

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Définition de l'Hypercholestérolémie.....	4
2. Epidémiologie de l'Hypercholestérolémie.....	4
3. Hypercholestérolémie et maladies cardiovasculaires.....	5
4. Athérosclérose, hypercholestérolémie et désordres métaboliques.....	6
5. Hypercholestérolémie et stress oxydant.....	7
5.1. Hypercholestérolémie et peroxydation lipidique.....	9
5.2. Hypercholestérolémie et oxydation protéique.....	10
5.3. Hypercholestérolémie et défense antioxydante.....	12
6. Impact des protéines alimentaires en particulier les protéines de poisson sur le risque cardiovasculaire, le stress oxydant et sur le statut antioxydant.....	16
7. Effets des agrumes sur le risque cardiovasculaire, le stress oxydant et sur le statut antioxydant.....	20
8. Choix du matériel biologique et du modèle expérimental.....	24
8.1. Matériel animal.....	24
8.2. Matériel végétal.....	25
8.3. Modèle expérimental.....	25
 MATERIEL & METHODES	
1. Matériel végétal.....	27
1.1. Systématique de <i>Citrus latifolia</i>	27
1.2 Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce du <i>Citrus latifolia</i>	27
2. Matériel animal.....	28
2.1. Extraction des protéines de sardine.....	28
2.2. Délipidation de l'extrait protéique.....	29
2.3. Détermination de la teneur en azote de l'extrait protéique.....	29
3. Animaux et régimes.....	31
4. Prélèvement du sang et des différents organes.....	31
5. Analyses biochimiques.....	32
5.1. Détermination des teneurs plasmatiques en albumine.....	32
5.2. Détermination des teneurs plasmatiques et urinaires en urée, acide urique et créatinine.....	33
5.2.1. Dosage de l'urée.....	33
5.2.2. Dosage de l'acide urique.....	33
5.2.3. Dosage de la créatinine.....	33
5.3. Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques.....	33
5.4. Détermination des teneurs en protéines totales du plasma et des différents organes.....	34
5.5. Estimation des lipides ingérés, fécaux et digestibilité des lipides.....	34
5.5.1. Dosage du cholestérol total, du cholestérol libre et des esters de cholestérol.....	35
5.5.2. Dosages des triglycérides.....	35
5.5.3. Détermination des teneurs en phospholipides.....	35
6. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines et analyse de leurs constituants.....	36
6.1. Séparation des lipoprotéines de faible et de haute densité.....	36
6.2. Teneurs et composition des différents constituants des lipoprotéines.....	36
6.3. Dosage des apolipoprotéines (Apo AI et Apo B) plasmatiques.....	37
6.4. Détermination de l'activité de la lécithine:cholestérol acyltransférase (LCAT).....	37
7. Evaluation du statut redox.....	37
7.1. Mesure de la peroxydation lipidique des érythrocytes, des lipoprotéines et des différents tissus.....	37
7.1.1. TBARS des érythrocytes.....	37
7.1.2. TBARS des lipoprotéines.....	38

7.1.3. TBARS tissulaires.....	38
7.2. Détermination des teneurs en hydroperoxydes.....	38
7.3. Dosage des isoprostanes.....	39
7.4. Détermination de l'oxydation protéique.....	39
7.5. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires et tissulaires.....	40
7.5.1. Préparation des érythrocytes.....	40
7.5.2. Préparation des homogénats tissulaires.....	40
7.5.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	40
7.5.4. Activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px, EC 1.11.1.9).....	41
7.5.5. Activité de la glutathion réductase (GSSH-Red, EC 1.6.4.2).....	41
7.5.6. Activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6).....	41
7.5.7. Activité de la paraoxonase 1 (PON1) (EC:3.1.8.1).....	42
7.5.8. Détermination du monoxyde d'azote (NO) plasmatique et tissulaire.....	42
8. Analyse statistique.....	42
 RESULTATS	
1. Croissance pondérale, nourriture ingérée, lipides ingérés et excrétés et digestibilité des lipides.....	43
2. Valeurs absolues et relatives du poids des organes.....	45
3. Paramètres biochimiques.....	46
3.1. Teneurs plasmatiques et urinaires en urée et créatinine.....	46
3.2. Teneurs plasmatiques en albumine, acide urique et activités des transaminases.....	46
3.3. Teneurs en lipides totaux et en protéines totales du foie et du plasma.....	47
3.4. Teneurs en différents lipides hépatiques et plasmatiques.....	48
3.5. Cholestérolémie et sa répartition entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	50
3.6. Triglycéridémie et sa répartition entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	50
4. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des lipoprotéines plasmatiques.....	53
4.1. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.....	53
4.2. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁	53
4.3. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	56
4.4. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	56
5. Concentrations plasmatiques en apolipoprotéines A-I et B100.....	59
6. Rapports d'athérogénicité.....	59
7. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT).....	60
8. Evaluation de la peroxydation des lipides par la mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) et des hydroperoxydes.....	61
8.1. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) des érythrocytes et des VLDL, LDL-HDL ₁ , HDL ₂ et HDL ₃	61
8.2. Concentrations en TBARS tissulaires.....	62
8.3. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques et tissulaires.....	62
8.3.1. Hydroperoxydes plasmatiques.....	62
8.3.2. Hydroperoxydes tissulaires.....	62
8.3.3. Détermination des concentrations en isoprostanes plasmatique.....	63
9. Evaluation de l'oxydation des protéines par la mesure des dérivés carbonylés et teneurs en monoxyde d'azote.....	64
9.1. Teneurs plasmatiques et tissulaires en carbonyles.....	64
9.1.1. Carbonyles plasmatiques.....	64

9.1.2. Carbonyles tissulaires.....	64
9.2. Teneurs en monoxyde d'azote (NO) plasmatiques et tissulaires.....	65
10. Activité des enzymes antioxydantes.....	65
10.1. Au niveau des érythrocytes.....	65
10.2. Au niveau tissulaire.....	66
11. Activité de la paraoxonase 1 (PON1) plasmatique.....	68
 DISCUSSION	 69
 CONCLUSION	 87
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 91
 ANNEXES	 121

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène.....	8
Figure 2 : Rôle des espèces oxygénées activées.....	9
Figure 3 : Rôle oxydatif des LDL dans l'athérosclérose.....	11
Figure 4 : Formation et de régulation des espèces radicalaires.....	12
Figure 5 : Les différentes espèces oxygénées activées et les antioxydants régulateurs de leur production.....	13
Figure 6 : Caractéristiques morphologiques d'un <i>Citrus</i>	20
Figure 7 : Citron vert (<i>Citrus latifolia</i>).....	27
Figure 8 : Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce du citron vert.....	28
Figure 9 : Sardine commune (<i>Sardina pilchardus</i>).....	28
Figure 10 : Diagramme d'extraction et de purification des protéines de sardine.....	30
Figure 11 : Principe du dosage de l'activité enzymatique de la SOD.....	40
Figure 12 : Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée.....	44
Figure 13 : Teneurs en différents lipides du foie et du plasma.....	49
Figure 14 : Teneurs et composition des VLDL.....	54
Figure 15 : Teneurs et composition des LDL.....	55
Figure 16 : Teneurs et composition des HDL ₂	57
Figure 17 : Teneurs et composition des HDL ₃	58
Figure 18 : Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires.....	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Antioxydants et marqueurs d'oxydation.....	15
Tableau II. Composition de différentes sources protéiques en acides aminés.....	17
Tableau III. Composition moyenne de quelques agrumes.....	21
Tableau IV. Composition des régimes.....	32
Tableau V. Lipides ingérés et excrétés et digestibilité des lipides.....	43
Tableau VI. Poids absolus et relatifs des différents organes.....	45
Tableau VII. Teneurs plasmatiques et urinaires en urée et en créatinine.....	46
Tableau VIII. Teneurs plasmatiques en albumine et acide urique et activités enzymatiques des transaminases.....	47
Tableau IX. Teneurs hépatiques et plasmatiques en protéines et en lipides totaux.....	48
Tableau X. Concentrations en cholestérol total plasmatique et sa répartition au niveau des lipoprotéines.....	51
Tableau XI. Teneurs en triglycérides plasmatiques et leur répartition au niveau des lipoprotéines.....	52
Tableau XII. Concentrations plasmatiques en apo A-I et apo B100 et rapports d'athérogénicité.....	59
Tableau XIII. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase et teneurs plasmatiques en apo-HDL ₃ , PL-HDL ₃ , CL-HDL ₃ et EC-HDL ₂	60
Tableau XIV. Teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique au niveau érythrocytaire et lipoprotéique.....	61
Tableau XV. Teneurs tissulaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique.....	62
Tableau XVI. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques et tissulaires.....	63
Tableau XVII. Teneurs en isoprostanes plasmatiques.....	63
Tableau XVIII. Concentrations plasmatiques et tissulaires en carbonyles.....	64
Tableau XIX. Teneurs en monoxyde d'azote.....	65
Tableau XX. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.....	67
Tableau XXI. Activité de la paraoxonase 1 au niveau plasmatique.....	68

ANNEXES

Tableau XXII. Poids corporel des animaux et nourriture ingérée.....	121
Tableau XXIII. Teneurs en différents lipides du foie et du plasma.....	121
Tableau XXIV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.....	122
Tableau XXV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁ ...	122
Tableau XXVI. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	123
Tableau XXVII. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	123
Tableau XXVIII. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaire.....	124

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Apo:	Apolipoprotéine
AU:	Acide urique
CAT:	Catalase
Ci:	<i>Citrus Latifolia</i>
CL:	Cholestérol libre
CT:	Cholestérol total
EC:	Esters de cholestérol
ERO:	Espèces réactives de l'oxygène
GSH:	Glutathion réduit
GSH-Px:	Glutathion peroxydase
GSSH-Red:	Glutathion réductase
HDL:	Lipoprotéines de haute densité
LCAT:	Lécithine:cholestérol acyltransférase
LDL:	Lipoprotéines de faible densité
LPL:	Lipoprotéine lipase
MDA:	Malondialdéhyde
NO:	Monoxyde d'azote
PL:	Phospholipides
PON 1:	Paraxonase
Ps:	Protéine de sardine
SOD:	Superoxyde dismutase
TBARS:	Substances réactives à l'acide thiobarbiturique
TG:	Triglycérides
VLDL:	Lipoprotéines de très faible densité

INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires (MCV) et les anomalies du métabolisme des lipides restent un problème majeur de santé publique **(Inoue, 2014)**. Les MCV sont responsables du décès de trois personnes sur dix dans le monde. D'après l'organisation mondiale de la santé **(OMS)**, en **2010**, les décès dus à ces pathologies représentaient 30% de la mortalité mondiale. En 2012, plus de 17 millions de décès ont été enregistrés **(OMS, 2015)**. En Algérie, les décès par MCV occupent le premier rang avec 26,1% de décès annuels **(Berrouiguet et al., 2009)**.

D'après les projections de l'OMS, ces maladies, qui touchent les hommes et les femmes en proportion égale, devraient, au cours des prochaines années, demeurer en tête des causes de décès à travers le monde dont le nombre pourrait s'élever à 23,3 millions d'ici 2030.

Il est maintenant bien établi que l'hyperlipidémie est un facteur de risque de l'athérosclérose (un composant majeur de la pathogenèse des MCV), l'hypercholestérolémie étant le facteur majeur. En effet, la fréquence de l'athérosclérose est très importante chez les personnes hypercholestérolémiques **(Rafieian-Kopaei et al., 2014)**. De plus, une teneur élevée en lipoprotéines de faible densité (LDL) plasmatiques est fortement corrélée à la morbi-mortalité cardiovasculaire **(Garjani et al., 2009 ; Hubáček et al., 2008 ; Li et al., 2007)**.

Par ailleurs, le stress oxydatif associé à l'hypercholestérolémie, induit une augmentation de la production des radicaux libres, impliqués dans les processus clés de l'athérosclérose **(He & Zuo ,2015; Poredos & Ježovnik, 2007)** et des altérations biologiques, telles que la peroxydation lipidique, l'oxydation protéique et la diminution de l'activité des défenses antioxydantes **(De Rosa et al., 2010 ; Naughton et al., 2009)**.

L'alimentation et le mode de vie sont reconnus comme étant la première ligne d'intervention pour la réduction du risque de survenue des maladies liées à l'athérosclérose **(Getz & Reardon, 2007)**. En effet, plusieurs données épidémiologiques et cliniques ont démontré l'ampleur du bénéfice de certaines mesures nutritionnelles sur l'événement cardiovasculaire **(Parolini et al., 2014)**.

Divers études révèlent qu'il existe une relation inverse entre la consommation de poisson et l'incidence des maladies coronariennes **(Hu et al., 2003 ; Hu et al., 2002 ; Kris-Etherton et al., 2002)**, par diminution de la mortalité cardiaque **(Hu et al., 2002 ; Daviglius et al.,1997)** et de la mort subite **(Dallongeville et al., 2003)**. Cette corrélation négative avec l'événement cardiovasculaire est attribuée à l'effet hypotriglycéridémiant, anti-inflammatoire et hypothrombogénique ainsi qu'à l'impact positif sur la fonction endothéliale des acides gras

polyinsaturés (AGPI) de la série (n-3) contenus dans les matrices marines (**Munro & Garg, 2013 ; Lorente-Cebrián et al., 2013 ; Vigerust et al., 2012 ; Mozaffarian & Wu, 2011 ; Einvik et al., 2010**).

Par ailleurs, la protéine de poisson pourrait également influencer le métabolisme des lipides et avoir un effet cardioprotecteur. Il semblerait qu'elle agisse sur les mêmes paramètres que la protéine de soja mais par des mécanismes différents (**Hosomi et al., 2009**).

Demonty et al., (2003) ont démontré l'effet protecteur de la protéine de morue vis-à-vis de l'hypercholestérolémie en diminuant le cholestérol total (CT) sérique. De même, **Wergedahl et al., (2004)** ont montré que la protéine de saumon tend à diminuer le CT plasmatique et augmenter le rapport C-HDL/CT chez le rat Zucker.

Cependant, une étude a révélé que la protéine de sardine n'a aucun effet sur la cholestérolémie, alors qu'elle augmente la fibrinolyse et prolonge le temps de coagulation du sang chez le rat (**Murata et al., 2004**).

Les antioxydants représentés par la famille des flavonoïdes, sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques telles antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-allergiques et anti-carcinogènes (**Perveen et al., 2013**).

Les flavonoïdes des agrumes pourraient être efficaces contre l'hyperlipidémie. Le citron et la lime renferment différents types de flavonoïdes (**Suleria et al., 2012**). Ces composés permettent, entre autres, de neutraliser les radicaux libres du corps et, ainsi de prévenir l'apparition des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques (**Suleria et al., 2012**).

Les principaux flavonoïdes contenus dans le citron et la lime sont l'ériocitrine et l'hésperétine. Des expériences menées sur des animaux ont démontré que ces deux composés, extraits de l'écorce (peau) du citron ou de son jus, pouvaient diminuer ou prévenir l'augmentation des dommages liés au stress oxydatif (**Gorinstein et al., 2004 ; [Minato et al., 2003](#)**).

Les flavonoïdes et les limonoïdes des agrumes et de leurs jus pourraient aussi avoir un effet hypocholestérolémiant. Des études réalisées chez l'animal ont démontré que certains d'entre eux abaissaient le cholestérol sanguin (**Boshtam et al., 2010 ; Kurowska et al., 2000 ; Bok et al., 1999 ; Kawaguchi et al., 1997**).

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'un apport régulier en flavonoïdes provenant d'agrumes est associé à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires (**Benavente-Garcia & Castillo, 2008**). Les flavonoïdes contribueraient à améliorer la

vasodilatation coronarienne, à diminuer l'agrégation des plaquettes sanguines et à prévenir l'oxydation des LDL (**Miyake et al., 2006**).

Les différents travaux menés au sein de notre laboratoire (LNCM) concernant le rôle bénéfique des protéines de sardine sur le métabolisme lipidique, essentiellement celui du cholestérol, en utilisant le rat comme modèle a déjà été démontré (**Louala et al., 2011 ; Mellouk et al., 2009 ; Boukortt et al., 2006**). Cependant, il n'existe pas de travaux sur les effets de protéines de sardines combinés avec le citron vert (*Citrus latifolia*) sur des rats rendus hypercholestérolémique.

Dans cette étude, la sardine (*Sardina pilchardus*) a été choisie parce que son prix d'achat n'est pas trop cher par rapport aux autres variétés de poissons et elle est largement consommée par la population Algérienne. De même, le citron est un fruit comestible utilisé en médecine traditionnelle depuis les temps anciens. En outre, le jus et le zeste de citron sont utilisés dans une large variété d'aliments et dans les recettes de marinades pour poissons.

Dans cette étude, notre objectif est de démontrer les effets de la combinaison protéine purifiée de sardine (*Sardina pilchardus*) et l'extrait lyophilisé de l'écorce de citron vert (*Citrus latifolia*) sur l'hypercholestérolémie et les troubles métaboliques associés chez des rats rendus hypercholestérolémiques.

Pour cela nous nous sommes fixés deux objectifs:

Le premier objectif porte sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines ainsi que sur l'activité des enzymes qui y sont impliquées, afin de vérifier si le traitement avec la combinaison de la protéine purifiée de sardine (*Sardina pilchardus*) et de l'extrait lyophilisé de l'écorce de citron vert (*Citrus latifolia*) corrige l'hypercholestérolémie et d'essayer de comprendre les mécanismes mis en jeu.

Le deuxième objectif apporte un intérêt particulier sur l'évaluation du statut redox, puisque la relation entre le stress oxydant et la genèse de l'hypercholestérolémie et de ses complications est certaine. L'effet protecteur ou non de la combinaison de la protéine purifiée de sardine (*Sardina pilchardus*) et de l'extrait lyophilisé de l'écorce de citron vert (*Citrus latifolia*) vis-à-vis de l'attaque radicalaire sera donc examiné.

Avant de présenter les différents résultats, un rappel succinct est présenté sur l'hypercholestérolémie et sa relation avec les maladies cardiovasculaires et le stress oxydatif d'une part, et sur l'influence des protéines alimentaires, en particulier des protéines de poisson supplémentées en cholestérol, et des agrumes sur la dyslipidémie, le stress oxydant et le statut antioxydant, d'autre part.

Cette partie est suivie de la méthodologie qui décrit le protocole expérimental utilisé ainsi que les différentes techniques réalisées, d'une discussion qui reprend les résultats les plus significatifs et d'une conclusion générale qui conclue sur les résultats les plus pertinents.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Définition de l'hypercholestérolémie

L'hypercholestérolémie n'est pas une maladie, mais plutôt un des principaux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (MCV) (**Penumathsa et al., 2007**). Chez l'homme, l'hypercholestérolémie est caractérisée a des teneurs sériques en cholestérol total (CT)>5,17 mmol.L⁻¹, cholestérol-LDL (C-LDL)>4,17 mmol.L⁻¹, cholestérol-HDL(C-HDL)<0,9mmol.L⁻¹ et un rapport C-LDL/C-HDL>3,5. Les rapports C-LDL/C-HDL ou CT/C-HDL constituent le meilleur prédicateur d'événements coronariens (**Amarengo & Steg, 2007 ; Ingelsson et al., 2007**).

De nombreuses études épidémiologiques ont montré que la réduction du cholestérol total et du cholestérol-LDL diminue le risque d'infarctus du myocarde et d'accident vasculaire cérébral (**Ferrières et al., 2009**). Le C-LDL est la fraction la plus athérogène du cholestérol. En excès, le C-LDL tend à s'accumuler dans la paroi artérielle et à favoriser le développement de la plaque d'athérome. A l'inverse, le C-HDL, la fraction non athérogène du cholestérol, est associé à une diminution du risque vasculaire lorsqu'il est élevé, et à une augmentation de ce risque quand il est trop faible (**De peretti et al., 2014 ; 2013**).

2. Epidémiologie de l'hypercholestérolémie

L'hypercholestérolémie est une des principales causes de morbidité dans les pays développés et en voie de développement, s'agissant d'un facteur de risque de cardiopathie ischémique et d'accident vasculaire cérébral (**Daskalopoulou & Mikhailidis, 2006**). Dans l'ensemble, on estime que l'hypercholestérolémie provoque 2,6 millions de décès (4,5% des décès) (**OMS, 2010**). En 2008, la prévalence mondiale de l'hypercholestérolémie chez l'adulte était de 39% (37% chez l'homme et 40 % chez la femme) (**Farzadfar et al., 2011**). En Algérie, une enquête menée en 2008 sur plus de 1000 personnes d'une moyenne d'âge de 43 ans a mis en évidence une prévalence de la dyslipidémie égale à 15,9%, dont celle de l'hypercholestérolémie de 14,3%, valeur plus faible que celle des pays industrialisés qui enregistrent des taux supérieurs à 30% (**Berrouiguet et al., 2009**).

Une étude épidémiologique internationale sur l'évaluation de la prise en charge de l'hypercholestérolémie a été menée récemment à Tlemcen (Ouest de l'Algérie) auprès de 1000 patients a permis de mieux comprendre la répartition des principaux facteurs favorisant les maladies cardiovasculaires, notamment l'hypercholestérolémie. L'étude a révélé que ces facteurs de risque étaient sous-estimés chez la population algérienne, citant à ce titre la dyslipidémie, découverte fortuitement chez 3 patients sur 4 au cours d'un examen systématique (**Berrouiguet et al., 2009**).

3. Hypercholestérolémie et maladies cardiovasculaires

En Algérie, comme dans tous les pays, les affections cardiovasculaires occupent une place prépondérante dans la morbi-mortalité (**Berrouiguet et al., 2009**).

Les maladies cardiovasculaires représentent la première cause de mortalité en Algérie et sont responsables d'un décès sur quatre, selon une récente étude réalisée par l'Institut National de Santé Publique (**INSP**) et l'Organisation mondiale de la santé (**OMS**), et auprès de la Société Algérienne de Cardiologie (**SAC**). Cependant, la mortalité liée à ces maladies régresse dans les pays occidentaux alors qu'elle augmente dans les pays en voie de développement selon l'occidentalisation du mode de vie (**Baudin & Cohen, 2009**).

Selon **Oguntibeju et al., (2009)**, les maladies cardiovasculaires regroupent la maladie coronaire, l'accident vasculaire cérébral ischémique et l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs. Ces maladies sont des complications, le plus souvent tardives de l'athérosclérose, phénomène inflammatoire chronique. De nombreux facteurs de risque favorisent l'athérosclérose et les dyslipidémies en constituent un déterminant majeur. L'excès du C-LDL, fraction athérogène du cholestérol, est impliqué dans la pathogénie de l'athérosclérose, et de ses complications cliniques.

Vasanthi et al., (2010) indiquent que le changement du mode de vie, incluant une alimentation appropriée, peut réduire les risques MCV. Il est bien établi aujourd'hui que la nutrition joue un rôle crucial dans la prévention ou le développement des MCV. L'étude des Sept Pays, initiée dans les années 50, a montré l'importance de la relation entre nutrition et MCV. Cette étude a permis d'établir le lien entre la consommation de graisses saturées, l'augmentation de la cholestérolémie et la mortalité par cardiopathie ischémique (**Bresson et al., 2001**).

Cependant, bien qu'il soit établi qu'une élévation anormale de la cholestérolémie augmente le risque cardiovasculaire, il apparaît que le cholestérol ne présente pas la même potentialité athérogène selon qu'il soit véhiculé par les lipoprotéines de basse densité (LDL) ou par les lipoprotéines de haute densité (HDL). En effet, selon **Kontush & Chapman, (2006)**, le risque d'une maladie coronarienne s'élève de 3% chez les hommes et 2% chez les femmes pour chaque diminution de 1 mg/dL de C-HDL. D'autre part, **Asztalos & Schaefer, (2003)**, rapportent que les études épidémiologiques montrent que pour une diminution de 1 mg/dL du C-LDL ou une augmentation de 1 mg/dL du C-HDL, une diminution de 1 à 2% et 3 à 4% du risque MCV est notée, respectivement (**Paul & Baudin, 2009**).

4. Athérosclérose, hypercholestérolémie et désordres métaboliques

Les anomalies du métabolisme des lipides et des lipoprotéines sont à l'origine de perturbations biologiques avec des conséquences importantes en termes de santé publique. En effet, elles sont en grande partie responsables du développement de l'athérome et des pathologies cardiovasculaires (**Bostick *et al.*, 2000**).

La dyslipidémie est une pathologie métabolique très fréquente. Elle constitue un facteur de risque d'athérosclérose et de maladies cardiovasculaires qui contribuent significativement à la mortalité (**Shehata &Yousef, 2010 ; Rigalleau & Gin, 2004**). Les causes de l'hyperlipidémie sont diverses, telles que l'obésité, le déséquilibre alimentaire, la sédentarité, les troubles du métabolisme des glucides (diabète ou hyperinsulinémie) (**Adiels *et al.*, 2006**).

Actuellement, il est bien établi que l'hypercholestérolémie contribue au développement de l'athérosclérose. Plus la cholestérolémie est élevée, plus les risques de complications cardiovasculaires augmentent (**Penumathsa *et al.*, 2007**). Des études cliniques et expérimentales ont révélé que des taux élevés de C-LDL sont associés à l'athérosclérose et à un plus grand risque d'évènements cardiovasculaires (**Abdelhalim & Alhadlaq, 2008**).

L'athérosclérose, correspond à l'accumulation de lipides au niveau des parois des artères aboutissant à la formation de plaques d'athérome qui rétrécissent la lumière de ces vaisseaux (**Ouweneel & Van Eck ,2015**). Ces rétrécissements ou sténoses peuvent aboutir à l'occlusion de l'artère généralement par un mécanisme de thrombose et être à l'origine d'accidents vasculaires ischémiques (**Skalicky *et al.*, 2008 ; Leborgne *et al.*, 2002**).

L'hypercholestérolémie apparaît lorsqu'il existe une insuffisance d'épuration hépatique du cholestérol sanguin ou une hyperproduction hépatique de cholestérol, ces deux circonstances sont associées. En effet, moins le foie capte du cholestérol et plus sa synthèse est accrue. La baisse de la captation hépatique de cholestérol est liée le plus souvent à une anomalie des récepteurs aux LDL (R-LDL) ou récepteur de l'apolipoprotéine (apo) B-100 et de l'apo E(R-apo B/E) caractérisée par une mutation au niveau du gène de structure du R-LDL que l'on regroupe en cinq catégories: défaut de synthèse du R, défaut de maturation et de transport du R, défaut de fixation (défaut de reconnaissance des lipoprotéines LDL), défaut d'internalisation (mutation par délétion qui est responsable d'un défaut combiné de liaison et d'internalisation, le produit de cette mutation est un récepteur tronqué, qui modifie son ancrage à la membrane et le rend impropre à la liaison aux LDL) et le dernier mécanisme est un défaut de recyclage, c'est le cas de l'hypercholestérolémie familiale ou de l'inhibition de la fonction des récepteurs (**Singh & Bittner, 2015 ; Robinson, 2013**).

Bien qu'il soit établi qu'une élévation anormale de la cholestérolémie augmente le risque cardiovasculaire, il apparaît aujourd'hui que le cholestérol ne présente pas la même potentialité athérogène selon qu'il soit véhiculé par les lipoprotéines de très faible densité (VLDL), les LDL ou par les HDL. Les HDL exercent plutôt un effet bénéfique sur l'initiation de la plaque d'athérome **(Le & Walter, 2007 ; Shao et al., 2006)**, alors qu'un taux élevé de petites et denses LDL accroît le risque cardiovasculaire. Cette augmentation du risque s'explique à la fois par l'augmentation de la susceptibilité des LDL à l'oxydation, par leur plus forte affinité pour les protéoglycanes de la paroi artérielle et par leur plus faible affinité pour leur récepteurs cellulaires **(Rosin, 2007)**.

La relation entre les triglycérides et les maladies cardiovasculaires reste toujours un sujet de controverse. De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence la relation entre une augmentation des concentrations sériques de triglycérides et le risque de maladie coronarienne. En effet, l'hypertriglycéridémie est fréquemment associée à d'autres facteurs, notamment, l'hyperlipémie postprandiale, l'augmentation des indices d'athérogénicité, la présence de LDL petites et denses, l'élévation des teneurs en C-LDL et inversement, la diminution des concentrations du C-HDL **(Sarwar et al., 2007)**.

5- Hypercholestérolémie et stress oxydant

Plusieurs observations cliniques et expérimentales ont montré la relation entre un stress oxydant accru et certaines pathologies telles que l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, l'hypercholestérolémie, l'hyperlipidémie, le dysfonctionnement endothéliale et le diabète **(Belkheiri, 2010 ; Bansal & Jaswal, 2009 ; Afonso et al., 2007 ; Meisinger et al., 2005 ; John & Schmieder, 2003 ; Loscalzo, 2003)**. En effet, chez les modèles animaux (rat, lapin) comme chez l'homme, un régime riche en cholestérol provoque de nombreuses altérations métaboliques, une hypercholestérolémie sévère, une réponse inflammatoire **(Dornas et al., 2010)**, et un stress oxydatif **(Milagro et al., 2006)**.

Le stress oxydant est un état caractérisé par un déséquilibre dans la balance métabolique cellulaire entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités antioxydantes de l'organisme (enzymes antioxydantes et systèmes antioxydants non enzymatiques) **(Delattre et al., 2005)**. Pour se prémunir contre ces pathologies, il est important de disposer de défenses antioxydantes adéquates qui doivent nous être apportées par une alimentation saine, particulièrement riche en fruits et légumes **(Pincemail et al., 2007)**.

Les radicaux libres et le stress oxydatif sont impliqués dans les mécanismes pathogènes des MCV (Defraigne & Pincemail, 2008 ; Haleng *et al.*, 2007). L'hypercholestérolémie représente un facteur de risque dans la progression de l'athérosclérose (Dimitrova-Sumkovska *et al.*, 2006), engendrant des complications cardiovasculaires ainsi, en conjonction avec le stress oxydatif joue un rôle important dans le développement de l'athérosclérose (Yhirda, 2006).

Nasar *et al.*, (2009) indiquent qu'un excès de cholestérol alimentaire est lié à une élévation précoce de la production des ERO, au niveau des érythrocytes et du foie d'une part, et à l'augmentation des marqueurs du stress oxydatif d'autre part, chez des sujets hypercholestérolémiques. De plus, une alimentation riche en cholestérol, chez le lapin, entraîne une forte production des ERO, qui contribue à un dysfonctionnement endothélial, une réduction de la protection antioxydante et à une diminution du monoxyde d'azote (Müller *et al.*, 2004) .

De plus, Balkan *et al.*, (2004) ont montré que le régime enrichi en cholestérol a un effet sur l'apparition du stress oxydant par une augmentation des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) au niveau de l'aorte et du foie.

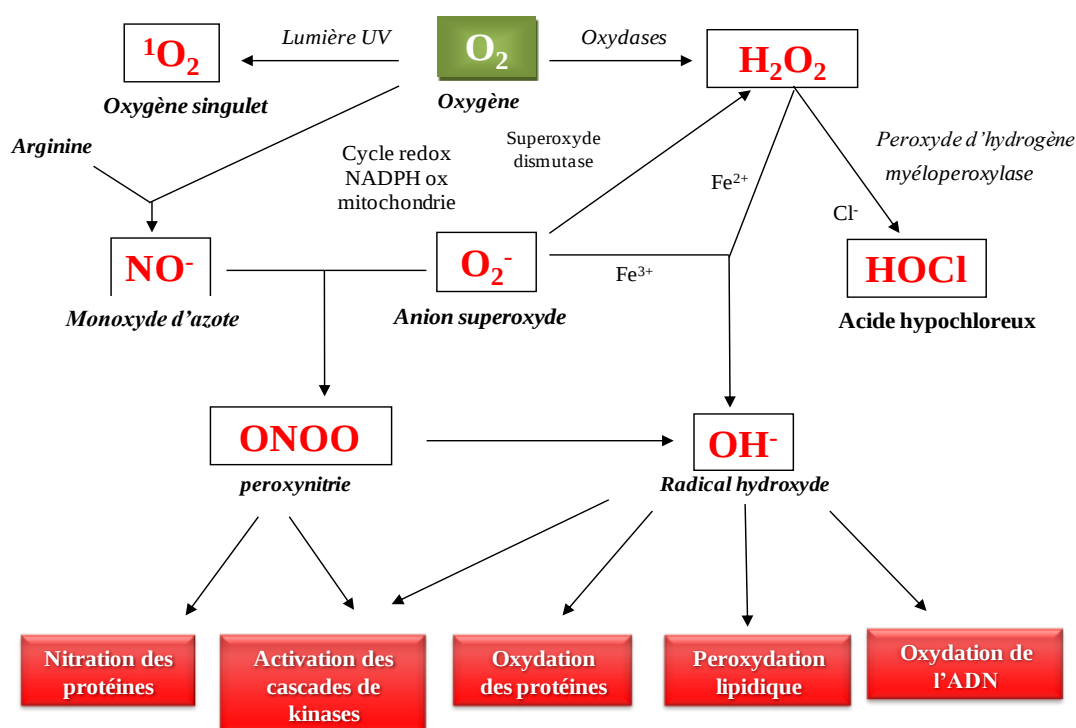


Fig. 1. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

Plusieurs études (**Halliwell & Gutteridge, 2007 ; Favier, 2003 ; Cadet *et al.*, 2002**) ont bien montré le rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies. En effet, la production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Sanz & Fayad, 2008**).

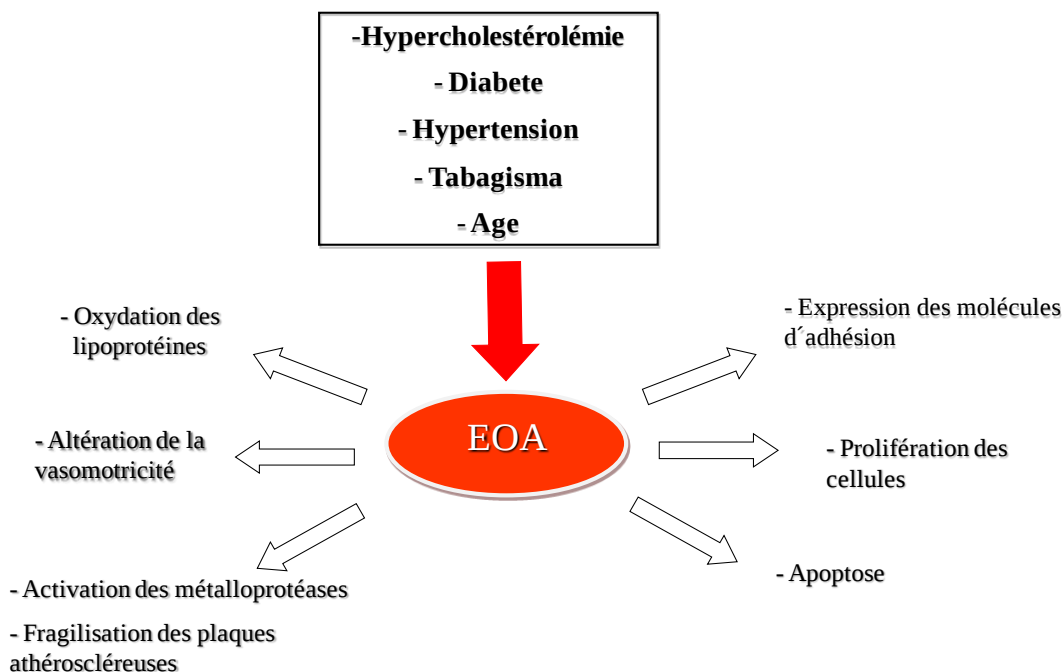


Fig. 2. Rôle des espèces oxygénées activées (EOA) dans les cellules (**Gardès-Albert *et al.*, 2003**)

5.1. Hypercholestérolémie et peroxydation lipidique

Les lipides, en particulier les acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué et il se produit ainsi des hydroperoxydes de lipides (**Atkin *et al.*, 2005**). Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonénal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Cillard & Cillard, 2006**).

Par ailleurs, les EOA s'attaqueront aux lipoprotéines circulantes aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (**Nakajima et al., 2006**).

5.2. Hypercholestérolémie et oxydation protéique

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont surtout celles qui comportent une fonction thiol (SH) (**Favier, 2003**). Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes (**Jacobson, 2006**). Les protéines modifiées par l'oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, transporteurs, récepteurs etc.) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome.

Le stress oxydant intervient à tous les niveaux de sa physiopathologie. L'oxydation des LDL tient un rôle clef dans l'initiation et le développement de la plaque athéroscléreuse (**Sanz & Fayad, 2008**). En effet, la première étape dans le processus d'athérogenèse est la rétention des LDL au niveau sous-endothélial de la paroi artérielle, l'intima où elles subissent des modifications en particulier, une oxydation par les ERO (**Parthasarathy et al., 2008**).

Ces modifications oxydatives des LDL (**Sanz & Fayad, 2008**) représentent une modification biologique analogue aux modifications chimiques concernant les cellules spumeuses (**Fig. 3**). Les LDL oxydées contribueraient à l'athérogénèse en facilitant le recrutement des monocytes circulants dans les espaces intimaux, en inhibant la capacité des macrophages à quitter l'espace intimal (**Parthasarathy et al., 2008**) et en augmentant le taux de captation de lipoprotéines menant à la formation de cellules spumeuses en étant cytotoxique par la perte de l'intégrité membranaire (**Beaudeux, 2006**).

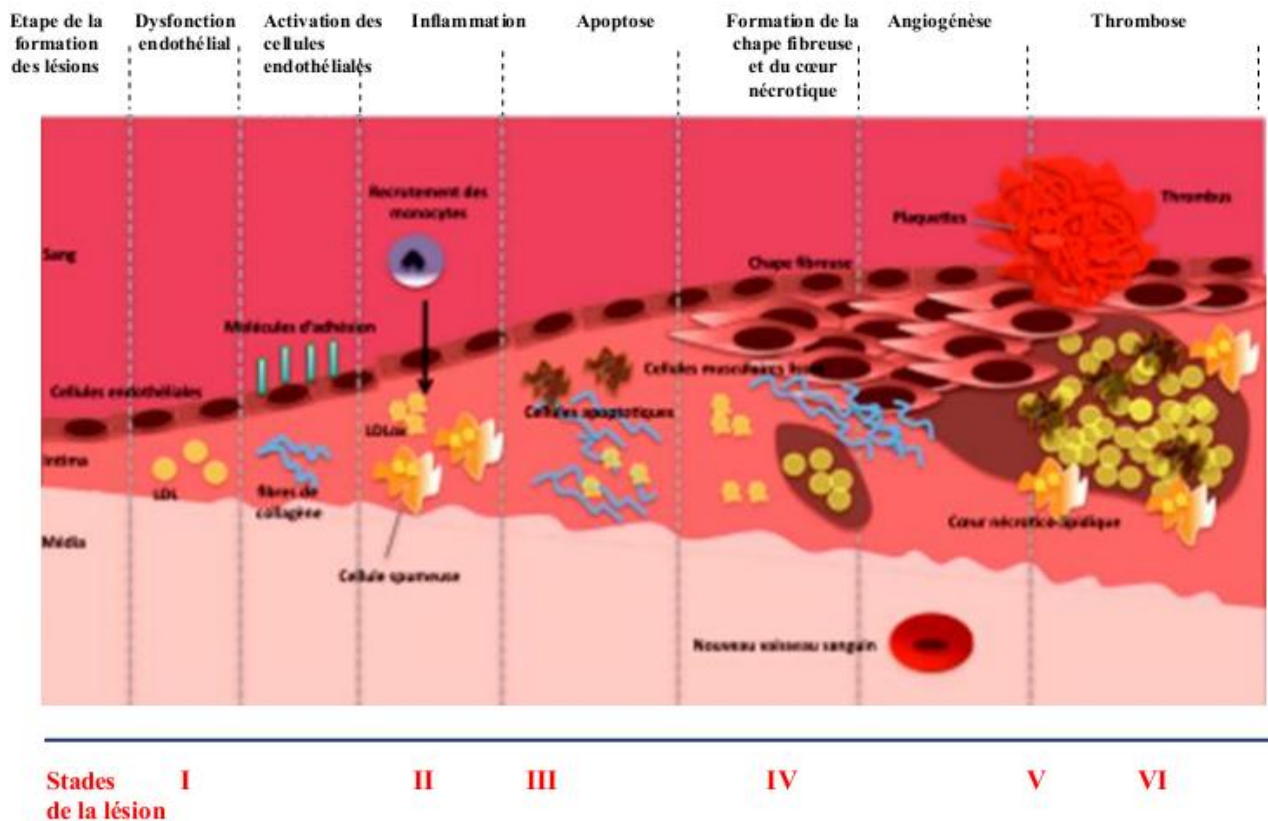


Fig. 3. Rôle oxydatif des LDL dans l'athérosclérose (Sanz & Fayad, 2008).

