

INFLUENCE DE LA NATURE DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LA CHOLESTEROLEMIE ET LA COMPOSITION MINERALE DE L'OS EN NUTRITION EXPERIMENTALE

AMMOUCHE A., KASHI H., OUALI. F.Z et BELLAL M.M.

Département de Technologie alimentaire et de Nutrition Humaine
Institut National Agronomique 16200 El-Harrach ALGER

RESUME

A travers cette étude, nous avons établi une relation entre la nature des acides gras polyinsaturés alimentaires et certains paramètres sanguins (cholestérol total) et osseux (calcium-phosphore) chez le rat en croissance.

Cette étude a été réalisée sur des rats mâles de souche Sprague Dawley issus de la première génération après reproduction de couples provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie. 4 lots de rats de 6 rats chacun ont été constitués et chacun recevait un régime expérimental déterminé à base d'huile de palme, d'olive, de tournesol ou de poisson (huile de foie de morue) à une concentration de 10 % pendant deux mois.

Au terme de cette période expérimentale, les résultats obtenus montrent que les animaux ayant consommés de l'huile d'olive et de poisson présentent les taux de cholestérol les plus faibles par rapport aux autres huiles et le rapport Ca / P le plus élevé.

Mots clés :

Cholestérolémie, Calcium, phosphore, acides gras, régimes alimentaires

Abstract :

To shortcoming this study, we established a relationship between the nature of food polyunsaturated fatty acids and some blood parameters (total cholesterol) and bony (calcium-phosphorus) in the rat in growth.

This study has been achieved on rats male of Sprague stump Dawleys descended of the first generation after reproduction of couples coming of the institute Pastor of Algeria. 4 groups of rats have been constituted and each received a determined experimental diet of palm oil, olive oil, sunflower oil or fish oil of liver morue, to a concentration of 10% during two months.

To the term of this tentative period, the gotten results show that animals having consumed olive oil and fish oil present the weakest cholesterol rates with regard to the other oils and a most elevated report Ca/P.

Key words : cholesterolemia, calcium, phosphorus, fatty acids, diets

INTRODUCTION

Tout en jouant un rôle biologique important, les graisses alimentaires ne peuvent pas être dissociées de l'ensemble de l'alimentation, que ce soit sous l'angle de l'apport calorique total, ou de leur rapport avec les autres nutriments. De nombreuses recherches cliniques, expérimentales et surtout épidémiologiques, menées au cours des dernières décennies, ont mis en évidence que l'incidence des maladies cardio-vasculaires est étroitement liée aux habitudes alimentaires des populations. Il a ainsi été démontré qu'une alimentation riche en graisses animales favorise les troubles du métabolisme lipidique (hypercholestérolémie) qui sont à la base de la pathogénèse de la plaque athéromateuse et qu'une augmentation du taux de cholestérol plasmatique constitue un des facteurs de risque les plus importants de l'athérosclérose (Ahrens et al 1957; Keys, 1975). De même, la croissance et la constitution normales du squelette apparaissent liées à l'apport quantitatif et qualitatif des lipides. De nombreux travaux (Laval-Jeantet 1976) ont montré qu'une carence lipidique induisait un retard de croissance pondérale et squelettique ainsi qu'un sérieux défaut de calcification de l'os. Mais, jusqu'à l'heure actuelle, peu d'études ont été entreprises pour étudier l'effet de la nature des acides gras polyinsaturés alimentaires sur la croissance et c'est dans ce contexte que s'insère cette étude dont l'objectif est d'apporter des éclaircissements et de tenter d'établir la relation entre la nature du régime lipidique et l'apparition d'un déséquilibre structural et fonctionnel de l'organisme.

MATERIELS ET METHODES

1 - Animaux et régimes alimentaires

Nous avons mis en reproduction des couples de rats adultes provenant de l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Alger. Ces rats sont répartis dans des cages à raison de 2 mâles et 3 femelles par cage où la température de l'animalerie est fixée à $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Afin de leur permettre de s'adapter aux conditions de l'animalerie, les rats sont nourris *ad-libitum* avec un régime standard pendant une semaine. Après cette période d'adaptation, 4 lots de rats de 6 rats chacun ont été constitués et recevant chacun un régime expérimental spécifique contenant 10 % de lipides soit d'huile de palme, d'olive, tournesol ou de poisson.

Les rats issus de la première génération sont maintenus sur les mêmes régimes expérimentaux isocaloriques que leurs parents jusqu'à leur sacrifice. La composition biochimique des régimes expérimentaux et celle des acides gras sont données respectivement dans le tableau 1 et 2.

