



Composés bioactifs

Les grignons d'olive atténuent la peroxydation lipidique et augmentent l'activité anti-oxydante des tissus, chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine et soumis à un régime enrichi en cholestérol

Olive cake attenuates lipid peroxidation, and increases tissues antioxidant activity, in streptozotocin-induced diabetic rats, fed cholesterol-enriched diet

Yahiaoui ZIDAN, Sherazede BOUDERBALA, Hayat CHERRAD, Malika BOUCHENAK.

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

Auteur correspondant: bsherazede@yahoo.fr

Reçu le 29 novembre 2019, Révisé le 28 décembre 2019, Accepté le 31 décembre 2019.

Résumé Introduction. L'hypercholestérolémie et le diabète sont souvent associés au stress oxydant qui est caractérisé par une augmentation de la peroxydation lipidique et une diminution de la défense antioxydante. **Objectif.** L'effet des grignons d'olive (GO) sur le statut redox tissulaire est étudié chez le rat, présentant une hypercholestérolémie associée au diabète. **Matériel et méthodes.** Des rats mâles (n=18), pesant 210±5g sont divisés en 2 groupes. Un groupe témoin (T) (n=6) consomme un régime à 20% de caséine et un autre groupe (n=12) consomme le même régime supplémenté avec 1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique. Les rats hypercholestérolémiques (HC) sont rendus diabétiques (D), par injection de streptozotocine (STZ) (35mg.kg⁻¹ de poids corporel) et sont répartis en deux groupes traités (HC-D-GO) ou non (HC-D) avec 7,5% de GO, pendant 28 jours. **Résultats.** Les teneurs en substance réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont augmentées dans le cœur, le muscle et les reins, chez le groupe HC-D, comparé au groupe T (P<0,05), alors que chez le groupe HC-D-GO vs HC-D, les valeurs sont réduites au niveau du cœur (-41%) et du rein (-48). Chez le groupe HC-D, comparé au groupe T, une diminution de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) au niveau du cœur (-22%), du rein (-17%) et de l'aorte (-45%), celle de la glutathion peroxydase (GPx) dans le muscle (-44%) et le tissu adipeux (-27%) et celle de la catalase (CAT) dans le cœur (-27%), le muscle (-42%) et le rein (-28%) sont notées. Chez HC-D-GO vs HC-D, une augmentation de l'activité de la SOD du cœur, du rein et de l'aorte, celle de la GPx du cœur, du muscle et du tissu adipeux (P<0,05) et celle de la CAT dans le cœur (38%) et le rein (47%) sont observées. **Conclusion.** Les grignons d'olive atténuent les marqueurs du stress oxydant, induit par l'hypercholestérolémie et le diabète, en stimulant l'activité des enzymes antioxydantes tissulaires.

Mots-clés: Rat, Cholestérol alimentaire, Hypercholestérolémie, Streptozotocine, Diabète,

Abstract Introduction. Hypercholesterolemia and diabetes are associated with oxidative stress, characterized by increased lipid peroxidation, and lowered antioxidant defense. **Objective.** The effect of olive cake (OC) was studied on tissues oxidative stress, in streptozotocin-induced diabetic rats fed cholesterol-enriched diet. **Material and Methods.** Rats ($n = 18$), weighing 210 ± 5 g were divided into 2 groups. One control group (C) ($n=6$) fed a diet containing 20% of casein, and another group fed the same diet supplemented with 1% of cholesterol and 0.5% of cholic acid. Hypercholesterolemic rats (HC) were made diabetic (D) with STZ injection (35 mg.kg^{-1} of body weight), and were divided into two groups treated (HC-D-OC) or not (HC-D) with 7.5% of OC, for 28 days. **Results.** Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels were increased significantly in heart, muscle and kidney, in HC-D compared to C group ($P < 0.05$). In HC-D-OC compared to HC-D group, the values were reduced in heart (-41%), and kidney (-48). In HC-D vs C group, decreased activity of superoxide dismutase (SOD), in heart (-22%), kidney (-17%), and aorta (-45%), that of glutathione peroxidase (GPx) in muscle (-44%), and adipose tissue (-27%), and that of catalase (CAT) in heart (-27%), muscle (-42%), and kidney (-28%) were noted. In HC-D-OC vs HC-D group, high activity was observed in SOD of heart, kidney and aorta, in GPx of heart, muscle, and adipose tissue ($P < 0.05$), and in CAT of heart (38%), and kidney (47%). **Conclusion.** Olive cake attenuates markers of oxidative stress, induced by hypercholesterolemia and diabetes, by stimulating tissues antioxidant enzymes activities.