Les LDL natives traversent l'endothélium vasculaire et subissent des modifications oxydatives via la matrice extracellulaire et les cellules environnantes. Les effets sont -(I)- une stimulation du chimiotactisme des monocytes -(II)- une inhibition de l'égression des monocytes déjà présents dans l'espace sous-endothélial -(III)- une implication dans la formation des cellules spumeuses -(IV)- des dommages dans l'endothélium et -(V)- l'induction de la mort des cellules spumeuses .

En revanche, les HDL ont plusieurs fonctions athéroprotectrices importantes allant du transfert du cholestérol des macrophages vers le foie, à son effet antithrombotique, en passant par son activité antioxydante et anti-inflammatoire (**Riesen & Hug, 2008**). Ces particules exercent plutôt un effet protecteur contre l'athérogenèse par la protection des LDL contre l'oxydation et la destruction des produits d'oxydation des lipides générant la réponse inflammatoire impliquée dans l'athérogenèse. Néanmoins, les HDL peuvent subir des modifications oxydatives susceptibles d'altérer leurs propriétés protectrices (**Yu et al., 2008**). En effet, l'oxydation des HDL diminue la capacité à promouvoir l'efflux du cholestérol induisant une diminution de l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT) en raison de l'oxydation de son cofacteur activateur l'apo AI d'une part, et de la diminution de la fluidité des HDL, d'autre part (**Beaudeux et al., 2006 ; Bonnefont-Rousselot et al., 1999**). L'importance du rôle du monoxyde d'azote (NO) dans la physiologie cardiovasculaire est bien établie, le NO agit comme un puissant vasodilatateur et, à ce titre, il contribue à la

souplesse de la paroi artérielle. De plus, il exerce également d'importants effets antiathérogènes en neutralisant l'anion superoxyde, en inhibant l'agrégation plaquettaire, l'adhérence des leucocytes et la prolifération des cellules musculaires lisses tout en protégeant les cellules endothéliales de l'apoptose (Gül *et al.*, 2003). Il est également impliqué dans de multiples phénomènes pathologiques, il pourrait devenir délétère en raison de ses propriétés prooxydantes (possède un électron libre, ce qui lui confère une grande réactivité chimique avec les radicaux libres). Il est maintenant prouvé que lors d'une surproduction d' O_2^- , ces derniers réagissent très rapidement avec le NO pour former l'ion peroxynitrite $ONOO^-$, composé toxique oxydant et nitrosant responsable d'un dysfonctionnement endothélial (Durmus *et al.*, 2008 ; Beaudeau *et al.*, 2006 ; Lerman *et al.*, 2005).

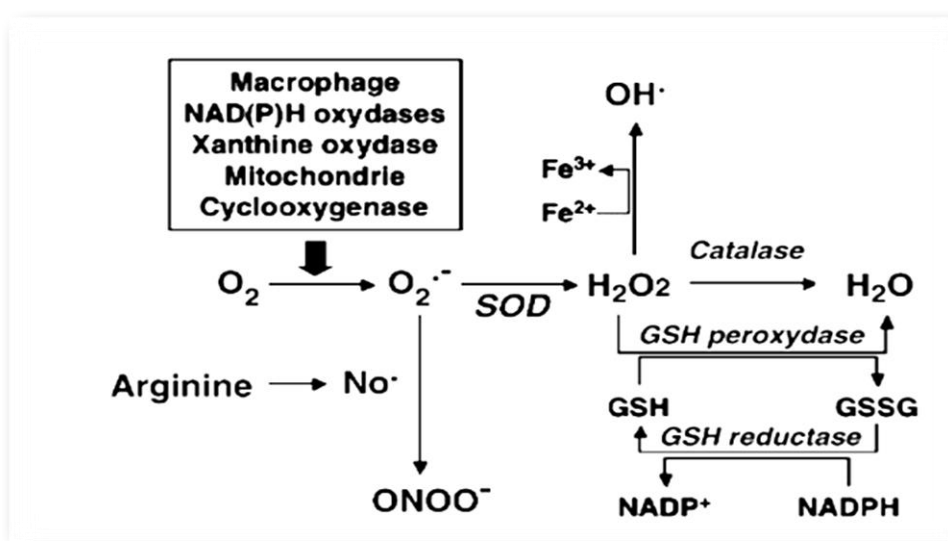


Fig. 4. Formation et de régulation des espèces radicalaires (Huet & Duranteau, 2008).

Oxyde nitrique (NO), anion superoxyde (O_2^-), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), radical hydroxyle ($OH^\bullet$), peroxynitrite ($ONOO^-$), glutathion réduit (GSH)

5.3. Hypercholestérolémie et défense antioxydante

L'alimentation apporte une grande variété d'antioxydants jouant un rôle important comme facteur protecteur de la santé. Plusieurs études suggèrent que les antioxydants réduisent les risques de maladies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires, certains cancers ou les diabètes type 2 (Scalbert *et al.*, 2005). Ainsi l'apport de composés à activité antioxydante dans les aliments n'a plus pour seul objectif de préserver les qualités sensorielles du produit, mais également de renforcer sa valeur nutritionnelle.

Un antioxydant peut être défini comme une substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles comparées à celle d'un substrat oxydable, empêche ou retarde de manière significative une oxydation du substrat (Halliwell, 2012).

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Haleng et al., 2007) (Fig. 5).

Plusieurs lignes de défense sont mises à la disposition de l'organisme et agissent de manière synergique. En effet, si les antioxydants s'avèrent puissants lorsqu'ils sont utilisés de manière individuelle, ils le sont bien davantage encore s'ils sont regroupés.

- *Les systèmes enzymatiques* : les principaux sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GSH-Px) et la glutathion réductase (GSH-Red) (He & Zuo, 2015). Ces enzymes sont produites par nos propres cellules, spécifiquement pour enrayer les radicaux libres qui s'y attaquent. Les enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, la thioredoxine réductase ou la thioredoxine peroxydase utilisent pour la plupart d'entre elles, le NADPH comme donneur d'équivalent réducteur, et constituent avec la glutathion la plaque tournante de la défense antioxydante.

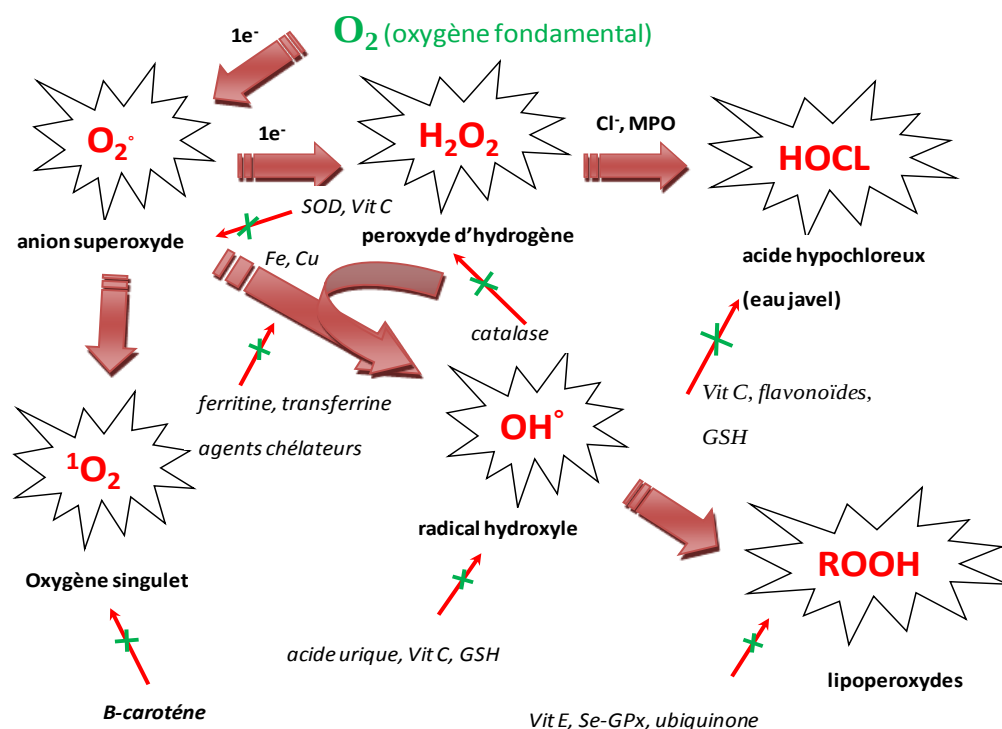


Fig. 5. Les différentes espèces oxygénées activées (EOA) et les antioxydants régulateurs de leur production (Haleng et al., 2007).

- *Les «piégeurs»* : Ils agissent principalement à l'extérieur des cellules. Ces molécules produites par le corps, donnent des électrons pour neutraliser les radicaux libres (acide urique

par exemple).

- ***Les antioxydants exogènes*** : Ils sont apportés par l'alimentation, et agissent en piégeant les radicaux et en captant les électrons célibataires, les transformant en molécules ou ions stables (**Kinsky, 1989**). En font partie, entre autres, les polyphénols, les caroténoïdes, le zinc, le sélénium, ainsi que les vitamines A, B6, C et E (**Zablocka & Janusz, 2008 ; Hamilton, 2007**).

Tableau I. Antioxydants et marqueurs d'oxydation (Haleng et al., 2007).

Mode d'action et intérêt du dosage	
Antioxydants	
Vitamine C	- Piégeur de radicaux libres , marqueurs de la consommation de fruits - Valeur plasmatique basse associée avec l'apparition de diverses pathologies
α - tocophérol	- Inhibiteur de la peroxydation lipidique - Action de synergie avec la vitamine C (rapport idéal de concentration)
γ - tocophérol	- Valeur plasmatique basse plus prédictive que l' α -tocophérol dans la survenue de pathologies cardiovasculaires et de cancer de la prostate
Vitamine A	- Piégeur de radicaux libres - Implication dans la vision
β - carotène	- Piégeur de radicaux libres - Implication dans la vision - Marqueur de la consommation de légumes piégeur de l'oxygène singulet (photoprotecteur) - Inhibition à forte concentration de mécanismes physiologiques de défense
Glutathion réduit (GSH) Glutathion oxydé (GSSG) Rapport GSH/GSSG	- Marqueur de la présence d'un stress oxydant action de synergie avec la vitamine C et l' α -tocophérol
Acide urique	- Marqueur de la présence d'un stress oxydant - Action de synergie avec la vitamine C et l' α -tocophérol
Vitamines B ₆ , B ₉ et B ₁₂	- Régulatrices de la concentration plasmatique en homocystéine - Implication dans la synthèse de l'ubiquinone
Superoxyde dismutase (SOD)	- Elimination de l'anion superoxyde
Glutathion peroxydase (GPx)	- Elimination du peroxyde d'hydrogène et des peroxydes lipidiques - Reflet d'une adaptation au stress oxydant
Oligoéléments	
Sélénium	- Cofacteur des différentes GPx - Rôle dans l'immunité
Cuivre	- Cofacteur de la SOD - Facteur prooxydant à forte concentration
Zinc	- Cofacteur de la SOD - Inhibe les réactions d'oxydation induites par le cuivre-rôle dans l'immunité
Rapport Cu/Zn	- Marqueur de la présence d'un stress oxydant - Corrélation positive avec le taux plasmatique de peroxydes lipidiques
Marqueurs de l'oxydation	
Peroxydes lipidiques	- Marqueur des dommages oxydatifs au niveau des lipides - Implication dans le développement de l'athérosclérose
LDL oxydées	- Facteur de risque cardiovasculaire - LDL petites et denses plus susceptibles à l'oxydation
Isoprostanes	- Marqueur spécifique de la peroxydation lipidique
Sources d'oxydation	
Fer libre	- Fer toxique conduisant à une augmentation accrue de radicaux libres
Fer sérique	- Surcharge en fer
Ferritine	- Facteur de risque cardiovasculaire indépendant du cholestérol
Homocystéine	- Contribue à l'oxydation des LDL

6. Impact des protéines alimentaires en particulier des protéines de poisson sur le risque cardiovasculaire, le stress oxydant et le statut antioxydant

Il est évident que l'alimentation influence le développement des MCV et les études épidémiologiques révèlent que la prévalence de ces maladies varie beaucoup selon les habitudes alimentaires (**Juma et al., 2014**). De très nombreuses études épidémiologiques, cliniques et physiopathologiques ont montré que l'alimentation influence le métabolisme des lipides dans l'organisme et participe au développement de l'athérosclérose (**Martins e Silva & Saldanha, 2007**).

Les protéines d'origine marine, spécialement celles de poisson, sont parmi les protéines animales les plus étudiées. La plupart des études (**Popović et al., 2012 ; Vigerust et al., 2012 ; Hosomi et al., 2011 ; Louala et al., 2011 ; Madani et al., 2010 ; Mellouk et al., 2009 ; Spielmann et al., 2009 ; Boukourt et al., 2006 ; Shukla et al., 2006 ; Ait Yahia et al., 2005**) convergent vers la confirmation de l'effet bénéfique des protéines de poissons sur la cholestérolémie et le profile lipidique en général.

L'offre mondiale de poisson de consommation a progressé de manière étonnante ces dernières décennies, avec un taux moyen de croissance de 3,2% par an sur la période 1961-2009, soit un rythme supérieur à la croissance démographique mondiale annuelle, et qui est de 1,7%. En 2012, la consommation de poisson a atteint un nouveau record à 19,2 kg/hab (**FAO, 2014**).

Dans l'ouest algérien (wilaya d'Oran), la production de la sardine (*Sardina pilchardus*) a augmenté de manière spectaculaire sur la période 2008-2012. En effet, la production est passée de 331 tonnes de sardines en 2008 à 3400 tonnes en 2012 dont 3000 tonnes dans le seul port d'Oran (**DPRH, 2012**). Cette hausse de la production était due au processus de régénérescence des ressources halieutiques côtières, laquelle a été favorisée par le respect de la période de repos biologique et la baisse significative du phénomène de la pêche illicite.

Tableau II. Composition de différentes sources protéiques en acides aminés (g/100g de protéines)

Acides aminés	Sardine ^a	Morue ^b	Saumon ^c	Merlan ^d	Soja ^d	Caséine ^d
Arginine	4,48	5,8	6,29	4,71	5,35	2,3
Glycine	8,56	5,39	7,13	3,95	3,45	1,7
Lysine	7,95	9,41	4,94	8,7	5,05	7,3
Méthionine	2,81	1,98	1,54	2,85	1,25	2,6
Lysine/Arginine	1,77	1,49	1,05	1,62	0,87	2,28
Méthionine/Glycine	0,33	0,37	0,21	0,72	0,36	1,52

a : Madani, (2012); b : Lavigne *et al.*, (2000) ; c : Wergedahl *et al.*, (2004) ; d : Shukla *et al.*, (2006)

Dans une étude qui a mis en évidence l'effet de la protéine de morue, cette dernière a conduit à une diminution des concentrations hépatiques et sériques du cholestérol, une action positivement corrélée avec le niveau d'apport en cette protéine (Zhang & Beynen, 1993). Hosomi *et al.*, (2011) déduisaient dans leur travail que la protéine de poisson diminue les teneurs sériques et hépatiques en cholestérol et ont suggéré que le mécanisme responsable serait peut être l'augmentation de l'expression de la cholestérol 7- α -hydroxylase et de l'excrétion biliaire et fécale du cholestérol. De plus, la réabsorption des acides biliaires est interrompu (Hosomi *et al.*, 2009). Des résultats semblables sont notés par Spielmann *et al.*, (2009) qui ont constaté une hyper-expression des gènes impliqués dans la synthèse des acides biliaires et la captation du cholestérol suite à la consommation de protéines de colin d'Alaska (*Alaska Pollack filet*). Cependant Shukla *et al.*, (2006), n'ont observé aucune différence dans l'excrétion fécale des acides biliaires ou dans l'expression de la cholestérol 7- α -hydroxylase suite à un régime à base de protéine de colin d'Alaska et ils ont plutôt remarqué qu'elle agit en partie selon le même mécanisme que celui de la protéine de soja et cela en élevant l'expression hépatique des SREBP-2 (*sterol regulatory element binding proteins*) et des récepteurs de LDL (R-LDL). Une élévation des teneurs hépatiques en esters de cholestérol et une diminution des niveaux sériques en C-HDL (à la différence de la protéine de soja) et en TG est aussi rapportée.

L'étude réalisée par Murata *et al.*, (2004) a pu mettre en évidence chez les rats consommant des régimes à base de protéines de sardine, une diminution des niveaux plasmatiques en triglycérides et en phospholipides et une amélioration du temps de coagulation sanguine par augmentation significative des activités des facteurs de coagulation (VII, IX, XI, et XII) au niveau du plasma comparé à ceux consommant de la caséine. Par

ailleurs, une élévation de l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) qui est une enzyme protéolytique initiant la fibrinolyse, de la concentration plasmatique de la plasmine- α 2-complexe et de l'inhibiteur de la plasmine est observée en réponse à l'ingestion des protéines de sardine.

Dans une autre étude, **Bergeron et al., (1992)** ont montré que la protéine de poisson pourrait favoriser l'élévation des niveaux de C-HDL en modulant l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL). Cet effet de la protéine de poisson pourrait donc être plus puissant que l'effet réducteur des AGPI (n-6) expliquant les concentrations élevées de C-HDL, en présence d'huile de maïs lorsqu'elle combinée à la protéine de poisson.

Les travaux de **Madani et al., (2010)** montrent que la cholestérolémie et la triglycéridémie sont diminuées chez les rats soumis à un régime de protéines de sardine comparés à leurs homologues avec un régime caséine. Selon une étude réalisée sur des rats spontanément hypertendus (SHR), la protéine de sardine diminue les taux plasmatiques des VLDL, LDL-HDL₁ et augmente la masse des HDL₂ (**Mellouk et al., 2009**). Toujours dans cette dernière étude, les niveaux de CT, CL, TG et PL hépatiques et CL, TG et PL plasmatiques étaient diminués avec la protéine de sardine qui, de plus, a augmenté de 2-fois l'excrétion fécale du cholestérol par rapport à un groupe SHR-Caséine.

Louala et al., (2011), ont conclu dans leur travail que chez le rat hypercholestérolémique, la protéine de sardine, comparée à la caséine, ne modifie pas le profil des lipoprotéines pro-athérogènes (VLDL et LDL-HDL₁), mais améliore celui de la fraction antiathérogène (HDL₂).

Plusieurs chercheurs ont étudié l'effet protecteur du régime à base de poisson et de produits marins. En effet, le poisson agit favorablement sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines en abaissant les teneurs en TG et en CT chez l'homme sain et en améliorant le statut antioxydant (**Seierstad et al., 2005 ; Lacaille et al., 2000 ; Ackman, 1995**).

Les protéines d'origine marine et les peptides qui en sont dérivés peuvent jouer un rôle bénéfique dans la prévention contre l'augmentation du risque cardiovasculaire, en réduisant le stress oxydatif et en particulier, la peroxydation (**Parolini et al., 2014 ; Bouglé, 2007**).

Les AGPI pourraient inhiber l'apoptose induite par les agents prooxydants ou par les LDL oxydées, et donc participer à la stabilisation de la plaque d'athérosclérose (**Lecerf, 2008**). Les AGPI stimulent le système antioxydant, comme l'acide oléique qui stimule l'activation de la GSH-Px et inhibe la génération d'ERO et protège l'ADN des lésions induites par le stress oxydatif (**Violi & Cangemi, 2005**).

Les AGPI à longue chaîne (AGPILC), présents dans les poissons et dans les huiles marines, EPA (C 20:5 n-3) et DHA (C22:6 n-3) sont des protecteurs très efficaces de la fonction cardiaque (**Popović et al., 2012 ; Vigerust et al., 2012**) et jouent un rôle dans la prévention et dans le traitement du risque cardiovasculaire (**Jacobson, 2006**) par leur effet hypotriglycéridémiant quelle que soit le niveau des TG (**Jacobson et al., 2007**).

Le rapport adéquat en AGPI/AGS a été recommandé pour la prévention des MCV. Cependant, lorsqu'il est élevé, il induit un stress oxydant, car les AGPI étant fortement susceptibles d'être oxydés (**Kang et al., 2005**).

Une diminution des niveaux de cholestérol plasmatique total et des triglycérides a également été décrite chez les rats ayant consommé un faible ratio n-6/n-3 (1) par rapport à un ratio élevé (16) au bout de 6 mois et 12 mois de régime, mais pas au bout de 18 mois (**Takeuchi et al., 2009**). Ces résultats suggèrent que le ratio n-6/n-3 pourrait affecter le profil lipidique plasmatique en fonction de la durée d'alimentation. Cet effet hypolipémiant pourrait s'expliquer par une moindre sécrétion de cholestérol et des triglycérides par le foie (**Zhao et al., 2010**).

L'effet bénéfique des protéines de poisson, et en particulier celui de la protéine de sardine, sur la dyslipidémie et le stress oxydant est due en partie à sa richesse en taurine (**Yamori et al., 2004**). La supplémentation en taurine atténue le développement de l'hypertension et l'attaque cardiaque spontanée chez le rat, affecte l'expression du gène de la 7 alpha-hydroxylase et régule ainsi, le taux de cholestérol sérique à travers le contrôle du taux d'excrétion du cholestérol en acides biliaires. Par ailleurs, la taurine atténue l'athérogenèse en modulant le stress oxydant à travers l'inhibition de la production des LDL oxydées (**Yamori et al., 2004**). Différentes études *in vivo* et *in vitro* ont montré que la taurine est un puissant antioxydant et anti-inflammatoire (**Wójcik et al., 2010**), et a des effets cytoprotecteurs (**Shaffer et al., 2003**) souvent attribués à son activité antioxydante (**Parildar-Karpuzoglu et al., 2008 ; Shi et al., 1997 ; Raschke et al., 1995 ; Milei et al., 1992**). Les études *in vivo* et *in vitro* menées sur la taurine suggèrent qu'elle participe à la protection de la cellule contre les dommages oxydatifs, en protégeant les groupement -SH des protéines contre l'oxydation (**Men et al., 2010**). De plus, il a été démontré que la consommation d'un régime enrichi en taurine réduit le taux du malondialdéhyde, l'apoptose cellulaire et augmente les activités des enzymes antioxydantes (SOD et CAT) au niveau érythrocytaire chez des rats à ischémie des membres (**Men et al., 2010**).

Parra et al., (2007) ont révélé que la protéine de morue pourrait améliorer les marqueurs du stress oxydant. D'autres travaux ont démontré que les hydrolysats de protéines d'origine marine influencent l'activité antioxydante/antiradicalaire, plusieurs peptides bioactifs ont été incriminés. En effet, certains acides aminés tels que la tyrosine, tryptophane, phénylalanine et l'histidine joueraient un rôle de piégeage des radicaux libres en libérant des atomes d'hydrogène et en bloquant la chaîne d'oxydation (**Saito et al., 2003 ; Kim et al., 2001; Suetsuna et al., 2000**).

7- Effets des agrumes sur le risque cardiovasculaire, le stress oxydant et le statut antioxydant

Le genre *Citrus* renferme la plupart des agrumes cultivés pour leurs fruits ou leurs huiles essentielles. Certaines études répartissent ces agrumes dans 3 grands groupes en fonction des similarités génétiques. Il s'agit du groupe des orangers et mandariniers, du groupe des pomélos et pamplemoussiers et du groupe des limes et citronniers (**González-Molina et al., 2010 ; Luro et al., 2001**).

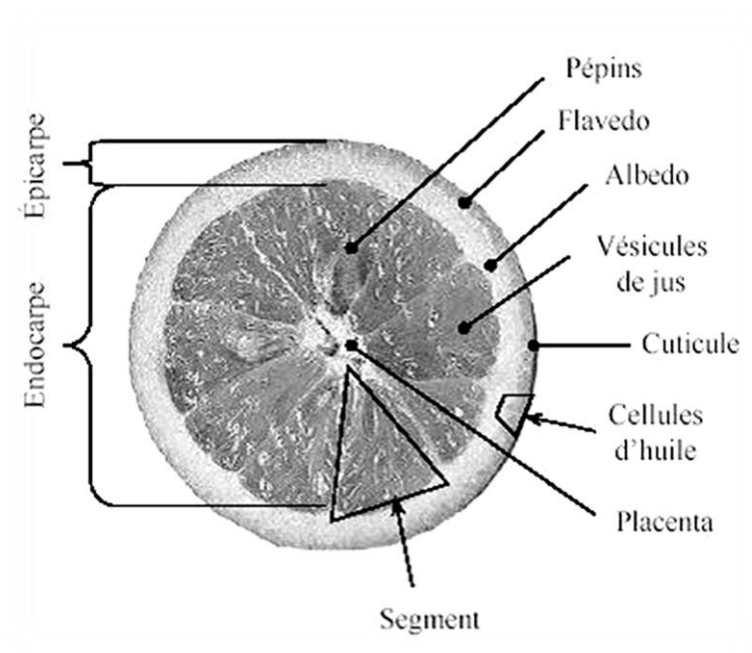


Fig. 6. Caractéristiques morphologiques d'un *Citrus* (**Duan et al., 2014**).

Tableau III. Composition moyenne de quelques agrumes (pour 100g de fruits)
(Souci *et al.*, 2008).

		<i>Citron</i>	<i>Clémentine</i>	<i>Orange</i>	<i>Mandarine</i>	<i>Pamplemousse</i>
Composants (g)	<i>Glucides</i>	3,16	10,4	9,00	10,1	7,41
	<i>Protides</i>	0,90	0,70	1,00	0,70	0,60
	<i>Lipides</i>	0,40	0,20	0,20	0,30	0,15
	<i>Eau</i>	88,5	86,9	86,3	86,5	88,5
	<i>Fibres alimentaires</i>	2,10	1,40	1,80	1,70	1,60
Minéraux (mg)	<i>Phosphore</i>	18,00	15,00	14,00	20,00	16
	<i>Calcium</i>	25,00	26,00	40,00	33,00	24
	<i>Magnésium</i>	16,00	11,00	10,00	11,00	9,60
	<i>Sodium</i>	4,000	3,000	1,000	1,100	1,10
	<i>Fer</i>	0,500	0,350	0,120	0,300	0,66
	<i>Cuivre</i>	0,090	0,030	0,050	0,056	0,037
	<i>Zinc</i>	0,100	0,100	0,070	0,063	0,066
	<i>Manganèse</i>	0,030	0,040	0,040	0,037	0,026
	<i>Nickel</i>	0,020	0,003	0,017	0,003	0,007
Vitamines (mg)	<i>Vitamine C</i>	52,00	41,00	53,00	30,00	44,00
	<i>Provitamine A</i>	0,011	0,300	0,120	0,105	0,077
	<i>Vitamine B1</i>	0,050	0,080	0,090	0,060	0,048
	<i>Vitamine B2</i>	0,020	0,040	0,040	0,030	0,024
	<i>Vitamine B3 ou PP</i>	0,200	0,300	0,280	/	/
	<i>Vitamine B5</i>	0,230	0,200	0,300	/	0,250
	<i>Vitamine B6</i>	0,070	0,040	0,060	0,023	0,028
	<i>Vitamine B8</i>	0,005	0,001	0,002	0,004	0,003
	<i>Vitamine B9</i>	0,009	0,026	0,030	0,070	0,011
	<i>Vitamine E</i>	0,800	0,550	0,240	0,320	0,297
	<i>Apport énergétique (Kcal)</i>	29,00	46,00	45,00	46,00	38,00

Actuellement, la production mondiale d'agrumes est de l'ordre de 122 millions de tonnes. C'est la deuxième production fruitière derrière le groupe des bananes et plantains (125 millions de tonnes) (**Loeillet, 2010**). Les productions d'agrumes sont réparties en 3 groupes par la FAO (Food agriculture organisation). Il s'agit du groupe des oranges, celui des pamplemousses et pomélos et du groupe des citrons et limes. Les citrons constituent 10% de la production des agrumes.

Le programme Algérien de développement des agrumes occupe une place prépondérante dans la nouvelle politique agricole du pays, considérant les vocations pédoclimatiques des différentes zones agricoles Algériennes. L'Algérie possède une collection variétale composée de 178 variétés d'agrumes constituant un patrimoine génétique inestimable. L'agrumiculture occupe une superficie de 65 000 ha, dont 55 000 réservés à la production. La production agrumicole est constituée à 72% d'oranges, 16% de clémentines, 7% de citrons et 4% de mandarines. Les autres variétés (pomelos, pamplemousse, etc.) étant estimées à 1% de la production globale (**Kerboua et al., 2002**).

En Algérie, les composés phénoliques dérivant d'agrumes ont suscité ces dernières années un vif intérêt due à la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leurs implications probables dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant (**Mahmoud et al., 2014; Treki, 2009**). Largement distribués dans le règne végétal et abondants dans nos régimes alimentaires, les composés phénoliques sont aujourd'hui les composés phytochimiques les plus étudiés (**Rock & Fardet, 2014 ; Vladimir-Knežević et al., 2012**).

D'après **Hurtado-Fernandez et al., (2010)** beaucoup de travaux présentés par la communauté scientifique se sur:

- La structure chimique des phénols antioxydants dans les différents aliments végétaux, des plantes aromatiques et des matières végétales les plus diverses.
- Le rôle probable des composés phénoliques dans la prévention de diverses maladies associées aux stress oxydatifs telles que les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives et le cancer.
- La capacité de certaines catégories de composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes de se lier aux protéines.

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit l'incidence de nombreuses pathologies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète (**Hanhineva,**

2010). Cela peut être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies.

Les polyphénols sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle chez le rat, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines de faible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses, d'empêcher l'agrégation plaquettaire et de stabiliser les cellules immunitaires (**Martin & Andrantsitohaina, 2002**). Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, des anti-agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des antitumoraux (**Hanhineva, 2010**). Ils ont été décrits comme neuroprotecteurs, antiviral, chimio préventive, et plus d'arguments indiquent que les polyphénols ont une influence sur le métabolisme lipidique et glucidique (**Hanhineva, 2010 ; Ghosh & Scheepens, 2009**).

Les agrumes sont la principale source de flavonoïdes pour l'homme. Les flavonoïdes représentent la plus grande classe de composés polyphénoliques dérivés de citron (**Gattuso et al., 2007**). Les flavanones (hespéridine, naringine) sont une sous-classe des flavonoïdes, ils sont le plus souvent liés à des glucosides et sont rarement libres (aglycones). L'hespéridine et la naringine sont des glycosides flavanones, composés d'une aglycone, l'hespéretine et la naringénine respectivement, lié à un disaccharide, le rutinose. L'hespéridine est l'hespéretine 7-O- β -rutinoside, et la naringine est la naringénine-7-rhamnoglucoside (**Akiyama et al., 2010**). L'hespéridine et la naringine ont été largement utilisées pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Celles-ci ont été récemment utilisées pour la prévention de l'obésité, l'insulinorésistance et la dyslipidémie (**Akiyama et al., 2010 ; Miceli et al., 2007 ; Jung et al., 2006**).

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'un apport régulier en flavonoïdes provenant d'agrumes notamment le citron est associé à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires (**Yamada et al., 2011 ; Tounsi et al., 2011**). Les flavonoïdes contribueraient à améliorer la vasodilatation coronarienne, à diminuer l'agrégation des plaquettes sanguines et à prévenir l'oxydation du « mauvais » cholestérol (LDL) (**Benavente-García & Castillo, 2008**).

Les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes, possèdent des propriétés très variées au niveau du système cardiovasculaire : action vasodilatatrice en favorisant la libération de NO à partir des cellules endothéliales, inhibition de la cyclooxygénase, de la lipooxygénase et de l'agrégation plaquettaire (flavonols, cathéchines), diminution du cholestérol sanguin (isoflavones), et la régulation de l'expression de gènes (**Roberfroid, 2008**).

Les agrumes sont riches en fibres solubles, principalement en pectine, que l'on retrouve dans l'écorce et dans la membrane blanche autour de la chair (albédo). Par leur aptitude à diminuer le cholestérol sanguin, les fibres solubles contribuent à réduire l'incidence des maladies cardiovasculaires (**Coats, 1998**). Des chercheurs ont démontré que l'écorce de citron était efficace pour diminuer les taux de cholestérol sanguin et hépatique chez l'animal (**Terpstra et al., 2002**). De plus, la pectine du citron, comparée à celle de 3 autres agrumes (pamplemousse, tangerine et orange), présente la meilleure capacité d'inhiber la croissance de certaines tumeurs cancéreuses *in vitro* (**Patil & Chidambara Murthy, 2009**). Cependant, d'autres composés présents dans l'écorce du citron pourraient participer à ce processus.

8. Choix du matériel biologique et du modèle expérimental

8.1. Matériel animal

La sardine commune (*Sardina pilchardus*), appartient à la classe des Clupéidés, à la sous classe des Actinoptérygiens, à l'ordre des Clupéiformes et à la famille des Clupéidae. Elle représente l'une des espèces les plus commercialisées à travers tous les pays situés le long de la côte adriatique (**Costalago et al., 2015**). La sardine commune évolue en Atlantique nord-est, de la Norvège à l'Ecosse jusqu'au Sénégal, et en Méditerranée (**Marzoug et al., 2012**). C'est un poisson pélagique vivant dans les eaux côtières jusqu'à 120 mètres de profondeur en bancs parfois importants, près de la surface la nuit et plus en profondeur le jour.

Dans la région du nord-ouest africain, la taille de la sardine augmente du nord au sud (**FAO, 2014**), probablement en relation avec une richesse trophique du milieu et la température engendrée par la remontée d'eau auxquelles sont soumises ces côtes. Sa taille moyenne est de 10 à 20 cm avec une taille maximale de 25 cm et son poids peut atteindre les 60 g.

La sardine est le produit de pêche le plus important en volume de vente, elle est destinée dans sa totalité à satisfaire la demande de la population Algérienne en poissons frais. Son prix sur le marché interne du pays est étroitement lié aux fluctuations de l'offre et de la demande (**Marzoug et al., 2012**). Ainsi, son choix dans cette étude comme matériel biologique se justifie d'une part, par sa large consommation par la population Algérienne, en particulier dans l'ouest algérien, et d'autre part, par son coût relativement faible par rapport aux autres espèces de poissons. La qualité nutritionnelle de la sardine est liée en grande partie à la composition de ses dépôts lipidiques surtout en acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI ω 3) et à sa composition en acides aminés essentiels.

8.2. Matériel végétal

Citrus latifolia est une espèce de la famille des *Rutaceae*, génétiquement triploïde. Cet arbre fruitier est aussi appelé Limettier de Perse ou Limettier de Tahiti ou citrons verts, elle peut atteindre une hauteur de 50 à 300 centimètres. *Citrus latifolia* est une plante à feuilles persistantes. Elle présente des feuilles simples et alternes. Elles sont ovales et pétiolées avec un bord crénelé. Sa croissance est rapide, sa peau fine, adhérente à la pulpe qui elle, a une chair verdâtre, très acide, juteuse et quasiment dépourvue de pépins. La floraison de *Citrus latifolia* a lieu de mai à septembre. Les plantes présentent des fleurs à cinq pétales de couleur blanche. Les fleurs s'organisent seules. Ces arbres produisent des baies qui sont attirantes **(Brickell, 2003)**. Excellente pour la santé reconnue pour ses nombreux effets bénéfiques. Elle est utilisée comme agent antibactérien et lutte contre les infections **(Economos & Clay, 1999)**, contre les troubles respiratoires, destinés à traiter les cicatrices. Ses propriétés désinfectantes permettent de nettoyer les coupures et blessures et protègent la peau. Ses propriétés antioxydantes peuvent aider à lutter contre les dommages des radicaux libres. D'autres propriétés thérapeutiques existent : elle est antimicrobienne, antifongique, anti-allergique et anti-inflammatoire **(Kummer et al., 2013 ; Jazet-Dongmo et al., 2002 ; Choi et al., 2000)**. Aussi il a de multiples usages en cuisine, non seulement le citron assaisonne bien de nombreux plats, mais encore, il surclasse les vinaigres pour les dyspeptiques. Il leur permet de mieux digérer les crudités. On l'utilise le zeste du citron pour parfumer la pâtisserie, les pains, les gâteaux, les boissons. Il peut aussi être employé en cuisine pour parfumer les plats, car Il contient les huiles essentielles du citron. Les citrons permettent de réaliser d'excellentes confitures, soit seuls, soit associés à d'autres fruits. En jus pour les marinades de poissons crus (thon, saumon, sardine...), mélangé à l'huile d'olive et au persil haché sur les poissons, en tarte meringuée, en fins quartiers pelés à vif dans les salades (fruits ou légumes), dans les sauces de salade. Additionné d'eau et de sucre, il compose la citronnade : une boisson rafraîchissante, de plus, on peut congeler le jus de citron, par exemple dans un bac à glaçons.

8.3. Modèle expérimental

De nombreux modèles animaux ont été utilisés pour étudier les effets des régimes sur le métabolisme du cholestérol. La grande majorité des études expérimentales est réalisée chez les rongeurs (rat et souris) **(Rees & Alcolado, 2005)**. Le rat est un modèle animal bien documenté. Son génome a été séquencé et il existe de nombreuses ressources disponibles en biologie moléculaire. Sa durée de vie courte permet de réaliser des études rapides. Le rat

Wistar est pris comme modèle car il est souvent utilisé dans les recherches physiologiques et métaboliques (**Russell & Proctor, 2006**).

Expérimentalement, l'hypercholestérolémie provoquée chez le rat Wistar par un apport alimentaire élevé en cholestérol (1%) pendant 8 semaines, entraîne une augmentation significative du cholestérol total (CT), C-LDL, C-VLDL et de la peroxydation lipidique, au niveau sérique, ainsi qu'une réduction du C-HDL (**Otunola et al., 2010**).

Chez le rat Wistar, **Wang et al., (2010)** ont montré que la consommation d'un régime supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire pendant un mois augmente le taux de CT, des triglycérides (TG) sérique et hépatique avec une inhibition de la synthèse de la l'hydroxyméthyl-glutaryl-Coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase), chez les rats hypercholestérolémiques, comparés à des rats normocholestérolémiques.

En effet, au sein du Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique (LNCM), le rat Wistar est toujours utilisé comme modèle animal pour étudier le diabète (**Taleb-Senouci et al., 2012 ; Boukortt et al., 2004**), l'hypercholestérolémie (**Benyahia-Mostefaoui et al., 2014 ; Hamza-Reguig et al., 2013 ; Louala et al., 2011 ; Bouderbala et al., 2009 ; Chenni et al., 2007**) et l'obésité (**Besbes et al., 2013 ; Chabane et al., 2013 ; Louala et al., 2013**).

MATERIEL & METHODES

1. Matériel végétal

Le citron vert (*Citrus latifolia*, Rutaceae) a été acheté dans un marché local à Oran (Algérie) au mois de mars 2012.

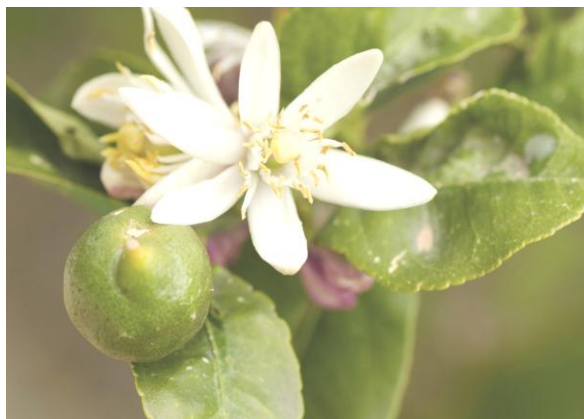


Fig. 7. Citron vert (*Citrus latifolia*)

1.1. Systématique de *Citrus latifolia*

Selon **Cronquist, (1982)**, la classification qu'occupe *Citrus latifolia* dans la systématique est la suivante:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus latifolia</i>

1.2. Préparation de l'extrait aqueux de l'écorce de *Citrus latifolia*

L'écorce (partie extérieure) de citron vert (*Citrus latifolia*) a été nettoyée, séchée puis finement broyée. 50 g de poudre ont été mélangés avec 500 mL d'eau distillée. Le mélange a été porté à frémissements pendant 30 min, puis filtré. La décoction obtenue a été congelée à -70°C, pour être ensuite lyophilisée (CHRIST, ALPHA 1-2 LD). Le rendement obtenu de l'extrait lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* (Ci) est de 18% (P:P).

