12 avril 2015

<sup>1</sup>Auteur correspondant : SENHADJI.Myriem@san-dz.org

**Résumé Introduction.** L'huile d'argan (HA) est reconnue pour ses propriétés pharmacologiques et utilisée en médecine traditionnelle. Les preuves scientifiques, peu nombreuses, laissent suggérer une réduction du risque cardiovasculaire. **Objectif.** Vérifier si la supplémentation en HA dans un régime hyperlipidique améliore l'équilibre glycémique et atténue la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse. **Matériel et méthodes.** Des rats mâles Wistar sont rendus obèses avec un régime à 40% de graisses de mouton. Au poids corporel (PC) moyen de 350 g, les rats répondeurs sont divisés en 2 groupes (n=6) consommant chacun pendant 28 jours un régime hyperlipidique supplémenté ou non en HA : le groupe obèse traité (OT) reçoit de l'HA par gavage ( $1 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ de PC} \cdot \text{j}^{-1}$ ), alors que le groupe obèse non traité (ONT) est gavé avec de l'eau distillée dans les mêmes conditions et sert de contrôle. **Résultats.** A J28, chez OT vs ONT, une réduction du PC (-14%) et des teneurs sériques en glucose (-13%), hémoglobine glyquée (-18%), insuline (-78%), cholestérol total (-48%) et en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (-34%) et TBARS hépatiques (-66%) est notée. Les teneurs sériques et urinaires en isoprostanes sont diminuées (-45% et -11%, respectivement). Le statut antioxydant total du tissu adipeux est augmenté de 29%. La supplémentation en HA réduit respectivement les valeurs de l'acide urique et de l'albumine sérique de 45% et 11%, alors que la teneur sérique en fer est élevée (+40%). **Conclusion.** Chez le rat obèse, l'huile d'argan semble avoir des propriétés hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antioxydantes.

**Mots clés :** *Rat, Obésité, Huile d'argan, Equilibre glycémique, Dyslipidémie, Stress oxydant*

**Abstract Introduction.** Argan oil (AO) is known for its pharmacological properties and has been used in traditional medicine. A few scientific evidence suggest a reduction of cardiovascular risk. **Objective.** To determine if AO supplementation in a high fat diet could improve glycemic control and reduce dyslipidemia and oxidative stress in obese rats. **Materials and methods.** Wistar male rats were rendered obese with 40% sheep fats. At 350 g of body weight (BW), responders rats were divided into two groups (n=6), consuming high fat diet supplemented or not with AO during 28 days: treated obese (TO) group received daily AO by gavage (1 mL.100 g<sup>-1</sup> BW.d<sup>-1</sup>), while obese untreated (UTO) group was fed distilled water under the same conditions and used as control. **Results.** At d28, in TO vs UTO, a reduction of BW (-14%) and serum contents of glucose (13%), glycated hemoglobin (-18%), insulin (-78%), total cholesterol (-48%) and thiobarbituric acid reactive substances (-34%) and TBARS liver (-66%) was observed. Serum and urinary isoprostanes concentrations were decreased (-45% and -11%, respectively). Total antioxidant status was increased by 29% in adipose tissue. Argan oil supplementation decreased serum uric acid and albumin concentrations (-45% and -11%, respectively), whereas, iron was increased by 40%. **Conclusion.** In obese rats, argan oil seems to have hypoglycemic, hypocholesterolemic and antioxidant properties.

**Keys words:** *Rat, Obesity, Argan oil, Glycemic balance, Dyslipidemia, Oxidative stress*

---

## Introduction

Le lien entre l'alimentation et le développement de certaines pathologies, tels que l'hypertension artérielle, le diabète, les maladies cardiovasculaires (MCV) et certains cancers est aujourd'hui bien établi [1]. L'obésité constitue un facteur de risque indépendant d'insulino-résistance, de diabète, de dyslipidémies et de pathologies cardiovasculaires [2] et évolue vers l'épidémie à travers le monde [3]. Le stress oxydatif est un autre facteur indépendant du risque cardiovasculaire (RCV) qui s'ajoute aux autres facteurs de risque, et en particulier à la surcharge pondérale et à l'obésité. Cette dernière peut être considérée comme un état inflammatoire caractérisé par une augmentation du stress oxydant. En effet, chez les sujets obèses, les marqueurs du stress oxydatif et de l'inflammation sont plus élevés comparés à

ceux des sujets normopondéraux [4].

Les modèles animaux d'obésité nutritionnelle ont permis de mettre en évidence le rôle des régimes hyperlipidiques dans le développement de plusieurs maladies liées à l'alimentation [5]. Chez le rat Wistar, un régime hyperlipidique consommé pendant deux mois entraîne une augmentation de la prise alimentaire, du poids corporel (PC) et une accumulation des lipides dans le tissu adipeux (TA), une dyslipidémie et une hyperglycémie [6-9].

La prévention et le traitement des MCV ont suscité un grand nombre de travaux visant à modifier les facteurs de risque associés [10]. Le traitement de l'obésité s'appuie aujourd'hui sur une approche globale, pluri- et interdisciplinaire, basée sur des programmes d'éducation thérapeutique et reposant essentiellement sur une approche diététique, physique et psychologique [11]. Les bénéfices des huiles végétales sur le RCV ont été

démontrés dans de nombreuses études. La consommation d'huile d'olive à long terme, explique en grande partie la faible prévalence des MCV dans les populations méditerranéennes [12]. Les sources alimentaires d'acides gras mono-insaturés (AGMI), d'acides gras polyinsaturés (AGPI) et composés antioxydants sont nombreuses et se retrouvent principalement dans les huiles végétales, comme l'huile de tournesol (riche en AGPI) comprenant essentiellement l'acide linoléique, source de vitamine (vit) E, l'huile d'olive (riche en AGMI, en particulier l'acide oléique et l'huile de noix (riche en AGPI, comme l'AG linoléique et  $\alpha$ -linoléique, et en vit E), et dans d'autres huiles [13] comme l'huile d'argan (HA). Cette dernière est de loin le produit le plus précieux provenant de l'arganier.

L'arganier (*Argania spinosa*) de la famille des sapotacées est un arbre endémique du Maroc où il constitue le troisième arbre le plus commun. L'arganier se localise au sud atlantique marocain (région d'Agadir) où il forme une région forestière (région de l'arganier), dont la surface boisée est de l'ordre de 821.8000 ha. Des colonies isolées se localisent également à l'ouest de l'Algérie (Tindouf et Béchar). En effet, quelques plantations d'arganier existent dans la région de Stidia, wilaya de Mostaganem [14] mais sa culture n'est toujours pas valorisée. Les qualités diététiques et médicales de l'HA sont responsables de la place importante qu'elle occupe sur le marché des huiles. En effet, elle est citée aujourd'hui comme étant l'huile la plus chère au monde. La consommation d'HA est recommandée dans la réduction du RCV et la prévention de l'obésité. En effet, celle-ci est reconnue pour ses propriétés pharmacologiques et a été depuis des siècles utilisée en médecine traditionnelle. Les preuves scientifiques peu nombreuses déduites à partir d'études expérimentales, d'observations et d'essais d'intervention suggèrent une réduction du RCV à travers un mécanisme biologique passant par des effets sur la pression artérielle, les lipides sanguins et le stress oxydant. D'autres études révèlent que l'HA de par sa richesse en composés bioactifs pourrait être utilisée pour prévenir la progression des MCV par athérosclérose [15,16].

Ainsi, cette étude a pour but de vérifier les bénéfices éventuels de la supplémentation d'un

régime hyperlipidique en huile d'argan sur l'hyperglycémie, la dyslipidémie et quelques marqueurs du statut oxydant et antioxydant, chez le rat rendu obèse.

## Matériel et méthodes

### Animaux et régimes

Des rats mâles de souche Wistar (Institut Pasteur d'Alger, Algérie), pesant  $180 \pm 10$  g et âgés de 8 semaines sont soumis pendant 3 mois à un régime obésogène à 40% de graisses de mouton, élaboré à partir d'un régime commercial (Office National de l'Aliment de Bétail (ONAB) et contenant 17% de protéines.

**Tableau I. Composition pondérale et énergétique du régime hyperlipidique<sup>1</sup>**

Ingrédients	Régime hyperlipidique	
	Composition pondérale g/kg de régime	Composition énergétique MJ/kg de régime
Caséine <sup>2</sup>	200	3,65
Amidon <sup>3</sup>	450	7,53
Sucre <sup>4</sup>	40	0,67
Graisse de mouton <sup>5</sup>	200	7,53
Cellulose <sup>6</sup>	50	-
Sels minéraux <sup>7</sup>	40	-
Vitamines <sup>8</sup>	20	-

<sup>1</sup>Le régime est hyperlipidique et hypercalorique (19,08MJ/Kg) est donné sous forme de poudre. <sup>2</sup> Prolabo, Paris France<sup>3</sup> ONAB (Office Nationale de l'Alimentation du Bétail), Sidi Bel Abbès, Algérie. <sup>4</sup> Sucre blanc cristallisé Cévital, Bejaia, Algérie. <sup>5</sup> marché publique (Es-sénia, Oran). <sup>6</sup> Prolabo-Paris, France. UAR 205 B (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France). <sup>7</sup>Sels minéraux (mg/kg de régime) CaHPO<sub>4</sub>, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO, 420; MgSO<sub>4</sub>, 2000; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 120; FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 200; MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O, 98; CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O, 20; ZnSO<sub>4</sub> 80; CuSO<sub>4</sub> 80; CuSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O; KI, 0.32. <sup>8</sup> UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France). <sup>7</sup>Vitamines (mg/kg de régime): Vit A, 39600 UI; 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 paraaminobenzoïque, 180; Biotine, 0,6; cellulose, qsp, 20g.

Au poids corporel (PC) moyen de 350 g, les rats répondeurs (n=12) sont divisés en 2 groupes homogènes et consomment chacun pendant 28 jours un régime hyperlipidique supplémenté ou non en HA. Le groupe obèse traité (OT) reçoit quotidiennement de l'HA par gavage à raison de 1 mL.100g<sup>-1</sup>PC. Le groupe obèse non traité (ONT) est gavé avec de l'eau distillée dans les mêmes



conditions et sert de contrôle. L'huile d'argan utilisée dans notre étude est une huile vierge végétale (Ovargan Bio, Casablanca, Maroc) possédant une valeur énergétique de 805 Kcal.100<sup>-1</sup>mL et contient 45% d'AGMI, 36% d'AGPI, 18% d'acide gras saturés (AGS) et 55 mg de vit E.

La composition pondérale et énergétique du régime hyperlipidique est présentée dans le Tableau I.

Les animaux sont placés dans une animalerie où la température est maintenue à 25°C avec un rythme circadien de 12h jour/12h nuit et une hygrométrie moyenne de 55%. La nourriture en poudre et l'eau du robinet sont données *ad libitum*. Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis [17]. Les animaux sont pesés hebdomadairement et la nourriture ingérée est estimée quotidiennement. Les six rats de chaque groupe sont placés individuellement dans des cages à métabolisme, les urines sont collectées durant 3 jours, du 25<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour et sont recueillies sur un antiseptique (thymol-isopropanol à 10% P/V, Merck, Germany) puis filtrées et conservées à 4 °C.

### **Prélèvements des échantillons de sang, du foie et du tissu adipeux**

Au 28<sup>ème</sup> jour de l'expérimentation, après 12 heures de jeûne, les rats de chaque groupe sont pesés puis anesthésiés par injection intrapéritonéale d'une solution de chloral (PRS Panreac, E-08110 Montcadai, Barcelone, Espagne) à raison de 0,1 mg.100 g<sup>-1</sup> PC. Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale puis recueilli dans des tubes secs. Les échantillons sanguins sont centrifugés à 1000 x g pendant 20 min à 4°C (Sigma, 4K10 Bioblock Scientific, Germany). De l'éthylène diamine tétraacétique disodium (EDTA-Na<sub>2</sub>, Merck, Germany) à 0,1% (P/V) et de l'azide de sodium à 0,02 % sont rajoutés au sérum comme conservateurs. Les organes (foie et tissu adipeux viscéral et épидидymaire) sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution glacée de NaCl à 0,9% (P/V), excisés, séchés et sont ensuite pesés. Tous les échantillons sont conservés à -70°C jusqu'aux analyses.

### **Dosages biochimiques**

#### ***Mesure de la cholestérolémie et la triglycéridémie***

Les teneurs sériques en cholestérol total (CT) et en triglycérides (TG) sont déterminées par des méthodes colorimétriques enzymatiques (Kits Biocon, Germany).

#### ***Détermination de la glycémie, l'hémoglobine glyquée et l'insulinémie***

La teneur sérique en glucose est déterminée par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Spinreact, Santa Coloma, Espagne) et est exprimée en mmol.L<sup>-1</sup>.

La mesure du degré de glycosylation de l'hémoglobine est réalisée par une méthode chromatographique (Kit Bio Systems, Costa Brava, Espagne). Après avoir préparé un hémolysât, dont la fraction labile est éliminée, les hémoglobines sont retenues par une résine échangeuse de cations. L'hémoglobine A1c (HbA1c) est éluée de façon spécifique, après élimination par lavage de l'hémoglobine A1<sub>a+b</sub> (HbA1<sub>a+b</sub>) et est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda = 450$  nm. La concentration relative de l'HbA1c est estimée par rapport à la concentration d'hémoglobine totale et déterminée également par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda = 415$  nm. Le taux d'hémoglobine glycosylée est exprimé en %.

La concentration de l'insuline sérique est estimée par une technique immuno-enzymatique (EIA kit, Spi-Bio, Bertin group, Montigny Le Bretonneux, France), basée sur la compétition entre l'insuline libre et l'acétylcholinestérase (AChE) sur des sites spécifiques de l'insuline contenant l'anti-sérum du cochon d'inde. L'AChE réagit avec le réactif d'Ellman (contenant le substrat enzymatique de l'AChE et un chromogène) et les deux forment un composé coloré en jaune. L'intensité de cette coloration est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda = 405$  nm. L'insulinémie est exprimée en ng.mL<sup>-1</sup>.

France), basée sur la compétition entre l'insuline libre et l'acétylcholinestérase (AChE) sur des sites spécifiques de l'insuline contenant l'anti-sérum du cochon d'inde. L'AChE réagit avec le réactif d'Ellman (contenant le substrat enzymatique de l'AChE et un chromogène) et les deux forment un

composé coloré en jaune. L'intensité de cette coloration est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda = 405 \text{ nm}$ . L'insulinémie est exprimée en  $\text{ng.mL}^{-1}$

### **Mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) du sérum, foie et tissu adipeux**

Les teneurs en TBARS au niveau sérique sont déterminées par la méthode de Quintanilha *et al.* [18]. Le malondialdéhyde (MDA) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) est le principal marqueur de la détermination des radicaux libres. Cent  $\mu\text{L}$  d'échantillon sont dilués dans 0,9 mL de NaCl puis à cette solution, 20  $\mu\text{L}$  de buthyl-hydroxy toluene (BHT) (BHT 2% dans de l'éthanol) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) et 1 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) (TBA 0,375% dans du HCl à 0,5N en concentration finale d'acide trichloroacétique (TCA à 15%) sont rajoutés. Après incubation à 85°C pendant 30 min et refroidissement dans de la glace, les échantillons sont centrifugés à 2000 x g pendant 10 min, à 4°C (Sigma, 4K10 Bioblock Scientific, Germany). La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda = 535 \text{ nm}$ . Le MDA est utilisé pour établir une courbe d'étalonnage. Le contenu en TBARS est exprimé en  $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ .

Au niveau du foie et du tissu adipeux, les TBARS sont estimées selon la technique d'Ohkawa *et al.* (1979) [19]. Cent 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 SDS à 8,1% et 1,5 mL d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 mL de TBA à 0,8% sont rajoutés, le volume final est ajusté avec 4 mL d'eau distillée. Le mélange est ensuite agité pendant 30 sec et chauffé à 95°C pendant 1 h dans un bain marie. Un mL d'eau distillée et 5 mL de butanol sont ensuite rajoutés. Les tubes sont agités vigoureusement et centrifugés à 1000 x g pendant 10 min. Les TBARS tissulaires sont estimés par spectrophotométrie ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ ). Les résultats sont exprimés en  $\text{mmol de MDA.g}^{-1}$  de protéines tissulaires.

### **Dosage des isoprostanes sériques et urinaires**

Les teneurs des isoprostanes sériques et urinaires sont déterminées par une méthode immuno-enzymatique compétitive (kit Oxford Biomedical Research, USA) (ELISA) pour déterminer les niveaux de 15 isoprostane  $F_{2T}$  dans 100  $\mu\text{L}$  d'échantillon biologique (sérum et urines). Le 15-Isoprostane  $F_{2T}$  dans les échantillons ou les standards concourent avec le 15-Isoprostane  $F_{2T}$  conjugué à la peroxydase de raifort (HRP) pour se lier à un anticorps polyclonal spécifique de 15-isoprostane  $F_{2T}$  déposé sur la microplaque. Les résultats de l'activité HRP développe une couleur lorsque le substrat est ajouté, et son intensité est proportionnelle à la quantité du 15-isoprostane  $F_{2T}$  lié et est inversement proportionnelle à la quantité du 15-isoprostane  $F_{2T}$  non conjugué dans les échantillons ou les standards. La lecture se fait à 450 nm à l'aide d'un lecteur Elisa (Anthos Zenyth 200 rt).