Keywords: *Rat, Dietary cholesterol, Hypercholesterolemia, Streptozotocin, Diabetes, Lipid peroxidation, Antioxydants enzymes, Tissus*

Introduction

L'hypercholestérolémie fait partie des troubles du métabolisme lipidique, se caractérisant par une augmentation du cholestérol dans le sang. Elle constitue un facteur de risque important de l'athérosclérose, avec la formation de la plaque d'athérome au niveau des vaisseaux sanguins et, tout particulièrement, pour la maladie coronarienne [1]. Tout comme l'hypercholestérolémie, le diabète constitue un facteur de risque majeur des maladies cardiovasculaires (MCV), caractérisé par une hyperglycémie à jeun $\geq 1,26 \text{ g/L}$ (7 mmol.L^{-1}), résultat d'un défaut de sécrétion et/ou d'action de l'insuline. L'hyperglycémie chronique expose à des complications, à long terme, affectant de nombreux organes dont les reins, les yeux, les nerfs (micro-angiopathie), le cœur et les vaisseaux sanguins (macro-angiopathie) [2, 3].

Le stress oxydant est un état caractérisé par un déséquilibre de la balance métabolique cellulaire, entre la production de radicaux libres et les capacités antioxydantes de l'organisme. Les enzymes antioxydantes existent à l'état endogène (cytoplasme, cytosol ou mitochondrie) et permettent de protéger les cellules

contre les radicaux libres, produits de manière physiologique, au cours du métabolisme cellulaire normal. Les principaux systèmes enzymatiques comprennent la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT) et la glutathion réductase (GRed) [4]. Le stress oxydatif augmente avec les différents facteurs de risque de MCV, tels que l'obésité, l'hypertension artérielle, la dyslipidémie, le diabète, et le risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) [5]. Le stress oxydant, durant l'hypercholestérolémie et le diabète, est dû à une rupture entre les molécules oxydantes et les systèmes de défense antioxydante, il entraîne une production excessive des espèces réactives à l'oxygène (ERO) qui sont responsables de l'augmentation de la peroxydation lipidique et la diminution du système de défense anti-oxydante. Ce stress est souvent associé à l'apparition de l'inflammation, l'athérosclérose et le risque vasculaire [6,7].

La culture de l'olivier en Algérie connaît une progression très importante, d'une année à l'autre, et occupe la première place dans l'agriculture fruitière du pays. Par conséquent, la production d'huile d'olive ne fait qu'augmenter, ce qui engendre des quantités considérables de sous-produits (grignons et margine),

représentant, ainsi, un problème de pollution majeur, en Algérie et dans la plupart des pays méditerranéens [8]. Les grignons d'olive (GO) sont les résidus solides obtenus après le premier pressage des olives. Ils contiennent encore de l'huile, appelée huile secondaire. Ils sont composés de peaux, de résidus de pulpe et de fragments de noyaux [9]. Ces GO contiennent une source importante de composés phénoliques qui exercent un effet antioxydant et piègeur de radicaux libres dans plusieurs pathologies métaboliques [10]. Ainsi, le but de ce travail est d'étudier l'effet des GO sur la peroxydation lipidique et l'activité des enzymes anti-oxydantes tissulaires, chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol et rendu diabétique par injection de streptozotocine.

Matériel et méthodes

Préparation des grignons d'olive

Les GO sont collectés, après extraction de l'huile d'olive de la région d'Oran (Oued Tlélat), séchés à 60°C, puis finement broyés.

Animaux et régimes

Des rats mâles de souche Wistar (n=18), pesant 210 ± 5 g et âgés de 10 semaines sont soumis à un régime standard (RS) contenant 20% de caséine. Ces animaux sont, ensuite, répartis en un lot témoin T (n=6), recevant le même régime RS et un lot expérimental (n=12), consommant pendant 10 jours le RS supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5 % d'acide cholique (Sigma-Aldrich, Germany). Après cette phase d'adaptation, les rats hypercholestérolémiques (HC), pesant 25±5 g sont rendus diabétiques (D), par injection d'une dose unique de streptozotocine (STZ) (Sigma, St Louis, USA) (35 mg.kg⁻¹ de poids corporel) et traités (HC-D-GO) (n=6) ou non (HC-D) (n=6) avec 7,5% de GO, pendant 28 jours. Les différents régimes sont présentés dans le **Tableau I**.

