

ABBREVIATIONS

AGPI n-3 : Acides Gras Polyinsaturés de la famille n-3
ALAT : Alanine amino-transférase
ASAT : Aspartate amino-transférase
AU : Acide Urique
CAT : Catalase
CL : Cholestérol Libre
CT : Cholestérol Total
EC : Esters de Cholestérol
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
GSH : Glutathion réduit
GSH-Px : Glutathion Peroxydase
GSSH : Glutathion Oxydé
GSSH-Red : Glutathion Réductase
HDL : Lipoprotéines de Haute Densité
HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
HMG-CoA réductase : Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-Coenzyme A réductase
HTGL : Triglycéride lipase hépatique
LCAT : Lécithine: Cholestérol Acyltransférase
LDL-HDL₁ : Lipoprotéines de Faible Densité
LPL : Lipoprotéine Lipase
LT : Lipides Totaux
MDA : Malondialdéhyde
NO : Monoxyde d'azote
PL : Phospholipides
SOD : Superoxydes Dismutase
TBARS : Substances Réactives à l'Acide Thiobarbiturique
TG : Triglycérides

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Intérêt des protéines de poisson et de leurs hydrolysats.....	5
I. 1. Propriétés nutritionnelles et biologiques du poisson, des protéines de poisson et de leurs hydrolysats.....	7
I. 1. 1. Les lipides de poisson	8
I. 1. 2. Les protéines de poisson.....	8
I. 1. 3. Les hydrolysats de protéines de poisson	9
II. Statut oxydant/antioxydant.....	11
II. 1. Régulation du statut redox.....	11
II. 2. Effets délétères des ERO et des ERN: le stress oxydant.....	14
II. 2. 1. Peroxydation des lipides.....	14
II. 2. 2. Oxydation des protéines.....	17
II. 3. Marqueurs du stress oxydant.....	17
III. Conséquences de l'hypercholestérolémie sur le métabolisme des lipides et le statut oxydant/antioxydant.....	18
IV. Effets des protéines de poisson et de leurs hydrolysats sur le métabolisme des lipides.....	21
V. Mécanismes d'action des hydrolysats et des peptides de poisson hypolipémiants	24
V. 1. Interaction avec les acides biliaires.....	25
V. 2. Altération de la solubilité micellaire du cholestérol.....	27
V. 3. Altération de l'activité des enzymes hépatiques et adipocytaires, de l'expression des gènes et du métabolisme des lipides.....	28
VI. Effets des protéines de poisson et de leurs hydrolysats sur le statut antioxydant.....	29
VII. Mécanismes d'action des hydrolysats et des peptides antioxydants marins en particulier ceux du poisson.....	31
VIII. Procédés de préparation des hydrolysats protéiques.....	33
VIII. 1. Hydrolyse enzymatique.....	34
VIII. 1. 1. Autolyse et fermentation.....	34
VIII. 1. 2. Hétérolyse.....	34
VIII. 2. Principe de l'hydrolyse.....	37
VIII. 3. La méthode de pH-stat et degré d'hydrolyse (DH).....	37

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel biologique.....	39
I. 1. La sardine européenne.....	39
I. 2. La sardinelle ronde.....	39

I. 3.	Extraction et purification des protéines de sardine et de sardinelle.....	40
I. 3. 1.	Extraction des protéines de poisson.....	40
I. 3. 2.	Délipidation de l'extrait protéique.....	40
I. 3. 3.	Evaluation de degré de pureté des protéines.....	42
I. 4.	Préparation des hydrolysats de protéines de poisson et estimation du degré d'hydrolyse.....	42
II.	Animaux et traitements.....	46
III.	Prélèvement du sang, des hématies et des différents organes.....	48
IV.	Evaluation de la fonction hépatique par mesure des teneurs sériques en transaminases.....	48
V.	Dosage de l'acide urique (AU).....	49
VI.	Analyses des paramètres lipidiques et protéiques.....	49
VI. 1.	Dosage des teneurs en protéines totales du sérum et des différents organes.....	49
VI. 2.	Dosage des apolipoprotéines (apo) sérique (Apo A-I et Apo B).....	49
VI. 3.	Détermination des lipides totaux du foie.....	50
VI. 4.	Dosage des différents lipides du foie et du sérum.....	50
VI. 4. 1.	Dosage du cholestérol total, libre et ester de cholestérol.....	50
	▪ Cholestérol total.....	50
	▪ Cholestérol libre.....	50
	▪ Esters de cholestérol.....	50
VI. 4. 2.	Détermination des teneurs en triglycérides.....	50
VI. 4. 3.	Détermination des teneurs en phospholipides.....	51
VII.	Séparation des différentes fractions de lipoprotéines et dosage de leurs constituants.....	51
VII. 1.	Séparation des lipoprotéines de faible et de haute densité.....	51
VII. 2.	Analyse de la teneur et la composition en lipides et en apolipoprotéines des lipoprotéines.....	52
VIII.	Détermination de l'activité lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT, EC 2. 3. 1. 43).....	52
IX.	Mesure du statut Oxydant/Antioxydant.....	52
IX. 1.	Peroxydation lipidique.....	52
IX. 1. 1.	Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique.....	52
	▪ Au niveau sérique, lipoprotéique et érythrocytaire.....	53
	▪ Au niveau tissulaire.....	53
IX. 1. 2.	Les hydroperoxydes.....	54
IX. 2.	Oxydation protéique.....	54
IX. 3.	Monoxyde d'azote.....	55
IX. 4.	Défense antioxydante.....	56
IX. 4. 1.	Activité Paraoxonase.....	56
IX. 4. 2.	Activité glutathion peroxydase.....	56
IX. 4. 3.	Activité glutathion réductase.....	57
IX. 4. 4.	Activité superoxydes dismutase.....	58
IX. 4. 5.	Activité catalase.....	59
X.	Dosage des hormones.....	59
X. 1.	La leptine.....	59
X. 2.	Insuline.....	60
XI.	Analyse statistique.....	60

RESULTATS

I. Caractérisation des hydrolysats de protéines de poisson.....	61
II. Croissance pondérale, nourriture ingérée, rapport d'efficacité nutritionnelle et poids relatif des organes.....	63
II. 1. Croissance pondérale, nourriture ingérée et rapport d'efficacité nutritionnelle.....	63
II. 2. Poids relatif des organes.....	64
III. Activités alanine (ALAT) et aspartate (ASAT) aminotransférase.....	65
IV. Métabolisme lipidique.....	65
IV. 1. Teneurs en protéines totales et en lipides totaux du foie.....	65
IV. 2. Paramètres lipidiques et biochimiques.....	67
IV. 2. 1. Au niveau hépatique.....	67
IV. 2. 2. Au niveau sérique.....	67
IV. 2. 3. Acide urique, leptine et insuline.....	69
IV. 3. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des différentes fractions de lipoprotéines.....	71
IV. 3. 1. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL	71
IV. 3. 2. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL ₁	71
IV. 3. 3. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL ₂	74
IV. 3. 4. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL ₃	74
IV. 4. Répartition des triglycérides et du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	77
IV. 4. 1. Répartition des triglycérides entre les différentes fractions de lipoprotéines.	77
IV. 4. 2. Répartition du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	78
IV. 5. Rapports d'athérogénicité.....	78
IV. 6. Activité lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT, EC 2. 3. 1. 43).....	79
V. Le statut Oxydant/Antioxydant.....	80
V. 1. La peroxydation lipidique.....	80
V. 1. 1. Les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	80
V. 1. 1. 1. Au niveau sérique, urinaire, érythrocytaire et des lipoprotéines.....	80
V. 1. 1. 2. Au niveau tissulaire	81
V. 1. 2. Les hydroperoxydes.....	82
V. 1. 2. 1. Au niveau sérique, érythrocytaire et des lipoprotéines.....	82
V. 1. 2. 2. Au niveau tissulaire.....	83
V. 2. Oxydation protéique : les dérivés carbonylés.....	84
V. 2. 1. Au niveau sérique et des lipoprotéines	84
V. 2. 2. Au niveau tissulaire.....	85
V. 3. Teneurs en monoxyde d'azote.....	86
V. 4. Systèmes antioxydants enzymatiques.....	88
V. 4. 1. Activité paraoxonase.....	88
V. 4. 2. Activité catalase érythrocytaire et tissulaire.....	88
V. 4. 3. Activité superoxydes dismutase érythrocytaire et tissulaire.....	89
V. 4. 4. Activité glutathion peroxydase érythrocytaire et tissulaire.....	92
V. 4. 5. Activité glutathion réductase érythrocytaire et tissulaire.....	92

DISCUSSION.....	97
------------------------	-----------

CONCLUSION.....	122
------------------------	------------

REFFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	125
--	------------

ANNEXE	152
---------------------	------------

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. La pêche et l'aquaculture dans le monde: production et utilisation.....	6
Tableau II. Principales protéases utilisées pour l'hydrolyse de quelques espèces de poisson.....	36
Tableau III. Conditions réactionnelles d'hydrolyse des différentes espèces de poisson sous l'action de l'Alcalase.....	37
Tableau IV. Teneurs à J ₀ de quelques paramètres sériques des rats.....	46
Tableau V. Composition du régime en g/kg de régime.....	47
Tableau VI. Composition chimique et en acides aminés (%) des hydrolysats de protéines de sardine (<i>Sardina pilchardus</i>) (HPS) et de sardinelle (<i>Sardinella aurita</i>) (HPA).....	62
Tableau VII. Poids des rats et REN.....	63
Tableau VIII. Poids relatif des différents organes.....	64
Tableau IX. Teneurs sériques en transaminases.....	65
Tableau X. Teneurs en apolipoprotéines A-I et B.....	69
Tableau XI. Teneurs sériques en acide urique, leptine et insuline.....	69
Tableau XII. Rapports d'athérogénicité.....	79
Tableau XIII. Activité lécithine: cholestérol acyltransférase et teneurs en apo-HDL ₃ , CL-HDL ₃ , PL-HDL ₃ et EC-HDL ₂	80
Tableau XIV. Teneurs sériques, lipoprotéiques et érythrocytaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique.....	81
Tableau XV. Teneurs tissulaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique.....	82
Tableau XVI. Teneurs sériques, lipoprotéiques et érythrocytaires en hydroperoxydes.....	83
Tableau XVII. Teneurs tissulaires en hydroperoxydes.....	84
Tableau XVIII. Teneurs sériques et lipoprotéiques en carbonyles.....	85
Tableau XIX. Teneurs tissulaires en carbonyles.....	86
Tableau XX. Teneurs en monoxyde d'azote.....	87

ANNEXES

Tableau XXI. Croissance pondérale et nourriture ingérée.....	152
Tableau XXII. Teneurs en protéines et en lipides du sérum	152
Tableau XXIII. Teneurs en protéines et en lipides du foie.....	153
Tableau XXIV. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL.....	153

Tableau XXV. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL ₁	154
Tableau XXVI. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL ₂	154
Tableau XXVII. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL ₃	154
Tableau XXVIII. Répartition des triglycérides entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	155
Tableau XXIX. Répartition du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	155
Tableau XXX. Activité paraoxonase.....	155
Tableau XXXI. Activité catalase (CAT)	156
Tableau XXXII. Activité superoxydes dismutase (SOD)	156
Tableau XXXIII. Activité glutathion peroxydase (GSH-Px)	157
Tableau XXXIV. Activité glutathion réductase (GSSH-Red)	157

LISTE DES FIGURES

Fig. 1. Production mondiale de la pêche de capture et de l'aquaculture.....	5
Fig. 2. Action des enzymes antioxydantes dans la destruction des espèces radicalaires.....	12
Fig. 3. Les différents mécanismes d'action des antioxydants.....	13
Fig. 4. Effets potentiels du stress oxydant sur les composants cellulaires et sur l'organisme.....	15
Fig. 5. La peroxydation lipidique en chaîne.....	16
Fig. 6. Les mécanismes proposés des fonctions hypolipémiants des hydrolysats de protéines alimentaires et des peptides dans les hépatocytes, les adipocytes et le tractus intestinal.....	26
Fig. 7. Procédé d'extraction selon la méthode de Guillaume <i>et al.</i> , (1999) et de purification des protéines de poisson.....	41
Fig. 8. Diagramme de l'hydrolyse enzymatique des protéines de poisson selon la méthode de pH-stat d'Adler-Nissen, (1986).....	43
Fig. 9. Croissance pondérale et nourriture ingérée des animaux.....	63
Fig. 10. Teneurs hépatiques en protéines totales et en lipides totaux.....	66
Fig. 11. Teneurs hépatiques des différents lipides.....	68
Fig. 12. Teneurs sériques des différents lipides.....	70
Fig. 13. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL.....	72
Fig. 14. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL ₁	73
Fig. 15. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL ₂	75
Fig. 16. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL ₃	76
Fig. 17. Répartition des triglycérides entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	77
Fig. 18. Répartition du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	78
Fig. 19. Activité paraoxonase.....	88
Fig. 20. Activité catalase érythrocytaire et tissulaire.....	90
Fig. 21. Activité superoxydes dismutase érythrocytaire et tissulaire.....	91
Fig. 22. Activité glutathion peroxydase érythrocytaire et tissulaire.....	93
Fig. 23. Activité glutathion réductase érythrocytaire et tissulaire.....	95

ANNEXES

Fig. 24. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines selon la méthode de Burstein <i>et al.</i> , (1989).....	158
--	------------

Fig. 25. Purification des différentes fractions de lipoprotéines selon la méthode de Burstein <i>et al.</i> , (1989 ; 1970).....	159
--	------------

LISTE DES PHOTOS

Photos 1. Sardine européenne, <i>Sardina pilchardus</i> (Walbaum, 1792).....	39
Photos 2. Sardinelle ronde (Allache), <i>Sardinella aurita</i> (valencienne, 1847).....	39
Photos. 3. Dispositif de l'hydrolyse enzymatique des protéines de poisson.....	44

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'effet bénéfique de la consommation de poisson est reconnu depuis des décennies. En effet, la diminution de l'incidence des maladies cardiovasculaires (MCV) chez des populations consommant des régimes alimentaires riches en poisson a été attribuée à l'importante proportion des acides gras polyinsaturés oméga 3 (AGPI n-3) présents dans l'huile de poisson (**Schacky, 2014**) connus pour leurs effets cardioprotecteurs. Parmi ces mécanismes, on peut inclure l'effet anti-arythmique, anti-thrombotique, anti-inflammatoire et l'effet hypotenseur. Ces acides gras jouent également un rôle important dans l'amélioration de la fonction endothéliale et la réduction de la plaque d'athérosclérose (**Roosha & Parloop, 2010**).

Comme tous les aliments d'origine animale, les produits de la mer présentent une composition complexe dont la richesse ne peut être réduite à l'un de leurs composants. Ainsi, ils ne peuvent être considérés uniquement comme sources d'AGPI n-3 ; leurs protéines et les peptides bioactifs qui peuvent en être libérés ont des actions propres, et souvent synergiques des AGPI n-3 (**Bouglé, 2007**). En effet, les protéines et les peptides marins, en particulier ceux du poisson sont actifs contre les complications métaboliques des maladies chroniques tels que l'obésité, l'hypertension, les dyslipoprotéïnémies, la résistance à l'insuline ; ces anomalies sont responsables du risque cardiovasculaire et de la mortalité précoce (**Mellouk et al., 2009 ; Bouglé, 2007 ; Ait-yahia et al., 2005 ; Boukortt et al., 2004**).

Les travaux entrepris au laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique ont montré chez le rat hypercholestérolémique, que les protéines hautement purifiées de sardine ont un effet bénéfique sur le profil des lipoprotéines en stimulant la voie de retour du cholestérol total (CT) vers le foie qui sera excrété sous forme de sels biliaires (**Mir et al., 2014 ; Louala et al., 2011 ; Mellouk et al., 2009**). Ces mêmes protéines ont montré également une action antioxydante (**Mir et al., 2014 ; Hamza-Reguig et al., 2013 ; Mellouk et al., 2009**). Les mêmes effets ont été observés chez l'homme, cependant le plus souvent avec des protéines végétales tels que les protéines de soja (**Xiao, 2008 ; Heneman et al., 2007**).

Hosomi et al., (2011 ; 2010) ainsi que nos partenaires du laboratoire de Génie Enzymatique et Microbiologie de l'Université de Sfax, Tunisie (**Lassoued et al., 2014**) sont arrivés aux mêmes résultats avec respectivement les protéines de lieu de l'Alaska et de bogu.

Le mécanisme par lequel ces protéines de poisson peuvent exercer leurs effets bénéfiques se situerait dans la composition en acides aminés, la séquence et la configuration des peptides libérés lors de la digestion ou par l'hydrolyse enzymatique *in vitro*.

Par ailleurs, il a été rapporté dans plusieurs travaux que l'hydrolyse enzymatique potentialise l'effet des protéines de poisson (**Lassoued et al., 2014 ; Ben khaled et al., 2012**). En effet, des études expérimentales ont confirmé que la consommation des hydrolysats de protéines de poisson est associée à une diminution du CT plasmatique avec une augmentation importante du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (C-HDL) (**Wang et al., 2013 ; Liaset et al., 2009**). **Hosomi et al., (2012)** ont montré que l'administration d'un régime normo-protéique contenant 10% d'hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska (*Alaska Pollack*) pendant 1 mois, inhibe efficacement l'absorption du cholestérol et des acides biliaires. De plus, **Ben Khaled et al., (2012)** ont révélé chez des rats consommant un régime hypercholestérolémiant, supplémenté avec 5% d'hydrolysats de protéines de sardinelle pendant 7 semaines, une diminution significative du CT, des triglycérides (TG) et du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (C-LDL) et une augmentation du C-HDL. De même, **Benomar et al., (2015)** ont montré chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol, que l'administration de 250 mg/rat d'hydrolysats de protéines de sardine pendant 1 mois, réduit significativement le niveau du CT, et des TG sériques. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Lassoued et al., (2014)** avec les hydrolysats de protéines de bogue administrés à des doses de 0,5 et 2 g/kg de poids corporel (PC) de rat pendant 1 mois et par **Ktari et al., (2015)** avec des hydrolysats de protéines de Blennie zébrée (*Salaria basilisca*) administrés à une dose de 400 mg/kg PC de rat pendant 8 semaines.

En plus de leur effet hypocholestérolémiant, un certain nombre d'études *in vitro* et *in vivo* ont rapporté (**Chalamaiah et al., 2012 ; Giménez et al., 2009**) que des peptides isolés par hydrolyse enzymatique des protéines d'espèces marines tels que le calmar géant, le hoki, le thon, la morue, le merlu du Pacifique, le capelan, le maquereau, le congre, l'anguille et le lieu de l'Alaska, ont des propriétés antioxydantes (**Chi et al., 2014 ; Himaya et al., 2012 ; Je et al., 2009**). Ces mêmes propriétés ont été mises en évidence avec d'autres espèces comme la sardine, la sardinelle, la bogue, la blennie zébrée et la gobie (**Athmani et al., 2015 ; Benomar et al., 2015 ; Ktari et al., 2015 ; Nasri et al., 2015 ; Lassoued et al., 2014**) et avec des peptides isolés à partir de la transformation des co-produits de poisson (**Di Bernardini et al., 2011**).

Le mécanisme d'action exact de ces peptides antioxydants n'est pas totalement élucidé mais plusieurs travaux ont montré qu'ils ont une capacité d'inhiber la peroxydation lipidique, de piéger les radicaux libres et de séquestrer les ions métalliques de transition en raison de leur richesse en histidine, proline et acides aminés hydrophobes (**Aleman *et al.*, 2011a ; Ranathunga *et al.*, 2006**).

Toutefois, plusieurs auteurs ont rapporté que l'administration des hydrolysats de protéines de poisson améliore également la défense antioxydante. En effet, **You *et al.*, (2011)** ont montré que les systèmes enzymatiques (les superoxydes dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase) et les systèmes non enzymatiques (la vitamine E, le glutathion) ont été améliorés par des peptides extraites du loche (*Misgurnus anguillicaudatus*). De même, **Wang *et al.*, (2013)** ont mis en évidence que les hydrolysats des moules bleue (*Mytilus edulis*) (espèce marine) révèlent un peptide bioactive avec une haute activité antioxydante contre le radical hydroxyle et l'anion superoxyde.

Ces mêmes effets antioxydants ont été rapportés par **Lassoued *et al.*, (2014)** avec des hydrolysats de protéines de bogue et par **Ben Khaled *et al.*, (2012)** avec des hydrolysats de protéines de sardinelle. Ils ont montré chez le rat hypercholestérolémique traité avec ces hydrolysats pendant un mois, une diminution de la peroxydation lipidique et une élévation de l'activité des enzymes antioxydantes (les superoxydes dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase). De même, **Benomar *et al.*, (2015)** ont montré chez le même modèle animal, que les hydrolysats de protéines de sardine et de bogue administrés pendant un mois diminuent significativement la peroxydation lipidique et augmentent les activités des enzymes antioxydantes.

Plusieurs études expérimentales ont été menées *in vitro* afin de démontrer que les hydrolysats de protéines de poisson possèdent des activités biologiques bénéfiques comparés aux autres types d'hydrolysats protéiques. Par contre, peu d'études ont été réalisées *in vivo* pour expliquer l'effet hypocholestérolémiant et antioxydant des hydrolysats des protéines de poisson.

Il en ressort des études précédemment mentionnées que l'effet bénéfique des hydrolysats de protéines de poisson sur le métabolisme des lipides et le statut antioxydant a été testé sur une période d'un mois au minimum et le plus souvent administrés incorporés aux régimes.

De ce fait, nous nous sommes proposés de vérifier l'hypothèse que des hydrolysats de protéines de sardine ou de sardinelle administrés à court terme peuvent améliorer le profil lipoprotéique et le statut antioxydant après 14 jours de traitement. A cet effet, trois objectifs ont été fixés;

En premier lieu on a voulu vérifier si les hydrolysats de protéines de sardine ou de sardinelle ont un effet sur le poids corporel et s'ils protègent de l'effet toxique du régime hypercholestérolémique consommé par le rat.

Le deuxième objectif vise à évaluer l'effet des hydrolysats de protéines de poisson sur le métabolisme des lipides et sur le profil des lipoprotéines. Pour ce faire, la composition lipidique du sérum, des lipoprotéines et du foie ainsi que l'activité lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT) sont déterminées chez le rat soumis à un régime hypercholestérolémique.

Le troisième objectif consiste à évaluer le statut antioxydant par le dosage de quelques marqueurs de l'oxydation et par l'évaluation de la défense antioxydante. A cet effet, les substances réactives à l'acide thiobarbiturique, les hydroperoxydes, et les dérivés carbonylés ainsi que les enzymes de la défense antioxydante (paraoxonase, superoxydes dismutase, glutathion réductase, peroxydase et catalase) sont déterminés.

Le choix de la sardine comme source protéique est dictée par sa large consommation dans le bassin méditerranéen, en particulier en Algérie. De plus, comparativement aux autres espèces de poissons les effets hypolipémiants et antioxydants ont été très peu étudiés chez le modèle animale.

Avant d'aborder nos résultats, une revue bibliographique se rapportant à l'effet des protéines de poisson et de leurs hydrolysats sur l'hypercholestérolémie et le statut antioxydant ainsi que les mécanismes d'action par lesquels elles agissent sont présentés.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Intérêt des protéines de poisson et de leurs hydrolysats

Le poisson représente une source importante de protéines dans de nombreux pays en développement. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, **FAO, (2014)**, le poisson représentait en 2010, 17% des apports de protéines animales dans le monde et 6,5% de toutes les protéines consommées. Le poisson qui constitue un aliment particulièrement nutritif, renferme de nombreux micronutriments souvent absents dans les régimes alimentaires des pays pauvres (**FAO, 2014 ; 2012**).

La pêche et l'élevage (aquaculture) jouent un rôle fondamental dans la nutrition. En 2010, la production mondiale a atteint 148 millions de tonnes de poisson, dont 128 millions de tonnes consacrés pour l'alimentation humaine. En 2011, la production a augmenté jusqu'à 155,7 millions de tonnes, dont 131 millions de tonnes destinés à l'alimentation. En 2012, elle est estimée à 158 millions de tonnes (**FAO, 2014**) (**Fig. 1**).

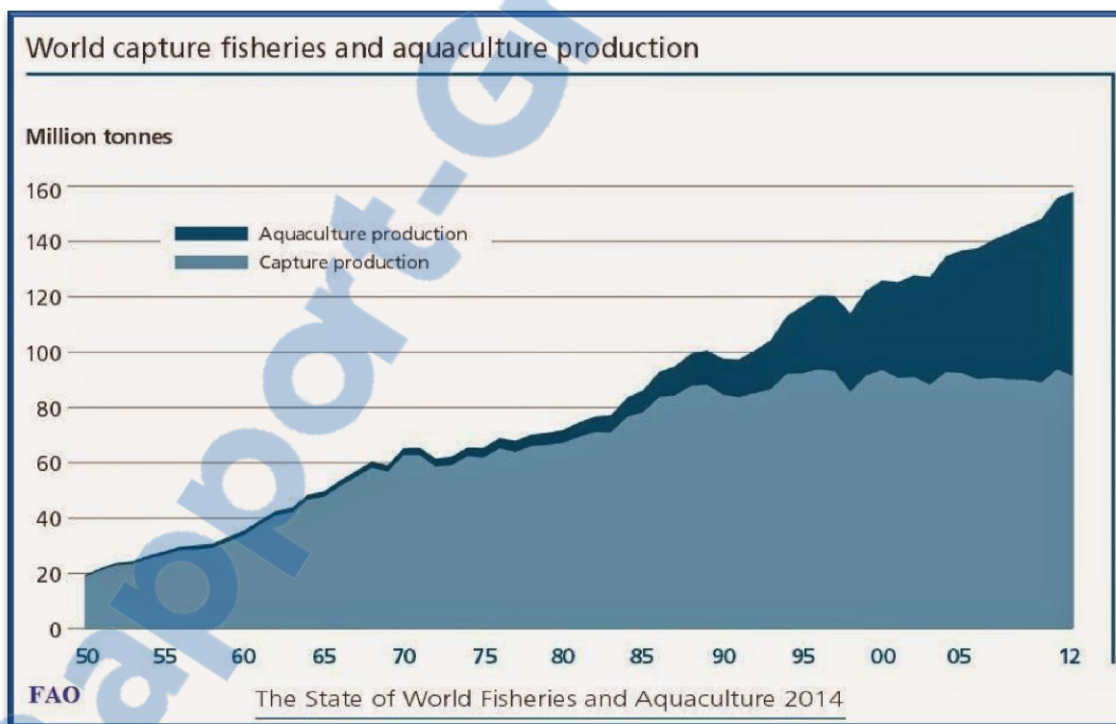


Fig. 1. Production mondiale de la pêche de capture et de l'aquaculture (**FAO, 2014**).

Au cours de ces dernières années, la consommation de poisson a progressé, dans les pays développés et les pays en développement, à un rythme supérieur à 2,5% par an (**Peterson & Fronc, 2007**) et ce dernier a tendance à augmenter avec le développement des pays pauvres tels que la Chine et l'Inde (**Garcia & Rosenberg, 2010**). La consommation mondiale de poisson est passée de 9,9 kg/habitant en 1960 à 19,2 kg/habitant en 2012 (**FAO, 2014**) (**Tableau I**). L'Asie représentait les deux tiers de la consommation totale de poisson, avec 21,4 kg/habitant en 2011, identique à celle de l'Europe (22,0 kg/habitant/an), de l'Amérique du Nord (21,7 kg/habitant/an) et de l'Océanie (25,1 kg/habitant/an). La consommation est plus basse en Afrique, en Amérique latine et au Proche-Orient; elle représente respectivement, 10,4, 9,9 et 9,3 kg/habitant/an (**FAO, 2014**).

Tableau I. La pêche et l'aquaculture dans le monde: production et utilisation (**FAO, 2014**)

	2007	2008	2009	2010	2011	2012
PRODUCTION (Millions de tonnes)						
Pêche de capture	90,8	90,2	90,1	89,1	93,7	91,4
Aquaculture	49,9	52,9	55,7	59,0	62,0	66,6
Total mondial	140,7	143,1	145,8	148,1	155,7	158,0
UTILISATION						
Consommation humaine	117,3	120,9	123,7	128,2	131,2	136,2
Usages non alimentaires	23,4	22,2	22,1	19,9	24,5	21,7
Population (milliards de personnes)	6,7	6,8	6,8	6,9	7,0	7,1
Offre par personne de poisson destiné à la consommation (kg)	17,6	17,9	18,1	18,5	18,7	19,2

L'Algérie est caractérisée par un plateau continental qui se classe 11^{ème} sur une échelle de 20 pays méditerranéens. A fin 2005, la production nationale de poisson, a atteint 139.000 tonnes, alors qu'elle représentait 137.108 tonnes en 2004. Les espèces halieutiques les plus consommées sont : petits pélagiques, grands pélagiques, requins et squales, crustacés et mollusques. Actuellement, l'Algérie pêche presque 230 000 tonnes par an (**DPRH, 2014 ; 2013**).

La consommation du poisson dans notre pays a connu une progression considérable. D'après des études récentes, le ratio-alimentaire du poisson en Algérie est environ 5 kg/habitant/an, alors que les recommandations d'une consommation moyenne propre au pays méditerranéens sont de 11,4 kg/habitant/an (**Matarese, 2015**).

En Algérie, la sardine, la sardinelle et autres petits poissons pélagiques occupent une place primordiale dans l'équilibre alimentaire et les captures halieutiques nationales. Au niveau de la Wilaya d'Oran, une production de 331 tonnes de sardine (*sardina pilchardus*) a été enregistrée en 2008. Elle a augmenté en 2010 pour atteindre 3117 tonnes. En 2012, elle a continué à progresser, elle est arrivée à environ 3400 tonnes de sardine au niveau du port d'Oran seulement (**DPRH, 2012**). À fin 2012, une récolte de 125 tonnes/jour de poissons pélagiques a débarqué sur les quais d'Oran et d'Arzew. 39 tonnes/jour de sardine, 22 tonnes/jour de saurel, 20 tonnes/jour de bogue, 19 tonnes/jour de sardinelle, plus des quantités appréciables de crustacés. En 2013, la production a atteint 53 tonnes/jour de sardine à la wilaya d'Oran (**DPRH, 2013**). Cependant, selon les analyses des experts, il y a un déséquilibre entre l'offre et la demande de sardine. 100 000 tonnes de ce poisson bleu qui sont pêchées annuellement pour une demande estimée à 200 000 tonnes, soit 50% des besoins nationaux (**MPRH, 2015**).

I. 1. Propriétés nutritionnelles et biologiques du poisson, des protéines de poisson et de leurs hydrolysats

La consommation du poisson est l'une des habitudes alimentaires de nombreux pays, et pour certains, les poissons et les autres produits de la pêche sont des sources importantes d'aliments essentiels. En effet, de nombreux travaux ont montré sa teneur en nutriments essentiels tels que les micronutriments : l'iode, le phosphore, le potassium, les vitamines B12, D et E, et en acides gras à longue chaîne (acides gras oméga 3 eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA)), en protéines de qualité, mais aussi en calcium, fer, zinc et vitamine A (**FAO, 2014 ; 2013**).

La composition nutritionnelle du poisson est intéressante, principalement en raison de sa teneur en acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) de la famille n-3 (**Girardet, 2012**). L'effet des AGPI-LC oméga-3 des huiles de poisson sur la santé des êtres humains, continue de passionner les chercheurs dans de nombreuses disciplines.

I. 1. 1. Les lipides de poisson

La teneur des poissons en lipides varie selon les espèces et leur capacité à stocker les lipides, qui peuvent être classées en poissons gras (le saumon, la sardine ou le hareng) définis par une teneur en graisse supérieure à 2 %, ou en poissons maigres (le colin, le cabillaud ou la sole). Les poissons sont la principale source alimentaire d'AGPI n-3, notamment d'EPA et d'DHA, actuellement considérés comme des acides gras conditionnellement indispensables en raison des capacités limitées de conversion de leur précurseur, l'acide α -linoléique (**Rieu, 2012 ; Anses, 2010**).

Les AGPI n-3 diminuent le risque des MCV principalement par leurs effets hypotriglycéridémisants, anti-thrombotiques, anti-arythmiques, anti-inflammatoires et hypotenseurs (**Mozaffarian & Wu, 2011 ; McEwen *et al.*, 2010**). De nombreuses études cliniques et expérimentales ont mis en évidence les effets bénéfiques d'une consommation de poisson riche en EPA et DHA sur la santé cardiovasculaire (**Larsson *et al.*, 2011 ; De Goede *et al.*, 2010**).

I. 1. 2. Les protéines de poisson

Il a été rapporté chez l'homme que la protéine de poisson améliore le profil lipidique (**Beauschesne-Rondeau *et al.*, 2003**) et inflammatoire (**Ouellet *et al.*, 2008**). En effet, des études ont montré que certains acides aminés retrouvés en grande quantité dans le poisson et la gélatine de poisson pourraient avoir des effets bénéfiques sur les MCV en modulant le profil lipidique et les marqueurs inflammatoires (**Erdmann *et al.*, 2008**). De plus, la protéine de poisson renferme tous les acides aminés essentiels, ce qui lui confère une très haute valeur biologique. Il est à noter également que le contenu en certains acides aminés retrouvés dans le poisson peut varier selon le type de poisson. Par exemple, la teneur en taurine de la plie est de 146 mg/100 g de poids frais alors que celle de la morue est de 108 mg/100 g de poids frais (**Gormley *et al.*, 2006**).

De nombreuses études *in vivo* ont montré les effets bénéfiques des protéines de poisson sur le profil lipidique. En effet, des études chez le rat ont montré une réduction des concentrations plasmatiques en cholestérol total et en triglycérides (**Mir *et al.*, 2014 ; Hosomi *et al.*, 2011 ; Athmani *et al.*, 2005**). Les mécanismes associés aux effets des protéines de poisson sur le profil lipidique ne sont pas clairement établis, mais pourraient inclure l'expression des gènes hépatiques impliqués dans l'homéostasie des lipides (**Hosomi *et al.*, 2011 ; Shukla *et al.*, 2006**).

D'autre part, des études cliniques et expérimentales ont montré que les protéines de poisson entraînent des effets bénéfiques sur le statut antioxydant (**Mir et al., 2014 ; Madani et al., 2012**) et l'inflammation (**Ouellet et al., 2008**). Cependant, plusieurs auteurs ont démontré que lorsque ces protéines de poisson sont hydrolysées, leurs effets bénéfiques sur la santé sont potentialisés.

I. 1. 3. Les hydrolysats de protéines de poisson

Les hydrolysats sont obtenus par hydrolyse protéique du muscle, du poisson entier ou de ces co-produits (**Guérard et al., 2005**). Ces hydrolysats peuvent jouer un rôle important dans l'amélioration de la structure et la qualité organoleptique des aliments (**Canabady-Rochelle & Hedhilib, 2012**).

Ils sont largement utilisés en alimentation humaine ou animale pour leurs propriétés aromatiques, fonctionnelles ou nutritionnelles (**Guérard et al., 2010 ; Folador et al., 2006**). En effet, ils sont utilisés comme compléments protéiques. Ils permettent une meilleure assimilation des acides aminés. Leur teneur en acides aminés essentiels est supérieure ou égale à celle de la protéine standard (**Infofish International, 2002**). Ils sont très digestes et possèdent une haute qualité nutritive. De plus, ils sont les plus valorisés dans le domaine de l'aquaculture où ils remplacent partiellement la farine de poisson (**Tang et al., 2008 ; Penda, 2008 ; Kotzamanis et al., 2007**).