2 - Méthodes analytiques

2.1. - Prélèvement du sang et des organes

Les prélèvements de sang et des organes sont réalisés sur des rats à jeun de 12 heures à différentes périodes (21, 30 et 60 jours). A chaque sacrifice, le sang et la calotte crânienne (calvaria) sont prélevés. Le sang est recueilli dans des tubes héparinés (2 μl d'héparine CHOAY 5000 unités par ml de sang) puis centrifugé à 4°C à 4000 g pendant 5 min. Le plasma est récupéré dans des tubes à vis de 13 ml en vue d'une séparation ultérieure des lipides plasmatiques. Après décantation, le sérum a été séparé par centrifugation et précipitation.

2.2. - Extraction des lipides totaux

L'extraction des lipides totaux a été réalisé selon la méthode de Folch et al (1957) modifiée par Bligh et Dyer (1958). La trans-estérification des lipides est réalisée selon la méthode de Lepage et Roy (1986). Les esters méthyliques sont analysés en chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme et une colonne capillaire de longueur 30 m et de diamètre interne de 0.32 mm La phase stationnaire est D.B 23 (50 % cyanopropyl). Le gaz vecteur: azote avec un débit de 2 ml / mn. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 240 et 250 $^{\circ}\text{C}$. La programmation de la température de la colonne: 130 à

Tableau 1 : Composition biochimique globale des régimes expérimentaux (exprimée en %)

Ingrédients	Régimes alimentaire			
	Palme	Olive	Tournesol	Poisson
Caséine	15	15	15	15
Saccharose	5	5	5	5
Amidon (maïs)	61	61	61	61
Cellulose	5	5	5	5
Phosphate bi-calcique	1.5	1.5	1.5	1.5
Calcium	1.5	1.5	1.5	1.5
Mélange minéral ^a	7	7	7	7
Mélange vitaminique ^b	1	1	1	1
Huile de palme	10	-	-	-
Huile d'olive	-	10	-	-
Huile de tournesol	-	-	10	-
Huile de poisson	-	-	-	10
Calories totales (%)	414	414	414	414
% calories de la fraction lipidique	21.7	21.7	21.7	21.7

a. Composition du mélange minéral (mg/100 g) : K_2HPO_4 : 20.0; $CaCO_3$: 34.6; $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$: 26.55, NaCl : 13.70; $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$: 3.42; $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$: 0.042; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0.27, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 1.02; $ZnSO_4 \cdot H_2O$: 0.15; $CoCO_3$: 0.0008; KI: 0.0016.

b. Composition du mélange vitaminique (par kg): thiamine-HCl: 10 mg, inositol,: 170 mg; cyanocobalamine : 0.05 mg; ménadione : 40 mg; α -tocophérol : 170 IU, ergocalcférol : 1360 UI.

Tableau 2 : Composition en acides gras des régimes expérimentaux (exprimés en % des acides gras totaux)

Acides gras	Régimes alimentaires			
	Palme	Olive	Tournesol	Poisson
14:0	0.89	-	-	8.67
16:0	34.49	19.42	12.90	20.46
18:0	4.13	2.23	3.68	3.88
20:0	0.24	-	-	1.87
22:0	0.07	0.33	-	0.22
24:0	-	-	-	1.85
Σ AGS*	39.82	21.98	16.58	38.32
16:1 n-9	0.12	1.39	0.50	0.23
18:1 n-9	26.86	49.45	23.11	16.83
18:1 n-7	-	-	-	-
20:1 n-9	0.14	-	-	-
22:1 n-9	20.42	0.92	-	0.49
Σ AGMI*	47.73	51.76	23.61	17.55
18:2 n-6	9.72	24.81	59.10	18.50
20:3 n-6	-	-	-	0.02
20:4 n-6	-	-	-	2.73
Σ AGPI (n-6)	9.72	24.81	59.10	21.25
18:3 n-3	0.66	1.22	0.71	1.66
20:5 n-3	-	-	-	6.64
22:6 n-3	-	-	-	3.63
Σ AGPI (n-3)	0.66	1.22	0.71	11.93
Σ AGPI (n-6)+(n-3)*	10.38	26.03	59.81	33.18
Σ (n-6)/ Σ (n-3)	14.72	20.33	74.78	1.77

*AGS : acides gras saturés
 AGMI : acides gras monoinsaturés
 AGPI : acides gras polyinsaturés

220°C à raison de 5°C/min. L'identification des pics est réalisée par comparaison aux standards

2.3. - Dosage du calcium et du Phosphore

Les dosages du calcium sanguin est réalisé par la méthode colorimétrique, le phosphore par une méthode enzymatique colorimétrique (Bayer diagnostics). Le cholestérol a été dosé selon la méthode colorimétrique enzymatique CHOD-PAP(Boehringer Mannheim Diagnostica) de SIEDDEL et al (1987).