Les animaux sont maintenus dans une animalerie à une température de 22±2°C, une hygrométrie de 50±10% et un éclairage artificiel de 07-19 h. Les rats reçoivent l'eau et les régimes *ad libitum*. Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis (Council of European Communities, 1986) [11]. Le protocole et l'utilisation de rats ont été approuvés par le Comité d'Ethique de notre Institution.

Prélèvement des organes

Au 28^{ème} jour de l'expérimentation, après 12 h de jeûne, les rats de chaque groupe sont anesthésiés par

injection intra péritonéale d'une solution de chloral (30 mg.100⁻¹g PC).

Les différents tissus (cœur, muscle gastrocnémien, tissu adipeux, rein et aorte) sont prélevés, rincés avec une solution de NaCl froid à 0,9 %, séchés, pesés et conservés à -70°C.

Tableau I. Composition des régimes en g.kg⁻¹ de régime¹

Ingrédients	RS	RS+chol	RS+chol+GO
Caséine	200	200	200
Méthionine ³	3	3	3
Grignon d'olive ⁴		-	75
Amidon de maïs ⁵	597	582	507
Saccharose ⁶	40	40	40
Huile de tournesol ⁷	50	50	50
Cellulose ⁸	50	50	50
Mélange vitaminique ⁹	20	20	20
Mélange minéral ¹⁰	40	40	40
Cholestérol ¹¹	-	10	10
Acide cholique ¹²	-	5	5

¹Les régimes sont iso-énergétiques et donnés sous forme de poudre. RS : régime standard ; RS+chol : régime standard+cholestérol ; RS+chol+GO : régime standard+cholestérol +grignons d'olive. ²Alpha Aesar, Germany. ^{3, 11, 12}Sigma-Aldrich Chemie, Germany. ⁴Préparé au laboratoire. ⁵ONAB, Tlemcen, Algérie. ⁶Enasucré, Sfisef, Algérie. ⁷CEVITAL, Bejaïa, Algérie. ⁸Prolabo, Paris, France. ⁹UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay, S/Orge, France), Mélange vitaminique (mg/kg de régime): Vit A, 39600UI; Vit D3, 5000UI; Vit B1, 40; Vit B2, 30; Vit B3, 140; Vit B6, 20; Vit B7, 300; Vit B12, 0,1; Vit C, 1600; Vit E, 340; Vit K 3,80; Vit PP, 200; Choline, 2720; Acide folique, 10; Acide PAB, 100; Biotine, 0,6; Cellulose qsp, 20g. ¹⁰UAR 205B (Villemoisson, 91360, Epinay, S/Orge, France), Mélange minéral (mg/kg de régime) CaHPO₄, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO₂, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄, 7H₂O, 200; MnSO₄, H₂O, 98; CuSO₄, 5H₂O, 20; ZnSO₄, 7H₂O, 80; CuSO₄, 7H₂O; KI, 0,32.

Dosage des hydroperoxydes

Les concentrations en hydroperoxydes (LOOH) sont déterminées par l'oxydation des ions ferriques en utilisant le xylénol orange (Sigma-Aldrich Chemie, Germany), en conjugaison avec le LOOH réducteur spécifique de la triphénylvphosphine (TPP), selon la méthode de Jiang *et al.*, [12]. En milieu acide, l'ion peroxyde entraîne l'oxydation de l'ion ferreux (Fe²⁺) en ion ferrique (Fe³⁺). Le xylénol orange présente une couleur rouge avec le Fe³⁺ un complexe Fe³⁺ xylénol orange dont la densité optique est lue à 560 nm. Les résultats sont exprimés en µmol.mg⁻¹ de tissu.

Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique

La peroxydation lipidique du cœur, du muscle, des reins, du tissu adipeux et de l'aorte est déterminée par la mesure des TBARS, selon la technique de Ohkawa *et al.*, [13], qui a été décrite précédemment par Bouderbala *et al.*, [14]. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ de tissu.