D'un autre côté, les hydrolysats de protéines de poisson occupent une place primordiale dans le domaine industriel pour leur intérêt nutritionnel et leur incorporation dans les régimes destinés à l'alimentation humaine. C'est la raison pour laquelle les propriétés fonctionnelles telle que la solubilité, la rétention d'eau, la capacité émulsifiante et le pouvoir moussant ont été largement étudiées afin de déterminer dans quelle mesure ces hydrolysats permettent de modifier les caractéristiques fonctionnelles des aliments (**Pacheco-Aguilar et al., 2008**). En effet, plusieurs études ont montré que les propriétés des hydrolysats sont influencées par les conditions d'hydrolyse (**Qian et al., 2007**).

Plusieurs études ont montré également que les hydrolysats et les peptides bioactifs d'origine marins ont un potentiel nutraceutique en raison de leur efficacité dans la prévention et le traitement de maladies (**Kim & Wijesekara, 2013**). De nombreux auteurs se sont intéressés à la recherche et l'identification des peptides bioactifs au sein des hydrolysats de protéines de poisson. En effet, plusieurs peptides marins ont été isolés au cours des dernières années. Les plus connus sont les peptides marins hypotensifs et inhibiteurs de l'Enzyme de

Conversion de l'Angiotensine-I (ACE) (**Darewicz *et al.*, 2014 ; Balti *et al.*, 2010**). En effet, de nombreuses études réalisées chez des rats spontanément hypertendus ont montré une activité anti-hypertensive inhibitrice de l'ACE des peptides marins (**Zhao *et al.*, 2009 ; Fahmi *et al.*, 2004**).

Un certain nombre d'études ont observé que les peptides provenant de différents hydrolysats protéiques marins sont des antioxydants; ces peptides ont été isolés à partir des organismes marins tels que le calmar géant, la sardinelle, le hoki, le thon, la morue, le merlu du Pacifique, le capelan, le maquereau, le lieu de l'Alaska (**Chi *et al.*, 2014 ; Kim & Wijesekara, 2013 ; Bougatef *et al.*, 2009**). De plus, des peptides antimicrobiens d'origine marin ont été isolés de l'hémolymphe des invertébrés marins (**Tincu & Taylor, 2004**), de l'araignée de mer (**Stensvag *et al.*, 2008**), de l'huître (**Liu *et al.*, 2008**), des crevettes (**Bartlett *et al.*, 2002**) et de l'oursin vert (**Li *et al.*, 2008**). Par ailleurs, les peptides bioactifs marins anticoagulants ont été rarement rapportés; les plus connus ont été isolés à partir d'organismes marins tels que les étoiles de mer et la moule bleue (**Jo *et al.*, 2008**).

D'autre part, l'activité anti-cancer des peptides marins a été mise en évidence en raison de l'induction de l'apoptose et l'inhibition de la prolifération cellulaire. Ces peptides ont été isolés à partir du calmar (**Aleman *et al.*, 2011b**), de la morue, de la plie, du saumon (**Picot *et al.*, 2006**) et des crevettes (**Kannan *et al.*, 2011**). D'un autre côté, des études récentes ont montré que les hydrolysats de protéines de poisson peuvent réduire le risque des MCV; ces hydrolysats ont été isolés à partir de la bogue (**Benomar *et al.*, 2015**), la sardinelle (**Lassoued *et al.*, 2014**) et le lieu de l'Alaska (**Hosomi *et al.*, 2012**).

II. Statut oxydant/antioxydant

II. 1. Régulation du statut redox

Un nouveau concept de stress oxydatif, ne se limite pas aux dommages des radicaux libres, mais à une perturbation de l'état redox cellulaire. Sur la base de nouvelles données sur les voies de signalisation redox, **Jones, (2006)** a redéfini le stress oxydatif comme « une perturbation dans la signalisation et le contrôle redox ».

Il est aujourd'hui clair que le mécanisme d'action des antioxydants est plus complexe qu'une simple neutralisation ou inhibition des radicaux libres réactifs (**Finley et al., 2011 ; Jones, 2006**) (**Fig. 2**). Ces radicaux peuvent être nocifs pour la vie en fonction du type de radical produit, le niveau et le site de production. Cependant de faibles concentrations de ces espèces réactives sont indispensables pour assumer les fonctions physiologiques normales comme l'expression des gènes, la croissance cellulaire et la défense immunitaire.

Le statut redox est donc finement régulé et sa perturbation provoque le stress oxydatif. Certaines études ont indiqué également que les antioxydants peuvent entraîner des effets délétères sur la santé humaine selon leurs doses et leurs biodisponibilités (**Lonn et al., 2005**) (**Fig. 3**).

Des études ont montré que les oxydants endogènes comme l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et l'oxyde nitrique, peuvent agir dans des conditions physiologiques normales comme second messager et déclencher une cascade de réponses intracellulaires résultant de l'expression d'enzymes antioxydantes afin de contrôler l'état cellulaire (**Forman et al., 2010 ; Linnane et al., 2007**). Certaines voies de signalisation liées au statut redox ont été identifiées. En effet, deux facteurs de transcription associés au contrôle du statut, le facteur nucléaire E2 (Nrf-2) (*Nuclear factor E2-related protein 2*) et le facteur nucléaire *kappa* B (NF-*κ*B) (*Nuclear factor kappa B*), ont été définis comme régulateurs du statut dans le cytosol et le noyau. Le Nrf-2 est un facteur de transcription redox, activé par un signal d'oxydation dans le cytoplasme qui provoque sa translocation et migre vers le noyau où il se lie à des régions ADN/ARN (des éléments de réponse antioxydante), entraînant ainsi l'expression des enzymes cytoprotectrices comme la glutathion-S-transférase, les superoxydes dismutase, l'hème oxygénase-1, le NADPH quinone-oxydase (**Eggler et al., 2008**).

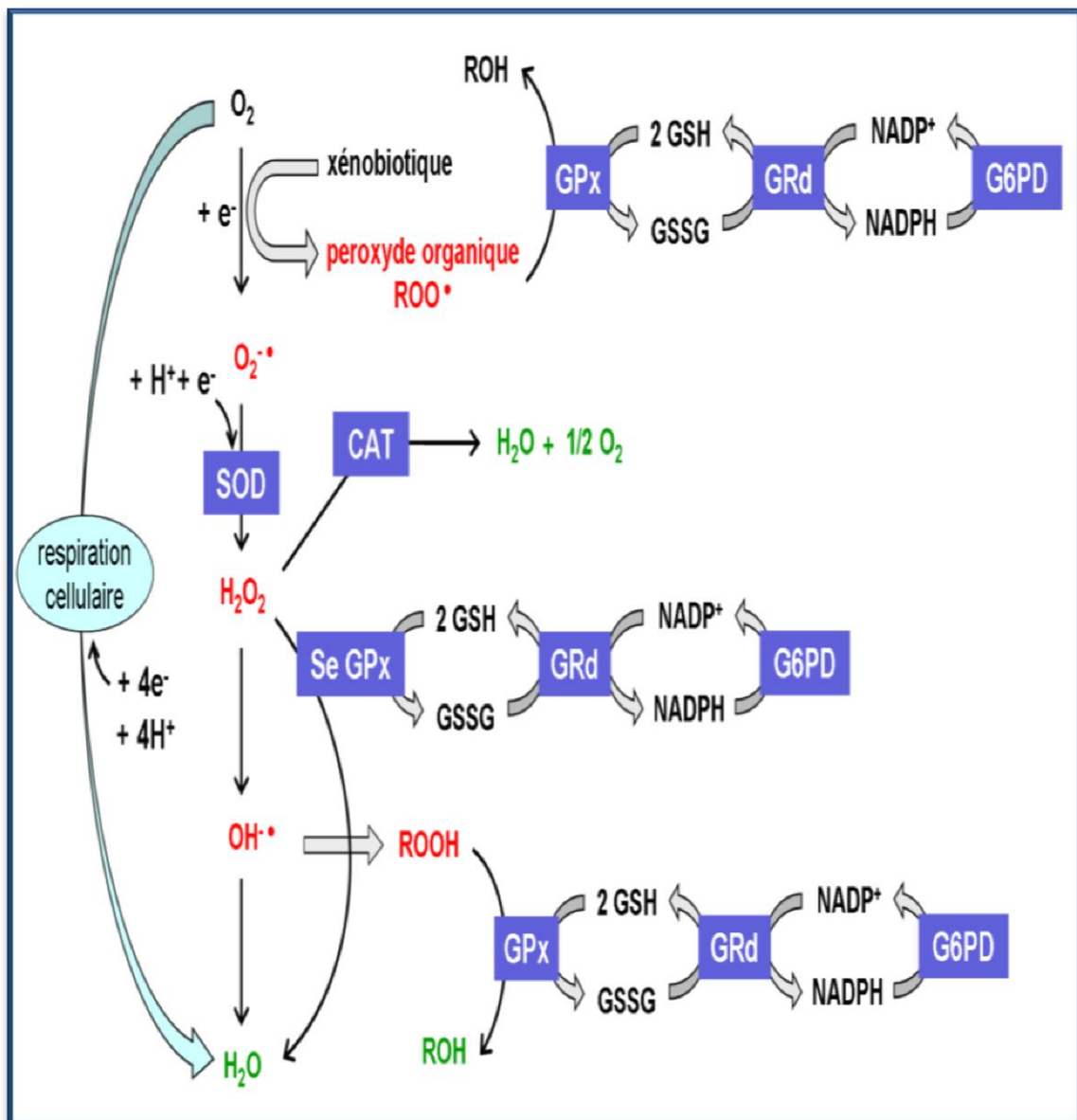


Fig. 2. Action des enzymes antioxydantes dans la destruction des espèces radicalaires (Letendre, 2009).

SOD : superoxydes dismutase ; **CAT** : catalase ; **Se GPx** : glutathion peroxydase séléno-dépendante ; **GRd** : glutathion réductase ; **G6PD** : glutathion-6-phosphate déshydrogénase ; **GSH** : glutathion réduit, **GSSG** : glutathion oxydé ; **NADPH** : dinucléotide nicotinamide adénine phosphate (réduit) ; **NADP⁺** : dinucléotide nicotinamide adénine phosphate (oxydé) ; **O₂^{•-}** : Anion superoxyde ; **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène ; **OH[•]** : radical hydroxyle ; **ROO[•]** : radical peroxyde ; **ROOH** : radical hydroperoxydes.

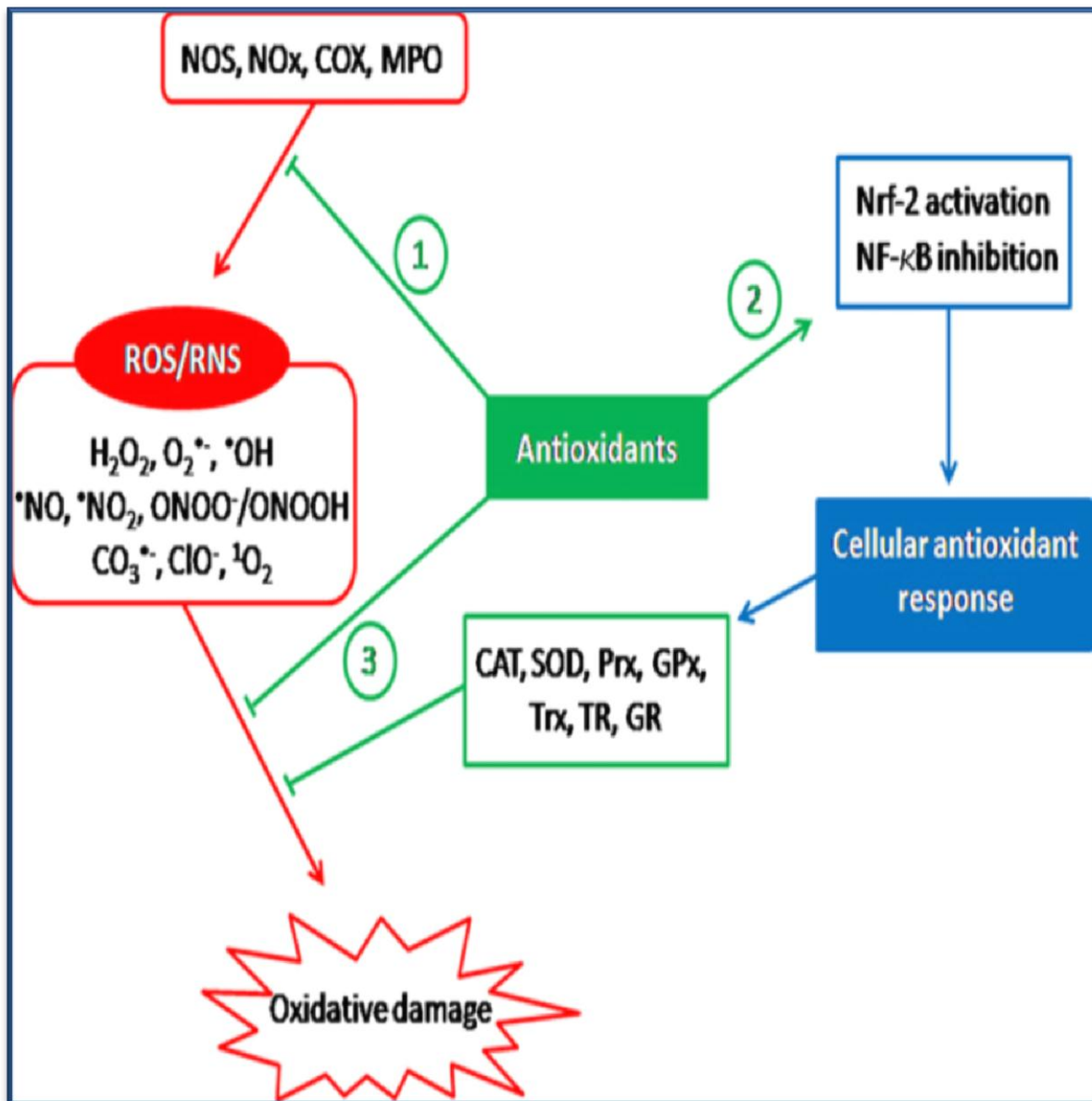


Fig. 3. Les différents mécanismes d'action des antioxydants (Lopez-Alarcon & Denicola, 2012).

(1) Inhibition des enzymes oxydants, qui se traduit par une diminution de la production de **ROS/RNS** cellulaire ; (2) Interaction avec les voies de signalisation redox qui se traduit par une réponse antioxydant cellulaire ; (3) réaction directe avec **ROS/RNS** donne un produit moins toxique/réactive (la vue la plus populaire d'un antioxydant, comme un « capteur de radicaux libres»). Enzymes produisant **ROS/RNS** : **NOS** (oxyde nitrique synthase), **NOx** (NADPH oxydase), **COX** (cyclo-oxygénase), **MPO** (myéloperoxydase). Enzymes antioxydantes: **CAT** (catalase), **SOD** (superoxydes dismutase), **Prx** (peroxiredoxine), **GPx** (Glutathion peroxydase), **Trx** (thiorédoxine), **TR** (thiorédoxine réductase), **GR** (glutathion réductase). **ROS (ERO)** : espèces réactives oxygénées, **RNS (ERN)** : espèces réactives azotées.

La famille des NF- κ B est un groupe de facteurs de transcription régulant les réponses immunitaires et inflammatoires et protège les cellules contre l'apoptose en réponse à un stress. Le NF- κ B est maintenu inactif dans le cytoplasme par association avec une protéine inhibitrice I κ B. En réponse à un stimulus inflammatoire (tel que les oxydants), l'I κ B est rapidement dégradée par le protéasome libérant ainsi le NF- κ B dans le noyau où il se lie à des séquences spécifiques d'ADN, et active l'expression des gènes spécifiques pro-inflammatoire et anti-apoptotique (**Renard *et al.*, 2000**).

II. 2. Effets délétères des ERO et des ERN: le stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes oxydants (radicaux libres) et les systèmes de défense antioxydante en faveur des oxydants, entraînant des dommages cellulaires (ADN, lipides, protéines) (**Otunola *et al.*, 2014 ; Powers *et al.*, 2010**) (**Fig. 4**).

II. 2. 1. Peroxydation des lipides

La peroxydation lipidique consiste en une modification oxydative des lipides. Elle peut être enzymatique (contrôlée) ou non enzymatique (**Rubbo & O'Donnell, 2005**). Cette dernière désigne la réaction de détérioration par oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) (**Sivalokanathan *et al.*, 2006**). Ce processus est impliqué dans la pathogénèse de divers troubles chroniques (**Démarchez *et al.*, 2012 ; Beevi *et al.*, 2010**) (**Fig. 5**).

La peroxydation lipidique débute par *une phase d'initiation* qui implique l'attaque des espèces réactives (hydroxyles, alcoxyles, peroxydes, oxygène singulet, peroxydinitrites), entraînant l'arrachement d'un hydrogène de l'acide gras polyinsaturé (AGPI) (**L**). Ceci aboutit à la formation d'un radical pentadiényle qu'après addition avec O₂ donne le radical peroxy (**LOO[•]**), ensuite ce radical déstabilise une deuxième molécule d'AGPI et conduit à un hydroperoxyde (**LOOH**) et un nouveau radical (**L[•]**). Cette auto oxydation se propage et s'amplifie d'un acide gras à l'autre (**Milane, 2004**), c'est *la phase de la propagation* de la peroxydation lipidique. Ces hydroperoxydes appartiennent à la famille des peroxydes lipidiques (**Halliwell & Gutteridge, 2007**). Elles peuvent subir plusieurs modes d'évolution; être réduits et métabolisés par la GSH-Px ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en alcanes (éthane, éthylène, pentane), qui sont éliminés par la voie pulmonaire de part de leur volatilité.

La réaction en chaînes peut être interrompue par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante. La vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique peut jouer le rôle d'un donneur d'hydrogène et transforme les radicaux peroxydes en hydroperoxydes et met fin à la réaction en chaîne de la peroxydation des AGPI (Delattre *et al.*, 2005). Cette dernière étape est alors désignée comme *phase de terminaison*.

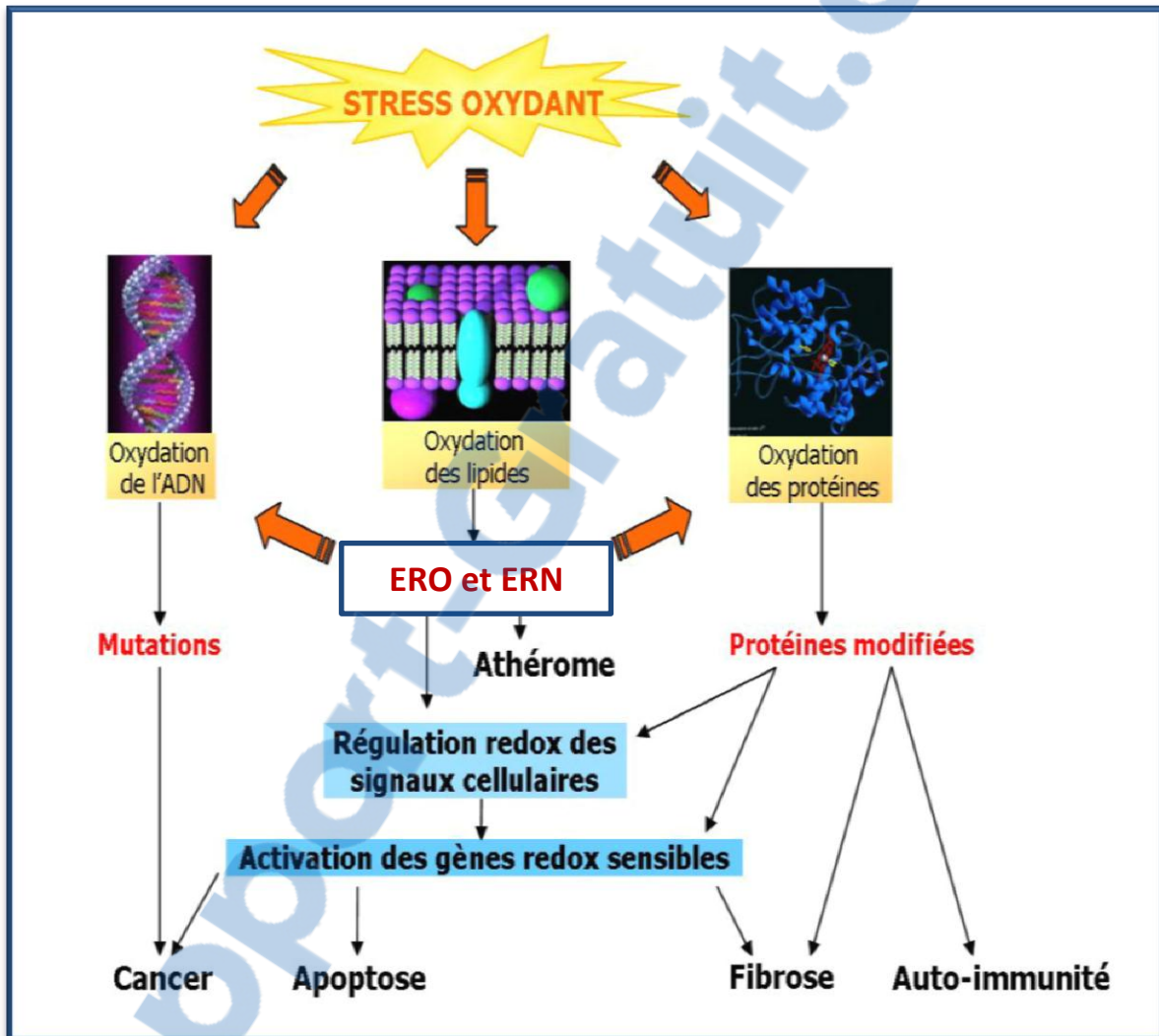
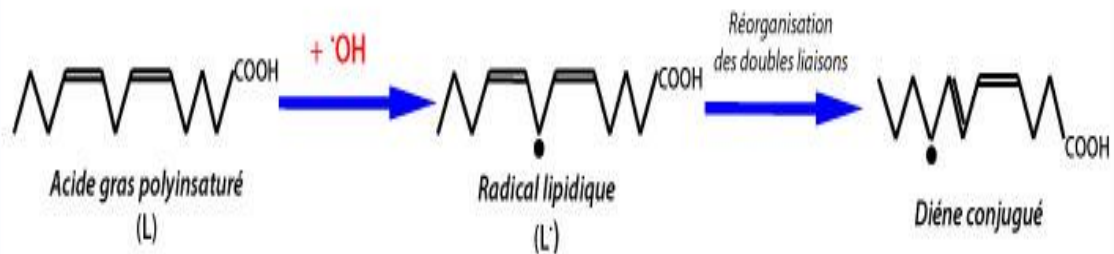


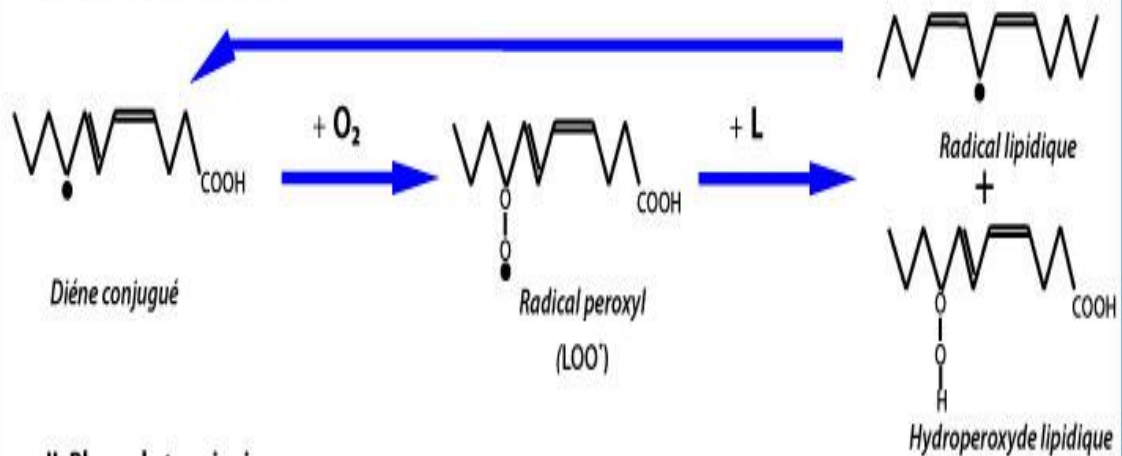
Fig. 4. Effets potentiels du stress oxydant sur les composants cellulaires et sur l'organisme (Letendre, 2009).

Peroxydation Lipidique induite par le radical $\cdot\text{OH}$

I. Phase d'initiation



II. Phase de propagation



II. Phase de terminaison

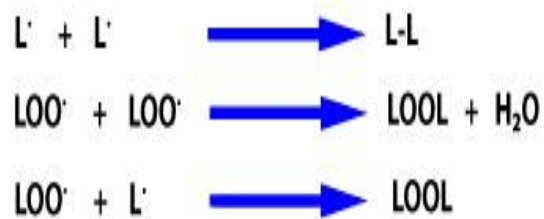


Fig. 5. La peroxydation lipidique en chaîne (Halliwell & Gutteridge, 2007).

II. 2. 2. Oxydation des protéines

Les protéines constituent également les principales cibles biologiques pour les altérations dans les cellules en raison de leur grande abondance et leur susceptibilité à réagir rapidement avec les radicaux libres, principalement l'oxygène singulet (**Gracanin et al., 2011**). Les processus d'oxydation des protéines provoquent un large éventail de modifications, comme le clivage de la molécule ou l'oxydation des chaînes latérales (**Barelli et al., 2008**). En effet, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) oxydent les résidus amino-acides responsables des activités des protéines, principalement au niveau des centres S-S des protéines, ce qui entraîne l'altération des structures des protéines, et la perturbation de leurs fonctions (**Thannickal & Funburg, 2000**).

Les protéines les plus sensibles à ces modifications sont celles qui portent une fonction sulfhydryle (-SH) : des enzymes, des protéines de transport. La cystéine est oxydée en cystine ou en acide cystéique. Alors que, les acides aminés basiques sont transformés en dérivés carbonylés ou hydroxylés, la tyrosine, le tryptophane et la phénylalanine deviennent respectivement O-hydroxytyrosine, cynurénine et 3,4-dihydroxyphénylalanine (DOPA) (**Baudin, 2006**). Par ailleurs les produits issus de la peroxydation lipidique tels que le 4-hydroxynonanal (4-HNE) peuvent provoquer des modifications des peptides entraînant généralement la perte de la fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (**Delattre et al., 2005**).

II. 3. Marqueurs du stress oxydant

La mise en évidence du stress oxydant chez un individu fait l'objet de recherches intenses, depuis de nombreuses années. Le stress oxydant implique un ensemble complexe de paramètres :

- **Les hydroperoxydes** sont des produits primaires de la peroxydation lipidique. Ces molécules oxydées peuvent se décomposer en « produits secondaires » et « terminaux » pour former des endoperoxydes cycliques et finalement des aldéhydes comme le malondialdéhyde (MDA), le 4-HNE ou des isoprostanes (**Michel et al., 2008**).

- **Le malondialdéhyde (MDA)**, produit lors de la peroxydation lipidique, est étudié comme marqueur du stress oxydant d'origine lipidique (**Mongens, 2013 ; Tissier,**

2011). Il peut être mesuré également par le dosage **des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)**. Une des sources de l'hétérogénéité des résultats observés avec les TBARS est liée au nombre important de différentes molécules qui ne relèvent pas forcément du stress oxydant, mais qui réagissent avec l'acide thiobarbiturique (**Lefèvre et al., 1998**).

- **Les carbonyles**, produits de l'oxydation protéique. Parmi les dérivés carbonylés, on distingue les aldéhydes et les cétones. Ils sont stables ce qui rend leur dosage plus facile. Ils s'agglomèrent lors de l'insuffisance rénale et l'athérosclérose (**Dalle-Donne et al., 2006a**).

- Le stress oxydant peut aussi être mis en évidence par le dosage **des antioxydants non enzymatiques** tels que : la vitamine A, C et E (**Mongens, 2013**), et la mesure **des enzymes antioxydantes** tels que : les superoxydes dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GSH-Px), la glutathion réductase (GSSH-Red) et la paraoxonase.

- Le dosage du **fer** et de **la transferrine** et de sa saturation donne une indication sur l'état de stress oxydant du patient. Dans les conditions physiologiques, la transferrine possède une capacité importante de fixation du fer puisqu'elle est saturée à 30% environ. En situations pathologiques, le fer peut être libéré de ces protéines de transport (ferritine, lactoferrine) sous l'action des ERO et se retrouver dans le sang sous forme libre, capable d'initier des réactions radicalaires (**Haleng et al., 2007**).

III. Conséquences de l'hypercholestérolémie sur le métabolisme des lipides et le statut oxydant/antioxydant

L'hypercholestérolémie est un problème de santé publique de premier ordre; elle serait responsable, selon l'OMS, de 4,4 millions de décès chaque année dans le monde (**Fournier, 2011**). De plus, les maladies cardio-vasculaires représentent une cause majeure de mortalité en Algérie, avec plus de 14 000 décès chaque année. Plus de 20% de ces décès sont dus à l'athérosclérose causée par l'hypercholestérolémie (**Société algérienne de cardiologie, 2011**).

L'effet de l'élévation des taux sanguins du CT, en particulier le C-LDL et de la baisse du C-HDL dans l'évolution de la maladie coronaire est largement démontré (**Yang et al., 2014**). Des études cliniques et expérimentales ont montré que des taux élevés en C-LDL

sont associés à l'athérosclérose et à un plus grand risque d'évènement cardiovasculaire (OMS, 2009). En effet, les concentrations du C-LDL présentent un risque élevé au-delà d'un taux supérieur à 1,6 g.L⁻¹ (Mazzone, 2007). Cependant, des études ont montré qu'une réduction de 1mmol/L de C-LDL peut réduire 25% le risque de cardiopathie (Genest *et al.*, 2009). D'autres hypothèses suggèrent que le C-HDL exerce un effet antiathérogène en protégeant les LDL de l'oxydation (Ahna *et al.*, 2014).

Il est bien connu que l'hypercholestérolémie conduit à une augmentation de la production des radicaux libres (Jiangwei *et al.*, 2011), ces modifications oxydatives jouent un rôle important dans le processus de l'athérosclérose (Amom *et al.*, 2008). Beaudoux *et al.*, (2006) ont confirmé le rôle du stress oxydatif dans les MCV au sens large, incluant la maladie athéromateuse, l'hypertension artérielle, l'accident vasculaire cérébral, l'insuffisance cardiaque et même le diabète.

Wang *et al.*, (2010) ont considéré chez le rat, qu'un régime supplémenté en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique) est un facteur de risque de MCV, puisque qu'il entraîne une augmentation du CT sérique et hépatique, du C-VLDL et du C-LDL. Cette approche est utilisée par nos équipes du laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique sur le même modèle, le rat Wistar (Benomar *et al.*, 2015 ; Louala *et al.*, 2011 ; Athmani *et al.*, 2005), et d'autres chercheurs (Nasri *et al.*, 2015 ; Ktari *et al.*, 2015 ; Lassoued *et al.*, 2014 ; Ben khaled *et al.*, 2012 ; Hosomi *et al.*, 2010).

L'étude de Schultz-Moreira *et al.*, (2011) a montré que le stress oxydatif est un phénomène sous-jacent de l'hypercholestérolémie. Ces auteurs ont démontré chez le rat Wistar que la supplémentation du régime avec 2,43% de cholestérol et 0,49% d'acide cholique, entraîne une augmentation du CT plasmatique et hépatique, et de l'activité du cytochrome P450 ; une enzyme qui appartient à la classe des oxydoréductases, qui oxyde le cholestérol en utilisant l'oxygène moléculaire (Cadenas & Davies, 2000), ce qui induit un stress oxydatif *via* la production d'anion superoxydes. Ils ont constaté aussi que l'augmentation de l'expression du cholestérol 7 α -hydroxylase (enzyme hépatique qui intervient dans la biosynthèse des acides biliaires) permet d'améliorer l'élimination du cholestérol, mais cet effet peut induire également le stress oxydatif par la production des ERO (Cadenas & Davies, 2000), sachant que le cytochrome P450, permet de convertir le cholestérol en 7 α -hydroxycholestérol. En effet, ces auteurs ont observé une augmentation du contenu en TBARS et une réduction des teneurs en glutathion réduit (GSH) et de l'activité CAT hépatique.

De plus, **Al-Numair, (2009)** a révélé chez le rat Wistar, une augmentation du contenu en CT et TG plasmatiques et hépatiques, des teneurs en C-LDL, du contenu en MDA plasmatique et une diminution des activités SOD et glutathion peroxydase (GSH-Px) érythrocytaires en réponse à un régime enrichi en cholestérol (1%). Cependant, **Cojocaru et al., (2014)** ont montré chez le rat Wistar, que la supplémentation du régime en cholestérol (0,4g/kg/jours) pendant 2 mois entraîne une augmentation des activités SOD et GSH-Px des érythrocytes.

Dans une autre étude, **Lassoued et al., (2014)** a démontré chez le rat Wistar, qu'un régime supplémenté en cholestérol (1% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique) comparé à un régime standard, augmente les teneurs plasmatiques en CT, TG, C-LDL, le rapport C-LDL/C-HDL, le contenu en MDA hépatique, et diminue le contenu en C-HDL et les activités SOD et GSH-Px du foie. De plus, chez le rat, la supplémentation du régime en cholestérol (2% cholestérol et 0,5% d'acide cholique) pendant 7 semaines, augmente le niveau du CT plasmatique et le C-LDL, et diminue les activités SOD et GSH-Px des érythrocytes (**Gonzalez-Pena et al., 2014**).

D'autres auteurs (**Park et al., 2014**) ont montré chez des rats consommant un régime enrichi en cholestérol (2% cholestérol et 0,25% d'acide cholique), une élévation des teneurs en CT sérique et hépatique, du C-LDL, des activités des transaminases, de l'activité hydroxyméthyl-glutaryl Coenzyme A réductase (enzyme qui intervient dans la biosynthèse hépatique du cholestérol) et une diminution de l'activité cholestérol 7 α -hydroxylase.

Chez le rat Wistar, la supplémentation du régime en cholestérol (1% cholestérol et 0,5% d'acide cholique) pendant 1 mois, augmente les teneurs en CT, TG et phospholipides (PL) du foie et du sérum, le contenu en C-LDL, le contenu en TBARS, en hydroperoxydes, en monoxyde d'azote, et en dérivés carbonyles du sérum, du foie, du cœur et du tissu adipeux, et une réduction des activités des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GSH-Px et glutathion réductase (GSSH-Red)) du foie et du cœur (**Mir et al., 2014**).