### **Evaluation du statut antioxydant total**

Le statut antioxydant total est déterminé sur microplaque par méthode colorimétrique (kit Oxford Biomedical Research, USA) dans le sérum, le foie et le tissu adipeux. Une concentration connue de Trolox est utilisée pour la courbe d'étalonnage.

### **Dosage sérique de l'acide urique, du fer et de l'albumine**

L'acide urique est déterminé par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biolabo, Paris, France). L'acide urique présent dans l'échantillon donne en présence d'uricase, un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie. La lecture se fait à une longueur d'onde de 546 nm.

Le fer sérique est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biolabo, Paris, France). Après rupture de la liaison fer-transferrine en présence d'acide citrique, le fer  $\text{Fe}^{3+}$  est réduit par l'acide ascorbique en ions  $\text{Fe}^{2+}$ . Les ions  $\text{Fe}^{2+}$  forment avec le 3-(2-Pyridyl)-5,6-difuryl-1,2,4-triazine-disulfonate, (Férène) un complexe coloré, dont l'absorbance, mesurée à 600 nm est

en présence d'acide citrique, le fer  $Fe^{3+}$  est réduit par l'acide ascorbique en ions  $Fe^{2+}$ . Les ions  $Fe^{2+}$  forment avec le 3-(2-Pyridyl)-5,6-difuryl-1,2,4-triazine-disulfonate, (Férene) un complexe coloré, dont l'absorbance, mesurée à 600 nm est directement proportionnelle à la concentration en fer dans l'échantillon. La thiourée contenue dans le réactif permet de prévenir l'interférence du cuivre.

La concentration de l'albumine sérique est dosée par une méthode colorimétrique (Kit Spinreact, Santa Coloma, Spain). L'albumine présente dans l'échantillon donne après sa liaison avec le vert de bromocresol, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 630$  nm.

### Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de Moyenne  $\pm$  Erreur Standard ( $M \pm ES$ ) de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test 't' de Student (Statistica version 5, '97, France) entre le groupe traité avec l'huile d'argan (OT) et le groupe non traité (ONT).

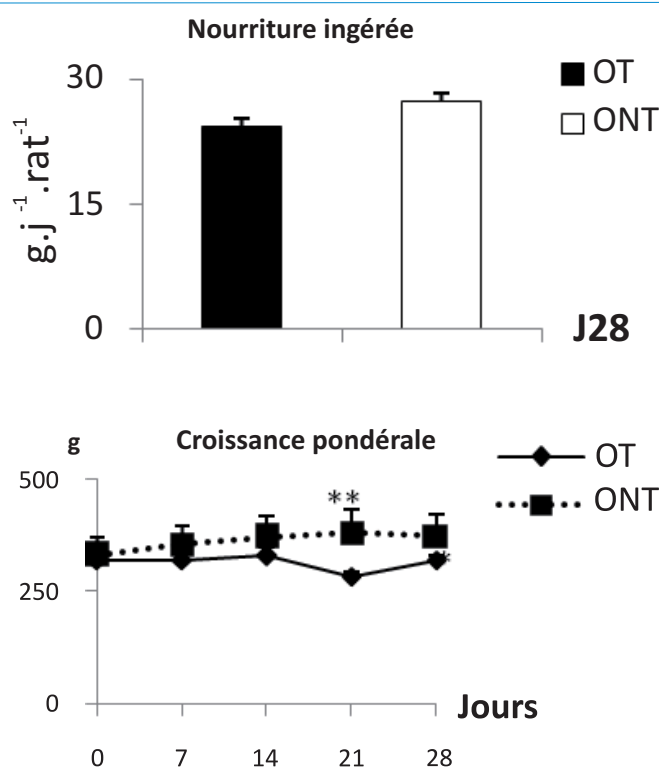
### Résultats

#### Poids corporel et nourriture ingérée

Après 3 semaines de supplémentation en HA, une réduction du PC de 25% est notée chez le groupe obèse traité avec l'huile d'argan (OT) comparé au groupe non traité (ONT) (Fig. 1). Toutefois, à la fin de l'expérimentation, les valeurs du PC deviennent similaires et représentent  $321 \pm 10$  g chez le groupe OT et  $374 \pm 46$  g chez le groupe ONT. De même, la nourriture ingérée tend à diminuer mais de façon non significative.

#### Cholestérolémie et triglycéridémie

La teneur sérique en CT est réduite de 48% chez le groupe OT comparé au groupe ONT (Tableau II). En revanche, la concentration des TG sériques n'est pas influencée par la supplémentation en HA.



**Fig.1. Evolution du poids corporel et nourriture ingérée** Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. OT : groupe obèse supplémentation en huile d'argan. ONT : groupe obèse non traité. La comparaison des 2 moyennes est réalisée par le test 't' de Student. \*\* $P < 0,01$ .

#### Tableau II. Cholestérolémie, triglycéridémie, glycémie, insulinémie et taux d'hémoglobine glyquée chez les rats obèses traités ou non avec l'huile d'argan

Paramètres	OT	ONT
Cholestérol total ( $mmol.L^{-1}$ )	$1,19 \pm 0,19$ ***	$2,31 \pm 0,25$
Triglycérides ( $mmol.L^{-1}$ )	$0,72 \pm 0,22$	$0,77 \pm 0,19$
Glucose ( $mmol.L^{-1}$ )	$10,53 \pm 1,56$ *	$12,11 \pm 0,84$
Insuline ( $mmol.L^{-1}$ )	$0,02 \pm 0,01$ ***	$0,09 \pm 0,01$
HbA1c (0%)	$6,60 \pm 0,20$ ***	$8,01 \pm 0,83$

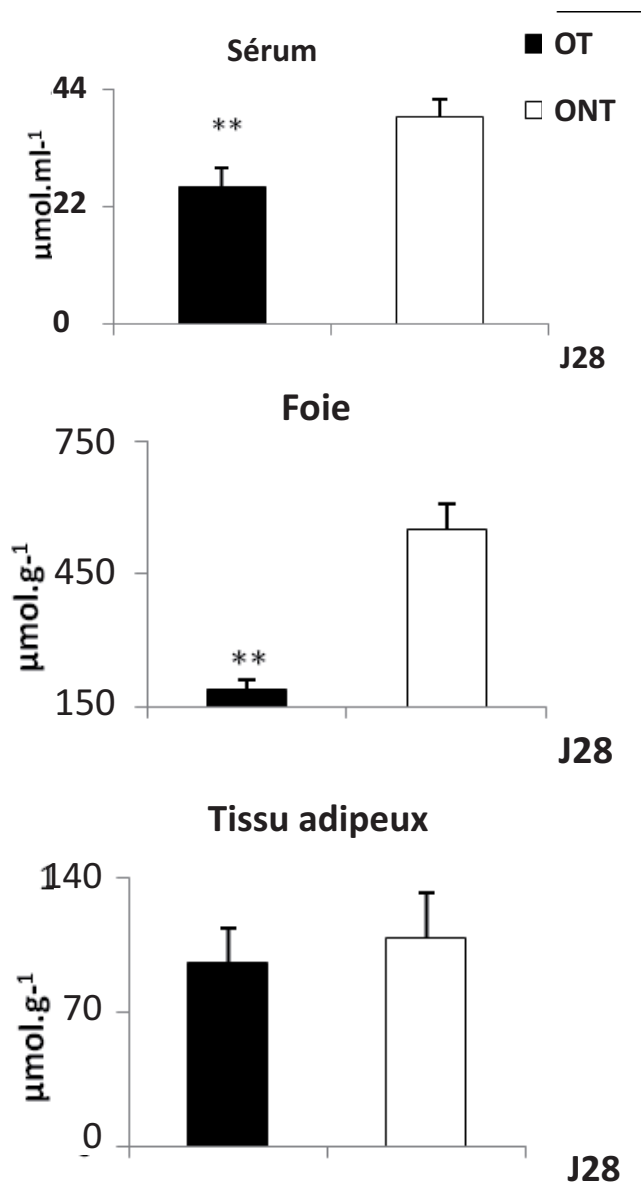
Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. OT : groupe obèse supplémentation en huile d'argan. ONT : groupe obèse non traité. La comparaison des 2 moyennes est réalisée par le test 't' de Student. \*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ .

#### Glycémie, hémoglobine glyquée et insulinémie

A J28, les teneurs sériques en **glucose** et en **insuline** ainsi que le taux d'hémoglobine glyquée sont diminués respectivement de 13%, 78% et 18% chez le groupe OT comparé au groupe ONT (Tableau II).

**Teneurs sériques et tissulaires en TBARS**

Au niveau sérique et hépatique, les teneurs en TBARS sont réduites respectivement de 34% et 66% chez le groupe OT comparé au groupe ONT. En revanche, les teneurs en TBARS du tissu adipeux sont identiques chez les 2 groupes de rats (Fig. 2).



**Fig. 2. Teneurs sériques et tissulaires en TBARS**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. OT : groupe obèse supplémenté en huile d'argan. ONT : groupe obèse non traité. La comparaison des 2 moyennes est réalisée par le test 't' de Student; \*\* $P < 0,01$ .

**Teneurs des isoprostanes sériques et urinaires**

Chez le groupe obèse traité, les teneurs des isoprostanes sont plus faibles 1,8-fois au niveau sérique et 1,2-fois au niveau urinaire par rapport au groupe non traité.

**Statut antioxydant total (SAT) sérique et tissulaire**

**Tableau III. Statut antioxydant total sérique et tissulaire et teneurs sériques en albumine, acide urique et fer**

	OT	ONT
<b>Statut antioxydant total</b>	2309 $\pm$ 151	1896,4 $\pm$ 338,3
Sérum (mmol.L <sup>-1</sup> )	3342 $\pm$ 357	3213,1 $\pm$ 240,2
Foie (mmol.L <sup>-1</sup> )	1260,8 $\pm$ 19,4***	891,1 $\pm$ 33,7
Tissu adipeux (mmol.L <sup>-1</sup> )	28,1 $\pm$ 2,5*	31,6 $\pm$ 2,8
<b>Albumine</b> (mmol.L <sup>-1</sup> )	0,06 $\pm$ 0,01**	0,11 $\pm$ 0,02
<b>Acide urique</b> (mmol.L <sup>-1</sup> )	0,06 $\pm$ 0,01**	0,11 $\pm$ 0,02
<b>Fer</b> (ng.L <sup>-1</sup> )	6,4 $\pm$ 1,3**	3,9 $\pm$ 0,6

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. OT : groupe soumis au régime hyperlipidique et supplémenté en huile d'argan. ONT : groupe soumis au régime hyperlipidique. La comparaison des 2 moyennes est réalisée par le test 't' de Student \*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ .

Au niveau sérique et hépatique, le SAT n'est pas influencé par la supplémentation, alors qu'il est plus élevé au niveau du tissu adipeux (+29%) chez le groupe traité comparé au groupe non traité (Tableau III).

**Acide urique, fer et albumine sérique**

Les teneurs sériques en acide urique et en albumine sont diminuées respectivement de 45% et 11% chez le groupe OT comparé au groupe ONT (Tableau III), alors que la teneur sérique en fer est élevée (+40%).

**Discussion**

Cette étude met en évidence l'effet d'une supplémentation en huile d'argan sur quelques marqueurs du risque cardiometabolique associé à l'obésité, chez le rat Wistar rendu obèse par ingestion d'un régime hyperlipidique. Afin de mieux comprendre la physiopathologie de l'obésité et son implication dans le développement des événements cardiovasculaires, différents régimes obésogènes, enrichis en glucides et en lipides, tels que les régimes cafeteria enrichis en gras (lipides variant entre 10% et 40%) ou hypergras (high-fat) qui se caractérise par un apport excessif en lipides uniquement (40% à 60%) ont été développés chez les animaux [7, 20].

Le rat est un modèle animal fréquemment utilisé dans les études du métabolisme des lipides et des glucides en réponse aux changements de régime

alimentaire. En effet, il se révèle particulièrement adéquat dans les études des patho-mécanismes impliqués dans le risque cardiométabolique, notamment pour l'étude du métabolisme lipidique dans le cas de la dyslipidémie, de l'insulino-résistance, du syndrome métabolique et des MCV associés à l'obésité [21]. L'obésité est responsable du déclenchement de nombreux troubles métaboliques avec des conséquences vasculaires se caractérisant par une hyperinsulinémie, une hyperglycémie, une résistance à l'insuline et un diabète [7].

Une alimentation riche en graisses induit une obésité qui conduit à une prise de poids et une accumulation des lipides dans le tissu adipeux, spécialisé dans le stockage et la mobilisation des lipides [22]. Il a été récemment démontré qu'un régime hyperlipidique à 20% de lipides comparé à un régime normolipidique à 5%, induit chez le rat Wistar, une obésité caractérisée par une réduction du niveau de satiété, une prise de poids et une hyperglycémie associée à une augmentation de la résistance à l'insuline. De plus, le régime hyperlipidique stimule la lipogenèse dans le tissu adipeux viscéral et induit une dyslipidémie (hypercholestérolémie et hypertriglycéridémie) [7]. De même, chez le rat Wistar, la consommation d'un régime hyperlipidique pendant deux mois induit une augmentation de la concentration sérique en glucose [5]. Nos résultats montrent qu'après 28 jours de supplémentation, l'HA administrée par gavage induit chez le groupe traité, une perte pondérale de 14% et une légère réduction de la prise alimentaire. Cet effet négligeable sur la satiété serait probablement en relation avec la durée de l'expérimentation relativement courte. La glycémie, le taux d'hémoglobine glyquée et l'insulinémie sont abaissés. Certains auteurs ont montré sur un modèle de rat *Meriones shawi* de la famille des gerbillidés rendu obèse, présentant une HTA, une dyslipidémie et une hyperinsulinémie et consommant pendant 2 mois de l'HA par gavage (5 mL.kg<sup>-1</sup> régime), une baisse de la glycémie et de l'insulinémie [23].

La réduction de la concentration en HbA1c notée chez le groupe traité résulte probablement de l'importante capacité antioxydante des substances bioactives apportées par l'huile d'argan. En effet, la supplémentation de l'HA dans un régime

hypergras s'avère une source de nutriments essentiels, comme la présence de tocophérols, de stérols, de carotènes, d'alcools triterpéniques et de xanthophylles. Certains de ces nutriments semblent participer au métabolisme des glucides et diminuer la demande d'insuline et l'hyperinsulinémie. En effet, les antioxydants présents dans l'huile d'argan, comme la vit E, peuvent favoriser l'action de l'insuline en réduisant la peroxydation lipidique membranaire des cellules musculaires, et ainsi accroître la capacité de l'insuline de se fixer à son récepteur [24].

L'évaluation du profil lipidique dans notre étude montre que chez le rat, la supplémentation d'un régime hyperlipidique en HA, induit un effet hypocholestérolémiant. En revanche, la triglycéridémie n'est pas influencée par la supplémentation.

L'analyse de la composition en AG de l'huile d'argan montre une prédominance des acides oléique et linoléique. L'huile d'argan est une huile de type oléique/linoléique constituée de presque 80% d'AG insaturés. Cette composition la rapproche de l'huile d'arachide (par sa teneur en AG insaturés (80%)) et de l'huile d'olive par sa teneur en acide oléique). Cette composition intermédiaire entre ces deux huiles attribue à l'huile d'argan une bonne absorption et lui confère une bonne digestibilité. L'incorporation de l'huile d'argan dans un régime hypergras pourrait agir efficacement sur le transport du cholestérol, d'une part en diminuant la biosynthèse du cholestérol, en réduisant l'activité de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A reductase et/ou en diminuant le NADPH nécessaire pour les AG et la synthèse du cholestérol, et d'autre part en stimulant la cholestérol 7 $\alpha$ -hydroxylase qui permet l'épuration du cholestérol et la synthèse accrue des acides biliaires et/ou en inhibant le cycle entéro-hépatique entraînant une activation des récepteurs des lipoprotéines de faible densité (LDL). Chez des sujets sains, l'ingestion de 15 g.j<sup>-1</sup> d'HA diminue la cholestérolémie et la susceptibilité des LDL à l'oxydation comparée à des sujets non-consommateurs. Ces auteurs suggèrent que de par sa richesse en antioxydants, l'HA protège les LDL contre l'oxydation qui représente une étape clé dans le développement de l'athérosclérose [25]. L'effet hypocholestérolémiant de l'HA peut

être dû à sa richesse en AGMI et en AGPI. En effet, l'HA présente une proportion équilibrée en AGMI et en AGPI (44,8% d'acide oléique et de 33,7% d'acide linoléique). L'acide linoléique (C18: 2 n-6) est un AG essentiel et sert de précurseur pour la biosynthèse de l'acide arachidonique (C20: 4 n-6) [26]. En outre, ce dernier a un effet hypocholestérolémiant [27]. D'autres études ont aussi démontré les effets positifs de l'huile d'argan sur le RCV : anti-hypertenseur et hypocholestérolémiant chez le rat *Meriones shawi* [23] après 15 jours de traitement. De même, l'ingestion d'huile d'argan, à raison de 1 mL. 100 g<sup>-1</sup>. j<sup>-1</sup> pendant 7 semaines, diminue le CT de 37%, les LDL de 68%, les TG plasmatiques de 31%, tandis que la teneur des lipoprotéines de haute densité (HDL) reste identique à celle du groupe témoin [28].