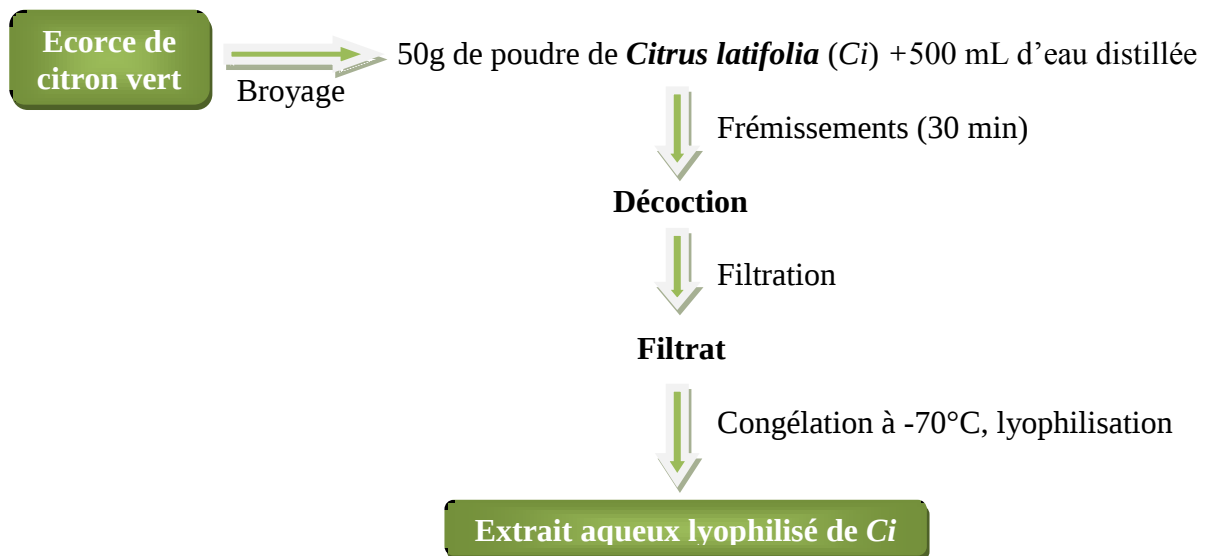


Fig. 8. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce du citron vert.

2. Matériel animal

La sardine (*Sardina pilchardus*) a été achetée dans un marché local à Oran entre les mois de décembre et février année 2012. Elle est ensuite transportée au laboratoire dans une enceinte isotherme de type glacière.



Fig. 9. Sardine commune (*Sardina pilchardus*)

2.1. Extraction des protéines de sardine

Les protéines de sardine (*Sardina pilchardus*) ont été extraites selon la technique de **Guillaume et al., (1999)** dont le principe général consiste à séparer l'eau et l'huile de la matière sèche (**Fig.10**). Les sardines sont éviscérées, débarrassées de la peau, des écailles et des arêtes puis lavées. Les filets ont été ensuite malaxés manuellement et placés dans une étuve (Tan STERIL, Italy) pour subir une cuisson pendant 20 min entre 80-85°C. À ce niveau, une séparation a lieu entre une phase solide (protéines coagulées) et une phase liquide (eau et huile). Le gâteau obtenu a été pressé, séché puis broyé. L'eau de presse a été laissée décanter

puis a été centrifugée (Eppendorf, centrifuge 5702, Germany) pour séparer l'huile. Le soluble a été ensuite incorporé au gâteau.

2.2. Délipidation de l'extrait protéique

La farine de sardine obtenue (protéines non délipidées) a été ensuite délipidée dans un extracteur de lipides (Soxhlet, Labo Tech LT. G6, Germany) avec de l'hexane (Biochem, chemopharma, UK), pendant 5 heures à 50°C.

2.3. Détermination de la teneur en azote de l'extrait protéique

La quantité de protéines obtenue après délipidation a été déterminée par un dosage d'azote selon la méthode de NESSLER. Il s'agit d'un dosage colorimétrique après minéralisation de 50 mg d'échantillon. Une gamme de référence est réalisée à partir d'une solution sulfate d'ammonium (Merck, Germany) à 100 μg d'azote. mL^{-1} . Le contenu en azote est multiplié par 6,25 pour déterminer la teneur en protéines. Les protéines extraites et délipidées sont purifiées à 92%.

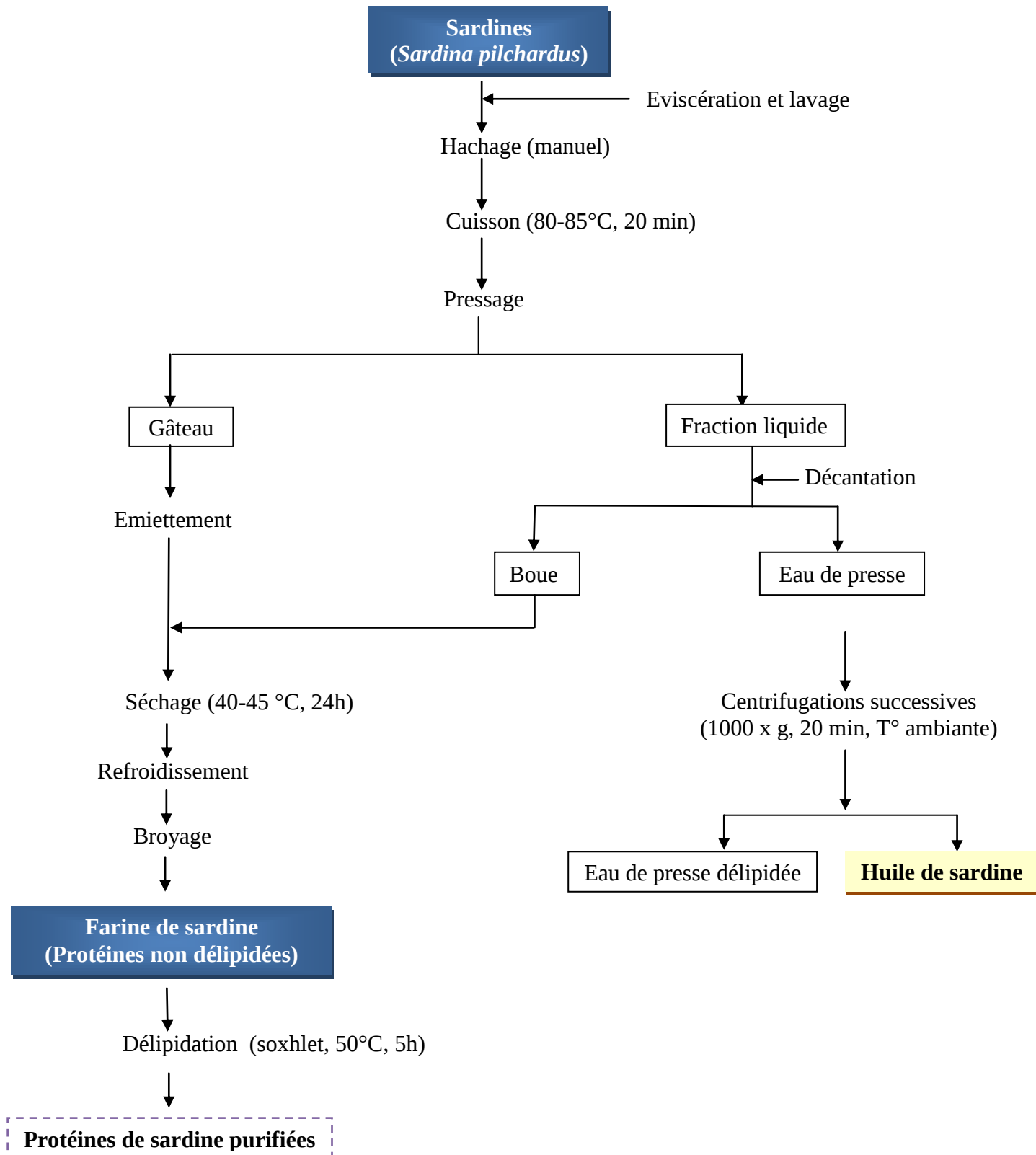


Fig. 10. Diagramme d'extraction et de purification des protéines de sardine
(Guillaume *et al.*, 1999)

3. Animaux et régimes

Des rats mâles de souche Wistar (Institut Pasteur, Alger, Algérie), pesant 170 ± 20 g et âgés de 10 semaines sont soumis pendant 15 jours à un régime semi-synthétique contenant 20% de caséine et supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique (Sigma-Aldrich Chemie, Germany). Après cette phase d'adaptation, les rats rendus hypercholestérolémiques (**HC**) (cholestérol total = $6,45 \pm 0,62$ mmol.L⁻¹ vs valeur usuelle chez le rat $<3,90$ mmol.L⁻¹) ont été divisés en 4 groupes homogènes de 10 rats chacun et consomment pendant 28 jours: soit un régime à 20% de protéines de sardine supplémenté avec 1% de cholestérol (**HC-Ps**), soit un régime à 20% de caséine supplémenté avec 1% de cholestérol et 1% d'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* (**HC-Ci**), soit un régime à 20% de protéines de sardine combinées à 1% d'extrait lyophilisé de l'écorce de *Ci* (**HC-Ps+Ci**), soit un régime à 20% de caséine enrichi en cholestérol (**HC**) qui sert de contrôle hypercholestérolémique (**Tableau IV**).

Les animaux sont placés individuellement dans des cages à métabolisme. La consommation alimentaire et le poids corporel des rats sont mesurés tous les jours. Les urines sont collectées quotidiennement durant la dernière semaine, du 21ème au 28ème jour de l'étude. Les urines sont recueillies sur un antiseptique (thymol/isopropanol à 10%), puis filtrées et conservées à 4°C. Les fèces débarrassées de toute nourriture sont séchées dans une étuve à 40°C, finement broyées et conservées à -20°C.

Les animaux sont maintenus dans une animalerie à la température de 24°C, avec un cycle circadien 12h jour/12h nuit et une hygrométrie de 50%. L'eau et la nourriture en poudre sont données à volonté. Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis (**Council of European Communities, 1987**).

4. Prélèvement du sang et des différents organes

A J28, après 12h de jeûne, les rats sont pesés et anesthésiés par injection intrapéritonéale d'une solution de pentobarbital sodique ($60 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$ de PC) (Coop. Pharmaceutique Française, 77000, Melun). Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale et centrifugé à $1000 \times g$, pendant 20 min à 4°C (Sigma, 4K10 Bioblock Scientific, Germany). Les érythrocytes sont immédiatement lavées avec du tampon PBS (Na_2HPO_4 : $1,44\text{g.L}^{-1}$, NaCl : 8g.L^{-1} , KCl : $0,2\text{g.L}^{-1}$, eau distillée qsp 50mL).

Les différents organes (foie, cœur, cerveau, tissu adipeux épидидymaire, rein et aorte) sont prélevés, rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0,9% (P:V), séchés et pesés.

Le plasma, les érythrocytes et les organes sont conservés à -70°C jusqu'à leur

utilisation.

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

Ingrédients	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Caséine ²	200	-	200	-
Protéines de sardine ³	-	200	-	200
Mélange d'huiles végétales ⁴	50	50	50	50
<i>Citrus latifolia</i> ⁵	-	-	10	10
Saccharose ⁶	40	40	40	40
Amidon de maïs ⁷	585	585	575	575
Cellulose ⁸	50	50	50	50
Mélange minéral ⁹	40	40	40	40
Mélange vitaminique ¹⁰	20	20	20	20
Cholestérol ¹¹	10	10	10	10
Acide cholique ¹²	5	5	5	5

¹Les régimes sont isoénergétiques (17,8 MJ/Kg de régime), donnés sous forme de poudre et préparés au Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique (LNCM).

^{2,8}Prolabo-Fontenay sous bois, France.

³Protéines de sardine extraites et purifiées au LNCM.

⁴Produits du commerce : Huile d'olive (15% AGS, 75% AGMI, 10% AGPI avec 9% oméga 6 et 1% oméga 3) Ifri olive, Bejaia, Algérie. Huile de noix (11% AGS, 18% AGMI, 71% AGPI avec 58% oméga 6 et 13% Oméga 3) Lesieur, France. Huile de tournesol (13% AGS, 22% AGMI, 65% AGPI :65% oméga 6) Cevital, SPA, Bejaia, Algérie.

⁵*Citrus latifolia* extraite au LNCM.

⁶Sucre cristallisé, Cevital, Algérie.

⁷ONAB, Sidi Bel Abbès, Algérie.

⁹UAR 205 B (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 H₂SO₄, H₂O, 98 ; CuSO₄, 5H₂O, 20 ; ZnSO₄, 80 ; CuSO₄, 80 ; CuSO₄ 7H₂O ; KI, 32.

¹⁰UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), Mélange vitaminique (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 (PAB), 180 ; Biotine, 0,6 ; Cellulose, qsp, 20g.

^{11,12}Sigma-Aldrich Chemie, Germany.

5. Analyses biochimiques

5.1. Détermination des teneurs plasmatiques en albumine

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

5.2. Détermination des teneurs plasmatiques et urinaires en urée, acide urique et créatinine

L'urée, l'acide urique et la créatinine plasmatiques et urinaires sont dosés par des méthodes colorimétriques (kits Biocon, Germany).

5.2.1. Dosage de l'urée

L'urée présente dans l'échantillon donne en présence d'uréase et de nitroprussiate un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 600 \text{ nm}$.

5.2.2. Dosage de l'acide urique

L'indicateur colorimétrique de l'acide urique est la quinonéimine formé à partir du 4-amino-antipyrine et de l'hydroxy-benzène-sulfonique par le peroxyde d'hydrogène sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 510 \text{ nm}$.

5.2.3. Dosage de la créatinine

En milieu alcalin, la créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate pour donner un complexe coloré. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500 \text{ nm}$.

5.3. Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques

Les transaminases sont des enzymes présentes à l'intérieur des cellules, en particulier au niveau du foie et des muscles. Elles interviennent dans une multitude de réactions biologiques. On distingue deux types de transaminases :

- L'alanine aminotransférase (ALT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate-transaminase (GPT). L'ALT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' α -cétooglutarate pour donner du L-glutamate. La détermination de l'activité de l'ALT par la méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes :

$\text{L-alanine} + \alpha \text{ cétooglutarate} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{pyruvate} + \text{L-glutamate}$

$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{L-lactate} + \text{NAD}^+$

LDH= lactate déshydrogénase La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'ALAT. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 340 \text{ nm}$.

- L'aspartate aminotransférase (AST) est une transaminase également connue sous le nom de glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La détermination de l'activité de l'AST par la méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes :

L-aspartate + alpha cétooglutarate $\rightarrow$ AST $\rightarrow$ oxaloacétate + L-glutamate

oxaloacétate + NADH + H⁺ $\rightarrow$ MDH $\rightarrow$ L-malate + NAD⁺

MDH= Malate déshydrogénase

Le diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'AST. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 340$ nm.

5.4. Détermination des teneurs en protéines totales du plasma et des différents organes

Les protéines totales plasmatiques et des différents tissus (foie, cœur, cerveau, tissu adipeux épидidymaire, rein et aorte) sont dosées selon la méthode de **Lowry *et al.*, (1951)**. Le sérum albumine bovine (SAB) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) est utilisée pour établir la courbe de référence. Le dosage des protéines au niveau tissulaire est effectué sur des homogénats préparés dans du KCl à 1,25% à raison de 1g de tissu dans 0,9 mL de KCl. En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu²⁺ et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin. Il se développe alors une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines contenue dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=750$ nm.

5.5. Estimation des lipides ingérés, fécaux et digestibilité des lipides

La teneur en lipides des régimes, du foie et des fèces est déterminée selon la technique de **Delsal (1944)**. Les lipides sont extraits par un mélange chloroforme : méthanol (4:1, V:V). Les solvants sont évaporés sous vide à 48°C (Rotavapor Büchi). Après séchage du ballon, l'extrait lipidique est pesé plusieurs fois, jusqu'à avoir un poids constant. La quantité de lipides totaux de l'échantillon exprimé en % est déterminée méthode pondérale (différence entre le poids final du ballon et le poids initial). Les lipides sont repris dans 10 mL d'isopropanol pour le dosage des différents constituants lipidiques.

Après récupération des lipides, le cholestérol ingéré, hépatique et fécal est mesuré par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biocon, Germany). Le cholestérol présent dans

l'échantillon donne après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'indicateur colorimétrique est la quinonéimine formé à partir du 4-amino-antipyrine et le phénol par le peroxyde d'hydrogène sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

5.5.1. Dosage du cholestérol total, du cholestérol libre et des esters de cholestérol

Le cholestérol total (CT) du plasma et de l'extrait lipidique hépatique sont déterminés par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany).

Les teneurs en cholestérol libre (CL) sont dosées par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit CHOP-PAP, Biolabo, France). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

Le cholestérol estérifié (CE) est obtenu par différence entre le CT et le CL. Les esters de cholestérol (EC) correspondent au cholestérol estérifié multiplié par 1,67 (poids moléculaire moyen d'un acide gras qui estérifie le cholestérol).

5.5.2. Dosages des triglycérides

Les triglycérides (TG) du plasma et de l'extrait lipidique hépatique sont déterminés par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). Les TG présents dans l'échantillon donnent après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'indicateur, la quinonéimine est formée à partir du peroxyde d'hydrogène et du 4-amino-antipyrine et du chlorophénol sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

5.5.3. Détermination des teneurs en phospholipides

Les teneurs en phospholipides (PL) du plasma et de l'extrait lipidique hépatique sont déterminées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Cypress Diagnostics, Belgium). Les phospholipides sont hydrolysés par la phospholipase D. La choline libérée est ensuite oxydée par l'oxydase de choline (CHO) en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier oxyde le phénol et le 4-amino-antipyrine grâce à la peroxydase (POD). La lecture s'effectue à une longueur d'onde $\lambda = 505$ nm.

6. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines et analyse de leurs constituants

6.1. Séparation des lipoprotéines de faible et de haute densité

Les lipoprotéines VLDL et LDL+HDL₁ sont séparées selon leur densité par la méthode de précipitation décrite par **Burstein et al., (1970)** qui utilise du phosphotungstate (Sigma Chemical Company, France) + MgCl₂ (Merck) pour séparer les lipoprotéines de faible densité VLDL ($d < 1,006$) et LDL-HDL₁ ($1,006 < d < 1,075$).

Les lipoprotéines de haute densité HDL₂ ($1,085 < d < 1,121$) et HDL₃ ($1,121 < d < 1,210$) sont précipitées par du sulfate de dextran 500000 (Sigma Chemical Company, St Louis Po Box 14508) + MgCl₂ selon la méthode de **Burstein et al., (1989)**.

Cette méthode a été validée par ultracentrifugation selon la méthode de **Havel et al., (1955)**. Toutes les centrifugations se font à température ambiante (20°C), à 1000 x g, pendant 30 min.

Afin de minimiser la contamination avec les protéines plasmatiques, les différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL+HDL₁, HDL₂ et HDL₃) sont purifiées par lavages successifs. Les VLDL et les LDL-HDL₁ sont solubilisées dans une solution contenant du citrate trisodique et du NaCl, 0,01M, puis dans du tampon Tris salin (NaCl 0,14M, Tris 0,05M, EDTA Na₂ 0,1%, pH 7,6).

La solution est ensuite précipitée avec le sulfate de dextran 0,05% et le MgCl₂ 0,05M, incubée et centrifugée pour obtenir des surnageants qui correspondent aux fractions VLDL et LDL+HDL₁ purifiées.

Les HDL₂ sont dissoutes dans la solution de solubilisation puis dans le tampon Tris salin. Elles sont reprécipitées par addition de MgCl₂ 2M. Après centrifugation, le précipité est solubilisé dans de l'oxalate de potassium 0,5M et le surnageant contenant les HDL₂ est obtenu après une deuxième centrifugation. Le précipité contenant les HDL₃ est solubilisé dans la solution de solubilisation puis centrifugé pour avoir les HDL₃ pures.

6.2. Teneurs et composition des différents constituants des lipoprotéines

Les contenus en apolipoprotéines (apos) et en lipides (cholestérol total et libre, esters de cholestérol, triglycérides et phospholipides) des VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ sont déterminés selon les méthodes décrites précédemment.

La masse de chaque fraction de lipoprotéine correspond à la somme de leurs contenus en apos, CL, EC, TG et PL et est exprimée en g.L⁻¹.

6.3. Dosage des apolipoprotéines (Apo AI et Apo B) plasmatiques

La concentration plasmatique en apo AI et en apo B est déterminée par turbidimétrie (Kit Spinreact, Spain). L'addition d'anticorps anti-apo AI/apo B à un échantillon contenant des apo AI et B conduit à la formation d'un complexe qui précipite entraînant une variation de l'absorbance proportionnelle à la teneur en apolipoprotéines présentes dans l'échantillon, qui peut être calculée à l'aide d'un étalon de concentration connue.

Quand des anticorps anti-apo AI/apo B sont ajoutés à un échantillon contenant des apo AI et B, ils forment un complexe qui précipite entraînant un changement de l'absorbance à $\lambda=510$ nm, proportionnel à la teneur de l'échantillon en ces apolipoprotéines et qui peut être calculée à l'aide d'un étalon de concentration connue.

6.4. Détermination de l'activité de la lécithine:cholestérol acyltransférase (LCAT)

L'activité de la LCAT (enzyme responsable de la conversion du cholestérol libre en cholestérol estérifié) est mesurée par une méthode endogène (**Chen & Lacko, 1986**) après 4 h d'incubation à 37°C, à partir d'un acide gras et de la lécithine, principalement dans les lipoprotéines de haute densité (HDL). Le CL est dosé par la méthode citée précédemment.

L'activité de la LCAT est exprimée en nanomoles de cholestérol estérifié/h/mL de plasma. Elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité LCAT} = (\text{CL}_{t0 \text{ h}} - \text{CL}_{t4 \text{ h}})/4 \text{ h d'incubation}$$

7. Evaluation du statut redox

7.1. Mesure de la peroxydation lipidique des érythrocytes, des lipoprotéines et des différents tissus

Le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est une méthode de référence caractérisée par sa simplicité et sa sensibilité, elle permet la mise en évidence d'un éventuel stress oxydant. Le malondialdéhyde (MDA) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) est le principal marqueur de la détermination des radicaux libres.

7.1.1. TBARS des érythrocytes

Les teneurs en TBARS érythrocytaires sont déterminées par la méthode de **Quintanilha et al., (1982)**. A 1 mL d'érythrocytes dilués avec de l'eau distillée (1:1, V:V) sont ajoutés 2 mL de mélange réactionnel contenant de l'acide thiobarbiturique 0,017 mM et

du buthylhydroxy-toluène 3,36 μM . Le mélange est incubé pendant 15 min à 100°C. Après refroidissement dans un bain glacé et centrifugation 10 min à 1000 x g, l'absorbance du surnageant est mesurée à 535 nm. Le malondialdéhyde (MDA) est utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont exprimés en μmol de TBARS. mL^{-1} .

7.1.2. TBARS des lipoprotéines

La mesure de la peroxydation lipidique au niveau des différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃) est déterminée par le dosage des TBARS selon la technique de **Quitaniha et al., (1982)** décrite précédemment. Les teneurs en TBARS sont exprimées en $\mu\text{mol}.\text{mL}^{-1}$ de plasma.

7.1.3. TBARS tissulaires

Au niveau tissulaire, la mesure des TBARS est déterminée selon la méthode de **Ohkawa et al., (1979)**. 100 mg de tissu sont homogénéisés à l'ultraturax avec 0,9 mL de tampon KCl (1,15 %). A 0,2 mL d'homogénat sont ajoutés 0,2 mL de sodium dodécyl sulfate (SDS à 8,1 %), 1,5 mL d'acide acétique à 20 % (pH 3,5) et 1,5 mL d'une solution aqueuse d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,8 %). Le volume du mélange est ajusté à 4 mL avec de l'eau distillée et chauffé dans un bain-marie à 95°C pendant 60 min. Après refroidissement, 1 mL d'eau distillée et 5 mL d'un mélange *n*-butanol:pyridine (15:1, V:V) sont ajoutés. Après une agitation vigoureuse et centrifugation à 1000 x g pendant 10 min, l'absorbance de la phase supérieure (butanolique) est mesurée à 532 nm. Le MDA est utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont exprimés en mmol de TBARS. g^{-1} de tissu.

7.2. Détermination des teneurs en hydroperoxydes

Les concentrations en hydroperoxydes plasmatiques et tissulaires sont mesurées selon une méthode enzymatique (kit Cayman, USA). Cette méthode est basée sur une réaction d'oxydo-réduction avec les ions ferreux. Les hydroperoxydes sont très instables et réagissent facilement avec les ions ferreux pour produire des ions ferriques. Ces derniers sont détectés en utilisant l'ion thiocyanate comme chromogène. La lecture se fait par spectrophotométrie à 500 nm. Le taux d'hydroperoxydes est exprimé en $\mu\text{mol}.\text{L}^{-1}$ au niveau plasmatique et en $\text{mmol}.\text{g}^{-1}$ au niveau tissulaire.

7.3. Dosage des isoprostanes

Les teneurs en isoprostanes plasmatiques sont déterminées par une méthode immuno-enzymatique compétitive (kit ELISA, Oxford Biomedical Research, USA) pour déterminer les niveaux de 15-isoprostane F_{2T} dans 100 μL d'échantillons biologiques (plasma et urines).

Le 15-Isoprostane F_{2T} dans les échantillons ou les standards entre en compétition avec le 15-Isoprostane F_{2T} conjugué à la peroxydase de raifort (HRP) par des anticorps polyclonaux spécifiques au 15-isoprostane F_{2T} fixé sur les puits de la microplaque. La réaction de la HRP avec le substrat donne une couleur dont l'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 l'échantillon ou le standard. La lecture se fait à 450 nm à l'aide d'un lecteur Elisa (Anthos Zenyth 200 rt, USA).

7.4. Détermination de l'oxydation protéique

La mesure de la oxydation protéique est déterminée par le dosage des dérivés carbonyles plasmatiques et tissulaires selon la méthode de **Levine *et al.*, (1990)** en utilisant le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) (Sigma, France). Dans 2 tubes, sont déposés 1 mg de protéines (qsp 0,1 mL plasma). 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 (échantillon). L'incubation se fait pendant 1h, à température ambiante et à l'obscurité en agitant toutes les 10-15 min. 0,55 mL d'acide trichloracétique à 20% est ajouté dans chaque tube. Après agitation puis centrifugation à 11000 x g pendant 3 min à 20°C, le surnageant est éliminé et le culot (contenant le DNPH) 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 redissoutes dans 0,6 mL d'une solution de guanidine puis incubées pendant 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 pour obtenir les aldéhydes et les acétones et la différence d'absorbance entre le blanc et l'échantillon est calculé. Le calcul de la teneur en dérivés carbonylés se fait en utilisant le coefficient d'extinction molaire $\epsilon=22.000.M^{-1}.cm^{-1}$.

7.5. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires et tissulaires

7.5.1. Préparation des érythrocytes

Après centrifugation du sang à 1000 x g pendant 20 min à 4°C, le culot contenant les hématies est récupéré et lavé 2 fois. 2 mL d'hématies sont ajoutés à de l'eau distillée glacée (1:4, V:V) et la suspension obtenue est centrifugée à 1000 x g pendant 6 min à 4°C.

7.5.2. Préparation des homogénats tissulaires

Les homogénats tissulaires sont obtenus après addition de tampon phosphate 200 mM (pH 7,8) pour la détermination de la superoxyde dismutase (SOD), 0,12 mM (pH 7,2) pour la détermination de la glutathion peroxydase (GSH-Px) et de la glutathion réductase (GSSH-Red) et 50 mM (pH 7) pour le dosage de la catalase.

L'activité des enzymes antioxydantes est exprimée en U.g^{-1} de protéines au niveau des érythrocytes et en U.mg^{-1} de protéines au niveau des différents tissus.

7.5.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

L'activité de la SOD est mesurée en utilisant un chromogène, le nitrobleu tetrazolium afin de détecter les radicaux libres de la SOD générés, suite à l'action de la xanthine oxydase et l'hypoxanthine (Kit Cayman, USA). Cette méthode consiste à déterminer la capacité de l'enzyme à inhiber la réduction de l'anion superoxyde par du nitrobleu tetrazolium. Une unité de SOD est définie comme étant la quantité nécessaire à l'inhibition de 50% de la dismutation du radical superoxyde. Cette technique permet de mesurer les trois types de SOD (Cu/Zn, Mn, et Fe). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 560 \text{ nm}$.

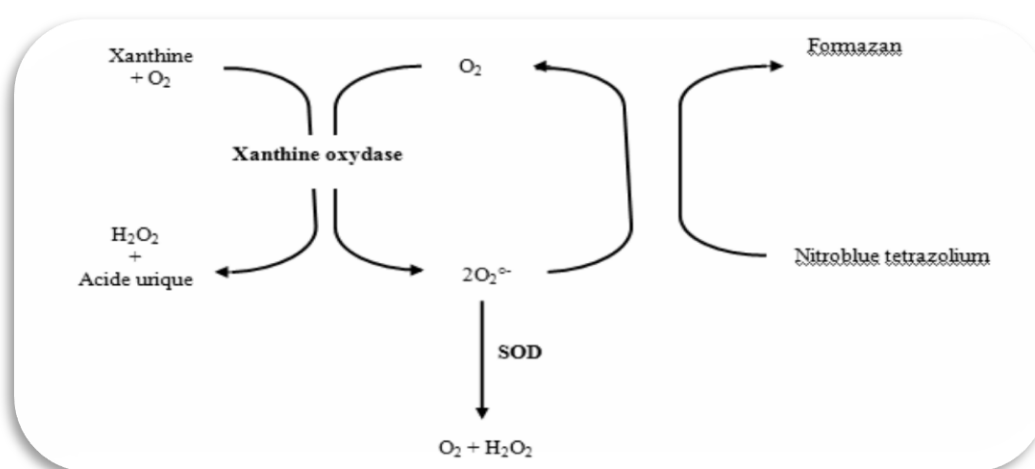
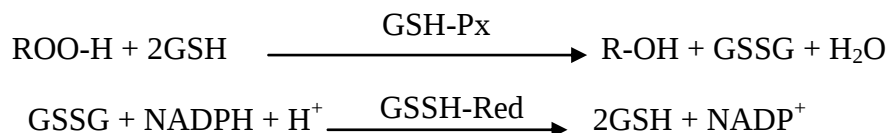


Fig. 11. Principe du dosage de l'activité enzymatique de la SOD

7.5.4. Activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px, EC 1.11.1.9)

L'activité de la GSH-Px est déterminée selon la méthode colorimétrique (Kit *Cayman*, USA). L'activité la GSH-Px est mesurée indirectement par une réaction couplée à la glutathion réductase (GRed). Le glutathion oxydé (GSSG), produit après réduction de l'hydroxyperoxyde par la GSH-Px est recyclé sous sa forme réduite par la GRed et le NADPH :



L'oxydation du NADPH en NADP^+ se traduit par une diminution de l'absorbance à $\lambda = 340 \text{ nm}$. Cette réduction est directement proportionnelle à l'activité de la GSH-Px de l'échantillon.

7.5.5. Activité de la glutathion réductase (GSSH-Red, EC 1.6.4.2)

L'activité de la GSSH-Red est déterminée par la mesure du taux d'oxydation du NADPH, en présence de glutathion oxydé par méthode colorimétrique (Kit *Cayman*, USA). L'unité d'activité de cette enzyme est définie comme la quantité d'enzyme capable d'oxyder 1 mmole de NADPH par minute. Cette activité est mesurée par rapport à l'activité d'une GSSH-Red de référence.



7.5.6. Activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

L'activité de la catalase est déterminée selon la méthode de **Aebi, (1974)**, par la mesure du taux de décomposition du H_2O_2 . Le dosage s'effectue sur 250 μl de surnageant bpour les érythrocytes et 250 μl d'homogénat tissulaire (100 mg de tissu broyé dans 0,9 ml de KCl). Deux cent cinquante μl d' H_2O_2 (30 mmol dans du tampon phosphate à 50 mmol.L^{-1}) et 250 μL de tampon phosphate sont rajoutés, la solution est ensuite agitée et incubée pendant 5 min. Après addition du Titanium sulfate (TiOSO_4), la lecture est réalisée par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 420 \text{ nm}$.

7.5.7. Activité de la paraoxonase 1 (PON1) (EC:3.1.8.1)

La paraoxonase (PON1) est une enzyme qui catalyse le clivage de l'acétate de phényle entraînant la formation de phénol. Le taux de formation de phényle est mesuré en suivant l'augmentation de l'absorbance à 270 nm à 25°C. A 10 µl d'échantillon est ajouté 1 mL de solution tampon 20 mM Tris/HCl, 10 mM acétate de phényle et 1 mM CaCl₂, pH = 8,0. L'activité de la PON1 est calculée par rapport au coefficient d'absorption molaire du phényle (1310 M⁻¹.cm⁻¹) selon la technique de **Kuo & La Du, (1995)**. Une unité d'activité de cette enzyme est égale à 1 µmol de phénol formée par minute et est exprimée en U.mL⁻¹ de plasma.

7.5.8. Détermination du monoxyde d'azote (NO) plasmatique et tissulaire

La détermination du NO se fait selon la méthode de **Cortas & Wakid, (1990)** en utilisant le réactif de Griess contenant le sulfanilamide et du *n*-naphtyléthylène diamine. Après déprotéinisation du plasma et des tissus avec une solution de sulfate de zinc, les nitrates (NO₃) sont réduits en nitrites (NO₂) en présence de cadmium, pendant une nuit, à 20°C et sous agitation. Après addition du réactif de Griess, les échantillons sont incubés pendant 20 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 540$ nm. Le nitrite de sodium (NaNO₂) est utilisé comme standard.

La teneur en NO est exprimée en µmol.l⁻¹ au niveau du plasma et en mmol.g⁻¹ de protéines au niveau des tissus.

8. Analyse Statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ erreur standard (M $\pm$ ES) de 10 rats par groupe. HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test de "Dunnett" à l'aide du logiciel **STATISTICA** (Version 10.0, Statsoft, USA). Les moyennes portant les indices (*, #, \$) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

RESULTATS

1. Croissance pondérale, nourriture ingérée, lipides ingérés et excrétés et digestibilité des lipides

Après 28 jours de consommation, le poids corporel est respectivement diminué de -17% et -13%, chez le groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* (HC-Ci) et les protéines de sardine combiné à l'extrait de Ci (HC-Ps+Ci), comparés au groupe non traité (HC) (**Fig. 12**). De même, la nourriture ingérée (exprimée en g/j/rat) est diminuée de -18% et -13%, respectivement chez ces mêmes groupes vs HC. Cependant, la consommation du régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine (HC-Ps) entraîne une croissance pondérale similaire au groupe HC (**Fig. 12**).

La consommation de lipides (exprimée en mg/j/rat) est semblable chez les quatre groupes de rats (**Tableau V**). De même, comparé au groupe HC, la supplémentation avec la protéine de sardine ou l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* ou la combinaison Ps+Ci) ne modifie pas l'excrétion fécale des lipides chez les groupes hypercholestérolémiques. Cependant, l'excrétion du cholestérol est 1,6-fois plus faible chez le groupe HC-Ps comparé à HC.

Par ailleurs, aucune différence significative n'est notée dans les valeurs de la digestibilité des lipides (exprimée en %) chez les quatre groupes d'animaux (**Tableau V**).

Tableau V. Lipides, cholestérol ingérés et excrétés ($\text{mg}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{rat}^{-1}$) et digestibilité des lipides (%)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Lipides ingérés	765,22 ± 36,02	815,11 ± 49,03	741,41 ± 33,12	810,20 ± 32,21
Lipides excrétés	68,06 ± 4,19	81,81 ± 18,26	61,07 ± 4,44	75,12 ± 6,14
Cholestérol ingéré	162,31 ± 5,22	169,22 ± 9,08	160,56 ± 5,47	158,55 ± 3,25
Cholestérol excrété	30,52 ± 6,11	18,09 ± 1,47*	29,46 ± 5,69	29,43 ± 3,56
Digestibilité des lipides¹	91,26 ± 2,26	90,46 ± 2,70	92,62 ± 4,28	91,49 ± 3,58

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC

¹**Digestibilité des lipides** = $[(\text{Lipides ingérés} - \text{lipides excrétés}) / \text{Lipides ingérés}] \times 100$

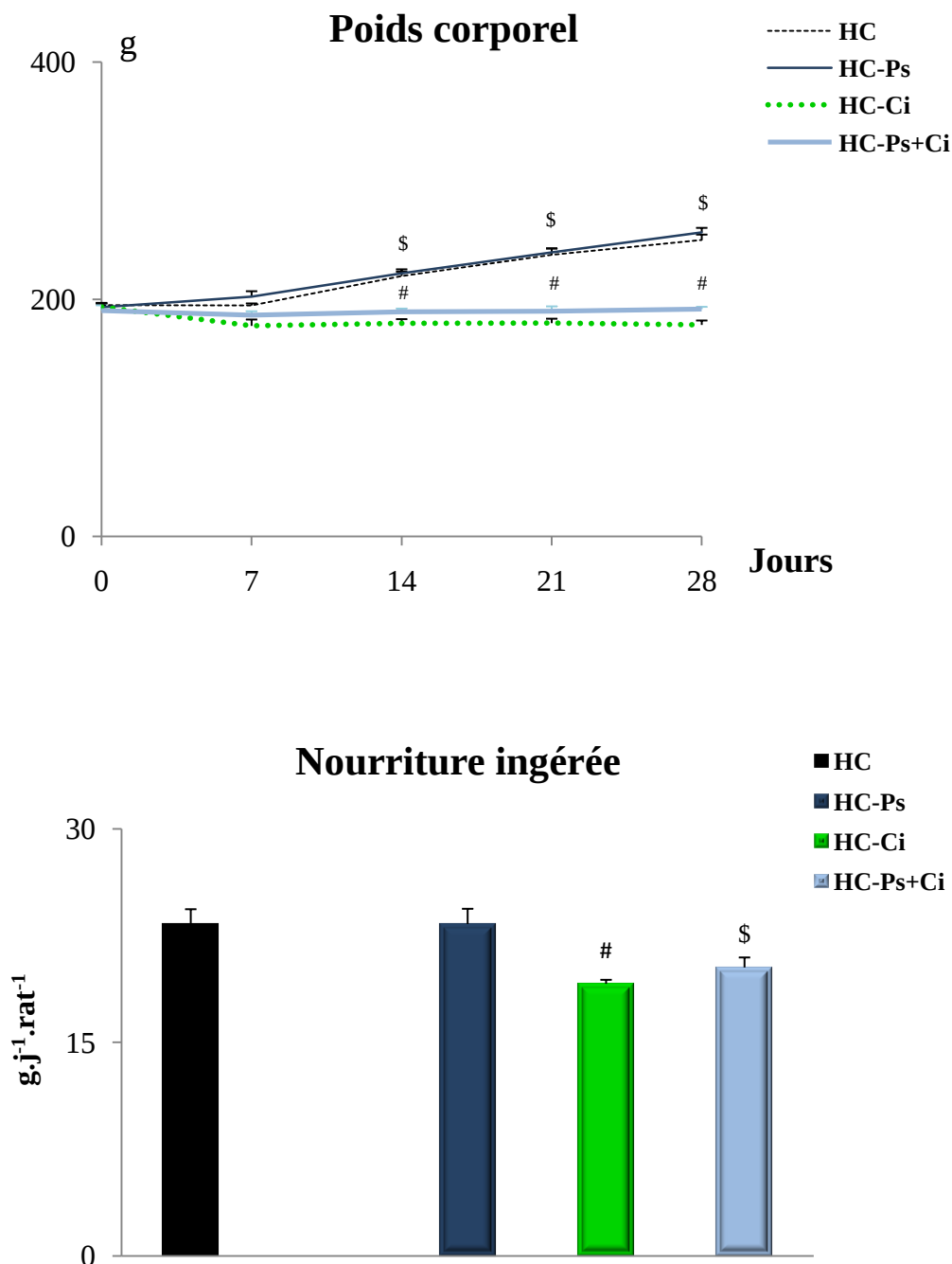


Fig. 12. Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

[#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

2. Valeurs absolues et relatives du poids des organes

Le poids absolu du foie et du tissu adipeux est respectivement diminué de -23% et -29%, chez le groupe consommant le régime enrichi en cholestérol et traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* (HC-Ci) comparé au groupe non traité (HC) (Tableau VI), alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau des autres organes.

Le poids relatif des organes (poids de l'organe/poids corporel x 100) renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier. Les résultats obtenus n'indiquent aucune différence significative entre les quatre groupes expérimentaux.