Chez des rates, la consommation d'un régime hyperlipidique pendant 4 semaines (30% d'acides gras saturés + 2% de cholestérol) comparée à un régime normal, entraîne une

élévation significative des teneurs sériques en CT, TG, en C-LDL, du rapport d'athérogénicité, des activités de l'alanine transaminase et de l'aspartate transaminase, elle augmente également les contenus en MDA, en TBARS hépatiques, en GSH et en GSSH sériques, ainsi que l'activité GSH-Px sérique, par contre elle induit une réduction significative des activités SOD et CAT du foie (**Basheeruddin Asdaq, 2015**). Dans une autre étude, **Aly Sadeek & Abd El Fatah Faid, (2015)** ont observé chez des rats consommant un régime supplémenté en lipides (15% de lipides + 1% de cholestérol) comparé à un régime standard, une augmentation du contenu sérique en CT, TG, C-LDL, de l'indice d'athérogénicité, du contenu en MDA sérique, et une diminution des teneurs en GSH et de l'activité SOD érythrocytaires.

IV. Effets des protéines de poisson et de leurs hydrolysats sur le métabolisme des lipides

Plusieurs travaux réalisés dans notre laboratoire, ont démontré que la consommation des protéines de poisson améliore le métabolisme des lipides, en particulier celui du cholestérol, que ce soit chez le rat normal ou chez le rat hypercholestérolémique (**Mir et al., 2014 ; Louala et al., 2011 ; Athmani et al., 2005**), le rat diabétique (**Mellouk et al., 2009 ; Boukortt et al., 2004**), le rat hypertendus (**Ait-yahia et al., 2005**). Les mêmes résultats ont été obtenues par d'autres chercheurs (**Lassoued et al., 2014 ; Hosomi et al., 2010 ; Wegedahl et al., 2004**).

L'étude de **Hosomi et al., (2013)** a montré chez le rat Wistar que les protéines de lieu de l'Alaska (*Alaska Pollack*) combinées à l'huile de thon, diminuent le contenu en CT et TG sériques et hépatiques. Ces effets sont dus en partie à l'augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol et des acides biliaires. Ces données suggèrent que la consommation combinée de protéines et d'huile de poisson exerce un effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant dans le sérum et le foie, tandis que la consommation de protéines de poisson seules diminue que le niveau du cholestérol et celle de l'huile réduit seulement le contenu en TG. Ces résultats suggèrent que l'apport combiné de protéines et d'huile de poisson peut jouer un rôle bénéfique dans la prévention des maladies liées au mode de vie comparé à un apport uniquement en protéines de poisson.

En revanche, l'étude de **Louala et al., (2011)** a révélé que la protéine de sardine comparée à la caséine enrichie en cholestérol ne modifie pas la cholestérolémie chez le rat rendu hypercholestérolémique, mais agit favorablement sur le profil des lipoprotéines antiathérogènes, alors que la protéine de sardine enrichie en cholestérol comparée à la caséine améliore le transport inverse du cholestérol en augmentant l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT) et assurent ainsi un enrichissement des HDL₂ en ester de cholestérol.

D'autres travaux réalisés par **Hosomi et al., (2011)** ont révélé chez le rat hypercholestérolémique que l'administration des protéines du lieu de l'Alaska combinées à l'huile de thon, entraînent un effet hypocholestérolémiant. Ces auteurs ont clairement démontré que les protéines de lieu de l'Alaska seules ou combinées avec l'huile de thon diminuent le contenu en cholestérol sérique et hépatique et du C-LDL, peut être par l'augmentation du cholestérol fécal, l'excrétion des acides biliaires et de l'expression du cholestérol 7 α -hydroxylase, alors que l'huile de thon diminue le contenu en cholestérol hépatique qui peut être due à l'augmentation de l'expression du cholestérol 7 α -hydroxylase et à l'inhibition de la synthèse du cholestérol suite à la diminution de l'expression de la HMG-CoA réductase.

Dans une autre étude, **Hosomi et al., (2010)** ont montré, chez le rat Wistar consommant un régime supplémenté en cholestérol (0,5 % de cholestérol et 0,1% d'acide cholique) pendant 1 mois, que les protéines et les peptides (en raison de 100 g/Kg de régime) de lieu de l'Alaska comparés à la caséine, entraînent une diminution du CT sérique et hépatique et du C-LDL associée avec une augmentation de l'excrétion fécale des stérols neutres et des acides biliaires. Cependant, la suppression de l'absorption des lipides est plus efficace avec les peptides de poisson, ce qui peut être bénéfique dans le traitement de l'hypercholestérolémie et la prévention contre l'athérosclérose.

Chez le rat consommant un régime supplémenté en cholestérol (à 1% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique), l'administration des protéines de bogue (*Boops boops*) à 0,5 g/Kg PC et pendant 1 mois, diminue les teneurs en CT, en C-LDL et le rapport C-LDL/C-HDL (**Lassoued et al., 2014**). De plus, **Mir et al., (2015 ; 2014)** ont montré chez le rat hypercholestérolémique (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique) que l'administration des protéines de sardine supplémentées en cholestérol pendant 1 mois, diminue

significativement le contenu en CT et PL sériques et hépatiques, les teneurs des TG sérique et du C-LDL et augmente le niveau du C-HDL, l'excrétion fécale du cholestérol et l'activité LCAT.

Un certain nombre d'investigations s'est focalisé sur l'étude de l'effet des hydrolysats de protéines de poisson sur le métabolisme des lipides (**Parolini et al., 2014 ; Ben khaled et al., 2012 ; Hosomi et al., 2012 ; 2010 ; Wergedahl et al., 2009**). Une étude récente a montré chez le rat soumis à un régime supplémenté en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acides cholique) et contenant des hydrolysats de protéines de sardine et de bogue, une diminution significative des teneurs du CT, EC et CL sériques et hépatiques et celles des TG et PL sériques, par contre ces hydrolysats agissent de façon différente sur l'activité LCAT; cette dernière est augmentée avec les hydrolysats de protéines de bogue, par contre elle est diminuée avec les hydrolysats de protéines de sardine (**Benomar et al., 2015**).

Les travaux de **Wergedahl et al., (2009)** ont montré chez des rats soumis à un régime enrichi en lipides (30% de graisses), que l'administration des hydrolysats de protéines de poisson (10%) combinées à l'huile de poisson (5%) pendant 7 semaines, réduit le CT plasmatique, et augmente le CT hépatique suite à l'augmentation des esters de cholestérol dû à l'élévation de l'activité Acyl Coenzyme A: Cholestérol Acyl Transférase (ACAT, enzyme localisée dans le réticulum endoplasmique des cellules de la paroi intestinale, transforme le cholestérol libre en esters de cholestérol) (**Marshall et al., 2005**).

Par ailleurs, **Ben khaled et al., (2012)** qui ont étudié l'effet des hydrolysats de protéines de sardinelle (*Sardinella aurita*) chez des rats mâles soumis à un régime enrichi en cholestérol (1% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique), ont montré qu'après 7 semaines, les protéines de sardinelle à 5% (P/P), ainsi que les hydrolysats de protéines de sardinelle obtenus par traitement avec des préparations enzymatiques provenant du *Bacillus pumilus A1*, *Bacillus mojavensis A21* et des viscères de sardinelle, augmentent le contenu en C-HDL et le rapport C-HDL/CT, et diminuent les teneurs sériques en CT et en TG, le C-LDL, ainsi que le rapport C-LDL/C-HDL.

De même, **Lassoued et al., (2014)** ont montré chez le rat Wistar soumis à un régime enrichi en cholestérol (1% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique), que l'administration des

hydrolysats de protéines de bogue (*Boops boops*) pendant 1 mois et à 0,5 et 2 g/kg de poids corporel, diminue le niveau du CT, du C-LDL et le rapport C-LDL/C-HDL.

Une autre étude a rapporté chez le rat Wistar, que les hydrolysats de protéines de lieu noir (*Saithe Fish*) riche en taurine et en glycine, comparés à la protéine de soja et à la caséine, entraînent une élévation des teneurs sériques en acides biliaires, une réduction des lipides hépatiques, de la masse du tissu adipeux et de l'expression des gènes impliqués dans l'oxydation des acides gras (**Liaset et al., 2009**). Ces résultats suggèrent un nouveau mécanisme par lequel les sources de protéines et des peptides alimentaires peuvent affecter le métabolisme énergétique, en particulier celui des lipides par l'augmentation de la sécrétion des acides biliaires dans la circulation sanguine.

De plus, **Hosomi et al., (2012)** ont montré chez le rat que l'administration des régimes à base d'hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska (obtenus par hydrolyse des protéines de lieu de l'Alaska sous l'action de la papaïne) comparés à des régimes à base de caséine supplémentés ou non en cholestérol (0,5%) et en acide cholique (0,1%), diminuent significativement les teneurs en CT, en TG sériques et en C-LDL, et augmentent le taux de cholestérol fécale et l'excrétion des acides biliaires, alors que les régimes à base d'hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska comparés à la caséine supplémentée en cholestérol, entraînent une réduction du CT hépatique *via* l'augmentation de l'expression de la cholestérol 7 α -hydroxylase. Cette étude a démontré que les hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska exercent leurs effets hypocholestérolémiantes à travers l'augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol et des acides biliaires et de l'expression de la CYP7A1. Ces auteurs ont suggéré que les hydrolysats de protéines de poisson préparés par la papaïne pourraient fournir des prestations de santé en diminuant les teneurs en cholestérol sérique, ce qui contribuerait à la prévention des MCV tel que l'athérosclérose. D'autres études ont rapporté chez le rat Zucker obèse, que les hydrolysats de protéines de saumon réduisent le CT sérique et peuvent prévenir contre l'accumulation des TG hépatique (**Liaset et al., 2003**).

V. Mécanismes d'action des hydrolysats et des peptides de poisson hypolipidémiants

Un certain nombre d'études ont montré que les hydrolysats et les peptides bioactifs de poisson peuvent améliorer le métabolisme des lipides en diminuant les teneurs en CT

plasmatique et hépatique, ainsi que le C-LDL et en augmentant le contenu en C-HDL. Afin d'expliquer ces variations suite à la consommation de ces hydrolysats et peptides, différents mécanismes basés sur des études réalisées *in vitro*, sur des cultures cellulaires et chez le modèle animal, ont été proposés (**Fig. 6**);

V. 1. Interaction avec les acides biliaires

Les acides biliaires sont biosynthétisés à partir du métabolisme endogène de cholestérol par une voie dont l'étape limitante est catalysée par le cholestérol 7 α -hydroxylase ou le cytochrome P450-7A1 (CYP7A1). L'interaction des acides biliaires avec un agent séquestrant à l'intérieur de la lumière intestinale peut perturber leur circulation entérohépatique. Cela conduira au catabolisme du cholestérol et peut réduire efficacement le taux du cholestérol endogène, et comme le complexe acide biliaire-agent séquestrant est insoluble et non absorbable par l'entérocyte, il est donc excrété dans les fèces (**Blom, 2011**).

En raison de leurs structures favorables, certains hydrolysats de protéines alimentaires ont démontré une activité de liaison aux acides biliaires substantielle (**Tiengo et al., 2011 ; Ma & Xiong, 2009**), qui dépend en partie de l'hydrophobicité des résidus d'acides aminés des peptides (**Kongo-Dia-Moukala et al., 2011a**). En effet, les acides biliaires sont amphipathiques avec une structure squelettique hydrophobique et une fonctionnalité polaire, peuvent donc se lier aux acides aminés hydrophobes *via* de faibles forces hydrophobiques (**Porez et al., 2012**). De plus, les hydrolysats protéiques qui contiennent une grande quantité de résidus Leucine hydrophobe et Lysine cationique ont montré une forte capacité de liaison des acides biliaires, et cela pourrait être attribué à l'interaction des résidus d'acides aminés avec le noyau hydrophobe et le groupe acide anionique carboxylique des acides biliaires, respectivement.

Certaines études ont démontré chez le modèle animal, les effets hypolipidémisants des hydrolysats de protéines séquestrant des acides biliaires. En effet, des études ont montré chez le rat hyperlipidémique, que les hydrolysats de protéines de poisson avec de forte quantité en glycine, taurine et en acides aminés hydrophobes, entraînent une élévation des teneurs plasmatiques en acides biliaires, concomitante à une diminution des lipides hépatiques, des taux plasmatiques des TG et de la masse du tissu adipeux viscéral (**Howard & Udenigwe, 2013**). Effectivement, différentes études ont démontré chez le rat Wistar, qu'un tel effet sera due aux

fortes teneurs en glycine, arginine et taurine contenus dans les hydrolysats de protéines de lieu noir (*Saithe Fish*), de saumon et de bogue (Benomar *et al.*, 2015 ; Liaset *et al.*, 2009 ; wergedahl *et al.*, 2004).

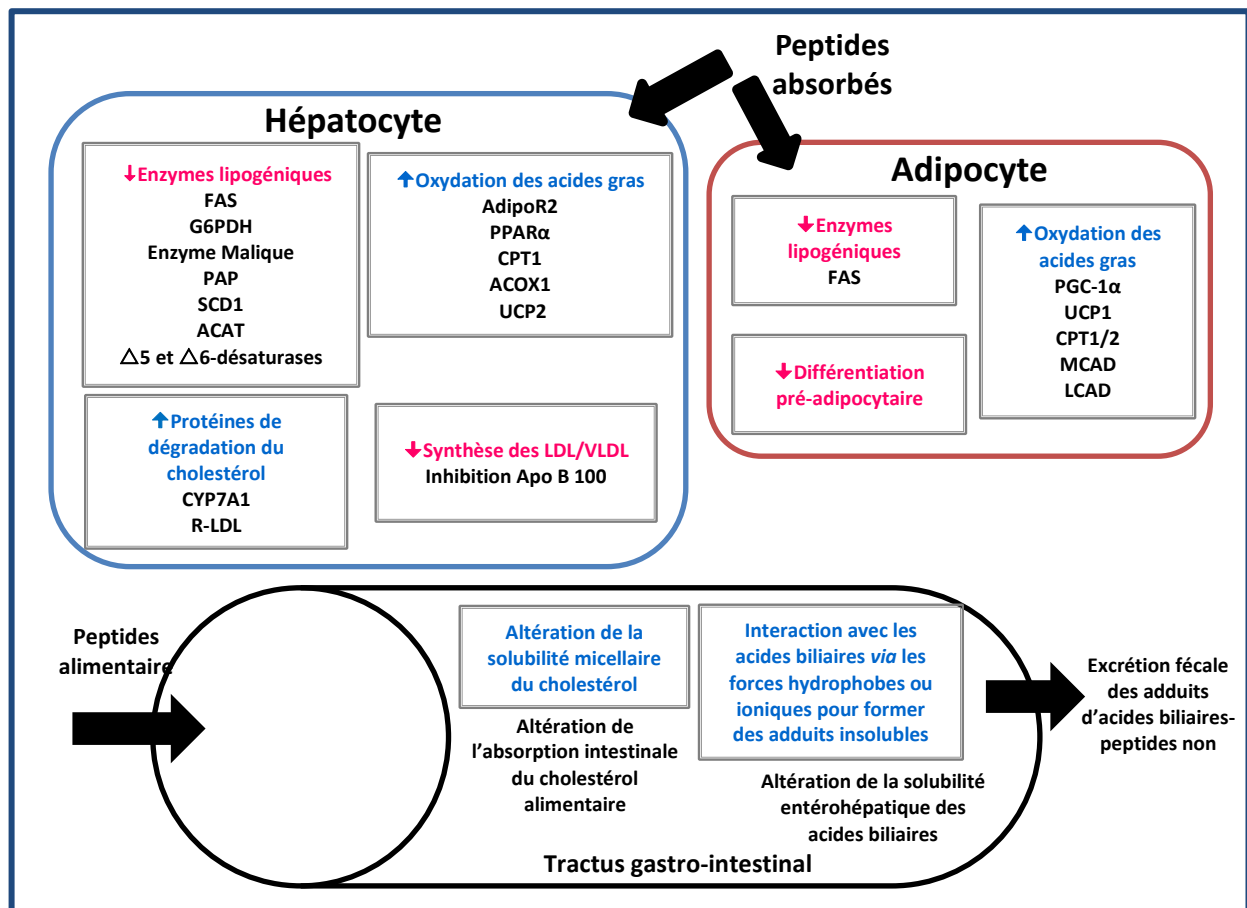


Fig. 6. Les mécanismes proposés des fonctions hypolipémiants des hydrolysats de protéines alimentaires et des peptides dans les hépatocytes, les adipocytes et le tractus intestinal (Howard & Udenigwe, 2013).

FAS: fatty acid synthase; **G6PDH:** glucose 6-phosphate dehydrogenase; **PAP:** phosphatidate phosphohydrolase; **SCD:** stearoyl-CoA desaturase; **ACAT:** acyl-CoA cholesterol acyl transferase; **AdipoR2 :** receptor adiponectin; **PPAR:** peroxisome proliferator-activated receptor; **CPT:** carnitine palmitoyltransferase; **ACOX1 :** acyl-coenzyme A oxidase; **UCP:** uncoupling proteins; **CYP7A1 :** 7 α -hydroxylase; **LDL-R:** low density lipoprotein receptor; **ApoB:** apolipoprotein B; **PGC-1 α :** PPAR- γ

coactivator-1 α ; **MCAD**: medium chain acyl-CoA dehydrogenase; **LCAD**: long-chain acyl-CoA dehydrogenase.

V. 2. Altération de la solubilité micellaire du cholestérol

L'incorporation du cholestérol alimentaire dans des micelles est indispensable à l'absorption à travers les entérocytes. De nombreuses études ont indiqué que les hydrolysats et les peptides inhibent la solubilité micellaire du cholestérol (SMC) (**Nakade *et al.*, 2009** ; **Megias *et al.*, 2009**). En effet, l'inhibition importante de la SMC induite par les hydrolysats protéiques a conduit à une diminution significative de l'absorption du cholestérol et des lipides par les cellules intestinales avec une amélioration du profil des lipides plasmatiques chez des rats hyperlipidémique (**Nakade *et al.*, 2009**).

La perturbation des micelles du cholestérol peut être influencé par la durée d'interaction (**Megias *et al.*, 2009**), et particulièrement par l'abondance des résidus d'acides aminés fortement hydrophobes dans les hydrolysats protéiques (**Zhang *et al.*, 2012a**). Les peptides hydrophobes présents dans les hydrolysats peuvent éventuellement concurrencer le cholestérol pour incorporer dans les micelles (**Del Mar Yust *et al.*, 2012**) ou déplacer le cholestérol dans les micelles cholestérol-phospholipides-acides biliaire (**Zhang *et al.*, 2012a**).

La disponibilité des acides biliaires et des phospholipides dans la lumière intestinale peut affecter également la SMC puisque ces composants sont essentiels pour la formation de micelles intestinales. Par conséquent, l'action des peptides hydrophobes sur la SMC peut être due à leur interaction avec les acides biliaires, qui sont indisponibles pour la solubilisation du cholestérol dans les micelles. En effet, des études récentes ont démontré que les peptides hydrophobes peuvent effectivement se lier à différents acides biliaires et inhiber la SMC (**Kongo-Dia-Moukala *et al.*, 2011b**). Ce qui peut expliquer l'effet hypocholestérolémiant des hydrolysats et les peptides du lieu d'Alaska (**Hosomi *et al.*, 2012 ; 2010**) et les hydrolysats de protéines de bogue (**Benomar *et al.*, 2015**). Ces effets peuvent fournir une approche naturelle pour le traitement et la gestion de l'hypercholestérolémie (**Howard & Udenigwe, 2013**).

V. 3. Altération de l'activité des enzymes hépatique et adipocytaire, de l'expression des gènes et du métabolisme des lipides

Plusieurs études ont montré que les peptides peuvent moduler la biosynthèse du cholestérol endogène et les autres lipides, en particulier dans les hépatocytes et les adipocytes (Schwabe & Maher, 2012).

Des études ont montré que les hydrolysats protéiques peuvent réduire le niveau des lipides plasmatiques et hépatiques. Cette réduction est associée avec une inhibition de l'activité fatty acid synthase (FAS) dans les hépatocytes des rats (Choi *et al.*, 2011). L'expression des gènes de FAS est régulée par le peroxysome proliferator-activated receptor (PPAR)- α , qui est un facteur nucléaire de transcription qui régule des gènes liés au métabolisme des lipides (Jensen-Urstad & Semenkovich, 2012).

Les hydrolysats entraînent également une diminution des activités des enzymes qui interviennent dans la lipogénèse hépatique tels que ; l'enzyme malique (oxyde le malate en réduisant le Coenzyme NADP⁺ en NADPH et produit du pyruvate) et le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) (catalyse l'étape d'engagement du glucose 6-phosphate dans la voie des pentoses pour la production du NADPH), ce qui entraîne un effet hypolipidémiant. En effet, l'inhibition de ces enzymes a été également associée à une diminution des teneurs plasmatiques en acides gras, en TG et en CT, sans modification des TG et du CT hépatique, chez des rats diabétiques obèses (Shimizu *et al.*, 2006). Ces mécanismes peuvent expliquer l'effet hypocholestérolémiant des différents hydrolysats de protéines de poisson.

D'autres travaux ont montré chez des rats hyperlipidémiques, que les hydrolysats et les peptides hydrophiles peuvent inhiber l'activité du phosphatidate phosphohydrolase (PAP) hépatique (enzyme qui intervient dans la synthèse des TG), conduisant à une amélioration du profil lipidique et une diminution du poids du foie (Inoue *et al.*, 2011). La PAP joue un rôle important dans le métabolisme des lipides et la transduction du signal. À l'écart des fonctions inhibitrices des hydrolysats, ces derniers peuvent exercer des fonctions inductrices de l'expression des récepteurs de LDL (R-LDL), ce qui favorise l'hypolipidémie. En effet, il a été démontré que les hydrolysats riches en taurine peuvent moduler le métabolisme lipidique en réduisant les teneurs en cholestérol hépatique *via* l'activation des R-LDL (Yamori *et al.*, 2009).

VI. Effets des protéines de poisson et de leurs hydrolysats sur le statut antioxydant

Différentes études ont montré l'effet des protéines de poisson sur le statut antioxydant. En effet, l'étude de **Mir *et al.*, (2014)** a révélé chez le rat hypercholestérolémique (1% cholestérol et 0,5% d'acide cholique) que les protéines de sardine supplémentées en cholestérol, entraînent une réduction significative des teneurs en TBARS et en hydroperoxydes plasmatiques, et des TBARS tissulaires (foie, cœur, tissu adipeux), une diminution du contenu en NO plasmatique et hépatique (foie, cœur, tissu adipeux), une augmentation des teneurs en dérivés carbonylés du plasma, du cœur et du tissu adipeux, et une élévation des activités des enzymes antioxydantes tissulaires (foie, cœur) tels que, SOD, GSH-PX, GSSH-Red et CAT.

Chez le rat consommant un régime supplémenté en cholestérol (1% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique), l'administration des protéines de bogue pendant 1 mois et à 0,5 g/Kg de poids corporel, diminue les teneurs en MDA hépatique, et augmente l'activité GSH-Px du foie (**Lassoued *et al.*, 2014**). De plus, **Hamza-Reguig *et al.*, (2013)** ont montré chez le rat hypercholestérolémique que l'administration des protéines de sardine supplémentées en cholestérol (1,5% de cholestérol et 0,75% d'acide cholique), augmente le contenu en MDA des érythrocytes et du tissu adipeux, et diminue celui du foie et du cœur, réduit les teneurs en NO du tissu adipeux et du cœur, et augmente les activités SOD et CAT des tissus (foie, cœur, tissu adipeux).

Dans le but d'évaluer l'effet bénéfique de la protéine de sardine dans le traitement du syndrome métabolique dû à la supplémentation du régime en fructose, sur le statut oxydatif, **Madani *et al.*, (2012)** ont montré que la protéine de sardine comparée à la caséine, diminue les teneurs en hydroperoxydes au niveau du tissu surrénal et adipeux, et les teneurs en carbonyles du tissu adipeux, associée avec une augmentation du contenu en α -tocophérol, et de l'activité GSH-Px. Alors que, la protéine de sardine supplémentée en fructose comparée à la caséine supplémentée en fructose, entraîne une réduction des hydroperoxydes du tissu épидидymaire, et une élévation des activités CAT et SOD du tissu épидидymaire.

Plusieurs études *in vitro* ont montré que les hydrolysats issus des protéines de poisson, constituent une source potentielle de peptides antioxydants (**Halldorsdottir *et al.*,**

2014 ; Bougatef et al., 2010a). Cependant, peu de travaux ont été réalisés *in vivo* pour démontré l'effet de ces hydrolysats sur le statut antioxydant.

Les travaux de **Halldorsdottir et al., (2014)** ont montré *in vitro* que les hydrolysats de protéines du lump (*Cyclopterus lumpus*), possèdent un excellent pouvoir antioxydant (haute capacité d'absorbance du radical oxygène (ORAC)). D'autres études rapportent que les hydrolysats de protéines du maquereau (*Ratrelliger Kangurta*), possèdent un excellent potentiel antioxydant par l'inhibition de la peroxydation lipidique en équivalence avec des antioxydants naturels ou synthétiques comme le Toluène Butylène Hydroxyl (BHT) et l' α -tocophérol (**Sheriff et al., 2014**). De plus, il a été bien établi *in vivo* et *in vitro*, que les peptides de poisson isolés à partir des hydrolysats de protéines de la tête du thon obèse (*Thunnus obesus*), inhibent la peroxydation lipidique et le dommage d'ADN (**Yang et al., 2011a**).

L'étude de **Benomar et al., (2015)** a révélé chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol, que les hydrolysats de protéines de sardine et de bogue, diminuent significativement les teneurs en hydroperoxydes du sérum, des VLDL et des LDL et le contenu en MDA sérique et des fractions VLDL, LDL et HDL, par contre elles augmentent les activités GSH-Px et SOD du sérum. Dans une autre étude, **Lassoued et al., (2014)** ont montré chez le rat Wistar soumis à un régime hypercholestérolémique, que l'administration des hydrolysats de protéines de bogue (*Boops boops*) pendant 1 mois et à 0,5 et 2 g/kg de PC de rat, diminue le niveau du MDA du foie, et augmente l'activité GSSH-Red hépatique.

Chez le rat Wistar soumis à un régime supplémenté en cholestérol (1%), les hydrolysats de protéines de sardinelle (*Sardinella Aurita*), obtenus par traitement avec des préparations enzymatiques brutes extraits à partir du *Bacillus pumilus*, *Bacillus mojavenis* et des *viscères de sardinelle*, entraînent une réduction des teneurs en MDA et du monoxyde d'azote du foie, et une élévation des activités GSH-Px, CAT et SOD hépatiques, et des teneurs en GSH et en acide ascorbique (vitamine C) (**Ben khaled et al., 2012**).

D'autres études rapportent que les peptides de poisson à nageoires rayonnées en particulier le saumon sniper (*Otolithes ruber*), diminuent *in vitro* l'activité DPPH et le radical hydroxyle, inhibent la peroxydation lipidique et le dommage de l'ADN. De plus, chez le rat

Wistar, ces peptides améliorent la défense antioxydante endogène, en accroissant les activités SOD, catalase et glutathion-S-transférase (GST) (Nazeer *et al.*, 2012).

Les travaux de **Rajaram & Nazeer., (2010)** ont montré *in vitro*, que les hydrolysats de protéines du sabre (*Lepturacanthus Savala*) et du grand barracuda (*Sphyraena barracuda*), possèdent un pouvoir antioxydant par inhibition de la peroxydation lipidique, et du radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH). De plus, ces auteurs ont constaté que le pouvoir antioxydant des hydrolysats de protéines du ruban est plus élevé que celui des hydrolysats de protéines du barracuda; cela est dû à leurs compositions en acides aminés. De plus, les hydrolysats protéiques du foie du thon obèse (*Thunnus obesus*) peuvent également prévenir contre le radical DPPH, le radical hydroxyle, les peroxydes d'hydrogène et le dommage oxydatif de l'ADN (Je *et al.*, 2009).

L'activité antioxydante a été déterminée aussi avec d'autres hydrolysats et peptides bioactifs de poisson tels que les hydrolysats de protéines de carpe argenté (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Dong *et al.*, 2008), les hydrolysats de la sole (Giménez *et al.*, 2009), les hydrolysats de la loche d'étang (*Misgurnus anguillicaudatus*) (You *et al.*, 2008), les peptides de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Zhang *et al.*, 2012b), les hydrolysats de protéines de la morue (Farvin *et al.*, 2014 ; Halldorsdottir *et al.*, 2013).

VII. Mécanismes d'action des hydrolysats et des peptides antioxydants marins en particulier ceux du poisson

Plusieurs hydrolysats et peptides antioxydants ont été isolés à partir des produits marins en particulier du poisson, tels que le lieu de l'Alaska (Kim *et al.*, 2001), le thon (Je *et al.*, 2009), la sole (Giménez *et al.*, 2009), le calmar (Mendis *et al.*, 2005a), le maquereau espagnol (Chi *et al.*, 2014).

Le mécanisme exact par lequel les hydrolysats et les peptides exercent leurs activités antioxydantes n'est pas encore bien établi. Cependant, des études ont montré que les hydrolysats et les peptides peuvent agir comme un radical piégeur, ainsi que des chélateurs de métaux de transition et peuvent exercer des activités antioxydantes contre la peroxydation des lipides enzymatique (médiée par la lipoxygénase) et non enzymatique (Erdmann *et al.*, 2008). En outre, il a été constaté dans des modèles de culture cellulaire, que les peptides

peuvent activer des gènes spécifiques codant pour des composants antioxydants endogènes non enzymatique (hème oxygénase1 et la ferritine) et des systèmes enzymatiques (**Erdmann et al., 2006**).

Plusieurs études ont montré *in vitro* que les hydrolysats et les peptides d'origine marin résultant de la transformation de poisson, des déchets, des mollusques et des crustacés peuvent exercer une activité antioxydante incluant le piégeage des radicaux, la chélation d'ions métalliques et des activités inhibitrices de la peroxydation lipidique (**He et al., 2013 ; Giménez et al., 2009**).

Bien que la relation exacte entre la structure et l'activité antioxydante des peptides n'est pas encore élucidée. Il a été démontré que le type, la position et l'hydrophobicité des acides aminés peuvent jouer un rôle essentiel (**He et al., 2013**). En effet, des études ont montré que les acides aminés tels que l'histidine, la leucine, la tyrosine, la méthionine et la cystéine peuvent améliorer l'activité de piégeage des radicaux en donnant des protons aux radicaux déficient en électrons (**Sarmadi & Ismail, 2010 ; Mendis et al., 2005a**). En effet, plusieurs peptides extraits du poisson et des déchets marins, des mollusques et des crustacés contiennent un certain nombre de acides aminés qui possèdent cette activité de donation de protons (**Kim et al., 2007 ; Mendis et al., 2005a**).

Davalos et al., (2004) ont évalué l'activité antioxydante des acides aminés; ils ont observé que le tryptophane, la tyrosine et la méthionine présentent une activité antioxydante plus élevée, suivie par la cystéine, l'histidine et la phénylalanine. Des études ont montré que l'activité antioxydante de l'histidine est peut être attribuée à la capacité de donation de protons du groupe imidazole, tandis que celle de la cystéine est peut être liée à des interactions possibles du groupe sulfhydryle avec des radicaux libres (**Qian et al., 2008**).

Cependant, de nombreux peptides ayant démontré une capacité antioxydante ne contiennent aucun des caractéristiques mentionnées ci-dessus ce qui conduit à penser que d'autres facteurs doivent également influencer l'activité antioxydante des peptides. En effet, la capacité antioxydante peut être affectée par la conformation des peptides, l'abondance et également la position de certains acides aminés au sein de la séquence peptidique (**Hong et al., 2014**). Dans ce sens, la teneur élevée en glycine et en proline du collagène peut être liée à l'activité antioxydante de certains peptides dérivés du collagène. De plus, la présence de

plusieurs résidus de glycine dans une séquence peptidique peut conférer une grande flexibilité de la structure du peptide, tandis que le cycle pyrrolidine de la proline pourrait imposer certaines contraintes de conformation dans la structure secondaire du peptide. **Kim et al., (2001)** ont isolé deux peptides antioxydants à partir d'un hydrolysats de la peau du lieu de l'Alaska, les deux contenant un résidu de glycine à l'extrémité C-terminale.

D'autre part, des études ont constaté que l'activité d'inhibition de la peroxydation lipidique des hydrolysats et des peptides est associée avec la présence des acides aminés hydrophobes dans le peptide (**Hong et al., 2014 ; Mendis et al., 2005b**). En effet, la nature hydrophobe des peptides permettrait d'améliorer leur solubilité dans les lipides et par conséquent l'accès aux espèces radicalaires hydrophobes (**He et al., 2013 ; Aleman et al., 2011a**). Par conséquent, les radicaux solubles générés lors de l'attaque radicalaire des acides gras insaturés comme l'acide linoléique sont suspectés d'être neutralisés par les acides aminés hydrophobes des peptides antioxydants. En effet, la gélatine contient plusieurs acides aminés hydrophobes tels que la glycine, la valine, l'alanine, la proline et de l'hydroxyproline (**Kim & Mendis, 2006**).

Le poids moléculaire des peptides joue également un rôle clé dans l'activité antioxydante des hydrolysats et des peptides. En effet, **Chi et al., (2014)** ont observé une relation inverse entre l'activité antioxydante et le poids moléculaire des hydrolysats de la gélatine du maquereau espagnol. Toutefois, la réduction du poids moléculaire améliore de façon significative la solubilité des hydrolysats et l'activité antioxydante. L'étude de **Bougatef et al., (2009)** a montré que la fraction des hydrolysats d'une espèce des émissiles lisses ayant un poids moléculaire (< 3500 Da) présente une activité antioxydante très élevée comparée aux autres fractions. De plus, **Aleman et al., (2011a)** ont constaté la même relation avec un hydrolysats fractionné de la peau du calmar. D'autres auteurs ont trouvé également des peptides antioxydants dans les hydrolysats de la gélatine du cobia (saumon noir) (*Rachycentron canadum*) avec un faible poids moléculaire (< 1kDa) (**Yang et al., 2008**).

VIII. Procédés de préparation des hydrolysats protéiques

L'hydrolyse des protéines ou appelée aussi « protéolyse » est une approche alternative qui permet de modifier leurs propriétés nutritionnelles et fonctionnelles (solubilité, digestibilité, diminution de l'athérogénicité...) en modifiant leurs taille et leurs charges. Il

existe deux techniques d'hydrolyse : l'hydrolyse chimique (acide et basique) et l'**hydrolyse enzymatique** (Guérard *et al.*, 2005) .

VIII. 1. Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique est une réaction catalysée par des enzymes du type protéase. Elle permet de couper les protéines en peptides. Les produits protéiques obtenus sont utilisés pour conférer à des aliments, des propriétés nutritionnelles ou fonctionnelles particulières. L'hydrolyse permet de contrôler les peptides amers et de maintenir la valeur et la reproductibilité du produit (Samaranayaka *et al.*, 2010). L'hydrolyse enzymatique présente l'avantage d'être plus facilement contrôlable que l'hydrolyse chimique. Elle ne nécessite pas de traitement chimique pour éliminer l'agent hydrolysant, l'enzyme étant simplement inactivée par un échauffement modéré. Il existe deux types d'hydrolyse enzymatique; autolyse et fermentation, et hétérolyse (Roy & Durand, 1997).

VIII. 1. 1. Autolyse et fermentation

Les autolysats et les produits fermentés font intervenir dans le processus de transformation les enzymes endogènes présentes dans les produits de départ. Les autolysats sont élaborés en plusieurs étapes à partir de poissons entiers ou de viscères. L'autolyse est principalement réalisée par les protéases digestives (pepsine, trypsine, chymotrypsine) ainsi que par les enzymes tissulaires. Elle peut être contrôlée par les facteurs de pH, de température ce qui permet une production standard, de qualité connue. Les autolysats, riches en protéines solubles et en acides aminés essentiels, constituent une nourriture idéale pour l'alimentation animale (Ravallec-Plé, 2000).