Nos résultats ne vont pas dans le même sens que ceux obtenus par Berrougui *et al.*, (2003) [28] pour les teneurs des TG sériques puisque la supplémentation en huile d'argan n'a pas d'effet sur la triglycéridémie chez le groupe consommant l'HA, ce qui laisse suggérer probablement une synthèse des TG hépatiques, un catabolisme des AG ou une sécrétion des TG similaires chez les deux groupes. La durée relativement courte de l'expérimentation ou la quantité administrée peuvent expliquer ce résultat.

Des études épidémiologiques, cliniques et animales ont montré que l'obésité s'accompagne d'un état redox altéré et d'un risque métabolique accru [29]. En effet, au cours de l'obésité, l'altération du métabolisme des glucides et des lipides serait due à l'importante production des espèces réactives à l'oxygène (ERO), et à la diminution des activités des enzymes de défenses antioxydantes [30]. Notre étude sur le statut oxydant montre que l'huile d'argan induit une réduction importante des concentrations des TBARS au niveau sérique et hépatique (les TBARS sont les marqueurs les plus utilisés pour évaluer *in vivo* la présence d'une peroxydation lipidique) ce qui témoigne du bénéfice de la supplémentation de l'huile d'argan sur l'atténuation de la peroxydation lipidique au niveau de ces compartiments; probablement de par son importante activité antioxydante. Par ailleurs, les isoprostanes (autre marqueur de la peroxydation lipidique) résultent de l'attaque directe des ERO sur l'acide arachidonique des

phospholipides, suivie d'une libération par une phospholipase. L'HA induit une réduction importante des teneurs des isoprostanes sériques et urinaires chez le groupe traité comparé au non traité suggérant une réduction du stress oxydant chez ce groupe. Leur taux est augmenté dans les modèles animaux ou cliniques en réponse à un stress oxydant, modulés en fonction du statut antioxydant, mais insensibles aux variations courantes de la quantité de lipides contenue dans l'alimentation [31]. Les antioxydants sont des molécules capables de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules, protégeant ainsi les cellules contre les dommages de l'oxydation, les antioxydants peuvent retirer des intermédiaires radicaux libres et inhiber d'autres réactions d'oxydation en étant eux-mêmes oxydés. Les antioxydants sont souvent des agents tels que des thiols ou des polyphénols réduits. Aucun effet n'est observé chez le groupe traité concernant le statut antioxydant total au niveau sérique et hépatique. Néanmoins, au niveau du tissu adipeux, le statut antioxydant total est augmenté dans ce groupe reflétant une défense antioxydante plus efficace au niveau de ce tissu même si la peroxydation lipidique dans ce tissu tend à diminuer mais de façon non significative en comparaison avec le groupe obèse non traité. L'acide urique possède des propriétés antioxydantes [32]. Il est l'un des plus importants antioxydants, capable d'éliminer jusqu'à 60% des radicaux libres produits [33]. Il augmente lors d'un stress oxydant, principalement lors de phénomènes d'ischémie. L'acide urique est un facteur prédictif indépendant de toutes les causes de mortalité chez les patients à haut risque de MCV. Une diminution importante de la teneur en acide urique est notée chez le groupe OT comparé au groupe ONT ce qui laisse suggérer que l'HA a un effet positif en faveur de l'acide urique, ce qui tend à améliorer le statut redox, et de ce fait à réduire le risque cardiométabolique. En revanche, curieusement la consommation d'huile d'argan à court terme ne semble pas avoir un impact positif sur le taux d'albumine puisque qu'une hypoalbuminémie est notée chez le groupe supplémenté comparé au groupe non supplémenté. Le fer est un co-facteur qui joue un rôle critique dans de nombreux processus biologiques, tels que le transport d'oxygène, le transport

d'électrons ou la synthèse d'ADN. Lorsqu'il est sous forme libre, il est susceptible d'être engagé dans des réactions d'oxydo-réduction conduisant à la formation de radicaux libres, pouvant générer un stress oxydatif lorsque les défenses antioxydantes de la cellule sont dépassées. Pour éviter la toxicité du fer, les organismes vivants ont développé des systèmes protéiques pour le transporter au travers des membranes cellulaires et le stocker sous une forme non toxique et facilement mobilisable en cas de besoin. Une augmentation du taux de fer est notée chez le groupe obèse traité avec l'huile d'argan comparé au groupe obèse non traité, ce qui laisse suggérer que l'huile d'argan pourrait avoir un effet positif sur le métabolisme du fer en améliorant le statut antioxydant.

## Conclusion

Chez le rat obèse, l'huile d'argan semble avoir des propriétés hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antioxydantes. La présence de molécules bioactives dans l'huile d'argan pourrait lui conférer ce potentiel antioxydant intéressant. Son incorporation dans un programme diététique peut être stratégiquement efficace pour prévenir, voire améliorer l'équilibre glycémique, l'hypercholestérolémie et atténuer l'attaque radicalaire chez des sujets obèses, ce qui permettra de prévenir les complications cardiovasculaires associées à l'obésité.

## Déclaration d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article

## Références

1. Corcos T. Les complications cardiovasculaires de l'obésité. *Médecine & Longévité* 2012; 4:99-110.
2. Ben Ounis O., Elloumi M., Makni E, Zouhal H., Amri M., Tabka Z., Lac G. Exercise improves the ApoB/ApoA-I ratio, a marker of the metabolic syndrome in obese children. *Acta Paediatr* 2010; 99:1679-85.
3. Gauvreau D., Villeneuve N., Deshaies Y., Cianflone K. Récentes adipokines : un lien entre l'obésité et l'athérosclérose. *Ann Endocrinol* 2011; 72:224-31.
4. Dandona P., Chaudhuri A., Ghanim H., Mohanty P. Insulin as an Anti-Inflammatory and Antiatherogenic Modulator. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53:S14-S20.
5. Milagro FI., Campion J., Martinez JA. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity* 2006; 14:1118-23.
6. Boukhari N., Taleb-Senouci D., Chabane F., Besbes M., Lamri-Senhadj M Y. L'huile des co-produits de poisson corrige la dyslipidémie, améliore le transport inverse du cholestérol et stimule l'activité de la paraoxonase-1 chez le rat obèse. *Ann Cardiol Angeiol* 2013; 62:149-54.
7. Louala S., Benyahia-Mostefaoui A., Lamri-stress oxydant de l'aorte et du cœur et corrige le risque athérogène chez le rat rendu obèse. *Ann Cardiol Angeiol* 2013; 62:155-60.
8. Chabane F.Z., Louala S., Boukhari N., Besbes M., Lamri-Senhadj M.Y. Effects of two hypocaloric diets supplemented with white lupine or oats on lipid peroxidation, paraoxonase activity and reverse cholesterol transport in obese rat. *J Food Res* 2013; 2:1-9.
9. Besbes M., Taleb-Senouci D., Chabane F.Z., Boukhari Ben Ahmed Daidj N, Lamri-Senhadj M.Y. Effects of white lupin associated with wheat or oat on hyperglycemia, dyslipidemia and reverse cholesterol transport in obese rats. *J Exp Integr Med* 2013; 3:205-12.
10. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2009). Maladies cardiovasculaires. disponible en ligne <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/index.html>
11. Sanguignol F. L'obésité: une maladie chronique multifactorielle. *Rev Kinesither* 2008; 76:6-13.
12. Herrera MD., Perez-Guerrero C., Marhuenda E., Ruiz-Gutierrez V. Effects of dietary oleic-rich oils (virgin olive and high-oleic-acid sunflower) on vascular reactivity in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr* 2001; 86:349-57.
13. Cherki M., Berrougui H., Drissi A., Adlouni A., Khalil A. Argan oil: which benefits on cardiovascular diseases? *Pharmacol Res* 2006; 54:1-5.
14. Come D. (1970). *Les obstacles à la germination*. Edit. Masson et Cie. p162.
15. Haimeur A., Messaouri H., Ulmann L., Mi-

- mouni V., Masrar A., Chraïbi A., Tremblin G., Meskini N. Argan oil prevents prothrombotic complications by lowering lipid levels and platelet aggregation, enhancing oxidative status in dyslipidemic patients from the area of Rabat (Morocco). *Lipids Health Dis* 2013; 12:107.
16. Adlouni A. Place de la nutrition à l'huile d'argan dans la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers au Maroc. *Rev Francophone Laboratoires* 2009; p34
  17. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigation. Official J1987 L358 of 18-12-1986; Corrigendum Official J. L117 of 05-05-1987.
  18. Quintanilha AT., Packer L., Szyszlo JM., Racanelly TL., Davies KJ. Membrane effects of vitamin E deficiency bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY AcadSci* 1982; 393:32-7.
  19. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal Biochem* 1979; 85:351-58.
  20. Desmarchelier C. Effets de régimes hyperlipidiques et cafeteria sur le développement de l'obésité et ses désordres associés chez la souris. *Food and Nutrition* 2010. Agro Paris Tech, thèse de Doctorat Paris Tech. pp:1-183.
  21. Dobrian AD., Davies MJ., Prewitt R.L., Lauterio TJ. Développement de hypertension in a rat model of diet induced obesity. *Hypertension* 2000; 35:1009-15.
  22. Dulloo AG., Jacquet J., Solinas G., Montani JP., Schutz Y. Body composition phenotypes in pathways to obesity and the metabolic syndrome. *Int J Obes* 2010; 34 (S2):S4-S17).
  23. Berrada Y., Settaf A., Baddouri K., Cherrah A., Hassar M. Experimental Evidence of an Antihypertensive and Hypocholesterolemic Effect of Oil of Argan, *Argania Sideroxylon*. *Thérapie* 2000; 55:375-78.
  24. Liese AD., Roach AK., Sparks KC., Marquart L., D'Agostino RB., Mayer-Davis EJ. Whole-grain intake and insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78:965-71.
  25. Drissi A., Girona J., Cherki M., Godas G., Derouiche A., EL Messal M., Saïle R., Kettani A., Sola R., Masana L., Adlouni A. Evidence of Hypolipemiant and Antioxidant Properties of Argan Oil Derived from the Argan Tree (*Argania Spinosa*). *Clin Nutr* 2004; 23:1159-66.
  26. Das UN. Essential fatty acid metabolism in patients with essential hypertension, diabetes mellitus and coronary heart disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1995; 52:387-91.
  27. Hegsted DM., McGrancy RB., Myers ML., Stare FM. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 1965; (17):281-95.
  28. Berrougui H., Ettaïb A., Herrera Gonzalez MD., Alvarez De Sotomayor M., Bennani-Kabchi N., Hmamouchi M. Hypolipidemic and Hypocholesterolemic Effect of Argan Oil (*Argania Spinosa L.*) in Meriones Shawi Rats. *J Ethnopharmacol* 2003; 89:15-18.
  29. Warolin J., Coenen K.R., Kantor JL., Whitaker LE., Wang L., Acra SA., Roberts LJ., Buchowski MS. The relationship of oxidative stress, adiposity and metabolic risk factors in healthy Black and American youth. *Pediatr Obes* 2014; 9:43-52.
  30. Savini I., Catani M.V., Evangelista D., Gasperi V., Avigliano L. Obesity-Associated Oxidative Stress: Strategies Finalized to Improve Redox State. *Int J Mol Sci* 2013; 14:10497-538.
  31. Robert LJ., Morrow JD. Measurement of the F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radic Biol Med* 2000; 28:505-13.
  32. Madero M., Sarnak MJ., Wang X., Greene T., Beck GJ., Kusek JW., Collins AJ., Levey AS., Menon V. Uric acid and long-term outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis* 2009; 53:796-03.
  33. Nakagawa T., Hu H., Zharikov S., Tuttle KR., Short RA., Glushakova O., Ouyang X., Feig DL., Block ER., Herrera-Acosta J., Patel JM., Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290:625-31.





## Phytothérapie

### Effets de l'huile de *Pinus Halepensis* sur l'hyperuricémie, la peroxydation lipidique et les activités des enzymes antioxydantes chez le rat

Effects of *Pinus Halepensis* oil on hyperuricemia, lipid peroxidation, and antioxidant enzymes activities in rat

Nesrine GDOURA<sup>1#</sup>, Jean-Claude MURAT<sup>2</sup>, Khansa CHAABOUNI<sup>3</sup>, Fatma MAKNI AYADI<sup>3</sup>, Abdelfattah ELFEKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Eco-Physiologie Animale. Département des Sciences de la Vie. Faculté des Sciences. Université de Sfax. BP 1171- 3000, Sfax, Tunisie

<sup>2</sup>Laboratoire de Biologie Cellulaire. Faculté de Médecine, 37, allées Jules-Guesde, 31073 Toulouse, France

<sup>3</sup>Laboratoire de Biochimie. Faculté de Médecine. 3029 Sfax, Université de Sfax, Tunisie

Reçu le 23 Octobre 2014, Révisé le 10 mars 2015, Accepté le 16 Mai 2015

#Auteur correspondant : [ngdoura@yahoo.fr](mailto:ngdoura@yahoo.fr)

**Résumé Introduction.** L'hyperuricémie provoque l'installation de la goutte associée au stress oxydatif. Des plantes à effet antioxydant peuvent contrecarrer les effets délétères de l'acide urique. **Objectif.** Démontrer les effets protecteurs du pin (*Pinus Halepensis*) sur les altérations biochimiques induites par l'acide urique, chez le rat. **Matériel et Méthodes.** Des rats mâles Wistar âgés de 2 mois et pesant 2505 g sont divisés en quatre groupes (n=6). Le 1<sup>er</sup> groupe reçoit 1 mL de NaCl à 0,9%, le 2<sup>ème</sup> groupe hyperuricémique reçoit de l'acide urique à une dose de 150 mg/kg poids corporel (PC). Le 3<sup>ème</sup> groupe hyperuricémique+allopurinol reçoit de l'acide urique (150 mg/kg PC) et de l'allopurinol à une dose de 10 mg/kg PC; le 4<sup>ème</sup> groupe hyperuricémique+pin reçoit de l'acide urique (150 mg/kg PC) et de l'huile de *Pinus Halepensis* (100 mg/kg PC), durant 7 jours. **Résultats.** A J7, les teneurs sériques et hépatiques en acide urique sont réduites respectivement de 67% et 70% chez les rats hyperuricémiques traités avec l'huile de pin comparés aux rats hyperuricémiques. Une réduction des activités de l'aspartate amino-transaminase (-12%), de l'alanine amino-transaminase (-20%) et de la phosphatase alcaline (-19%) est notée. De même, les teneurs hépatiques en substances réactives à l'acide thiobarbi-

turique et l'activité des enzymes antioxydantes, superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase sont réduites respectivement de 43, 55, 168 et 49% par rapport à celles des rats hyperuricémiques. **Conclusion.** L'huile de pin semble avoir un effet hypouricémiant et atténuer la peroxydation lipidique hépatique malgré une réduction de la défense antioxydante enzymatique.

**Mots clés:** Rat, Hyperuricémie, Stress oxydatif, Pinus Halepensis, Huile essentielle

**Abstract Introduction.** Hyperuricemia involves gout installation associated to oxidative stress. Plants with antioxidant effects may counteract the deleterious effects of uric acid. **Objective.** This study aimed to demonstrate the protective effects of pine (*Pinus Halepensis*) on biochemical alterations induced by uric acid in rats. **Materials and Methods.** Male Wistar rats aged two months and weighing 2505 g were divided in four groups (n=6). The 1<sup>st</sup> group received 1 mL of 0.9% NaCl, the 2<sup>nd</sup> group received hyperuricemic uric acid at a dose of 150 mg/kg body weight (BW). The 3<sup>rd</sup> group hyperuricemic + allopurinol received uric acid (150 mg/kg BW) and allopurinol (10 mg/kg BW); the 4<sup>th</sup> group hyperuricemic + pine received uric acid (150 mg/kg BW) and *Pinus halepensis* oil at a dose of 100 mg/kg BW. **Results.** At day 7, serum and liver uric acid levels were reduced respectively by 67% and 70% in hyperuricemic rats treated with oil pine compared to hyperuricemic rats. Enzymatic activities of aspartate, alanine amino transaminase and alkaline phosphatase were lower by 12, 20 and 19%, respectively. The concentrations of thiobarbituric acid reactive substances and antioxidant enzymes activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase were decreased by 43, 55, 168 and 49%, respectively compared to those of hyperuricemic rats. **Conclusion.** Pine oil seems to have a hypouricemic effect and reduces liver lipid peroxidation despite a reduced enzymatic antioxidant defense.