Activité des enzymes antioxydantes**Préparation des homogénats tissulaires**

Les tissus sont homogénéisés, en utilisant les différents tampons: le tampon Tris HCL (50 mM) pour la détermination de la SOD, le tampon phosphate (pH=7) pour la détermination de la CAT et de la GPx. Les homogénats tissulaires, ainsi préparés, sont centrifugés et les surnageants récupérés sont utilisés pour les différents dosages enzymatiques.

Superoxyde dismutase

Le dosage de la SOD est effectué selon la méthode de Marklund & Marklund, [15]. L'auto-oxydation du pyrogallol en présence d'EDTA est inhibée par la SOD. La réaction, à pH 7,9 à 9,1, est inhibée jusqu'à 90% par la SOD, ce qui indique une totale dépendance de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dans cette auto-oxydation. Le principe du dosage est donc basé sur la compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol (10 mM) par l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ (produit une couleur jaune) et la dismutation de l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ par la SOD.

Le dosage est réalisé dans un volume final de 1 mL. A 850 μl de tampon Tris Hcl (50 mM, pH= 8,2) sont additionnés 10 à 20 μl d'échantillon, 100 μl d'EDTA (10 mM) et 50 μl pyrogallol (2,5 mM préparé dans 10 mM HCl). L'absorbance est mesurée à 420 nm après chaque minute pendant 5 minutes.

L'activité de la SOD est calculée par la formule :
 $\text{SOD (U}\cdot\text{mg}^{-1}) = [\% \text{ Inhibition totale}/(n \times 50)]$

n : mg de protéines présentes dans le volume de l'échantillon utilisé.

Glutathion peroxydase

L'activité de la GPx est estimée par la méthode de Rotruck *et al.*, [16]. Le mélange réactionnel contenant 0,2 mL d'homogénat tissulaire, 0,2 mL d'EDTA à 0,8 mM, 0,1 mL d'azoture de sodium à 10 mM, 0,1 mL de peroxyde d'hydrogène 2,5 mM (H_2O_2), 0,2 mL de glutathion réduit 4 mM et 0,4 mL de tampon phosphate 0,4 M (pH 7,0) est incubé à 37°C pendant 10 min. La réaction enzymatique est arrêtée par addition de 0,5 mL de TCA à 10% et les tubes sont centrifugés à 2000 tr/min. Sur le surnageant, 3 mL d'hydrogène phosphate disodique à 0,3 M et 1 mL de

DTNB à 0,04% sont ajoutés. La lecture au spectrophotomètre est réalisée à 420 nm et l'activité de la GPx est exprimée en $\mu\text{mol glutathion}\cdot\text{mg}^{-1}$ de protéine.

Catalase

L'activité de la CAT est évaluée en mesurant le taux de décomposition du H_2O_2 selon la méthode d'Aebi, [17]. décrite précédemment [14].

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard (M \pm ES) de 6 rats par groupe. L'analyse statistique est effectuée à l'aide du logiciel STATISTICA (Version 10, Statsoft, USA). La comparaison des moyennes entre le groupe témoin (T) et les groupes présentant une hypercholestérolémie associée au diabète et soumis au régime supplémenté avec des grignons d'olive (HC-D-GO) ou non (HC-D) est effectuée par le test de Tukey-Kramer. Les moyennes sont significativement différentes à $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$. #HC-D vs T; *HC-D-Go vs HC-D.

Résultats**Teneurs en hydroperoxydes**

Chez le groupe HC-D vs T, les teneurs en hydroperoxydes sont augmentées au niveau du cœur (+51%), du muscle (+42%), du tissu adipeux (+30%) et de l'aorte (+48%), alors que ces valeurs sont diminuées dans le cœur (-49%) et dans l'aorte (-36%), chez le groupe HC-D-Go, comparé au groupe HC-D (Tableau II).