Tableau VI. Poids absolus (g) et relatifs (g.100g⁻¹ de PC) des différents organes

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Poids des organes				
Foie	10,18 ± 1,29	10,59 ± 1,56	7,81 ± 1,78 [#]	9,42 ± 1,91
Aorte	0,12 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,06 ± 0,03
Rein	1,79 ± 0,18	1,79 ± 0,21	1,45 ± 0,35	1,48 ± 0,13
Coeur	0,91 ± 0,06	0,89 ± 0,39	0,69 ± 0,22	0,77 ± 0,08
Tissu adipeux	2,90 ± 0,34	2,61 ± 0,14	2,06 ± 0,50 [#]	2,45 ± 0,62
Poids relatif des organes				
Foie	4,07 ± 0,45	4,13 ± 0,57	3,91 ± 0,38	4,28 ± 0,83
Aorte	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Rein	0,79 ± 0,26	0,80 ± 0,28	0,75 ± 0,25	0,72 ± 0,20
Coeur	0,34 ± 0,04	0,35 ± 0,03	0,33 ± 0,04	0,33 ± 0,04
Tissu adipeux	1,14 ± 0,34	1,15 ± 0,32	0,98 ± 0,22	1,04 ± 0,22

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

[#]HC-Ci vs HC

3. Paramètres biochimiques

3.1. Teneurs plasmatiques et urinaires en urée et créatinine (Tableau VII)

Chez le groupe HC-*Ps* comparé au groupe HC, les teneurs plasmatiques en créatinine sont 1,4-fois plus élevées. Inversement, chez le groupe HC-*Ci*, ces valeurs sont significativement réduites ($P < 0,05$). Cependant, la concentration en urée plasmatique est similaire chez les quatre groupes de rats hypercholestérolémiques.

Au niveau urinaire, les concentrations en créatinine sont respectivement 1,5- et 1,6-fois plus faibles chez les groupes HC-*Ps* et HC-*Ci* comparés au groupe HC. En revanche, les teneurs en urée ne sont pas influencées par les différents traitements.

Tableau VII. Teneurs plasmatiques et urinaires en urée et en créatinine (mmol.L⁻¹)

	HC	HC- <i>Ps</i>	HC- <i>Ci</i>	HC- <i>Ps</i> + <i>Ci</i>
Urée				
Plasma	0,90 ± 0,10	1,12 ± 0,12	0,92 ± 0,09	0,91 ± 0,10
Urine	1,20 ± 0,11	0,91 ± 0,09	1,21 ± 0,20	1,10 ± 0,01
Créatinine				
Plasma	0,55 ± 0,05	0,76 ± 0,12*	0,36 ± 0,08 [#]	0,58 ± 0,08
Urine	0,81 ± 0,15	0,55 ± 0,08*	0,51 ± 0,18 [#]	0,49 ± 0,06

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-*Ps*: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-*Ci*: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-*Ps*+*Ci*: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-*Ps* vs HC, [#]HC-*Ci* vs HC

3.2. Teneurs plasmatiques en albumine, acide urique et activités des transaminases (Tableau VIII)

Les teneurs plasmatiques en albumine sont respectivement 1,8- et 1,6-fois plus élevées chez le groupe HC-*Ps* et HC-*Ps*+*Ci* comparé au groupe HC. De même, chez le groupe HC-*Ps* comparé au groupe HC, les concentrations plasmatiques en acide urique sont 1,5-fois plus élevées, alors que chez le groupe HC-*Ci* ces valeurs sont 1,4- fois plus faibles comparées à celles du groupe HC.

Les activités plasmatiques de la glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT), connue sous le nom de l'aspartate aminotransférase (ASAT ou AST) et de la glutamate-pyruvate-transaminase (GPT), connue sous le nom de l'alanine aminotransférase (ALAT ou AST) sont respectivement diminuées de -20% et -35% chez le groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait de *Citrus latifolia* par rapport au groupe non traité.

Tableau VIII. Teneurs plasmatiques en albumine et acide urique et activités enzymatiques des transaminases

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Albumine (g.L⁻¹)	14,03 ± 3,01	25,84 ± 7,01 [*]	13,88 ± 2,98	23,22 ± 4,21 ^{\$}
Acide urique (mmol.L⁻¹)	0,27 ± 0,07	0,41 ± 0,04 [*]	0,19 ± 0,04 [#]	0,29 ± 0,02
ASAT (UI.L⁻¹)	69,11 ± 5,12	73,25 ± 4,12	55,32 ± 0,05 [#]	64,33 ± 0,12
ALAT (UI.L⁻¹)	49,25 ± 0,05	47,28 ± 0,09	32,11 ± 0,01 [#]	48,56 ± 0,05

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

3.3. Teneurs en lipides totaux et en protéines totales du foie et du plasma

Au niveau hépatique, les teneurs en lipides totaux sont significativement diminuées chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci comparés au groupe HC ($P < 0,05$). De même, les concentrations en lipides totaux plasmatiques sont réduites de -41%, -40% et -55% chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci vs HC, respectivement (**Tableau IX**).

Cependant, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs hépatiques en protéines totales chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci comparés à HC. Toutefois, chez le groupe HC-Ci vs HC, les teneurs plasmatiques en protéines totales sont diminuées de -27%.

Tableau IX. Teneurs hépatiques et plasmatiques en protéines et en lipides totaux.

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Protéines totales				
Foie (mg.g ⁻¹)	162,60 ± 5,37	178,40 ± 8,44	154,20 ± 1,79	168,42 ± 3,11
Plasma (g.L ⁻¹)	75,73 ± 11,51	76,72 ± 11,02	55,41 ± 9,33 [#]	73,63 ± 10,78
Lipides totaux				
Foie (μmol.g ⁻¹)	308,90 ± 0,55	209,04 ± 8,11*	203,2 ± 8,41 [#]	142,34 ± 3,12 ^{\$}
Plasma (mmol.L ⁻¹)	9,40 ± 0,39	5,51 ± 0,64*	5,63 ± 0,41 [#]	4,21 ± 0,34 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

3.4. Teneurs en différents lipides hépatiques et plasmatiques (Fig. 13)

Le traitement des rats hypercholestérolémiques avec la protéine de sardine, l'extrait de l'écorce de *Ci* ou la combinaison des deux n'induit, au niveau du foie, aucune différence significative dans les teneurs en esters de cholestérol (EC). A l'inverse, il réduit les concentrations en phospholipides (PL) de -53%, -57% et -69%, respectivement chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci comparé au groupe HC. Par ailleurs, les contenus en triglycérides (TG) sont similaires chez les groupes de rats consommant la protéine de sardine ou l'extrait de l'écorce de *Ci*, alors qu'ils sont réduits de -48% chez le groupe HC-Ps+Ci vs HC. Cependant, les teneurs en cholestérol libre (CL) sont 1,4-fois plus élevées chez le groupe HC-Ps comparé au groupe HC.

Au niveau du plasma, les teneurs en EC, PL et TG sont diminuées significativement chez les rats traités vs non traités ($p < 0,05$), alors que les teneurs en cholestérol libre (CL) sont 1,8-fois plus élevées chez le groupe HC-Ci comparé au groupe HC.

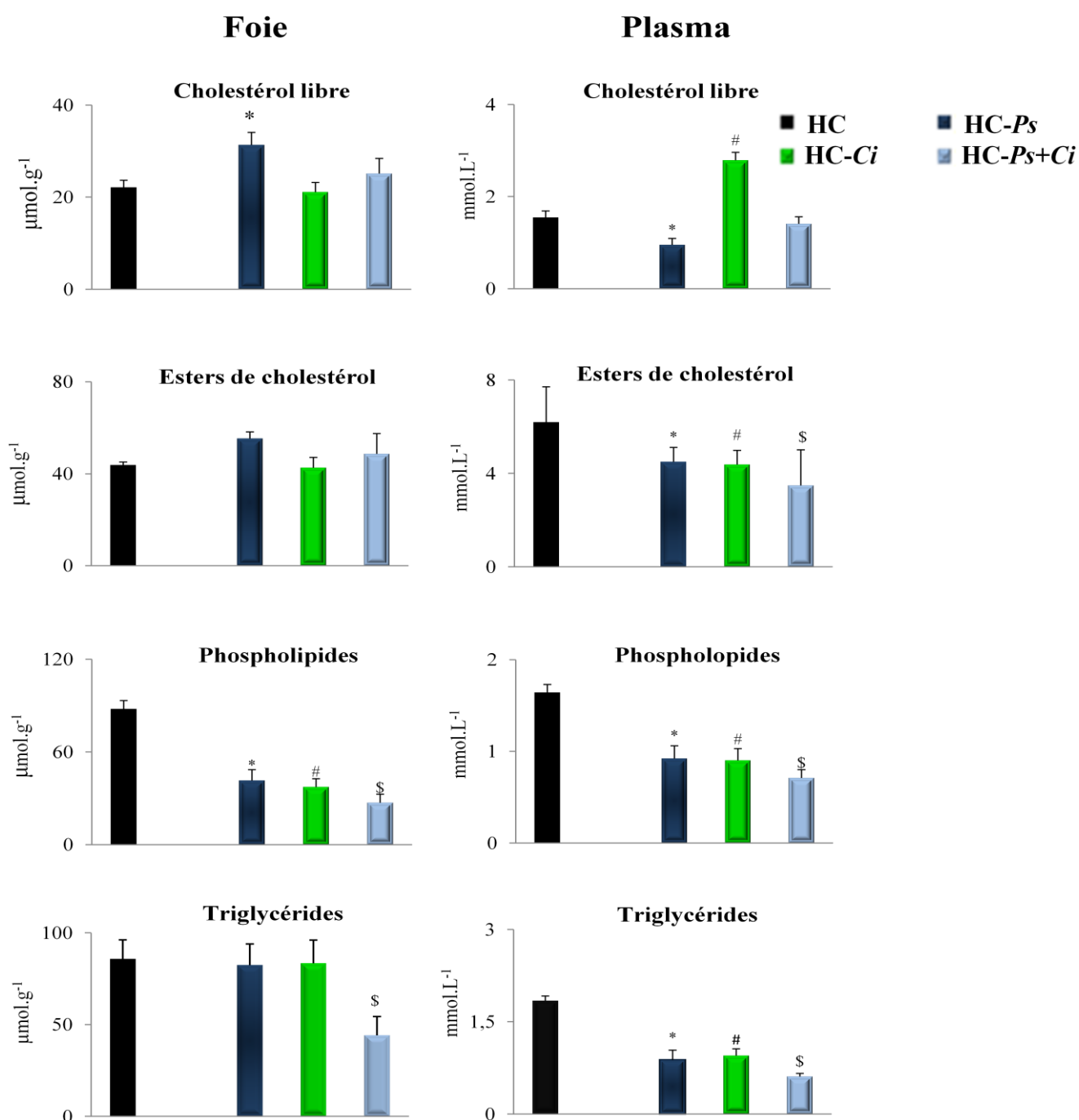


Fig. 13. Teneurs en différents lipides du foie et du plasma.

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, #HC-Ci vs HC, \$HC-Ps+Ci vs HC

3.5. Cholestérolémie et sa répartition entre les différentes fractions de lipoprotéines (Tableau X)

Après 28 jours de consommation alimentaire, les teneurs plasmatiques en cholestérol total (CT) sont significativement diminuées chez les groupes traités (HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*) comparés au groupe non traité (HC) ($P<0,05$).

Comparés au régime hypercholestérolémique, les régimes hypercholestérolémiques supplémentés avec les protéines de sardine (HC-*Ps*), l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Ci* (HC-*Ci*) ou les protéines de sardine combinées à l'extrait de *Ci* (HC-*Ps+Ci*) entraînent une diminution des teneurs en cholestérol des VLDL (-73%,-78% et -79%, respectivement) et des LDL-HDL₁ (-74%,-79% et -85%, respectivement). Cependant, les teneurs en C-HDL₂ et en C-HDL₃ sont augmentées (+69%, +37% et +48% pour le C-HDL₂ et +30%, +44% et +43% pour le C-HDL₃) chez HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, respectivement. De plus, chez les groupes traités, le transport du CT se fait essentiellement par la fraction HDL, et plus particulièrement par les HDL₂, (40%, 36% et 40% chez HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, respectivement), alors que chez le groupe non traité, le cholestérol est essentiellement porté par les LDL-HDL₁ (50%).

Par ailleurs, la plus faible part de cholestérol est portée par les VLDL (10%, 9% et 10% chez HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, respectivement), alors que la proportion du cholestérol porté par les HDL₃ est de 28%, 35% et 36%, respectivement chez les groupes traités et seulement de 13%, chez le groupe non traité.

3.6. Triglycéridémie et sa répartition entre les différentes fractions de lipoprotéines (Tableau XI)

Au niveau du plasma, les teneurs en triglycérides (TG) sont diminuées significativement chez les rats traités vs non traités ($P<0,05$). En effet, chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* comparés au groupe HC, les teneurs en TG des VLDL, des LDL-HDL₁, des HDL₂ et des HDL₃ sont significativement réduites ($P<0,05$).

Tableau X. Concentrations en cholestérol total (CT) plasmatique et sa répartition au niveau des lipoprotéines (mmol.L⁻¹)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
CT plasma	5,93 ± 0,22	3,69 ± 0,34*	3,76 ± 0,17 [#]	2,88 ± 0,20 ^{\$}
C-VLDL	1,36 ± 0,03 (23%)	0,37 ± 0,05* (10%)	0,30 ± 0,08 [#] (9%)	0,29 ± 0,02 ^{\$} (10%)
C-LDL-HDL₁	2,96 ± 0,03 (50%)	0,77 ± 0,06* (22%)	0,62 ± 0,03 [#] (20%)	0,43 ± 0,05 ^{\$} (14%)
C-HDL₂	0,83 ± 0,03 (14%)	1,40 ± 0,05* (40%)	1,14 ± 0,12 [#] (36%)	1,23 ± 0,16 ^{\$} (40%)
C-HDL₃	0,77 ± 0,04 (13%)	1,00 ± 0,07* (28%)	1,11 ± 0,10 [#] (35%)	1,10 ± 0,12 ^{\$} (36%)

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

La répartition des TG entre les différentes fractions de lipoprotéines montre que la plus grande part est portée par les VLDL chez les quatre groupes de rats. En effet, elle représente 38%, 34% et 49%, respectivement chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci et 33% chez le groupe non traité. Cependant, les TG portés par les LDL-HDL₁ représentent 21%, 11% et 15%, respectivement chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci vs 14% chez le groupe HC. Par ailleurs, la part des TG dans les HDL₂ et les HDL₃ représente respectivement 22% et 19% chez le groupe HC-Ps, 30% et 25% chez le groupe HC-Ci et 22% et 14% chez le groupe HC-Ps+Ci, alors qu'elle est de 29% et 24%, respectivement chez le groupe HC.

Tableau XI. Teneurs en triglycérides plasmatiques (TG) et leur répartition au niveau des lipoprotéines (mmol.L⁻¹).

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
TG	1,84 ± 0,08	0,88 ± 0,16*	0,95 ± 0,11 [#]	0,61 ± 0,05 ^{\$}
TG-VLDL	0,61 ± 0,05 (33%)	0,33 ± 0,03* (38%)	0,32 ± 0,02 [#] (34%)	0,29 ± 0,02 ^{\$} (49%)
TG-LDL-HDL₁	0,26 ± 0,01 (14%)	0,18 ± 0,01* (21%)	0,10 ± 0,02 [#] (11%)	0,09 ± 0,03 ^{\$} (15%)
TG-HDL₂	0,54 ± 0,02 (29%)	0,19 ± 0,01* (22%)	0,28 ± 0,09 [#] (30%)	0,13 ± 0,08 ^{\$} (22%)
TG-HDL₃	0,43 ± 0,01 (24%)	0,16 ± 0,01* (19%)	0,23 ± 0,07 [#] (25%)	0,08 ± 0,001 ^{\$} (14%)

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

4. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des lipoprotéines plasmatiques

4.1. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL

La masse des VLDL (exprimée en g.L^{-1}) qui représente la somme du contenu en apolipoprotéines (apos), cholestérol libre (CL), esters de cholestérol (EC), triglycérides (TG) et PL (phospholipides) est significativement diminuée chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* comparés au groupe HC (**Fig. 14**). En effet, les teneurs en TG sont 1,8-, 1,9- et 2,1-fois plus faibles, respectivement chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* vs HC. De même, les contenus en CL et en EC sont réduits (-39%, -36% et -51% pour le CL et -38%, -37% et -53% pour les EC), alors que celui des PL est 1,3-, 1,2- et 1,4-fois plus élevé.

Cependant, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en apolipoprotéines chez les quatre groupes de rats.

4.2. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL₁

Chez le rat hypercholestérolémique traité avec la protéine de sardine, l'extrait de *Ci* et la combinaison *Ps+Ci*, la masse des LDL-HDL₁ est respectivement 1,4-, 1,5- et 1,7-fois plus faible comparée à celle des non traités (**Fig. 15**). Cette diminution est concomitante avec celle des contenus en CL (-38%, -37% et -51%, respectivement), en EC (-39%, -36% et -52%, respectivement) et en TG (-31%, -61% et -65%, respectivement), alors qu'aucune différence significative n'est observée dans les teneurs en apos et en PL chez les quatre groupes de rats.

VLDL

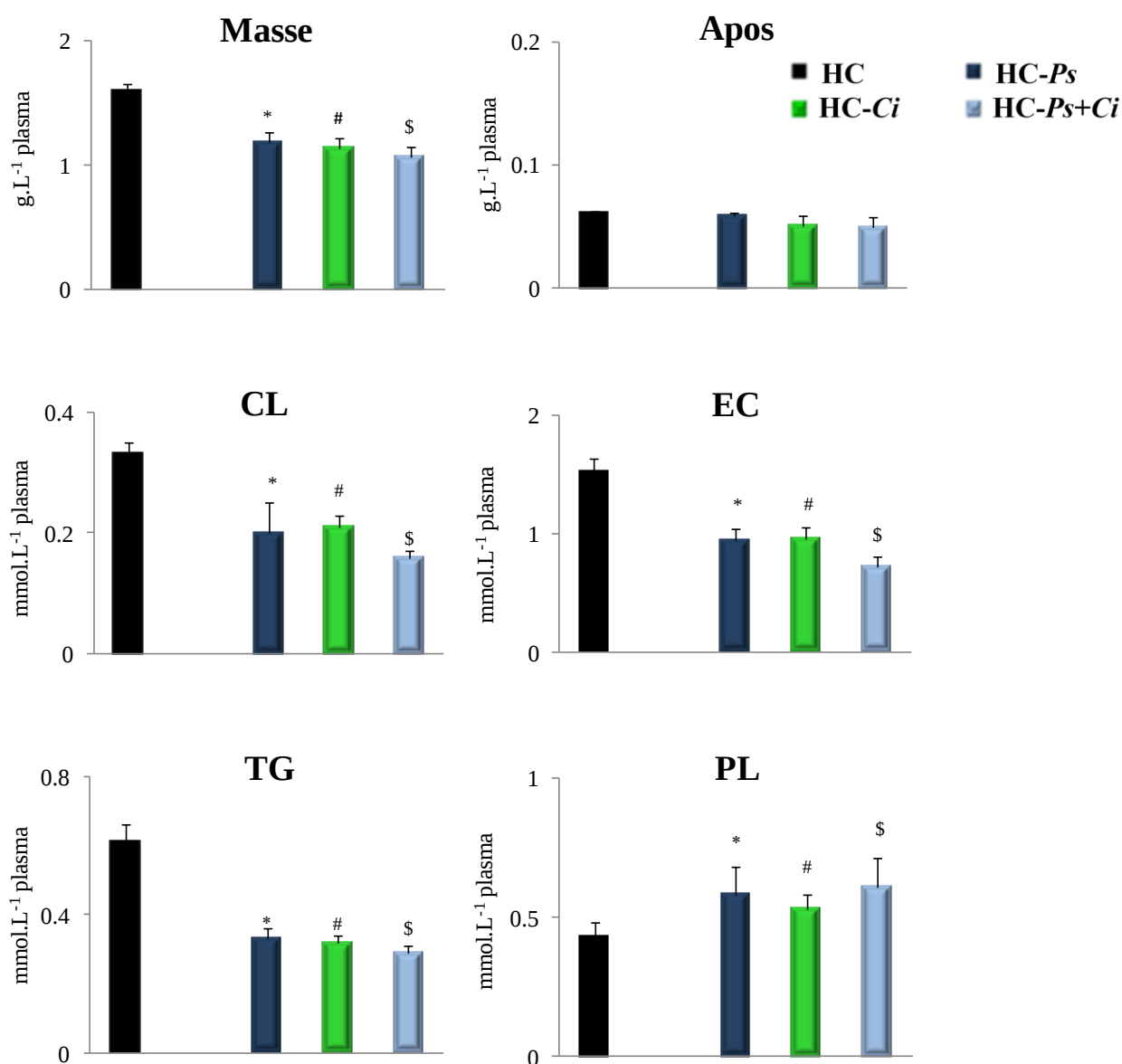


Fig. 14. Teneurs et composition des VLDL

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, HC-Ps: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, HC-Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, HC-Ps+Ci: régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, #HC-Ci vs HC, \$HC-Ps+Ci vs HC

LDL

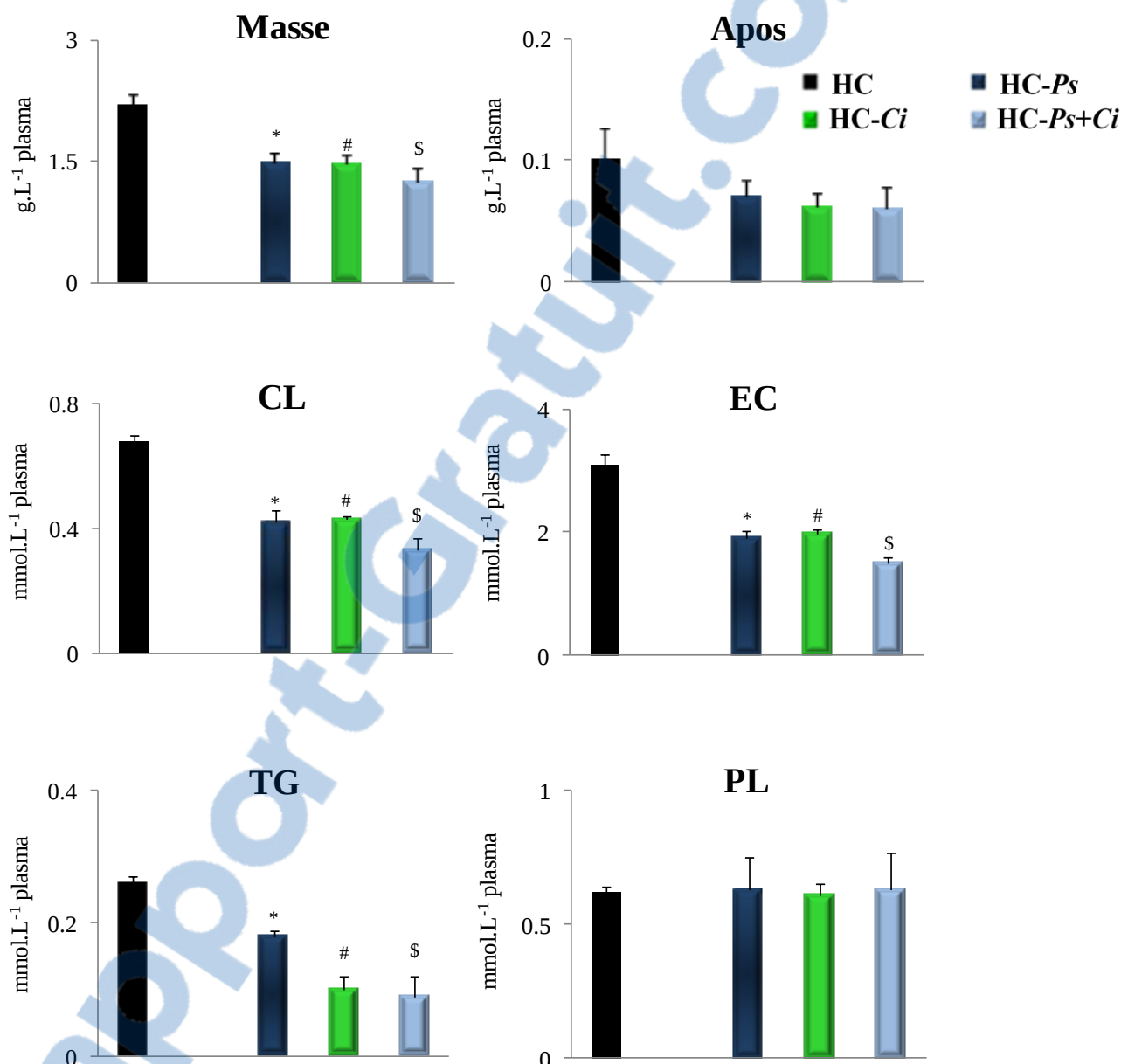


Fig. 15. Teneurs et composition des LDL

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, #HC-Ci vs HC, \$HC-Ps+Ci vs HC

4.3. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₂

Quantitativement, la masse des HDL₂ est respectivement 1,2-, 1,1- et 1,2-fois plus faible chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* par rapport au groupe HC (**Fig. 16**). Qualitativement, chez HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* vs HC, les contenus en esters de cholestérol (EC) des HDL₂ sont augmentés de +14%, +17% et +12%, respectivement. Cependant, les valeurs en TG et en CL sont significativement diminuées ($P<0,05$). Inversement, les teneurs des PL sont 1,4, 1,6- et 1,5-fois plus élevées, respectivement. Toutefois, les contenus en apos sont similaires chez les quatre groupes expérimentaux.

4.4. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₃

La masse des HDL₃ est respectivement 1,5-, 1,6- et 2,1-fois plus faible chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* comparée à celle du groupe HC (**Fig. 17**). En effet, les contenus en cholestérol libre (CL) des HDL₃ sont réduits de -40% et -35% chez les groupes HC-*Ps* et HC-*Ci* vs HC. De plus, les valeurs des PL sont diminuées de -29%, -44% et -28%, respectivement chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* comparés au groupe HC. De même, les teneurs en TG et en EC sont significativement diminuées ($P<0,05$). Aucune différence significative n'est retrouvée dans les contenus en apos chez les quatre groupes de rats.

HDL₂

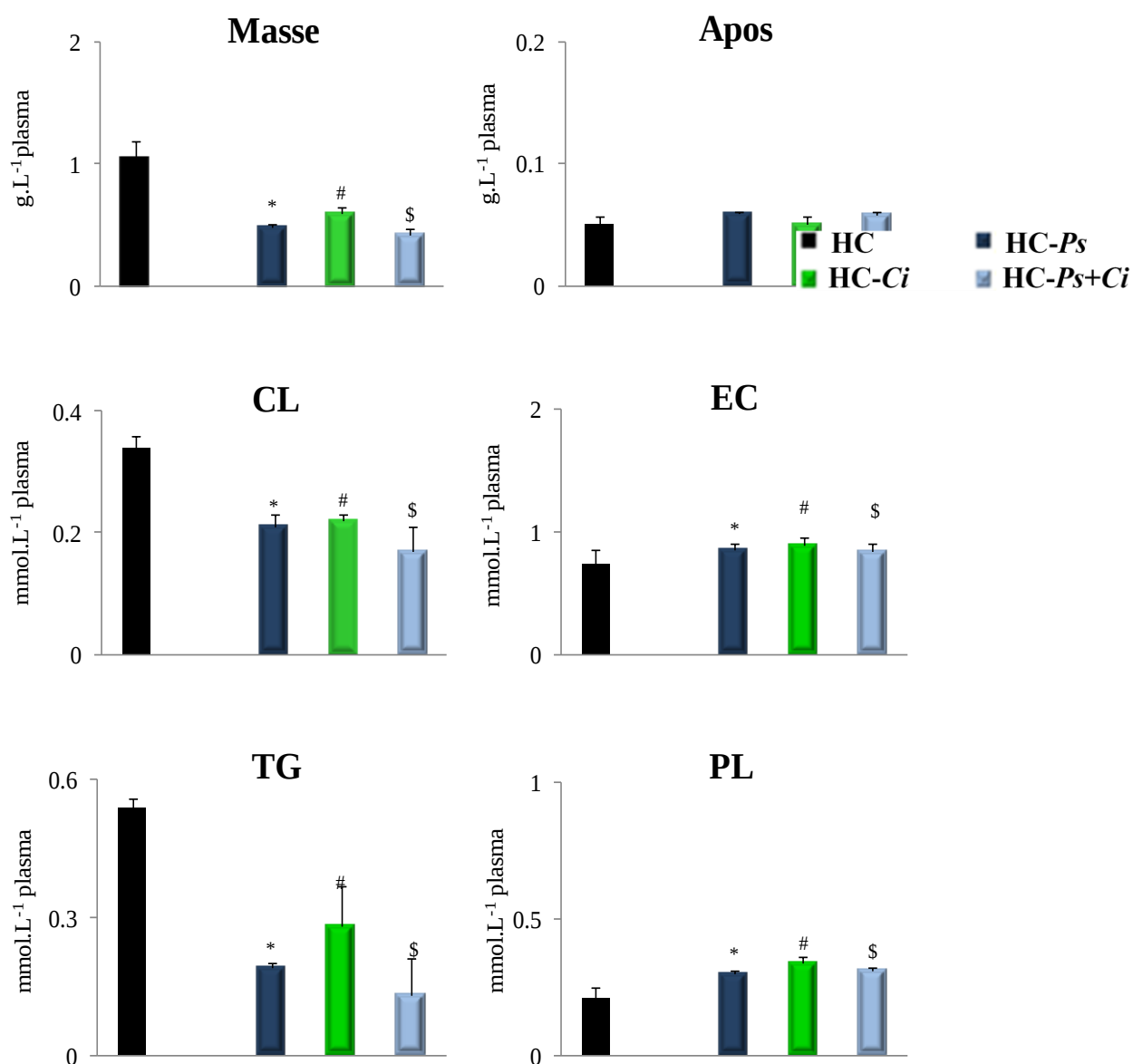


Fig.16. Teneurs et composition des HDL₂

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Dunnett.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, #HC-Ci vs HC, \$HC-Ps+Ci vs HC

HDL₃

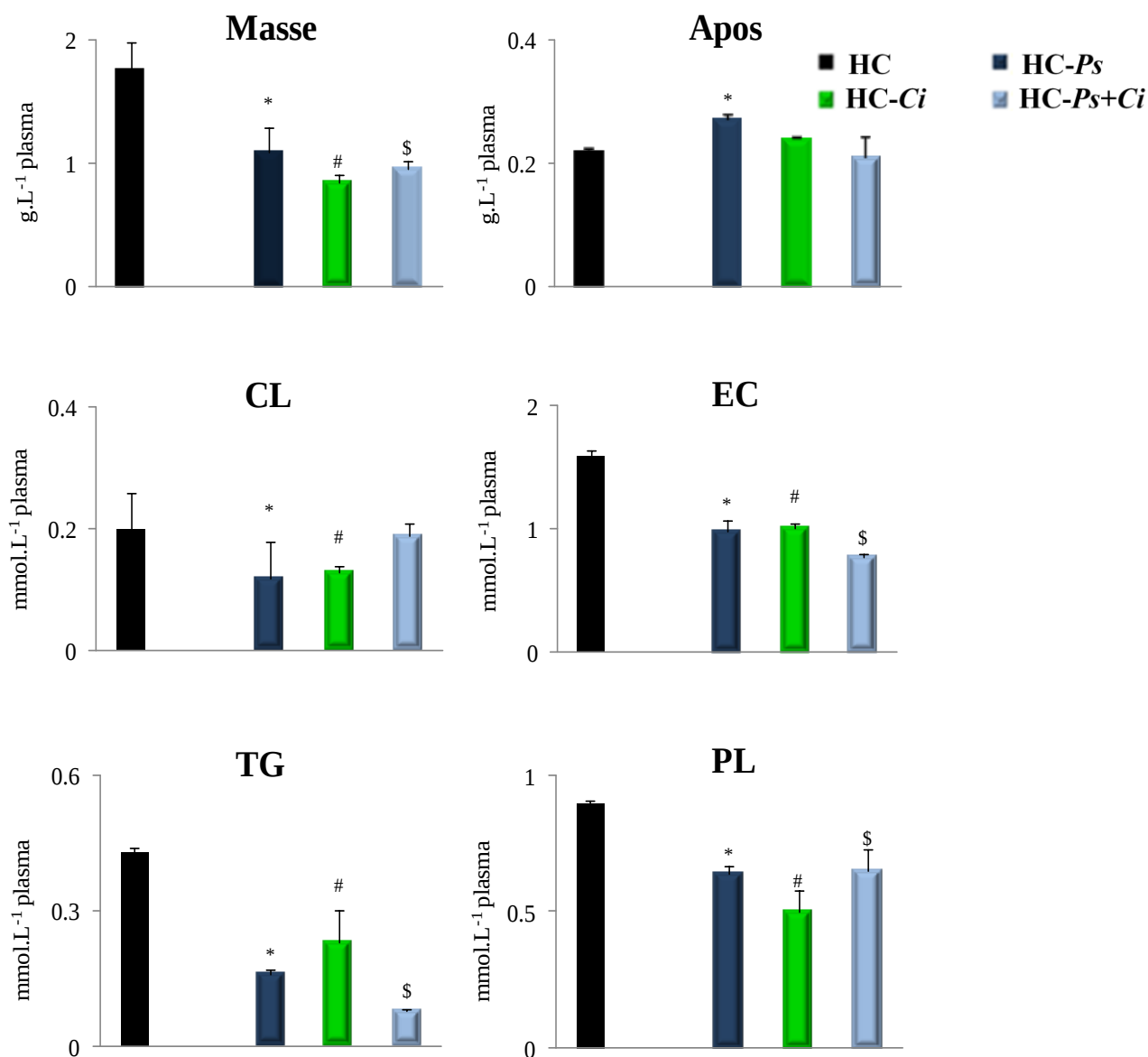


Fig.17. Teneur et composition des HDL₃.

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Dunnett.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, #HC-Ci vs HC, \$HC-Ps+Ci vs HC

5. Concentrations plasmatiques en apolipoprotéines A-I et B100 (Tableau XII)

Chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* comparés au groupe HC, les concentrations plasmatiques en apo A-I sont respectivement 1,4-, 1,3- et 1,5-fois plus élevées. Inversement, les teneurs en apo B100 sont respectivement 1,9-, 2,3- et 1,8-fois plus faibles.

6. Rapports d'athérogénicité (Tableau XII)

Une diminution des rapports CT/C-HDL (-66%, -69% et -72%, respectivement), C-VLDL+LDL+HDL₁/C-HDL (-85%, -90% et -91%, respectivement) et apo B/apo A-I (-62%, -68% et -62%, respectivement) est notée chez les groupes HC traités avec les protéines de sardine, l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Ci* et la combinaison des deux comparés au non traité.

Tableau XII. Concentrations plasmatiques en apo A-I et apo B100 (g.L⁻¹) et rapports d'athérogénicité

	HC	HC- <i>Ps</i>	HC- <i>Ci</i>	HC- <i>Ps+Ci</i>
Apo A-I	0,43 ± 0,03	0,60 ± 0,04 [*]	0,58 ± 0,06 [#]	0,64 ± 0,02 ^{\$}
Apo B100	0,23 ± 0,01	0,12 ± 0,03 [*]	0,10 ± 0,05 [#]	0,13 ± 0,05 ^{\$}
CT/C-HDL	4,45 ± 0,14	1,54 ± 0,04 [*]	1,35 ± 0,06 [#]	1,22 ± 0,02 ^{\$}
C-VLDL+LDL-HDL ₁ /C-HDL	3,34 ± 0,11	0,48 ± 0,03 [*]	0,33 ± 0,05 [#]	0,27 ± 0,05 ^{\$}
Apo B100/apo A-I	0,53 ± 0,04	0,20 ± 0,02 [*]	0,17 ± 0,01 [#]	0,20 ± 0,03 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-*Ps*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-*Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-*Ps+Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

^{*}HC-*Ps* vs HC, [#]HC-*Ci* vs HC, ^{\$}HC-*Ps+Ci* vs HC

7. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT)

L'activité de la lécithine:cholestérol acyltransférase, enzyme qui assure l'estérification du cholestérol des HDL₃, est 7-, 1,5- et 2,5-fois plus élevée chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, respectivement comparée au groupe HC (**Tableau XIII**).

Les concentrations en apo-HDL₃, dont l'apo majeure est l'apo A-I, cofacteur activateur de la LCAT ne montrent aucune différence significative chez les quatre groupes hypercholestérolémiques. Cependant, le contenu en PL-HDL₃ qui est le substrat de la LCAT est diminué de -29%, -44% et -28% chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, respectivement comparé au groupe HC. La valeur du CL-HDL₃, qui est l'accepteur du groupement acyl de la lécithine est diminuée de -40%, et -35% chez les groupes HC-*Sp* et HC-*Ci*, respectivement comparée au groupe HC, alors que les teneurs en EC-HDL₂ qui sont les produits de la réaction enzymatique sont augmentées de +14%, +17% et +12%, respectivement, chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* par rapport au groupe HC.

Tableau XIII. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT) et teneurs plasmatiques en apo- HDL₃, PL-HDL₃, CL-HDL₃ et EC-HDL₂

	HC	HC- <i>Ps</i>	HC- <i>Ci</i>	HC- <i>Ps+Ci</i>
LCAT (nmol.h⁻¹.mL⁻¹)	45,80 ± 5,14	78,55 ± 12,45*	70,99 ± 13,02 [#]	95,50 ± 12,00 ^{\$}
apo-HDL₃ (g.L⁻¹)	0,22 ± 0,003	0,27 ± 0,007*	0,24 ± 0,001	0,21 ± 0,03
PL-HDL₃ (mmol.L⁻¹)	0,90 ± 0,011	0,64 ± 0,03*	0,50 ± 0,08 [#]	0,65 ± 0,08 ^{\$}
CL-HDL₃ (mmol.L⁻¹)	0,20 ± 0,06	0,12 ± 0,06*	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,02
EC-HDL₂ (mmol.L⁻¹)	0,74 ± 0,11	0,86 ± 0,05*	0,89 ± 0,06 [#]	0,84 ± 0,06 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Dunnett.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-*Ps*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-*Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-*Ps+Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-*Ps* vs HC, [#]HC-*Ci* vs HC, ^{\$}HC-*Ps+Ci* vs HC

8. Evaluation de la peroxydation des lipides par la mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) et des hydroperoxydes

8.1. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) des érythrocytes et des VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ (Tableau XIV)

Au niveau érythrocytaire, les teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont diminuées de -41%, -53% et -72%, respectivement chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* comparés au groupe HC. De plus, les contenus en TBARS au niveau des VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ sont significativement réduits chez les groupes HC-*Ps* et HC-*Ps+Ci* vs HC ($P < 0,05$).

Par ailleurs, la supplémentation du régime enrichi en cholestérol avec l'extrait de *Citrus latifolia*, induit une diminution des teneurs en TBARS au niveau des VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₂. En effet, les valeurs sont respectivement 1,5-, 1,6- et 2-fois plus faibles comparées à celles notées chez le groupe HC.

Tableau XIV. Teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique au niveau érythrocytaire et lipoprotéique

	HC	HC- <i>Ps</i>	HC- <i>Ci</i>	HC- <i>Ps+Ci</i>
Erythrocytes ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$)	25,55 $\pm$ 0,82	14,98 $\pm$ 0,53 [*]	12,11 $\pm$ 0,55 [#]	7,04 $\pm$ 0,60 ^{\$}
VLDL (nmol.mL ⁻¹)	1,91 $\pm$ 0,20	1,21 $\pm$ 0,11 [*]	1,29 $\pm$ 0,31 [#]	0,91 $\pm$ 0,09 ^{\$}
LDL-HDL₁ (nmol.mL ⁻¹)	2,57 $\pm$ 0,12	1,17 $\pm$ 0,10 [*]	1,60 $\pm$ 0,11 [#]	1,44 $\pm$ 0,13 ^{\$}
HDL₂ (nmol.mL ⁻¹)	3,15 $\pm$ 0,20	2,83 $\pm$ 0,31 [*]	1,47 $\pm$ 0,27 [#]	1,24 $\pm$ 0,21 ^{\$}
HDL₃ (nmol.mL ⁻¹)	1,77 $\pm$ 0,33	1,11 $\pm$ 0,14 [*]	1,52 $\pm$ 0,17	1,04 $\pm$ 0,18 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-*Ps*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-*Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-*Ps+Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

^{*}HC-*Ps* vs HC, [#]HC-*Ci* vs HC, ^{\$}HC-*Ps+Ci* vs HC

8.2. Concentrations en TBARS tissulaires

Chez les groupes hypercholestérolémiques consommant la protéine de sardine, l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Ci* ou les protéines de sardine combinées à l'extrait de *Ci*, les concentrations en TBARS tissulaires sont respectivement réduites au niveau du foie (2, 2,1- et 6,1-fois), du cœur (3,1-, 3,8- et 2,5-fois), de l'aorte (1,6-, 1,8- et 2,-fois), du rein (3,6-, 4,2- et 6,3-fois) et du tissu adipeux (3,1-, 3,7- et 6,5-fois) comparés au groupe HC (Tableau XV).