La fermentation est un moyen traditionnel utilisé pour conserver le poisson. La prolifération bactérienne y est contrôlée par ajout de sucre et/ou de sel, déshydratant ainsi le produit. Les protéines sont hydrolysées par les enzymes endogènes et les bactéries naturellement présentes dans le mélange (Ockerman, 1992).

VIII. 1. 2. Hétérolyse

Cette hydrolyse est réalisée grâce à l'ajout d'enzymes exogènes (Dumay *et al.*, 2006). Les enzymes sont présentes chez tous les êtres vivants : animaux (pancréatine, pepsine..), plantes (papaïne) et microorganismes (Alcalase, Protéase N...) (Tableau II), ou de

l'industrie de génie génétique, qui sont extraits à partir de cultures de bactéries, champignons ou levures ou sous forme d'un complexe (Alcalase, Protamex et Flavourzyme commercialisées par la société Novozymes) (**Amiot & Brisson, 1985**). Chaque enzyme possède une spécificité d'attaque plus ou moins élargie et présente des caractéristiques d'activité qui lui sont propres. Ces caractéristiques influencent fortement la composition peptidique des hydrolysats formés (**Adler-Nissen, 1986**).

Parmi les enzymes utilisées dans l'hétérolyse; l'Alcalase® 2.4L (subtilisine Carlsberg). Elle est obtenue à partir d'une souche sélectionnée de *Bacillus licheniformis*. Il s'agit d'une endopeptidase de type sérine. C'est une enzyme qui appartient à la famille des subtilisines (EC.3.4.21.14a). Cette enzyme présente plus d'avantages par rapport aux autres enzymes (type catalytique très varié, meilleur stabilité face aux variations du pH et de température). En effet, **Guérard et al., (2002)**, ont montré que l'Alcalase® 2.4L comparée à l'Umamizyme®, présente une meilleure stabilité face à la température et une faible sensibilité face à l'inhibition par les peptides solubilisés au cours de l'hydrolyse des coproduits de thon tropical.

L'Alcalase® présente une activité maximale à pH 8 et à la température de 60°C. De nombreuses études ont utilisé cette enzyme pour la production des hydrolysats de protéines animales, en particulier ceux de poisson (**Giménez et al., 2009 ; Dumay et al., 2006**). De plus, il a été démontré que les hydrolysats de protéines de poisson produites par l'Alcalase® ont tendance à avoir des composants moins amers par rapport à ceux produites par d'autres enzymes. En effet, **Hoyle & Merritt, (1994)** ont montré que les hydrolysats des protéines de morue obtenus avec l'Alcalase® présentent moins d'amertume que ceux produites avec la Papaïne.

Le **tableau III** montre un aperçu sur les conditions opératoires utilisées dans la production des hydrolysats issus des différentes espèces de poisson sous l'action de l'Alcalase.

Tableau II. Principales protéases utilisées pour l'hydrolyse de quelques espèces de poisson.

Enzyme	Sources	Espèce hydrolysée	Références
Alcalase	Bactérie, Novozymes	Sardine, Sardinelle	Athmani <i>et al.</i> , (2015)
		Bogue	Benomar <i>et al.</i> , (2015)
		Sole	Giménez <i>et al.</i> , (2009)
		Carpe argentée	Dong <i>et al.</i> , (2008)
		Thon	Je <i>et al.</i> , (2009)
		Seiche	Kechaou <i>et al.</i> , (2009)
Protamex	Bactérie, Novozymes	Sardine	Dumay <i>et al.</i> , (2006)
		Loche	You <i>et al.</i> , (2008)
		Thon	Je <i>et al.</i> , (2009)
		Seiche	Kechaou <i>et al.</i> , (2009)
Papain	Végétal, Sigma	Loche	You <i>et al.</i> , (2008)
		Morue	Liu <i>et al.</i> , (2012)
		Lieu de l'Alaska	Hosomi <i>et al.</i> , (2012)
Trypsin	Viscères, Sigma	Sole	Rajapakse <i>et al.</i> , (2005)
Chymotrypsine	Viscères	Sole	Rajapakse <i>et al.</i> , (2005)
		Thon	Je <i>et al.</i> , (2009)
Neutrase	Bactérie, Novozymes	Thon	Je <i>et al.</i> , (2009)
Enzymes extraites de sardinelle	Bactérie / enzyme digestif de sardinelle	Sardinelle (<i>Sardinella aurita</i>)	Ben Khaled <i>et al.</i> , (2014) ; (2012).
Enzymes extraites de sardine	Enzyme digestif de sardine	Emissole lisse (<i>Mustelus mustelus</i>)	Bougatef <i>et al.</i> , (2010b)
Extraits de Protéases alcalines brutes	Enzyme digestif de l'émissole lisse, sardinelle et de Blennie zébrée	Blennie zébrée (<i>zebra blenny</i>)	Ktari <i>et al.</i> , (2015)
Protéases bactériennes brutes (<i>B. mojavensis</i> A21 et extraites de baliste	Bactérie/enzyme digestif	Gobie (<i>Zosterisessor ophiocephalus</i>)	Nasri <i>et al.</i> , (2015)

Tableau III. Conditions réactionnelles d'hydrolyse des différentes espèces de poisson sous l'action de l'Alcalase.

Espèce hydrolysée	Température (°C)	Ph	Références
Sardine	50	8	Athmani <i>et al.</i> , (2015) Benomar <i>et al.</i> , (2015) Dumay <i>et al.</i> , (2006)
Sardinelle	50	8	Athmani <i>et al.</i> , (2015)
Bogue	50	8	Benomar <i>et al.</i> , (2015)
Seiche	50	8	Kechaou <i>et al.</i> , (2009)
Morue	50	8	Slizyte <i>et al.</i> , (2005)
	30-60	7-8,2	Ravallec-Plé, (2000)
Saumon	55-70	6-10	Picot <i>et al.</i> , (2006)
	49-61	7-8	Gbogouri <i>et al.</i> , (2004)
Sole	55-70	6-10	Giménez <i>et al.</i> , (2009)
Thon	55-70	6-10	Je <i>et al.</i> , (2009)

VIII. 2. Principe de l'hydrolyse

Durant l'hydrolyse enzymatique, les protéases vont couper les liaisons peptidiques entre deux acides aminés adjacents dans la séquence primaire d'une protéine, générant ainsi au moins deux peptides. Cette réaction va donc générer la libération des protons H^+ ; et donc une acidification du milieu. Ce principe est valable pour les hydrolyses qui se déroulent à pH supérieur à 6,5. Lorsque le pH est inférieur, ces les ions HO^- qui seront libérés (**Ravallec-Plé, 2000**). Le taux de clivage des liaisons peptidiques dépend principalement de deux facteurs; la spécificité de l'enzyme et l'accessibilité aux liaisons peptidiques (**Adler-Nissen, 1986**).

VIII. 3. La méthode de pH-stat et degré d'hydrolyse (DH)

Le degré d'hydrolyse est l'indicateur le plus pratique dans le contrôle de l'hydrolyse. Cet indicateur peut être déterminé par plusieurs méthodes; la plus utilisée est celle du pH-stat (**Adler-Nissen, 1986**). Cette technique est basée sur le maintien du pH constant par titration continue et automatique des protons libérés au cours de l'hydrolyse. Elle a l'avantage d'être utilisée en continu et donc de permettre un suivi direct des cinétiques d'hydrolyse. Elle

permet d'estimer rapidement la quantité de liens peptidiques coupés par la mesure du volume de base nécessaire au maintien du pH constant lors de l'hydrolyse selon l'équation suivante :

$$\text{DH (\%)} = \frac{B \times Nb}{\alpha \times Mp \times h_{\text{tot}}} \times 100$$

B : le volume de base.

Nb : la normalité de la base.

α : le degré de dissociation des amines primaires (calculé en fonction du pH et du pK moyen des groupes α -NH₂ libérés par l'hydrolyse)

Mp : la masse de protéines hydrolysée

h_{tot} : le nombre de liens peptidiques dans une protéine, exprimé en meqv.g⁻¹ de protéine.

MATÉRIEL & MÉTHODES

I. Matériel biologique

I. 1. La sardine européenne

La sardine appartient à la famille des **Clupéidés**, sous les noms communs **sardine commune** et **sardine européenne** et sous les noms scientifiques *Sardina pilchardus sardina*, pêcher dans la mer méditerranéenne et *Sardina pilchardus pilchardus* (pêcher dans l'océan Atlantique, elle est plus grande que l'espèce méditerranéenne) (**Photos 1**).



Photos 1. Sardine européenne, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)

I. 2. La sardinelle ronde

La sardinelle ronde ou Allache appartient à la famille des **Clupéidés**, sous le nom commun **Allache** et sous le nom scientifique *Sardinella aurita* ; elle se rencontre de chaque côté de l'Atlantique, en méditerranée, en mer Noire... (**Photos 2**).



Photos 2. Sardinelle ronde (Allache), *Sardinella aurita* (valencienne, 1847)

La famille des Clupéidés compte 181 espèces dans le monde. Les membres de cette famille ont de nombreuses caractéristiques communes ce qui les rend difficile à différencier. L'appellation sardine est autorisée pour 21 espèces (sardinelle, sardinop, anchois, hareng...) de la même famille mais elle doit s'accompagner du nom scientifique de l'espèce. Seule la *Sardina pilchardus* peut s'appeler sardine sans autre précision (**Vanier, 2006**).

Le choix de la sardine et de la sardinelle est dû au fait que ces deux espèces sont largement consommées dans le bassin méditerranéen, en particulier par la population de l'ouest algérien en raison de leurs disponibilité et leurs faible coût. Les protéines de poisson utilisées dans la préparation des hydrolysats protéiques ont été isolées à partir du muscle de la sardine (*Sardina pilchardus*) et de la sardinelle (*Sardinella aurita*), achetées au niveau du port d'Oran.

I. 3. Extraction et purification des protéines de sardine et de sardinelle

I. 3. 1. Extraction des protéines de poisson

Les protéines de poisson utilisées dans notre étude sont extraites à partir du muscle de la sardine et la sardinelle. L'extraction des protéines de poisson est réalisée selon un procédé d'extraction lipidique, préalablement détaillé par **Louala et al., (2011)**. Le principe général consiste à séparer l'eau et l'huile de la matière sèche selon la technique de **Guillaume et al., (1999)** (**Fig. 7**). Les sardines et les sardinelles sont éviscérées, lavées et hachées, puis placées dans une étuve (Tan Steril, Italie) à 80°C pendant 20 minutes. A ce niveau, une première séparation s'effectue entre une phase solide (protéines coagulées) et une phase liquide (eau et huile). L'eau de presse est décantée et centrifugée (Eppendorf, Centrifuge 5702, Allemagne) pour séparer l'huile et le soluble et réincorporé au gâteau. Ce dernier est séché à l'étuve à 45°C pendant 24 heures.

I. 3. 2. Délipidation de l'extrait protéique

Après broyage, les farines de poisson obtenues sont délipidées au Soxhlet (Labo Tech LT. G6, Allemagne) en présence d'hexane (Biochem chemo pharma, UK) en 8 cycles à 70°C.

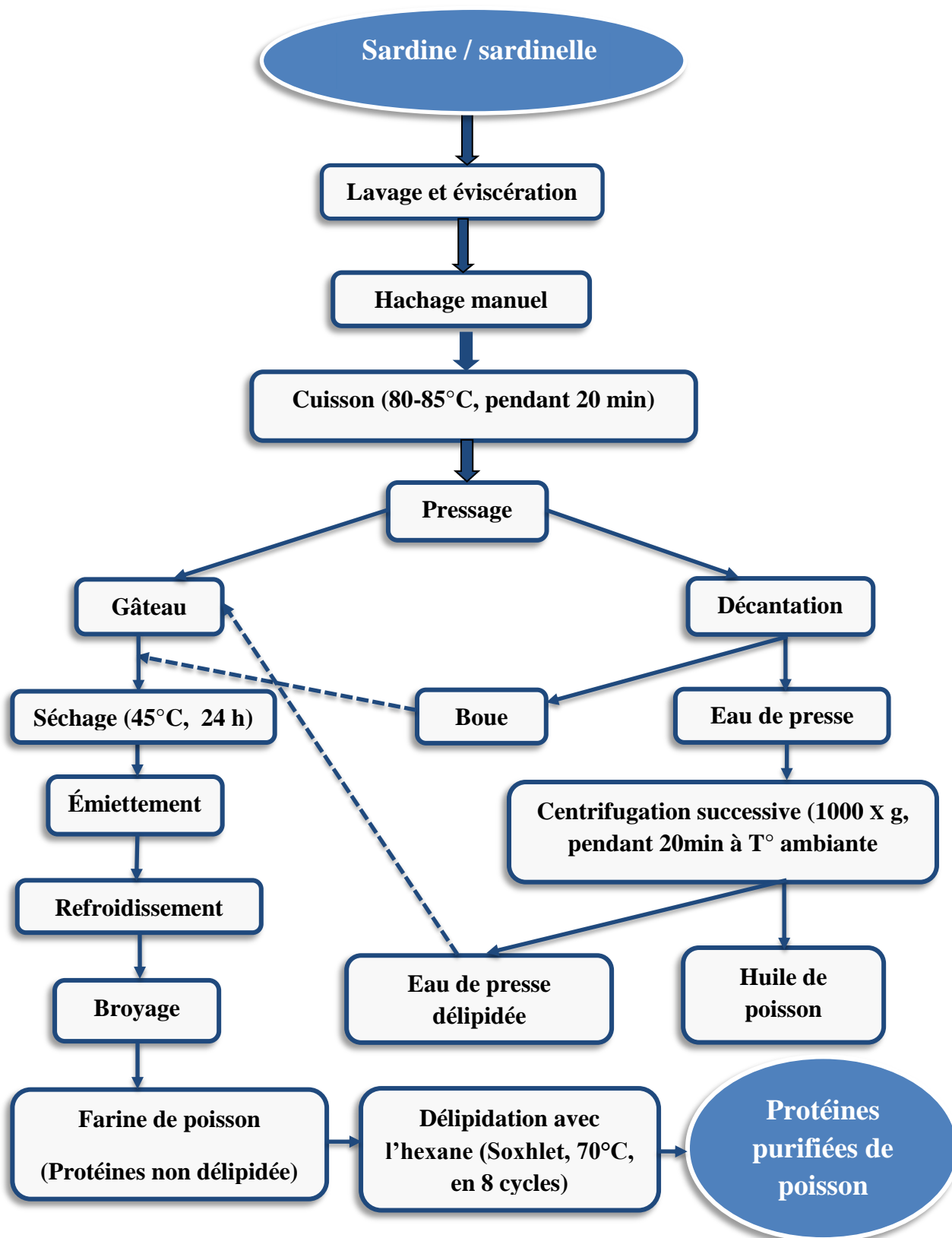


Fig. 7. Procédé d'extraction selon la méthode de **Guillaume *et al.*, (1999)** et de purification des protéines de poisson.

I. 3. 3. Evaluation du degré de pureté des protéines

Après minéralisation, le contenu en azote (N) ammoniacal des échantillons (protéines délipidées) est déterminé par la méthode colorimétrique de Nessler. En milieu contenant l'iodure de potassium et du mercure, le réactif de Nessler réagit avec les ions NH_4^+ pour développer une coloration jaune. La concentration en N ammoniacal est calculée par mesure de l'absorbance à 420 nm. Une gamme étalon est réalisée à partir du sulfate d'ammonium $((\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4)$ (Merck, Allemagne).

La quantité de protéines ($\text{N} \times 6,25$) est exprimée en %. Le procédé de purification a permis d'obtenir des protéines purifiées de sardine et de sardinelle quasiment dépourvues en lipides, avec un degré de pureté de 90%.

I. 4. Préparation des hydrolysats de protéines de poisson et estimation du degré d'hydrolyse

La préparation des hydrolysats de protéines de poisson est réalisée selon la méthode de pH-stat (**Adler-Nissen, 1986**) (**Fig. 8**). Le principe de cette technique consiste à maintenir un pH constant durant l'hydrolyse enzymatique.

Les protéines purifiées de poisson (sardine et sardinelle) sont solubilisées, et homogénéisées dans de l'eau distillée (80 g/L) pendant 2 min, puis hydrolysées par l'Alcalase[®] 2.4L (Novo Enzyme, Denmark), dans des conditions optimales (pH 8 et à une température de 50°C). L'enzyme est ajoutée à la réaction avec un rapport enzyme/substrat de 3U/mg. Durant la réaction, le pH du mélange est maintenu constant par l'ajout d'une solution de NaOH 4N.

Lorsque le degré d'hydrolyse (DH) atteint 8% (hydrolyse modérée), la réaction est stoppée par chauffage de l'homogénat à 80°C pendant 20 min pour inactiver l'enzyme. La fraction soluble correspondant aux hydrolysats de protéines de poisson est obtenue par centrifugation du mélange réactionnel à 5000 x g pendant 20 min, puis lyophilisée (Christ, ALPHA 1-2 model; Martin Christ GmbH, Osterode am Harz, Allemagne) et enfin les hydrolysats sont conservés à - 20°C (**Photos. 3**).

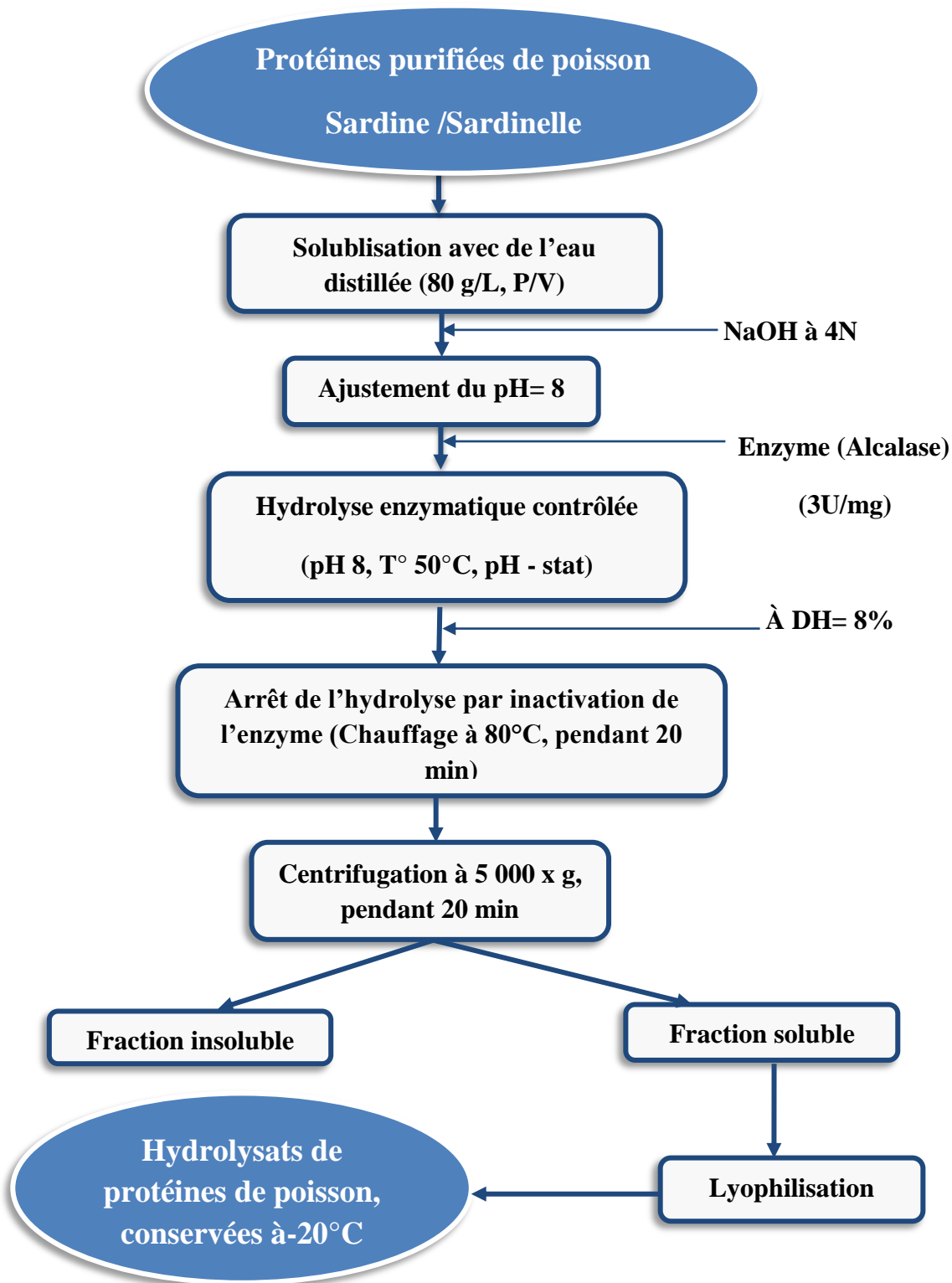
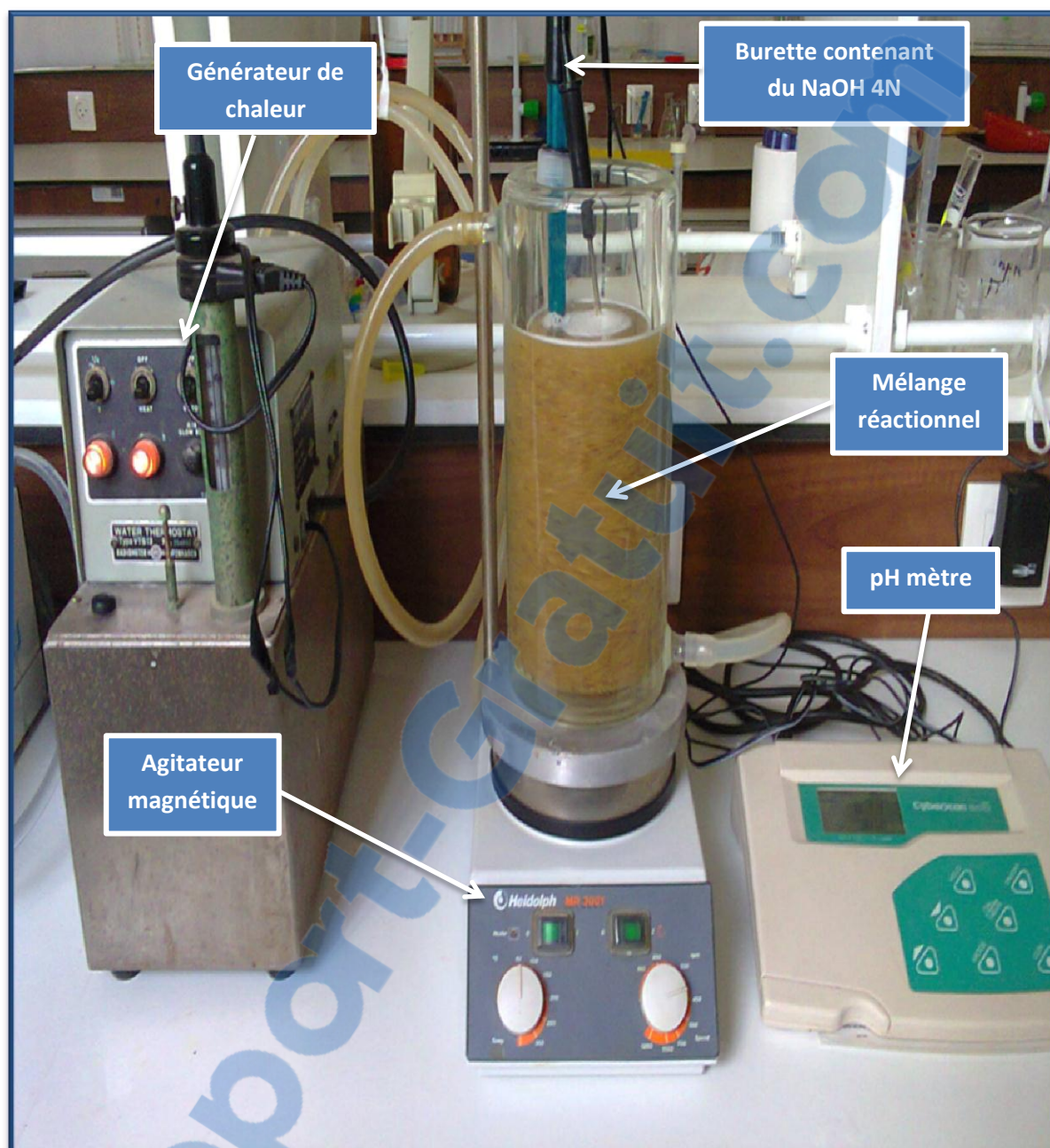


Fig. 8. Diagramme de l'hydrolyse enzymatique des protéines de poisson selon la méthode de pH-stat d'Adler-Nissen, (1986).



Photos. 3. Dispositif de l'hydrolyse enzymatique des protéines de poisson.

Le degré d'hydrolyse (DH) est décrit par **Souissi *et al.*, (2007)**. Le DH est le rapport en pourcentage du nombre de liaisons peptidiques coupées (h) sur le nombre total de liaisons peptidiques dans le substrat étudié de la protéine (h_{tot}), il est calculé à partir de la quantité de base (NaOH) ajouté au mélange réactionnel pour maintenir le pH constant durant l'hydrolyse, comme il est présenté dans la formule suivante :

$$DH (\%) = \frac{h}{h_{tot}} \times 100 = \frac{B \times Nb}{MP} \times \frac{1}{\alpha} \times \frac{1}{h_{tot}} \times 100$$

B : est la quantité du NaOH consommée en mL pour maintenir le pH constant durant la réaction.

Nb : est la normalité de la base.

MP : est la masse (en g) de protéine ($N \times 6,25$ (facteur Kjeldahl)).

α : est le degré moyen de la dissociation des groupements α -NH₂ apparues durant la réaction d'hydrolyse, exprimé comme suit : $\alpha = \frac{10^{pH-pK}}{1+10^{pH-pK}}$

pH et **pK** : sont les valeurs qui définissent le chemin de la protéolyse.

h_{tot} : est le nombre total des liaisons peptidiques dans la protéine de poisson qui est estimé d'être 7,3 meq/g.

II. Animaux et traitements

Des rats mâles de souche Wistar (n=24) (Institut de Pasteur, Alger, Algérie), pesant 350 ± 15 g, dont six rats ont été sacrifiés à **J₀**, et présentant les paramètres biologiques tels que mentionnés dans le **tableau IV**, sont répartis en 3 groupes de 6 rats chacun et sont soumis pendant 14 jours à un régime standard contenant 20% de caséine combinée à 10% d'huile de tournesol, supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique (**Tableau V**). Durant cette période, les 3 groupes reçoivent à l'aide d'une sonde de gavage (Eickemeyer, Tuttlingen, Allemagne) 3 mL (100 mg/mL), de l'une des solutions suivantes :

- Une solution d'hydrolysats de protéines de sardine (groupe **HPS**)
- Une solution d'hydrolysats de protéine de sardinelle (groupe **HPA**).
- Eau distillée (3 mL/rat); sert de témoin (groupe **GT**).

Les animaux sont placés dans une animalerie où la température est maintenue à 24°C, avec un rythme circadien de 12h jour / 12h nuit et une hygrométrie constante de 60%. L'eau et la nourriture sous forme de poudre sont données *ad libitum*.

Les animaux et la quantité de nourriture ingérée sont pesés tous les jours. Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis (**Council of European Communities, 1987**).

Tableau. IV. Teneurs à J₀ de quelques paramètres sériques des rats.

Paramètres sériques	J ₀
Cholestérol total (mmol/L)	1,32±0,11
Triglycérides (mmol/L)	0,54±0,08
Phospholipides (mmol/L)	1,34±0,24
Hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/mL)	0,32±0,08
Carbonyles (nmol/mg)	0,36±0,10

Tableau. V. Composition des régimes en g/kg de régime¹.

Ingrédients	g/kg de régime
Caséine²	200
Méthionine³	3
Amidon de maïs⁴	532
Saccharose⁵	40
Huile de tournesol⁶	100
Cellulose⁷	50
Mélange vitaminique⁸	20
Mélange minéral⁹	40
Cholestérol¹⁰	10
Acide cholique¹¹	5
Total	1000

¹Le régime est donné sous forme de poudre préparé au niveau du Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique.

²Prolabo-Paris France.

^{3, 10, 11} Sigma-Aldrich, Allemagne.

⁴ONAB, Sidi Bel Abbes, Algérie.

⁵Sucre cristallisé, ENASUCRE, Stisef, Algérie.

⁶Produit de commerce : Huile de tournesol (13% AGS, 22% AGMI, 65% AGPI avec 65% oméga 6), Cevital, SPA, Bejaia.

⁷Prolabo-Paris, France.

⁸UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay, S/Orge, France), Mélange vitaminique (mg/kg de régime): Vit A, 39600UI; Vit D3, 5000UI; Vit B1, 40; Vit B2, 30; Vit B3, 140; Vit B6, 20; Vit B7, 300; Vit B12, 0,1; Vit C, 1600; Vit E, 340; Vit K 3,80; Vit PP, 200; Choline, 2720; Acide folique, 10; Acide PAB, 100; Biotine, 0,6.

⁹UAR 205B (Villemoisson, 91360, Epinay, S/Orge, France), Mélange minéral (mg/kg de régime) CaHPO₄, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO₂, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄, 7H₂O, 200; MnSO₄, H₂O, 98; CuSO₄, 5H₂O, 20; ZnSO₄, 7H₂O, 80; CuSO₄, 7H₂O; KI, 0,32.

III. Prélèvement du sang, des hématies et des différents organes

À J₁₄ de l'expérimentation, après 12 heures de jeûne, entre 09.00 et 10.00 h, six rats de chaque groupe sont pesés puis anesthésiés par injection intrapéritonéale d'une solution de pentobarbital sodique (à 60 mg/kg de poids corporel). Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale, recueillis dans des tubes secs et centrifugés à 1000 x g pendant 20 min à 4°C (Sigma, 4K10 Bioblok Scientific, Allemagne). Le sérum est divisé en deux aliquotes, une pour le dosage des enzymes (LCAT et Paraoxonase) et la deuxième est conservée avec EDTA-Na₂ (0,1%, 10 µl.mL⁻¹ de sérum) (Merck, Allemagne) pour les autres dosages.

Les différents organes (foie, cœur, muscle gastrocnémien, aorte et tissus adipeux épидидymaire) sont prélevés, rincés avec une solution de NaCl froid 0,9% et séchés. Les érythrocytes sont lavés avec du NaCl à 0,9%, 1 mL d'hématie est repris dans 4mL de l'eau distillée glacée puis centrifugée à 1000 x g pendant 10 min à 4°C.

Le sérum, les érythrocytes et les organes sont conservés à -76°C.

IV. Evaluation de la fonction hépatique par mesure des teneurs sériques en transaminases

L'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (ASAT) prédominantes dans le foie, le muscle et notamment dans le cœur (myocarde), sont des marqueurs important du fonctionnement hépatique, leur rôle est de transférer un groupe amine lors de nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique, leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque ou musculaire.

Les transaminases sont mesurées par des méthodes colorimétriques (CHRONO LAB, Espagne). L'ALAT est une transaminase qui catalyse le transfert du groupe aminé de L-alanine vers l' α -cétooglutarate pour donner du L-glutamate. L'ASAT est également une

transaminase qui catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' α -cétooglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 340$ nm.

V. Dosage de l'acide urique (AU)

L'acide urique sérique est déterminé par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Uricase-POD, SPINREACT, SAU, Ctra, Saint a coloma, Espagne). L'indicateur colorimétrique de l'AU est la quinoneimine rouge formé à partir du 4-aminophenazone (4-AP) et 2-4 Dichlorophenol sulfate (DCPS) par l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène ($2H_2O_2$) (obtenus suite à l'oxydation de l'AU par l'Uricase), sous l'action de la peroxydase (POD). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 520$ nm. **Les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol} / \text{L}$ pour le sérum.**

VI. Analyses des paramètres lipidiques et protéiques

VI. 1. Dosage des teneurs en protéines totales du sérum et des différents organes

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 du KCl. Les teneurs en protéines totales du sérum et différents tissus (foie, cœur, muscle gastrocnémien et aorte) sont déterminés par la méthode de **Lowry *et al.*, (1951)**. La sérum albumine bovine (SAB) (Sigma Chemical Company, St louis, MO, USA) est utilisée pour établir la courbe de référence.

En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu^{+2} et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin (Sigma-Aldrich Chemie, Allemagne). Il se développe alors une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines contenues dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 750$ nm.

VI. 2. Dosage des apolipoprotéines (apo) sérique (Apo A-I et Apo B)

L'apolipoprotéine A-I et l'apolipoprotéine B sont déterminées par turbidimétrie (Kit SPINREACT, Espagne). Les antisérums anti-apo A-I et anti-apo B sont ajoutés aux sérums, respectivement. L'anticorps anti-apo A-I agglutine l'apo A-I présent dans l'échantillon et l'anticorps anti-apo B agglutine l'apo B. Le changement de turbidité mesurée par spectrophotométrie à 501 nm est proportionnel à la quantité des apo dans l'échantillon.

VI. 3. Détermination des lipides totaux du foie

Les lipides totaux hépatiques sont extraits selon la méthode de **Folch, (1957)**. 1g d'échantillon est mis en contact avec un mélange chloroforme/méthanol (Biochem chemopharma, UK) (2/1, V/V). Après 2 heures, l'extrait lipidique est débarrassé des solvants par Evaporateur rotatif à 48°C (Vortex, Allemagne). La teneur en lipides totaux est estimée par gravimétrie exprimée en pourcentage. Ils sont ensuite repris dans 10 mL d'isopropanol pour le dosage des différents composants lipidiques.

VI. 4. Dosage des différents lipides du foie et du sérum

VI. 4. 1. Dosage du cholestérol total, libre et ester de cholestérol

■ Cholestérol total

Les teneurs en cholestérol total (CT) sont dosées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit CHOD-POD, SPINREACT, Girona, Espagne). Le CT présent dans l'échantillon donne après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'indicateur est la quinonéimine formé à partir du 4-amino-phenazone et le phénol, par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sous l'action de la peroxydase. La densité optique de l'échantillon est mesurée $\lambda=500$ nm.

■ Cholestérol libre

Les teneurs en cholestérol libre (CL) sont déterminées par méthode enzymatique colorimétrique (Kit CHOD-PAP BIOLABO SA, Maïzy, France). L'indicateur colorimétrique est la quinonéimine formé à partir du H_2O_2 et le 4-amino-antipyrine, en présence du phénol et de la peroxydase. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm.

■ Ester de cholestérol

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

VI. 4. 2. Détermination des teneurs en triglycérides

Les teneurs en triglycérides (TG) sont déterminées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit GPO-POD, SPINREACT, Espagne). Les TG sont hydrolysées par une

lipase. Le glycérol libre est dosé par une méthode colorimétrique. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=505$ nm.

VI. 4. 3. Détermination des teneurs en phospholipides

Le dosage des phospholipides (PL) est réalisé par méthode enzymatique colorimétrique (Kit CHO-POD, CYPRESS DIAGNOSTOCS, Belgique). Il s'agit d'une hydrolyse enzymatique des PL (lécithine, lysolécithine et sphingomyéline) par la phospholipase D, suivi du dosage colorimétrique de la choline libéré. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=505$ nm.