Tableau II. Teneurs en hydroperoxydes tissulaires ($\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$)

	T	HC-D	HC-D-GO
Cœur	13 \pm 0,65	26 \pm 0,77 ^{##}	13 \pm 0,57 [*]
Muscle	11 \pm 0,80	20 \pm 1,17 [#]	19 \pm 0,84
Tissu adipeux	10 \pm 2,33	15 \pm 0,59 [#]	14 \pm 0,88
Reins	12 \pm 1,98	14 \pm 0,36	13 \pm 2,52
Aorte	11 \pm 1,32	21 \pm 2,13 [#]	13 \pm 3,14 [*]

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Tukey-Kramer. T: Groupe témoin, HC-D: hypercholestérolémique et diabétique, HC-D-GO: hypercholestérolémique et diabétique traité avec 7,5% de grignons d'olive. [#]HC-D vs T, ^{*} $P < 0,05$, ^{##} $P < 0,01$; ^{*}HC-D-GO vs HC-D, ^{*} $P < 0,05$.

Teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique

Les teneurs en TBARS sont augmentées dans le cœur (+30%), le muscle (+37%) et les reins (+53%), chez le groupe HC-D, comparé au groupe T. Chez le groupe HC-D-GO, comparé au groupe HC-D, ces concentra-

tions sont réduites au niveau du cœur (-41%) et du rein (-48%), alors qu'aucune différence significative n'est notée entre les autres organes (Tableau III).

Tableau III. TBARS tissulaires ($\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$)

	T	HC-D	HC-D-GO
Cœur	46 \pm 0,95	67 \pm 3,97 [#]	39 \pm 2,42 [*]
Muscle	13 \pm 0,18	20 \pm 0,05	21 \pm 0,57
Tissu adipeux	14 \pm 6,97	19 \pm 2,10	18 \pm 1,52
Reins	26 \pm 0,39	56 \pm 0,17 ^{###}	29 \pm 0,46 [*]
Aorte	10 \pm 0,39	10 \pm 2,13	10 \pm 1,13

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Tukey-Kramer. T: Groupe témoin, HC-D: hypercholestérolémique et diabétique, HC-D-GO: rat hypercholestérolémique et diabétique traité avec 7,5% de grignons d'olive. [#]HC-D vs T, [#]P<0,05, ^{###}P<0,001; ^{*}HC-D-Go vs HC-D, ^{*}P<0,05.

Activité des enzymes antioxydantes

Chez le groupe HC-D comparé au groupe T, l'activité de la SOD est réduite au niveau du cœur (-22%), du rein (-17%) et de l'aorte (-45%), alors qu'aucune différence significative n'est observée dans le muscle et le tissu adipeux. L'activité de la GPx est diminuée dans le muscle (-44%) et le tissu adipeux (-27%), cette activité reste similaire au niveau des autres organes. L'activité de la CAT est identique au niveau du tissu adipeux et de l'aorte, alors qu'elle est plus faible dans le cœur (-27%), le muscle (-42%) et les reins (-28%).

Chez les rats rendus diabétiques et soumis au régime enrichi en cholestérol, le traitement avec les GO, pendant 28 jours, induit une augmentation significative de l'activité de la SOD au niveau du cœur (+69%), du rein (+18%) et de l'aorte (+53%), alors que dans le muscle et le tissu adipeux, les valeurs restent inchangées. L'activité de la GPx est élevée de 23%, 27% et 17%, respectivement, dans le cœur, le muscle et le tissu adipeux. L'activité de la CAT est augmentée de 38% et 47%, respectivement, dans le cœur et le rein (Fig. 1).

Discussion

Le but de cette étude est de voir l'effet des Go sur le statut redox tissulaire, chez le rat présentant une hypercholestérolémie associée au diabète.

Il est bien connu que l'hypercholestérolémie conduit une production excessive d'ERO par différents mécanismes. Les modifications oxydatives entraînent une augmentation de la peroxydation des lipides au niveau des tissus et jouent un rôle important dans le processus d'athérosclérose. Le stress oxydant est impliqué dans l'aggravation de cette pathologie, ainsi que dans l'apparition des complications chroniques,