Tableau XV. Teneurs tissulaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (mmol.g⁻¹ de protéines)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Foie	1,29 ± 0,15	0,64 ± 0,11 [*]	0,59 ± 0,06 [#]	0,21 ± 0,01 ^{\$}
Cœur	1,36 ± 0,11	0,44 ± 0,05 [*]	0,36 ± 0,08 [#]	0,54 ± 0,07 ^{\$}
Aorte	0,90 ± 0,07	0,56 ± 0,01 [*]	0,50 ± 0,01 [#]	0,46 ± 0,07 ^{\$}
Rein	1,14 ± 0,12	0,32 ± 0,13 [*]	0,27 ± 0,01 [#]	0,18 ± 0,01 ^{\$}
Tissu adipeux	1,43 ± 0,23	0,46 ± 0,02 [*]	0,38 ± 0,07 [#]	0,22 ± 0,03 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

8.3. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques et tissulaires

8.3.1. Hydroperoxydes plasmatiques

Comparée au régime hypercholestérolémique, la supplémentation avec l'extrait lyophilisé de *Ci* ou avec la combinaison de la protéine de sardine et de l'extrait de *Ci* ne modifie pas les teneurs plasmatiques en hydroperoxydes (Tableau XVI). En revanche, le régime enrichi en cholestérol supplémenté avec la protéine de sardine induit une diminution des teneurs plasmatiques en hydroperoxydes (-14%).

8.3.2. Hydroperoxydes tissulaires

Au niveau hépatique, les valeurs en hydroperoxydes sont diminuées de -45% chez le groupe HC-*Ps+Ci* par rapport au groupe HC (**Tableau XVI**). De même, au niveau du cœur et du tissu adipeux, les teneurs en hydroperoxydes sont significativement réduites chez les groupes HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci* vs HC ($P < 0,05$).

Tableau XVI. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
et tissulaires (mmol.g^{-1})

	HC	HC- <i>Ps</i>	HC- <i>Ci</i>	HC- <i>Ps+Ci</i>
Plasma	7,11 $\pm$ 0,20	6,12 $\pm$ 0,82 [*]	6,47 $\pm$ 0,55	7,04 $\pm$ 0,60
Tissus				
<i>Foie</i>	102,55 $\pm$ 6,62	96,31 $\pm$ 5,21	95,55 $\pm$ 2,47	56,55 $\pm$ 6,13 ^{\$}
<i>Cœur</i>	90,16 $\pm$ 5,23	81,47 $\pm$ 3,16	30,41 $\pm$ 2,41 [#]	46,80 $\pm$ 4,17 ^{\$}
<i>Tissu adipeux</i>	105,40 $\pm$ 9,59	98,31 $\pm$ 5,23	60,11 $\pm$ 6,36 [#]	26,55 $\pm$ 7,88 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-*Ps*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-*Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-*Ps+Ci*:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

^{*}HC-*Ps* vs HC, [#]HC-*Ci* vs HC, ^{\$}HC-*Ps+Ci* vs HC

8.3.3. Détermination des concentrations en isoprostanes plasmatiques

La consommation des protéines de sardine, de l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Ci* ou des protéines de sardine combinées à l'extrait de *Ci*, pendant 28 jours entraîne une réduction des concentrations en isoprostanes plasmatiques de -79%, -73% et -76%, respectivement chez les rats hypercholestérolémiques traités comparés aux non traités (**Tableau XVII**).

Tableau XVII. Teneurs en isoprostanes plasmatiques (ng.mL⁻¹).

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Isoprostanes	2,14 ± 0,22	0,43 ± 0,001*	0,56 ± 0,005 [#]	0,50 ± 0,004 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

9. Evaluation de l'oxydation des protéines par la mesure des dérivés carbonylés et teneurs en monoxyde d'azote

9.1. Teneurs plasmatiques et tissulaires en carbonyles

9.1.1. Carbonyles plasmatiques

L'évaluation de l'oxydation protéique montre que les teneurs en carbonyles plasmatiques sont respectivement 1,5- et 1,9-fois plus élevées chez les groupes HC-Ps et HC-Ps+Ci comparés au groupe HC (**Tableau XVIII**). Cependant, une réduction significative est notée chez le groupe HC-Ci vs HC ($P < 0,05$).

9.1.2. Carbonyles tissulaires

Chez les rats rendus hypercholestérolémiques, les teneurs des carbonyles hépatiques augmentent de +21% et +29%, respectivement avec le régime contenant l'extrait de l'écorce de Ci ou supplémenté avec les protéines de sardine combinées à l'extrait de Ci (**Tableau XVIII**). De même, au niveau du cœur et du tissu adipeux, ces valeurs sont augmentées de +24% et +28% respectivement, chez le groupe HC-Ps vs HC. A l'inverse, une diminution de -38% et -44% est observée au niveau du tissu adipeux chez les groupes HC-Ci et HC-Ps+Ci vs HC. De même, au niveau du cœur, les teneurs en carbonyles sont réduites de -35% chez le groupe HC-Ci comparé au groupe HC.

Tableau XVIII. Concentrations des carbonyles plasmatiques (nmol.mL⁻¹) et tissulaires (nmol.mg⁻¹ protéines)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Plasma	2,12 ± 0,13	3,21 ± 0,06*	1,58 ± 0,14 [#]	3,93 ± 0,22 ^{\$}
Tissus				
Foie	80,91 ± 6,21	92,55 ± 6,35	98,14 ± 2,22 [#]	104,20 ± 4,52 ^{\$}
Cœur	68,98 ± 3,89	90,98 ± 7,41*	45,12 ± 5,36 [#]	63,26 ± 5,78
Tissu adipeux	35,51 ± 4,32	49,56 ± 2,27*	22,13 ± 4,15 [#]	19,79 ± 4,26 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

9.2. Teneurs en monoxyde d'azote (NO) plasmatiques et tissulaires

Au niveau plasmatique, le contenu en monoxyde d'azote est significativement réduit chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci comparés au groupe HC ($P < 0,05$), alors qu'au niveau du foie, du cœur et du tissu adipeux, les valeurs en NO sont respectivement 2,1-, 2,2- et 2,6-fois plus faibles chez le groupe HC-Ps+Ci comparé au groupe non traité (**Tableau XIX**). De plus, les contenus en monoxyde d'azote sont réduits au niveau du foie (-67%) et du cœur (-56%) chez le groupe HC-Ci comparé au groupe HC. Par ailleurs, une diminution des concentrations hépatiques en NO (-41%) est constatée chez le groupe HC-Ps vs HC.

Tableau XIX. Teneurs plasmatique et tissulaires en monoxyde d'azote (NO)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Plasma ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	8,21 $\pm$ 0,36	5,22 $\pm$ 0,11*	3,24 $\pm$ 0,22 [#]	1,90 $\pm$ 0,15 ^{\$}
Tissus (mmol.g^{-1})				
Foie	316,20 $\pm$ 54,81	186,21 $\pm$ 13,77*	105,44 $\pm$ 55,35 [#]	145,62 $\pm$ 15,60 ^{\$}
Cœur	253,73 $\pm$ 12,30	228,75 $\pm$ 10,42	101,25 $\pm$ 15,91 [#]	114,37 $\pm$ 19,55 ^{\$}
Tissu adipeux	276,25 $\pm$ 15,91	240,62 $\pm$ 19,89	241,33 $\pm$ 18,12	105,11 $\pm$ 18,28 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

10. Activité des enzymes antioxydantes

10.1. Au niveau des érythrocytes

Le traitement avec les protéines de sardine, l'extrait aqueux lyophilisé de l'écorce de *Ci* ou les protéines de sardine combinées à l'extrait de *Ci* induit une augmentation de l'activité érythrocytaire de la superoxyde dismutase (SOD) (+28%, +69% et +43%, respectivement), de la glutathion réductase (GSSH-Red) (+25%, +30% et +29%, respectivement) et de la catalase (CAT) (+32%, +34% et +46%, respectivement) comparé au groupe non traité (**Fig.18**). En revanche, aucune différence significative n'est retrouvée dans l'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px) chez les quatre groupes de rats.

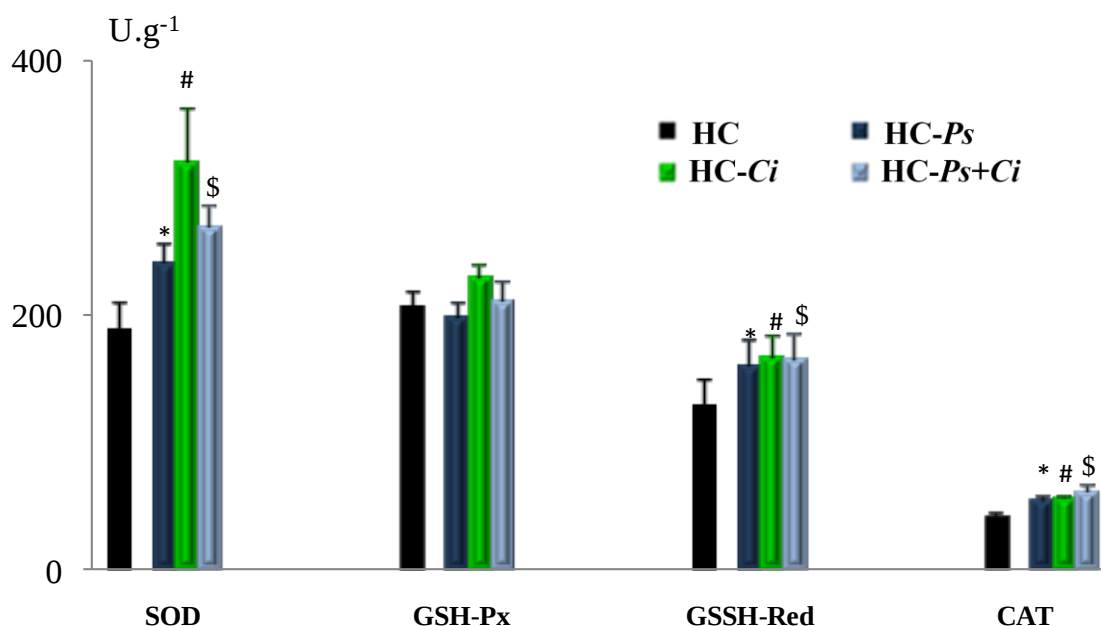


Fig. 18. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires (SOD, GSH-Px, GSSH-Red et CAT)

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, #HC-Ci vs HC, \$HC-Ps+Ci vs HC

10.2. Au niveau tissulaire (Tableau XX)

Chez les groupes hypercholestérolémiques consommant la protéine de sardine seule ou la protéine de sardine combinée à l'extrait de Ci, l'activité de la SOD est respectivement augmentée au niveau du foie (1,4- et 1,7-fois), du cœur (1,8- et 2,1-fois), et du tissu adipeux (1,5- et 2-fois) comparés au groupe HC.

Les valeurs de l'activité GSH-Px sont respectivement 2,1-, 1,9- et 3-fois plus élevées au niveau hépatique et 2,1-, 2- et 1,7-fois plus élevées au niveau cardiaque chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci vs HC. Alors que celle du tissu adipeux ne montre qu'aucune différence significative, chez les quatre groupes de rats.

De même, une augmentation de l'activité GSSH-Red hépatique (+60%, +55% et +88%, respectivement), et cardiaque (+51%, +57% et +85%, respectivement) est notée chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci vs HC.

Chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci vs HC, une augmentation de l'activité de

la CAT est notée au niveau cardiaque (2,3-, 1,7- et 2,7-fois, respectivement). Cependant, au niveau hépatique, l'élévation de la CAT n'est observée que chez les groupes HC-Ci et HC-Ps+Ci vs HC. Par ailleurs, au niveau du tissu adipeux, l'activité CAT est 2- et 3,2-fois plus importante chez les groupes HC-Ps et HC-Ps+Ci vs HC.

Tableau XX. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires (U.mg⁻¹de protéines)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
SOD				
Foie	62,96 ± 3,22	87,44 ± 2,81*	76,48 ± 3,25	109,83 ± 2,44 ^{\$}
Cœur	58,36 ± 7,41	105,51 ± 9,85*	69,42 ± 4,07	122,19 ± 2,85 ^{\$}
Tissu adipeux	166,55 ± 4,88	248,95 ± 7,63*	296,69 ± 5,55 [#]	328,40 ± 5,69 ^{\$}
GSH-Px				
Foie	90,72 ± 8,20	228,27 ± 9,11*	170,10 ± 7,29 [#]	270,24 ± 8,53 ^{\$}
Coeur	88,57 ± 7,08	192,65 ± 5,13*	180,29 ± 5,81 [#]	150,38 ± 6,26 ^{\$}
Tissu adipeux	26,29 ± 9,38	144,63 ± 9,54	131,36 ± 6,27	128,08 ± 6,11
GSSH-Red				
Foie	149,14 ± 8,46	238,86 ± 9,65*	230,56 ± 6,09 [#]	280,56 ± 7,32 ^{\$}
Cœur	134,26 ± 9,09	203,07 ± 5,18*	210,41 ± 8,47 [#]	248,35 ± 6,14 ^{\$}
Tissu adipeux	196,40 ± 9,21	192,95 ± 9,86	200,24 ± 8,44	206,72 ± 7,31
CAT				
Foie	28,87 ± 1,43	25,86 ± 1,53	33,05 ± 1,91 [#]	48,87 ± 1,44 ^{\$}
Cœur	17,42 ± 1,14	40,28 ± 0,16*	30,34 ± 0,52 [#]	46,71 ± 1,36 ^{\$}
Tissu adipeux	14,14 ± 0,23	27,93 ± 1,09*	16,84 ± 0,37	45,79 ± 1,89 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Dunnett.

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

11. Activité de la paraoxonase 1 (PON1) plasmatique

Chez les groupes HC-Ci et HC-Ps+Ci comparés au groupe HC, l'activité plasmatique de la paraoxonase 1 (PON1) est respectivement augmentée de +13% et +32% (**Tableau XXI**).

Tableau XXI. Activité de la paraoxonase 1 (PON1) au niveau plasmatique (UI.mL⁻¹)

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
PON1	17,24 ± 1,22	17,04 ± 1,26	19,90 ± 1,59 [#]	25,32 ± 1,46 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe, La comparaison des moyennes est effectuée par le test de *Dunnett*

HC: régime enrichi en cholestérol, **HC-Ps:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine, **HC-Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*, **HC-Ps+Ci:** régime enrichi en cholestérol supplémenté avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia*. Les moyennes sont significativement différentes si $P < 0,05$.

[#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

DISCUSSION

Le but de cette étude est de mettre en évidence les effets des protéines de sardine combinées à un extrait lyophilisé d'écorce de citron vert sur la dyslipidémie, en particulier sur les variations de la cholestérolémie d'une part, et sur les marqueurs du stress oxydatif et de la défense antioxydante, d'autre part chez des rats rendus hypercholestérolémiques.

Après 28 jours d'expérimentation, les résultats indiquent que la consommation des protéines de sardine supplémentées en cholestérol entraîne une croissance pondérale progressive et similaire à celle de la caséine supplémentée en cholestérol. De plus, la protéine de sardine semble être bien acceptée par le rat puisque la consommation alimentaire est identique chez les deux groupes de rats.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Louala et al., (2008)** qui ont montré que la protéine de sardine entraîne une croissance pondérale similaire à celle de la caséine chez le rat Wistar rendu hypercholestérolémique. De plus, la protéine de sardine comme la caséine présente une bonne efficacité nutritionnelle et permet donc de couvrir les besoins nutritionnels du rat.

Par ailleurs, l'étude de **Bastida et al., (2006)** a montré qu'après 14 jours d'expérimentation, la prise alimentaire et la croissance pondérale sont semblables chez des rats Wistar rendus hypercholestérolémiques et ingérant un régime contenant 15% de protéines de sardine ou de caséine supplémentées ou non en cholestérol (2%). De même, les travaux de **Athmani et al., (2005)** ont rapporté que la croissance pondérale et la consommation alimentaire sont identiques chez des rats hypercholestérolémiques soumis à des régimes contenant 20% de protéines de sardine, de caséine ou de caséine supplémentée avec 1% de cholestérol combinée à 10% d'huile de tournesol.

La réduction du gain de poids en réponse à la consommation des protéines de sardine pourrait s'expliquer par la présence dans la protéine de sardine de molécules suppressives susceptibles d'augmenter la concentration plasmatique en glucagon-like peptide 1 (GLP-1) par augmentation de sa sécrétion par les cellules L de l'iléon. Ainsi, il est probable que les protéines de sardine ont des propriétés stimulatrices de la sécrétion du GLP-1 au niveau des cellules intestinales et exercent un effet satiétogène (**Morton et al., 2006**).

Les travaux de **Pilon et al., (2011)** ont montré que le traitement de rats insulino-résistants avec des protéines de saumon induit une diminution du gain de poids et de l'adiposité comparés à ceux traités à la caséine.

L'étude de **Viejo et al., (2003)** a montré après 2 semaines d'expérimentation, une augmentation de 10% de la prise alimentaire chez des rats hypercholestérolémiques

consommant un régime à 14% de protéines de sardine comparés à ceux consommant 14% de caséine supplémentée ou non avec 2% de cholestérol et ceci en dépit d'un poids corporel similaire. Cette augmentation de la nourriture ingérée est expliquée par des facteurs organoleptiques tels que le goût, l'odeur et la texture du régime contenant la protéine de sardine.

Par ailleurs, nos résultats montrent une diminution de la prise alimentaire et du poids corporel chez le groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* et chez le groupe consommant les protéines de sardine combinées à l'extrait lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* comparés au groupe hypercholestérolémique (HC) non traité.

Des effets similaires ont été rapportés par **Khan et al., (2010)** qui ont constaté une perte de poids de 30 à 100 g chez des rats rendus hypercholestérolémiques gavés pendant 4 semaines avec 1ml/kg/j de jus de *Citrus lemon* comparés à des rats normaux. De plus, **Wang et al., (2010)** ont remarqué une diminution de la masse du tissu adipeux périrénal, chez des rats consommant un régime enrichi en cholestérol, supplémenté avec de l'héspéridine. Une étude récente utilisant la naringine a trouvé une diminution du poids et de la masse grasse viscérale chez des souris consommant régime alimentaire riche en matières grasses (**Pu et al., 2012**).

La glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT) et la glutamate-pyruvate-transaminase (GPT) sont des marqueurs importants du fonctionnement du foie, organe essentiel dans le maintien de l'homéostasie du cholestérol. L'évaluation de ces 2 paramètres permet de déterminer les éventuelles anomalies causées par l'hypercholestérolémie (**Sookoian & Pirola, 2015**).

Dans notre travail, les activités plasmatiques de la GOT et la GPT sont diminuées chez le groupe hypercholestérolémique traité avec *Citrus latifolia* par rapport au groupe non traité. Ces résultats sont retrouvés chez des rats soumis à un régime supplémenté en cholestérol (2%) et traités par voie orale avec 1,5% d'extrait d'écorce de citron, pendant 49 jours (**Green et al., 2013**). **Mahmoud et al., (2014)** ont montré que l'administration d'un extrait de *Citrus aurantium* L (Le bigaradier) à des doses variables (50, 100 mg/kg de PC) atténue la toxicité chez les rats. En effet, une augmentation de l'activité des transaminases est observée chez des rats consommant un régime contenant 1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique pendant 20 jours comparés à des rats normaux (**Bolkent et al., 2005**).

Parmi les nombreux facteurs de risque génétiques et environnementaux de l'athérosclérose, l'élévation de la teneur en cholestérol est la seule à pouvoir induire le

développement de la plaque d'athérome, même en l'absence d'autres facteurs de risque (diabète, hypertension et obésité) (**Suleria et al., 2015**). Les variations des concentrations en lipides sériques peuvent influencer la composition, la teneur et la distribution des sous-classes de lipoprotéines sériques (**Garjani et al., 2009**). Un excès de cholestérol peut s'avérer néfaste d'où l'importance de contrôler les teneurs en cholestérol *via* la régulation de sa synthèse et de sa captation par le foie, celui-ci joue un rôle central dans l'homéostasie du cholestérol autant dans sa synthèse que dans son excrétion, ainsi que son transport dans la circulation par les lipoprotéines (**Inoue, 2014**).

Plusieurs travaux ont montré l'effet du cholestérol alimentaire sur la cholestérolémie. La supplémentation de régimes alimentaires avec 0,5% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique (**Minhajuddin et al., 2005**) ou avec deux doses de cholestérol (0,5% et 4%) avec ou sans acide cholique (**Tanaka et al., 2005**) montre une augmentation du cholestérol total (CT) sérique. D'autres travaux ont indiqué une augmentation du CT sérique et hépatique avec 1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique (**Monte & Jimenez, 1993 ; Sakuma et al., 1997**).

Chez des hommes jeunes normolipémiques, la consommation d'un régime enrichi en cholestérol augmente les teneurs sériques en CT, C-LDL et C-HDL ainsi que celles de l'apo B, et prolonge la demi-vie des remnants de chylomicrons favorisant de ce fait, le développement des MCV (**César et al., 2006**). L'élévation du C-HDL observée dans certains cas semble dépendre des acides gras (AG) consommés simultanément avec le cholestérol (**César et al., 2006 ; Herron et al., 2003**).

En revanche, les rats sont capables de maintenir leur taux de cholestérol sérique (**Russell & Proctor, 2006 ; Fujioka et al., 1995**) et sont particulièrement résistants au développement de l'hypercholestérolémie et à l'athérosclérose (**Giricz et al., 2003**). Néanmoins, **Arafa et al., (2005)** ont rapporté que l'hyperlipidémie, et en particulier, l'hypercholestérolémie peut être induite chez l'animal par un régime enrichi en cholestérol.

Bouderbala et al., (2009) ont noté une cholestérolémie similaire chez le rat consommant un régime enrichi en cholestérol (20mg/j) et traité avec un extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* (**Ai**) (450 mg/kg PC), comparé au non traité. Selon ces auteurs, ce résultat s'explique, par une utilisation efficace du cholestérol d'une part, et une répartition favorable au niveau de la fraction HDL.

Certaines études expérimentales ont révélé que les protéines de poisson peuvent modifier le métabolisme du cholestérol chez des rats consommant un régime supplémené en cholestérol (**Shukla et al., 2006 ; Wergedahl et al., 2004 ; Demonty et al., 2003**).

Dans notre étude, une diminution des teneurs en cholestérol hépatique et plasmatique accompagnée d'une augmentation du C-HDL est notée chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, comparés au groupe HC. Ce résultat laisse supposer soit une activation de la voie de synthèse des acides biliaires soit une inhibition du cycle entéro-hépatique, qui va entraîner une activation des récepteurs des LDL et par conséquent, une diminution de la cholestérolémie et du C-LDL.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux qui ont montré que les protéines de poisson agissent comme des régulateurs du métabolisme du cholestérol. En effet, dans l'étude de **Hosomi et al., (2010)**, une diminution des teneurs en CT hépatique (-32%) et plasmatique (-18%) est observée chez des rats rendu hypercholestérolémique et soumis à un régime contenant 10% de protéines de poisson comparés à des rats consommant 20% de caséine.

De leur côté, **Wergedahl et al., (2004)** ont rapporté que le fait de soumettre des rats Wistar à un régime à base de protéine de saumon supplémenté en cholestérol durant 12 jours, tend à diminuer la cholestérolémie et à augmenter le rapport C-HDL/CT comparativement à un groupe contrôle.

Ben Khaled et al., (2012), ont montré dans leur étude, une diminution des teneurs sériques en cholestérol total chez trois groupes de rats soumis à trois régimes contenant des protéines de poissons différentes supplémentées avec 1% de cholestérol comparés à un groupe soumis à un régime caséine enrichi en cholestérol (1%). De même, nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par **Demonty et al., (2003)** qui ont constaté que la protéine de morue enrichie avec 1% de cholestérol, diminue le cholestérol sérique et hépatique chez le rat.

En revanche, la protéine de merlan supplémentée avec 0,5% de cholestérol exerce un effet hypocholestérolémiant mais provoque une accumulation du cholestérol au niveau du foie (**Shukla et al., 2006**).

Staels et Fonseca (2009), ont rapporté que la consommation de protéines de sardine induit une diminution du C-LDL suite à une stimulation de la cholestérol-7- α hydroxylase qui permet la conversion du cholestérol en acides biliaires. Cet effet entraîne alors une diminution du niveau du cholestérol hépatique favorisant ainsi l'augmentation de l'activité des récepteurs-LDL et par conséquent une diminution de la cholestérolémie.

Ainsi, **Murata et al., (2004)** ont montré que la protéine de sardine (*Sardina pilchardus*) consommée à différents niveaux d'apports (5%, 10% et 20%) n'a aucun effet sur la cholestérolémie chez le rat normolipidémique comparée à la caséine. De même, **Murata et**

al., (2004) ont trouvé des résultats similaires mais révèlent que la protéine de sardine augmente la fibrinolyse et prolonge le temps de coagulation du sang chez le rat. Ces effets complémentaires pourraient être bénéfiques chez les individus à risque de thromboses.

De plus, les études d'*Athmani et al.*, (2005) et de *Louala et al.*, (2008) ont rapporté que la protéine de sardine supplémentée en cholestérol induit une cholestérolémie similaire à celle obtenue avec la caséine enrichie en cholestérol chez le jeune rat rendu hypercholestérolémique. En outre, ces mêmes travaux suggèrent une diminution de la synthèse endogène du cholestérol et une inhibition de l'absorption intestinale du cholestérol et des acides biliaires.

La diminution du cholestérol observée avec les protéines de sardine pourrait être attribuée à leur composition en acides aminés, en particulier à leur contenu en acides aminés essentiels tels que la méthionine (*Sugiyama et al.*, 1986), la cystéine (*Sergougne et al.*, 1984) et la glycine (*Katan et al.*, 1982) et au rapport lysine/arginine (*Spielmann et al.*, 2008).

Dans notre investigation, l'effet hypocholestérolémiant des protéines de sardine pourrait être en raison de sa composition particulière en acides aminés, et la diminution du cholestérol hépatique pourrait être attribuée à l'augmentation de son catabolisme stimulé par l'activité de la 7 α -hydroxylase du foie (*Hosomi et al.*, 2009 ; *Liaset et al.*, 2009).

Par ailleurs, *Assini et al.*, (2013) ont montré que le fait de soumettre des souris à un régime supplémenté en citroflavonoïdes, pourrait prévenir et traiter la dyslipidémie et la stéatose hépatique, par inhibition de la synthèse des acides gras hépatiques et augmentation de l'oxydation des acides gras. De plus, *Khan et al.*, (2010) ont démontré que le *Citrus lemon* pourrait être efficace contre l'hyperlipidémie puisque il est riche en vitamine C et renferme également différents types de flavonoïdes.

Chez le groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux de *Citrus latifolia* comparé au groupe non traité (HC) un effet hypocholestérolémiant est noté. Ce résultat pourrait être dû aux composés présents dans l'extrait. En effet, le limonène (58,4% de sa composition) par ses effets antioxydants permettrait de réduire la cholestérolémie (*Spadaro et al.*, 2012). De plus, la présence d'hespéridine et d'ériocitrine, les 2 flavonoïdes les plus abondants dans le citron vert (*Costa et al.*, 2014) expliquerait cet effet, et contribueraient à améliorer la vasodilatation coronarienne, à diminuer l'agrégation des plaquettes sanguines et à prévenir l'oxydation du LDL.

De même, une réduction significative du CT plasmatique est obtenue chez les rats traités avec les protéines de sardine combinées à l'extrait lyophilisé d'écorce de *Citrus*

latifolia. Cet effet hypocholestérolémiant indique une action synergique possible entre la protéine de sardine et les composés de *Citrus latifolia*.

Des études antérieures ont démontré que les flavonoïdes et les limonoïdes du citron abaissent le cholestérol sanguin chez des rats nourris avec un régime enrichi en cholestérol (Wang *et al.*, 2011 ; Boshtam *et al.*, 2010 ; Miceli *et al.*, 2007 ; Miyake *et al.*, 2006 ; Choi *et al.*, 2004 ; Kim *et al.*, 2003 ; Park *et al.*, 2001 ; Kurowska *et al.*, 2000 ; Bok *et al.*, 1999 ; Kawaguchi *et al.*, 1997).

Ces flavanones sont de puissants inhibiteurs de l'activité de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase) et de l'acyl coenzyme A : cholestérol acyltransférase (ACAT) *in vivo* (Choi *et al.*, 2004 ; Kim *et al.*, 2003 ; Park *et al.*, 2001 ; Bok *et al.*, 1999) et *in vitro* (Wilcox *et al.*, 2001). La HMG-CoA réductase est impliquée dans la synthèse du cholestérol et la sécrétion du cholestérol-VLDL et l'ACAT dans l'absorption intestinale et l'estérification du cholestérol, ce qui explique leur effet hypocholestérolémiant chez des animaux consommant un régime supplémenté en cholestérol.

Par ailleurs, nos résultats montrent une élévation des taux circulants de l'apo-A-I et une réduction de l'apo-B-100 et des rapports CT/C-HDL et C-LDL-HDL₁/C-HDL chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps*+*Ci* comparés au groupe HC. Ces données montrent l'effet bénéfique de la protéine de sardine, de l'extrait aqueux de *Citrus latifolia* et de la combinaison des deux sur la structure et la composition des lipoprotéines athéroprotectrices.

Ces observations sont en accord avec celles de Welty *et al.*, (2004) qui ont montré que les concentrations plasmatiques en cholestérol-LDL étaient associées au taux de production de l'apoA-1 plasmatique. De plus, Thompson & Danesh, (2006) ont indiqué une élévation de la teneur sérique en apo A-I et une réduction de l'apo B chez les rats hypercholestérolémiques ingérant la protéine de sardine comparée à la caséine.

Nos résultats ne concordent pas avec ceux de Athmani *et al.*, (2005) qui ont constaté que la protéine de sardine comparée à la caséine ne modifie pas le C-HDL. Par ailleurs, il a été montré chez le rat Sprague-dawley, que la protéine de merlan combinée à 10% de saindoux et supplémentée avec 0,5% de cholestérol comparée à la caséine, diminue significativement le CT sérique ainsi que le C-HDL mais n'affecte pas le C-VLDL, le C-LDL et le rapport C-LDL/C-HDL (Shukla *et al.*, 2006).

Chez le rat normal, les résultats de Horcajada *et al.*, (2008) ont montré que l'hespéridine diminue le cholestérol plasmatique. De plus, Cirico et Omaye, (2006) ont noté que le jus de *Citrus lemon* ainsi que l'extrait aqueux de son écorce corrigent l'augmentation

du C-LDL chez l'homme en entraînant une activation des récepteurs LDL ce qui induit la captation et la dégradation de ces lipoprotéines .

Boshtam et al., (2010) ont confirmé ces résultats, chez des lapins mâles, consommant un régime enrichi en cholestérol (1%) et supplémentée avec 1g de l'extrait aqueux d'écorce de *Citrus lemon*. De même, certains auteurs ont montré que les flavanones du citron peuvent diminuer le C-LDL et augmenter le C-HDL plasmatiques (**Miceli et al., 2007 ; Monforte et al., 1995**), diminuer le cholestérol dans les VLDL et LDL et augmenter le cholestérol HDL (**Akiyama et al., 2010**) et corriger ainsi la dyslipidémie.

Une étude a montré que la diminution des LDL était associée à une surexpression du gène du récepteur LDL, et à une diminution de l'expression et de l'activité de la protéine microsomale de transfert des triglycérides (MTP) *in vitro* qui joue un rôle dans l'assemblage des lipoprotéines, principalement des triglycérides et des VLDL (**Wilcox et al., 2001**).

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'effet du cholestérol alimentaire sur la triglycéridémie. En effet, chez le rat, le cholestérol alimentaire induit une hypertriglycéridémie (**Osada et al., 1994**). Auparavant, **Othani et al., (1990)** ont observé le même effet sans aucun changement dans la synthèse de l'apo B. L'augmentation des TG sériques peut être due à la diminution de l'activité des récepteurs des lipoprotéines de faible densité (LDL), lorsque le régime est supplémenté en cholestérol (**Calleja et al., 2000**).

Dans notre étude, la supplémentation du régime en cholestérol induit une hypertriglycéridémie chez les rats rendus hypercholestérolémiques. Cependant, à J28, une réduction des TG plasmatiques est obtenue chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci, comparés au groupe hypercholestérolémique non traité.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Sánchez-Muniz et al., (2003)** qui ont suggéré que la protéine de sardine réduit la sécrétion des VLDL du foie et entraîne une diminution des TG sériques. De même, chez le rat, la protéine de morue entraîne une réduction des TG (**Hurley et al., 1995 ; Demonty et al., 2003**). La diminution des teneurs en TG plasmatiques est probablement le résultat de la réduction de leur synthèse et/ou sécrétion hépatique ou d'un catabolisme important des VLDL.

Selon **Murata et al., (2004)**, la protéine de sardine combinée à 7% d'huile de soja entraîne une baisse de la triglycéridémie comparée à la caséine chez des rats normolipémiques. Une autre étude, indique que la protéine de merlan combinée à 10% de graisses saturées réduit les teneurs en TG sériques et hépatiques, les TG-VLDL et les TG-HDL (**Shukla et al., 2006**). Par ailleurs, en plus de l'effet favorable des protéines de sardine sur l'homéostasie du cholestérol, l'administration des protéines de sardine résorbe la stéatose

hépatique et contrecarre pleinement la forte augmentation des triglycérides du plasma et des TG-VLDL induite par le régime enrichi en cholestérol, confirmant les résultats de la littérature (**Mellouk et al., 2009 ; Bastida et al., 2006 ; Murata et al., 2004**).

Il est important de souligner que la consommation du *citrus latifolia* pourrait être responsable, en partie de la diminution du taux des TG plasmatiques. En effet, Des études précédentes ont rapporté que la supplémentation en hespéridine et en naringine chez le rat consommant un régime enrichi en cholestérol, entraîne une diminution des triglycérides plasmatiques (**Miceli et al., 2007 ; Choi et al., 2004 ; Kim et al., 2003 ; Kawaguchi et al., 1997 ; Monforte et al., 1995**), une amélioration de l'hypertriglycémie (**Akiyama et al., 2010**), ou alors aucun effet (**Ohtsuki et al., 2003**).

L'effet hypotriglycémiant noté chez le groupe HC-Ci pourrait être dû à la répression de la voie de la sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) dans le tissu adipeux et le foie et par conséquent à la diminution de la synthèse des triglycérides. De plus, cette hypotriglycémie est concomitante avec la réduction des TG-VLDL. En effet, la masse des VLDL est diminuée reflétant la réduction de leurs différents constituants de surface (apo et CL) et du centre (TG et EC). Ce résultat est en accord avec ceux d'autres études (**Green et al., 2013 ; Akiyama et al., 2010 ; Trovato et al., 2010 ; Kawaguchi et al., 1997**).

En revanche, des résultats contradictoires ont été rapporté par **Yokozawa et al., (2006)** qui ont montré que la protéine de sardine provoque une augmentation significative des TG, chez le rat nourri avec un régime supplémentation en cholestérol. Par ailleurs, **Athmani et al., (2005)** n'ont trouvé aucune différence significative dans les teneurs en TG sériques après 28 jours de consommation de protéine de sardine chez le rat rendu hypercholestérolémique.

Dans notre étude, les particules HDL₂ sont enrichies en cholestérol, en particulier en esters de cholestérol (EC) chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci, comparés au groupe HC. Par ailleurs, la masse des HDL₃, est diminuée en raison de la réduction de leur contenu en apolipoprotéines dont l'apo majeure est l'apo A-I, cofacteur-activateur de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT), enzyme intervenant dans le transport inverse du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. De plus, une diminution des phospholipides des HDL₃, substrat de l'enzyme et du CL-HDL₃, accepteur du groupement acyl, est notée chez les groupes d'animaux hypercholestérolémiques traités avec la protéine de sardine, l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* et la combinaison protéines de sardine-extrait lyophilisé d'écorce de Ci comparé au groupe HC non traité. En effet, le contenu en EC-HDL₂, produit de la réaction de la LCAT est élever.

La LCAT joue un rôle important dans la maturation des HDL (**Rader, 2006**). L'excès de cholestérol des HDL₂ retourne au foie pour être éliminé sous forme de cholestérol libre ou d'acides biliaires. L'augmentation de l'activité de la LCAT pourrait être due à l'augmentation de son cofacteur-activateur l'apo A-I et/ou à sa synthèse accrue au niveau du foie (**Jonas, 2000**). Les résultats de notre études montre que l'activité de la LCAT est plus élevée chez les groupes HC-Ps, HC-Ci et HC-Ps+Ci, comparée au groupe HC. **Shukla et al., (2006)** ont démontré que la protéine de merlan par rapport à la caséine entraîne, au niveau du foie, une élévation de l'expression des gènes hépatiques impliqués dans la synthèse de l'apo A-I et de la LCAT, chez le rat soumis à un régime hyperlipidique.

Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux de **Athmani et al., (2005)**, qui ont rapporté chez le rat hypercholestérolémique que les régimes à base de protéines de sardine ou de caséine avec ou sans cholestérol affectent la composition quantitative et qualitative des HDL₂ et des HDL₃, alors que l'activité de la LCAT reste inchangée.

Selon **McPherson et al., (2007)**, la LCAT peut avoir un double rôle dans l'oxydation des lipoprotéines, elle peut agir comme un pro-oxydant puissant lors de l'oxydation de VLDL, mais comme un antioxydant lors de l'oxydation des LDL. De plus, l'activité LCAT est augmentée avec une tendance à l'élévation des teneurs en esters de cholestérol de la fraction HDL₂ qui pourrait jouer un rôle important dans l'efflux du cholestérol des tissus périphériques vers le foie

La paraoxonase 1 (PON1) est une hydrolase d'organophosphoré (OP) calcium-dépendante. Elle est synthétisée au niveau hépatique qui circule dans le plasma liée aux HDL. Cette enzyme joue un rôle crucial dans la protection des fractions LDL et HDL de l'oxydation (**Soran et al., 2009**). La PON1 a été reconnue aussi comme une enzyme antioxydante puissante impliquée dans la défense antioxydante enzymatique (**Savini et al., 2013**). Selon **Durak et al., (2004)**, un apport excessif en cholestérol réduit l'activité de la PON1 suite à une diminution de l'expression de cette protéine au niveau hépatique. Des études cliniques ont rapportées une faible activité de la PON1 chez des patients ayant un risque cardiométabolique (hypercholestérolémie, obésité ou MCV) (**Ferretti et al., 2005 ; Mackness et al., 2004**). De plus, le nombre de particules HDL peut être un déterminant important des niveaux plasmatiques de la PON1. Une diminution de l'activité de la PON1 semble négativement corrélée avec le taux de HDL (**D'Archivio et al., 2012**).

Nos résultats montrent que l'activité de la paraoxonase (PON1) plasmatique est augmentée chez le groupe consommant les protéines de sardine combinées à l'extrait lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* comparé au groupe HC.

D'après **Durrington et al., (2001)**, l'activité paraoxonasique est corrélée avec les teneurs en HDL et en apo A-I. Toutefois l'activité de la PON1 semble être indépendante de sa concentration.

Lee et al., (2002) ont montré que la naringine améliore l'activité plasmatique de la PON1 et diminue les concentrations plasmatiques en TBARS chez des rats nourris pendant 6 semaines avec un régime enrichi en cholestérol (1%).

Certaines études récentes ont démontré les propriétés antioxydantes de l'acide urique (**Madero et al., 2009**). En effet, il est l'un des plus importants antioxydants, capable d'éliminer jusqu'à 60% des radicaux libres produits (**Nakagawa et al., 2006**). Il est actuellement, l'antioxydant plasmatique le plus efficace en termes de réactivité avec les *espèces réactives de l'oxygène* (ERO) et tout particulièrement avec le radical hydroxyle (OH°) (**Hwu & Lin, 2010**).

En revanche, d'autres auteurs suggèrent que l'acide urique est un facteur prédictif indépendant de toutes les causes de mortalité chez les patients à haut risque de maladies cardiovasculaires. Ainsi des taux sériques élevés en acide urique contribuent à l'augmentation de l'athérosclérose (**Cicero et al., 2014 ; Ioachimescu et al., 2008 ; Strazzullo & Puig, 2007**).