VII. Séparation des différentes fractions de lipoprotéine et dosage de leurs constituants

VII. 1. Séparation des lipoprotéines de faible et de haute densité

La séparation et la caractérisation des différentes fractions de lipoprotéines est réalisée par une méthode de précipitation, préalablement détaillée par **Bouderbala *et al.*, (2009)**.

Les lipoprotéines de faible densité VLDL ($d < 1,006$) et LDL-HDL₁ ($1,006 < d < 1,075$) sont séparées selon la méthode de **Burstein *et al.*, (1970)** (**voir annexe**) qui utilise du phosphotungstate (Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen, Allemagne) + MgCl₂ (2M) (Merck).

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 (poids moléculaire moyen 500.000, Sigma Chemical Company, St Louis) + MgCl₂ (2M) selon la technique de **Burstein *et al.*, (1989)** (**voir annexe**). Toutes les centrifugations sont effectuées à 1000 x g durant 30 min à 20°C, après 30 min d'incubation.

Les différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃) sont solubilisées dans une solution contenant du citrate trisodique et du NaCl à 0,01M. Afin de minimiser la contamination par les protéines sériques, les différentes fractions sont ensuite purifiées par lavages successifs. Les VLDL et LDL-HDL₁ sont purifiées par du sulfate de dextran 0,05M et du MgCl₂ à 0,05M, alors que les HDL₂ et HDL₃ avec de l'oxalate de potassium à 0,5M et 1M, respectivement (**voir annexe**).

VII. 2. Analyse de la teneur et composition en lipides et en apolipoprotéines des lipoprotéines

Les teneurs en apo, CT, CL, TG et PL de différentes fractions de lipoprotéines sont déterminées par des méthodes biochimiques décrites précédemment. La masse de chaque fraction de lipoprotéine est estimée par la somme des contenus des différents constituants lipidiques et protéiques (apo, TG, PL, CL et EC) exprimée en **g/L**.

VIII. Détermination de l'activité lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT, EC 2. 3. 1. 43)

L'activité LCAT est déterminée selon la technique de **Chen & Lacko, (1986)**. C'est une méthode endogène basée sur la disparition des molécules du CL qui sont transformées en CE sous l'action de la LCAT après 4 heures d'incubation à 37°C, à partir d'un acide gras et de la lécithine. Le cholestérol libre est dosé par méthode enzymatique colorimétrique (Kit CHOD-PAP, BIOLABO, France), l'activité LCAT est exprimée en **nanomoles de cholestérol estérifié. h⁻¹. mL⁻¹ de sérum**. Elle est calculée selon la relation suivante :

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

IX. Mesure du statut Oxydant/Antioxydant

IX. 1. Peroxydation lipidique

IX. 1. 1. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique

Le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est caractérisé par la simplicité et la sensibilité; en effet c'est une méthode de référence pour la mise en évidence d'un éventuel stress oxydant. Le marqueur le plus utilisé pour déterminer les radicaux libres et les produits de dégradation des peroxydes lipidiques suite à l'exposition à un stress oxydatif, reste le malondialdéhyde (MDA). Le dosage des TBARS repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) (Sigma-Aldrich Chemie, Allemagne), d'un pigment absorbant (complexe de condensation chromogénique), extractible par des solvants organiques comme le butanol. La réaction colorée obtenue avec le TBA, mesure non seulement le MDA préexistant mais aussi, le MDA formé par décomposition thermique des peroxydes et de ceux générés au cours même de la réaction. C'est pourquoi la notion initiale de dosage du malondialdéhyde s'est substituée

la notion de substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique ou « TBARS ». Le dosage des TBARS a été effectué au niveau sérique, lipoprotéique, érythrocytaire et tissulaire.

■ **Au niveau sérique, lipoprotéique et érythrocytaire**

La peroxydation lipidique au niveau du sérum, des fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃) et des érythrocytes est déterminée par la méthode de **Quitnilha *et al.*, (1982)**. 100 µL d'échantillon sont dilués dans 0,9 mL de NaCl. A cette solution sont rajouté, 20 µL de Buthyl-hydroxy toluène (BHT) (2% dans l'éthanol) (Sigma-Aldrich Chemie, Allemagne) et 1mL de TBA (Sigma-Aldrich Chemie, Allemagne) (TBA 0,375% dans du HCl à 0,5 N en concentration finale d'acide trichloracétique (TCA) à 15%). Après incubation à 85°C pendant 30 min et refroidissement dans la glace, les échantillons sont centrifugés à 2000 x g pendant 10 min à 4°C (Sigma, 4K10. Bio-block Scientific, Allemagne). La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=535$ nm. Le MDA est utilisé pour établir une courbe d'étalonnage.

Les résultats sont exprimés en µmol / mL de sérum, de lipoprotéines, ou des érythrocytes.

■ **Au niveau tissulaire**

L'évolution de la peroxydation lipidique du foie, cœur, muscle et aorte est réalisée par la mesure des TBARS selon la technique d'**Ohkawa *et al.*, (1979)**. 100 mg de tissu sont broyés dans 0,9 mL de KCl à 1,15%. Le milieu réactionnel contient 0,2 mL d'homogénat tissulaire. 0,2 mL d'une solution contenant du sodium dodecylsulfate (SDS) à 8,1% et 1,5 mL d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 mL de TBA à 0,8% sont rajoutés, le volume final est ajusté avec 4 mL d'eau distillée. Le mélange est ensuite vortexé pendant 30 secondes et chauffé à 95°C pendant 1 heure dans un bain marie. 1 mL d'eau distillée et 5 mL de *n*-butanol sont ensuite additionnés. Les tubes sont agités et centrifugés à 1000 x g pendant 10 min. Les TBARS tissulaires sont estimés par spectrophotométrie à 532 nm. **Les résultats sont exprimés en mmol / g de protéines tissulaires.**

IX. 1. 2. Les hydroperoxydes

■ Principe de la technique

L'évaluation des teneurs en hydroperoxydes est réalisée selon la méthode de **Hermes-Lima *et al.*, (1995)**. En milieu acide, les hydroperoxydes extraits des échantillons par le méthanol oxydent le Fe^{3+} . Ce dernier forme un complexe coloré avec le xylénol orange.

■ Préparation des homogénats

Les homogénats tissulaires sont préparés dans du méthanol froid (4°C) à raison de 3g de tissu dans 3 mL de méthanol. Le mélange est broyé pendant 15 secondes avec un Ultra-Turax. Après 10 min de centrifugation à $5500 \times g$, le surnageant est filtré. 50 μL de sérum, des érythrocytes, des lipoprotéines et de l'homogénat filtré sont introduits dans des micro-tubes, le volume est complété à 150 μL avec du méthanol et 1350 μL de réactif Ferrous Oxidation Xylenol orange 2 (FOX2) sont ajoutés.

Le réactif de FOX2 est préparé selon la méthode de **Wolff, (1994)**. Il est composé d'une solution à 100 μM de xylénol orange dans du méthanol contenant $1/10^{\circ}$ (V/V) d'une solution aqueuse de H_2SO_4 , 250 mM de sulfate de fer et d'ammonium 2,5 mM (Fluka Biochemika, Saint Quentin fallavier, France).

Après 50 min de réaction à l'obscurité et à température ambiante, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 580 \text{ nm}$ contre un blanc contenant 150 μL de méthanol et 1350 μL de réactif de FOX2. Une gamme de référence d'hydroperoxydes de Cumène (CuOOH) (Sigma-Aldrich, France) dans du méthanol (concentration de 0 au 20 μM) est utilisée. Les concentrations en hydroperoxydes sont exprimées en équivalents gramme d'hydroperoxydes de Cumène (Eq CuOOH).

Les résultats sont exprimés en mmoles Eq CuOOH / mL de sérum, des érythrocytes ou de lipoprotéines, et en μmoles Eq CuOOH / g de protéines tissulaires.

IX. 2. Oxydation protéique

■ Principe de la technique

La mesure de l'oxydation protéique est déterminée par le dosage des dérivés carbonylés selon la méthode de **Levine *et al.*, (1990)**.

■ Préparation des homogénats

Les homogénats tissulaires sont préparés dans du tampon phosphate à raison de 125mg de tissu homogénéisé dans 3 mL de tampon. Le mélange est broyé pendant 15 secondes avec un Ultra-Turax. Après 10 min de centrifugation à 5500 x g, le surnageant est filtré. La technique est réalisée sur 0,1 mL de sérum, de lipoprotéines ou d'homogénat tissulaire qui sont déposés dans 2 tubes, 0,5 mL de HCl 2,5M (blanc) et 0,5 mL de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) 10 mM (échantillon) sont rajoutés. L'incubation se fait pendant 1 h, à température ambiante et à l'obscurité sous agitation toutes les 10-15 min. 500µL de TCA à 20% sont additionnés, le mélange est vortexé puis centrifugé 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 (V/V, 1/1). 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. Afin d'éliminer les débris insolubles, une centrifugation à 11000 x g pendant 15 min est effectuée. Un spectre d'absorption est réalisé entre 250 et 300 nm pour obtenir les dérivés aldéhydes et les cétones. La concentration de ces derniers est calculée par la différence d'absorbance entre le blanc et l'échantillon selon la formule : $C = \text{absorption} / \epsilon$ ($\epsilon = 22000 / 10^6 \text{ nmol.mL}^{-1}$ pour 280 nm). ϵ : coefficient d'extinction molaire du DNPH spécifique à la longueur d'onde choisie).

Les résultats sont exprimés en nmol / mg de sérum ou lipoprotéines et en nmol/ng de protéines tissulaires.

IX. 3. Monoxyde d'azote

■ Principe de la technique

La détermination de la concentration en monoxyde d'azote (NO) est mesurée selon la méthode de **Cortas & Wakid, (1990)**. Le NO donne des nitrates+ nitrites. Le dosage se fait par le réactif de Griess (sulfanilamide et n-naphtyléthylène diamine) qui réagit avec les nitrites, et les nitrates sont réduits par le cadmium (Fluka Chemie Sigma-Aldrich, Pologne) en nitrites.

■ Préparation des homogénats

Les homogénats tissulaires sont préparés dans du tampon phosphate salin (PBS) à pH 7,4 constitué de NaCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄ et d'H₂O distillée qsp 200 mL, à raison de 100 mg tissu dans 1 ml du tampon PBS.

La mesure des teneurs en NO du sérum et des tissus s'effectue après déprotéinisation des différents échantillons. Les érythrocytes sont dilués avec l'eau distillée (ordre 1/10^{ème}) ; ensuite les échantillons sériques et érythrocytaires sont déprotéinisés avec l'EDTA, et les échantillons tissulaires sont déprotéinisés avec du ZnSO₄ à 30%. Une gamme étalon est réalisée avec du sodium nitrite (NaNO₂) (Sigma-Aldrich Chemie, Allemagne). La lecture se fait à l'aide d'un lecteur Elisa à une longueur d'onde $\lambda = 540$ nm.

Les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol} / \text{mL}$ pour le sérum et les érythrocytes et en $\mu\text{mol} / \text{mg}$ pour les tissus.

IX. 4. Défense antioxydante

IX. 4. 1. Activité paraoxonase

L'activité paraoxonase sérique est déterminée selon la méthode décrite par **Kuo & La Du, (1995)**, qui utilise l'acétate de phényle comme substrat (l'activité arylesterase). 10 μL d'échantillon sont additionnés à 1 mL du tampon Tris-HCl (20 mM, pH 8) contenant 4 mM d'acétate de phényle (Sigma-Aldrich Chemicals) et 1 mM de CaCl₂. Les vitesses d'hydrolyse sont mesurées par spectrophotométrie (Genway, London, UK) à une longueur d'onde $\lambda = 270\text{nm}$ pendant 1 min à une température de 25°C. L'activité paraoxonase est calculée à partir du coefficient d'extinction moléculaire du phényle (1,310 M⁻¹.cm⁻¹). Une unité de l'activité paraoxonase est définie comme 1 μM de phénol formé par minute.

Les résultats sont exprimés en U / mL de sérum.

IX. 4. 2. Activité glutathion peroxydase

■ Principe de la technique

L'activité glutathion peroxydase (GSH-Px, EC 1.11.1.9) au niveau des érythrocytes et différents tissus (foie, cœur, muscle et aorte) est déterminée par une méthode colorimétrique (Kit Cayman GPx Assay, Cayman Chemical Company, U.S.A), utilisant

l'hydroperoxyde de Cumène comme substrat. Une unité de GSH-Px est définie comme la quantité d'enzyme responsable d'une diminution de 90% de la concentration de glutathion (GSH) par minute.

■ Préparation des homogénats

Les différents tissus sont rincés avec du tampon phosphate salin (PBS) (pH7, 4 contenant 0,16 mg.mL⁻¹ d'héparine) ensuite broyés et homogénéisés avec un tampon phosphate de potassium à 50 mM à pH 7,5 et EDTA à 1 mM, à raison de 1 g de tissu par 5-10 mL de tampon.

L'activité GSH-Px est déterminée indirectement par une réaction couplée avec la glutathion réductase, le glutathion oxydé produit lors de la réduction de l'hydroperoxyde par la GSH-Px, recyclé à son état réduit par la GSSH-Red et du NADPH. Une unité de GSH-Px est définie comme la quantité d'enzyme responsable de la décroissance (oxydation) de 1 μ mol de glutathion réduit par H₂O₂ dans le milieu par minute à un pH de 7 et à 25 °C, et comparée à l'activité connue d'une solution de GSH-Px (GSH-Px érythrocytaire bovine). L'absorbance est mesurée à l'aide d'un lecteur Elisa (Bio-Tek Instruments, USA) à une longueur d'onde λ = 340 nm, en utilisant un coefficient d'extinction de NADPH égale à 0.00622 μ M⁻¹.

L'activité GSH-Px est exprimée en U / mL d'érythrocytes et en U / g de protéines tissulaires.

IX. 4. 3. Activité glutathion réductase

■ Principe de la technique

Le dosage de l'activité glutathion réductase (GSSH-Red, EC1.6.4.2) au niveau des hématies et des différents organes, est réalisé par une technique colorimétrique (Kit Cayman GR (Glutathion Réductase) Assay, Cayman Chemical Company, USA), par la mesure de taux d'oxydation du NADPH en présence de glutathion oxydé (GSSH). Une unité de l'activité de cette enzyme est définie comme la quantité d'enzyme capable de réduire 1 μ mol de NADPH par min à 25°C et à pH 7.

■ Préparation des homogénats

Les différents tissus sont rincés avec du tampon PBS (pH 7,4 contenant $0,16 \text{ mg.mL}^{-1}$ d'héparine) ensuite broyés et homogénéisés avec un tampon phosphate de potassium à 50mM à pH 7,5 et EDTA à 1 mM, à raison de 1g de tissu par 5-10 mL de tampon.

L'activité de l'enzyme est déterminée par la décroissance de NADPH en NADP^+ dans le milieu et comparée à l'activité connue d'une solution de GSSH-Red (solution sert de contrôle). L'absorbance est mesurée grâce à un lecteur Elisa à une longueur d'onde $\lambda = 340 \text{ nm}$.

L'activité GSSH-Red est exprimée en U / mL d'érythrocytes et en U / g de protéines tissulaires.

IX. 4. 4. Activité superoxydes dismutase

■ Principe de la technique

L'activité superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) au niveau érythrocytaire et tissulaire est estimée par une méthode colorimétrique (Kit Cayman SOD Assay, Cayman Chemicals Company; Ann Arbor, MI, USA), qui utilise un sel de tétrazolium pour la détection des radicaux superoxydes générés par la xanthine oxydase et l'hypoxanthine. Une unité de l'activité de cette enzyme est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour la dismutation de 50% du radical superoxyde.

■ Préparation des homogénats

Les tissus sont rincés avec du tampon phosphate salin -PBS- (pH 7,4 contenant $0,16 \text{ mg. mL}^{-1}$ d'héparine) et broyé avec un tampon HEPES à 20 mM, pH 7,2 et contenant 1 mM EDTA, 210 mM de mannitol et 70 mM de sucrose dans 400 ml H_2O bidistillée, à raison de 1 g par 5 ml de tampon. 10 μL du surnageant tissulaire ou de surnageant extrait à partir d'une dilution d'érythrocytes sont rajoutés à 200 μL du réactif SOD. La lecture est réalisée à l'aide d'un lecteur Elisa à une longueur d'onde $\lambda = 450 \text{ nm}$.

L'activité SOD est exprimée en U / mL d'érythrocytes et en U / g de protéines tissulaires.

IX. 4. 5. Activité catalase

■ Principe de la technique

L'activité catalase (CAT, EC 1.11.1.6) est mesurée selon la méthode d'**Aebi, (1974)** par la détermination du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

■ Préparation des homogénats

Les homogénats sont préparés dans du tampon KCl, à raison de 100 mg de tissu broyé dans 0,9 mL de KCl, puis homogénéisés, centrifugés et filtrés. 250 µL de surnageant extrait à partir d'une dilution d'érythrocytes et 250 µL d'homogénat tissulaire sont additionnés à 250 µL d'H₂O₂ (30 mmol dans du tampon phosphate à 50 mmol/L) et 250 µL de tampon phosphate (pH 7). La solution est ensuite agitée et incubée pendant 5 min. La lecture est réalisée par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 420$ nm, immédiatement après addition du Titanium sulfate (TiOSO₄). L'absorbance est mesurée à 420 nm et la concentration est calculée en utilisant le coefficient d'extinction de H₂O₂ à 420 nm égale à 39.4 M⁻¹cm⁻¹. Une unité de la CAT est définie par la dégradation of 1 µmol de H₂O₂ par minute.

L'activité CAT est exprimée en U / mL d'érythrocytaires ou U / g de protéines tissulaires.

X. Dosage des hormones

X. 1. La leptine

La leptine est une protéine hormone qui joue un rôle important dans le métabolisme et la régulation du poids corporel. La détermination de la leptine dans le sérum se fait par une micro-méthode ELISA (Kit, Enzyme Immuno-Assay, research laboratory, SPI-BIO, U.S). 100 µL du tampon enzyme immuno-assay (EIA) (utilisé comme blanc), le standard (S₁=62,5 au S₇=4000 pg/mL) et l'échantillon sont déposés sur la plaque puis incubée pendant 1heure sous agitation douce (300 rpm). La plaque est ensuite lavée 3 fois à raison de 350 µL/puits. 100 µL d'anticorps anti-leptine sont déposés et incubés pendant 1heure sous agitation, ensuite la plaque est relavée 3 fois. 100 µL du réactif streptavidin-HRP conjugate sont rajoutés ensuite incubés sous agitation puis rincer avec du tampon de lavage. 100 µL de substrat sont déposés puis incubés à l'obscurité pendant 10 min à la température de la pièce (20-30°C). La

réaction est stoppée par addition de 100 μL de la solution d'arrêt. La densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 450 \text{ nm}$.

Les résultats sont exprimés en pg / mL de sérum.

X. 2. Insuline

La détermination quantitative de l'insuline dans le sérum est réalisée par micro-méthode ELISA (Kit, Rat Insulin Enzyme Immuno Assay, research laboratory, SPI-BIO, U.S). Cette technique immuno-enzymatique est basée sur la compétition entre l'insuline libre et l'acétylcholinestérase liée à l'insuline du rat. 50 μL de chaque standard (S_1 au S_8) et échantillons sont déposés en double dans les puits d'une plaque de microtitration. 50 μL du complexe Acétylcholinestérase-insuline du rat est rajouté, la plaque est ensuite incubée pendant 16 à 20 heures à une température de 4°C . La plaque est ensuite lavée avec un tampon de lavage 5 fois à raison de 300 μL /puits. 200 μL de substrat sont déposés et incubés à l'obscurité à une température ambiante. Le chromatogène obtenu est proportionnel à la concentration de l'insuline du rat. Une gamme étalon d'insuline à 10 ng/mL sert de référence. La densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 405 \text{ nm}$.

Les résultats sont exprimés en ng / mL de sérum.

XI. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard ($M \pm ES$) de 6 rats par groupe. L'analyse statistique est effectuée par le Logiciel **STATISCTICA** (version 4.1; Stat Soft, Tulsa, OK, USA). Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est réalisée entre les groupes **HPS**, **HPA** et **GT** par le test de rang multiple de **Duncan, (1955)**. Les moyennes portants des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes (**$P < 0,05$**).

RÉSULTATS

I. Caractérisation des hydrolysats de protéines de poisson (Tableau VI)

La composition chimique des hydrolysats de protéines de sardine (**HPS**) et de sardinelle (**HPA**) est comparable à celle rapportée par **Chalamaiah *et al.*, (2012)** qui ont montré que la teneur en protéines des hydrolysats de protéines de poisson varie entre 60% et 90%, la teneur en lipides et en humidité sont inférieures à 5% et 10%, respectivement, et la teneur en cendres varie entre 0,45% à 27% de la composition totale.

La composition en acides aminés des hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle exprimée en (%) est résumée dans le **tableau VI**. Dans les **HPS**, la leucine, la valine, l'histidine, la phénylalanine, l'alanine, la glycine et la glutamate sont les principaux acides aminés, alors que dans les **HPA**, la leucine, l'histidine, la phénylalanine, l'alanine, la glycine, la glutamate et l'arginine sont les principaux acides aminés. Les acides aminés hydrophobes représentent 59%, alors que les acides aminés aromatiques représentent respectivement, 21,6% et 19,4% de la composition totale en acides aminés des **HPS** et **HPA**.

Tableau VI. Composition chimique et en acides aminés (%) des hydrolysats de protéines de sardine (*Sardina pilchardus*) (HPS) et de sardinelle (*Sardinella aurita*) (HPA)

	HPS	HPA
Composition chimique		
Protéines ^a	90,00±0,20	90,00±0,70
Lipides ^b	2,72±0,40	2,16±0,60
Humidité ^c	5,14±0,70	6,10±0,30
Cendres ^d	8,20±0,50	9,32±0,90
Composition en acides aminés ^e		
Isoleucine	4,14±0,02	2,40±0,04
Leucine	8,67±0,06	8,91±0,02
Valine	7,14±0,05	5,71±0,50
Méthionine	3,39±0,04	2,45±0,08
Tyrosine	3,10±0,01	2,63±0,04
Histidine	10,98±0,07	12,92±0,20
Tryptophane	5,88±0,07	6,36±0,09
Phénylalanine	12,67±0,04	10,37±0,30
Alanine	9,15±0,01	11,60±0,02
Glycine	8,36±0,05	12,26±0,40
Glutamate	8,90±0,08	6,98±0,02
Sérine	3,89±0,04	2,56±0,01
Arginine	5,18±0,07	7,27±0,10
Lysine	8,51±0,90	4,42±0,07
Taurine	3,88±0,08	7,69±0,03

■ Toutes les mesures ont été effectuées au Laboratoire régional de Contrôle Qualité et de la Répression des Fraudes d'Oran.

^a. La teneur totale en azote des hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle a été déterminée en utilisant la méthode de Kjeldahl selon la méthode standard 984.13 (AOAC 2000) et les protéines brutes ont été estimées en multipliant la teneur en azote total par le facteur de 6,25.

^b. Les lipides ont été déterminées par gravimétrie après extraction au Soxhlet avec de l'hexane.

^c. L'humidité a été déterminée selon la méthode standard 930,15 (AOAC 2000).

^d. Les cendres ont été déterminées selon la méthode standard 942,05 (AOAC 2000).

^e. La composition en acides aminés a été déterminée par HPLC (Soufleros & Bertrand, 1998).

II. Croissance pondérale, nourriture ingérée, rapport d'efficacité nutritionnelle (REN) et poids relatif des organes

II. 1. Croissance pondérale, nourriture ingérée (Fig. 9) et REN (Tableau VII)

La croissance pondérale reste inchangée chez les trois groupes durant toute la période de l'expérimentation. À la fin de l'expérimentation, le poids corporel, la nourriture ingérée (exprimée en g/j/rat) et le REN sont similaires chez les groupes traités ou non (GT) avec les hydrolysats de protéines de sardine (HPS) et de sardinelle (HPA).

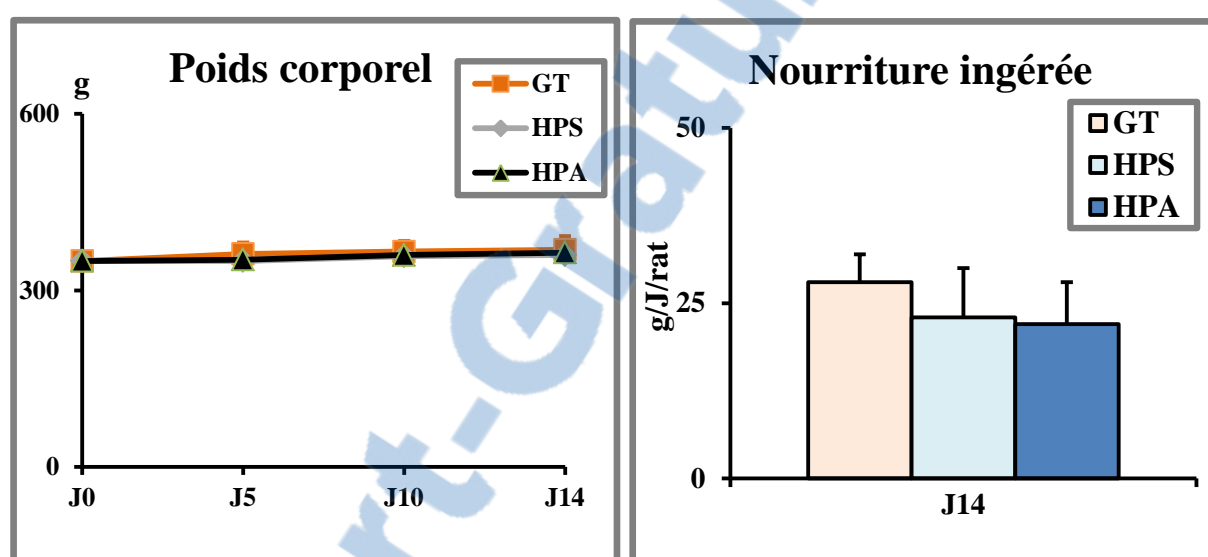


Fig. 9. Croissance pondérale et nourriture ingérée des animaux.

Tableau VII. Poids des rats et REN

	GT	HPS	HPA
Poids des rats (g)	357,02±47,00	352,89±42,09	352,65±51,21
REN	0,25±0,04	0,21±0,02	0,19±0,06

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

$$\text{REN} = \frac{\text{Nourriture ingérée pour obtenir ce gain de poids (g)}}{\text{Gain de poids (g)}}$$

II. 2. Poids relatif des organes (Tableau VIII)

Le poids relatif (PR) des organes (foie, cœur, muscle gastrocnémien et tissu adipeux épидидymaire), exprimé en g/100 g rat, qui informe sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier, montre que le PR du foie est respectivement, 1,3- et 1,4-fois plus faible chez les groupes traités **HPS** et **HPA**, comparés au **GT**. Cependant, les PR du cœur et du muscle gastrocnémien sont similaires chez les groupes **HPS**, **HPA** et **GT**. Tandis que, le PR du tissu adipeux épидидymaire est 1,3-fois plus faible chez le groupe **HPA**, alors qu'il reste inchangé chez le groupe **HPS**.

Tableau VIII. Poids relatif des différents organes

(g/100 g rat)	GT	HPS	HPA
Foie	3,98±0,13 ^a	3,03±0,28 ^b	2,87±0,42 ^b
Cœur	0,28±0,03	0,29±0,02	0,29±0,06
Muscle gastrocnémien	0,44±0,05	0,47±0,06	0,47±0,11
Tissu adipeux épидидymaire	1,39±0,22 ^a	1,24±0,23 ^a	1,05±0,14 ^b

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

$$\text{Poids relatif (PR)} = \frac{\text{Poids de l'organe (g)}}{\text{Poids du rat (g)}} \times 100$$

III. Activités alanine (ALAT) et aspartate (ASAT) aminotransférase (Tableau IX)

Les transaminases ALAT et ASAT, sont des marqueurs important du fonctionnement hépatique et musculaire. Leurs rôles est le transfert d'amines lors de nombreux processus métaboliques et chimiques qui se déroulent dans les cellules. En effet, elles jouent un rôle important dans le métabolisme intermédiaire des acides aminés. Leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque et musculaire.

Après 14 jours de traitement, les activités ALAT et ASAT sont respectivement, diminuées de (-39,5% et -36%) et (-50% et -47%), chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement, comparés au groupe témoin.

Tableau IX. Teneurs sériques en transaminases

	GT	HPS	HPA
Sérum (U/L)			
ALAT	37,80±1,70 ^a	22,85±0,20 ^b	18,85±0,70 ^c
ASAT	55,40±2,30 ^a	35,50±1,40 ^b	29,50±2,10 ^c

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

IV. Métabolisme lipidique

IV. 1. Teneurs en protéines totales et en lipides totaux du foie (Fig. 10)

Après 14 jours de traitement, les teneurs en protéines totales (PT) sont respectivement, 1,9- et 1,6-fois plus élevées chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**, alors que, les lipides totaux (LT) sont 1,3-fois plus faibles chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de poisson comparés au groupe non traité.

Après 14 jours d'expérimentation, le rapport masse grasse/masse maigre (MG/MM) est 1,4-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe non traité.

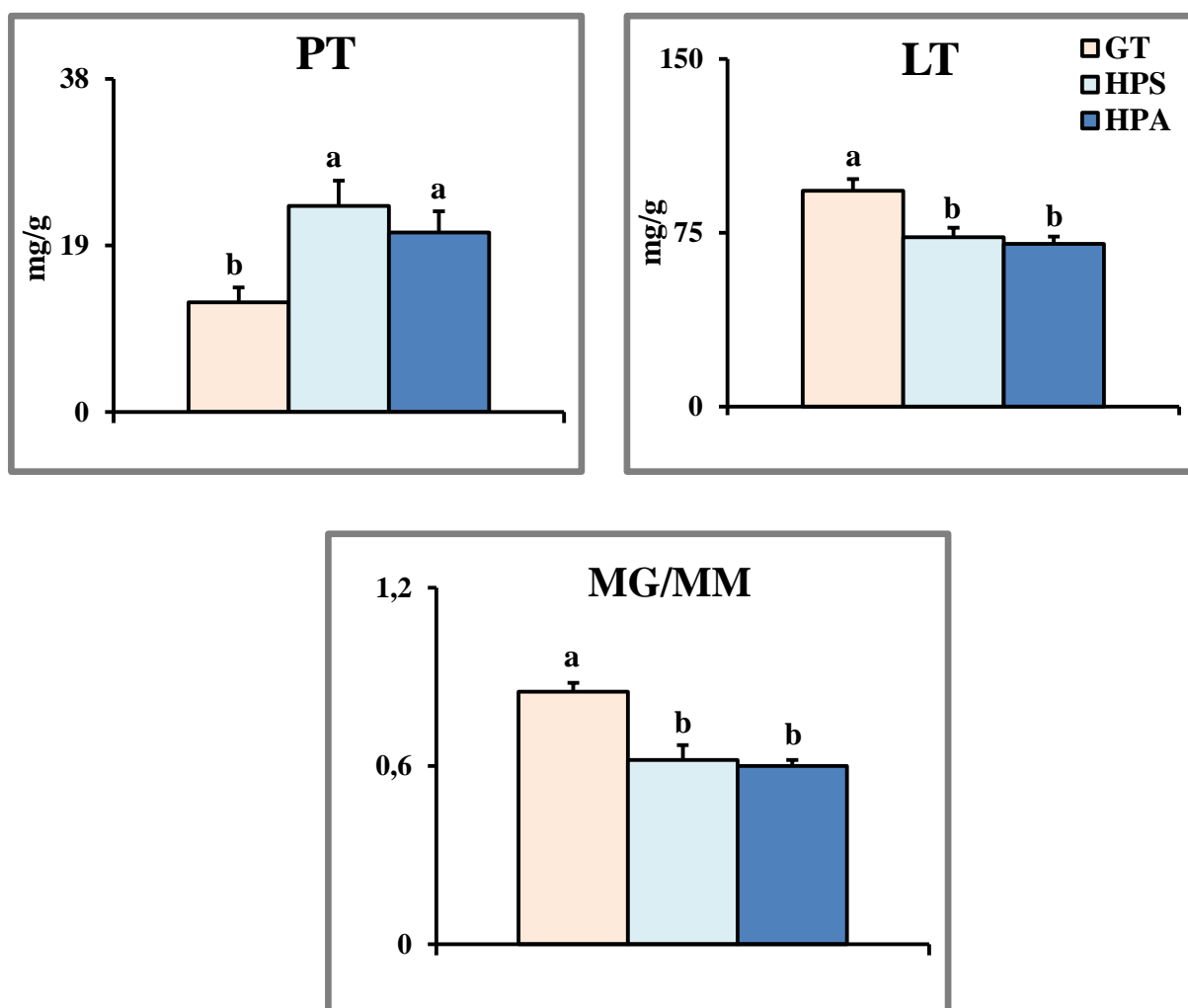


Fig. 10. Teneurs hépatiques en protéines totales et en lipides totaux.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

PT : Protéines totales, **LT** : Lipides totaux. **MG/MM** : masse grasse/masse maigre.

$$\text{Masse grasse/Masse maigre du foie (g/g X100)} = \frac{\text{Masse des lipides (g/foie)}}{\text{Masse des non lipides (g/foie)}} \times 100$$

$$\text{Masse des non lipides (g/foie)} = \text{Poids du foie} - \text{Masse des lipides.}$$

IV. 2. Paramètres lipidiques et biochimiques

IV. 2. 1. Au niveau hépatique (Fig. 11)

Après 14 jours de traitement, les teneurs en cholestérol total (CT) sont 1,3-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, de même ces teneurs sont diminuées chez le groupe **HPS** comparés au **GT**. Les valeurs du cholestérol libre (CL) sont 1,6-fois plus faibles chez les groupes traités. Par ailleurs, les contenus en triglycérides (TG) et en phospholipides (PL) sont semblables chez les groupes **HPS**, **HPA** et **GT**. Comparés au **GT**, le rapport cholestérol libre/cholestérol estérifié (CL/CE) est respectivement, 1,9- et 1,4-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA**.

IV. 2. 2. Au niveau sérique (Fig. 12)

Au début de l'expérimentation (**J₀**), la valeur du CT sérique ($1,32 \pm 0,11$ mmol/L), augmente respectivement de +60% après 14 jours chez le **GT**. À la fin de l'expérimentation, le contenu en CT est 1,7-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe non traité.

Le contenu en esters de cholestérol (EC) est 1,9-fois plus faible chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle par rapport au **GT**. Tandis que, les teneurs en CL sont respectivement, 1,5- et 1,4-fois plus diminuées chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe témoin.

Au début de l'expérimentation, la teneur en TG ($0,54 \pm 0,08$ mmol/L), augmente après 14 jours d'expérimentation de +48% chez le **GT**. À **J₁₄**, la triglycéridémie est 1,8-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, alors que chez le groupe **HPS** ces valeurs ne présentent aucune différence significative par rapport au **GT**.

Les teneurs en PL augmentent de +33% chez le groupe témoin par rapport à la valeur notée à **J₀** ($1,34 \pm 0,24$ mmol/L). À **J₁₄**, ces valeurs sont similaires chez les trois groupes.