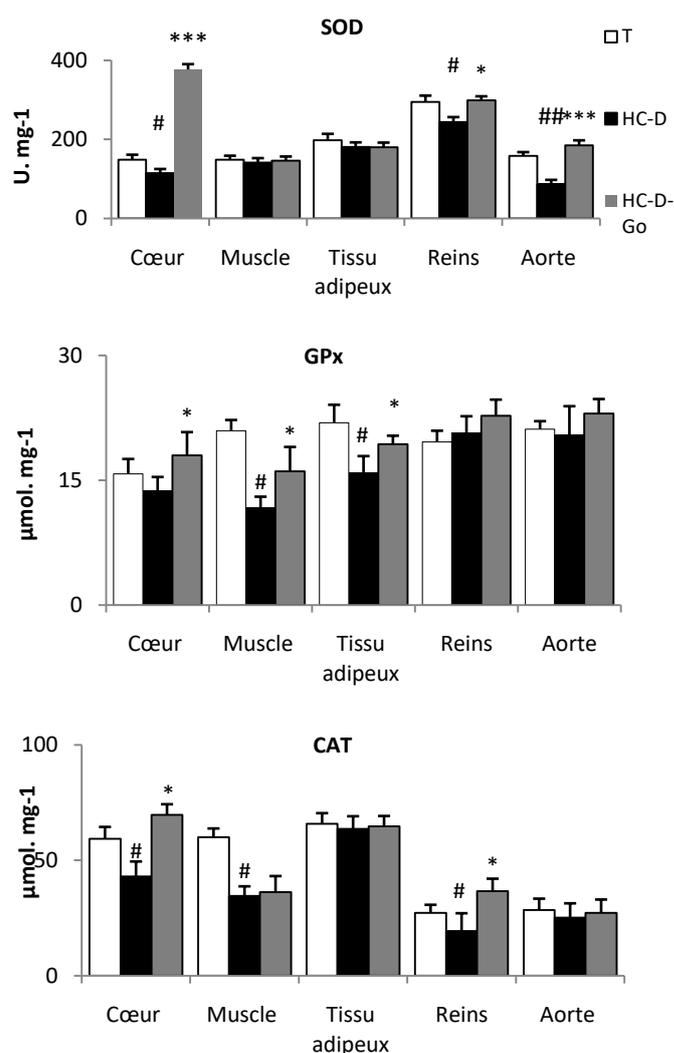


Fig. 1. Activités des enzymes antioxydantes tissulaires

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Tukey-Kramer. T: Groupe témoin, HC-D: hypercholestérolémique et diabétique, HC-D-GO: rat hypercholestérolémique et diabétique traité avec 7,5% de grignons d'olive. ([#]HC-D vs T, [#]P<0,05, ^{###}P<0,01), (^{*}HC-D-Go vs HC-D, ^{*}P<0,05). SOD: Superoxide dismutase; GPx: Glutathion peroxydase; CAT: Catalase.

liée à l'hypercholestérolémie [18]. Le diabète est caractérisé par une hyperglycémie chronique, source d'un stress oxydant accru et de dommages oxydatifs tissulaires. L'hyperglycémie favorise la glycation des protéines, aboutissant à la formation de produits avancés de glycation. Bien que l'action délétère des ces produits soit connu dans la production et la génération des ERO au niveau tissulaire [19].

La peroxydation lipidique, évaluée par la mesure des TBARS ou par la détermination des hydroperoxydes (LOOH) peut refléter le degré du stress oxydant au cours de l'hypercholestérolémie et du diabète. En effet, plusieurs études ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique au cours de l'hypercholestérolémie et du diabète, due au stress oxydatif,

résultant de la déplétion des systèmes protecteurs antioxydants. En effet, expérimentalement, chez le rat HC-D, les ERO générées par l'hypercholestérolémie et l'hyperglycémie, induisent une augmentation des peroxydes lipidiques qui se traduit par une élévation du malondialdéhyde [20, 21].

Nos résultats montrent que les TBARS tissulaires sont augmentés chez le rat présentant une hypercholestérolémie associée au diabète. Cependant, la consommation des GO diminue cette peroxydation lipidique par une réduction des teneurs en TBARS, cela peut être dû à l'inhibition de la génération des radicaux libres ou à l'importante activité anti-oxydante des GO. Ces résultats sont similaires à ceux de Bouderbala *et al.*, [14] qui ont noté une réduction de la peroxydation lipidique, chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol et traités avec les GO.

Ces derniers renferment divers composés phénoliques, tels que les polyphénols solubles dans le méthanol-eau et dans l'acétone-eau, les polyphénols attachés aux parois cellulaires, les flavonoïdes ou les tanins. Ces métabolites secondaires valorisables sont largement impliqués dans la faible valeur alimentaire de ce co-produit, d'une part, par leur association avec la lignocellulose et, d'autre part, par leurs propriétés biologiques anti-oxydantes [22].