**Keywords:** Rat, Hyperuricemia, Oxidative Stress, Pinus Halepensis, Essential oil

## Introduction

La goutte est une maladie systémique et chronique dont l'incidence est en constante augmentation. Chez certains patients, une arthropathie tophacée chronique peut se développer avec une destruction articulaire progressive [1]. Cette maladie due à l'accumulation de cristaux d'urate de sodium associée à une hyperuricémie chronique, est en augmentation dans de nombreux pays industrialisés [2]. L'hyperuricémie chronique est très vraisemblablement un facteur de risque cardiovasculaire

indépendant [3]. Elle peut se compliquer chez environ 20% des patients de dépôts uraniques silencieux dans les articulations mais aussi les tendons des membres inférieurs [4]. Les conseils alimentaires sont un des aspects fondamentaux de la prise en charge non pharmacologique du patient. En effet, le rôle de l'alimentation dans la pathogénie de la goutte est bien reconnu [5-6]. Une étude rétrospective sur 750 cas, réalisée entre 2000 et 2006 à Sfax (Tunisie) a révélé une atteinte cardiovasculaire dans 56%, un trouble du métabolisme glucidique dans 86%, une dyslipidémie dans 60% et une hyperuricémie dans 11% des

cas [7]. Une autre étude rétrospective réalisée entre 1997 et 2009 à Sousse (Tunisie) a montré que 16 patients hospitalisés (H/F, 12/4) d'un âge moyen de 64 ans ont été diagnostiqués pour une goutte [8]. L'usage de la médecine traditionnelle est répandu et les plantes représentent une grande source d'antioxydants naturels pouvant être utilisés pour le développement de nouvelles drogues [9]. Le traitement actuel, essentiellement des molécules habituelles, telles que la colchicine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, s'avère difficile à suivre en raison, des complications cardiovasculaires et rénales qui accompagnent la maladie [10]. En outre, l'utilisation importante de médicaments diurétiques (notamment dans la prise en charge des patients hypertendus) et la réduction de la filtration glomérulaire liée à l'âge compliquent la prise en charge de ces patients [11-12]. L'évaluation des pratiques médicales en médecine générale comme en rhumatologie fait état de connaissances insuffisantes. L'allopurinol est l'hypouricémiant de référence [3]. Toutefois, de nouvelles thérapeutiques comme les phytomédicaments peuvent posséder plusieurs propriétés pharmacologiques. Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) de la famille des Pinacées ou Abiétacées est originaire des climats tempérés et froids, il s'agit principalement d'arbres et d'arbustes de type gymnosperme de la classe des conifères. En Tunisie, le pin d'Alep est l'espèce la plus plantée le long de la côte méditerranéenne pour la stabilisation des dunes de sable. Il est également utilisé dans la production de bois et de la résine. Il est utilisé dans l'industrie des pâtes et papiers. Le pin d'Alep est très apprécié pour sa production de semences, largement utilisées dans la préparation des aliments, en particulier, dans la pâtisserie orientale. Ses graines sont traditionnellement utilisées en Tunisie, mais aussi dans d'autres pays du bassin méditerranéen, pour la préparation de pouding doux (Assida Zgougou), de glaces et de bonbons [14]. L'huile de pin est utilisée comme additifs aromatisants pour certains aliments et boissons et en cosmétiques, dans la fabrication des parfums [15]. Les grains de pin d'Alep sont très nutritifs et très appréciés par les consommateurs tunisiens [14]. Quelques travaux ont été publiés sur les graines de pin d'Alep tunisiens révélant, la composition en acides gras,

la fraction insaponifiable et les composés phénoliques [14,16]. En médecine traditionnelle, les différentes parties du genre *Pinus* (écorce, aiguilles, cônes et résine) sont utilisées pour traiter les rhumatismes ou comme anti-inflammatoire, antioxydant ou antiseptique [17]. En Turquie, la résine de *Pinus* est utilisée pour accélérer la cicatrisation des plaies [18]. La décoction est utilisée contre les rhumes, le traitement de la diarrhée et les ulcères gastro-duodénaux [19]. Par ailleurs, il a été rapporté que les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques et médicinales ont des propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes [20]. Chez l'Homme, en immunodéficiences, il a été démontré que l'huile essentielle extraite des cônes de la famille des Pinacées possède des activités antioxydante, analgésique et antivirale [21]. L'hyper-uricémie provoque l'installation de la goutte. Des plantes à effets antioxydants pourraient contrecarrer les effets délétères de l'acide urique.

Ainsi, l'objectif de ce travail est d'évaluer l'efficacité de l'huile de *Pinus halepensis* sur l'hyperuricémie et le stress oxydatif induits par l'acide urique, chez les rats.

## Matériel et méthodes

### Animaux et régimes

Des rats mâles de souche Wistar (Pharmacie Centrale de Tunis (SIPHAT)), pesant 2505 g et âgés de deux mois, sont maintenus dans une animalerie à une température de  $22\pm 3^\circ\text{C}$  et un rythme circadien (12h jour/12h nuit) et un taux d'humidité relative de 50-60%. Les rats sont soumis quotidiennement à un régime standard contenant 17,5% protéines (Société Industrielle de Concentrés, SICO, Sfax, Tunisie) à raison de  $25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  PC. L'eau du robinet est donnée *ad libitum* durant toute l'étude. Après une semaine d'adaptation, les animaux sont répartis en 4 groupes de six rats chacun. Le 1<sup>er</sup> groupe témoin reçoit une solution physiologique de NaCl à 0,9%. Le 2<sup>ème</sup> groupe hyperuricémique reçoit une solution d'acide urique ( $150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  PC) par voie intrapéritonéale. Le 3<sup>ème</sup> groupe hyperuricémique est gavé avec de l'allopurinol ( $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  PC) [22]. Le 4<sup>ème</sup> groupe

hyperuricémique est gavé avec de l'huile de pin (100 mg.kg<sup>-1</sup> PC) [23]. Afin d'éviter l'interaction entre l'acide urique, en tant que prooxidant, et l'allopurinol ou l'huile de pin, en tant qu'antioxydant, 2 voies d'administration différentes ont été choisies [24].

Toutes les injections d'acide urique ou de chlorure de sodium et les préparations végétales ont été réalisées quotidiennement à une heure fixe et pendant 7 jours.

Le protocole expérimental a été approuvé par le Comité d'Ethique de l'Institution. Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées selon les lignes directrices Internationales pour les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire [25].

Les graines de pin d'Alep (*Pinus halepensis*) achetées dans un marché local à Sfax (Tunisie) sont directement stockées à 15°C pendant un maximum de 3 jours, puis nettoyées manuellement pour éliminer les résidus. Les graines sont conservées dans des sacs hermétiques à 20°C. Cent grammes de graines de pin d'Alep sont broyés et placés dans un flacon fumé et homogénéisés avec 500 mL d'hexane. Après agitation pendant 4h à l'aide d'un shaker à raison de 180 tr/min, le mélange est centrifugé pendant 15 min à 1 000 x g à température ambiante (20°C). Le surnageant est ensuite filtré. La procédure d'extraction est répétée deux fois. Le solvant recueilli est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C. L'huile obtenue est conservée dans un flacon fumé à -20°C jusqu'à son utilisation.

#### **Prélèvements des échantillons biologiques**

A J7, en phase post-prandiale, le sang est prélevé après décapitation rapide afin d'éviter tout stress dû à l'éther, centrifugé pendant 15 min à 1000 x g à 4°C. Les sérums obtenus sont stockés à -20°C jusqu'au jour de l'analyse. Les foies sont prélevés, excisés et broyés à l'aide d'un homogénéisateur (UltraTurax T25, Allemagne) (1/2, P/V) dans du tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM) pH 7,4. Après homogénéisation, l'homogénat hépatique est centrifugé à 3000 x g à 4°C pendant 15 min. Les surnageants sont récupérés et conservés à -80°C.

#### **Analyses biochimiques**

##### **Détermination de l'acide urique sérique et hépatique et des biomarqueurs des lésions**

##### **hépatiques**

La teneur en acide urique est estimée au niveau du sérum et de l'homogénat hépatique par un test colorimétrique (kit uricase-PAP, Biomaghreb Diagnostic Ariana, Tunisie).

Les activités enzymatiques sériques de l'aspartate amino-transaminase (ASAT), de l'alanine amino-transaminase (ALAT) et de la phosphatase alcaline (PAL) sont mesurées par kits (Biomaghreb Diagnostic Ariana, Tunisie).

##### **Détermination de la peroxydation lipidique**

La peroxydation des lipides est déterminée au niveau des homogénats hépatiques selon la technique de Buege & Aust [26]. Chaque homogénat hépatique est mélangé avec 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA) et centrifugé à 2500 x g pendant 10 mn. Un mL d'une solution d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67% et 0,5 mL de surnageant sont incubés pendant 10 mn à une température de 90°C. L'absorbance du complexe TBA-MDA est déterminé à 532 nm.

##### **Activités des enzymes antioxydantes**

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est estimée selon la technique de Beyer et Fridovich [27]. Le mélange réactionnel contient 50µL d'homogénat tissulaire dans 0,1M de tampon phosphate de potassium (pH 7,4), 0,1mM d'EDTA, 13mM de L-méthionine, 2 mM de riboflavine et 75mM de nitro bleu tetrazolium (NBT) (Sigma-Aldrich). Il se développe une coloration bleue mesurée à 560 nm. L'activité de la SOD est exprimée en unité.mg<sup>-1</sup> de protéines et représente la quantité d'enzyme requise pour inhiber la réduction du NBT de 50%. L'activité de la catalase (CAT) est dosée par la méthode d'Aebi [28]. Les absorbances sont mesurées à 240 nm par la variation de la densité optique consécutive à l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en faisant réagir dans 100 mM de tampon phosphate pendant 1 min à pH 7,4, 200 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 20 µL d'homogénat à une température d'incubation de 25°C. L'activité enzymatique est exprimée en mmoL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.mn<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup> de protéines. L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) est mesurée selon la technique de Flohe et Günzler [29]. Un mL de mélange réactionnel contenant 0,3mL de tampon phosphate (0,1M, pH 7,4), 0,2mL de glutathione

2mM (GSH), 0,1mL d'azide de sodium (10mM), 0,1mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1mM) et 0,3mL d'homogénat hépatique sont préparés. Après incubation à 37° C pendant 15 min, la réaction est terminée par addition de 0,5mL de TCA à 5%. Les tubes sont centrifugés à 1500 x g pendant 10 min et le surnageant est recueilli. Au surnageant (0,1mL) est rajouté du dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB, 0,4mg.mL<sup>-1</sup>). La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda=420$  nm.

Les activités enzymatiques sont exprimées en fonction des teneurs en protéines du foie. Les protéines sont mesurées par la méthode de Lowry *et al.* [30], utilisant de l'albumine bovine sérique comme standard.

### Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard de 6 rats par groupe. Après analyse de variance, la différence des moyennes entre les groupes de rats témoins et hyperuricémiques et les rats hyperuricémiques traités soit par l'allopurinol ou par l'huile de pin est effectuée par le test de Tukey. Les moyennes sont considérées comme significativement différentes à  $P<0,05$ . <sup>a</sup> vs témoins ; <sup>b</sup> vs hyperuricémiques.

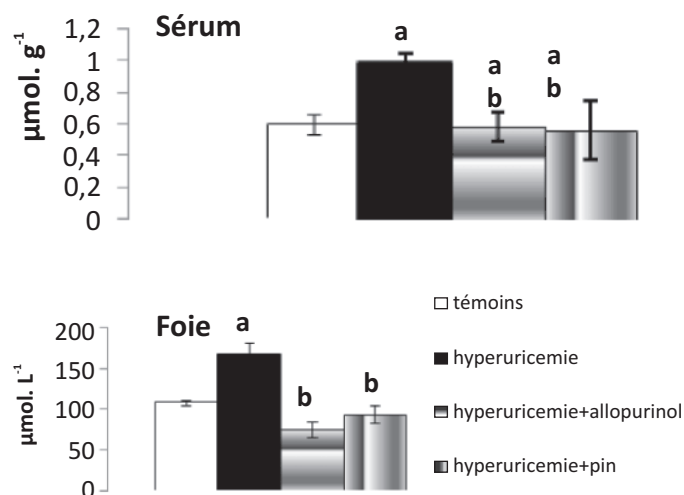
## Résultats

### Teneurs sériques et hépatiques en acide urique

Chez les rats hyperuricémiques traités par l'huile de *Pinus Halepensis*, les teneurs en acide urique sérique et hépatique sont réduites de 67 et 70 %, comparées à celles du groupe hyperuricémique.

### Activités de l'ASAT, l'ALAT et la PAL

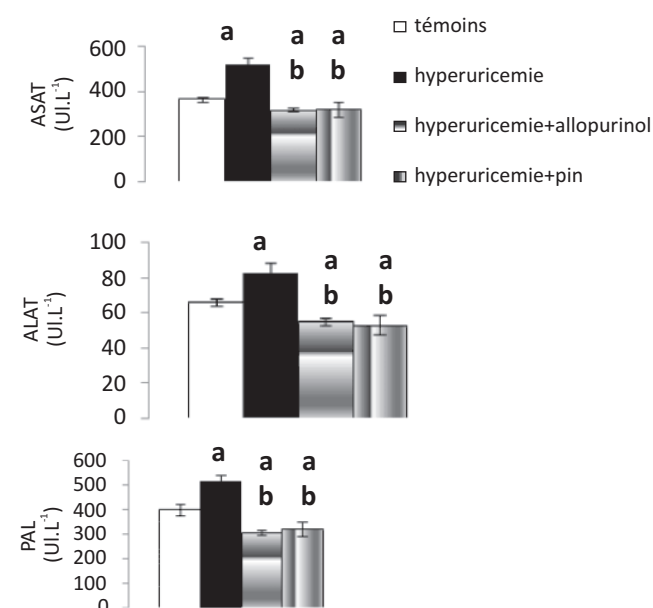
L'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT et la PAL est augmentée, respectivement de 42, 24 et 28% chez les rats hyperuricémiques comparés aux rats témoins. L'administration de l'allopurinol ou l'huile de pin réduit l'activité de ces enzymes de 3, 17 et 23% et de 12, 20 et 19%, respectivement par rapport à celle des rats hyperuricémiques.



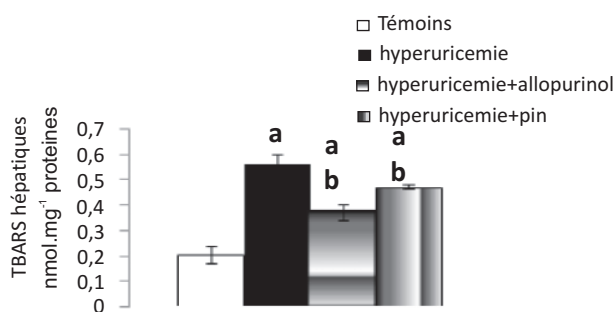
**Fig. 1. Teneurs en acide urique du sérum et du foie**  
Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard de six rats par groupe. Après analyse de variance, la différence entre les moyennes est effectuée par le test de Tukey.  $p<0,05$ ; <sup>a</sup> vs témoins, <sup>b</sup> vs hyperuricémiques.

### Peroxydation lipidique au niveau hépatique

La peroxydation lipidique est augmentée de 274% chez les rats hyperuricémiques, comparés aux témoins ( $p<0,05$ ) (Fig. 3). Le traitement par l'allopurinol ou l'huile de pin diminue la peroxydation lipidique de 93 et 44%, respectivement par rapport à celle des rats hyperuricémiques.



**Fig. 2. Activités des biomarqueurs de lésions hépatiques**  
Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard de six rats par groupe. ASAT ; Aspartate amino-transférase, ALAT : Alanine amino-transférase, PAL : Phosphatase alcaline. Après analyse de variance, la différence entre les moyennes est effectuée par le test de Tukey.  $p<0,05$ ; <sup>a</sup> vs témoins, <sup>b</sup> vs hyperuricémiques.