Les dosages du calcium osseux est réalisé par spectrophotométrie d'émission de flamme. Le phosphore est dosé par la méthode de Macheboeuf et Delsal (1943)

3 - Calcul statistique

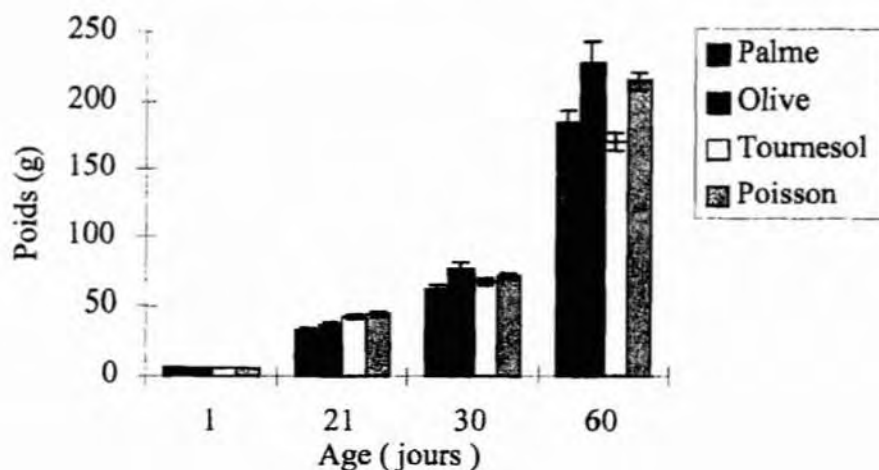
Pour toutes les expériences réalisées, chaque point expérimental correspond en une série de 6 rats. Les données sont par conséquent analysées par le test d'analyse de variance, suivi du test t de Student, pour la comparaison entre deux groupes.

RESULTATS ET DISCUSSION

1 - Influence des régimes alimentaires sur la croissance pondérale des animaux

Les résultats obtenus à différentes périodes de l'expérimentation sont regroupés dans la figure 1. A la naissance, aucune différence significative n'est observée entre les différents lots expérimentaux. En revanche, au sevrage (21 jours), on remarque que les lots diffèrent significativement à ($P < 0.05$). En effet, nous remarquons que les animaux nourris à l'huile de poisson et de tournesol présentent les poids corporels les plus élevés. Cette différence serait due probablement à l'influence du régime lipidique des femelles reproductrices sur la composition en acides gras de leur sécrétion lactée, par voie de conséquence les jeunes rats ont une croissance pondérale élevée. De même à l'âge de 1 et 2 mois, une différence significative est notée, mais à cette période les poids les plus élevés sont représentés plutôt par les lots olive et poisson.

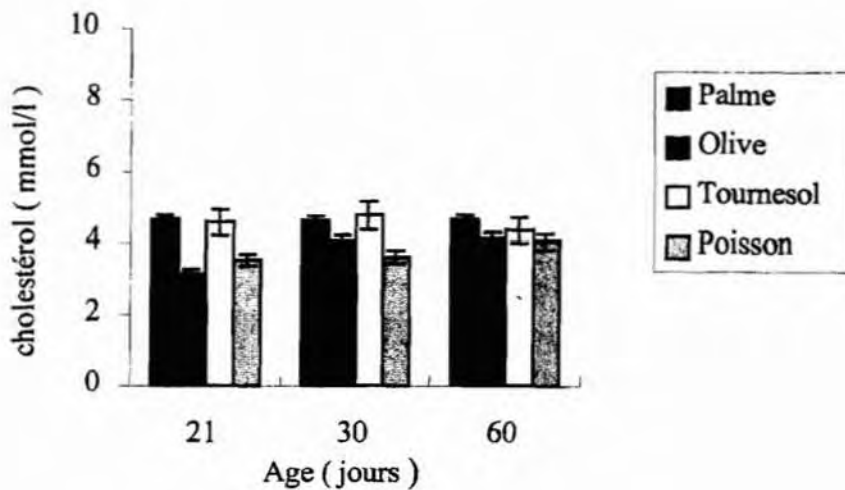
Fig 1: Evolution du poids corporel des rats en fonction de l'âge et des régimes alimentaires



2 - Influence des régimes lipidiques alimentaires sur la teneur en cholestérol plasmatique

L'examen des résultats portés dans la figure 2 montre que les teneurs en cholestérol plasmatique en fonction de l'âge et des régimes alimentaires ne sont pas significativement différentes à ($p > 0.05$). Cependant une teneur en cholestérol relativement élevée est observée chez des rats nourris à l'huile de palme suivi par l'huile de tournesol. Dans ces deux cas, cette légère augmentation est due à la richesse de ces huiles en acides gras monoinsaturés et saturés, car il est admis que les AGS augmentent le taux de cholestérol circulant (Keys et al 1965).