Ces composés bioactifs qui ont des propriétés anti-oxydantes, sont capables de corriger l'hypercholestérolémie et le diabète et de diminuer les teneurs en TBARS et en LOOH tissulaires.

La présente étude montre que le traitement avec les grignons d'olive a un effet cardioprotecteur, capable de diminuer les concentrations des TBARS et des LOOH au niveau du cœur. De plus, cet effet est observé au niveau du rein et de l'aorte, chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol et rendu diabétique. L'étude de Merghem *et al.*, [23] a montré que le traitement avec un extrait aqueux de *Ruta montana* réduit la peroxydation lipidique au niveau du foie et du rein, chez des rats rendus hypercholestérolémiques. De même, une diminution des teneurs en MDA est observée, au niveau rénal, chez le rat diabétique traité avec l'extrait de *Falcaria vulgaris* [24].

La SOD, la CAT et la GPx jouent un rôle clé dans la protection des cellules contre les radicaux libres. De nombreuses études ont montré une altération des enzymes antioxydantes durant l'hypercholestérolémie et le diabète. Chez les rats HC-D non traités, la SOD et la CAT ont été inactivées par la présence permanente des ERO. En d'autres termes, les GO contiennent des substances anti-oxydantes qui neutralisent les ERO, empêchant, ainsi, l'inactivation ou

la destruction de la SOD et de la catalase et, donc, favorisant la protection du cœur et des reins contre tout dommage tissulaire, induit par ces composés réactifs. Les données de la présente étude sont similaires à celles obtenues avec les extraits de *Zygophyllum gaetulum* [25] et *Syzygium paniculatum Gaertn* [26].

De plus, les résultats montrent que le traitement avec les GO augmente l'activité de la GPx, au niveau du cœur, du muscle et du tissu adipeux, chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol et rendu diabétique par la STZ. Cette augmentation peut être due à une augmentation de la production du glutathion, qui est le substrat spécifique de cette enzyme et aussi à la mise en place d'un mécanisme de défense anti-radicalaire plus efficace.

L'augmentation des enzymes anti-oxydantes (SOD, GPx et CAT), au niveau des tissus, peut s'expliquer par le fait que les radicaux libres et les peroxydes lipidiques sont, en majeure partie, neutralisés au niveau des tissus, suite à la stimulation des enzymes antioxydantes, après l'administration des grignons d'olive, chez le rat HC-D-GO. Ces résultats sont en accord avec ceux de Bouderbala *et al.*, (2014) [14], qui ont observé une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes, avec une diminution de la peroxydation lipidique des tissus, chez le rat rendu hypercholestérolémique. De plus, la richesse de ces GO en composés bioactifs et en antioxydants peut inhiber la lipoperoxydation et les altérations causées par la production excessive de radicaux libres, en stimulant l'activité des enzymes anti-oxydantes au niveau tissulaire. En effet, de nombreux travaux ont montré que les grignons d'olive possèdent de nombreux composés, tels que les polyphénols, l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'oleuropéine et l'acide caféique et qui ont un potentiel antioxydant efficace et un effet cardioprotecteur [27].

Conclusion

Il ressort de cette étude que le traitement avec les grignons d'olive exerce un effet antioxydant, en protégeant les tissus contre la peroxydation lipidique et en stimulant l'activité des enzymes anti-oxydantes tissulaires, chez le rat présentant une hypercholestérolémie associée au diabète.

Remerciements

Ce travail a été financé par la Direction 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