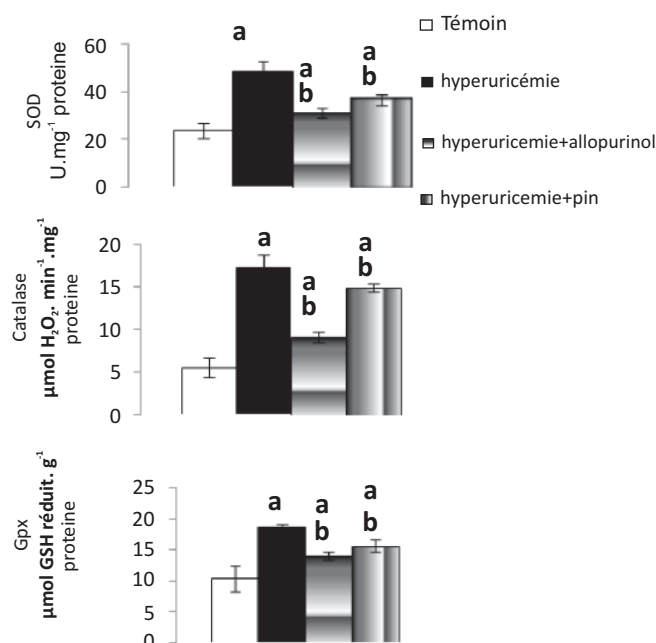


**Fig.3. Teneurs hépatiques en TBARS**

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard de six rats par groupe. TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique. Après analyse de variance, la différence entre les moyennes est effectuée par le test de Tukey.  $p < 0,05$ ; <sup>a</sup> vs témoins, <sup>b</sup> vs hyperuricémiques.

### Activités des enzymes antioxydantes hépatiques

L'activité des enzymes antioxydantes superoxyde dismutase (SOD), catalase et glutathion peroxydase (GPx) sont augmentées respectivement de 104, 210 et 177%, chez les rats traités par l'acide urique comparé à celles des rats témoins (Fig. 4). De même, chez les rats traités avec l'huile de pin, l'activité de la SOD, CAT et GPx sont diminuées respectivement de 32, 63 et 34% chez les rats traités par l'allopurinol et de 55, 168 et 49%, par rapport aux rats hyperuricémiques.



**Fig. 4. Activités des enzymes antioxydantes hépatiques**

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard de six rats par groupe. SOD : Superoxyde dismutase, GPs: Glutathion peroxydase. Après analyse de variance, la différence entre les moyennes est effectuée par le test de Tukey.  $p < 0,05$ ; <sup>a</sup> vs témoins, <sup>b</sup> vs hyperuricémiques.

## Discussion

Dans la présente étude, l'injection d'acide urique, à raison de  $150 \text{ mg.kg}^{-1}$  PC chez des rats adultes, provoque l'apparition d'une hyperuricémie. Après 7 jours de traitement, l'huile de pin induit chez les rats hyperuricémiques une réduction de l'acide urique, comparés aux animaux hyperuricémiques. L'effet hypouricémiant de l'huile de pin est comparable à celui de l'allopurinol, un médicament antihyperuricémique. L'hypouricémie observée dans cette étude, chez les rats rendus hyperuricémiques est accompagnée d'une réduction de l'acide urique hépatique. Le traitement des rats hyperuricémiques, après 7 jours, avec l'huile de pin provoque une amélioration totale du contenu en acide urique, qui est similaire à celui des rats témoins. Le traitement des rats hyperuricémiques atténue l'hyperuricémie, ce qui laisse suggérer un effet anti-goutteux.

La correction de l'uricémie observée dans cette étude, chez les rats hyperuricémiques et traités avec l'huile de pin pourrait être expliquée par l'inhibition de la production d'acide urique ou par l'augmentation de son excrétion [31]. La composition chimique de l'huile de pin, telles que les teneurs en composés phénoliques, en sels minéraux et en acides gras poly-insaturés [14] pourraient être à l'origine de l'activité hypouricémiante observée chez les rats rendus hyperuricémiques.

Ces résultats montrent que l'huile agit efficacement sur les biomarqueurs des lésions hépatiques, en diminuant les activités sériques de l'ASAT, l'ALAT et de la PAL. De même, chez les rats hyperuricémiques traités par l'allopurinol, les biomarqueurs des lésions hépatiques sont atténués, comparés à ceux des groupes hyperuricémiques.

L'analyse du statut redox hépatique montre une augmentation significative de la peroxydation lipidique et de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, CAT et GPx) chez les rats hyperuricémiques comparés aux rats témoins. Le groupe traité par l'huile de pin présente une amélioration significative des différents paramètres indicateurs de l'effet antioxydant. Une diminution du taux des TBARS a été observée chez les rats hyperuricémiques traités à l'huile de pin,

comparés au groupe hyperuricémique non traité. L'activité élevée des enzymes antioxydantes explique la réactivité des animaux hyperuricémiques pour lutter contre le stress oxydatif.

## Conclusion

Il ressort de cette étude que, chez le rat rendu hyperuricémique, la supplémentation de l'huile de pin d'Alep entraîne une réduction du taux d'acide urique sérique et hépatique et des biomarqueurs des lésions hépatiques. Par ailleurs, l'huile de pin corrige le stress oxydatif induit par l'acide urique, en augmentant, la défense antioxydante enzymatique. D'autres études expérimentales, sur une durée plus longue de traitement à l'huile de pin, sont nécessaires pour confirmer ces résultats et approfondir, non seulement les connaissances sur les différents composés pourvus de cette activité, mais aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.

## Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts.

## Références

- Dalbeth N., Clark B., Gregory K., Gamble G., Sheehan T., Doyle A., et al. Mechanisms of bone erosion in gout: a quantitative analysis using plain radiography and computed tomography. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:1290-5.
- Zhu Y., Pandya BJ., Choi HK. Prevalence of gout and hyperuricemia in the US general population. *Arthritis Rheum* 2011; 63: 3136-41.
- Bardin T., Richette P. Gout. *Lancet* 2010; 375:318-28.
- Pineda C., Amezcua-Guerra LM., Solano C., Rodríguez-Henríquez P., Hernández-Díaz C., Vargas A., et al. Joint and tendon subclinical involvement suggestive of gouty arthritis in asymptomatic hyperuricemia: an ultrasound controlled study. *Arthritis Res Ther* 2011; 13:R4.
- Bardin T. Épidémiologie de la goutte. *Rev Rhum* 2007; 74:147-9.
- Dalbeth N., Wong S., Gamble GD., Horne A., Mason B., Pool B., et al. Acute effect of milk on serum urate concentrations: a randomised controlled crossover trial. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:1677-82.
- Charfi N., Dammak M., Mnif Feki M., Kaffel N., Rekik N., Mnif F., et al. Profil épidémiologie, clinique, métabolique et nutritionnel de l'obésité dans la région de Sfax (Tunisie). *Diab Metabolism* 2008; 34:A40-A100.
- Alaya Z., Ben Haj Slama K., Zeglaoui H., Ben Fredj H., Jamel A., Ben Abdesslem H., Bouajina E. Les motifs d'hospitalisation au cours de la goutte à propos de 16 cas. *La Tunisie Médicale* 2011; 89:121-2.
- Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti GA., Uzunov D., et al. The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol contents. *Food Chem* 2009; 112:587-94.
- Keenan RT., O'Brien WR., Lee KH, Crittenden DB., Fisher MC., Goldfarb DS., et al. Prevalence of contreindications and prescription of pharmacologic therapies for gout. *Am J Med* 2011; 124:155-63.
- Pillinger MH., Goldfarb DS., Keenan RT. Gout and its comorbidities. *Bull Hosp J Dis* 2010; 68:199-203.
- Van den Bussche H., Koller D., Kolonko T., Hansen H., Wegscheider K., Glaeske G., et al. Which chronic diseases and disease combinations are specific to multimorbidity in the elderly? Results of a claims data based cross-sectional study in Germany. *BMC Public Health* 2011; 1186:1471-78.
- Bennesser Alaoui H., Tazi Mezalek Z., Harmouche H., Aouni M., Maaouni A. La goutte: nouvelles recommandations. *Espérance Médicale* 2010; 166:119-33.
- Cheikh-Rouhou S., Hentati B., Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Attia H. Chemical Composition and Lipid Fraction Characteristics of Aleppo Pine (*Pinus halepensis* Mill.) Seeds Cultivated in Tunisia. *Food Sci Technol Int* 2006; 15:407-16.
- Sezik E., Osman U., Demirci B., Baser KHC. Composition of the essential oils of *Pinus nigra* Arnold from Turkey. *Turk J Chem* 2010; 34:313-25.
- Nasri N., Triki S. Lipid analysis of Tunisian pine seeds: *P. halepensis* Mill. and *P. pinea* L. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* 2004; 4:244-7.
- Baytop T. Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present), 1st ed. Istanbul University, Istanbul; 2001, p.178-249.
- Blazso G., Gabor M., Schonlau F., Rohdewald P. Pycnogenols accelerates wound healing and

- reduces scar formation. *Phytother Res* 2004; 18:579-81.
19. Fujita T., Sezik E., Mamoru T., Yesilada E., Honda G., Takeda Y., et al. Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in Middle and West Black Sea Regions. *Econ Bot* 1995; 49:406-22.
  20. Tumen I., Hafizoglu H., Kilic A., Donmez IE., Sivrikaya H., Reunanen M. Yields and constituents of essential oil from cones of Pinaceae spp. Natively grown in Turkey. *Molecules* 2010; 15:5797-806.
  21. Gulçin I., Buyukokuroglu M E., Oktay M., Kufrevioglu O I. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra Arn. Subs p. pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *J Ethnopharmacol* 2003; 86:51-8.
  22. Essawy SS., Abdel-Sater KA., Elbaz AA. Comparing the effects of inorganic nitrate and allopurinol in renovascular complications of metabolic syndrome in rats: role of nitric oxide and uric acid. *Arch Med Sci* 2014; 10(3):537-45.
  23. Ince I., Yesil-Celiktas O., Karabay-Yavasoglu NU., Elgin G. Effects of *Pinus brutia bark* extract and Pycnogenols in a rat model of carrageen an induced inflammation. *Phytomedicine* 2009; 16:1101-4.
  24. Turner PV., Brabb T., Pekow C., Vasbinder MA. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011; 50(5):600-13.
  25. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Official Journal of the European Communities*, 1986, (JO 86/609/CEE) L358, p 1-18.
  26. Buege JA., Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology* 1984; 105:302-10.
  27. Beyer WF., Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal Biochem* 1987; 161:559-66.
  28. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Method Enzymol* 1984; 105:121-6.
  29. Flohe L., Gunzler WA. Analysis of glutathione peroxidase. *Method Enzymol* 1984; 105:114-21.
  30. Lowry OH., Rosebrough NJ., Farr AL., Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
  31. Garay RP., El-Gewely MR., Labaune JP., Richette P. Therapeutic perspectives on uricases for gout. *Joint Bone Spine* 2012; 79:237-42.



## Phytothérapie

### Effet d'un extrait terpénique de gingembre sur la prolifération et le stress oxydatif des cellules du carcinome épidermoïde laryngé humain Hep2 et des fibroblastes aortiques sains de *Rattus norvegicus*, *in vitro*

Effect of a ginger terpen extract on the proliferation and oxidative stress of human laryngeal squamous carcinoma cell Hep 2 and healthy aortic fibroblasts of *Rattus norvegicus*, *in vitro*

Amina OTSMANE<sup>1\*</sup>, Houda BENCHEIKH<sup>1</sup>, Yasmina BENAZZOUG<sup>2</sup>, Lynda BOUDARENE<sup>3</sup>, Souhila AOUICHAT-BOUGUERRA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Equipe de Physiopathologie Cellulaire et Moléculaire. Faculté de Biologie. USTHB-Alger.

<sup>2</sup>Equipe de Biochimie de la Matrice Extracellulaire. Faculté de Biologie. USTHB-Alger

<sup>3</sup>Laboratoire d'Analyse Organique et Fonctionnelle. Faculté de Chimie. USTHB-Alger.

Reçu le 06 Mars 2015, Révisé le 31 Mars 2015, Accepté le 16 Mai 2015

\*Auteur correspondant : [otsmane.amina@yahoo.fr](mailto:otsmane.amina@yahoo.fr)

**Résumé Introduction.** Le cancer est devenu émergent dans le monde, étant donné le taux de mortalité de plus en plus important. Devant cette augmentation croissante, les pistes de recherche liées au cancer se sont multipliées. **Objectifs.** Une étude *in vitro* est menée sur des cellules du carcinome épidermoïde laryngé humain : Hep 2 et sur des fibroblastes sains de *Rattus norvegicus* afin d'évaluer l'effet d'un extrait terpénique de gingembre sur la prolifération et l'oxydation cellulaire. **Matériel et méthodes.** La culture cellulaire des Hep 2 et des fibroblastes aortiques sains, en présence et en absence de la concentration efficace CE50 de gingembre a permis d'évaluer l'effet de ce dernier sur la prolifération par comptage cellulaire ; d'analyser son effet sur le stress oxydant par dosage du malondialdéhyde (MDA) dans les compartiments intra- et extracellulaires et d'examiner les modifications morphologiques qu'il provoque. **Résultats.** L'extrait terpénique induit une diminution significative de 62% du taux de prolifération des Hep 2 ainsi qu'une augmentation non significative du taux de MDA dans leur compartiment extracellulaire (37%) et une augmentation du taux de MDA dans leur compartiment extracellulaire (37%) et une augmentation du taux de MDA

dans leur compartiment intracellulaire (81%). L'examen morphologique montre des signes d'apoptose des Hep2, sous l'effet de l'extrait terpénique. En revanche, ce dernier induit peu de variations de la prolifération (9%) des fibroblastes aortiques sains ainsi qu'une oncose et une peroxydation lipidique modérée. **Conclusion.** Cette étude révèle que l'extrait terpénique du gingembre possède un effet cytotoxique, antiprolifératif et pro-apoptotique.

**Mots Clés :** *Cellules du carcinome épidermoïde laryngé humain Hep2, Fibroblastes aortiques, Gingembre, Terpène, Prolifération, Oxydation cellulaire, Apoptose*

**Abstract Introduction.** Cancer has become increasingly significant with high death rates around the world. Cancer research studies have increased proportionally. **Objectives.** An *in vitro* study was conducted on human laryngeal squamous carcinoma cells Hep 2 and healthy aortic fibroblasts of *Rattus norvegicus*, in order to evaluate the effect of ginger terpenic extract on cell proliferation and oxidation. **Materials and Methods.** Cell culture of Hep 2 and healthy aortic fibroblasts, in the absence and presence of the efficient concentration EC 50 of terpenic extract, allowed to evaluate its effect on proliferation by cell counting; to analyse its effect on oxidative stress by Malondialdehyde (MDA) determination in both intracellular and extracellular compartments and to examine the morphological changes produced. **Results.** The terpenic extract induced a significant decrease (-62%) in Hep2 proliferation rate, a non-significant increase in MDA rate in extracellular compartment (+37%) and an increase in MDA rate in intracellular compartment (+81%). The morphological exam showed signs of Hep2 apoptosis under the effect of terpenic extract. In contrast, it induced little changes in the proliferation (9%) of healthy aortic fibroblasts and a moderate lipid peroxidation. **Conclusion.** This study shows that the terpenic extract from ginger has cytotoxic, anti-proliferative and pro-apoptotic effects.

**Keywords:** *Human laryngeal squamous cell carcinoma Hep 2, Aortic fibroblasts, Ginger, Terpen, Proliferation, Cell oxidation, Apoptosis*

## Introduction

Le stress oxydatif qui est le déséquilibre de la balance pro-oxydants/antioxydants, est impliqué dans de nombreux processus, aussi bien physiologiques, tel que le vieillissement [1], que pathologiques, tels que les maladies neuro-dégénératives [2]; l'athérosclérose [3]; l'accident vasculaire cérébral (AVC) [4] et le cancer [5]. Dans le cas de ce dernier, le stress oxydatif est incriminé dans l'installation de différents types de cancers [5], et ce au cours des différentes phases de la cancérogenèse, essentiellement au cours de

l'initiation [6]. Les cellules cancéreuses, issues de la transformation cellulaire de certaines cellules initialement normales, acquièrent de nouveaux caractères, entre autre, l'exacerbation de la prolifération. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer est devenu une des causes majeures de décès dans le monde, avec 8,2 millions de décès en 2012 [7]. En Algérie, le cancer occupe la 2<sup>ème</sup> position, après la pathologie cardiovasculaire dans la morbidité générale [8]. Face à ces chiffres inquiétants, de nombreuses approches préventives et thérapeutiques sont établies, notamment la chimiothérapie, la

radiothérapie, mais aussi l'usage des composés naturels.

Dans ce cadre, l'intérêt de cette étude est d'évaluer l'influence d'une phytothérapie à base d'extrait terpénique issu du gingembre, sur la prolifération et l'oxydation des cellules du carcinome épidermoïde laryngé humain Hep2, comparées aux fibroblastes aortiques sains de *Rattus norvegicus*.