Cependant, bien que le mécanisme par lequel l'acide urique contribue à la pathogénèse des MCV ne soit pas clair, l'hyperuricémie est associée à des effets nuisibles sur la dysfonction endothéliale, le métabolisme oxydatif et l'adhérence plaquettaire (**Ishizaka et al., 2014; Souza-Junior et al., 2014**).

Dans cette étude, une hyperuricémie est retrouvée chez le groupe de rats ingérant la protéine de sardine comparé au groupe HC. L'augmentation du métabolisme de l'adénosine est due à une perte de l'inhibition de la xanthine oxydase dont le rôle est de bloquer l'action de l'enzyme qui forme l'acide urique par le biais du monoxyde d'azote (NO) et/ou à une baisse du métabolisme oxydatif (**Bellomo, 2006**).

D'autre part dans la présente étude, le traitement des rats avec l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* améliore la fonction rénale par diminution des concentrations en créatinine et en acide urique plasmatiques par rapport au groupe HC non traité. De plus, une réduction de l'alanine aminotransférase est notée chez le groupe HC-Ci comparé au groupe HC.

Des résultats similaires ont été retrouvés chez des rats traités avec un extrait de *Citrus aurantium* administré par voie orale à raison de 200 mg/kg de PC, pendant 21 jours. Le potentiel néphroprotecteur de cet extrait serait dû à sa richesse en flavonoïdes (**Ullah et al.,**

2014). Ces données concordent avec celles rapportées par **Anandan & Subramanian, (2012)** chez des rats mâles Wistar soumis à un régime contenant de l'hespéridine.

L'hyperlipidémie entraîne une augmentation du stress oxydatif (**Hennekens et al., 2009**). Les rats soumis au cholestérol alimentaire présentent quelque soit le régime ingéré, un stress oxydant qui se manifeste par une élévation des teneurs en TBARS, en hydroperoxydes et en carbonyles au niveau du plasma, des tissus et des érythrocytes. Cette hyperperoxydation pourrait être le résultat d'une modification importante du statut redox cellulaire en faveur des prooxydants, car l'hypercholestérolémie est responsable de la production de radicaux libres qui, par leur pouvoir oxydant, sont à l'origine de l'oxydation de l'ADN, des lipides et des protéines (**Naughton et al., 2009**).

De plus, l'augmentation de la peroxydation des lipides est associée à une hypertriglycéridémie. D'autre part, la défaillance des défenses antiradicalaires (la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GSH-Px)) serait à l'origine du stress oxydatif en réponse à la consommation chronique du cholestérol (**Hennekens et al., 2009**).

Une augmentation du stress oxydant associée avec une baisse de l'activité et de l'expression de la CAT et de la SOD des tissus ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique et protéique ont été notées chez des rats exposés pendant quatre semaines à un régime enrichi en cholestérol (**Hennekens et al., 2009**).

Lu & Chiang, (2001) ont rapporté que la consommation d'un régime supplémenté en cholestérol (1%) pendant 6 semaines entraîne une diminution significative des TBARS au niveau du foie chez le rat hypercholestérolémique comparé au rat normocholestérolémique. De même, **Arnold et al., (1992)** ont noté une réduction de la peroxydation des lipides au niveau plasmatique chez le rat consommant ou non 1% de cholestérol pendant 8 semaines. En revanche, **Bolayirli et al., (2007)** ont noté une augmentation de la peroxydation lipidique chez des lapins consommant un régime supplémenté en cholestérol. Chez le rat Wistar, des études ont montré qu'un régime hyperlipidique consommé pendant deux mois induit une augmentation des taux hépatiques en malondialdéhyde (MDA), marqueur de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif (**Milagro et al., 2006**).

Nos résultats mettent bien en évidence une diminution des teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) au niveau du plasma, des différentes fractions de lipoprotéines (LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃) et au niveau du foie, du tissu adipeux et du cœur, chez le rat hypercholestérolémique traité avec *Ps*, *Ci* et *Ps+Ci*, comparé au rat hypercholestérolémique non traité. Cette diminution est un bon indicateur de la réduction de

la peroxydation lipidique et pourrait s'expliquer par l'augmentation de l'activité de certaines enzymes antioxydantes, telle que, la GSSH-Red et la GSH-Px au niveau du foie et la catalase au niveau du cœur chez les groupes HC-*Ps*, HC-*Ci* et HC-*Ps+Ci*, comparée au groupe HC. En effet, des études ont montré que chez la souris, une alimentation riche en cholestérol augmente la production de H₂O₂. Cette augmentation stimule l'activité des enzymes antioxydantes telles que la catalase (**Rindler et al., 2013**), probablement pour protéger les mitochondries contre les dommages oxydatifs.

Une réduction des concentrations en TBARS au niveau hépatique et cardiaque a été notée chez des rats rendus hypercholestérolémiques, ayant reçu 20% de protéines de poisson comparés à ceux soumis à la caséine (**Gutteridge, 1995**). **Erdogan et al., (2004)** et **Sarsilmaz et al., (2003)** ont obtenu une réduction de la peroxydation lipidique chez des rats albinos consommant l'huile de sardine comparés à un groupe contrôle. De même, **Ben Khaled et al., (2012)** ont rapporté dans leur étude une diminution de la peroxydation lipidique et une amélioration de l'activité antioxydante chez des rats Wistar soumis à un régime à base de *Sardinella aurita*, supplémenté avec 1% de cholestérol comparés à ceux soumis à la caséine.

L'effet bénéfique des protéines de poisson, et en particulier celui de la protéine de sardine sur le stress oxydant est dû en partie à sa richesse en taurine (**Yamori et al., 2004**). Les études *in vivo* et *in vitro* menées sur la taurine suggèrent qu'elle participe à la protection de la cellule contre les dommages oxydatifs, réduit le taux du malondialdéhyde et augmente les activités des enzymes antioxydantes (SOD et CAT) au niveau érythrocytaire (**Men et al., 2010**).

En revanche, **Hamza-Reguig et al., (2008)** ont obtenu une peroxydation lipidique similaire au niveau du muscle et de l'aorte chez des rats consommant des protéines de sardine combinées à un mélange d'huiles végétales (olive, noix et tournesol) et supplémentées avec 1,5% de cholestérol comparé à un groupe contrôle. De même, **Bouderbala et al., (2009)**, ont trouvé que le traitement avec *Ajuga iva* n'a aucun effet sur le contenu en TBARS hépatiques chez le rat hypercholestérolémique comparé au rat non traité.

En outre, des études ont démontré que l'écorce de citron protège la cellule contre les dommages oxydatifs chez l'animal (**Akiyama et al., 2010 ; González-Molina et al., 2010**), probablement en raison de ses propriétés antioxydantes. **Barros et al., (2012)**, **Akiyama et al., (2010)** et **Hurtado-Fernandez et al., (2010)** ont montré que les extraits aqueux d'écorce de citron et de lime réduisent la peroxydation lipidique et protègent contre les dommages induits par les radicaux libres, ceci est dû à leur richesse en hespéridine qui est reconnue pour

ses propriétés antioxydantes et ainsi, son implication probable dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydant.

Les LDL sont riches en cholestérol et en phospholipides (PL), ce qui les rend des cibles privilégiées à la peroxydation lipidique (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Le nombre élevé de particules LDL circulantes favorise l'accumulation du cholestérol au niveau sanguin.

Ces particules athérogènes deviennent susceptibles à l'oxydation, ce qui augmente le risque de lésions athéromateuses car l'hypercholestérolémie mène à une production accrue de radicaux libres (**Yokozawa et al., 2006**). En revanche, les HDL ont un rôle protecteur à deux niveaux: lors du transport inverse du cholestérol et lors de l'oxydation des LDL en les protégeant quoique les HDL, pourraient avoir des effets délétères (rôle athérogène) quand elles sont oxydées (**Yokozawa et al., 2006**).

Le traitement des rats hypercholestérolémiques avec la protéine de sardine ou l'extrait aqueux de *Citrus latifolia* réduit significativement la peroxydation lipidique au niveau des fractions VLDL et HDL₂ et entraîne un effet semblable au niveau de la fraction LDL-HDL₁ comparés aux rats hypercholestérolémiques non traités.

López et al., (2008) ont observé une réduction de la peroxydation lipidique dans les fractions VLDL et LDL chez le rat consommant la protéine de poisson et ont suggéré que la diffusion du monoxyde d'azote dans ces particules atténue, par son action antioxydante, leur peroxydation.

Par ailleurs, une baisse des teneurs en hydroperoxydes est observée au niveau du foie, du cœur et du tissu adipeux après la consommation des protéines de sardine combinées à l'extrait de *Citrus latifolia*. Ces résultats laissent suggérer que la combinaison des protéines de poisson avec *Citrus latifolia* dans le régime enrichi en cholestérol diminue l'hypersensibilité des rats aux dommages provoqués par le phénomène de peroxydation.

Les isoprostanes sont des biomarqueurs clés qui jouent un rôle sur la production des radicaux libres dans la pathogenèse des maladies cardiovasculaires (**Janicka et al., 2010**). Notre étude montre au niveau plasmatique, une réduction des concentrations des isoprostanes (IsoPs) chez les groupes d'animaux hypercholestérolémiques traités avec la protéine de sardine, l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* et la combinaison des deux comparés au groupe HC non traité. **Paschalis et al., (2014)** ont remarqué que la supplémentation en vitamine C réduit les concentrations en F2-isoprostanes et en dérivés carbonylés chez l'homme sain. Des effets similaires ont été rapporté par **Bernabe et al., (2013)** qui ont constaté une réduction dans les concentrations en F2-isoprostanes et en dérivés carbonylés au cours d'une étude clinique menée en Espagne chez des sujets atteints de

syndrome métabolique et consommant quotidiennement durant 6 mois 300 mL d'un jus à base d'agrumes.

L'évaluation de l'oxydation protéique peut se faire par l'appréciation des dérivés carbonylés, marqueurs du stress oxydatif. L'oxydation protéique concerne principalement les protéines comportant des groupements thiols. Elle entraîne l'inactivation de plusieurs fonctions enzymatiques, la destruction excessive de certaines protéines par des protéases et la formation de dérivés carbonylés qui représentent le produit principal de l'oxydation des protéines (**Cecarini et al., 2007**).

Notre étude montre qu'au niveau du plasma, du foie, du cœur et du tissu adipeux, l'oxydation protéique est plus importante chez le groupe HC-*Ps* comparé au groupe HC. En effet, les teneurs en carbonyles sont significativement élevées. Certains acides aminés pourraient être incriminés.

Garcia-Arias et al., (2003) ont montré que la protéine de sardine est plus riche en lysine comparée à la caséine. De plus, **Cecarini et al., (2007)** ont montré que les acides aminés les plus sensibles sont les acides aminés aromatiques, la méthionine et la lysine qui peuvent être oxydées de façon irréversible, ce qui modifie la structure des protéines et peut ainsi altérer leur activités. Les protéines modifiées deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées.

Cependant, nos résultats indiquent un effet bénéfique de l'extrait aqueux de *Ci* vis-à-vis de l'oxydation protéique. En effet, les concentrations en dérivés carbonylés sont réduites de façon significative dans le plasma, le foie, le cœur et le tissu adipeux, témoignant d'une diminution de l'oxydation protéique et d'un fonctionnement cellulaire normal chez les rats hypercholestérolémiques traités avec l'extrait aqueux de *Ci* comparés aux rats non traités.

L'augmentation des carbonyles est un signe de dysfonctionnement cellulaire (**Shacter, 2000**). Par ailleurs, **Renugadevi et al., (2010)** ont suggéré que la naringénine pourrait être bénéfique en protégeant la cellule contre les dommages oxydatifs induits par le cadmium chez l'animal. De même, **Pari et al., (2012)** ont montré que les citroflavonoïdes agissent en tant qu'agent hépatoprotecteur puissant contre l'hépatotoxicité induite par l'augmentation de l'oxydation protéique chez des rats mâles Wistar.

Le stress oxydatif est un phénomène sous-jacent à l'hypercholestérolémie (**Schultz-Moreira et al., 2011**). En effet, **Lassoued et al., (2014)** ont trouvé que l'hypercholestérolémie est associée à la détérioration de l'état antioxydant, résultant de l'augmentation des taux des marqueurs de la peroxydation lipidique (MDA) et une diminution de l'activité de quelques enzymes antioxydantes.

L'organisme dispose d'enzymes antioxydantes telles que les superoxydes dismutases (SOD), les catalases, les glutathion réductases (GSSH-Red) et les glutathion peroxydases (GSH-Px), qui agissent à la source même de la réaction en chaîne induite par les espèces réactives de l'oxygène et constituent donc, le premier et l'un des principaux maillons du processus de défense contre les radicaux libres (**Matsuda & Shimomura, 2013**).

La superoxyde dismutase transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la glutathion peroxydase ou la catalase empêchant ainsi, la formation des radicaux libres oxygénés plus agressifs comme le peroxy-nitrite ou le radical hydroxyle (**Afonso et al., 2007**). Elle assure ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydant.

L'enrichissement du régime en cholestérol peut influencer l'activité des enzymes impliquées dans la défense antioxydante. En effet, l'étude de **Mantha et al., (1993)** a montré chez le lapin consommant un régime enrichi en cholestérol, une diminution de l'activité de la SOD au niveau sérique.

Dans notre étude, l'élévation de l'activité de la SOD et de la CAT au niveau du foie, du tissu adipeux et du cœur chez les groupes d'animaux hypercholestérolémiques traités avec la protéine de sardine, l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* et la combinaison des deux comparés au groupe HC non traité, pourrait contribuer à une meilleure protection antiradicalaire. D'autre part, l'augmentation de l'activité de la GSH-Px au niveau hépatique et cardiaque pourrait supposer l'augmentation de la production du glutathion, étant donné que le glutathion est le substrat spécifique de cette enzyme.

Dans notre étude, le contenu élevé en cystéine dans la protéine de sardine (1,2 g/100g) par rapport à la caséine (0,4 g/100g) contribuerait à l'augmentation de l'activité de la GSH-Px et pourrait protéger les composés cellulaires des dommages de la peroxydation. De plus, le traitement avec les protéines de sardine et l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce de *Ci* entraîne une réduction des peroxydes lipidiques au niveau des tissus; ce qui laisse supposer une neutralisation des radicaux libres produits par l'hypercholestérolémie. De même, la protéine de sardine semble protéger les érythrocytes, le foie et le tissu adipeux de l'attaque radicalaire induite par le régime enrichi en cholestérol. Le rôle des acides aminés aromatiques dans le piégeage des radicaux libres par libération d'atomes d'hydrogène a été bien établi (**Saito et al., 2003 ; Kim et al., 2001**).

Landmesser et al. (2000) ont suggéré que la SOD extracellulaire pourrait protéger les LDL de l'oxydation mais paradoxalement, pourrait également favoriser l'oxydation des LDL. **Ónody et al., (2003)** ont rapporté que la protéine de sardine comparée à la caséine avec ou

sans cholestérol, n'induit aucune variation de l'activité de la SOD au niveau du cœur chez le rat Wistar rendu hypercholestérolémique avec un régime supplémenté avec 2% de cholestérol. Des résultats identiques ont été trouvés par **Hamza-Reguig et al., (2008)** qui ont constaté que l'activité de la SOD au niveau érythrocytaire est similaire chez des rats consommant la protéine sardine enrichie avec 1,5% de cholestérol à celle des rats consommant de la caséine sans cholestérol.

La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de la glutathion peroxydase est limitée (**Mélançon et al., 2006**). Chez l'homme, la catalase est particulièrement active dans les érythrocytes, le foie, le poumon et le rein (**Cecarini et al., 2007**). L'étude de **Hamza-Reguig et al., (2008)** a montré chez des rats consommant un régime enrichi en cholestérol (1,5%) contenant la protéine sardine comparé à la caséine, une diminution de l'activité de la catalase dans les érythrocytes, et inversement son augmentation au niveau du tissu adipeux, des muscles et du cœur. La protéine de sardine contient une quantité importante d'histidine. L'histidine aurait une capacité à donner des atomes d'hydrogène, à piéger les radicaux peroxydes lipidiques et à chélater les ions métalliques du fait de la présence du groupement imidazole (**Chan & Decker, 1994**). Les acides aminés basiques du fait de leur capacité à accepter des électrons, bloqueraient la chaîne d'oxydation (**Suetsuna et al., 2000**).

Plusieurs études ont mis en évidence que le stress oxydant réduit la synthèse et la biodisponibilité du NO (**Durmus et al., 2008 ; Beaudeux et al., 2006 ; Lerman et al., 2005**). L'implication de l'oxyde nitrique (NO) produit par les cellules de l'endothélium vasculaire est bien établie dans le processus athéromateux. Il joue un rôle central dans le maintien de certaines réactions physiologiques, dans la pathogenèse des maladies cardiovasculaires et aussi dans le traitement cardiovasculaire (**Napoli & Ignarro, 2009**). Les pathologies cardiovasculaires sont accompagnées d'une biodisponibilité restreinte du NO (**Bian et al., 2008**). La production de NO se fait par l'oxydation de l'acide aminé L-arginine (**Napoli & Ignarro, 2009**) dont la sardine en est riche.

Les facteurs de risque cardiovasculaires augmentent le stress oxydant dans la paroi artérielle et perturbent de ce fait, la fonction vasomotrice dépendante de l'endothélium via le NO. De plus, l'hypercholestérolémie perturbe l'ultrastructure et le fonctionnement des cavéoles des cellules endothéliales, et les régulations physiologiques de l'oxyde nitrique (**Heymes et al., 2005**).

Dans cette étude, la réduction du NO au niveau du foie, du cœur et du tissu adipeux chez le groupe HC-*Ps+Ci*, comparés au groupe HC, pourrait être associée soit à la diminution de sa production, soit à l'augmentation de la formation du peroxy-nitrite (ONOO⁻). Il ressort de ces résultats que l'ensemble de ces altérations serait la conséquence du stress oxydant induit par la consommation du régime enrichi en cholestérol, en particulier, la diminution de la biodisponibilité du NO dans le groupe HC.

D'autre part, une baisse du NO a été observée au niveau hépatique et cardiaque avec le régime à base de protéines de sardine et de l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce du *Citrus latifolia* par rapport au régime HC. Le NO est connu pour être une molécule anti-athérogène (Cooke, 2003).

Onody *et al.*, (2003), ont rapporté que la consommation d'un régime supplémenté en cholestérol (2%) pendant 8 semaines entraîne une diminution significative du NO au niveau du cœur chez le rat hypercholestérolémique comparé au rat normocholestérolémique. Cependant, le mécanisme impliqué dans la réduction du NO n'est pas bien connu. Une diminution de la production de NO peut être consécutive à une réduction de l'expression et/ou de l'activité enzymatique de la NO synthase endothéliale (eNOS), une réduction de la disponibilité de son substrat et/ou d'un ou de plusieurs cofacteurs essentiels à sa production (Cuevas & Germain, 2004).

D'autre part, Bouderbala *et al.*, (2009), ont noté une augmentation du NO au niveau du foie, du cœur et du tissu adipeux chez le rat hypercholestérolémique traité avec un extrait aqueux d'*Ajuga iva* comparé au rat non traité. Ces auteurs ont suggéré une augmentation de la production et/ou une diminution de l'élimination du NO.

Il apparaît que les protéines de poisson corrigent le stress oxydatif au niveau érythrocytaire. Notre étude rapporte une diminution des teneurs en TBARS, en hydroperoxydes et en carbonyles des érythrocytes avec les régimes à base de protéines de sardine et d'extrait de *citrus latifolia* comparativement aux régimes HC. Ces résultats pourraient s'expliquer par l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes.

Le screening phytochimique de *citrus latifolia* révèle la présence de flavonoïdes, connus pour leurs effets antioxydants et leur rôle dans la captation des radicaux libres prévenant ainsi contre la peroxydation des lipides. L'effet bénéfique de *citrus latifolia* contre le stress oxydatif pourrait être corrélé à la présence de ces composants bioactifs.

Chez le rat hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux de *citrus latifolia*, le système de défense antioxydante est plus efficace dans les érythrocytes que dans les autres

tissus étudiés. Cet extrait est donc capable de réduire la peroxydation des lipides et par conséquent de prévenir contre les dommages induits par le stress oxydatif.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Il existe de plus en plus d'évidences sur les relations de cause à effet entre l'alimentation et le développement des maladies chroniques telles que l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie, l'obésité et l'hypertension artérielle, facteurs de risque des maladies cardiovasculaires.

Le présent travail a permis d'évaluer le potentiel protecteur des protéines de sardine, de l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* et de la combinaison des deux vis-à-vis des anomalies du métabolisme des lipides et des lipoprotéines, d'une part, et du statut oxydo-réducteur d'autre part, induites chez le rat avec un régime enrichi en cholestérol (1%).

Le traitement avec la protéine de sardine chez le groupe hypercholestérolémique (HC-Ps) comparé au groupe non traité (HC) entraîne un poids corporel similaire en dépit d'une consommation alimentaire identique chez les deux groupes de rats. La protéine de sardine permet de couvrir les besoins nutritionnels du rat. En revanche, l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* et les protéines de sardine combinées à l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* induit une réduction du poids des rats consommant le régime enrichi en cholestérol.

L'activité plasmatique des transaminases est diminuée, reflétant ainsi que *Citrus latifolia* n'est pas toxique à la dose administrée.

Dans la deuxième partie de cette investigation, nous nous sommes fixés comme objectif de vérifier si l'isolat de protéines de sardine, l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* et la combinaison des deux pouvait avoir un impact favorable sur la dyslipidémie induite par la consommation du cholestérol. Nous avons démontré qu'une exposition de 4 semaines au régime enrichi en cholestérol augmente les concentrations en triglycérides, en phospholipides, en cholestérol total et en apo B100 et diminue celles de l'apo A-I. De plus, une stéatose hépatique avec un accroissement du poids du foie ont été observés en raison d'une augmentation des contenus en triglycérides, en phospholipides et en cholestérol total. Comparativement aux rats traités, une augmentation des TG des VLDL, des LDL-HDL₁ et des HDL₂ est observée chez les rats rendus hypercholestérolémiques. Le traitement des animaux avec les protéines de sardine, l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* ou les protéines de sardine combinées à l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* contrecarre ces effets.

La consommation des protéines de sardine et de l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* pendant 28 jours semble corriger les perturbations du métabolisme lipidique causées par le régime hypercholestérolémique. En effet, les teneurs plasmatiques et hépatiques en cholestérol total ainsi que les teneurs en cholestérol des VLDL et des LDL-HDL₁ sont plus faibles comparées à celles du groupe HC.

Ces résultats seraient probablement dus à une activation de la synthèse des acides biliaires et/ou à une perturbation du cycle entéro-hépatique par inhibition de la synthèse des acides gras hépatiques. De plus, l'hypotriglycémie observée avec les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé d'écorce de *Citrus latifolia* serait liée d'une part, à une diminution de la production des TG par le foie et d'autre part, à la baisse des TG des VLDL (les principales fractions lipoprotéiques porteuses de TG) par augmentation probable de leur catabolisme.

Par ailleurs, les rats soumis aux régimes à base de protéines de sardine et d'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* présentent une baisse significative de la masse des HDL₃, alors que celle des HDL₂ n'est pas modifiée. L'enrichissement des HDL₂ en cholestérol en particulier en esters de cholestérol chez les rats traités indique une stimulation de la LCAT, comparée aux rats non traités.

Les rapports d'athérogénicité CT/C-HDL, C-VLDL+LDL-HDL₁/C-HDL et Apo B100/Apo A-I, sont significativement plus faibles après consommation du régime à base de protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* supplémenté en cholestérol qu'avec le régime HC. Le rôle antiathérogène de la protéine de sardine et de l'extrait de *Citrus latifolia* est encore renforcé par une forte activité paraoxonasique. La prévention des altérations lipidiques et lipoprotéiques serait un moyen de contrer la progression des complications d'une hypercholestérolémie. Ces résultats laissent suggérer que l'amélioration de la dyslipidémie par les protéines de sardine et l'extrait de *Citrus latifolia* pourrait médier en partie les effets antiathérogènes des protéines de poisson et de l'extrait de *Citrus latifolia*.

La troisième partie de cette étude consiste à mettre en évidence le rôle des protéines de poisson et l'extrait de *Citrus latifolia* sur les altérations de la fonction hépatique et rénale induites par le cholestérol. Nous avons souligné que l'administration du cholestérol au régime protéique induit une augmentation des concentrations en créatinine et en acide urique plasmatiques et urinaires, due probablement aux altérations de la fonction rénale. Par ailleurs, une augmentation des transaminases plasmatiques est observée suite à la consommation chronique du cholestérol, suggérant une atteinte hépatique liée probablement à la lipotoxicité du foie. Le traitement des rats avec l'extrait de *Citrus latifolia* améliore la fonction rénale par

diminution des concentrations en créatinine et en acide urique plasmatique par rapport au groupe HC.

Enfin, la dernière partie de ce travail nous a conduits à caractériser et évaluer précisément les actions des protéines de sardine et l'extrait du *citrus latifolia* sur le stress oxydatif induit par le cholestérol.

Les effets de ce stress oxydant ont été objectivés par la production des TBARS, des hydroperoxydes, des Isoprostanes et des carbonyles au niveau des tissus, des érythrocytes et par l'augmentation du NO plasmatique, qui pourrait refléter la réduction des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GSH-Px et GSSH-Red), traduisant ainsi une augmentation de la peroxydation lipidique et par conséquent, des dommages cellulaires par la formation excessive des radicaux libres. Ce constat est susceptible d'expliquer la fuite des transaminases hépatiques et leur passage dans le sang. Les protéines de sardine et l'extrait du *citrus latifolia* ont une action bénéfique sur le statut redox par ses actions antioxydantes, en protégeant spécifiquement certains organes cibles de l'athérosclérose : en stimulant le système de défense antioxydante, et en atténuant l'attaque radicalaire, ce qui pourrait réduire la progression de l'athérosclérose chez l'homme, et être en faveur d'un effet protecteur contre le risque cardiovasculaire.

L'ensemble de ces résultats a contribué en partie à valoriser le potentiel santé des protéines de sardine combinées à l'extrait du citrus latifolia sur les troubles métaboliques, oxydatifs dans un modèle expérimental rendu hypercholestérolémique induit par du cholestérol alimentaire. En effet, La protéine de sardine, riche en arginine (précurseur direct du monoxyde d'azote) combinée à l'extrait aqueux du Citrus latifolia semble avoir un effet hypocholestérolémiant, un effet hypotriglycéridémiant, antiathérogène et préventif de contre l'effet d'un régime hypercholestérolémiant chez le rat Wistar. Cela conduit à un rôle probable de ces deux supplémentation dans la protection contre l'athérosclérose et donc une nouvelle approche préventive contre le risque cardiovasculaire. De plus, il apparaît que la protéine de sardine et l'extrait aqueux du citrus latifolia pourraient avoir une action bénéfique sur le statut redox par son action antioxydante, ce qui laisse suggérer ainsi, que la consommation des protéines de sardine et du citron vert pourraient constituer une cible thérapeutique très prometteuse pour le traitement de l'hypercholestérolémie et des désordres associés.

Ces résultats laissent entrevoir la possibilité d'élaborer de nouvelles approches thérapeutiques nutritionnelles afin de diminuer ou idéalement neutraliser les effets métaboliques, oxydatifs néfastes du cholestérol athérogénique. La consommation des protéines de sardine et du citron semble être une stratégie attrayante de lutte contre l'hypercholestérolémie.

Ces travaux ouvrent un certain nombre de perspectives et appellent un prolongement de certaines études afin de pouvoir approfondir la compréhension des mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques des protéines de sardine et de *Citrus latifolia*. Des études supplémentaires, notamment à long terme, sont nécessaires pour confirmer ce potentiel extrêmement intéressant des protéines de sardine et de *Citrus latifolia* et déterminer le ou les mécanisme(s) qui permettent cet effet préventif identifié dans la présente étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- ❏ **Abdelhalim M.A. & Alhadlaq H. (2008).** Effects of cholesterol feeding periods on blood hematology and biochemistry of rabbits. *Inter J Biol Chem.* **2(2)**: 49-53.
<http://www.scialert.net/abstract/?doi=ijbc.2008.49.53>
- ❏ **Ackman R.G. (1995).** Composition and nutritional value of fish and shellfish lipids. Fish and Fishery Products. In Ruither A edition. Fish and fishery products. CAB International, Oxford, United Kingdom; **pp.** 117-156.
- ❏ **Adiels M., Olofsson S.O., Taskinen M.R. & Boren J. (2006).** Diabetic dyslipidaemia. *Curr Opin Lipidol.* **17(3)**: 238-246.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16680028>
- ❏ **Aebi H. (1974).** Catalase. In Methods of Enzymatic Analysis. Second edition. Edited by Berg Meyer H. Verlag Chemie, Weinheim, Germany; **pp.** 673-684.
- ❏ **Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P. & Lomri A. (2007).** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Rev rhum.***74**: 636-643.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17590367>
- ❏ **Ait Yahia D., Madani S., Prost J., Bouchenak M. & Belleville J. (2005).** Fish protein improves blood pressure but alters HDL₂ and HDL₃ composition and tissue lipoprotein lipase activities in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Nutr.* **44**: 10-17.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15309459>
- ❏ **Akiyama S., Katsumata S., Suzuki K., Ishimi Y., Wu J. & Uehara M. (2010).** Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced marginaltype 1 diabetic rats. *J Clin Biochem Nutr.* **46**: 87-92.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20104270>
- ❏ **Amarenco P. & Steg P.G. (2007).** The paradox of cholesterol and stroke. *Lancet.* **370(9602)**: 1803-1804.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18061038>
- ❏ **Amold J.H., Pritchard K.A., Greco N.J. & Panganamala R.V. (1992).** Production of platelet thromboxane A₂ and arterial prostacyclin I₂ from hypercholesterolemic rats. *Prostag Leuk Essent Fatty Acids.* **46(3)**: 215-217.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1508954>

- ❏ **Anandan R. & Subramanian P. (2012).** Renal protective effect of hesperidin on gentamicin-induced acute nephrotoxicity in male Wistar albino rats. *Redox Rep.* **17(5)**: 219-226.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22889751>
- ❏ **Arafa H.M. (2005).** Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Med Sci Monit.* **11(7)**: BR228-234.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15990684>
- ❏ **Assini J.M., Mulvihill E.E. & Huff M.W. (2013).** Citrus flavonoids and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol.* **24(1)**: 34-40.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23254473>
- ❏ **Asztalos B.F. & Schaefer E.J. (2003).** HDL in atherosclerosis: actor or bystander? *Atheroscler Suppl.* **4(1)**: 21-29.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12714034>
- ❏ **Athmani N., Boualga A., Senhadji-Lamri M.Y. & Bouchenak M. (2005).** HDL₂, HDL₃ and LCAT activity in hypercholesterolemic rats fed sardine protein. International Conference Traditional Mediterranean. *Past, Present and Futur.* pp. 109-112.
- ❏ **Atkin M.A., Gasper A. & Ullegaddi R. (2005).** Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants *in vitro* and to antioxidants supplementation. *Clin Chem.* **51(11)**: 2138-2144.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16123150>
- ❏ **Balkan J., Doğru-Abbasoğlu S., Aykaç-Toker G. & Uysal M. (2004).** Serum pro-oxidant-antioxidant balance and low-density lipoprotein oxidation in healthy subjects with different cholesterol levels. *Clin Exp Med.* **3(4)**: 237-242.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15103515>
- ❏ **Bansal M. & Jaswal S. (2009).** Hypercholesterolemia induced oxidative stress is reduced in rats with diets enriched with supplement from *Dunaliella salina*. *Am J Bio Sci.* **1(3)**: 196-204.
<http://www.nwpii.com/ajbms/I-09-03.shtml>
- ❏ **Barros H.R., Ferreira T.A. & Genovese M.I. (2012).** Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chem.* **134(4)**: 8-1892.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23442635>
- ❏ **Bastida S., García-Linares M.C., Viejo J., García-Arias M.T. & Sánchez-Muniz F.J. (2006).** Effect of olive oil-Fried sardine consumption on cholesterol content in the serum, lipoproteins, spleen and adipose tissue of hypercholesterolemic Rats. *Ann Nutr Metab.* **50(1)**: 54-58.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16276077>
- ❏ **Baudin B. & Cohen A. (2009).** Données épidémiologiques des maladies cardiovasculaires et prise en charge des accidents cardiovasculaires. *Revue francophone des laboratoires.* **409(39)**: 27-39.
<http://www.em-consulte.com/en/article/200203#N1025D>

- ❏ **Beaudeux J., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. & Peynet J. (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Imm Ana Biol.* **21(3)**: 144-150.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923253206000214>
- ❏ **Belkheiri N. (2010).** Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse.
http://thesesups.ups-tlse.fr/961/1/Belkheiri_Nadji_.pdf
- ❏ **Bellomo G. (2006).** Microalbuminuria and uric acid in healthy subjects. *J Nephrol.* **19(4)**: 458-464.
<http://europepmc.org/abstract/med/17048203>
- ❏ **Benavente-Garcia O. & Castillo J. (2008).** Update on uses and properties of *citrus* flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *J Agric Food Chem.* **56(15)**: 6185-6205.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18593176>
- ❏ **Ben Khaled H., Ghilissi Z., Chtourou Y., Hakim A., Ktari N., Fatma M.A., Barkia A., Sahnoun Z. & Nasri M. (2012).** Effect of protein hydrolysates from sardinelle (*Sardinella aurita*) on the oxidative status and blood lipid profile of cholesterol-fed rats. *Food Res Int.* **45(1)**: 60-68.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911005643>
- ❏ **Benyahia-Mostefaoui A., Dehiba F., Boualga A., Taleb-Senouci D., Lamri-Senhadji M.Y. (2014).** Milk lipids and sardine oil intake modulate differently enzymatic antioxidant defense in rats fed an atherogenic diet. *J Exper Integ Med.* **4(2)**: 115-121.
<http://www.scopemed.org/?mno=153602>
- ❏ **Bergeron N., Deshaies Y. & Jacques H. (1992).** Factorial experiment to determine influence of fish protein and fish oil on serum and liver lipids in rabbits. *Nutrition.* **8(5)**: 354-358.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1421781>
- ❏ **Bernabé J, Mulero J, Cerdá B, García-Viguera C, Moreno D.A, Parra S, Avilés F, Abellán J, Zafrilla P. (2013).** Effects of a *citrus* based juice on biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome patients. *Journal of Functional Foods.* **5(3)**: 1031-1038.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464613000613>
- ❏ **Berrouiguet A.Y., Benyoucef M., Meguenni K. & Brouri M. (2009).** Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires à Tlemcen(Algérie). *Médecine des maladies Métaboliques.* **3(3)**: 313-319.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1957255709747613>
- ❏ **Besbes M., Taleb-Senouci D., Chabane F.Z., Boukhari Benahmed Daidj N, Lamri-Senhadji M.Y. (2013).** Effects of white lupin associated with wheat or oat on hyperglycemia, dyslipidemia and reverse cholesterol transport in obese rats. *J Exp Integr Med.* **3(3)**: 205-212.