Aucun

Références

- Sharifi M., Futema M., Nair D., Humphries S. Polygenic hypercholesterolemia and cardiovascular disease risk. *Curr Cardiol Reports* 2019; 21 (43): 1-6.
- Ghalandari H., Hosseini-Esfahani F., Mirmiran P. The association of polymorphisms in leptin/leptin receptor genes and ghrelin/ghrelin receptor genes with overweight/obesity and the related metabolic disturbances: A review. *Int J Endocrinol Metab* 2015; 13 (3): e19073.
- Kharroubi AT., Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes* 2015; 6 (6): 850-67.
- Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V. *et al.* Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Long* 2017; 2017: 8416763.
- Takahashi K., Okumura H., Guo R., Naruse K. Effect of oxidative stress on cardiovascular system in response to gravity. *Int J Mol Sci* 2017; 18 (7): 1426.
- Dias IHK., Polidori MC., Helen R., Griffiths HR. Hypercholesterolaemia-induced oxidative stress at the blood-brain barrier. *Biochem Soc Trans* 2014; 42: 1001-05.
- Chikezie PC., Ojiako OA., Ogbuji AC. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Inter J Biol Chem* 2015 ; 9 (3): 92-109.
- Souilem S., El-Abbassi A., Hajar Kiai H., Hafidi K., Sayadi S., Galanakis CM. Olive oil production sector: environmental effects and sustainability challenges. *Recent Adv Sustainable Manag* 2017; 1-28.
- Gül S., Keskin M., Kaya S. Olive cake usage as an alternative to cotton seed meal in dairy goat feeding. *Afr J Agricult Res* 2010; 5 (13): 1643-6.
- Mojerlou Z., Elhamirad A. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of phenolic compounds from olive cake. *J Food Sci Technol* 2018; 55 (3): 977-84.
- Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Off J Eur Communities* 1986; 358: 1-28.
- Jiang ZY., Hunt JV., Wolft SD. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Analytic Biochem* 1992 ; 202: 384-9.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 85: 351-8.
- Bouderbala S., Al-Hiti Mohammed K., Ougouag A., Benmansour J., Mahdad N., Bouchenak M. Olive cake reduces lipid peroxidation associated with antioxidant defense in red blood cell and heart, in rats fed a cholesterol-enriched diet. *J Food Nutr Dis* 2014; 3: 4.
- Marklund S., Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974; 47: 469-74.
- Rotruck JT., Pope AL., Ganther HE., Swanson AB., Hafeman DG., Hoekstra WG. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 1973, 9 (179): 588-90.
- Aebi H. Catalase. In : Berg Meyer, H. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, second ed. Verlag Chemie, Weinheim, Germany, 1974; pp. 673-84.
- Otunola GA., Oloyele OB., Oladiji AT., Afolayan AJ. Selected spices and their combination modulate hypercholesterolemia-induced oxidative stress in experimental rats. *Biol Res* 2014; 47 (1) : 5-10.
- Volpe C., Villar-Delfino P., Anjos P., Nogueira-Machado J. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death Dis* 2018; 9 (2): 119.
- Zidan Y., Bouderbala S., Mitaine-Offer AC., Laccaille-Dubois MA., Bouchenak M. *Portulaca oleracea* reduces oxidative stress in erythrocytes and tissues, in rats fed enriched-cholesterol diet. *J Exp Integr Med* 2016; 6: 21-5.
- Guenzet A., Krouf D., Berzou S. *Portulaca oleracea* leaf aqueous lyophilized extract reduces hyperglycemia and improves antioxidant status of red blood cells and liver in streptozotocin induced diabetic wistar rats. *J Pharm Pharmacol* 2017 ; 5: 139-48.
- Zaidi F., Hassissene N., Allouache H., Kichou M., Ourdani S., Rezki K. *et al.* Les composés phénoliques, facteur limitant du grignon d'olive chez les ruminants. *Revue Méd Vét* 2009; 160(2): 67-73.
- Merghem M., Dahamna S., Khennouf. In Vivo Antioxidant Activity of *Ruta montana* L. Extracts. *J Mater Environ Sci* 2019; 10 (5) : 470-7.

Composés bioactifs

24. Cyrus J., Shiva R., Reza SM. *Falcaria vulgaris* extract attenuates diabetes-induced kidney injury in rats. *Asian Pac J Trop Biomed* 2019; 9:150-7.
25. Berzou S., Taleb Senouci D., Guenzet A., Krouf D. *Zygophyllum gaetulum* attenuates hypercholesterolemia and protects against oxidative stress in rat fed high cholesterol diet. *J Exp Integr Med* 2016; 4 (4): 255-60.
26. Konda P., Dasari S., Konanki S., Nagarajan P. In vivo antihyperglycemic, antihyperlipidemic, anti-oxidative stress and antioxidant potential activities of *Syzygium paniculatum Gaertn* in streptozotocin induced diabetic rats. *Heliyon* 2019;5(3) : e01373.
27. Cardinali A., Cicco N., Linsalata V., Minervini F., Pati S., Pieralice M. *et al.* Biological activity of high molecular weight phenolics from olive mill waste water. *Agricol Food Chem* 2010; 58 (15): 8585-90.