À **J₁₄**, les teneurs en apo A-I (**Tableau X**) sont respectivement, 1,3- et 1,4-fois plus élevées chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**. Alors que, les contenus en apo B sont similaires chez les groupes **HPS**, **HPA** et **GT**.

Foie

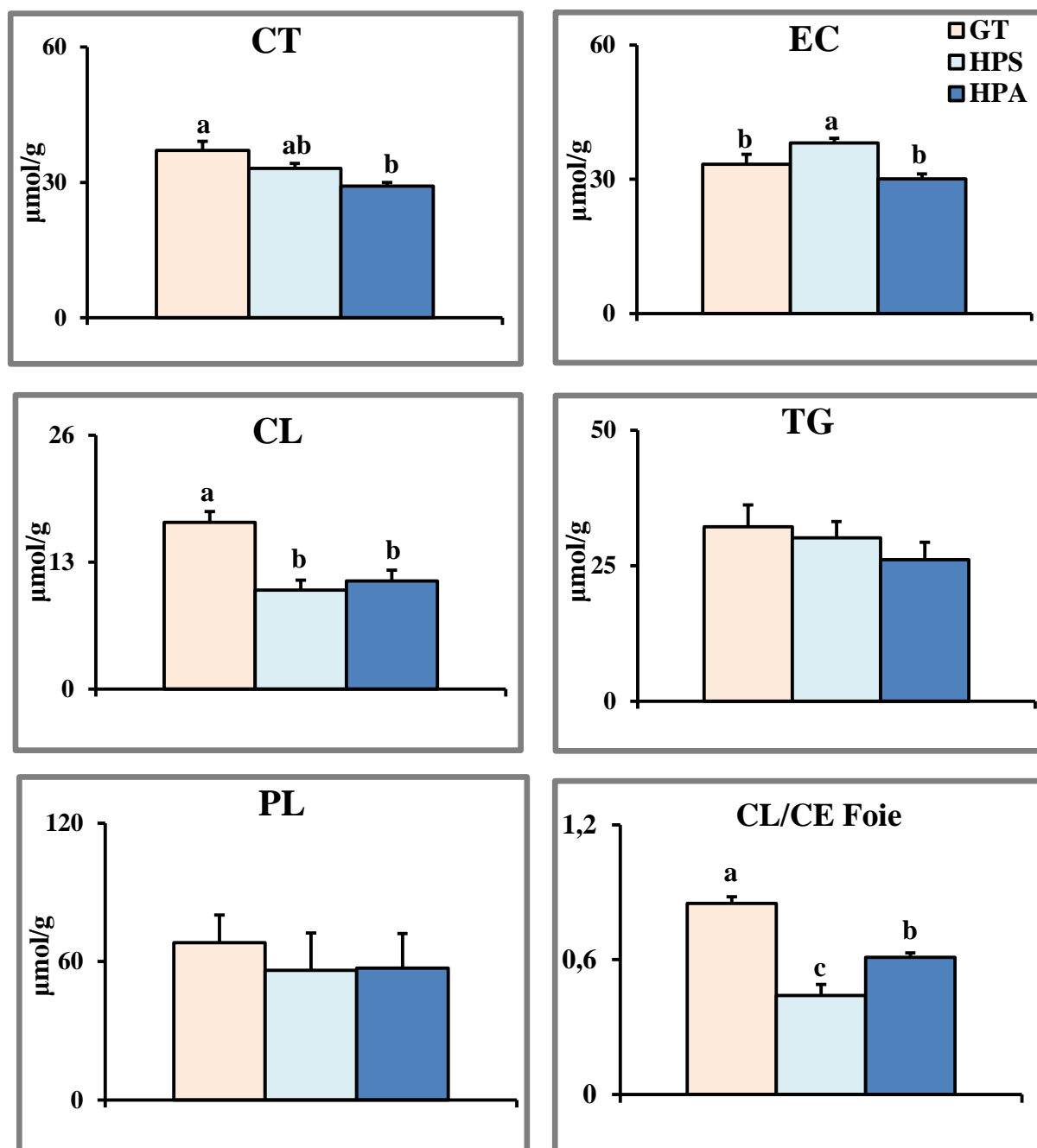


Fig. 11. Teneurs hépatiques des différents lipides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

CT : Cholestérol total, **EC** : Esters de cholestérol, **CL** : Cholestérol libre, **TG** : Triglycérides, **PL** : Phospholipides, **CL/CE** : Cholestérol libre / Cholestérol estérifié.

Tableau X. Teneurs en apolipoprotéines A-I et B

(g/L)	GT	HPS	HPA
Apo A-I	1,06±0,17 ^b	1,34±0,24 ^a	1,45±0,17 ^a
Apo B	0,34±0,06	0,30±0,01	0,31±0,03

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

IV. 2. 3. Acide urique, leptine et insuline (Tableau XI)

Comparés au groupe témoin, le contenu sérique en acide urique (AU) est significativement diminué chez le groupe **HPS** et en particulier chez le groupe **HPA**. En effet, il est 1,4-fois plus faible chez le groupe **HPA** comparé au **GT**.

Après 14 jours de traitement, aucune différence significative n'est notée dans la teneur en leptine chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle.

À **J₁₄**, l'insulinémie est 2,25-fois plus diminuée chez le groupe **HPA**, alors qu'elle reste inchangée chez le groupe **HPS**, comparés au groupe témoin.

Tableau XI. Teneurs sériques en acide urique, leptine et insuline.

	GT	HPS	HPA
Acide urique (μmol/L)	1,79±0,05 ^a	1,62±0,05 ^b	1,29±0,10 ^c
Leptine (Pg/mL)	293±1	300±14	292±6
Insuline (ng/mL)	7,85±1,31 ^a	5,69±2,52 ^a	3,48±1,03 ^b

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Sérum

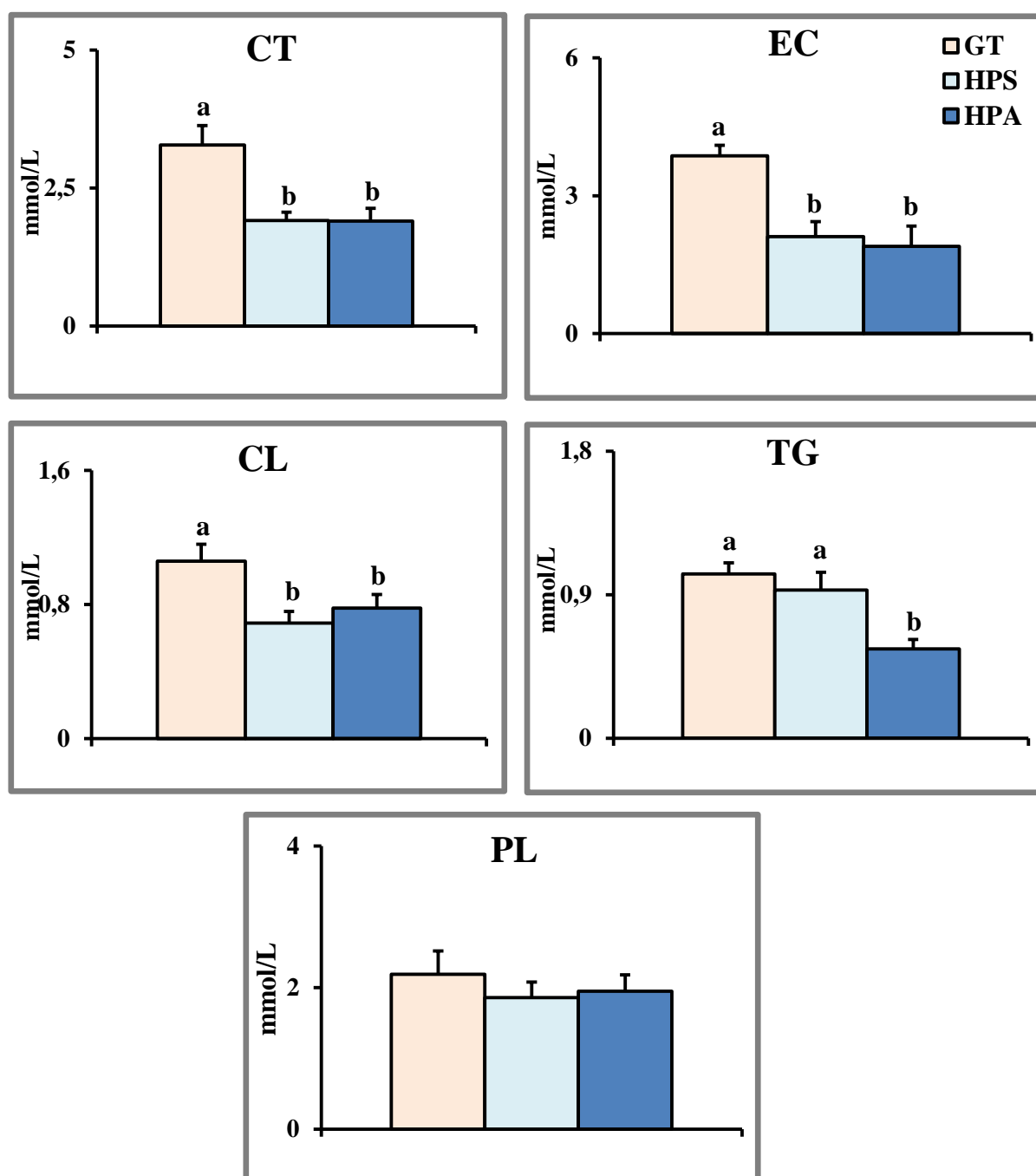


Fig. 12. Teneurs sériques des différents lipides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

IV. 3. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des différentes fractions de lipoprotéines

IV. 3. 1. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL (Fig. 13)

La masse des VLDL (exprimée en g/L), qui représente la somme du contenu en apolipoprotéines (apo), TG, PL, CL et EC des VLDL est respectivement, 1,4- et 1,6-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au groupe témoin.

Les teneurs en apo sont similaires chez les trois groupes. Le contenu en TG est 1,8-fois plus faible chez le groupe **HPA** *versus* **GT**, alors qu'il reste inchangé chez le groupe **HPS**. Tandis que, les teneurs en PL sont respectivement, 1,3- et 1,5-fois plus élevées chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**. Le contenu en CL est 1,3-fois plus faible chez le groupe **HPS** comparé au **GT**, alors qu'il est similaire chez les groupes **HPA** et **GT**. Les valeurs des EC sont respectivement, 2,5- et 1,7-fois plus diminuées chez les groupes traités par rapport au groupe non traité.

IV. 3. 2. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL₁ (Fig. 14)

La masse des LDL-HDL₁ est respectivement, 1,4- et 2,3-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**. Tandis que, les contenus en apo sont similaires chez les groupes **HPS**, **HPA** et **GT**. Comparé au **GT**, les teneurs en TG sont 1,7-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, alors qu'elles sont identiques chez les groupes **HPS** et **GT**. Les teneurs en PL sont respectivement, 1,3- et 2-fois plus faibles chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe témoin. De même, les contenus en CL et en EC sont respectivement diminués de -56% et -28% chez les groupes traités avec les hydrolysats protéiques comparés au groupe hypercholestérolémique non traité.

VLDL

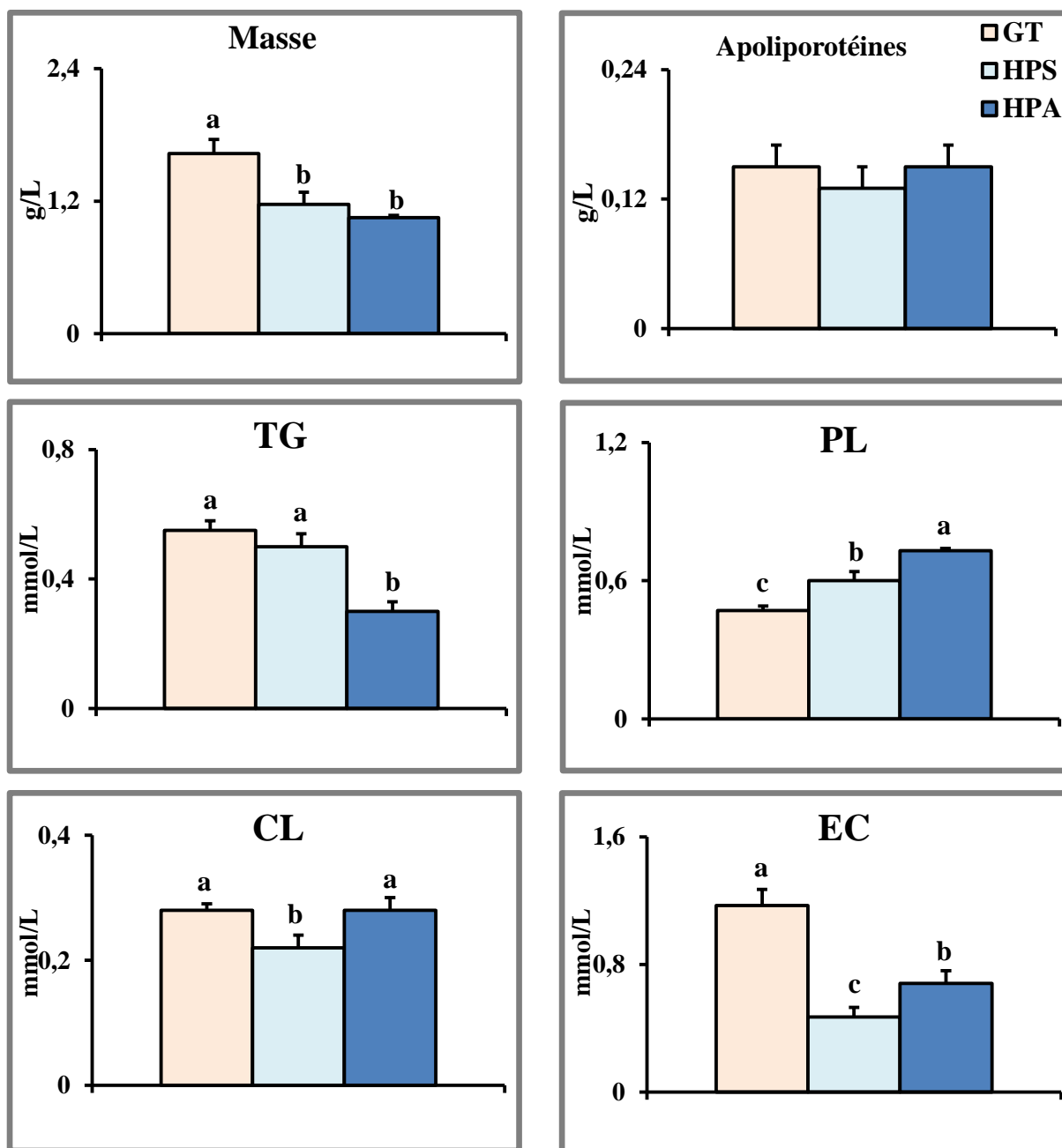


Fig. 13. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL.

LDL-HDL₁

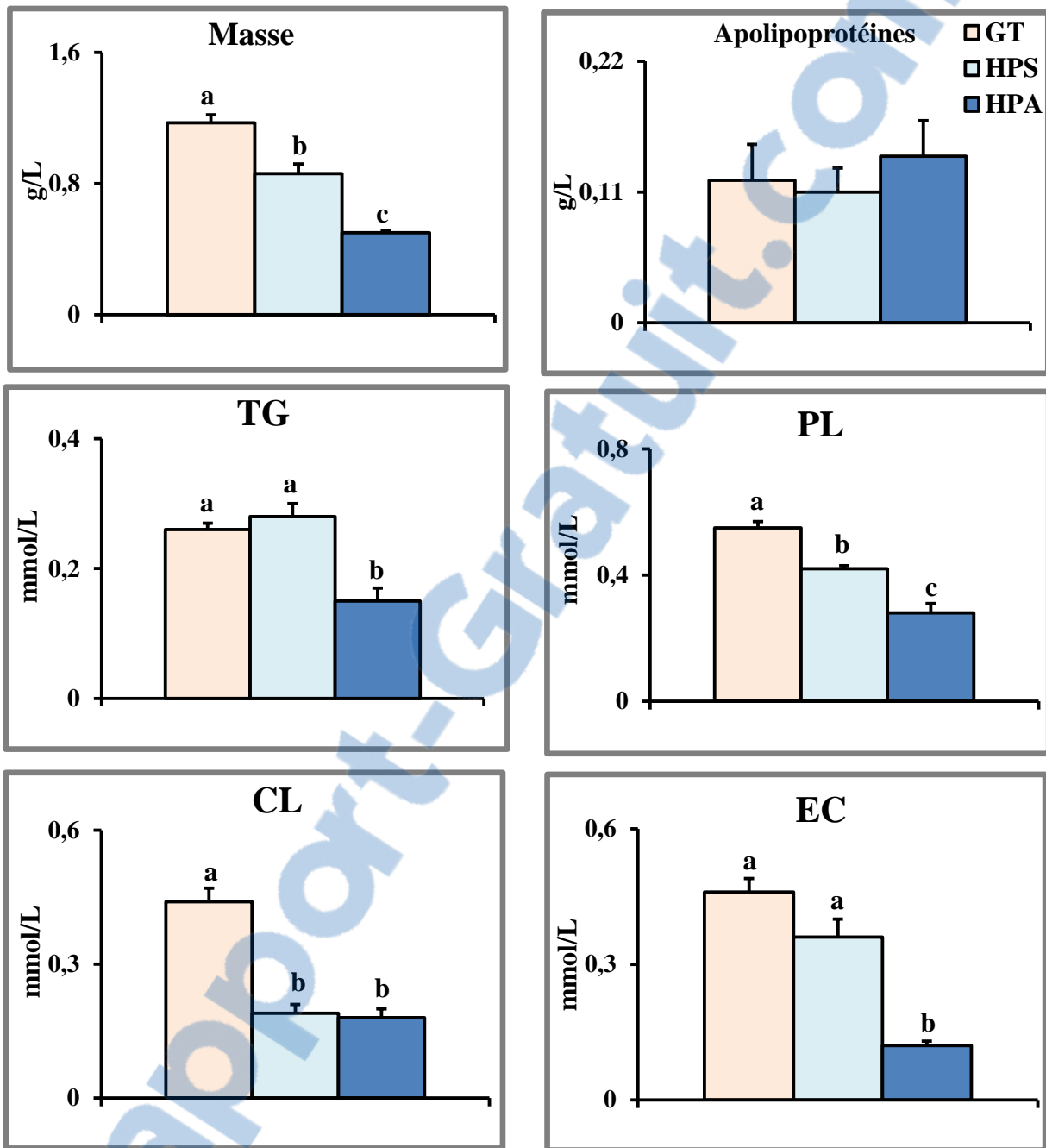


Fig. 14. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL₁.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Masse = Somme des teneurs en apolipoprotéines (apo), triglycérides (TG), phospholipides (PL), cholestérol libre (CL) et esters de cholestérol (EC).

IV. 3. 3. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL₂ (Fig. 15)

Après 14 jours de traitement, une augmentation de la masse des HDL₂ de +25% est notée chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**. De plus, les teneurs en apo sont respectivement, 1,4- et 1,3-fois plus élevées chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**. Les valeurs des TG sont 2,4-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, et restent inchangées chez le groupe **HPS** comparé au **GT**. Les teneurs en PL et en CL sont identiques chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle. Par ailleurs, le contenu en EC est respectivement augmenté de +41% et +33% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au groupe non traité.

IV. 3. 4. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL₃ (Fig. 16)

À **J₁₄**, la masse des HDL₃ est respectivement, 1,7- et 1,4-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA** *versus* **GT**. Les teneurs en apo sont respectivement, 1,3- et 1,5-fois plus augmentées chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**. Les valeurs des TG sont similaires chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle. Les teneurs en PL sont 1,4-fois plus faibles chez le groupe **HPS**, alors qu'elles sont identiques chez les groupes **HPA** et **GT**. Les teneurs en CL sont respectivement diminuées de -55% et -37% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**. De plus, le contenu en EC est 1,5-fois plus faible chez les groupes traités comparés au groupe hypercholestérolémique non traité.

HDL₂

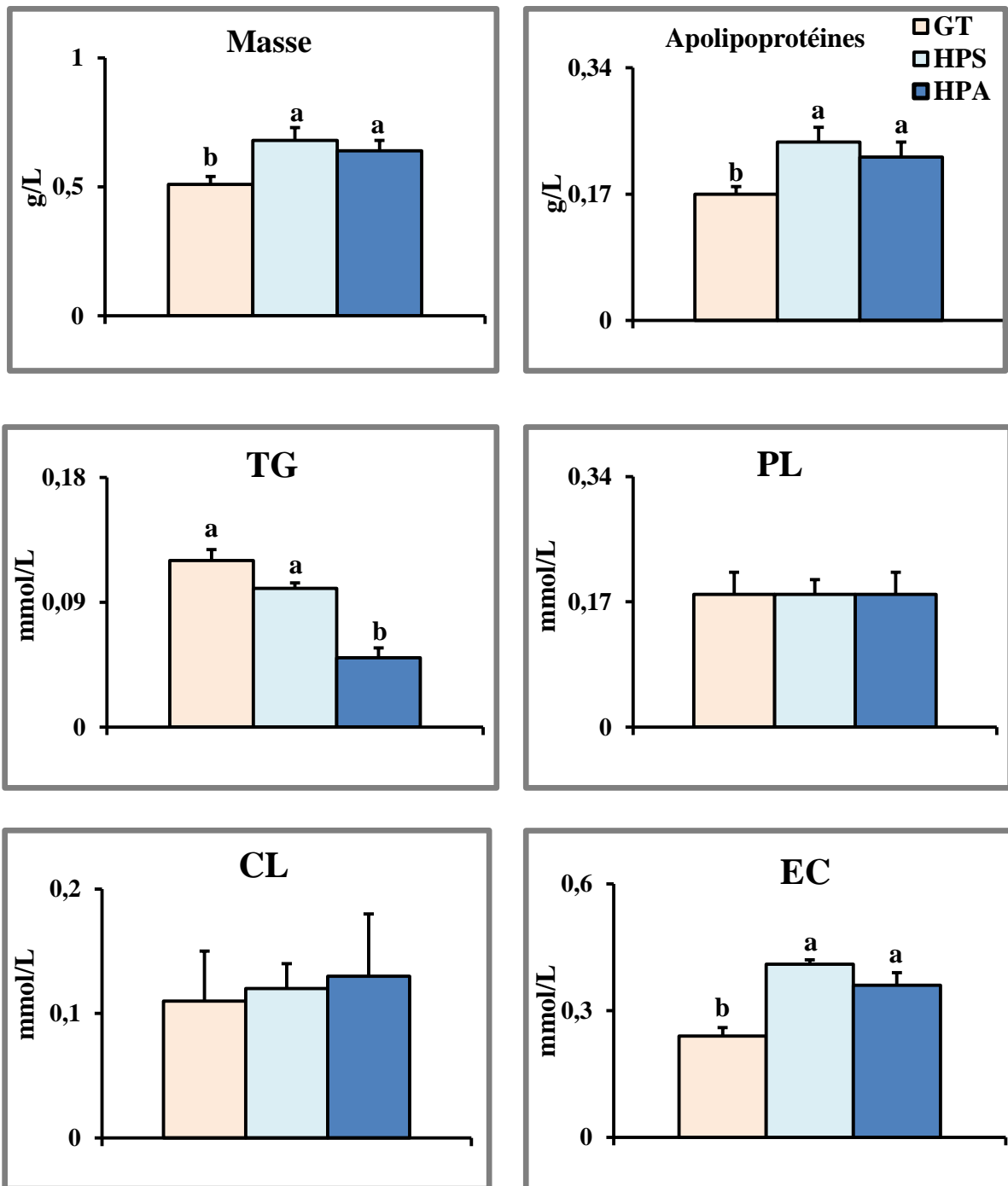


Fig. 15. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL₂.



HDL₃

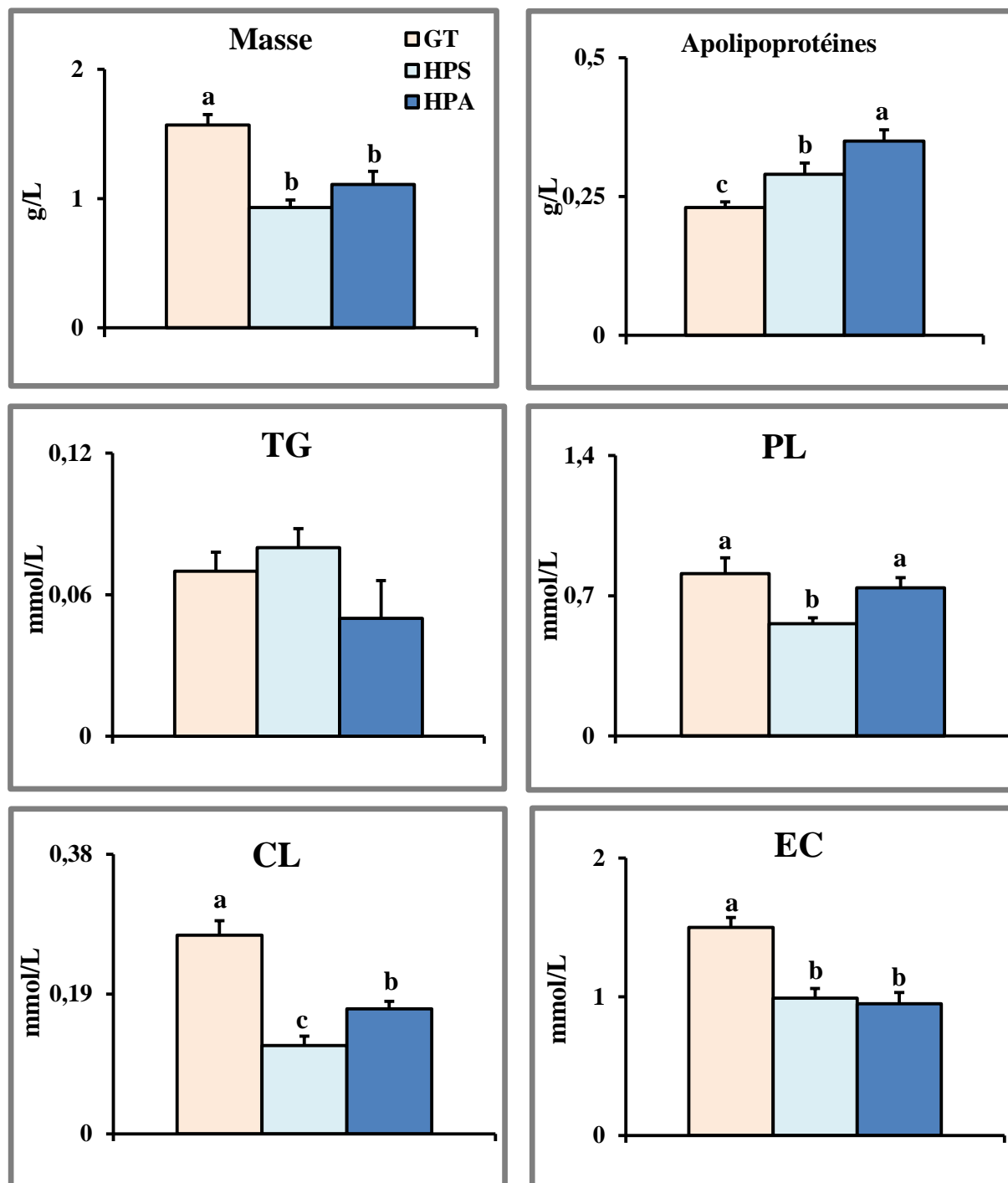


Fig. 16. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL₃.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

IV. 4. Répartition des triglycérides et du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines

IV. 4. 1. Répartition des triglycérides entre les différentes fractions de lipoprotéines (Fig. 17)

La répartition des TG sériques entre les différentes fractions de lipoprotéines, montre que la part la plus importante est celle portée par les VLDL chez les trois groupes d'animaux. Elle représente respectivement, 54%, 52% et 55% chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT**. Avec un pourcentage moins important, les LDL-HDL₁ occupent la deuxième position. La proportion des TG-LDL-HDL₁ est semblable chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT** ; En effet, elle représente respectivement, 28%, 29% et 26%. Les TG portés par les HDL₂ sont identiques chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats. En effet, ils représentent respectivement, 9%, 11% et 12% chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT**. La plus faible part est celle portée par les HDL₃. Les TG-HDL₃ sont semblables chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de poisson. Ils représentent respectivement, 9%, 8% et 7% chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT**.

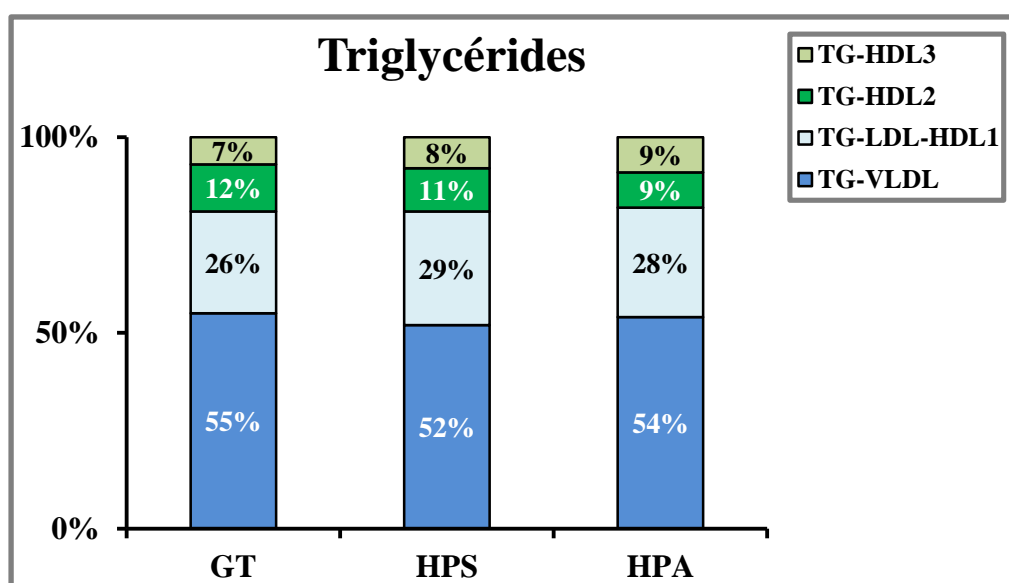


Fig. 17. Répartition des triglycérides entre les différentes fractions de lipoprotéines.

IV. 4. 2. Répartition du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines (Fig. 18)

À J₁₄, la répartition du CT sérique entre les différentes fractions de lipoprotéines, montre que la plus grande proportion est portée par les HDL (HDL₂ + HDL₃). Cette proportion est 1,3-fois plus élevée chez les groupes traités par rapport au groupe non traité. En effet, elle représente respectivement, 54%, 52% et 40% chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT**. La proportion du CT des VLDL est similaire chez les groupes traités on non avec les hydrolysats de protéines de poisson. En effet, elle représente respectivement, 35%, 36% et 36% chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT**. La proportion portée par LDL-HDL₁ est 2-fois plus faible chez les groupes traités par rapport au groupe non traité. En effet, les valeurs représentent respectivement, 11%, 12% et 24% chez les groupes **HPA**, **HPS** et **GT**.

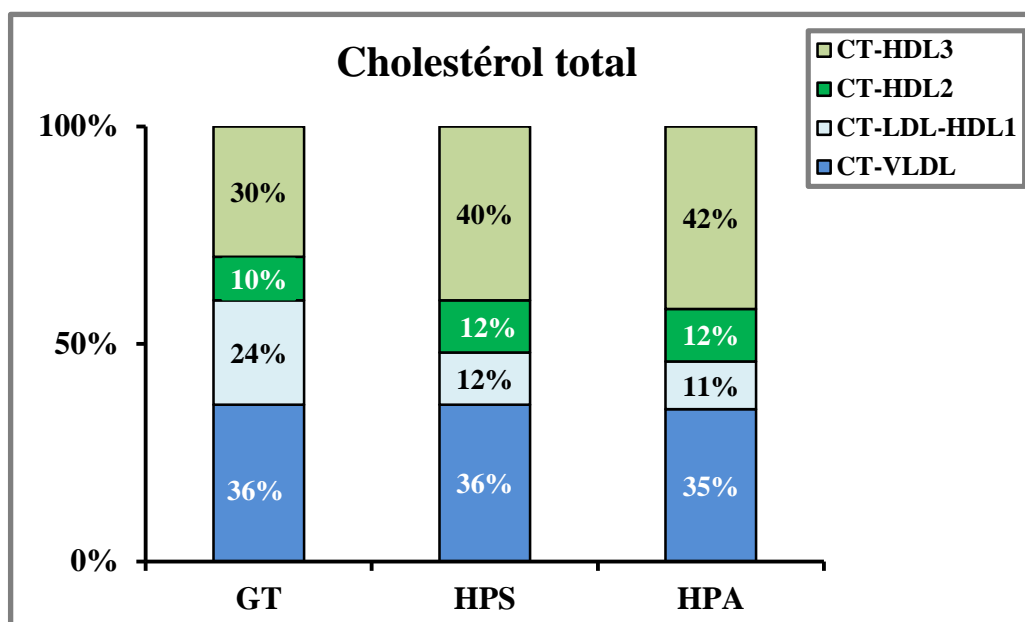


Fig. 18. Répartition du cholestérol total entre les différentes fractions de lipoprotéines.

IV. 5. Rapports d'athérogénicité (Tableau XII)

À J₁₄, le rapport CT/C- HDL₂+C-HDL₃ est significativement plus faible chez les groupes traités comparés au groupe non traité. Le rapport C-LDL-HDL₁/C-HDL₂+C-HDL₃ est

2,4-fois plus faible chez le groupe **HPA**, alors qu'il reste inchangé chez le groupe **HPS** comparé au **GT**. Tandis que, le rapport Apo B/Apo A-I est 1,5-fois plus diminué chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe témoin hypercholestérolémique.

Tableau XII. Rapports d'athérogénicité.

	GT	HPS	HPA
CT/C-HDL₂+C-HDL₃	2,36±0,12 ^a	2,02±0,03 ^b	1,95±0,33 ^b
C-LDL-HDL₁/C-HDL₂+C-HDL₃	0,50±0,07 ^a	0,49±0,07 ^a	0,21±0,03 ^b
Apo B/Apo A-I	0,32±0,02 ^a	0,22±0,06 ^b	0,21±0,04 ^b

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

IV. 6. Activité lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT, EC 2. 3. 1. 43) (Tableau XIII)

Après 14 jours de traitement, l'activité LCAT est respectivement, augmentée de +41% et +39% chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**. Les teneurs en apo-HDL₃, dont l'apo majeur est l'apo A-I, qui est le cofacteur activateur de la LCAT, sont respectivement, 1,3- et 1,5-fois plus élevées chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**. Une diminution significative des teneurs en CL-HDL₃, qui est l'accepteur du groupement acyl de la lécithine, est notée chez les groupes **HPS** (-55,5%) et **HPA** (-37%) par rapport au **GT**. Le contenu en PL des HDL₃, qui est le substrat de la LCAT, est 1,4-fois plus diminué chez le groupe **HPS**, alors qu'il est similaire chez les groupes **HPA** et **GT**. Le contenu en EC-HDL₂, qui est le produit de la réaction enzymatique, est respectivement augmenté de +41% et +33% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**.