## Matériel et Méthodes

### Matériel Biologique et extrait végétal

L'étude est réalisée *in vitro* sur des cellules du carcinome épidermoïde laryngé humain de la lignée Hep 2, comme modèle de cellules cancéreuses. Leur utilisation est faite selon les règles dictées par des responsables d'éthique sur le plan international, entre autre, un représentant de l'institut Pasteur de Paris. Des fibroblastes aortiques de jeunes femelles *Rattus norvegicus*, avec un poids moyen de 200 g, sont utilisés comme modèle de cellules non tumorales. Plusieurs lots de cellules ont été constitués : les lots de cellules cancéreuses et non cancéreuses incubées en présence et en absence de l'extrait terpénique issu du gingembre, dont la dose utilisée correspond à la concentration efficace CE50.

### Méthodes

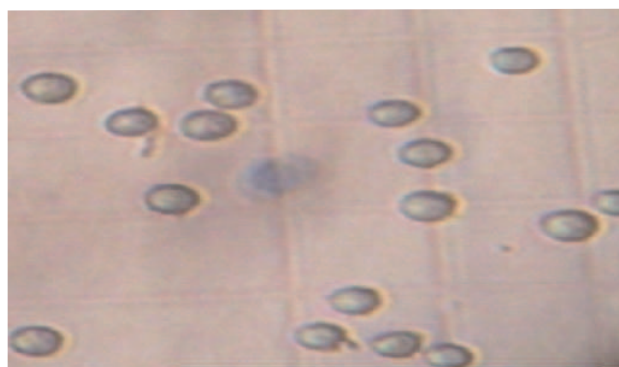
#### Analyses biologiques

Le gingembre a été traité au laboratoire d'Analyse Organique et Fonctionnelle de la Faculté de Chimie de l'USTHB. Le potentiel antioxydant de l'extrait terpénique est déterminé par la méthode d'hydrodistillation. La concentration efficace CE50 est déterminée par la méthode du DPPH (1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil) qui repose sur la réaction entre le DPPH qui est un radical libre stable de couleur violette intense et l'extrait terpénique de gingembre. La réaction aboutit à la formation d'un composé réduit le Diphényl Pycril Hydrazine, de couleur jaune et dont l'intensité est inversement proportionnelle à la capacité réductrice du composé à tester [9]. La culture cellulaire des Hep2 et des fibroblastes aortiques sains à leur 6<sup>ème</sup> passage, en présence et en

absence de l'extrait terpénique est réalisée dans des plaques multi-puits (avec une population initiales de  $3,4 \times 10^5$  cellules/puits) dans un milieu complet de Roswell Park Memorial Institute RPMI (Sigma) supplémenté avec 10% de Sérum de veau foetal (SVF), comme source de facteurs mitogènes, (Sigma) ; 1% d'antibiotiques (Gibco) et 1,2% de glutamine (Gibco). Les différents lots de cellules sont mis en culture dans un incubateur à CO<sub>2</sub> (Mettler), dans des conditions bien déterminées (5% CO<sub>2</sub> ; 95% O<sub>2</sub> ; 90% d'humidité et une température de 37°C pendant 72 heures). La culture cellulaire a permis de réaliser différents tests.

#### Etude de la prolifération

L'effet de l'extrait terpénique sur la prolifération est évalué par comptage cellulaire. Après 72h d'incubation, 48h en présence de SVF et 24 h en absence de SVF, le milieu est éliminé et les cellules sont rincées au PBS 1X (Tampon phosphate salin, Gibco) puis soumises à l'action de la trypsine 0,1% (Merck) afin de détacher les cellules et obtenir une suspension cellulaire. Cent µL de chaque suspension cellulaire sont comptés sur cellule de Mallassez, sous microscope inversé (Zeiss), et ce en présence de bleu de trypan 0,2% (colorant d'exclusion qui permet d'évaluer la viabilité cellulaire en donnant une couleur bleue aux cellules mortes). Le taux de prolifération est exprimé en millions de cellules par mL de milieu, après avoir effectué la moyenne des cellules comptées sur la cellule de Mallassez (Fig. 1).



**Fig 1. Aspect des cellules Hep 2 non traitées lors du comptage en présence de bleu de trypan, sous microscope inversé.**

#### Evaluation de la peroxydation lipidique

L'effet de l'extrait terpénique sur le stress oxydant

des cellules cancéreuses Hep2 est déterminé par le dosage du malondialdéhyde (MDA), produit final compartiments intracellulaires et extracellulaires des cellules Hep 2 et fibroblastes, incubées en présence et en absence de l'extrait terpénique. Ce dosage est une mesure indirecte du stress oxydatif qui consiste à évaluer le taux de MDA réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Après 72h d'incubation, les milieux contenus dans les flasks, correspondant aux compartiments extracellulaires, sont récupérés directement, alors que les compartiments intracellulaires correspondant aux tapis cellulaires sont récupérés par grattage en présence de RPMI. Les cellules sont lysées à l'aide du tampon de lyse à pH 6,6 constitué de Tris HCl à 0,1 M et de Triton à 1%. Après centrifugation à 4400 x g pendant 30 min à 4°C, l'acide trichloracétique (TCA) est ajouté afin de précipiter les protéines, suivi du TBA aboutissant à la formation de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) (Fig. 2).

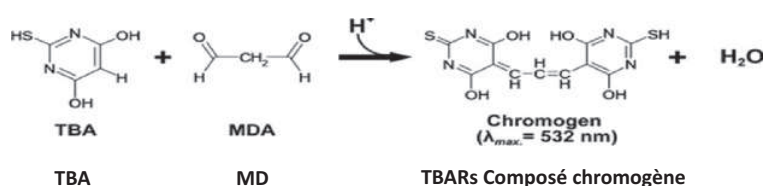


Fig. 2. Principe de l'action du TBA avec le MDA

Cette opération est suivie d'une homogénéisation, d'une ébullition pendant 15min et d'un refroidissement dans de la glace pendant 5min puis d'une 2<sup>ème</sup> centrifugation à 4400 x g pendant 30 min à 4°C. Une lecture de la densité optique, proportionnelle à la couleur rose des TBARS est effectuée par spectrophotométrie à 532 nm. Les quantités de MDA sont évaluées à partir d'une courbe étalon réalisée à partir d'une solution mère de MDA à 25  $\mu\text{M}$ .

### Etude morphologique

Après 72 h d'incubation, les milieux des cellules Hep2 incubées en présence et en absence de l'extrait terpénique sont éliminés et les tapis cellulaires sont mis en contact avec une quantité suffisante de fixateur, le Bouin aqueux, pendant 30 min suivi d'un rinçage au PBS 1 X, afin d'en éliminer l'excès, puis colorés avec le May-Grunwald-Giemsa (MGG). L'observation est réalisée sous microscope inversé.

### Effets de l'extrait terpénique sur les fibroblastes aortiques sains

La CE50 de l'extrait terpénique de gingembre est administrée à des cultures de fibroblastes aortiques sains de *Rattus norvegicus*, incubés pendant 72h, en présence de SVF et 24h en absence de SVF, afin d'analyser l'effet de l'extrait sur la prolifération et l'oxydation cellulaire des cellules saines, en comparaison avec les cellules cancéreuses.

### Analyse statistique

Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard. La comparaison de deux moyennes est réalisée par le test de Student. \* $P \leq 0,05$ ; \*\* $P \leq 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; \*\*\*\* $P < 0,0001$ .

## Résultats

### Etude de la prolifération

L'extrait terpénique induit une diminution ( $P < 0,0001$ ) du taux de prolifération des Hep2 ( $1,771 \pm 0,175 \times 10^6$  cellules en absence de l'extrait terpénique vs  $0,68 \pm 0,175 \times 10^6$  cellules en présence de l'extrait terpénique) (Fig. 3).

Taux de prolifération ( $10^6$  cellules)

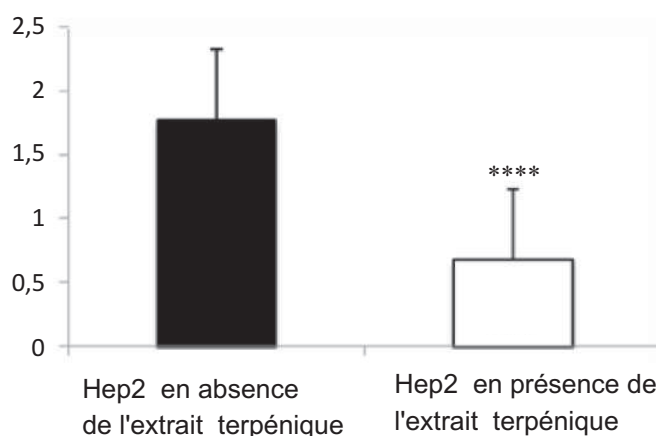


Fig. 3. Taux de prolifération des Hep2, en absence et en présence de l'extrait terpénique après une incubation de 72 h ( $10^6$  cellules/mL).

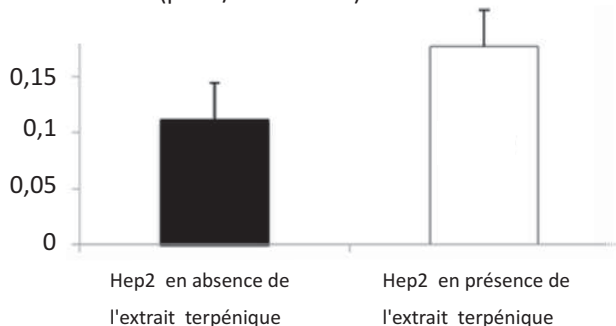
\*\*\*\* $P < 0,0001$  : Hep2 en présence de l'extrait terpénique vs Hep2 en absence de l'extrait terpénique.

### Etude de la peroxydation lipidique

Dans le compartiment extracellulaire des Hep2, l'extrait terpénique du gingembre induit une augmentation non significative du taux de MDA ( $0,112 \pm 0,009 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules pour les

Hep2 en absence de l'extrait terpénique vs  $0,177 \pm 0,026 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules pour les Hep2 en présence de l'extrait terpénique) (Fig. 4).

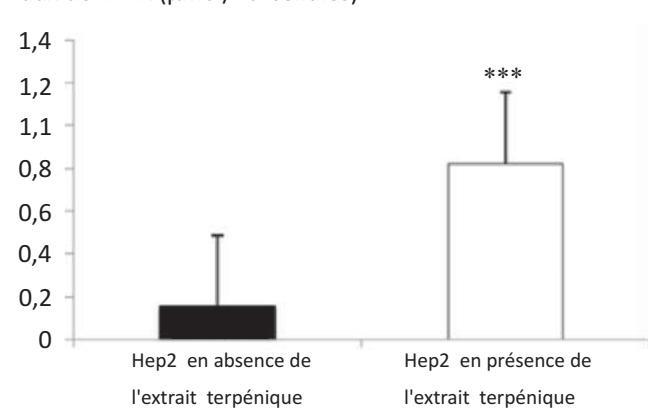
Taux de MDA ( $\mu\text{mol}/10^6$  cellules)



**Fig. 4. Taux de MDA dans le compartiment extracellulaire des Hep2 en absence et en présence de l'extrait terpénique de gingembre après une incubation de 72h ( $\mu\text{mole}/10^6$  cellules)**

En revanche, une augmentation hautement significative du taux de MDA est provoquée par l'extrait terpénique dans le compartiment intracellulaire des Hep2 ( $0,156 \pm 0,01 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules pour les Hep 2 en absence de l'extrait terpénique vs  $0,822 \pm 0,063 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules pour les Hep 2 en présence de l'extrait terpénique) (Fig. 5).

Taux de MDA ( $\mu\text{mol}/10^6$  cellules)



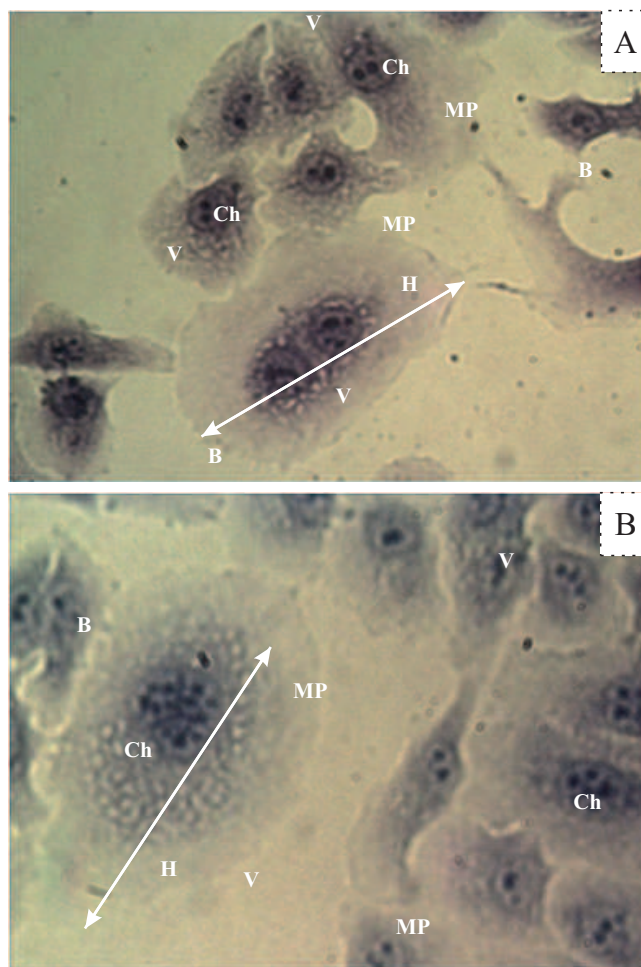
**Fig. 5. Taux de MDA dans le compartiment intracellulaire des Hep2 en absence et en présence de l'extrait terpénique de gingembre après une incubation de 72 h ( $\mu\text{mole}/10^6$  cellules)**

\*\*\* $P < 0,001$  : Hep2 en présence de l'extrait terpénique vs Hep2 en absence de l'extrait terpénique

### Etude morphologique

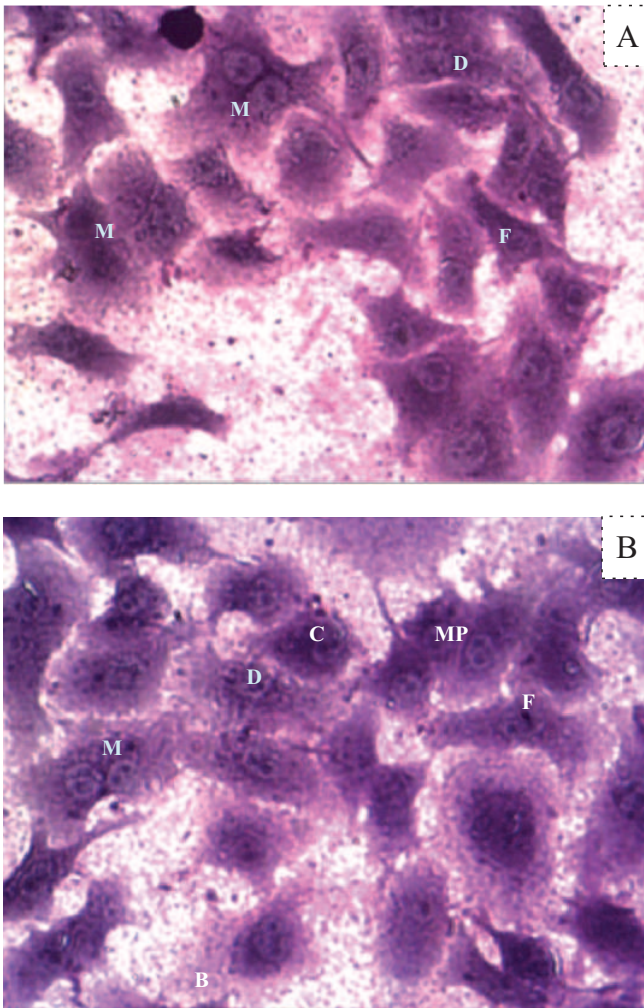
L'analyse de l'aspect cellulaire des Hep2, incubées en présence de l'extrait terpénique, montre que ce dernier induit des modifications morphologiques, en relation avec le processus apoptotique qui se

manifeste par la condensation de la chromatine contre l'enveloppe nucléaire (ce qui donne l'aspect dense à la région périnucléaire), l'oncose ou la vacuolisation cytoplasmique, la fragmentation du noyau, le bourgeonnement et l'irrégularité membranaire ainsi que l'hypertrophie cellulaire (Fig. 6). Ces modifications morphologiques sont associées à une diminution de la densité cellulaire en comparaison avec les Hep2 incubées en absence de l'extrait terpénique qui se caractérisent par une densité cellulaire élevée, une forme variable, un cytoplasme dense et une division cellulaire active (Fig. 7).



**Fig. 6 (A, B). Aspect cellulaire des Hep2 incubées en présence d'extrait terpénique du gingembre CE50=  $582,26 \text{ mg. L}^{-1}$**

Ch : condensation de la chromatine d'où l'aspect dense de la membrane nucléaire, H : hypertrophie cellulaire, MP : irrégularité de la membrane, V : vacuolisation (oncose), B : Bourgeonnement membranaire). Incubation pendant 72 h, fixation au Bouin aqueux, coloration au MGG. Observation sous microscope inversé Gx192.