Fig 2: Evolution du taux de cholestérol plasmatique en fonction de l'âge et des régimes alimentaires



3 - Influence de l'âge et des régimes alimentaires sur la teneur en calcium et phosphore sanguin

Selon les résultats obtenus à différentes périodes de l'expérimentation (tableau 3) on n'observe aucune différence significative à ($P < 0.05$) entre les taux de calcium plasmatique chez les différents lots en fonction de l'âge et des régimes alimentaires. Cette observation est également valable pour les taux de phosphore plasmatique. Ce maintien de l'homéostasie calcique est assuré par les hormones calcitropes. Il est à ce point vital pour l'organisme qu'il peut se faire au détriment du squelette. Ainsi, une altération du métabolisme phosphocalcique peut avoir des répercussions très importantes sur la masse osseuse.

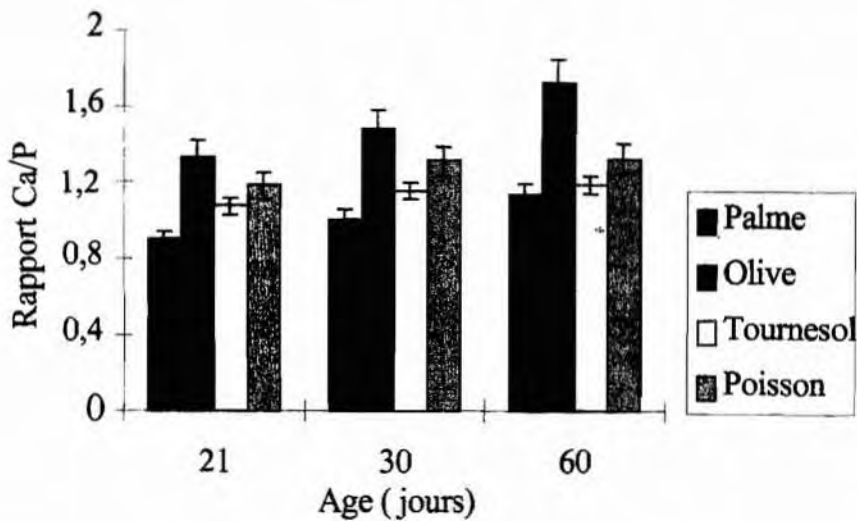
Tableau 3 : Evolution de la teneur en calcium et du phosphore sanguin en fonction de l'âge et des régimes alimentaires (exprimée en g/l)

Age	Régime alimentaire							
	Palme		Olive		Tourmesol		Poisson	
	Ca	P	Ca	P	Ca	P	Ca	P
21 jours	2.29±0.10	1.06±0.23	2.41±0.26	1.06±0.25	2.45±0.45	0.79±0.16	2.12±0.31	0.68±0.40
1 mois	2.39±0.31	1.16±0.28	2.44 ± 0.22	1.10±0.27	2.33±0.80	0.77±0.12	2.47±0.24	0.97±0.33
2 mois	2.11±0.17	1.06±0.18	2.22 ± 0.23	1.35±0.07	2.23±0.06	1.20±0.27	2.14±0.23	0.94±0.09

4 - Influence de l'âge et des régimes alimentaires sur la teneur en calcium et phosphore osseux

Les résultats obtenus (figure 3) montrent que les régimes à base d'huile d'olive et de poisson présentent le rapport Ca/P le plus élevé par rapport aux autres régimes alimentaires. Ces résultats confirment ceux de nombreux chercheurs qui ont rapporté que les lipides sont absolument nécessaires à la croissance et à la minéralisation du squelette. Ainsi, lorsqu'il y a un apport de glycérides oléiques additionnés d'un taux minimum d'acides gras polyinsaturés, cas de l'huile d'olive, on obtient une croissance et une constitution normales du squelette. (Bearre-Rogers 1987).