<http://www.scopemed.org/?mno=34259>

- ❑ **Bian K., Doursout M.F. & Murad F. (2008).** Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *J Clin Hypertens.* **10(4):10-304.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18401228>
- ❑ **Bok S.H., Lee S.H., Park Y.B., Bae K.H., Son K.H., Jeong T.S. & Choi M.S. (1999).** Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and acyl CoA:cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J Nutr.* **129(6): 1182-1185.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10356084>
- ❑ **Bolayirli I.M., Aslan M., Balci H., Altug T. & Hacibekiroglu M. (2007).** Effects of atorvastatin therapy on hypercholesterolemic rabbits with respect to oxidative stress, nitric oxide pathway and homocysteine. *Life Sci.* **81(2): 121-127.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17532>
- ❑ **Bolkent S., Yanardag R., Karabulut-Bulan O. & Yesilyaprak B. (2005).** Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. *J Ethnopharmacol.* **99(3): 391-398.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15946812>
- ❑ **Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Peynet J., Legrand A. & Delattre J. (1999).** High density lipoproteins (HDL) and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med.* **37(10): 939-948.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10616747>
- ❑ **Boshtam M., Moshtaghian J., Naderi G. & Asgary S. (2010).** *Citrus limon* Burm f. can change affinity of LDL and ox-LDL to their receptors in rabbits with atherogenic diet. *Atheroscler Suppl.* **11(2):145**
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567568810706784>
- ❑ **Bostick R.M., Fosdick L., Grandits G.A., Grambsch P., Gross M. & Louis T.A. (2000).** Effect of calcium supplementation on serum cholesterol and blood pressure. A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Arch Fam Med.* **9(1): 8-31.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10664640>
- ❑ **Bouderbala S., Lamri-Senhadj M., Boualga A., Belleville J., Prost J. & Bouchenak M. (2009).** Reverse cholesterol transport in hypercholesterolemic rats fed different proteins and lipids origins. *Nutrition & Food Science.* **39:128-141.**
<http://europepmc.org/abstract/AGR/IND44204196>
- ❑ **Bouglé D. (2007).** Peptides fonctionnels marins. *Phytothérapie.* **5(S1): 22-26.**
<http://link.springer.com/article/10.1007/s10298-007-0230-x>
- ❑ **Boukourt F.O., Girard A., Prost J., Belleville J & Bouchenak M. (2006).** Les protéines de poisson modulent le métabolisme des triglycérides ainsi que les activités de la triglycéride-lipase et des lipoprotéines lipases tissulaires chez le rat spontanément hypertendu (SHR) et le SHR diabétique. *Arch Mal Cœur Vaiss.* **99(7-8): 727-731.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17061453>

- ❏ Bresson J.L., Avignon A., Barbe P., Basdevant A., Colette C., Constans T., Cosnes J., Crenn P., Delarue J., Fouque D., Gerber M., Gin H., Guebre-Egziabher F., Guy-Grand B., Hébuterne X., Krempf M., Lalau D., Lamisse F., Lesourd B., Martin A., Melchior J.C., Messing B., Monnier L., Moulin P., Oppert J.-M., Piche T., Quilliot D., Raccach D., Rigaud D., Simon C., Schlienger J.L., Vague P., Vahedi K., Valensi P., Vialettes B. & Ziegler O. (2001). Athérosclérose: physiopathologie, évaluation du risque cardio-vasculaire et prévention nutritionnelle. *Cah Nutr Diét.* **36**: 2S88-2S95.
<http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/disciplines/Nutrition/polynut.pdf>
- ❏ Brickell C. (2003). The Royal horticultural Society A-Z Encyclopedia of Garden Plants. *Third edition*. Dorling Kindersley, London, United Kingdom.
- ❏ Burstein M., Fine A., Atger V., Wirbel E. & Girard-Globa A. (1989). Rapid method for isolation of two purified subfractions of high density lipoproteins by differential dextran sulfate-magnesium chloride precipitation. *Biochimie.* **71(6)**: 741-746.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2473783>
- ❏ Burstein M., Scholnick H.R. & Morfin R. (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res.* **11(6)**: 95-583.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4100998>
- ❏ Cadet J., Douki T., Frelon S., Sauvaigo S., Pouget J.P. & Ravanat J.L. (2002). Assessment of oxidative base damage to isolated and cellular DNA by HPLC-MS/MS measurement. *Free Radic Biol Med.* **33(4)**: 441-449.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12160926>
- ❏ Calleja L., Paris M.A. & Paul A. (1999). Low-cholesterol and high-fat diets reduce atherosclerotic lesion development in ApoE-knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **19**: 2368-2375.
<http://atvb.ahajournals.org/content/19/10/2368.abstract>
- ❏ Cecarini V., Gee J., Fioretti E., Amici M., Angeletti M., Eleuteri A.M. & Keller J.N. (2007). Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. *Bioch Biophys Acta.* **1773(2)**: 93-104.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17023064>
- ❏ César T.B., Oliveira M.R.M., Mesquita C.H. & Maranhão R.C. (2006). High cholesterol intake modifies chylomicron metabolism in normolipidemic young men. *J Nutr.* **136(4)**: 971-976.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16549459>
- ❏ Chabane F.Z., Louala S., Boukhari N., Besbes M., Lamri-Senhadji M.Y. (2013). Effects of two hypocaloric diets supplemented with white lupine or oats on lipid peroxidation, paraoxonase activity and reverse cholesterol transport in obese rat. *JFR.* **2(5)**: 1-9.
<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jfr/article/view/29297>

- ❏ **Chan K.M. & Decker E.A. (1994).** Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **34(4)**: 403-426.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7945896>
- ❏ **Chen A. & Lacko M. (1986).** Determinations of endogenous cholesterol esterification by Lecithin: cholesterol acyltransferase in plasma. *Methods in Enzymol.* **129**: 781-782.
- ❏ **Chenni A., Ait Yahia D., Boukortt F.O., Prost J., Lacaille-Dubois M.A., Bouchenak M. (2007).** Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *J Ethnopharmacol.* **109**: 207-213.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16949233>
- ❏ **Choi G.S., Lee S., Jeong T.S., Lee M.K., Lee J.S., Jung U.J., Kim H.J., Park Y.B., Bok S.H. & Choi M.S. (2004).** Evaluation of hesperetin 7-O-lauryl ether as lipid-lowering agent in high-cholesterol-fed rats. *Bioorg Med Chem.* **12(13)**: 3599-3605.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15186844>
- ❏ **Choi H.S., Song H.S., Ukeda H. & Sawamura M. (2000).** Radical-scavenging activities of *Citrus* essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J Agric Food Chem.* **48(9)**: 4156- 4161.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10995330>
- ❏ **Cicero A.F., Salvi P., D'Addato S., Rosticci M. & Borghi C. (2014).** Association between serum uric acid, hypertension, vascular stiffness and subclinical atherosclerosis: data from the Brisighella Heart Study. *J Hypertens.* **32(1)**: 57-64.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24309486>
- ❏ **Cillard J. & Cillard P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps Gras. Lipides.* **13(1)**: 24-29.
<http://www.ocl-journal.org/articles/ocl/abs/2006/01/ocl2006131p24/ocl2006131p24.html>
- ❏ **Cirico T.L. & Omaye S.T. (2006).** Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food Chem Toxicol.* **44(4)**: 510-516.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16216401>
- ❏ **Coats A.J. (1998).** The potential role of soluble fiber in the treatment of hypercholesterolemia. *Postgrad Med J.* **74(873)**: 391-394.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2360990/>
- ❏ **Cooke C.L. & Davidge S.T. (2003).** Endothelial-dependent vasodilatation is reduced in mesenteric arteries from superoxide dismutase knockout mice. *Cardiovasc Res.* **60(3)**: 635-642.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14659809>

- ❏ **Cortas N. & Wakid N. (1990).** Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* **36(8 Pt 1)**: 1440-1443.
- ❏ **Costa R., Russo M., De Grazia S., Grasso E., Dugo P. & Mondello L. (2014).** Thorough investigation of the oxygen heterocyclic fraction of lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) juice. *J Sep Sci.* **37(7)**:792-797.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2387039>
- ❏ **Costalago D., Garrido S. & Palomera I. (2015).** Comparison of the feeding apparatus and diet of European sardines *Sardina pilchardus* of Atlantic and Mediterranean waters: ecological implications. *J Fish Biol.* **86(4)**:62-1348.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25846858>
- ❏ **Council of European Communities. (1986).** Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Official Journal of European Communities (JO 86/609/CEE)* L 358: 1-28.
- ❏ **Cronquist A. (1982).** An Integrated System of Classification of Flowering Plants. *Brittonia.* **34(2)**: 268-270.
<http://link.springer.com/article/10.2307%2F2806386>
- ❏ **Cuevas A.M. & Germain A.M. (2004).** Diet and endothelial function. *Biol Res.* **37**: 225-230.
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071697602004000200008&lang=pt
- ❏ **Dallongeville J., Yarnell J., Ducimetière P., Arveiler D., Ferrières J., Montaye M., Luc G., Evans A., Bingham A., Hass B., Ruidavets J.B. & Amouyel P. (2003).** Fish consumption is associated with lower hearts rates. *Circulation.* **108(/)**: 820-825.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12912821>
- ❏ **D'Archivio M., Annuzzi G., Vari R., Filesi C., Giacco R., Scazzocchio B., Santangelo C., Giovannini C., Rivellese A.A., Masella R. (2012).** Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. *Eur J Clin Invest.* **42(1)**: 70-78.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21679180>
- ❏ **Daskalopoulou S.S. & Mikhailidis D.P. (2006).** Reaching goal in hypercholesterolaemia: dual inhibition of cholesterol synthesis and absorption with simvastatin plus ezetimibe. *Curr Med Res Opin.* **22(3)**: 511-528.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16574035>
- ❏ **Daviglus M.L., Stamler J. & Orencia A.J. (1997).** Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *New Engl J Med.* **336(15)**: 1046-1053.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9091800>
- ❏ **Defraigne J.O. & Pincemail J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liège.* **63(S1)**: 10-19.
<http://www.rmlg.ulg.ac.be/show.php>

- ❏ **Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. & Peynet J. (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. **21(3)**: 144-150.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923253206000214>
- ❏ **Delsal J.L. (1944).** New procedure for extraction of serum lipides with methylal. Application to microdetermination of total cholesterol, phosphoaminolipides, and proteins. *Bull Soc Chim Biol*. **26**: 99-105.
<http://www.cabdirect.org/abstracts/19461403823.html>
- ❏ **Demonty I., Deshaies Y., Lamarche B. & Jacques H. (2003).** Cod protein lowers the hepatic triglyceride secretion rate in rats. *J Nutr*. **133(5)**: 402-1398.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12730428>
- ❏ **De Peretti C., Nicolau J., Chin F., Tuppin P., Danchin N., Danet S., Iliou M.C. (2014).** Réadaptation cardiaque hospitalière après infarctus du myocarde en France : apports du PMSI-SSR. *Bull Epidemiol Hebd*. **5**: 84-92.
http://www.invs.sante.fr/beh/2014/5/pdf/2014_5.pdf
- ❏ **De Peretti C., Perel C., Chin F., Tuppin P., Iliou M.C., Vernay M., Castetbon K., Danchin N. (2013).** Cholestérol LDL moyen et prévalence de l'hypercholestérolémie LDL chez les adultes de 18 à 74 ans, étude nationale nutrition santé (ENNS) 2006-2007. *Bull Epidemiol Hebd*. **31**: 378-385.
http://www.invs.sante.fr/beh/2013/31/pdf/2013_31_1.pdf
- ❏ **De Rosa S., Cirillo P., Paglia A., Sasso L., Di Palma V. & Chiariello M. (2010).** Reactive oxygen species and antioxidants in the pathophysiology of cardiovascular disease: does the actual knowledge justify a clinical approach? *Curr Vasc Pharmacol*. **8(2)**:75-259.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19758111>
- ❏ **Dimitrova-Sumkovska J., Dosić-Markovska B., Zafirova-Roganović D. & Anastasovska V. (2006).** Effects of different dietary fatty acid supplements upon lipoprotein metabolism and lipid peroxides production in hyperlipidemic rats. *Prilozi*. **27(1)**: 67-86.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16985481>
- ❏ **Direction de la pêche et des ressources halieutiques (DPRH). (2012).** Rapport sur les statistiques des pêches. Edt. DPRH. 2012.
- ❏ **Dornas W.C., Oliveira T., Franklin Augusto L.E. & Nagem T.J. (2010).** Experimental atherosclerosis in rabbits. *Arq Bras Cardiol*. **95(2)**: 272-278.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20857052>
- ❏ **Duan L., Guo L., Liu K., Liu E.H. & Li P. (2014).** Characterization and classification of seven citrus herbs by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines. *J Chromatogr A*. **1339**:27-118.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24656543>

- ❏ Durak I., Ozbek H., Devrim E., Karagenç N. & Ergtider I.B. (2004). Effects of cholesterol supplementation on antioxidant enzyme activities in rat hepatic tissues: possible implications of hepatic paraoxonase in atherogenesis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* **14**(4): 211-214.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15553599>
- ❏ Durmus M., Yilmaz H.R., Uz E. & Özçelik N. (2008). The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) treatment on levels of MDA, NO and antioxidant enzymes activities in retinas of streptozotocin-induced diabetic rats. *Turk J Med Sci.* **38**(6): 1-6.
<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tbtkmedical/article/view/5000029908>
- ❏ Durrington P.N., Mackness B. & Mackness M.I. (2001). Paraoxonase and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **21**(4):473-480.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11304460>
- ❏ Economos C. & Clay W.D. (1999). Nutritional and health benefits of *citrus* fruits. *Food Nutr Agric.* **24**: 11-18.
<http://www.fao.org/docrep/x2650t/x2650t03.htm>
- ❏ Einvik G., Klemsdal T.O., Sandvik L. & Hjerkin E.M. (2010). A randomized clinical trial on n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation and all-cause mortality in elderly men at high cardiovascular risk. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* **17**(5): 588-592.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20389249>
- ❏ Erdogan H., Fadillioglu E., Ozgocmen S., Sogut S., Ozyurt B., Akyol O. & Ardicoglu O. (2004). Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* **71**(3): 149-152.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15253883>
- ❏ FAO. (2014). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Département des pêches et de l'aquaculture de la FAO. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture Rome. 255p.
<http://www.fao.org/3/a-i3720f.pdf>
- ❏ Farzadfar F., Finucane M.M., Danaei G., Pelizzari P.M., Cowan M.J., Paciorek C.J., Singh G.M., Lin J.K., Stevens G.A., Riley L.M. & Ezzati M. (2011). National, regional, and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 321 country and 3.0 million participants. *Lancet.* **377**(9765): 578-586.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21295847>
- ❏ Favier A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Review. L'actualité chimique.* pp. 108-115.
<file:///C:/Users/User/Downloads/2003-nov-dec-269-18-Favier.pdf>

- ❏ **Ferretti G., Bacchetti T., Moroni C., Savino S., Liuzzi A., Balzola F. (2005).** Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab.* **90(3)**: 1728-1733.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15613429>
- ❏ **Ferrières J. (2009).** Effects on coronary atherosclerosis by targeting low-density lipoprotein cholesterol with statins. *Am J Cardiovasc Drugs.* **9(2)**: 109-115.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19331439>
- ❏ **Fujioka T., Nara F., Tsujita Y., Fukushige J., Fukami M. & Kuroda M. (1995).** The mechanism of lack of hypocholesterolemic effects of pravastatin sodium, α -hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, in rats. *Biochem Biophys Acta.* **1254(1)**: 7-12.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7811749>
- ❏ **Gao L., Yin H., Milne G.L., Porter N.A. & Morrow J.D. (2006).** Formation of F-ring isoprostane-like compounds (F₃-isoprostanes) *in vivo* from eicosapentaenoic acid. *J Biol Chem.* **281(20)**: 14092-14099.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16569632>
- ❏ **Garcia-Arias M. T., Alvarez Pontes E., Garcia-Linares M.C., Garcia-Fernandez M. C. & Sanchez-Muniz F. J. (2003).** Grilling of sardine fillets. Effects of frozen and thawed modality on their protein quality. *LWT-Food Science and Technology.* **36(8)**: 763-769.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643803000975>
- ❏ **Gardès-Albert M., font-Rousselot D.B., Abedinzadeh Z. & Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *L'actualité chimique.* pp. 91-96.
http://www.helioxplongee.fr/cariboost_files/Radicaux_20Libres.pdf
- ❏ **Garjani A., Fathiazad F., Zakheri A., Negar Allaf Akbari N.A., Azarmie Y., Fakhrjoo A., Andalib S. & Dizaji N.M. (2009).** The effect of total extract of *Securigera securidaca* L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status and vascular function in hypercholesterolemic rats. *J Ethnopharmacol.* **126(3)**: 525-532.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874109005613>
- ❏ **Getz G.S. & Reardon C.A. (2007).** Nutrition and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **27(12)**: 2499-2506.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954523>
- ❏ **Ghosh D. & Scheepens A. (2009).** Vascular action of polyphenols. *Mol Nutr Food Res.* **53(3)**: 322-331.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19051188>
- ❏ **Giricz Z., Csonka C., Onody A., Csont T. & Ferdinandy P. (2003).** Role of cholesterol-enriched diet and the mevalonate pathway in cardiac nitric oxide synthesis. *Basic Res Cardiol.* **98(5)**: 304-310.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12955403>

- ❑ **González-Molina E., Domínguez-Perles R., Moreno D.A. & García-Viguera C.(2010).** Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J Pharmaceut Biomed.* **51(2)**: 327-345.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19748198>
- ❑ **Gorinstein S., Haruenkit R., Park Y.S., Jung S.T., Zachwieja Z. & Jastrzebski Z.(2004).**, **Katrish E., Trakhtenberg S., Belloso O.M.** Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa sweeties, a new kind of *Citrus* fruit. *J Sci Food Agric.* **84(12)**: 1459-1463.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.1800/full>
- ❑ **Green C.O., Wheatley A.O., McGrowder D.A., Dilworth L.L & Asemota H.N. (2013).** *Citrus* peel polymethoxylated flavones extract modulates liver and heart function parameters in diet induced hypercholesterolemic rats. *Food Chem Toxicol.* **51**: 306-309.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23099503>
- ❑ **Guillaume J., Kaushik S., Bergot P. & Métailler R. (1999).** Fabrication des farines de poisson et contrôle de qualité: Principales matières premières d'origine animale. *Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Eds INRA.* pp. 346-351.
- ❑ **Gül M., Atalay M. & Hänninen O. (2003).** Endurance training and glutathione-dependent antioxidant defense mechanism in heart of the diabetic rats. *J Sport Sci Med.* **2(2)**: 52-61.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24616611>
- ❑ **Gutteridge, J.M. (1995).** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* **41(12 Pt2)**: 1819-1828.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7497639>
- ❑ **Haleng J., Pincemail J. & Defraigne J.O. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liège.* **62(10)**: 628-638.
<http://www.rmlg.ulg.ac.be/RMLGFIX/show.php>
- ❑ **Halliwell, B. (2012).** Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. *Nutrition review.* **70 (5)**: 257-265.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537212>
- ❑ **Hamilton K.L. (2007).** Antioxidants and cardioprotection. *Med Sci Sports Exerc.* **39(9)**: 1544-1553.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17805087>
- ❑ **Hamza-Reguig S., Louala S., Boualga A. & Lamri-Senhadjji M.Y. (2013).** Effect of sardine protein on redox status in hypercholesterolemic rat. *Nutr Food Sci.* **43(3)**: 277-284.
<http://www.emeraldinsight.com/doi/abs/10.1108/00346651311327936>

- ❏ **Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H. & Poutanen H. (2010).** Impact of Dietary Polyphenols On Carbohydrate Metabolism. *Int J Mol Sci.* **11(4)**: 1365-1402.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20480025>
- ❏ **Havel R.J., Eder H.A. & Bragdon J.H. (1955).** The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest.* **34(9)**: 1345-1353.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC438705/>
- ❏ **He F. & Zuo L. (2015).** Redox Roles of Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci.* **16(11)**:27770-27780.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26610475>
- ❏ **He K., Song Y., Daviglus ML., Liu K., Van Horn L., Dyer AR. & Greenland P. (2004).** Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality. *Circulation.* **109(22)**: 2705-2711.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15184295>
- ❏ **Hennekens C.H., Schneider W.R., Barice E.J. & Hebert P.R. (2009).** Modest dietary reductions in blood cholesterol have important public health benefits. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* **14(2)**: 85-88.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19339681>
- ❏ **Herron K.L., Vega-Lopez S., Conde K., Ramjiganesh T., Shachter N.S. & Fernandez M.L. (2003).** Men classified as hypo- or hyperresponders to dietary cholesterol feeding exhibit differences in lipoprotein metabolism. *J Nutr.* **133(4)**: 1036-1042.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12672915>
- ❏ **Heymes C., Swynghedauw B., Samuel IL. (2005).** Myocardial effects of nitric oxide NO, clinical and experimental evidence. *Bull Acad Natl Med.* **189(5)**: 893-901.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16433461>
- ❏ **Horcajada M.N., Habauzit V., Trzeciakiewicz A., Morand C., Gil-Izquierdo A., Mardon J., Lebecque P., Davicco M.J., Chee W.S., Coxam V. & Offord E. (2008).** Hesperidin inhibits ovariectomized-induced osteopenia and shows differential effects on bone mass and strength in young and adult intact rats. *J Appl Physiol.* **104(3)**: 648-654.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18174393>
- ❏ **Hosomi R., Fukao M., Fukunaga K., Okuno M. & Yagita R. (2010).** Effect of fish protein and peptides on lipid absorption in rats. *Trace Nutrients Research.* **27**: 21-27.
http://www.jtnrs.com/sym27/27_021.pdf
- ❏ **Hosomi R., Fukunaga K., Arai H., Kanda S., Nishiyama T. & Yoshida M. (2011).** Effect of simultaneous intake of fish protein and fish oil on cholesterol metabolism in rats fed high-cholesterol diets. *The Open Nutraceuticals Journal.* **4**: 12-19.
<http://connection.ebscohost.com/c/articles/70497778>

- ❑ **Hosomi R., Fukunaga K., Arai H., Nishiyama T. & Yoshida M. (2009).** Effects of dietary fish protein on serum and liver lipid concentrations in rats and the expression of hepatic genes involved in lipid metabolism. *J Agric Food Chem.* **57(19):** 9256-9262.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19739642>
- ❑ **Hu F.B., Bronner L., Willett W.C., Stampfer M.J., Rexrode K.M., Albert C.M., Hunter D. & Manson J.E. (2002).** Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA.* **287(14):** 1815-1821.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11939867>
- ❑ **Hu F.B., Cho E., Rexrode K.M., Albert C.M. & Manson J.E. (2003).** Fish and long-chain omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease and total mortality in diabetic women. *Circulation.* **107(14):** 1852-1857.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12668520>
- ❑ **Hubáček J.A., Bobková D., Bohuslavová R. & Poledne R. (2008).** Differences in expression of cholesterol 7 α -hydroxylase between PHHC and wistar rats. *Folia Biol (Praha).* **54(1):**18-23.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18226361>
- ❑ **Huet O. & Duranteau J. (2008).** Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Reanimation.* **17(4):** 387-392.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1624069308000819>
- ❑ **Hurley C., Galibois I. & Jacques H. (1995).** Fasting and postprandial lipid and glucose metabolisms are modulated by dietary proteins and carbohydrates: role of plasma insulin concentrations. *J Nutr Biochem.* **6(10):** 540-546.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0955286395001037>
- ❑ **Hurtado-Fernandez E., Romero M.G. & Pancorbo A.C. (2010).** Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *J Pharmaceut Biomed.* **53(5):** 1130-1160.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20719447>
- ❑ **Hwu C.M. & Lin K.H. (2010).** Uric acid and the development of hypertension. *Med Sci Monit.* **16(10):** RA224-30.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20885365>
- ❑ **Ioachimescu A.G., Brennan D.M., Hoar B.M., Hazen S.L. & Hoogwerf B.J. (2008).** Serum uric acid is an independent predictor of all-cause mortality in patients at high risk of cardiovascular disease: A preventive cardiology information system (Pre CIS) database cohort study. *Arthritis Rheum.* **58(2):** 623-630.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18240236>
- ❑ **Ingelsson E., Schaefer E. J., Contois J. H., McNamara J. R., Sullivan L., Keyes M. J., Pencina M. J., Schoonmaker C., Wilson P. W., D'Agostino R. B. & Vasan R. S. (2007).** Clinical utility of different lipid measures for prediction of coronary heart disease in men and women. *JAMA.* **298(7):** 776-85.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17699011>



- ❏ **Inoue N. (2014).** Stress and atherosclerotic cardiovascular disease. *J Atheroscler Thromb.* **21(5)**: 391-401.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24561512>
- ❏ **Ishizaka Y., Yamakado M., Toda A., Tani M. & Ishizaka N. (2014).** Relationship between serum uric acid and serum oxidative stress markers in the Japanese general population. *Nephron Clin Pract.* **128(1-2)**: 49-56.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25342428>
- ❏ **Jacobson T.A. (2006).** Secondary prevention of coronary artery disease with omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.* **98(4A)**: 61i-70i.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16919518>
- ❏ **Jacobson T.A., Miller M. & Schaefer E.J. (2007).** Hypertriglyceridemia and cardiovascular risk reduction. *Clin Ther.* **29(5)**: 77-763.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17697898>
- ❏ **Janicka M., Kot-Wasik A., Kot J., Namieśnik J . (2010).** Isoprostanes-biomarkers of lipid peroxidation: their utility in evaluating oxidative stress and analysis. *Int. J. Mol. Sci.* **11(11)**: 4631- 4659.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3000105/>
- ❏ **Jazet-Dongmo P.M., Kuate J., Boyom F.F., Ducelie D., Damesse F. & Zollo, P.H. A. (2002).** Composition chimique et activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles du citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. *Fruits.* **57(2)**: 95-104.
<http://www.fruits-journal.org/articles/fruits/pdf/2002/02/i2002572p95.pdf>
- ❏ **John S. & Schmieder R.E. (2003).** Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia. *Curr Hypertens Rep.* **5(3)**: 199-207.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12724051>
- ❏ **Jonas A. (2000).** Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochim Biophys Acta.* **1529(1-3)**: 46-245.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11111093>
- ❏ **Juma S., Imrhan V., Vijayagopal P. & Prasad C. (2014).** Prescribing personalized nutrition for cardiovascular health: are we ready? *J Nutrigenet Nutrigenomics.* **7(3)**: 153-160.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25634489>
- ❏ **Jung U. J., Lee M.K., Park Y.B., Kang M.A. & Choi M.S. (2006).** Effect of *citrus* flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol.* **38(7)**: 1134-1145.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16427799>
- ❏ **Kang M.J., Shin M.S., Park J.N. & Lee S.S. (2005).** The effects of polyunsaturated:saturated fatty acids ratios and peroxidisability index values of dietary fats on serum lipid profiles and hepatic enzyme activities in rats. *Br J Nutr.* **94(4)**: 32-526.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16197576>

- ❏ **Katan M.B., Vroomen L.H. & Hermus R.J. (1982).** Reduction of casein-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine and alanine. *Atherosclerosis*. **43(2-3)**: 381-391.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6889433>
- ❏ **Kawaguchi K., Mizuno T., Aida K. & Uchino K. (1997).** Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and *Pseudomonas*. *Biosci Biotechnol Biochem*. **61(1)**: 4-102.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9028038>
- ❏ **Kerboua M. (2002).** L'agrumiculture en Algérie. In : D'Onghia A.M. (ed.), Djelouah K. (ed.), Roistacher C.N. (ed.). Proceedings of the Mediterranean research network on certification of citrus (MNCC): 1998-2001. Bari : CIHEAM, pp. 21-26.
<http://ressources.ciheam.org/om/pdf/b43/00800063.pdf>
- ❏ **Khan Y., Khan R.A., Afroz S. & Siddiq A. (2010).** Evaluation of hypolipidemic effect of citrus limon. *J Bas Appl Sci*. **6(1)**: 39-43.
<https://itunes.apple.com/us/book/evaluation-hypolipidemic-effect/id483356754?mt=11>
- ❏ **Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires Insuffisance respiratoire et nutrition. *Nutr Clin Métab*. **20(4)**: 165-177.
<http://www.em-consulte.com/en/article/56273>
- ❏ **Kontush A. & Chapman M.J. (2006).** Antiatherogenic small, dense HDL - guardian angel of the arterial wall? *Cardiovascular Medicine*. **3(3)**: 144-153.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16505860>
- ❏ **Kim H.K., Jeong T.S., Lee M.K., Park Y.B. & Choi M.S. (2003).** Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. *Clin Chim Acta*. **327(1-2)**: 129-137.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12482628>
- ❏ **Kinsky N.I. (1989).** Antioxydants fonction de carotenoids. *Free Rad Biol Med*. **7(6)**: 617-635.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2695406>
- ❏ **Kris-Etherton P.M., Harris W.S. & Appel L.J. (2002).** Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*. **106(21)**: 2747-2757.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12438303>
- ❏ **Kummer R., Fachini-Queiroz F.C., Estevão-Silva C.F., Grespan R., Silva E.L., Bersani-Amado C.A. & Cuman R.K. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *citrus latifolia* tanaka essential oil and limonene in experimental mouse models. *Evid Based Complement Alternat Med*. Article ID 859083, 8 pages.
<http://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/859083/cta/>
- ❏ **Kuo C.L. & La Du B.N. (1995).** Comparison of purified and rabbit serum paraoxonases. *Drug Metab And Disp*, **23(9)**: 935-944.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8565784>

- ❏ **Kurowska E.M., Spence J.D., Jordan J., Wetmore S., Freeman D.J., Piché L.A. & Serratore P. (2000).** HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* **72(5)**: 1095-1100.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063434>
- ❏ **Lacaille B., Julien P., Deshaies Y., Lavigne C., Brun L.D. & Jacques H. (2000).** Responses of plasma lipoproteins and sex hormones to the consumption of lean fish incorporated in a prudent-type diet in normolipidemic men. *J Am Coll Nutr.* **19(6)**: 745-753.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11194527>
- ❏ **Lassoued I., Trigui M., Ghilissi Z., Nasri R., Jamoussi K., Kessis M., Sahnoun Z., Rebai T., Boualga A., Lamri-Senhadjji M., Nasri M. & Barkia A. (2014).** Evaluation of hypocholesterolemic effect and antioxidant activity of Boops boops proteins in cholesterol-fed rats. *Food Funct.* **5(6)**:1224-1231.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24714785>
- ❏ **Lavigne C., Marette A. & Jacques H. (2000).** Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **278(3)**: E491-500.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10710504>
- ❏ **Le N.A. & Walter M.F. (2007).** Intrinsic enzymes of high-density lipoprotein. *J Clin Lipidol.* **1(1)**: 20-30.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21291665>
- ❏ **Leborgne L., Mazière J.C., Mazière C. & Andrejak M. (2002).** Stress oxydant, athérogénèse et facteur de risque cardiovasculaire. *Arch Mal Coeur Vaiss.* **95(9)**: 805-814.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407796>
- ❏ **Lecerf J.M. (2008).** Acide gras et risque cardiovasculaire. Deuxième partie : Acides gras monoinsaturés et polyinsaturés oméga 6. *Méd Nut.* **44(4)**: 161-172.
<http://www.medecine-nutrition.org/articles/mnut/pdf/2008/04/mnut2008444p161.pdf>
- ❏ **Lee M.K., Bok S.H., Jeong T.S., Moon S.S., Lee S.E., Park Y.B. & Choi M.S. (2002).** Supplementation of naringenin and its synthetic derivative alters antioxidant enzyme activities of erythrocyte and liver in high cholesterol-fed rats. *Bioorg Med Chem.* **10(7)**: 2239-2244.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11983521>
- ❏ **Lerman A. & McConnell J.P. (2008).** Lipoprotein-associated phospholipase A2: a risk marker or a risk factor? *Am J Cardiol.* **101(12A)**: 11F-22F.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18549867>
- ❏ **Lerman A. & Zeiher A.M. (2005).** Endothelial function: cardiac events. *Circulation.* **111(3)**: 363-368.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15668353>

- ❏ Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S. & Stadtman E.R. (1990). Determination of carbonyls content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **186**: 64-478.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1978225>
- ❏ Li S., Chen W., Srinivasan S.R., Rong T., Bond M.G. & Berenson G.S. (2007). Race (black-white) and gender divergences in the relationship of childhood cardiovascular risk factors to carotid artery intima-media thickness in adulthood: The Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis.* **194**(2): 421-425.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17123535>
- ❏ Liaset B., Madsen L., Hao Q., Criales G., Mellgren G., Marschall H.U., Hallenborg P., Espe M., Frøyland L. & Kristiansen K. (2009). Fish protein hydrolysate elevates plasma bile acids and reduces visceral adipose tissue mass in rats. *Biochimica et Biophysica Acta.* **1791**(4): 254-262.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19416649>
- ❏ Loeillet D. (2010). In *Cyclope 2010 : les marchés mondiaux*. "La renaissance du Palais d'Eté". Paris : Economica. pp. 421-424.
http://publications.cirad.fr/une_notice.php?dk=555502
- ❏ López D., Möller M., Denicola A., Casós K., Rubbo H., Ruiz-Sanz J.I. & Mitjavila M.T. (2008). Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid from fish oil modulates aortic nitric oxide and tocopherol status in the rat. *Br J Nutr.* **100**(4): 767–775.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18341754>
- ❏ Lorente-Cebrián S., Costa A.G.V., Navas-Carretero S., Zabala M., Martínez J. A. & Moreno-Aliaga M.J. (2013). Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence. *J Physiol Biochem.* **69**(3): 633-651.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23794360>
- ❏ Loscalzo J. (2003). Oxidant stress: a key determinant of atherothrombosis. *Biochem Soc.* **23**(Pt5): 1059-1061.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14505479>
- ❏ Louala S., Lamri-Senhadjji M., Reguig H.S., Bouderbala S., Boualga A. & Bouchenak M. (2011). Effects of highly purified sardine proteins on lipid peroxidation and reverse cholesterol transport in rats fed a cholesterol-rich diet. *Journal of Functional Foods.* **3**(4): 321-328.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464611000715>
- ❏ Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* **193**(1): 265-275.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14907713>

- ❏ **Lu Y.F. & Chiang C.F. (2001).** Effect of dietary cholesterol and fat levels on lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rats. *Int J Vit Nutr Res.* **71(6)**: 339-346.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11840837>
- ❏ **Luro F., Rist D. & Ollitrault P. (2001).** Evaluation of genetic relationships in *citrus* genus by means of sequence tagged microsatellites. *Acta Hort.* **546**: 237-242.
<http://agritrop.cirad.fr/485551/>
- ❏ **Mackness M.I., Durrington P.N. & Mackness B. (2004).** The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drug.* **4(4)**: 211-217.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15285696>
- ❏ **Madani Z., Aït Yahia D., Boukortt F., Louchami K., Sener A. & Bouchenak M. (2010).** Protective role of sardine protein (*Sardina pilchardus*) against high fructose-induced metabolic syndrome rat. *Proc Nutr Soc.* **69(OCE3)**: E295.
http://cnb.uran.ru/userfiles/proceedings_of_the_nutrition_society_volume_69_issue_oce3.pdf
- ❏ **Madero M., Sarnak M.J., Wang X., Greene T., Beck G.J., Kusek J.W., Collins A.J., Levey A.S. & Menon V. (2009).** Uric acid and long-term outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis.* **53(5)**: 796-803.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19303683>
- ❏ **Mahmoud M.F., Hamdan D.I., Wink M. & El-Shazly A.M. (2014).** Hepatoprotective effect of limonin, a natural limonoid from the seed of *Citrus aurantium* var. *bigaradia*, on D-galactosamine-induced liver injury in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* **387(3)**: 251-261.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24258286>
- ❏ **Mantha S.V., Prasad M., Kalra J. & Prasad K. (1993).** Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in rabbits. *Atherosclerosis.* **101(2)**: 135-144.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8379958>
- ❏ **Martin S. & Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann Cardiol Angiol.* **51(6)**: 304-315.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003392802001385>
- ❏ **Martins e Silva J. & Saldanha C. (2007).** Diet, atherosclerosis and atherothrombotic events. *Rev Port Cardiol.* **26(3)**: 277-294.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17549985>
- ❏ **Marzoug D., Boutiba Z., Gibson D.I., Pérez-del-Olmo A. & Kostadinova A. (2012).** Descriptions of digeneans from *Sardina pilchardus* (Walbaum) (Clupeidae) off the Algerian coast of the western Mediterranean, with a complete list of its helminth parasites. *Syst Parasitol.* **81(3)**: 86-169.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22311267>
- ❏ **Matsuda M. & Shimomura I. (2013).** Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obes Res & Clin Pract.* **7(5)**: 330-341.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24455761>
- ❏ **McPherson P.A.C., Young I.S. & McEneny J. (2007).** A dual role for lecithin:cholesterol acyltransferase (EC 2.3.1.43) in lipoprotein oxidation. *Free Radic Biol Med.* **43(11)**: 1484-1493.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17964419>
- ❏ **Meisinger C., Baumert J., Khuseyinova N., Loewel H. & Koenig W. (2005).** Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation.* **112(5)**: 651-657.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16043640>
- ❏ **Mélançon S., Bachelard H., Badeau M., Bourgoïn F., Pitre M., Larivière R. & Nadeau A. (2006).** Effects of high-sucrose feeding on insulin resistance and hemodynamic responses to insulin in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **290(6)**: H2571-2581.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16443676>
- ❏ **Mellouk Z., Ait-Yahia D., Boukortt F.O. Benaïcha N., Madani Z. & Bouchenak M. (2009).** Dietary sardine (*Sardina pilchardus*) protein attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and ameliorates tissue morphology changes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolic and Functional Research on Diabetes.* **2**:45-54.
<http://www.mefred.org/index.php/vol-2>
- ❏ **Men X., Han S., Gao J., Cao G., Zhang L., Yu H., Lu H. & Pu J. (2010).** Taurine protects against lung damage following limb ischemia reperfusion in the rat by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Acta Orthop.* **81(2)**: 263-267.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20148646>
- ❏ **Minhajuddin M., Beg Z.H. & Iqbal J. (2005).** Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats. *Food Chem Toxicol.* **43(5)**: 747-753.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15778015>
- ❏ **Miceli N., Mondello M.R., Monforte M.T., Sdraffakis V., Dugo P., Crupi M.L., Taviano M.F., De Pasquale R. & Trovato A. (2007).** Hypolipidemic effects of Citrus bergamia Risso et Poiteau juice in rats fed a hypercholesterolemic diet. *J Agric Food Chem* **55(26)**: 10671-10677.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18038978>
- ❏ **Milagro F., Javier J. & Martinez J. (2006).** Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity.* **14(7)**: 1118-1123.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/oby.2006.128/full>

- ❏ Milei J., Ferreira R., Llesuy S., Forcada P., Covarrubias J. & Boveris A. (1992). Reduction of reperfusion injury with preoperative rapid intravenous infusion of taurine during myocardial revascularization. *Am Heart J.* **123**: 339-345.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1736568>
- ❏ Minato K., Miyake Y., Fukumoto S., Yamamoto K., Kato Y., Shimomura Y. & Osawa T. (2003). Lemon flavonoid, eriocitrin, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver. *Life Sci.* **72(14)**: 1609-1616.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12551749>
- ❏ Miyake Y., Sakurai C., Usuda M., Fukumoto S., Hiramitsu M., Sakaida K., Osawa T. & Kondo K. (2006). Difference in plasma metabolite concentration after ingestion of lemon flavonoids and their aglycones in humans. *J Nutr Sci Vitaminol.* **52(1)**: 54-60.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16637230>
- ❏ Miyake Y., Yamamoto K., Tsujihara N. & Osawa T. (1998). Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids.* **33(7)**: 689-695.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9688172>
- ❏ Monforte M.T., Trovato A., Kirjavainen S., Forestieri A.M., Galati E.M. & Lo Curto R.B. (1995). Biological effects of hesperidin, a *Citrus* flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. *Farmaco.* **50(9)**: 595-599.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7495469>
- ❏ Monte MJ. & Jimenez R. (1993). Effects of a hypercholesterolemia-inducing diet on biliary electrolytes and lipid secretion in the rat. *Int J Exp Pathol.* **74(2)**: 203-210.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2002114/>
- ❏ Morton G.J., Cummings D.E., Baskin D.G., Barsh G.S. & Schwartz M.W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature.* **443(7109)**: 289-295.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16988703>
- ❏ Mozaffarian D. & Wu J.H. (2011). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol.* **58(20)**: 2047-2067.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051327>
- ❏ Müller S., König I., Meyer W. & Kojda G. (2004). Inhibition of Vascular Oxidative Stress in Hypercholesterolemia by Eccentric Isosorbide Mononitrate. *J Am Coll Cardiol.* **44(3)**: 624-631.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15358031>
- ❏ Munro I.A. & Garg M.L. (2013). Dietary supplementation with long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and weight loss in obese adults. *Obes Res Clin Pract.* **7(3)**: e173-181.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23697585>

- ❏ **Murata M., Sano Y., Bannai S., Ishihara K., Matsushima R. & Uchida M. (2004).** Fish protein stimulated the fibrinolysis in rats. *Ann Nutr Metab.* **48(5)**: 348-356.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15542926>
- ❏ **Nakagawa T., Hu H., Zharikov S., Tuttle K.R., Short R.A., Glushakova O., Ouyang X., Feig D.I., Block E.R., Herrera-Acosta J., Patel J.M. & Johnson R.J. (2006).** A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol.* **290(3)**: F625-631.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16234313>
- ❏ **Nakajima K., Nakano T. & Tanaka A. (2006).** The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta.* **367(1-2)**: 36-47.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16448638>
- ❏ **Napoli C. & Ignarro L.J. (2009).** Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases. *Arch Pharm Res.* **32(8)**:8-1103.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19727602>
- ❏ **Nasar M.A., Jarrari A., Subhani T., Shetty B. & Shakeel F. (2009).** Antioxidant status of atorvastatin in hypercholesterolemic patients. *J Serb Chem Soc.***74(10)**: 1063-1073.
<http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-5139/2009/0352-51390910063N.pdf>
- ❏ **Naughton R., Quiney C., Turner S.D. & Cotter T.G. (2009).** Bcr-Abl-mediated redox regulation of the PI3K/AKT pathway. *Leukemia.* **23(8)**: 1432-1440.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19295548>
- ❏ **Oguntibeju O.O., Esterhuyse A.J. & Truter E.J. (2009).** Cardiovascular disease and the potential protective role of antioxidants. *Afr J Biotechnol.* **8(14)**: 3107-3117.
<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/61007>
- ❏ **Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. (1979).** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* **95(2)**: 351-358.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36810>
- ❏ **Ohtsuki K., Abe A., Mitsuzumi H., Kondo M., Uemura K., Iwasaki Y. & Kondo Y. (2003).** Glucosyl hesperidin improves serum cholesterol composition and inhibits hypertrophy in vasculature. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* **49(6)**: 447-450.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14974738>
- ❏ **Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2010).** WHO Library Cataloguing-in-publications data; world health statistics. pp. 2-177.
http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS10_Full.pdf
- ❏ **Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2015).** Maladies cardio-vasculaires. Aide-mémoire.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/>

- ❏ **Ónody A., Csonka C., Giricz Z. & Ferdinandy P. (2003).** Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxynitrite formation in rat hearts. *Cardiovasc Res.* **58(3)**: 663-700.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12798440>
- ❏ **Osada J., Fernández-Sánchez A., Diaz-Morillo J.L., Miró-Obradors M.J., Cebrián J.A., Carrizosa C., Ordovás J.M. & Palacios-Alaiz E. (1994).** Differential effect of dietary fat saturation and cholesterol on hepatic apolipoprotein gene expression in rats. *Atherosclerosis.* **108(1)**: 83-90.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7980709>
- ❏ **Otani L., Ninomiya T., Murakami M., Osajima K., Kato H. & Murakami T. (2009).** Sardine peptide with angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity improves glucose tolerance in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* **73(10)**: 2203-2209.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19809178>
- ❏ **Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T. & Afolayan A.A. (2010).** Effects of diet-induced hypercholesterolemia on the lipid profile and some enzyme activities in female Wistar rats. *Afr J Biochem Res.* **4(6)**: 149-154.
<http://www.academicjournals.org/journal/AJBR/article-abstract/5D7026911395>
- ❏ **Ouweneel A.B. & Van Eck M. (2015).** Lipoproteins as modulators of atherothrombosis: From endothelial function to primary and secondary coagulation. *Vascul Pharmacol.* S1537-S1891. Article in press.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26545626>
- ❏ **Projet INCO-MED-TAHINA (Transition Health Impact In North Africa).** Synthèse enquête mortalité.
http://www.mpl.ird.fr/tahina/home/doc/Synthese-mortalite_finalpdf1.pdf
(2005, accessed 10 July 2012).
- ❏ **Pari L. & Shagirtha K. (2012).** Hesperetin protects against oxidative stress related hepatic dysfunction by cadmium in rats. *Exp Toxicol Pathol.* **64(5)**: 513-520.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21134734>
- ❏ **Parildar-Karpuzoglu H., Mehmetçik G., Özdemirler-Erata G., Dogru-Abbasoglu S., Koçak-Toker N. & Uysal M. (2008).** Effect of taurine treatment on pro-oxidant-antioxidant balance in livers and brains of old rats. *Pharmacol Rep.* **60(5)**: 673-678.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066413>
- ❏ **Park Y.B., Do K.M., Bok S.H., Lee M.K., Jeong T.S. & Choi M.S. (2001).** Interactive effect of hesperidin and vitamin E supplements on cholesterol metabolism in high cholesterol fed rats. *Int J Vitam Nutr Res* **71(1)**: 36-44.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11276920>
- ❏ **Parolini C., Vik R., Busnelli M., Bjørndal B., Holm S., Brattelid T., Manzini S., Ganzetti G.S., Deller F., Halvorsen B., Aukrust P., Sirtori C.R., Nordrehaug J.E., Skorve J., Berge R.K. & Chiesa G.(2014).** A salmon protein hydrolysate exerts

lipid-independent anti-atherosclerotic activity in ApoE-deficient mice. *PLoS One*. **9(59)**: e97598.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24840793>

- ❏ **Parra D., Bandarra N.M., Kiely M., Thorsdottir I. & Martínez J.A. (2007).** Impact of fish intake on oxidative stress when included into a moderate energy-restricted program to treat obesity. *Eur J Nutr*. **46(8)**: 460-467.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18026868>