Tableau XIII. Activité lécithine : cholestérol acyltransférase et teneurs en apo-HDL₃, CL-HDL₃, PL-HDL₃ et EC-HDL₂.

	GT	HPS	HPA
LCAT (nmol/mL/h de sérum)	69,14±7,80 ^b	118,04±11,34 ^a	113,48±11,27 ^a
Apo-HDL₃ (g/L)	0,23±0,01 ^c	0,29±0,02 ^b	0,34±0,04 ^a
CL-HDL₃ (mmol/L)	0,27±0,11 ^a	0,12±0,03 ^c	0,17±0,02 ^b
PL-HDL₃ (mmol/L)	0,81±0,19 ^a	0,56±0,04 ^b	0,74±0,10 ^a
EC-HDL₂ (mmol/L)	0,24±0,02 ^c	0,41±0,01 ^a	0,36±0,03 ^b

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. Le statut Oxydant/Antioxydant

V. 1. La peroxydation lipidique

V. 1. 1. Les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

V. 1. 1. 1. Au niveau sérique, urinaire, érythrocytaire et des lipoprotéines (Tableau XIV)

- **Sérum**

À **J₁₄**, les teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont réduites chez le groupe **HPA**, alors qu'elles sont identiques chez groupes **HPS** et **GT**.

- **Lipoprotéines**

Après 14 jours d'expérimentation, le contenu en TBARS des VLDL est respectivement, 1,2- et 1,4-fois plus faible chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**. Tandis que celles des LDL-HDL₁ sont 1,4-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, alors qu'elles restent inchangées chez le groupe **HPS** versus **GT**. Au niveau des HDL₂, elles sont 1,3-fois plus diminuées chez le groupe **HPA** comparé au **GT**, alors que le contenu en TBARS

des HDL₃ est respectivement, 2,3- et 2,5-fois plus diminué chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe hypercholestérolémique.

- **Érythrocytes**

À **J₁₄**, le contenu en TBARS est respectivement, 1,3- et 1,5-fois plus faible chez les groupes traités **HPS** et **HPA** par rapport au groupe témoin.

Tableau XIV. Teneurs sériques, lipoprotéiques et érythrocytaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique.

($\mu\text{mol/mL}$)	GT	HPS	HPA
Sérum	8,60 \pm 0,39 ^a	8,23 \pm 0,13 ^a	7,39 \pm 0,21 ^b
Lipoprotéines			
VLDL	4,94 \pm 0,24 ^a	4,05 \pm 0,06 ^b	3,49 \pm 0,28 ^b
LDL-HDL₁	4,97 \pm 0,50 ^a	4,64 \pm 0,06 ^a	3,51 \pm 0,17 ^b
HDL₂	3,91 \pm 0,04 ^a	3,74 \pm 0,04 ^b	2,88 \pm 0,08 ^c
HDL₃	5,38 \pm 0,08 ^a	2,33 \pm 0,08 ^b	2,13 \pm 0,04 ^c
Érythrocytes	11,89 \pm 0,28 ^a	8,87 \pm 0,25 ^b	8,01 \pm 0,37 ^b

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 1. 1. 2. Au niveau tissulaire (Tableau XV)

- **Cœur**

À **J₁₄**, les teneurs en TBARS sont respectivement réduites de -72% et -82% chez les groupes traités **HPS** et **HPA** par rapport au groupe non traité.

- **Aorte**

À **J₁₄**, les teneurs en TBARS sont respectivement diminuées de -35,5% et -39% chez les groupes **HPS** et **HPA** versus **GT**.

- **Foie**

Le contenu en TBARS est respectivement diminué de -68% et - 48% après 14 jours de traitement, chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Muscle gastrocnémien**

Après 14 jours d'expérimentation, le contenu en TBARS est respectivement réduit de -29% et -63,6% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au groupe témoin.

Tableau XV. Teneurs tissulaires en substances réactives à l'acide thiobarbiturique.

(mmol/g)	GT	HPS	HPA
Cœur	0,178±0,004 ^a	0,050±0,001 ^b	0,032±0,005 ^c
Aorte	0,031±0,002 ^a	0,020±0,003 ^b	0,019±0,001 ^b
Foie	0,130±0,020 ^a	0,041±0,004 ^c	0,067±0,003 ^b
Muscle gastrocnémien	0,110±0,010 ^a	0,078±0,013 ^b	0,040±0,013 ^c

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 1. 2. Les hydroperoxydes

V. 1. 2. 1. Au niveau sérique, érythrocytaire et des lipoprotéines (Tableau XVI)

- **Sérum**

Au début de l'expérimentation (**J₀**), la teneur en hydroperoxydes sériques (0,32±0,08 mmoles Eq CuOOH/mL) augmente (1,8-fois) après 14 jours, chez le **GT**. À la fin de l'expérimentation, le contenu en hydroperoxydes est 1,3-fois plus réduit chez les groupes traités avec les hydrolysats de poisson comparés au groupe non traité.

- **Lipoprotéines**

À **J₁₄**, les teneurs en hydroperoxydes des VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₃ sont respectivement, 2-, 2,5- et 1,3-fois plus faibles chez les groupes traités comparés au groupe hypercholestérolémique non traité. Cependant celles des HDL₂ restent identiques chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle.

- **Érythrocytes**

À **J₁₄**, le contenu en hydroperoxydes est respectivement, 1,3- et 2,2-fois plus faible chez les groupes traités **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

Tableau XVI. Teneurs sériques, lipoprotéiques et érythrocytaires en hydroperoxydes.

(mmoles EqCuOOH/mL)	GT	HPS	HPA
Sérum	0,58±0,05 ^a	0,46±0,04 ^b	0,43±0,10 ^b
Lipoprotéines			
VLDL	0,29±0,04 ^a	0,16±0,01 ^b	0,15±0,01 ^b
LDL-HDL₁	0,19±0,01 ^a	0,08±0,01 ^b	0,07±0,01 ^b
HDL₂	0,07±0,01	0,08±0,01	0,06±0,01
HDL₃	0,21±0,01 ^a	0,16±0,03 ^b	0,17±0,02 ^b
Érythrocytes	1,46±0,08 ^a	1,13±0,11 ^b	0,66±0,06 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 1. 2. 2. Au niveau tissulaire (Tableau XVII)

- **Cœur**

Le contenu en hydroperoxydes est respectivement diminué de -34% et - 46% après 14 jours de traitement, chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au groupe non traité.

- **Aorte**

Après 14 jours de traitement, les valeurs des hydroperoxydes sont respectivement diminuées de -56% et -69% chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe témoin.

- **Foie**

À **J₁₄**, les teneurs en hydroperoxydes sont respectivement diminuées de -63% et -66% chez les groupes traités **HPS** et **HPA** comparés au groupe hypercholestérolémique.

- **Muscle gastrocnémien**

À **J₁₄**, les valeurs des hydroperoxydes sont respectivement réduites de -24% et -40% chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

Tableau XVII. Teneurs tissulaires en hydroperoxydes.

(μ moles Eq CuOOH/g de protéines)	GT	HPS	HPA
Cœur	220,02 \pm 38,51 ^a	145,10 \pm 32,83 ^b	118,91 \pm 42,19 ^b
Aorte	218,66 \pm 15,29 ^a	96,54 \pm 26,96 ^b	68,50 \pm 13,50 ^c
Foie	288,66 \pm 11,20 ^a	106,54 \pm 16,76 ^b	98,50 \pm 10,50 ^b
Muscle gastrocnémien	121,18 \pm 19,66 ^a	91,81 \pm 3,10 ^b	72,99 \pm 10,68 ^c

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 2. Oxydation protéique : les dérivés carbonylés

V. 2. 1. Au niveau sérique et des lipoprotéines (Tableau XVIII)

- **Sérum**

À **J₀**, l'oxydation protéique sérique exprimée par le dosage des dérivés carbonylés (0,36 \pm 0,10 nmol/mg) augmente (1,30 \pm 0,07 nmol/mg) après 14 jours d'expérimentation, chez

le **GT**. À la fin de l'expérimentation, les carbonyles sont 1,4-fois plus faibles chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle comparés au groupe témoin non traité.

- **Lipoprotéines**

Une diminution significative (1,8-fois) du contenu en carbonyles des VLDL est notée après 14 jours de traitement, chez les groupes traités avec les hydrolysats protéiques comparés au **GT**. De même, ceux des LDL-HDL₁ sont 1,3-fois plus faibles chez les groupes traités par rapport au **GT**. De plus, les valeurs des carbonyles des HDL₂ et des HDL₃ sont respectivement, (2,3- et 2-fois) et (3,2- et 2,5-fois) plus réduites chez les groupes traités **HPS** et **HPA**, respectivement comparés au groupe témoin.

Tableau XVIII. Teneurs sériques et lipoprotéiques en carbonyles.

(nmol/mg de protéines)	GT	HPS	HPA
Sérum	1,30±0,07 ^a	0,92±0,06 ^b	0,90±0,05 ^b
Lipoprotéines VLDL	0,44±0,12 ^a	0,25±0,09 ^b	0,24±0,08 ^b
LDL-HDL₁	0,28±0,03 ^a	0,22±0,03 ^b	0,21±0,01 ^b
HDL₂	0,16±0,03 ^a	0,07±0,03 ^b	0,05±0,04 ^b
HDL₃	0,38±0,08 ^a	0,19±0,06 ^b	0,15±0,06 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 2. 2. Au niveau tissulaire (Tableau XIX)

- **Cœur**

Après 14 jours de traitement, le contenu en carbonyles est respectivement réduit de - 51% et -55% chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe hypercholestérolémique.



- **Aorte**

Les teneurs en carbonyles sont 1,35-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, après 14 jours de traitement, alors qu'elles restent inchangées chez les groupes **HPS** et **GT**.

- **Foie**

À **J₁₄**, le contenu en carbonyles est diminué de -60% chez les groupes traités comparés au groupe témoin non traité.

- **Muscle gastrocnémien**

À **J₁₄**, les teneurs en carbonyles sont respectivement, 2,7- et 3,2-fois plus faibles chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

Tableau XIX. Teneurs tissulaires en carbonyles.

(nmol/ng)	GT	HPS	HPA
Cœur	79,07±11,21 ^a	38,44±15,90 ^b	35,42±11,18 ^b
Aorte	131,55±15,51 ^a	118,81±11,95 ^a	97,31±10,64 ^b
Foie	124,94±8,85 ^a	50,21±2,73 ^b	51,46±4,31 ^b
Muscle gastrocnémien	66,22±8,30 ^a	24,03±4,82 ^b	20,26±3,60 ^b

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 3. Teneurs en monoxyde d'azote (Tableau XX)

- **Sérum**

Après 14 jours de traitement, le contenu en monoxyde d'azote (NO) est respectivement, 1,3- et 1,4-fois plus diminué chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Érythrocytes**

Une diminution significative (1,7-fois) est notée après 14 jours d'expérimentation, chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle comparés au **GT**.

- **Cœur**

Les teneurs en NO est respectivement, 1,6- et 1,9-fois plus réduites chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Aorte**

À **J₁₄**, les teneurs en NO sont 1,5-fois plus faibles chez le groupe **HPA**, alors qu'elles sont identiques chez les groupes **HPS** et **GT**.

- **Foie**

À **J₁₄**, les teneurs en NO sont diminuées de - 66% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au groupe hypercholestérolémique.

- **Muscle gastrocnémien**

Après 14 jours d'expérimentation, le contenu en NO est respectivement diminué de - 48% et -68% chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au groupe témoin.

Tableau XX. Teneurs en monoxyde d'azote.

	GT	HPS	HPA
Sérum (μmol/mL)	5,49±0,81 ^a	4,22±0,75 ^b	4,09±0,66 ^b
Érythrocytes (μmol/mL)	19,30±2,14 ^a	12,08±1,63 ^b	10,08±1,63 ^b
Tissus (μmol/mg de protéines)			
Cœur	129,60±9,95 ^a	82,52±9,11 ^b	68,76±7,51 ^c
Aorte	19,45±3,12 ^a	18,72±2,42 ^a	12,99±2,23 ^b
Foie	88,45±9,41 ^a	32,76±6,54 ^b	28,34±6,22 ^b
Muscle gastrocnémien	69,25±11,26 ^a	36,20±5,14 ^b	22,20±5,14 ^c

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 4. Systèmes antioxydants enzymatiques

V. 4. 1. Activité paraoxonase (Fig. 19)

Après 14 jours de traitement, l'activité paraoxonase est respectivement, 1,3- et 1,8- fois plus élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**.

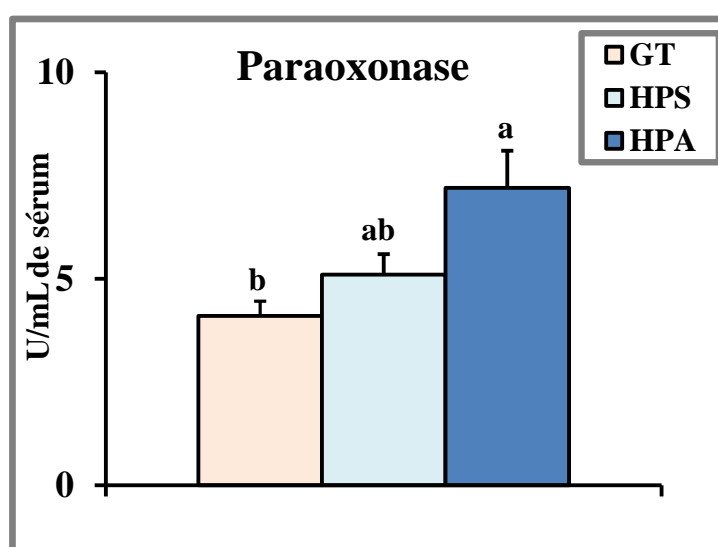


Fig. 19. Activité paraoxonase.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

V. 4. 2. Activité catalase érythrocytaire et tissulaire (Fig. 20)

- **Érythrocytes**

L'activité catalase (CAT) est significativement élevée chez le groupe **HPS** et en particulier chez le groupe **HPA**. En effet, elle est 1,5-fois plus élevée après 14 jours de traitement, chez le groupe **HPA** comparé au groupe témoin.

- **Cœur**

Après 14 jours d'expérimentation, l'activité CAT est significativement élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Aorte**

Après 14 jours d'expérimentation, l'activité CAT est respectivement, 1,2- et 1,3-fois plus augmentée chez les groupes traités comparés au groupe hypercholestérolémique.

- **Foie**

À **J₁₄**, l'activité CAT est respectivement, 1,2- et 1,3-fois plus élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** *versus* **GT**.

- **Muscle gastrocnémien**

À **J₁₄**, aucune différence significative n'est notée dans l'activité CAT chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle.

V. 4. 3. Activité superoxydes dismutase érythrocytaire et tissulaire (Fig. 21)

- **Érythrocytes**

Comparé au groupe témoin, l'activité superoxydes dismutase (SOD) est 1,4-fois plus élevée chez le groupe **HPA**, alors qu'elle reste inchangée chez le groupe **HPS**.

- **Cœur**

À **J₁₄**, l'activité SOD est respectivement augmentée de +40% et +16% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**.

- **Aorte**

L'activité SOD est respectivement augmentée de +15% et +67% chez les groupes traités **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Foie**

L'activité SOD est respectivement, 1,3- et 1,5-fois plus élevée après 14 jours chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

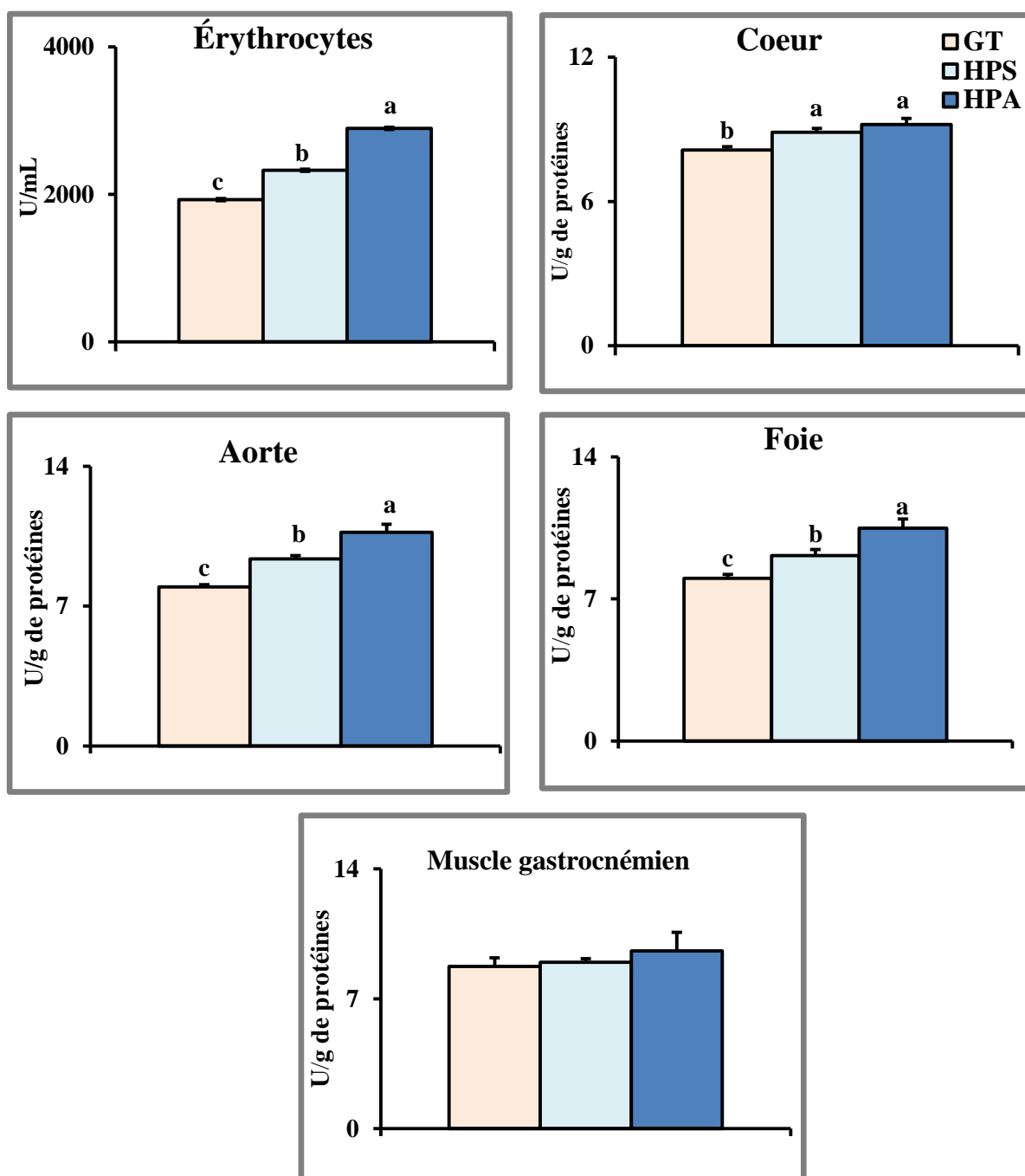


Fig. 20. Activité catalase érythrocytaire et tissulaire.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

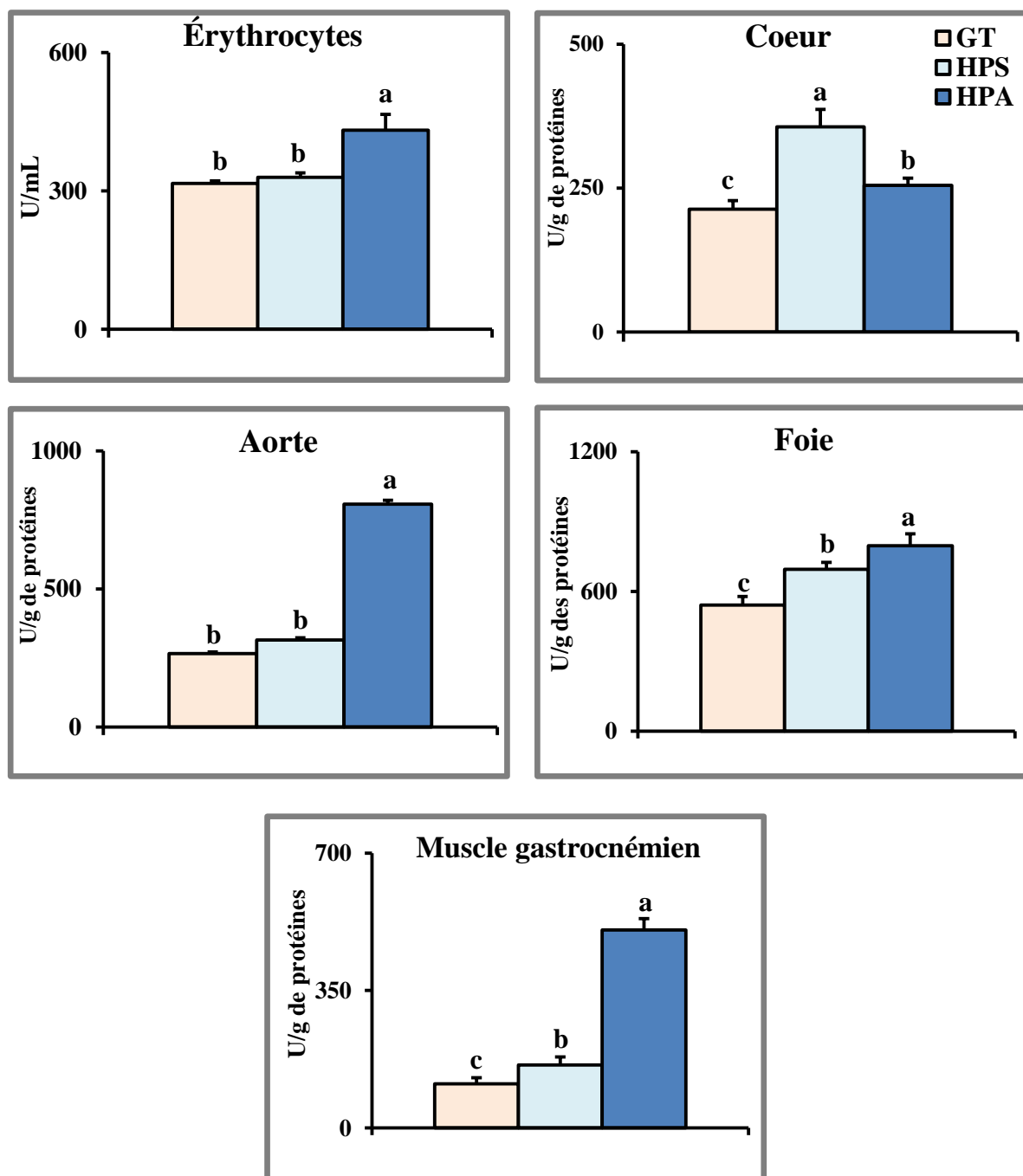


Fig. 21. Activité superoxydes dismutase érythrocytaire et tissulaire.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

- **Muscle gastrocnémien**

L'activité SOD est respectivement augmentée de +30% et +78% après 14 jours de traitement chez les groupes traités **HPS** et **HPA** comparés au groupe témoin non traité.

V. 4. 4. Activité glutathion peroxydase érythrocytaire et tissulaire (Fig. 22)

- **Érythrocytes**

Après 14 jours d'expérimentation, l'activité glutathion peroxydase (GSH-Px) est respectivement augmentée de +36% et +40% chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**.

- **Cœur**

Aucune différence significative n'est notée dans l'activité GSH-Px après 14 jours d'expérimentation chez les groupes traités ou non avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle.

- **Aorte**

L'activité GSH-Px est respectivement augmentée de +40% et +25,6% après 14 jours de traitement chez les groupes **HPS** et **HPA** par rapport au **GT**.

- **Foie**

À **J₁₄**, l'activité GSH-Px est augmentée de +55% chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de poisson comparés au groupe non traité.

- **Muscle gastrocnémien**

À **J₁₄**, l'activité GSH-Px est augmentée de +61% chez les groupes traités comparés au groupe non traité.

V. 4. 5. Activité glutathion réductase érythrocytaire et tissulaire (Fig. 23)

- **Érythrocytes**

Après 14 jours de traitement, l'activité glutathion réductase (GSSH-Red) est respectivement, 1,5- et 1,9-fois plus élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

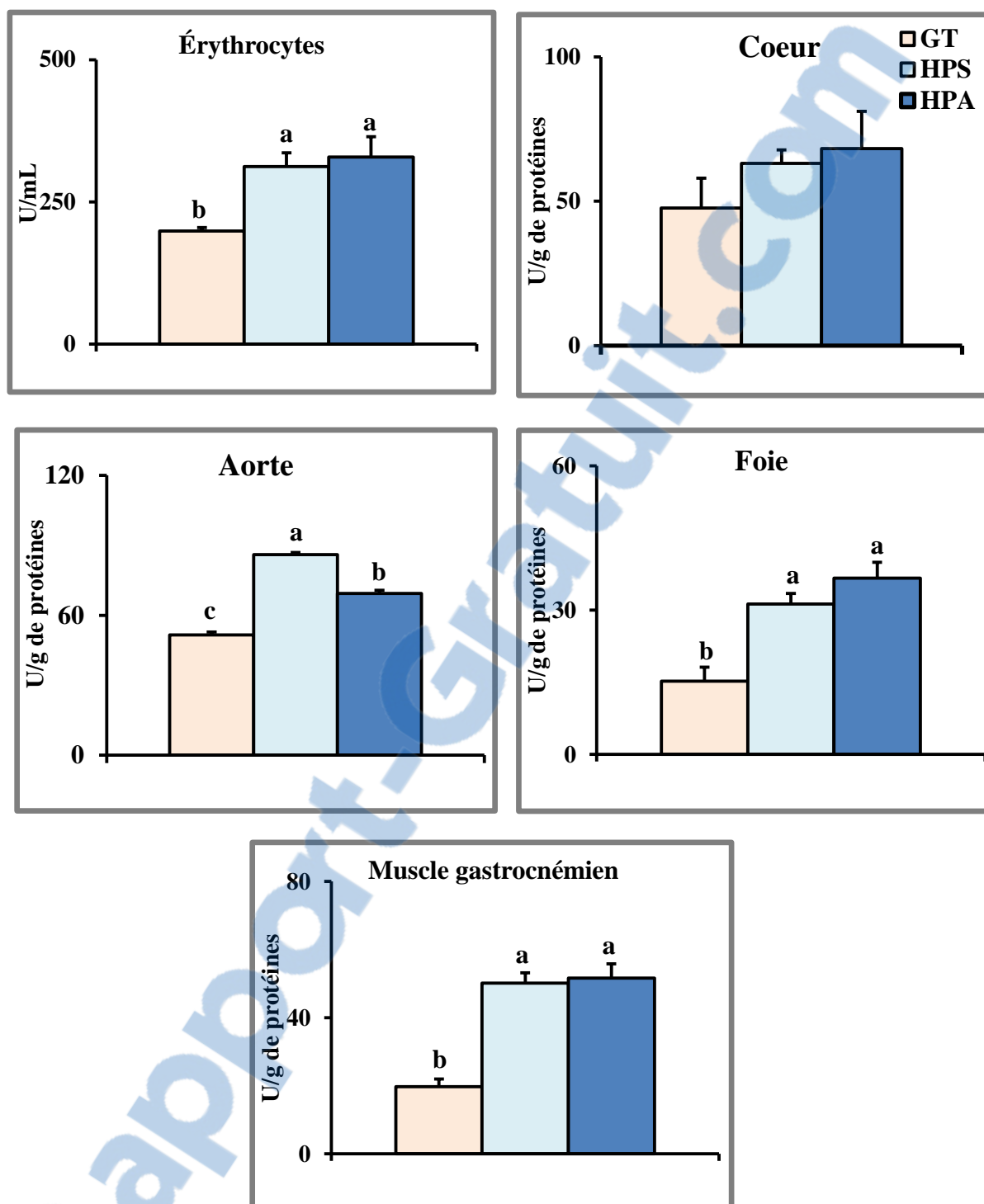


Fig. 22. Activité glutathion peroxydase érythrocytaire et tissulaire.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

- **Cœur**

Comparé au groupe témoin, l'activité GSSH-Red est 1,6-fois plus élevée chez le groupe **HPA**, alors qu'elle reste inchangée chez le groupe **HPS**.

- **Aorte**

Après 14 jours de traitement, l'activité GSSH-Red est respectivement, 2- et 1,4-fois plus élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Foie**

Une augmentation significative (2- et 3-fois) de l'activité GSSH-Red est respectivement notée chez les groupes traités **HPS** et **HPA** comparés au **GT**.

- **Muscle gastrocnémien**

Comparé au **GT**, l'activité GSSH-Red est 2,4-fois plus élevée chez le groupe **HPA**, alors qu'elle reste similaire chez le groupe **HPS**.

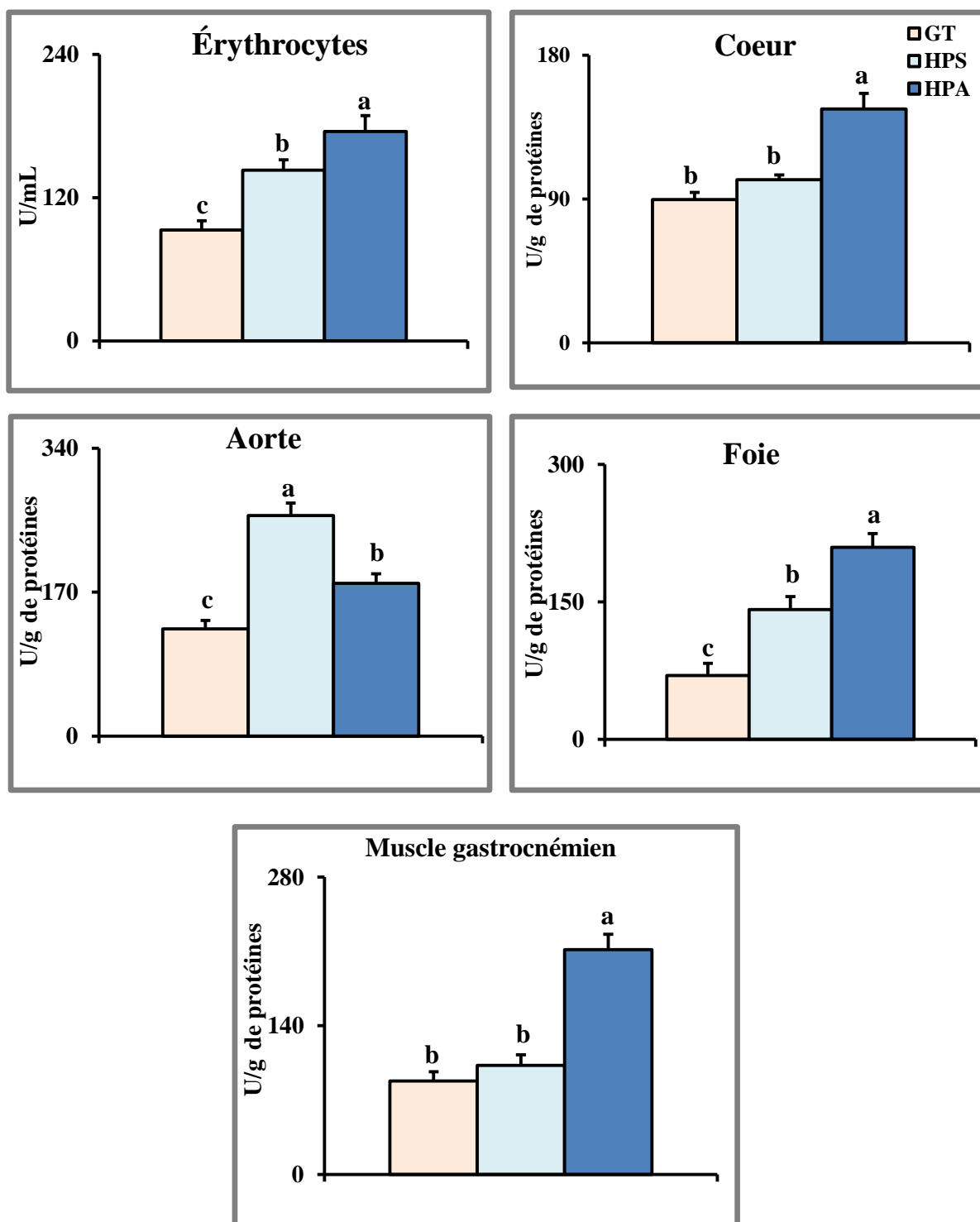


Fig. 23. Activité glutathion réductase érythrocytaire et tissulaire.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a, b, c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin

*hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.*

DISCUSSION

De nombreuses études ont rapporté *in vivo* les effets bénéfiques des protéines de poisson sur le métabolisme des lipides, en particulier celui du cholestérol, et sur le statut antioxydant. Néanmoins, la plupart des études ont réalisé leurs expérimentations pendant 1 mois au minimum. L'intérêt de ce travail est d'évaluer chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol, si l'administration des hydrolysats de protéines de sardine (*Sardina pilchardus*) (**HPS**) et de sardinelle (*Sardinella aurita*) (**HPA**) peut améliorer à une faible dose et à court terme la cholestérolémie et le statut antioxydant.

Dans ce travail, on a d'abord évalué l'effet des **HPS** et des **HPA** sur l'efficacité nutritionnelle du régime hypercholestérolémique administré au cours de l'expérimentation.

Nos résultats montrent que le poids corporel (PC), la nourriture ingérée et le REN des rats traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle sont similaires à ceux des rats non traité. Les mêmes résultats ont été notés chez des rats consommant un régime supplémenté en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique), et traités par gavage pendant un mois avec 250 mg d'hydrolysats de protéines de sardine et de bogue (*Boops boops*) (**Benomar et al., 2015**). **Hosomi et al., (2012 ; 2010)** ont abouti aussi aux mêmes résultats chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol (0,5% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique) après un traitement de 4 semaines avec un régime normo-protéique contenant 10% d'hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska (*Alaska Pollack*). De même, **Otani et al., (2009)** n'ont trouvé aucune différence significative dans le poids corporel et la prise alimentaire, chez des rats spontanément hypertendus soumis à un régime standard et traités pendant 4 semaines avec 1 g/Kg PC de rat de peptides de sardine par rapport aux rats non traités. Par contre, **Bougatef et al., (2010b)**, en utilisant des hydrolysats de protéines d'émissole lisse (*Mustelus mustelus*) ont montré chez le rat, une réduction significative de la prise alimentaire et du poids corporel. Ces auteurs ont suggéré que ces hydrolysats de protéines ont un effet satiétogène. L'explication possible de cette contradiction pourrait être dû au fait que les **HPS** et **HPA** ont été administrés aux rats uniquement pendant 14 jours, alors que d'autre chercheurs (**Bougatef et al., 2010b**) les ont utilisé sur une période plus longue (3 mois), et/ou la quantité d'hydrolysats utilisée était plus importante. En effet, la quantité administrée dans notre protocole est de l'ordre de 300 mg/Kg PC de rat, alors que dans l'étude de **Bougatef et al., (2010b)**, elle représente 5% du régime. De plus, les animaux utilisés dans notre protocole sont beaucoup plus âgés et ont donc terminé leur croissance.