**Fig.7 (A, B). Aspect cellulaire des Hep2 incubées en absence de l'extrait terpénique, dans du milieu complet**  
*M: division cellulaire active, D: densité cellulaire élevée, C: cytoplasme dense, F: forme variable.*  
 Incubation pendant 72 h, fixation au Bouin aqueux, coloration au MGG, observation sous microscope inversé Gx168.

*Effets de l'extrait terpénique sur les fibroblastes aortiques sains*

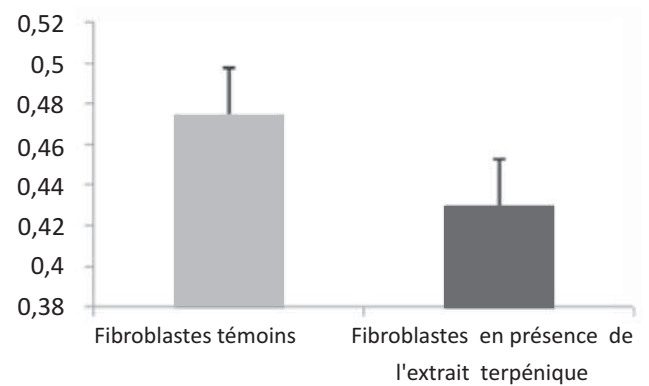
*Etude de la prolifération*

L'extrait terpénique induit peu de variations du taux de prolifération des fibroblastes aortiques sains incubés en présence de l'extrait terpénique ( $0,43 \pm 0,021 \times 10^6$  cellules) comparés aux témoins incubés en absence de l'extrait terpénique ( $0,475 \pm 0,006 \times 10^6$  cellules) (Fig. 8).

*Etude de la peroxydation lipidique*

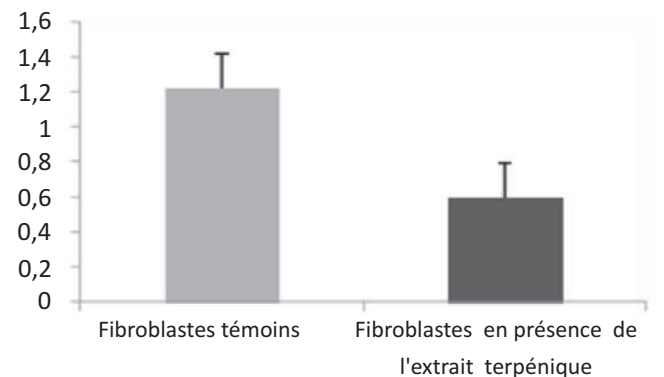
Une diminution du taux de MDA ( $P < 0,001$ ) est notée dans le compartiment extracellulaire des fibroblastes incubés en présence de l'extrait terpénique ( $0,592 \pm 0,282 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules) par rapport aux témoins correspondants ( $0,127 \pm 0,025 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules) (Fig. 9).

Taux de prolifération ( $10^6$  cellules)



**Fig. 8. Evaluation du taux de prolifération des fibroblastes en présence et en absence de l'extrait terpénique du gingembre incubés pendant 72 h ( $10^6$  cellules)**

Taux de MDA ( $\mu\text{mol}/10^6$  cellules)



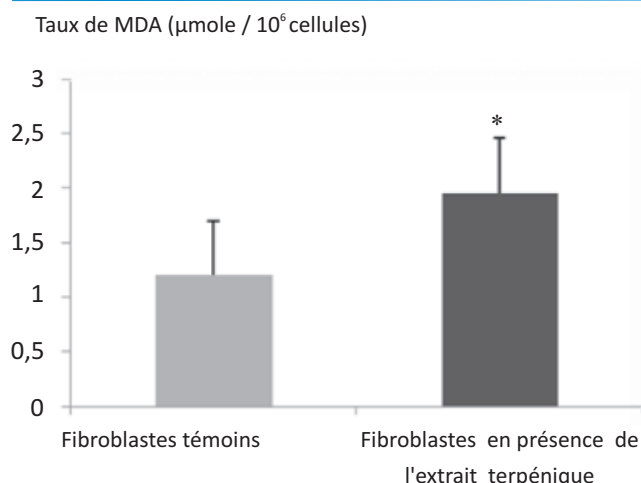
**Fig. 9. Evaluation du taux de MDA dans le compartiment extracellulaire des fibroblastes en présence et en absence de l'extrait terpénique de gingembre incubés pendant 72 h ( $\mu\text{mole}/10^6$  cellules)**

*\*\*\* $P < 0,001$  : fibroblastes traités par l'extrait terpénique du gingembre vs fibroblastes témoins*

En revanche, une augmentation significative du taux de MDA est notée dans le compartiment intracellulaire des fibroblastes incubés en présence de l'extrait terpénique ( $1,955 \pm 0,6 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules) par rapport aux témoins correspondants ( $0,128 \pm 0,025 \mu\text{mol MDA}/10^6$  cellules) (Fig. 10).

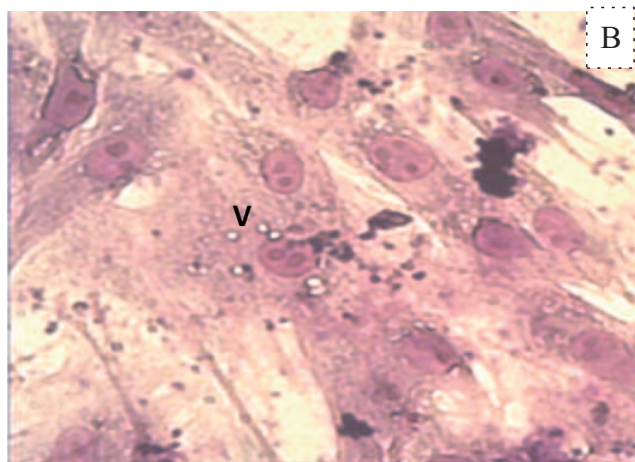
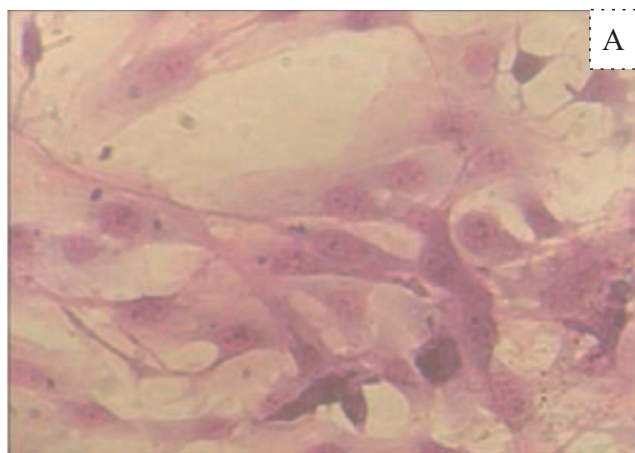
*Etude morphologique*

L'incubation des fibroblastes en présence de l'extrait terpénique induit peu de modifications morphologiques sauf la présence de quelques vacuoles oncotiques, comparativement aux fibroblastes témoins incubés en absence de l'extrait terpénique (Fig. 11).



**Fig. 10. Evaluation du taux de MDA dans le compartiment intracellulaire des fibroblastes en présence et en absence de l'extrait terpénique de gingembre incubés pendant 72 h ( $\mu\text{mole}/10^6 \text{cellules}$ )**

\* $P < 0,05$  : fibroblastes traités par l'extrait terpénique du gingembre vs fibroblastes témoins



**Fig. 11. Aspect cellulaire des fibroblastes incubés dans du milieu complet**

A : en absence de l'extrait terpénique  $G \times 180$ , B : en présence de l'extrait terpénique  $G \times 192$ . V : légère oncosse. Incubation pendant 72 h, fixation au Bouin Aqueux, coloration au MGG, observation sous microscope inversé.

## Discussion

L'administration de l'extrait terpénique du gingembre aux cultures de Hep2 induit une diminution du taux de prolifération, et ce en accord avec d'autres études qui ont montré un effet antiprolifératif des terpènes. En effet, Greay *et al.* [10] révèlent que le monoterpène Perillyl alcohol possède un effet antiprolifératif sur plusieurs lignées tumorales *in vitro*, traduit par l'inhibition de la protéine G monomérique Ras, l'arrêt du cycle cellulaire en G1 et l'induction de l'apoptose, d'une manière dose et temps dépendante. Yuri *et al.* [11] observent également que ce même terpène induit l'arrêt du cycle cellulaire en G1, en inhibant la cycline D1 et la cycline E et en surexprimant la P21. Noori *et al.* [12] montrent que le sesquiterpène Tehranolide diminue significativement la prolifération des cellules du cancer du sein humain (MCF-7) via l'induction de l'apoptose médiée par les espèces réactives de l'oxygène (ROS), le maintien des cellules en phase G1 et l'altération de la voie PI3K/Akt induisant ainsi la suractivation de P27 inhibiteur du complexe cycline E/CDK2 d'une part, et en diminuant l'expression des protéines cycline D1 et CDK4, d'autre part. Tao *et al.* [13] suggèrent que la combinaison de l'élémane (monoterpène) avec le cisplatine (médicament anticancéreux) a un effet antiprolifératif remarquable sur les Hep2 *in vitro* et *in vivo*.

L'augmentation du taux de MDA dans le compartiment extracellulaire des Hep2, en présence de l'extrait terpénique suggère que ce dernier induit l'altération de la membrane cellulaire avec modification de sa perméabilité et de sa sélectivité [14]. Par ailleurs, l'augmentation du taux de MDA dans le compartiment intracellulaire des Hep2, sous l'effet de l'extrait terpénique, peut être expliquée par l'oxydation des lipides cellulaires due à la production excessive des ROS, en réponse au traitement terpénique. Certains auteurs suggèrent que le traitement des cellules cancéreuses MCF-7 par le sesquiterpène Tehranolide peut induire une augmentation de la production de ROS intracellulaires [12].

L'hypertrophie cellulaire des Hep2, incubées en présence de l'extrait terpénique peut être considérée comme une adaptation des cellules

cancéreuses au stress oxydant causé par l'extrait terpénique, alors que l'irrégularité membranaire serait due à la modification de la structure membranaire. Ces résultats sont en accord avec l'étude de *Catală* [14] qui montre que l'attaque oxydative des lipides membranaires fait perdre la structure mosaïque fluide de la membrane ainsi que sa fonction de barrière sélective. D'autre part, des changements morphologiques associés à l'apoptose sont observés sur les cultures cellulaires de MCF-7 traitées par le sesquiterpène Tehranolide, notamment la condensation de la chromatine, le changement de la surface cellulaire, la formation des corps apoptotiques et la fragmentation de l'ADN, de manière dose et temps dépendante [12]. Ce même terpène induit l'apoptose, non pas *via* la voie des récepteurs de la mort (voie extrinsèque), mais par la voie mitochondriale (voie intrinsèque), médiée par les ROS produites en excès dans les MCF-7 traitées, la mitochondrie étant une source essentielle des ROS, mais aussi leur cible. En effet, les ROS sont impliquées dans l'apoptose de différentes manières, soit en induisant directement ou indirectement la libération du cytochrome C *via* l'ouverture des pores de transition de perméabilité (PTP), ou en modulant l'expression des protéines de la famille Bcl-2 en surexprimant la protéine pro-apoptotique Bax et en réprimant la protéine anti-apoptotique Bcl-2, ou encore en activant les caspases 3 et 9 impliquées dans la voie apoptotique caspase-dépendante [12].

L'administration de l'extrait terpénique au milieu des fibroblastes aortiques induit une légère peroxydation lipidique qui n'altère pas les membranes cellulaires, alors que sur le plan morphologique, il n'induit pas de modifications sauf une légère oncose dans le cytoplasme qui peut être liée à la dose du traitement. Plusieurs études ont montré que l'action des terpènes est dose et temps dépendante [10,12-13]. Il a été noté que les terpènes n'exercent pas leur effet antiprolifératif sur les cellules saines, cela s'observe dans l'étude de *Rabi et al.* [15] qui indique que le monoterpène D-limonène n'est pas toxique sur les cellules normales de l'épithélium prostatique, tout en étant toxique sur les cellules tumorales de la prostate.

## Conclusion

L'extrait terpénique, analysé dans cette étude, possède *in vitro* un effet cytotoxique, antiprolifératif et pro apoptotique dans les cellules du carcinome épidermoïde laryngé humain Hep2, alors que dans les fibroblastes aortiques sains de *Rattus norvegicus*, il induit une légère oncose et une peroxydation lipidique modérée n'altérant pas les membranes cellulaires. Les résultats obtenus en ce qui concerne le rôle crucial des extraits végétaux dans la thérapie anticancéreuse laisse espérer un élargissement du spectre d'utilisation des éléments naturels dans l'alimentation ou comme additifs alimentaires dans la prévention antioxydante de différentes pathologies notamment le cancer.

## Conflits d'intérêts

Aucun conflit d'intérêt en relation avec cette étude.

## Références

1. Barouki R. Stress oxydant et vieillissement. *Médecine Sciences* 2006; 22: 266-72.
2. Moreira PI., Nunomura A., Nakamura M., Takeda A., Shenk JC., Aliev G. *et al.* Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. *Free Radical Biol Medicine* 2008; 44:1493-05.
3. Madamanchi NR., Tchivilev I., Runge MS. Genetic Markers of Oxidative Stress and Coronary Atherosclerosis. *Cur Atheroscler Rep* 2006; 8:177-83.
4. Moro MA., Almeida A., Bolaños JP., Lizasoain I. Mitochondrial respiratory chain and free radical generation in stroke. *Free Radical Biol Medicine* 2005; 39: 1291-304.
5. Kryston TB., Georgiev AB., Pissis P., Georgakilasag AB. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Res* 2011; 711:193-101.
6. Reuter S., Gupta SC., Chaturvedi MM., Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biol Medicine* 2010; 49:1603-16.
7. World Cancer Report 2014, IARC.



8. Djedi H., Bouzid K. Les cancers en Algérie. *Médecine Plus* 2012; 22:25-8.
9. Gaikwad P., Barik A., Priyadarsini KI., Rao BSM. Antioxidant activities of phenols in different solvents using DPPH assay. *Res Chem Intermed* 2010; 36:1065-72.
10. Greay SJ., Ireland DJ., Kissick HT., Levy A., Beilharz MW., Riley TV., Carson CF. Induction of necrosis and cell cycle arrest in murine cancer cell lines by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and terpinen-4-ol. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 65:877-88.
11. Yuri T., Danbara N., Tsujita-Kyutoku M., Kiyozuka Y., Senzaki H., Shikata N. *et al.* Perillyl alcohol inhibits human breast cancer cell growth in vitro and in vivo. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 84:251–60.
12. Noori S., Hassan ZM. Tehranolide inhibits proliferation of MCF-7 human breast cancer cells by inducing G0/G1 arrest and apoptosis. *Free Radical Biol Medicine* 2012; 2:1987-99.
13. Tao L., Zhou L., Zheng L., Yao M. Elemene displays anti-cancer ability on laryngeal cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58:24-34.
14. Catalá A. Lipid peroxidation modifies the picture of membranes from the “Fluid Mosaic Model” to the “Lipid Whisker Model”. *Biochimie* 2011; 94:101-9.
15. Rabi T., Bishayee A. Terpenoids and breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 115:223-39.

---

## INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

2015

La revue intitulée "**Nutrition & Santé**" est un périodique semestriel, qui publie des articles en français et également en anglais. Elle publie particulièrement toute étude originale ayant trait à :

- Connaissance de l'alimentation, diététique et nutrition
- Sciences alimentaires
- Physiopathologies métaboliques et nutritionnelles
- Santé
- Composés bioactifs
- Phytothérapie
- Biotechnologies et nutrition

mais aussi des revues générales, des mises au point, des communications brèves et des « libres opinions » ou des « lettres à la rédaction se rapportant à des sujets d'actualité traités dans la revue.

### 1. RÈGLES DE PUBLICATION

**1.1.** Tout manuscrit envoyé à la revue est soumis à relecture. L'approbation du Comité Editorial, après modifications éventuelles, est nécessaire pour la publication de l'article.

**1.2.** Les articles ne doivent pas avoir été publiés antérieurement, ni être publiés simultanément dans une autre revue.

**1.3.** Le fait de soumettre un article sous-entend que le travail décrit est approuvé par tous les auteurs. En cas d'acceptation, il ne fera l'objet d'aucune autre publication en l'état, que ce soit en français ou dans toute autre langue, sans le consentement écrit de l'éditeur.

#### Recommandations d'ordre éthique

L'auteur principal accepte la responsabilité du manuscrit soumis à la revue "Nutrition & santé", au nom des co-auteurs. Les co-auteurs reconnaissent, par leurs signatures au bas de la lettre d'intention, la qualité de leur participation à la rédaction du manuscrit.