- ❏ **Parthasarathy S., Litvinov D., Selvarajan K. & Garelnabi M. (2008).** Lipid peroxidation and decomposition-conflicting roles in plaque vulnerability and stability. *Biochim Biophys Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*. **1781(5)**: 221-331.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18406361>

- ❏ **Paschalis V., Theodorou A.A., Kyparos A., Dipla K., Zafeiridis A., Panayiotou G., Vrabas I.S. & Nikolaidis M.G. (2014).** Low vitamin C values are linked with decreased physical performance and increased oxidative stress: reversal by vitamin C supplementation. *Eur J Nutr*. **pp.** 1-9

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25526969>

- ❏ **Patil J.R. & Chidambara Murthy K.N. (2009).** Bioactive compounds from Mexican lime (*Citrus aurantifolia*) juice induce apoptosis in human pancreatic cells. *J Agric Food Chem*. **57**: 10933-10942.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19919125>

- ❏ **Paul J.L. & Baudin B. (2009).** Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Revue francophone des laboratoires*. **409**: 41-50.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773035X09701996>

- ❏ **Penumathsa S.V., Thirunavukkarasu M., Koneru S., Juhasz B., Zhan L., Pant R., Menon V.P., Otani H. & Maulik N. (2007).** Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *J Mol Cell Cardiol*. **42(3)**: 508-516.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17188708>

- ❏ **Perveen R., Suleria H.A.R., Anjum F.M., Butt M.S., Pasha I. & Ahmad S. (2013).** Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids & lycopenes chemistry; Metabolism, absorption, nutrition and allied health claims- A comprehensive review. *Crit Rev Food Sci*.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24915375>

- ❏ **Pilon G., Ruzzin J., Rioux L.E., Lavigne C., White P.J., Frøyland L., Jacques H., Bryl P., Beaulieu L. & Marette A. (2011).** Differential effects of various fish proteins in altering body weight, adiposity and inflammatory status and insulin sensitivity in high fat fed rats. *Metabolism*. **60(8)**:1122-1130.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21306751>

- ❏ **Pincemail J., Degruene F. & Voussure S. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **21(2)**: 66-75.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0985056207000349>

- ❏ **Popović T., Borožan S., Arsić A., Martačić J.D., Vučić V., Trbović A., Mandić L. & Glibetić M. (2012).** Fish oil supplementation improved liver phospholipids fatty acid composition and parameters of oxidative stress in male Wistar rats. *J Anim Physiol Anim Nutr.* **96(6)**: 1020-1029.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21883500>

- ❏ **Poredos P. & Jezovnik M.K. (2007).** The role of inflammation in venous thromboembolism and the link between arterial and venous thrombosis. *Int Angiol.* **26(4)**: 306-311.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18091697>

- ❏ **Pu P., Gao D.M., Mohamed S., Chen J., Zhang J., Zhou X.Y., Zhou N.J., Xie J. & Jiang H. (2012).** Naringin ameliorates metabolic syndrome by activating AMP-activated protein kinase in mice fed a high-fat diet. *Arch Biochem Biophys.* **518(1)**:61-70.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22198281>

- ❏ **Quintanilha A.T., Packer L., Davies J.M., Racanelli T.L. & Devies K.J. (1982).** Membrane effects of vitamin E deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci.* **39**: 32-47.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6959560>

- ❏ **Rader D.J. (2006).** Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *J Clin Invest.* **116**: 3090-3100.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17143322>

- ❏ **Rafieian-Kopaei M., Setorki M., Douadi M., Baradaran A. & Nasri H. (2014).** Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med.* **5(8)**: 46-927.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25489440>

- ❏ **Raschke P., Massoudy P. & Becker B.F. (1995).** Taurine protects the heart from neutrophil-induced reperfusion injury. *Free Radic Biol Med.* **19**: 461-471.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7590395>

- ❏ **Rees D.A. & Alcolado J.C. (2005).** Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med.* **22(4)**: 359-370.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15787657>

- Regöly-Mérei A., Bereczky M., Arató G., Telek G., Pallai Z., Lugasi A. & Antal M. (2007).** [Nutritional and antioxidant status of colorectal cancer patients] *Orv Hetil.* **148(32)**: 1505-1509.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17675278>

- ❏ **Renugadevi J. & Prabu S.M (2010).** Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. *Exp Toxicol Pathol.* **62(2)**: 171-181.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19409769>

- ❏ **Riesen W. F. & Hug M. (2008).** HDL bas, haut risque ; HDL haut, faible risque? *Forum Med Suisse*. **8(14)**: 246-252.
<http://www.medicalforum.ch/docs/smf/archiv/fr/2008/2008-14/2008-14-107.pdf>
- ❏ **Rindler P.M., Plafker S.M., Szweda L.I. & Kinter M. (2013).** High dietary fat selectively increases catalase expression within cardiac mitochondria. *J Biol Chem*. **288(3)**: 1979-1990.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23204527>
- ❏ **Roberfroid M.B. (2008).** L'aliment fonctionnel 2^{ème} édition. Edition TEC & DOC. Lavoisier. pp. 211-212.
http://www.unitheque.com/Livre/Aliments_fonctionnels-20013.html
- ❏ **Robinson J.G. (2013).** Management of familial hypercholesterolemia: a review of the recommendations from the national lipid association expert panel on familial hypercholesterolemia. *J Manag Care Pharm*. **19(2)**: 139-149.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23461430>
- ❏ **Rock E. & Fardet A. (2014).** Les antioxydants des agrumes : action en solitaire ou matricielle? *Phytothérapie*. **12(2)**: 66-75.
<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10298-014-0852-8>
- ❏ **Rosin B. L. (2007).** The progression of cardiovascular risk to cardiovascular disease. *Cardiovasc Med*. **8(Suppl 4)**: S3-S8.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17934392>
- ❏ **Russell J.C. & Proctor S.D. (2006).** Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol*. **15(6)**: 318-330.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17113010>
- ❏ **Saito K., Jin D. H., Tomohisa O., Koji M., Eiko H., Tadashi Y. & Kiyoshi N. (2003).** Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *J Agric Food Chem*. **51(12)**: 3668-3674.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12769543>
- ❏ **Sakuma Y., Hagihara H., Nagayoshi A., Ohne K., Mutoh S., Itoy Y., Nakahara K., Notsu Y. & Okuhara M. (1997).** Effects of FR 145237, an aryl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibitor, on diet-induced hypercholesterolemia in diabetic rats. *Life Sci*. **60(6)**: 351-356.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9031680>
- ❏ **Sánchez-Muniz F.J., García-Linares M.C., García-Arias MT., Bastida S., Viejo J. (2003).** Fat and protein from olive oil-fried sardines interact to normalize serum lipoproteins and reduce liver lipids in hypercholesterolemic rats. *J Nutr* **133(7)**: 2302-2307.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12840197>

- ❏ **Sanz J. & Fayad Z.A. (2008).** Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*. **451(7181)**: 953-957.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18288186>
- ❏ **Sarsilmaz M., Songur A., Ozyurt H., Kus I., Ozen O.A., Ozyurt B., Sogut S. & Akyol O. (2003).** Potential role of dietary omega-3 essential fatty acids on oxidant/antioxidant parameters in rats corpus striatum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. **69(4)**: 253-259.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12907135>
- ❏ **Sarwar N., Danesh J., Eiriksdottir G., Sigurdsson G., Wareham N., Bingham S., Boekholdt S.M., Khaw K.T. & Gudnason V. (2007).** Triglycerides and the risk of coronary heart disease. *Circulation*. **115(4)**: 450-458.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17190864>
- ❏ **Savini I., Catani M.V., Evangelista D., Gasperi V. & Avigliano L. (2013).** Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int J Mol Sci*. **14(5)**:10497-10538.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3676851/>
- ❏ **Scalbert A., Manach C., Morand C., Rémésy C. & Jiménez L. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci*. **45(4)**: 287-306.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16047496>
- ❏ **Seierstad S.L., Seljeflot I., Johansen O., Hansen R., Haugen M., Rosenlund G., Froyland L. & Arnesen H. (2005).** Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis. *Eur J Clin Invest*. **35(1)**: 52-59.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15638820>
- ❏ **Sérougne C., Férézou J. & Rukaj A. (1984).** Effects of excess dietary L-cystine on the rat plasma lipoproteins. *Ann Nutr Metab*. **28(5)**: 311-320.
- ❏ **Shaffer S., Azuma J., Takahashi K. & Mozaffari M. (2003).** Why is taurine cytoprotective? *Adv Exp Med Biol*. **526**: 307-321.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12908615>
- ❏ **Shao B., Oda M., Vaisar T., Oram J. & Heinecke J. (2006).** Pathways for oxidation of high-density lipoprotein in human cardiovascular disease. *Curr Opin Mol Ther*. **8(3)**: 198- 205.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16774039>
- ❏ **Shehata A. & Yousef O. (2010).** Physiological Studies on the Risk Factors Responsible for Atherosclerosis in Rats. *Nature and Sciences*. **8(5)**: 144-151.
<http://www.sciencepub.net/nature/ns0805>
- ❏ **Shi X., Flynn D.C., Porter D.W., Leonard S.S., Vallyathan V. & Castranova V. (1997).** Efficacy of taurine based compounds as hydroxyl radical scavengers in silica induced peroxidation. *Ann Clin Lab Sci*. **27(5)**: 365-374.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9303176>

- ❏ **Shukla A., Bettzieche A., Hirche F., Brandsch C., Stangl G.I. & Eder K. (2006).** Dietary fish protein alters blood lipid concentrations and hepatic genes involved in cholesterol homeostasis in the rat model. *Brit J Nutr.* **96(4)**: 674-682.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17010226>
- ❏ **Singh S. & Bittner V. (2015).** Familial hypercholesterolemia-epidemiology, diagnosis, and screening. *Curr Atheroscler Rep.* **17(3)**: 2-8.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25612857>
- ❏ **Skalicky J., Muzakova V., Kandar R., Meloun M., Rousar T. & Palicka V. (2008).** Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med.* **46(4)**: 499-505.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18298345>
- ❏ **Sookoian S. & Pirola C.J. (2015).** Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: From systems biology to the personalized medicine. *World J Gastroenterol.* **21(3)**: 711-725.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25624707>
- ❏ **Soran H., Younis N.N., Charlton-Menys V. & Durrington P. (2009).** Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* **20(4)**: 265-274.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19550323>
- ❏ **Souci S.W., Fachmann W. & Kraut H. (2008).** La composition des aliments. Tableaux des valeurs nutritives, 7^e édition, Med Pharm Scientific Publishers. Taylor & Francis.
- ❏ **Souza-Junior T., Lorenço-Lima L., Ganini D., Vardaris C., Polotow T. & Barros M. (2014).** Delayed uric Acid accumulation in plasma provides additional anti-oxidant protection against iron-triggered oxidative stress after a wingate test. *Biol Sport.* **31(4)**: 271-276.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25435669>
- ❏ **Spielmann J., Kluge H., Stangl G.I. & Eder K. (2009).** Hypolipidaemic effects of potato protein and fish protein in pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* **93(4)**: 400-409.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18522687>
- ❏ **Spielmann J., Stangl G.I. & Eder K. (2008).** Dietary pea protein stimulates bile acid excretion and lowers hepatic cholesterol concentration in rats. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* **92(6)**: 683-693.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19012614>
- ❏ **Staels B. & Fonseca V.A. (2009).** Bile acids and metabolic regulation: Mechanisms and clinical responses to bile acid sequestration. *Diabetes Care.* **32(Suppl 2)**: 237-245.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2811459/>

- ❏ **Strazzullo P. & Puig JG. (2007).** Uric acid and oxidative stress: relative impact on cardiovascular risk? *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* **17(6)**: 409-414.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17643880>
- ❏ **Suetsuna K., Ukeda H. & Ochi H. (2000).** Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *J Nutr Biochem.* **11(3)**: 128-131.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10742656>
- ❏ **Sugiyama K., Ohkawa S. & Muramatsu K. (1986).** Relationship between amino acid composition of diet and plasma cholesterol level in growing rats fed a high cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* **32(4)**: 413-423.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3806255>
- ❏ **Suleria H.A.R., Butt M.S., Anjum F.M., Saeed F., Batool R. & Ahmad A.N. (2012).** Aqueous garlic extract and its phytochemical profile; special reference to antioxidant status. *Int J Food Sci Nutr.* **63(4)**: 431-439.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22098476>
- ❏ **Suleria H.A.R., Butt M.S., Anjum F.M., Saeed F. & Khalid N. (2015).** Onion: nature protection against physiological threats. *Crit Rev Food Sci.* **55(1)**: 50-66.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24915405>
- ❏ **Surette M.E., Whelan J., Broughton K.S. & Kinsella J.E. (1992).** Evidence for mechanisms of the hypotriglyceridemic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta.* **1126(2)**: 199-205.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1627623>
- ❏ **Takeuchi H., Sekine S., Noguchi O., Murano Y., Aoyama T. & T. Matsuo (2009).** Effect of life-long dietary n-6/n-3 fatty acid ratio on life span, serum lipids and serum glucose in Wistar rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* **55(5)**: 394-399.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19926924>
- ❏ **Taleb-Senouci D., Lacaille-Dubois M.A., Malika Bouchenak. (2012).** *Ajuga iva* aqueous extract improves reverse cholesterol transport in streptozotocin-induced diabetic rat. *J Pharm Pharmacol (Tokyo).* **64(8)**: 1188-1194.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22775222>
- ❏ **Tanaka M., Nakaya S., Kumai T., Watanabe M., Matsumoto N. & Kobayashi S. (2005).** Impaired testicular function in rats with diet-induced hypercholesterolemia and/or streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Endocrinol Res.* **27(1-2)**: 109-117.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11428703>
- ❏ **Terpstra A.H. & Lapre J.A. (2002).** The hypocholesterolemic effect of lemon peels, lemon pectin, and the waste stream material of lemon peels in hybrid F1B hamsters. *Eur J Nutr.* **41(1)**: 19-26.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11990004>

- ❏ **Thompson A. & Danesh J. (2006).** Associations between apolipoprotein B, apolipoprotein AI, the apolipoprotein B/A-I ratio and coronary heart disease: A literature-based meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med.* **259**(5): 481-492.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16629854>
- ❏ **Tounsi M.S., Wannes W.A., Ouerghemmi I., Jegham S., Ben Njima Y., Hamdaoui G., Zemni H. & Marzouk B. (2011).** Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian *Citrus* varieties. *J Sci Food Agric.* **91**(1): 142-151.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20862741>
- ❏ **Treki A., Merghem R. & Dehimat L. (2009).** Etude phytochimique et Evaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences et Technologie.* **29**: 25-29.
<file:///C:/Users/User/Downloads/352-768-1-SM.pdf>
- ❏ **Trovato A., Taviano M.F., Pergolizzi S., Campolo L., De Pasquale R. & Miceli N. (2010).** *Citrus bergamia* Risso & Poiteau juice protects against renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Phytother Res.* **24**(4): 514-519.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19655295>
- ❏ **Ullah N., Khan M.A., Khan T. & Ahmad W. (2014).** Nephroprotective potentials of *Citrus aurantium*: a prospective pharmacological study on experimental models. *Pak J Pharm Sci.* **27**(3): 505-510.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24811809>
- ❏ **Vasanthi H.R., Kartal-Özer N., Azzi A. & Das D.K. (2010).** Dietary supplements, cholesterol and cardiovascular disease. *Nutrition and Health.* **3**: 227-247.
- ❏ **Viejo J., García-Linares M.C., García-Arias M.T., Bastida S. & Sánchez-Muniz F.J. (2003).** Effect of olive oil-fried sardines consumption on liver lipid composition and fatty acid cholesterol esterification in hypercholesterolemic rats. *Food Sci Tech.* **9**: 328-338.
<http://fst.sagepub.com/content/9/5/329.abstract>
- ❏ **Vigerust N.F., Cacabelos D., Burri L., Berge K., Wergedahl H., Christensen B., Portero-Otin M., Viste A., Pamplona R., Berge R.K. & Bjørndal B. (2012).** Fish oil and 3-thia fatty acid have additive effects on lipid metabolism but antagonistic effects on oxidative damage when fed to rats for 50 weeks. *J Nutr Biochem.* **23**(11): 1384-1393.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22221672>
- ❏ **Violi F. & Cangemi R. (2005).** Antioxidants and cardiovascular disease. *Curr Opin Investig Drugs.* **6**(9): 895-900.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16187689>
- ❏ **Vladimir-Knezevic S., Blazekovic B., Stefan M.B., Babac M. (2012).** Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In "Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health. Edition Venketeshwer Rao. pp. 155-180.

<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/32901.pdf>

- ❏ Wang X., Hasegawa J., Kitamura Y., Wang Z., Matsuda A., Shinoda W., Miura N. & Kimura K. (2011). Effects of hesperidin on the progression of hypercholesterolemia and fatty liver induced by high-cholesterol diet in rats. *J Pharmacol Sci.* **117**(3): 129-138.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21979313>
- ❏ Wang Y.M., Zhang B., Xue Y., Li Z.J., Wang J.F., Xue C.H. & Yanagita T. (2010). The mechanism of dietary cholesterol effects on lipids metabolism in rats. *Lipids in Health and Disease.* **9**: 4-9.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20070910>
- ❏ Welty F.K., Lichtenstein A.H., Barrett P.H., Dolnikowski G.G. & Schaefer E.J. (2004). Interrelationships between human apolipoprotein A-I and apolipoproteins B-48 and B-100 kinetics using stable isotopes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **24**(9): 1703-1707.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15242863>
- ❏ Wergedahl H., Liaset B., Gudbrandsen O.A., Lied E., Espe M., Muna Z., Mørk S. & Berge R.K. (2004). Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol, and lowers acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. *J Nutr.* **134**(6): 1320-1327.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15173391>
- ❏ Wilcox L.J., Borradaile N.M., de Dreu L.E. & Huff M.W. (2001). Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. *J Lipid Res.* **42**: 34-725.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11352979>
- ❏ Wójcik Oktawia P., Koenig Karen L., Zeleniuch-Jacquotte A., Costa M. & Chen Y (2010). The potential protective effects of taurine on coronary heart disease. *Atherosclerosis.* **208**(1): 19-25.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19592001>
- ❏ Yamada T., Hayasaka S., Shibata Y., Ojima T., Saegusa T., Gotoh T., Ishikawa S., Nakamura Y. & Kayaba K. (2011). Frequency of citrus fruit intake is associated with the incidence of cardiovascular disease: the Jichi Medical School cohort study. *J Epidemiol.* **21**(3): 169-175.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21389640>
- ❏ Yamori Y., Murakami S., Ikeda K. & Nara Y. (2004). Fish and life style related disease prevention: experimental and epidemiological evidence for anti-atherogenic potential of taurine. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **31**(Suppl2): S20-S23.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15649278>
- ❏ Yhirga Y. (2006). Antioxidant and anti-inflammatory properties of a Cucumis melo LC. extract rich in superoxide dismutase activity. *J Ethnopharmacol.* **94**(4): 67-75.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15261965>

- ❏ Yokozawa T., Ishida A., Cho EJ. & Nakagawa T. (2003). The effects of *Coptidis* rhizoma extract on a hypercholesterolemic animal model. *Phytomedicine*. **10** (1): 17-22.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12622459>
- ❏ Yu R., Yekta B., Vakili L., Gharavi N., Navab M., Marelli D. & Ardehali A. (2008). Proatherogenic high-density lipoprotein, vascular inflammation, and mimetic peptides. *Curr Atheroscler Rep*. **10**(2): 171-176.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18417073>
- ❏ Zablocka A. & Janusz M. (2008). [The two faces of reactive oxygen species]. *Postepy Hig Med Dosw*. **62**:118-124.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18388851>
- ❏ Zhang X. & Beynen A.C (1993). Influence of dietary fish proteins on plasma and liver cholesterol concentrations in rats. *Br J Nutr*. **69**: 767-777.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8329352>
- ❏ Zhao S., Wang J., Song X., Zhang X., Ge C. & Gao S. (2010). Impact of dietary protein on lipid metabolism related gene expression in porcine adipose tissue. *Nutr Metab (Lond)*. **7**: 6-18.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20205889>

ANNEXES

Tableau XXII. Poids corporel des animaux et nourriture ingérée.

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Poids corporel (g)				
J0	195,17±1,07	193,33±3,64	193,50±3,59	190,67±4,38
J7	194,83±1,77	202,17±4,74	177,67±5,37 [#]	186,67±3,35
J14	219,67±3,77	222,00±3,37	179,83±3,53 [#]	189,50±2,75 ^{\$}
J21	237,67±5,41	239,50±3,40	180,00±3,74 [#]	190,00±4,12 ^{\$}
J28	250,17±4,49	256,50±3,83	178,50±3,73 [#]	191,83±1,94 ^{\$}
Nourriture ingérée (g.j⁻¹.rat⁻¹)	23,33±1,02	23,31±1,07	19,11±0,28 [#]	20,26±0,70 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

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

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Plasma				
CL	1,55±0,14	0,95±0,14*	2,79±0,17 [#]	1,41±0,20
EC	6,19±1,52	4,50±0,61*	4,38±0,61 [#]	3,48±1,53 ^{\$}
TG	1,84±0,08	0,88±0,16*	0,95±0,11 [#]	0,61±0,05 ^{\$}
PL	1,64±0,09	0,92±0,14*	0,90±0,13 [#]	0,71±0,09 ^{\$}
Foie				
CL	22,10±1,56	31,33±2,73	21,10±2,11	25,12±3,29
EC	43,74±1,30	55,30±2,88	42,55±4,50	48,64±8,84
TG	85,66±10,30	82,40±11,41	83,40±12,50	44,08±10,21 ^{\$}
PL	87,68±5,52	41,48±6,97*	37,28±5,41 [#]	27,04±4,53 ^{\$}

par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

*HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC; CL: Cholestérol libre, EC: Esters de cholestérol, TG: triglycérides, PL: phospholipides

Tableau XXIV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Masse ($g.L^{-1}$)	1,60 $\pm$ 0,05	1,18 $\pm$ 0,09 [*]	1,14 $\pm$ 0,08 [#]	1,07 $\pm$ 0,08 ^{\$}
Apos ($g.L^{-1}$)	0,061 $\pm$ 0,002	0,059 $\pm$ 0,002	0,051 $\pm$ 0,008	0,049 $\pm$ 0,009
CL ($mmol.L^{-1}$)	0,33 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,05 [*]	0,21 $\pm$ 0,02 [#]	0,16 $\pm$ 0,01 ^{\$}
EC($mmol.L^{-1}$)	1,52 $\pm$ 0,12	0,94 $\pm$ 0,10 [*]	0,96 $\pm$ 0,10 [#]	0,72 $\pm$ 0,09 ^{\$}
TG($mmol.L^{-1}$)	0,61 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,03 [*]	0,32 $\pm$ 0,02 [#]	0,29 $\pm$ 0,02
PL($mmol.L^{-1}$)	0,43 $\pm$ 0,05	0,58 $\pm$ 0,10 [*]	0,53 $\pm$ 0,05 [#]	0,61 $\pm$ 0,10 ^{\$}

par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

Masse: somme des contenus en apolipoprotéines, cholestérol libre, esters de cholestérol, triglycérides et phospholipides.

Tableau XXV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL₁.Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Masse ($g.L^{-1}$)	2,18 $\pm$ 0,12	1,47 $\pm$ 0,11 [*]	1,46 $\pm$ 0,11 [#]	1,25 $\pm$ 0,15 ^{\$}
Apos ($g.L^{-1}$)	0,10 $\pm$ 0,011	0,07 $\pm$ 0,012	0,062 $\pm$ 0,015	0,06 $\pm$ 0,016
CL ($mmol.L^{-1}$)	0,68 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,04 [*]	0,43 $\pm$ 0,01 [#]	0,33 $\pm$ 0,04 ^{\$}
EC($mmol.L^{-1}$)	3,11 $\pm$ 0,15	1,91 $\pm$ 0,11 [*]	1,97 $\pm$ 0,09 [#]	1,51 $\pm$ 0,09 ^{\$}
TG ($mmol.L^{-1}$)	0,26 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01 [*]	0,10 $\pm$ 0,02 [#]	0,09 $\pm$ 0,03 ^{\$}
PL ($mmol.L^{-1}$)	0,62 $\pm$ 0,02	0,63 $\pm$ 0,12	0,61 $\pm$ 0,04	0,63 $\pm$ 0,14

par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC**Tableau XXVI.** Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₂.Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
Masse ($g.L^{-1}$)	1,05 $\pm$ 0,05	0,49 $\pm$ 0,02 [*]	0,61 $\pm$ 0,05 [#]	0,42 $\pm$ 0,06 ^{\$}
Apos ($g.L^{-1}$)	0,050 $\pm$ 0,007	0,059 $\pm$ 0,002	0,051 $\pm$ 0,006	0,058 $\pm$ 0,002
CL ($mmol.L^{-1}$)	0,34 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02 [*]	0,22 $\pm$ 0,01 [#]	0,17 $\pm$ 0,04 ^{\$}
EC($mmol.L^{-1}$)	0,74 $\pm$ 0,11	0,86 $\pm$ 0,05 [*]	0,89 $\pm$ 0,06 [#]	0,84 $\pm$ 0,06 ^{\$}
TG($mmol.L^{-1}$)	0,54 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,01 [*]	0,28 $\pm$ 0,09 [#]	0,13 $\pm$ 0,08 ^{\$}
PL($mmol.L^{-1}$)	0,21 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,01 [*]	0,34 $\pm$ 0,02 [#]	0,31 $\pm$ 0,01 ^{\$}

par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

Tableau XXVII. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₃.

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
<i>Masse (g.L⁻¹)</i>	1,76±0,22	1,09±0,20 [*]	0,85±0,06 [#]	0,96±0,06 ^{\$}
<i>Apos (g.L⁻¹)</i>	0,22±0,003	0,27±0,007 [*]	0,24±0,001	0,21±0,03
<i>CL (mmol.L⁻¹)</i>	0,20±0,06	0,12±0,06 [*]	0,13±0,01 [#]	0,19±0,02
<i>EC (mmol.L⁻¹)</i>	1,59±0,05	0,99±0,08 [*]	1,01±0,04 [#]	0,77±0,03 ^{\$}
<i>TG (mmol.L⁻¹)</i>	0,43±0,01	0,16±0,01 [*]	0,23±0,07 [#]	0,08±0,001 ^{\$}
<i>PL (mmol.L⁻¹)</i>	0,90±0,01	0,64±0,03 [*]	0,50±0,08 [#]	0,65±0,08 ^{\$}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

Tableau XXVIII. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaire (U.g⁻¹ protéines).

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée

	HC	HC-Ps	HC-Ci	HC-Ps+Ci
SOD	188± 21	240±14 [*]	319±41 [#]	268±16 ^{\$}
GSH-Px	205±11	197±11	229±9	210±15
GSSH-Red	128±20	160±18 [*]	166±16 [#]	165±18 ^{\$}
CAT	41±2	54±2 [*]	55±1 [#]	61±5 ^{\$}

par le test Dunnett. Les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

^{*}HC-Ps vs HC, [#]HC-Ci vs HC, ^{\$}HC-Ps+Ci vs HC

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effects of a lyophilized aqueous extract of *Citrus latifolia* combined with Sardine Proteins, on lipid profile and redox status in rats fed a High-Cholesterol Diet (HCD). Forty male Wistar rats weighing 170 ± 20 g received a standard diet containing 20% casein and 1% cholesterol, for 15 days. After this adaptation phase, cholesterolemia value was greater than 5 mmol.L^{-1} and hypercholesterolemic rats were divided into 4 groups ($n=10$): Hypercholesterolemic group (**HC**), hypercholesterolemic group supplemented with 20% sardine protein (**HC-Sp**), hypercholesterolemic group supplemented with 1% *Citrus latifolia* extract (**HC-Ci**) and hypercholesterolemic group supplemented with the combination of both *Sp* and *Ci* (**HC-Sp+Ci**), for 4 weeks. The results were compared between the untreated group and treated hypercholesterolemic groups. Compared with the untreated group, body weight (BW) was decreased by -17% and -13%, in the hypercholesterolemic groups treated with *Citrus latifolia* (**Ci**) lyophilised aqueous extract and the combination of both sardine protein *Sp* and *Ci* (**HC-Sp+Ci**), respectively. However, there was no significant difference in BW and food intake in the **HC-Sp** group compared with the **HC** group. Plasma total cholesterol (TC) levels and triacylglycerols (TG) were significantly lower with the hypercholesterolemic diets supplemented with *Sp*, *Ci* and *Sp+Ci* compared to the hypercholesterolemic diet alone ($p < 0.05$). Quantitatively, VLDL mass was lower, concomitantly with decreased values of TG in VLDL (1,8-, 1,9- and 2,1-fold) and CE (-38%, -37% and -53%). Liver TC contents were significantly decreased ($p < 0,05$). However, the supplementation of sardine protein or *Citrus latifolia* into the hypercholesterolemic diet did not affect hepatic TG levels, whereas the *Sp+Ci* combination significantly decreased them. Compared with **HC** group, liver PL contents were diminished by -53, -57 and -69% in **HC-Sp**, **HC-Ci** and **HC-Sp +Ci** groups, respectively. UC concentrations were 1.4- fold higher in the **HC-Sp** group. Whereas, no significant difference was noted in CE concentrations in all groups. In **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci** groups, LCAT activity was respectively 1,7-, 1,5- and 2,5-fold higher compared to **HC** values. Furthermore, PON1 activity was increased by +13% and +32%, respectively in **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups vs **HC**.

The evaluation of redox status showed respectively a decrease in TBARS concentrations in erythrocytes (-15%, -21% and -20%) in **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci**. In lipoproteins, TBARS levels were reduced in VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ and HDL₃ of **HC-Ps** and **HC-Ps+Ci** ($p < 0,05$). Moreover, VLDL, LDL-HDL₁ and HDL₂ TBARS were 1,5-, 1,6- et 2-fold lower in **HC-Ci** vs **HC**. However, in **HC-Sp**, **HC-Ci** and **HC-Sp +Ci** vs **HC** groups, TBARS values were decreased respectively by -50, -54 and -83% in the liver, -68, -73 and -60% in heart, -67, -72 and -53% in the aorta, -72%, -76% and -84% in kidney and -68, -73 and -85% in adipose tissue. Plasma protein carbonyl group (PCG) values were respectively 1,5- and 1,9- fold higher in **HC-Sp** and **HC-Sp +Ci** groups vs **HC**. However, a significant decrease was noted in the **HC-Ci** group compared with **HC** ($p < 0,05$). Liver PCG contents were respectively increased by +21% and +29%, in **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups as compared to **HC**. Also, in the heart and adipose tissue, they were respectively increased by +24 and +28% in **HC-Sp** vs **HC** group. In adipose tissue, the values were lowered respectively by -38 and -44% in **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups compared with **HC**. Moreover, heart PCG content was diminished by -35%, in **HC-Ci** vs **HC** group. In the **HC-Sp** group compared with the **HC** group, plasma hydroperoxides (HPO) levels were 1,2-fold lower. Moreover, the supplementation of *Citrus latifolia* and combination sardine protein-*Citrus latifolia* in the hypercholesterolemic diet significantly reduced HPO values in the heart and adipose tissue as compared to **HC** group ($p < 0.05$). In erythrocytes, SOD activity increased by +28%, +69% et +43%, GSSH-Red by +25%, +30% et +29% and CAT by +32%, +34% et +46%), in **HC-Sp**, **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups vs **HC**. Whereas no significant difference was noted in GSH-Px activity. In **HC-Sp** and **HC-Sp+Ci** groups vs **HC**, SOD activity was respectively 1,4- and 1,7- fold higher in liver, 1,8- and 2,1-fold higher in heart and 1,5- and 2-fold higher in adipose tissue. Moreover, in the **HC-Ci** group compared with **HC**, a significant increase in SOD activity in adipose tissue ($p < 0.05$) was noted. In **HC-Sp**, **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups compared with **HC**, GSH-Px activity was respectively 2,5-, 1,9- and 3-fold higher in liver and 2,1-, 2- and 1,7-fold higher in heart. However, in **HC-Sp**, **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups compared with **HC**, these activities were respectively increased by +60, +55 and +88% in the liver and by +51, +57 and +85% in heart. However, an increase in CAT activity was noted in these tissues in **HC-Sp**, **HC-Ci** and **HC-Sp+Ci** groups compared with **HC** ($p < 0.05$). In tissues, the combination of *Sp+Ci* in the high cholesterol diet induced lower NO contents in liver (-54%), heart (-55%) and adipose tissue (-62%).

In conclusion, in hypercholesterolemic rats, consuming both sardine proteins (Sp) and Citrus latifolia (Ci) extract ameliorates plasma and liver lipid profiles and attenuates lipid peroxidation in lipoproteins and tissues. Moreover, the combined treatment Sp+Ci improves reverse cholesterol transport (RCT) from peripheral tissues to the liver by increasing LCAT activity. When Sp and Ci were provided in combination to hypercholesterolemic rats, they showed an antioxidant and hypolipidemic effects. These results suggest that both sardine proteins and Citrus latifolia are useful in the primary treatment of hypercholesterolemia and oxidative damages caused by a high-cholesterol diet.

Key words : Rat - Sardine protein - *Citrus latifolia* - Cholesterol - LCAT - PON1 - TBARS - GSH-Px - GSSH-Red - SOD - Catalase - NO.

Résumé

Le but de cette étude est de voir si la protéine purifiée de sardine (*Sardina pilchardus*) combinée à un extrait aqueux lyophilisé de l'écorce du citron (*Citrus latifolia*) peut corriger, la dyslipidémie et le stress oxydatif induits par un régime enrichi en cholestérol. Des rats mâles de souche Wistar pesant 170 ± 20 g sont soumis pendant 15 jours à un régime contenant 20% de caséine et enrichi en cholestérol (1% de cholestérol alimentaire + 0,5% d'acide cholique). Les rats hypercholestérolémiques ($n=40$) (CT = $6,45 \pm 0,62$ mmol.L⁻¹ vs valeur usuelle chez le rat $<3,90$ mmol.L⁻¹) sont répartis en 4 groupes homogènes ($n=10$) consommant chacun pendant 28 jours un régime enrichi en cholestérol supplémenté soit de 20% de protéines de sardine (**HC-Ps**) ou 1% d'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* (**HC-Ci**), soit avec 20% de protéines de sardine combinées à 1% d'extrait de *Citrus latifolia* (**HC-Ps+Ci**). Le groupe hypercholestérolémique (**HC**) continue à consommer le régime enrichi en cholestérol. Les rats hypercholestérolémiques traités (**HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**) sont comparés au groupe non traité (**HC**). Les résultats montrent une croissance pondérale progressive et similaire chez le groupe **HC-Ps** vs **HC**. Cependant, l'extrait de l'écorce de *Citrus latifolia* et les protéines de sardine combinées à l'extrait de *Ci* réduisent le poids corporel de -17% et -13%, respectivement. Une diminution significative des teneurs plasmatiques en cholestérol total (CT) et en triglycérides (TG) est notée chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci** vs **HC** ($p<0,05$). De plus, une diminution de la masse des VLDL et du contenu en TG (1,8-, 1,9- et 2,1-fois) et en EC (-38%, -37% et -53%), est notée. Au niveau hépatique, les valeurs du CT sont significativement réduites ($p<0,05$). En revanche, aucune différence significative n'est notée dans les concentrations des TG chez les groupes de rats ingérant la protéine de sardine ou l'extrait aqueux lyophilisé d'écorce du *Ci*, alors qu'elles sont réduites de -48% chez le groupe **HC-Ps+Ci**. De même, les valeurs des PL sont réduites de -53%, -57% et -69% chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci** vs **HC**. Les teneurs en CL sont 1,4-fois plus élevées chez le groupe **HC-Ps**. Cependant, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en EC. L'activité de la LCAT est respectivement 1,7-, 1,5- et 2-fois plus élevée chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**. Cependant, l'activité de la paraoxonase (PON1) n'est augmentée que chez les groupes **HC-Ci** (+13%) et **HC-Ps+Ci** (+32%).

L'évaluation de la peroxydation lipidique montre que les valeurs des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) érythrocytaires sont diminués respectivement de -15%, -21% et -20% chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**. De plus, les contenus en TBARS au niveau des VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ sont significativement réduits chez le groupe **HC-Ps** et **HC-Ps+Ci** ($p<0,05$). Le traitement avec l'extrait de *Citrus latifolia* induit une diminution des teneurs en TBARS des VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₂ de 1,5-, 1,6- et 2-fois, respectivement. Les teneurs en TBARS sont plus faibles au niveau du foie (2-, 2,1- et 6,1-fois), du cœur (1,1-, 3- et 2-fois), de l'aorte (3-, 3,6- et 2,1-fois), du rein (3,6-, 4,2- et 6,3-fois) et du tissu adipeux (1,1-, 1,6 et 4-fois), respectivement chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**. La détermination de l'oxydation protéique montre que les teneurs en carbonyles plasmatiques sont 1,5- et 1,9-fois plus élevées chez les groupes **HC-Ps** et **HC-Ps+Ci**, respectivement. Inversement, chez le groupe **HC-Ci** une réduction significative est notée ($p<0,05$). Chez les groupes **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**, les teneurs en carbonyles du foie sont augmentées de +21% et +29%, respectivement. De même, chez le groupe **HC-Ps**, ces teneurs sont plus élevées au niveau du cœur (+24%) et du tissu adipeux (+28%). À l'inverse, une diminution de -38% et -44%, est observée au niveau du tissu adipeux chez les groupes **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**, respectivement. Au niveau du cœur, les valeurs des carbonyles sont diminuées de 35% chez le groupe **HC-Ci**. Chez le groupe **HC-Ps** vs **HC**, les concentrations plasmatiques en hydroperoxydes sont diminuées (-14%). De même, au niveau du cœur et du tissu adipeux, les teneurs en hydroperoxydes sont significativement réduites chez les groupes **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci** vs **HC** ($p<0,05$). Chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**, l'étude de la défense antioxydante des érythrocytes révèle une augmentation des activités de la superoxyde dismutase (SOD) (+28%, +69% et +43%), de la glutathion réductase (GSSH-Red) (+25%, +30% et +29%) et de la catalase (CAT) (+32%, +34% et +46%). En revanche, aucune différence significative n'est retrouvée dans l'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px), chez les trois groupes traités. Au niveau du foie, une augmentation de l'activité de la GSH-Px (2,1-, 1,9- et 3-fois), de la GSSH-Red (2,5-, 1,9- et 3-fois) est constatée chez les groupes **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**, respectivement. De plus, une importante activité SOD est notée chez les groupes **HC-Ps** (+39%) et **HC-Ps+Ci** (+74%). Au niveau du cœur, une augmentation de l'activité de la GSH-Px (2,1-, 2- et 1,7-fois), de la catalase (2,3-, 1,7- et 2,7-fois) et de la GSSH-Red (+51%, +57% et +85%) est notée chez **HC-Ps**, **HC-Ci** et **HC-Ps+Ci**, respectivement. De même, l'activité de la SOD est 1,8- et 2,1-fois plus importante chez les groupes **HC-Ps** et **HC-Ps+Ci**. Au niveau du tissu adipeux, les activités de la GSH-Px et de la GSSH-Red sont semblables chez les 4 groupes, alors qu'une augmentation de l'activité de la SOD (1,5- et 2-fois) et de la catalase (2- et 3,2-fois) est constatée chez les groupes **HC-Ps** et **HC-Ps+Ci**, respectivement. Au niveau du foie, du cœur et du tissu adipeux les valeurs du monoxyde d'azote sont respectivement, 2,1-, 2,2- et 2,6-fois plus faibles chez le groupe **HC-Ps+Ci** vs **HC**.

En conclusion, les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé de l'écorce de *Citrus latifolia* induisent un effet hypocholestérolémiant, hypotriglycéridémiant antiathérogène et correcteur de l'effet d'un régime hypercholestérolémiant chez le rat Wistar et semblent agir de façon significative sur le transport inverse du cholestérol, en augmentant l'activité de la LCAT. De plus, les protéines de sardine et l'extrait lyophilisé d'écorce du *Citrus latifolia* jouent un rôle important dans la défense antioxydante en stimulant l'activité des enzymes antioxydantes et en réduisant la peroxydation lipidique, en particulier au niveau des érythrocytes. Les deux suppléments nutritionnelles pourraient être utilisées dans la protection contre l'athérosclérose et seraient donc, un moyen pour prévenir le risque cardiovasculaire.

Mots clés: Rat - Protéine de sardine - *Citrus latifolia* - Cholestérol - LCAT - PON1 - TBARS - GSH-Px - GSSH-Red - SOD - Catalase - NO.