Fig 3: Evolution du rapport Ca/P du tissu osseux en fonction de l'âge et des régimes



CONCLUSION

Compte tenu des résultats obtenus au cours de cette expérimentation, on peut émettre les hypothèses suivantes :

D'une manière générale, il ressort très clairement que le taux de cholestérol sanguin est lié pour une grande part à la nature des graisses alimentaires ingérées; les graisses saturées ont tendance à augmenter ce taux, alors que les graisses polyinsaturées le diminuent. Cependant, de nombreuses recherches ont montré que de nombreux facteurs peuvent interférer. Ces facteurs peuvent être inter-individuels: facteurs géographiques, l'âge, le sexe, ou facteurs intra-individuels notamment génétiques et environnementaux.

De même, il apparaît que le régime à base d'huile d'olive et de poisson sont les plus favorables pour la constitution et le développement de l'os, ainsi, la présence d'oléate et de linoléate semble nécessaire à une meilleure minéralisation osseuse. Ces résultats confirment ceux de nombreux auteurs en particulier ceux de Laval-Jeantet et al (1980). Dans le cas de l'huile de poisson, cette bonne minéralisation serait due à la richesse en vitamine D de cette huile qui favorise l'absorption intestinale du Ca et P et leur fixation sur la trame osseuse. L'huile de foie de morue était un traitement populaire du rachitisme, bien avant d'être admise dans la pharmacopée. Elle améliore l'absorption du Ca chez les enfants rachitiques, guérit l'affection et permet de prévenir le rachitisme (Fourman et Royer, 1969).

En définitive, bien que la relation entre l'apport d'acides gras essentiels dans l'alimentation et les performances a fait l'objet d'études rétrospectives et prospectives, mais la difficulté de telles études réside dans le nombre de paramètres impliqués et le nombre limité de données qui ne permettent pas d'établir des corrélations directes et sûres. Cependant les résultats obtenus étayent l'hypothèse selon laquelle, les apports lipidiques alimentaires contrôlent la croissance et la constitution normales du squelette ainsi que la teneur en cholestérol plasmatique, qui à un taux élevé, constitue un des facteurs de risque les plus importants de l'athérosclérose.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEARRE-ROGERS J.L. 1987 - Nutritional Attributes of fatty acids. *Revue Française des Corps Gras*. N° 4; pp 346-350.
- CRAWFORD M.A. 1975 - The role of essential fats in human maternal and infant nutrition with special reference to brain growth.
In: 2nd international congress on the biological value of olive oil, Torremolinos (Spain), 6-9 Mai, pp: 35.
- FOLCH J, LEES M., SLOANE-STANLEY G.H., 1957 - Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue.
J. Biol. Chem., N° 226, pp : 497 -509.
- FOURMAN P. et ROYER P., 1969 - Calcium et tissus osseux (Biologie et pathologie). Editions Médicales Flammarion.
- FREMONT L., 1986 - Cholestérol, acides gras essentiels et athérosclérose
Revue Française des Corps Gras. Vol 33, N° 10, pp 369 - 377.
- FRENCH C.E. et ELLIOT R.S., 1943 - The inter-relation of calcium and fat utilization. *J. Nutr.*, N° 25, pp 17 - 24.
- KEYS A., ANDERSON J. et GRANDE F. 1965 - Serum cholesterol response to changes in the diet. Particular saturated fatty acids in the diet.
Metabolisme N° 14; pp: 776 - 787.
- LAVAL-JEANTET A. M. et LAVAL-JEANTET M., 1976 - Interactions entre les lipides et le calcium en nutrition expérimentale humaine. *Path. Biol.*, N° 24 pp 213 - 225.
- LAVAL-JEANTET A. M. et LAVAL-JEANTET M., BERGOT C. et GOUSSAND J., 1980 - Effets des lipides oléiques sur la croissance et la composition de l'os en nutrition expérimentale. 3^{ème} Congrès International sur la valeur biologique de l'huile d'olive, Espagne, 8 - 12 Sep pp 309.
- LEPAGE G. and ROY C.C., 1986 - Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J. Lipid. Res.* 27, 114-120.
- MACHEBOEUF M. et DELSAL I., 1943 - Méthode sur le dosage de très petites quantités de phosphore dans les matières organiques. *Bull. Soc. Chem. Biol.*, N° 25, pp 116 - 120.

NARAYON RAO M. et SWAMINATHAN N., 1963 - The effect of sanflower seede oil and niger oil on calcium, phosphorus and nitrogen metabolism in normal growing rats. Ann. Biochem., N° 13, pp 15 – 18.

RAYSSIGNIER Y., 1990 - Nutrition minérale et métabolisme des lipides CPCIA, 6 - 7 Juin. Paris Lipides et minéraux.

TADAYON B. et LUTWAK L., 1969 - Interrrelation-ship of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat. J . Nutr., N° 97, pp 246 - 254.