

## 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<sub>2</sub>, 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).

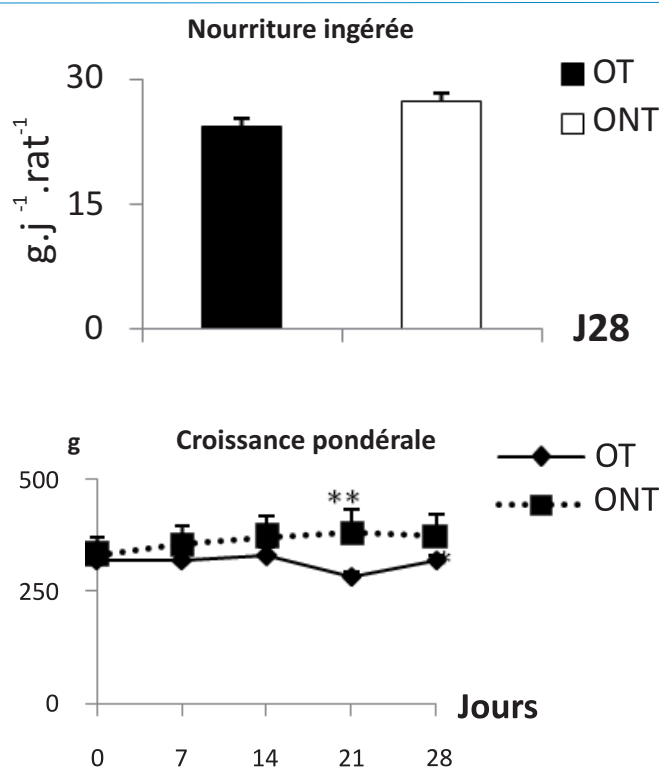
### Résultats

#### 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 <sup>-1</sup> )	1,19 $\pm$ 0,19 ***	2,31 $\pm$ 0,25
Triglycérides (mmol.L <sup>-1</sup> )	0,72 $\pm$ 0,22	0,77 $\pm$ 0,19
Glucose (mmol.L <sup>-1</sup> )	10,53 $\pm$ 1,56*	12,11 $\pm$ 0,84
Insuline (mmol.L <sup>-1</sup> )	0,02 $\pm$ 0,01 ***	0,09 $\pm$ 0,01
HbA1c (0%)	6,60 $\pm$ 0,20 ***	8,01 $\pm$ 0,83

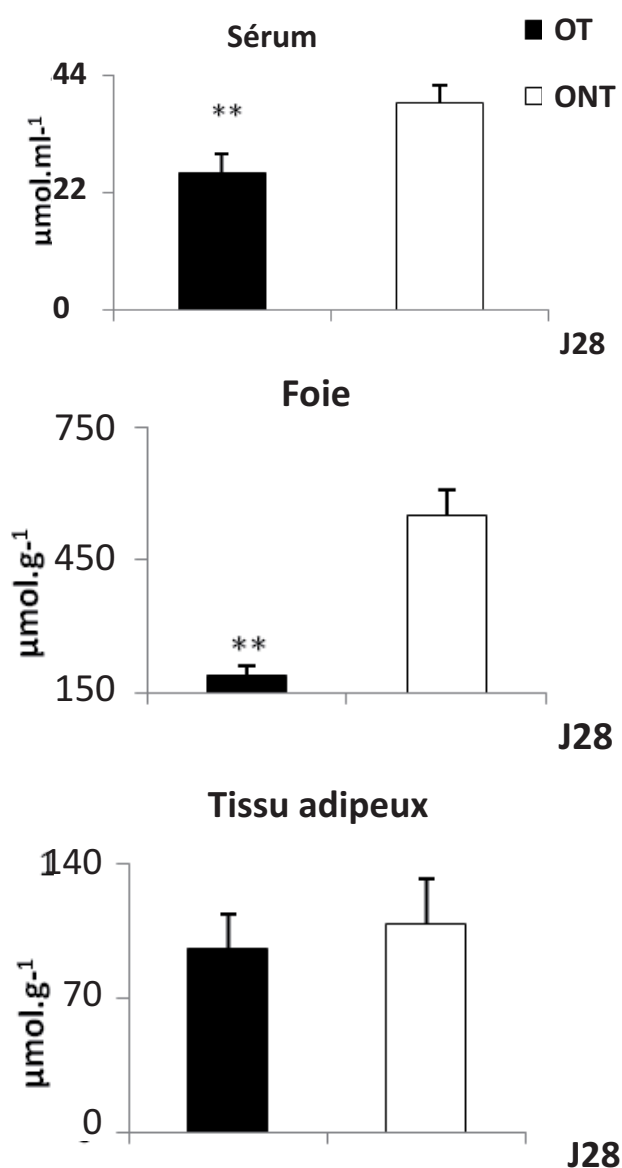
Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ES de 6 rats par groupe. OT : groupe obèse supplémentation en huile d'argan. ONT: groupe obèse non traité. La comparaison des 2 moyennes est réalisée par le test 't' de Student. \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

#### 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.