**1.4.** Si des extraits d'autres travaux ou documents sous copyright sont inclus dans l'article, *les auteurs doivent fournir une autorisation écrite* émanant des détenteurs du copyright et citer les sources de la publication princeps dans l'article.

**1.5.** Les travaux soumis doivent être conformes aux lois en vigueur sur l'expérimentation biomédicale et aux recommandations des comités d'éthiques.

**1.6.** Enfin, la revue suit les pratiques internationales relatives aux conflits d'intérêt, en rapport avec les publications soumises. *Les auteurs sont priés de respecter les règles de fond et de forme rappelées ici.*

---

## 2. SOUMISSION DU MANUSCRIT

### Soumission par e-mail

Les manuscrits (texte, tableaux et figures compris) doivent être adressés par courrier électronique à la rédaction de la revue "Nutrition & santé" à l'adresse suivante : nutrition-santé@san-dz.org

Joindre en pièces attachées :

- une lettre à l'éditeur
- un fichier pour le manuscrit complet (avec figures et tableaux à la fin du manuscrit).

Tout manuscrit doit être soumis en **format Word**.

### Informations générales

La revue "Nutrition & Santé" offre, à ses lecteurs, différentes rubriques. Les auteurs sont priés d'indiquer sous quelle rubrique ils souhaitent publier leur manuscrit, le Comité Editorial se réservant l'affectation définitive du manuscrit.

- **Les articles originaux** : Ils ne peuvent excéder 20 pages et comportent : un résumé en français et en anglais de 250 mots maximum, il ne doit pas dépasser 45 000 caractères (espaces compris) (env. 20 pages, 25 lignes par page, en double interligne), bibliographie et remerciements inclus.

- **Les articles de synthèse** : Ces articles ont pour but de présenter une mise au point des connaissances, de souligner les acquisitions récentes, de bien montrer comment vont de pair les progrès en biologie et en médecine et, enfin, d'attirer l'attention sur les questions encore non résolues. Les articles ne devraient pas excéder 20 pages (non compris les références, les schémas, les tableaux et leurs légendes). Chaque article doit comporter un résumé en français et en anglais informatif d'environ 30 lignes, ainsi que les mots clés correspondants (3 à 6) servant à référencer l'article dans les bases de données. Les auteurs pour lesquels l'anglais n'est pas familier sont vivement encouragés à faire relire leur texte par des experts en la matière.

L'Editeur se réserve le droit d'apporter des corrections s'ils l'estiment nécessaire.

Les articles pourront comporter jusqu'à 6 illustrations, tableaux ou figures.

Les références bibliographiques ne doivent pas prétendre à l'exhaustivité mais plutôt à la sélectivité : leur nombre ne devrait pas excéder 30.

- **Le point sur...** Cette rubrique est destinée à faire le point sur un sujet technique ou d'actualité et à mettre en perspective les articles de synthèse qui y sont consacrés. Le texte manuscrit comprend environ 5 pages dactylographiées et 10 références bibliographiques. Il est rédigé sur invitation de l'Editeur. Le Résumé et l'abstract ne sont pas requis. Les autres règles applicables pour la soumission de ces communications brèves demeurent identiques à celles mentionnées dans **PRÉSENTATION DU MANUSCRIT**, notamment s'agissant des mots clés et keywords.

- **Les brèves** rapportent une information récente ayant fait l'objet d'une ou de plusieurs publications. Elles sont limitées à 2 pages et à 5 références

## 3. PRÉSENTATION DU MANUSCRIT

Une page comporte, en double interligne, 60 caractères par ligne, 25 lignes par page (soit environ 1500 caractères par page). Sauf accord de la rédaction, les manuscrits ne doivent pas dépasser 45 000 caractères (espaces compris), bibliographie incluse. Ils comportent :

**3.1. Une page de titre donnant le titre long** de l'article (Calibri 12, Gras), aussi précis que possible et sa traduction en anglais. Aucune abréviation ne doit être mentionnée.

**Les auteurs** : Prénom (s) (en toutes lettres) (en minuscule) et noms des auteurs (en majuscule), l'adresse et les coordonnées (mail) du responsable de la correspondance et des co-auteurs (Calibri 12, italique).

**3.2. Une 2<sup>ème</sup> page avec un résumé en français** (Calibri 11, normal, maximum 250 mots), structuré en Introduction, Objectif, matériel & méthodes, Résultats et conclusion du travail. Le résumé sera suivi d'une liste de 3 à 7 mots clés. Toute abréviation doit être explicitée à sa première apparition dans le texte.

---

**3.3. Une 3<sup>ème</sup> page avec un « abstract » en langue anglaise**, qui est la traduction du résumé en français, suivi de 3 à 7 « keywords ».

**3.4. Un texte** (Calibri, 11, normal) **avec Introduction** (permettant au lecteur, même non spécialiste, de connaître l'orientation et l'étendue de l'article, **Matériel & méthodes, Résultats, Discussion et Conclusion.**

### **3.5. Remerciements**

Les personnes citées en remerciements doivent en être informées et avoir donné leur accord.

### **3.6. Financement**

Tout financement de l'étude doit être mentionné.

### **3.7. Conflits d'intérêt**

**Tous les auteurs doivent déclarer toutes les relations** qui peuvent être considérées comme ayant un potentiel conflit d'intérêt **en lien avec le texte publié.** Un conflit d'intérêt existe quand un auteur et/ou un co-auteur entretient des relations financières ou personnelles avec d'autres personnes ou organisations susceptibles d'influencer ses jugements professionnels concernant une valeur essentielle (bien du patient, intégrité de la recherche...). Dans le fichier de l'article, à la suite des remerciements et avant les références, la déclaration des conflits d'intérêt liés à l'article **doit** figurer. Les principaux conflits d'intérêt sont les intérêts financiers, les essais cliniques, les interventions ponctuelles, les relations familiales...

### **3.8. Références bibliographiques**

Les auteurs assument la responsabilité de l'exactitude des références bibliographiques.

#### **3.8.1. Citations dans le texte.**

Chaque référence appelée dans le texte est présente dans la liste bibliographique (et inversement) **et numérotée et appelée par ordre d'apparition.**

Les résultats non publiés et les communications personnelles ne doivent pas figurer dans la liste bibliographique, mais pourront être mentionnés dans le texte. La citation d'une référence comme étant « à paraître » (« in press ») sous-entend que celle-ci a été acceptée pour publication, et doit dans ce cas figurer dans la liste bibliographique.

#### **3.8.2. Citations et listes de références sur Internet**

Les références à des publications sur Internet doivent être incluses dans la liste bibliographique, et par conséquent citées dans le texte. Dans la liste bibliographique, l'URL complète doit être donnée au minimum, suivie de la date de consultation : accédée le... Toute information complémentaire, si elle est connue (noms des auteurs, dates, référence à une publication source, etc.) doit également être indiquée.

#### **3.8.3. Liste bibliographique**

La liste des références en fin d'article, est **numérotée par ordre de citation dans le texte** (et non dans l'ordre alphabétique des noms d'auteurs). Toutes les références de la bibliographie doivent correspondre à des références citées dans le texte, et vice versa. Le style et la ponctuation des références doivent être conformes aux modèles illustrés dans les exemples suivants :

– *référence à un périodique* : Ferrières J., Bongard V., Dallongeville J. Consommation de produits laitiers et facteur de risque cardiovasculaire dans l'étude MONICA. *Cah Nutr Diet* 2006;41:33–8.

– *référence à un ouvrage* : Moneret-Vautrin DA., Kanny G., Morisset M. Les allergies alimentaires de l'enfant et de l'adulte. Paris: Masson; 2006, p. 1–228.

– *référence à un chapitre d'ouvrage* : Fischler C. La régulation sociale des conduites alimentaires. In : Samuel-Lajeunesse B, Foulon C, editors. Les conduites alimentaires, Paris : Masson; 1994, p. 8–21.

### **3.9. Figures et tableaux**

Les tableaux et figures sont là pour faciliter la compréhension des résultats ou des méthodes. Ils sont un complément indispensable du texte, mais ne doivent pas être redondants. **Tableaux et figures** doivent être présentés à la fin du manuscrit. Les tableaux doivent être numérotés en chiffre romain et les figures en chiffre arabe. Chaque figure ou tableau comporte un titre et une légende. Les notes de bas de tableau ou de figure sont

---

placées sous le corps du tableau ou de la figure, signalées par une lettre minuscule en exposant. Les filets verticaux doivent être évités sur les tableaux. Les tableaux doivent être en nombre réduit et leur dimension ne doit pas dépasser la largeur d'une page A4. Les figures doivent être d'une taille suffisante pour pouvoir être lues et ne doivent pas être insérées en image. Afin de faciliter les comparaisons, *l'échelle et le figuré des figures devront demeurer constants pour un même type de figures*. L'utilisation des couleurs n'est pas recommandée dans le manuscrit et devra se limiter à l'indispensable.

#### **4. ACCEPTATION DU MANUSCRIT**

Les articles sont soumis au Comité Editorial qui sollicite l'avis motivé d'au moins deux référés choisis pour leur compétence et leur expertise en la matière. Une notification est adressée à l'auteur correspondant et dans un délai de 12 semaines, les auteurs sont informés du refus ou de l'acceptation avec modification. Dans ce dernier cas, les auteurs devront resoumettre le manuscrit révisé ainsi que les réponses aux commentaires de chaque référent dans un délai d'un mois.

#### **5. MISE EN PRODUCTION, CORRECTION D'ÉPREUVES, TIRÉS À PART, DEMANDE DE REPRODUCTION**

En cas de reproduction partielle ou totale, dans le manuscrit, d'un document ou d'une illustration déjà publiés, l'autorisation écrite de l'éditeur et des auteurs doit être impérativement fournie.

Le manuscrit reçu par l'éditeur est considéré comme étant fourni dans sa forme finale. Il sera envoyé en format PDF par courrier électronique à l'auteur, pour vérification du travail de composition et d'édition. Aucune modification importante ou addition par rapport au manuscrit accepté n'est autorisée à ce stade. Seules les corrections typographiques et orthographiques seront prises en compte. La relecture des épreuves relève de la seule responsabilité des auteurs.

Le Comité Editorial s'efforce de corriger et de publier les articles aussi rapidement et soigneusement que possible. Pour ce faire, la coopération des auteurs est indispensable. Après réception des épreuves en fichier PDF, l'auteur retournera toutes ses corrections en un seul envoi **sous un délai de 7 jours**. Aucune correction ultérieure ne sera possible. Lors de la mise en production du manuscrit accepté pour publication, l'éditeur enverra à l'auteur correspondant un formulaire de transfert de droits par courrier électronique, qui sera dûment complété et signé par l'auteur responsable de l'article pour le compte de tous les auteurs, puis retourné à l'éditeur dans les plus brefs délais. L'auteur recevra une version électronique en format PDF dès la parution de son article.

*Les instructions aux auteurs sont disponibles sur le site internet : [www.nutrition-sante.dz](http://www.nutrition-sante.dz)*



Actualités

Le bureau

Statuts de la SAN

Lettre de la présidente

Contact

Adhésion à la SAN

**MEMBRE DE LA SAN**

Connexion membre

Annuaire des membres

CI-SAN 2015

Programme

Inscriptions

Exposition et partenariat

Informations générales

**Sous le parrainage de Monsieur le Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

Plus d'information



**2ème Congrès International de la Société Algérienne de Nutrition**

**Alger, Sheraton Club des Pins**

**13 - 15 octobre 2015**

Date de notification prévue: 30 juin 2015

Date limite d'inscription : 15 septembre 2015

**Aucune inscription ne sera acceptée au-delà de cette date, ni**



**Devenez Membre de la SAN sur**  
**[www.san-dz.org](http://www.san-dz.org)**

# Adhésion à la SAN

## Les avantages de l'adhésion

- Vous bénéficiez de réduction sur les frais d'inscription aux Congrès, journées scientifiques, ou formation organisés par la SAN
- Vous bénéficiez des numéros de la revue Nutrition & Santé (format imprimé)
- Vous recevez toutes les informations sur l'Alimentation, la nutrition et la Santé
- Vous avez accès à l'annuaire et à l'espace membre de la SAN sur [www.san-dz.org](http://www.san-dz.org)

## Comment adhérer à la SAN

Vous devez disposer de deux lettres de parrainage motivées et signées de membres de la SAN et les adresser en même temps qu'une demande d'adhésion et un CV selon le modèle (CV pour membre titulaire ou CV pour Doctorant) par voie électronique à l'adresse-mail : [soc.nutrition.dz@gmail.com](mailto:soc.nutrition.dz@gmail.com)

The screenshot displays the website [www.nutrition-sante.dz](http://www.nutrition-sante.dz). The page features a navigation menu on the left with links such as 'Accueil', 'Présentation de la revue', 'Comité d'Édition', 'Comité scientifique', 'Archives', 'Instructions aux auteurs', 'Actualités', and 'Contact'. Below the menu, the ISSN numbers are listed: ISSN 2253-0983 (impression) and ISSN 2353-026X (en ligne). The 'Directeur de la Publication' is identified as the Société Algérienne de Nutrition (SAN).

The main content area highlights that articles are available in Open Access (OA) and provides a 'Plus d'information' link. It also announces the current issue: 'Nutrition & Santé, 2015 ; Vol. 04. N°01 :1-44 (sous presse)', with another 'Plus d'information' link.

The 'SOMMAIRE' (Table of Contents) section includes:

- Editorial**
  - Vers la promotion et la qualification de la revue Nutrition & Santé, Malika BOUCHENAK, *Nutr. Santé* 2015, Vol. 04.N°01:1-2
- Le point sur**
  - Impact de la nutrition précoce sur la santé à long terme, Abdelghani YAGOUBI, *Nutr. Santé* 2015, Vol. 04. N°01:3-5.
- Aliments et nutriments**
  - Les protéines de sardine atténuent l'hyperglycémie et le stress oxydant chez le rat diabétique de type 2, Nora BENAICHETA, Fatima Zohra LABBACI, Malika BOUCHENAK, Farida Ouda BOUKORTT, *Nutr. Santé* 2015, Vol. 04. N°01:6-15.
  - La supplémentation en huile d'argan atténue l'hyperglycémie, la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse, Nour El-Imene HARRAT, Zoubida Imène TAIR, Sabrina LOUALA, Faiza DEHIBA, Nabila BOUKHARI, Myriem LAMRI-SENHADJI, *Nutr. Santé* 2015, Vol. 04. N°01:16-26.
- Phytothérapie**
  - Effet de l'huile de Ricinus (*Ricinus communis*) sur l'hypercholestérolémie, la pression artérielle et l'activité des

**[www.nutrition-sante.dz](http://www.nutrition-sante.dz)**

## **Appel à publications**

**Vous pouvez soumettre votre manuscrit,  
conformément aux instructions aux auteurs**

**à l'adresse mail :**

**[nutrition-sante@san-dz.org](mailto:nutrition-sante@san-dz.org)**

## NOTRE MANIFESTE :



CE QUE VOUS MANGEZ ET FAITES DURANT VOS 1 000 PREMIERS JOURS

INFLUENCE LE RESTE DE VOTRE VIE

### NOS CONVICTIONS

Les 1 000 premiers jours d'un enfant, depuis sa conception jusqu'à son deuxième anniversaire, offrent l'opportunité unique de lui assurer une bonne santé à l'âge adulte. Il est pour cela essentiel de lui faire adopter des habitudes alimentaires saines au cours de cette période critique.

L'assurance d'une bonne alimentation durant les 1 000 premiers jours de la vie d'un enfant peut avoir un impact considérable sur son avenir. Il est ainsi possible de sauver des millions de vies dans le monde chaque année en réduisant les problèmes de santé tels que la malnutrition, le retard de croissance, l'obésité et le diabète.

### NOS INTENTIONS

Nous travaillons main dans la main avec des partenaires engagés afin de mobiliser et de motiver nos interlocuteurs autour des bienfaits d'une alimentation saine durant les premiers stades de la vie.

Nous investissons dans la recherche scientifique sur la nutrition infantile et collaborons avec des professionnels de la santé afin de développer des solutions innovantes permettant d'améliorer la santé des générations actuelles et futures.

Nous encourageons et promouvons activement les bienfaits de l'allaitement pour la mère et l'enfant en nous engageant à leurs côtés.

Nous veillons à ce que tous les parents aient accès à des conseils nutritionnels simples et adaptés tout au long des 1 000 premiers jours, afin qu'ils puissent faire des choix éclairés et appropriés pour l'alimentation de leurs enfants.

### NOS ENGAGEMENTS

Nous recommandons une alimentation saine dès les premiers stades de la vie à travers des programmes d'éducation, des services et le commerce éthique de nos produits.

Nous proposons des produits conçus pour répondre aux besoins nutritionnels spécifiques des consommateurs.

Nous garantissons un haut niveau de qualité et de sécurité des aliments à des millions de futures mères, de parents et d'enfants qui comptent sur nous chaque jour, partout dans le monde.