Par ailleurs, les résultats de la leptine, hormone connue pour son effet anorexigène (**Reidelberger *et al.*, 2012**), qui n'ont montré aucune différence significative chez les trois groupes d'animaux, peuvent expliquer l'absence d'une réduction de la prise alimentaire et du poids corporel des rats chez les groupes traités ou non avec les **HPS** et **HPA**.

Dans ce travail on a également étudié le poids relatif (PR) des organes, qui renseigne sur leur évolution par rapport à l'organisme entier, montre que le PR du foie est significativement diminué chez les rats traités **HPS** et **HPA** comparés aux rats non traités, alors que celui du tissu adipeux épididymaire n'est significativement réduit que chez le groupe **HPA** *versus* **GT**. La réduction du PR du foie est probablement due à la diminution de la masse grasse, ainsi que du rapport masse grasse/masse maigre (MG/MM), chez les groupes traités **HPS** et **HPA** comparés au **GT** (**Macarulla *et al.*, 2001**). Pour les autres organes, ils ne présentent aucune différence significative. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Hosomi *et al.*, (2012)** qui ont rapporté que les PR du cœur et de muscle sont similaires chez le groupe hypercholestérolémique traité ou non avec les hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska. Alors que **Liaset *et al.*, (2009)** ont montré chez le rat Wistar, que l'administration des hydrolysats de protéines de lieu noir pendant 26 jours comparés à la caséine et la protéine de soja, n'entraîne aucune différence significative dans le PR du foie et du cœur, alors que celui du tissu adipeux est significativement diminué.

Dans cette étude, l'innocuité des hydrolysats de protéines **HPS** et **HPA** a été évaluée en mesurant les activités alanine amino-transférase (ALAT) et aspartate amino-transférase (ASAT), prédominantes dans le foie, mais existent aussi dans les autres tissus. L'ALAT est responsable du métabolisme (transamination) de l'alanine et se trouve à des concentrations beaucoup plus élevées dans le foie par rapport aux autres organes. L'ASAT est responsable du métabolisme (transamination) de l'aspartate. Bien que la sensibilité de l'ASAT est considérée comme étant inférieure à celle de l'ALAT, elle représente un biomarqueur des lésions hépatiques largement utilisé (**Ozer *et al.*, 2008**). Les transaminases sont des marqueurs importants; leur augmentation peut refléter une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique (**Ozer *et al.*, 2008 ; Dejong *et al.*, 2007**). En effet, les hépatocytes endommagés libèrent l'ALAT dans l'espace extracellulaire avec passage ultérieur dans le sang (**Yang *et al.*, 2014**).

L'étude de **Saka et al., (2011)** a montré que l'élévation des activités transaminases en particulier l'aspartate amino-transférase, est liée aux dommages hépatiques. En effet, **Ktari et al., (2015)**, ainsi que d'autres auteurs (**Shallan et al., 2014 ; Ben khaled et al., 2012 ; Hassan et al., 2011 ; Sudhahar et al., 2007 ; Bolkent et al., 2005**) ont montré que les activités transaminases (ALAT et ASAT) sont significativement élevées chez des rats mâles hypercholestérolémiques comparés aux rats normaux.

Dans notre étude, les activités sériques transaminases ALAT et ASAT sont significativement diminuées chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle, comparés au groupe témoin non traité. Cette réduction est probablement due à la diminution des teneurs en lipides totaux du foie, qui ont un effet cytotoxique, ce qui confirme l'effet bénéfique et protecteur des hydrolysats de protéines de poisson (sardine et sardinelle) contre les lésions cellulaires, en particulier hépatique induites par la supplémentation du régime en cholestérol. Ces résultats sont conformes avec ceux de **Ben khaled et al., (2012)** qui ont observé une diminution des activités transaminases (ALAT, ASAT, phosphatase alcaline (ALP) et lactate déshydrogénase (LDH)) chez des rats consommant pendant 7 semaines un régime supplémenté en cholestérol (1% cholestérol et 0,1% acide cholique) et contenant des hydrolysats de protéines de sardinelle par rapport aux rats hypercholestérolémiques, et avec l'étude de **Lassoued et al., (2014)** qui ont administré des hydrolysats de protéines de bogue à différentes doses aux rats soumis à un régime hypercholestérolémique (1% cholestérol et 0,1% acide cholique) et celle de **Ktari et al., (2015 ; 2013)**, qui ont observé une réduction des activités transaminases chez des rats hypercholestérolémiques traités avec les hydrolysats de protéines de blennie zébrée (*zebra blenny*). Par contre, **Osajima et al., (2009)** ont montré que l'administration des peptides de sardine par gavage et pendant 21 jours à une dose > 5000 mg/Kg de PC de rat, n'entraîne aucune différence par rapport aux paramètres toxicologiques standards. De même, **Liaset et al., (2009)** n'ont observé aucune différence significative dans l'activité ASAT, alors que celle de l'ALAT est significativement élevée, chez le rat consommant des hydrolysats de protéines du lieu noir (*Saithe fish*).

Il apparait que l'administration des hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle, n'a aucun effet sur la prise alimentaire et la croissance pondérale, et donc ne modifie pas le REN du régime hypercholestérolémique. Cependant, le PR du foie et du tissu adipeux épididymaire est significativement réduit chez les rats traités avec les

hydrolysats de protéines de sardinelle comparés aux rats non traités. De plus, l'administration des hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle semblent avoir un effet protecteur contre l'hépatotoxicité du régime hypercholestérolémique.

L'hypercholestérolémie est un trouble métabolique qui favorise l'atteinte des maladies cardiovasculaires (MCV), en particulier l'athérosclérose (**Takasaki et al., 2012 ; Teratani et al., 2012**). De telles variations peuvent influencer la teneur et la composition des lipoprotéines sériques (**Jia et al., 2007**). Le deuxième objectif de cette étude est de tester l'effet protecteur des **HPS** et **HPA** contre cette hypercholestérolémie.

Nos résultats montrent chez le groupe non traité qu'une hypercholestérolémie est installée à la fin de l'expérimentation (**J₁₄**) ($3,28 \pm 0,45$ mmol/L) comparée à la valeur notée au début de l'expérimentation ($1,32 \pm 0,11$ mmol/L) et à celle rapportée chez le rat (valeur normocholestérolémique ($< 2,5$ mmol/L)) par **Pandya et al., (2006)**. Ce qui indique que la supplémentation du régime en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique) a permis de provoquer en 14 jours une hypercholestérolémie chez le rat Wistar. **Wang et al., (2010)** ont considéré que ce régime hypercholestérolémique est un facteur de risque des MCV et ils ont montré également que la supplémentation du régime avec du cholestérol (de 0,5% à 1% de cholestérol), augmente le contenu en cholestérol total (CT) sérique et hépatique, en C-VLDL, et en C-LDL. Ce régime hypercholestérolémique a été auparavant utilisé au niveau de notre laboratoire (**Benomar et al., 2015 ; Mir et al., 2014 ; Louala et al., 2011 ; Athmani et al., 2005**). Il a permis d'induire une hypercholestérolémie comparable à celle obtenue par différents auteurs (**Ktari et al., 2015 ; Lassoued et al., 2014 ; Ben Khaled et al., 2012 ; Hosomi et al., 2012**).

Dans le but d'étudier l'effet des **HPS** et **HPA** et de déterminer par quel mécanisme ils peuvent influencer le métabolisme des lipides, en particulier celui du cholestérol, nous nous sommes proposés de déterminer si le traitement des rats hypercholestérolémiques par les hydrolysats **HPS** et **HPA** peut améliorer à court terme le profil lipidique. Le mécanisme par lequel agissent les hydrolysats de protéines de poisson au niveau entérohépatique n'est pas encore bien établi. Cependant, quelques hypothèses ont été avancées afin d'expliquer l'effet hypocholestérolémiant de ces hydrolysats.

Nos résultats montrent au niveau sérique que les teneurs en lipides totaux (LT) sont diminuées chez les groupes **HPS** et **HPA**. Cette réduction est essentiellement due aux faibles

teneurs sériques en CT chez les groupes traités avec les hydrolysats protéiques. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Ktari et al., (2015) ; Benomar et al., (2015), Ben Khaled et al., (2012), Hosomi et al., (2012) et Liaset et al., (2009)**. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer cet effet; le premier est au niveau entérohépatique. En effet, il a été démontré que les hydrolysats de protéines de poisson, peuvent inhiber l'absorption intestinale des acides biliaires et des stérols neutres (**Hosomi et al., 2010 ; Bursill & Roach, 2006**) et suggèrent que l'effet hypocholestérolémiant des **HPS** et **HPA** pourrait être expliquer probablement par l'élévation de l'excrétion fécale du cholestérol et l'amélioration de l'expression du cholestérol 7 α -hydroxylase (enzyme clé dans la biosynthèse des acides biliaires à partir du cholestérol) (**Benomar et al., 2015 ; Hosomi et al., 2012 ; Liaset et al., 2009**).

Ceci indique la capacité des hydrolysats de protéines de poisson à inhiber d'une part l'absorption du cholestérol par la suppression de la solubilisation micellaire du cholestérol (**Hosomi et al., 2010 ; Hartmann & Meisel, 2007**) et à stimuler la bioconversion du cholestérol hépatique en acides biliaires comme l'indique les faibles teneurs en CT du foie. Il a été rapporté que la composition des hydrolysats de protéines de poisson en acides aminés peut influencer la solubilisation micellaire du cholestérol. En effet, l'action des peptides hydrophobes sur la solubilité micellaire peut être due à leur interaction avec les acides biliaires, qui sont indisponibles pour la solubilisation du cholestérol dans les micelles. En effet, des études récentes ont montré que les peptides hydrophobes peuvent effectivement se lier à différents acides biliaires et inhiber la solubilisation du cholestérol et donc augmenter l'excrétion fécale du cholestérol (**Kongo-Dia-Moukala et al., 2011b**). De plus, des études ont montré chez le rat hyperlipidémique, que les hydrolysats de protéines de poisson avec de forte quantité en glycine, taurine et en acides aminés hydrophobes comme le montrent la composition en acides aminés de nos hydrolysats en particulier celle des **HPA**, entraînent une élévation des teneurs plasmatiques en acides biliaires, concomitante à une diminution des lipides hépatiques, des taux plasmatiques des TG et de la masse du tissu adipeux viscéral (**Howard & Udenigwe, 2013**). Les mêmes résultats ont été obtenus par **Liaset et al., (2009)** chez le rat Wistar consommant des hydrolysats de protéines du lieu noir (*Saithe Fish*).

Ces propriétés hypocholestérolémiants notées avec les **HPS** et **HPA** peuvent être dû à leur composition en acides aminés. En effet, la nature des acides aminés contenus dans les hydrolysats de protéines de poisson peut influencer le métabolisme des lipides, en particulier celui du cholestérol (**Ktari et al., 2015 ; Benomar et al., 2015 ; Lassoued et al.,**

2014 ; Gudbrandsen *et al.*, 2005 ; Wergedahl *et al.*, 2004). Il a été rapporté que les faibles rapports lysine/arginine et méthionine/glycine ainsi que les faibles concentrations en méthionine et en lysine, contenus dans les **HPS** et en particulier les **HPA** ont probablement diminuer le niveau du CT sérique (Louala *et al.*, 2011 ; Shukla *et al.*, 2006). De plus, la liaison des acides biliaires avec un agent séquestrant à l'intérieur de la lumière intestinale peut perturber leur circulation entérohépatique. Tiengo *et al.*, (2011) ont montré que les hydrolysats protéiques peuvent se combinés par affinité aux acides biliaires et empêchent leur réabsorption, et facilitent leur excrétion, et par conséquent diminuer le niveau de la cholestérolémie. Cet effet dépend de l'hydrophobicité des acides aminés (Kongo-Dia-Moukala *et al.*, 2011b). En effet, la présence d'acides aminés hydrophobes (leucine, phénylalanine, valine, alanine et glycine) dans les **HPS** et **HPA**, peut expliquer l'amélioration de la cholestérolémie chez les groupes traités. Ces effets ont été démontrés par Liaset *et al.*, (2009) chez le rat consommant des hydrolysats de lieu noir (*Saithe Fish*) riche en taurine et en glycine. De plus, le muscle de sardine qui est riche en taurine (Divakarane, 2006), se combine aux acides biliaires et facilite leur excrétion fécale (Yokogoshi & Oda, 2002). De même, Yamori *et al.*, (2009 ; 2004) ont montré que la taurine en se liant aux acides biliaires, peut moduler le métabolisme lipidique en réduisant les teneurs en CT hépatique *via* l'activation des récepteurs des LDL et l'augmentation de l'expression du cholestérol 7 α -hydroxylase.

Dans ce travail, il apparait que la cholestérolémie est influencée par les hydrolysats administrés aux rats. De même, sa répartition entre les différentes fractions de lipoprotéines sériques montre une diminution significative du contenu en C-VLDL et en C-LDL-HDL₁, suggérant probablement que le cholestérol synthétisé par le foie soit éliminé efficacement sous forme d'acides biliaires, entraînant ainsi sa faible biodisponibilité pour la formation et la sécrétion des VLDL et donc des LDL-HDL₁. En effet, des études ont montré chez des rats consommant un régime hypercholestérolémique que les hydrolysats de protéines de bogue (Lassoued *et al.*, 2014), de sardinelle (Ben khaled *et al.*, 2012) et de saumon (Wergedahl *et al.*, 2004), entraînent une diminution des teneurs en CT, C-VLDL et C-LDL-HDL₁, concomitante à une augmentation du contenu en C-HDL₂-HDL₃.

Néanmoins, les faibles teneurs en C-VLDL, essentiellement sous formes d'esters de cholestérol (EC) notées avec les hydrolysats **HPS** et **HPA** seraient la conséquence d'une augmentation probable de l'activité cholestérol 7 α -hydroxylase.

IL est bien établi que le cholestérol et plus particulièrement le C-LDL-HDL₁ est impliqué dans l'athérogénèse. En effet, un taux élevé en lipoprotéines athérogènes est étroitement lié au risque cardiovasculaire et à une athérosclérose précoce (**Jellinger et al., 2012**). Notre étude indique que la masse des LDL-HDL₁ est significativement plus faible chez le groupe **HPS** et en particulier chez le groupe **HPA** comparé au **GT**, bien que les teneurs sériques en Apo B restent inchangées à la fin d'expérimentation chez les trois groupes d'animaux; cette réduction est associée à une diminution significative de leurs teneurs en EC, en cholestérol libre (CL) et en phospholipides (PL). Ces résultats peuvent suggérer que les **HPS** et en particulier les **HPA** donnent des LDL appauvries en lipides; ce qui peut suggérer que le foie n'a changé que la vitesse de synthèse des VLDL, mais ces particules sont appauvries en lipides. Nos résultats suggèrent également que les **HPS** et les **HPA** peuvent moduler et influencer le mécanisme de captation et de catabolisme des LDL-HDL₁. En effet, **Karlsson et al., (2006)** ont montré chez l'homme, qu'à l'état normal, les LDL sont éliminées par l'intermédiaire des récepteurs auxquels elles se lient en interagissant avec l'apo B100. Leur captation par ces récepteurs diminue la synthèse intracellulaire du cholestérol, stimulent l'expression de ces récepteurs à la surface des cellules par un mécanisme de rétrocontrôle et permet l'élimination du cholestérol au niveau du foie par la voie biliaire. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de **Ben khaled et al., (2012)** qui ont montré chez des rats soumis à un régime supplémenté en cholestérol, que l'administration des hydrolysats de protéines de sardinelle pendant 7 semaines, réduit significativement le niveau du CT et du C-LDL. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Ktari et al., (2015)** avec les hydrolysats de protéines de Blennie zébrée (*zebra blenny*), par **Lassoued et al., (2014)** avec des hydrolysats de protéines de bogue, et par **Hosomi et al., (2012 ; 2010)** avec des hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska.

La réduction du C-LDL-HDL₁, peut suggérer une stimulation des récepteurs des LDL par les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle. En effet, **Staels & Fonseca, (2009)** ont montré que l'élévation de l'activité cholestérol 7 α -hydroxylase et la conversion hépatique du cholestérol, diminuent par conséquent le niveau du cholestérol hépatique, ce qui a été noté avec les **HPS** et les **HPA**, et améliore l'activité des récepteurs LDL, et par conséquent réduisent la cholestérolémie. Cette élévation de l'activité cholestérol 7 α -hydroxylase est probablement due à l'action des hydrolysats de poisson (**HPS** et **HPA**) sur la régulation de l'expression des gènes hépatique. Ces résultats peuvent suggérer que les hydrolysats de poisson (**HPS** et **HPA**) riche en acides aminés hydrophobes peuvent influencer

et interrompues le cycle entérohépatique des acides biliaires, ce qui entraîne une réduction des teneurs en acides biliaires; cette diminution va stimuler l'expression du gène du cholestérol 7 α -hydroxylase et donc la biosynthèse des acides biliaires à partir du cholestérol.

En effet, à l'état normal, les acides biliaires régulent négativement la transcription du gène du cholestérol 7 α -hydroxylase, pour prévenir la cytotoxicité de l'accumulation des acides biliaires. Ce feed-back négatif est assuré par l'activation directe du récepteur nucléaire FXR par les acides biliaires. Le FXR activé va se fixer à l'hétérodimère *Retinoic X Receptor* (RXR). Le dimère FXR/RXR va activer la transcription de *Small Heterodimer Partner* (SHP), qui va inhiber un troisième récepteur nucléaire *Liver Receptor Homologue-1* (LRH-1), facteur de transcription nécessaire à l'expression du gène du cholestérol 7 α -hydroxylase. En inhibant LRH-1 par l'intermédiaire de FXR, les acides biliaires vont inhiber la transcription du cholestérol 7 α -hydroxylase et donc la synthèse des acides biliaires (Chiang, 2009 ; Zollner & Trauner, 2009). En effet, Hosomi *et al.*, (2012 ; 2010) ont noté chez le rat normal et hypercholestérolémique, que les hydrolysats et les peptides du lieu de l'Alaska, peuvent activer l'expression des ARNm du cholestérol 7 α -hydroxylase.

Une diminution significative du CT du foie est notée chez les groupes traités HPS et HPA comparés au groupe témoin non traité. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études réalisés chez le rat Wistar traité avec les hydrolysats de protéines de lieu de l'Alaska (Hosomi *et al.*, 2012), de lieu noir (Liaset *et al.*, 2009) et en désaccord avec l'étude de Wergedahl *et al.*, (2009) qui ont montré que l'administration des hydrolysats de protéines de saumon combinés avec l'huile de saumon pendant 7 semaines, entraîne une réduction significative du CT sérique concomitante avec une augmentation du CT hépatique suite à une élévation de la quantité des EC associée à une augmentation de l'activité acyl CoA : cholestérol acyltransférase.

La réduction du CT hépatique est associée à une élévation de l'expression du cholestérol 7 α -hydroxylase et des récepteurs des LDL (Zhao & Wright, 2010), mais également à une augmentation des ARNm de la 3-hydroxy-3methyl-glutaryl-coenzyme (HMG-CoA) réductase. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'expression du gène codant la HMG-CoA réductase soit en partie sous le contrôle des teneurs en cholestérol hépatique, alors que celui du cholestérol 7 α -hydroxylase est plutôt sous le contrôle des acides biliaires (Sinal *et al.*, 2000). En effet, lorsque le cholestérol diminue dans l'hépatocyte, les facteurs de transcription appelés sterol regulatory element-binding proteins (SREBP-2) fixés au réticulum

endoplasmique sont clivées par une protéase spécifique (SP1) pour migrer vers le noyau et activer le gène codant la HMG-CoA réductase suite à son interaction avec leur promoteur « *sterol responsive element* » (SRE) (**De Bose-Boyd, 2008**). Cela confirme que le niveau du CT hépatique contrôle l'expression de la HMG-CoA réductase.

Les rapports d'athérogénicité sont connus pour être étroitement liés aux facteurs de risques d'athérosclérose (**Ezeukwu & Agwubike, 2014 ; Yildiz et al., 2013 ; Rajab, 2012**). Les travaux de **Tan et al., (2004)** ont montré également l'existence d'une corrélation positive entre le taux du rapport d'athérogénicité et le risque coronarien.

Les résultats de ce travail montrent que les indices d'athérogénicité (CT/C-HDL₂+HDL₃ et Apo B/Apo A-I) sont significativement diminués chez les rats traités avec les **HPS** et **HPA** comparés aux rats non traités. Ces résultats vont dans le même sens avec ceux de **Parolini et al., (2014) ; Lassoued et al., (2014) ; Ben khaled et al., (2012)** et **Wergedahl et al., (2004)**, qui ont montré chez le rat normal et hypercholestérolémique, que les hydrolysats de protéines de saumon, de bogue et de sardinelle, diminuent le rapport C-LDL/C-HDL.

Les HDL sont connues pour leurs effets cardioprotecteurs résultant de leur participation active dans le transport inverse du cholestérol grâce à la lécithine : cholestérol acyl transférase (LCAT); enzyme ayant un rôle clé dans le transport inverse du cholestérol des tissus périphériques vers le foie (**Saeedi et al., 2015**). Cette enzyme est synthétisée par le foie et sécrétée dans le plasma, sollicite un cofacteur-activateur l'apo A-I. Elle catalyse l'estérification du cholestérol libre des HDL₃ permettant ainsi la production des HDL₂ qui se chargent de transporter le cholestérol jusqu'au foie, où il sera excrété dans la bile. En effet, l'hypothèse la plus largement admise actuellement est que les HDL et l'apo A-I protègent du processus d'athérosclérose en favorisant l'efflux du cholestérol des cellules, en particulier des macrophages de la paroi artérielle, et en facilitant le transport inverse du cholestérol, qui permet le retour du cholestérol au niveau hépatique pour son excrétion biliaire et son élimination fécale (**Saeedi et al., 2015 ; Rosenson et al., 2012**).

Dans cette étude nous nous sommes proposés d'étudier l'effet des **HPS** et **HPA** sur l'activité LCAT et sur la teneur et la composition des HDL afin de voir si l'efflux du cholestérol est stimulé par ces deux protéines de poisson hydrolysées.

Les résultats de cette étude montrent que les teneurs en C-HDL₂-HDL₃ sont élevées avec les deux hydrolysats administrés **HPS** et **HPA**; de même l'activité LCAT est augmentée avec les **HPS** et **HPA**. De plus, le faible contenu en CL des HDL₃ (qui est l'accepteur du groupement acyl de la lécithine), permet de suggérer qu'il est représenté essentiellement par les HDL₂. De plus, le contenu élevé en EC des HDL₂ (qui est le produit de la réaction enzymatique de LCAT) pourrait probablement être en partie à l'origine de l'excrétion importante des acides biliaires. En effet, **Kishida et al., (2003)** ont constaté que l'EC-HDL constitue le précurseur principal dans la synthèse des acides biliaires.

Cette activité LCAT élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** pourrait s'expliquer par l'augmentation des teneurs en apo A-I, qui est l'apo majeure des HDL₂-HDL₃ et le cofacteur-activateur de la LCAT et/ou par sa synthèse accrue au niveau du foie. Peu de travaux ont étudié l'effet des hydrolysats de protéines de poisson sur l'activité LCAT chez le rat. L'étude de **Benomar et al., (2015)** a montré chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol, que les hydrolysats de protéines de sardine réduisent l'activité LCAT. L'explication possible de cette contradiction est probablement due à l'âge des animaux; en effet, les rats utilisés dans notre protocole pèsent 350±15g et sont âgés de 14 semaines, alors que ceux de **Benomar et al., (2015)** pèsent 220±10g et âgés de 8 semaines, et/ou à la durée d'expérimentation, puisque notre étude a été réalisée pendant une courte durée (14 jours), par contre celle de **Benomar et al., (2015)** a été effectuée sur 30 jours.

Il apparaît que le traitement avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle agit favorablement sur la cholestérolémie et le profil des lipoprotéines antiathérogènes, améliore le transport inverse du cholestérol des tissus périphériques vers le foie en augmentant l'activité LCAT et assurant ainsi un enrichissement des HDL₂ en esters de cholestérol. De ce fait, nos résultats laissent suggérer que le traitement avec les hydrolysats de protéines de poisson (sardine et sardinelle) réduit efficacement l'athérogénicité induite par la supplémentation du régime en cholestérol alimentaire.

L'effet du cholestérol alimentaire sur la triglycéridémie a été bien établi. En effet, chez la rat, le cholestérol alimentaire provoque une élévation du contenu en TG sériques (**Ktari et al., 2015 ; Lassoued et al., 2014 ; Ben Khaled et al., 2012**). Au niveau sérique, le contenu en TG a augmenté après 14 jours d'expérimentation chez le **GT** (1,03±0,07 mmol/L) par rapport à la valeur trouvée au début de l'expérimentation (**J₀**) (0,54±0,08 mmol/L),

probablement due à la supplémentation du régime en cholestérol (1% cholestérol et 0,5% d'acide cholique). L'élévation de ces teneurs chez le **GT** est probablement due à une réduction de l'activité des récepteurs des LDL ou une altération de l'activité triglycéride lipase hépatique (HTGL) (**Miller et al., 2011**). Ces actions sont finement régulées par les gènes de transcription dans le foie.

L'effet du régime hypercholestérolémique sur l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme des TG a été démontré par **Côté et al., (2013)**. Ces auteurs ont montré qu'un régime athérogénique (40% de graisse et 1,25% cholestérol), entraîne une réduction significative dans l'expression des récepteurs nucléaires (FXR) (*Farnesoid X Receptor*) (ce qui entraîne l'inhibition de l'expression des apolipoprotéines (apo) CII et donc une réduction de l'activité lipoprotéine lipase et par conséquent une augmentation des teneurs en TG sériques). En effet, les FXR contrôlent les taux plasmatiques des TG en activant le gène des récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes- α (*peroxisome proliferator-activated receptor*, PPAR- α), un autre récepteur nucléaire contrôle du métabolisme des TG (**Pineda Torra et al., 2003**), et le gène de l'apo CII, un cofacteur de la lipoprotéine lipase (LPL) responsable de l'hydrolyse des TG dans les chylomicrons, et en inhibant le gène de l'apo CIII (**Claudel et al., 2003**), (qui joue un rôle important dans le contrôle du métabolisme des TG). La diminution de l'expression des FXR est associée avec une augmentation des ARNm des facteurs de transcription : *Sterol Regulatory Element Binding Proteins* (SREBP-1c) (ce qui entraîne une augmentation de l'expression des gènes de la biosynthèse des acides gras) et une réduction de celle des Protéine Microsomal du Transfert des TG (MTTP) (*Microsomal TG Transfert Protein*) (nécessaire pour l'association des TG avec l'apo B 48 pour la stabilisation de cette apo), suggérant ainsi une élévation de la lipogenèse et une réduction dans la production des VLDL ; ce régime athérogénique entraîne également une réduction de l'activité HMG-CoA-réductase et celle des récepteurs des LDL, et l'expression des transporteurs membranaires ABCG8 (*ATP-Binding-Casette*) (responsables de l'efflux de cholestérol) (**Hu et al., 2010**).

Le foie est impliqué dans le métabolisme des VLDL. La diminution ou l'augmentation des teneurs en triglycérides hépatiques génère des VLDL appauvris ou enrichis en TG. Nos résultats montrent que les **HPA** diminuent la teneur en TG sériques. Cette hypotriglycémie est associée avec une diminution significative des TG-VLDL. En effet, cette diminution est concomitante avec une réduction de la masse des VLDL et de leur

EC. Nos résultats qui montrent une diminution des TG sériques avec un contenu inchangé des apo B chez le groupe **HPA** comparé aux groupes **HPS** et **GT**, permettent de suggérer que les **HPA** entraînent un assemblage, une sécrétion et un catabolisme normal des VLDL avec moins de TG, probablement due à une diminution dans la biodisponibilité des acides gras, ce qui a entraîné une réduction du PR du tissu adipeux épидидymaire comme le montrent les faibles valeurs notées chez le groupe **HPA**. Nos résultats vont dans le même sens avec ceux de **Saito et al., (2009)** qui ont révélé chez le rat que les hydrolysats de collagène de saumon affectent le métabolisme et l'absorption des lipides, et peuvent être bénéfiques dans la réduction des contenus en TG plasmatiques. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Liaset et al., (2009)** avec les hydrolysats de protéines de lieu noir (*Saithe fish*). De plus, **Ben khaled et al., (2012)** ont montré chez le rat soumis à un régime supplémenté en cholestérol que les protéines sardinelle et leurs hydrolysats, diminuent significativement le contenu en TG sériques. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Lassoued et al., (2014)** avec les hydrolysats de protéines de bogue et par **Ktari et al., (2015)** avec les hydrolysats de protéines de blennie zébrée (*Salaria basilisca*).

Les faibles teneurs en TG-VLDL observées chez les rats traités avec les **HPA** peuvent être la conséquence d'une réduction de leur synthèse par le foie, due probablement à la baisse de l'insulinémie. Il a été rapporté que l'insuline stimule la synthèse des acides gras dans le foie, en augmentant les ARNm des facteurs de transcription SREBP-1c, un facteur de transcription qui active tous les gènes nécessaires à la production des acides gras et des triglycérides dans le foie (**Owen et al., 2012 ; Horton et al., 2002**). Parmi les trois isoformes de SREBP, SREBP-1c est celui dont l'expression est la plus élevée dans le foie, et il est le seul qui est contrôlée principalement par l'insuline.

Nos résultats montrent une diminution significative des teneurs en insuline chez le groupe **HPA** comparé aux groupes **HPS** et **GT**. Il a été démontré que le type des protéines alimentaires joue un rôle important dans la sécrétion de l'insuline et dans la régulation de la lipogenèse médiée par le facteurs de transcription SREBP-1c (**Torre-Villalvaso et al., 2008**). De plus, il a été suggéré que la diminution des teneurs en insuline, entraîne une réduction des ARNm des SREBP-1c modulés par l'insuline, ce qui diminue l'expression des gènes de la biosynthèse des acides gras (l'acétyl CoA carboxylase et la fatty acid synthase (FAS)) (**Torres et al., 2006 ; Asencio et al., 2004**), et par conséquent les peptides et les hydrolysats

de protéines de poisson connus pour leurs effets hypoinsulinémiant vont probablement limiter la synthèse des TG par ce mécanisme et par conséquent, leur sécrétion sous forme de VLDL.

D'autre part, cette réduction de la triglycéridémie avec les **HPA** peut être due à l'activation de l'expression des récepteurs nucléaires FXR. En effet, les travaux de **Liaset et al., (2009)** ont rapporté que les hydrolysats de protéines du lieu noir (*Saithe fish*) riches en taurine et en glycine, augmentent les concentrations plasmatiques en acides biliaires, et réduisent la triglycéridémie par l'activation de l'expression des récepteurs nucléaires FXR. Ce qui laisse suggérer que les **HPA** riches en taurine diminuent le niveau des TG sériques. De plus, il a été démontré chez le rat que l'administration des ligands des FXR, réduit la quantité des TG dans le plasma (**Maloney et al., 2000**). La biosynthèse hépatique et la réabsorption intestinale des acides biliaires, ainsi que la synthèse des acides gras, des TG et le métabolisme des lipoprotéines sont des phénomènes finement régulés notamment par les FXR (**Lefebvre et al., 2009 ; Zelcer & Tontonoz, 2006**). En effet, **Hageman et al., (2010)** ont montré que l'activation des récepteurs FXR inhibent *in vivo* la lipogenèse hépatique et influencent la transcription des gènes impliqués dans le métabolisme des lipoprotéines. Les FXR stimulent l'expression des apo CII qui représente l'apolipoprotéine activateur de la LPL. **Tsutsumi, (2003)** a montré que la réduction de l'activité LPL sérique est concomitante à une augmentation des TG sériques et à une diminution du C-HDL. De plus, les récepteurs FXR inhibent l'expression de l'apo CIII qui est le majeur constituant des VLDL, et inhibent l'expression de la Protéine Microsomale du Transfert des TG (*Microsomal TG Transfert Protein*) (MTTP) de l'apo B, et par conséquent diminuent la production des VLDL (**Hageman et al., 2010**), ce qui est retrouvé dans la présente étude.

Par ailleurs, la triglycéride lipase hépatique qui agit à la fois sur les lipoprotéines riches en TG (VLDL, IDL et remnants de chylomicrons) et sur les HDL, peut jouer le rôle de ligand et stimuler la captation des VLDL et de leur remnants par le foie *via* les *LDL receptor like-protein* (LRP), mais également celle des HDL par l'intermédiaire des récepteurs éboueurs (SR-BI) (*scavenger receptorsBI*) (**Santamarina-Fojo et al., 2004**). Cela suggère que les **HPA** peuvent accélérer le retour du cholestérol en stimulant l'activité HTGL. En effet, le traitement avec les **HPA** réduit significativement le taux des TG-HDL₂, probablement suite à une augmentation de l'activité HTGL (hydrolyse les TG des lipoprotéines IDL et HDL. Elle possède simultanément une activité lipase et phospholipase A2).

D'un autre côté, les **HPS** induisent une triglycémie et des contenus en TG-VLDL similaires au groupe témoin, ce qui laisse suggérer, une synthèse identique des TG hépatiques et/ou un catabolisme des acides gras et/ou une sécrétion des triglycérides semblable du foie via les VLDL. Ces résultats suggèrent que ces hydrolysats n'influencent probablement ni la synthèse des TG pour être transportés par les VLDL, ni leur catabolisme.

Il apparaît que le traitement avec les hydrolysats de protéines de sardine installe une hypotriglycémie. Cette hypotriglycémie résulte de la diminution du contenu en TG de toutes les fractions de lipoprotéines. Ces hydrolysats réduisent les teneurs en TG-VLDL probablement due à une diminution dans la biodisponibilité des acides gras. Cependant, l'administration des hydrolysats de protéines de sardine aux rats soumis à un régime enrichi en cholestérol n'influence pas la triglycémie.

Le troisième objectif de ce travail est d'étudier le potentiel antioxydant des hydrolysats **HPS** et **HPA**, chez le rat consommant un régime supplémenté en cholestérol. Cette évaluation du statut antioxydant est réalisée d'une part par le dosage des marqueurs de l'oxydation lipidique et protéique et du monoxyde d'azote (NO), au niveau sérique, érythrocytaire, lipoprotéique et tissulaire et par la mesure des activités de certaines enzymes antioxydantes d'autre part.

La production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) tels que l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène est connue depuis longtemps comme responsables des modifications délétères des macromolécules associées avec le développement progressif de l'athérosclérose, le diabète, le cancer, la neurodégénérescence et le vieillissement (**Ray et al., 2012**). Néanmoins, il est important de souligner que la formation de ces ERO ne conduit pas toujours à des dommages aléatoires macromoléculaires. En effet, dans des conditions physiologiques normales, leur production peut jouer un rôle important dans la régulation de divers voies métaboliques tant que second messager (**Linnane et al., 2007**).

Plusieurs auteurs s'accordent à dire que l'hypercholestérolémie est associée à la détérioration du statut antioxydant, résultant d'une augmentation des teneurs en malondialdéhyde (MDA) et une diminution des activités des enzymes antioxydantes (**Basheeruddin Asdaq, 2015 ; Park et al., 2014 ; Schultz-Moreira et al., 2011**). Nos résultats montrent que les teneurs en TBARS qui sont les marqueurs de la peroxydation lipidique sont diminuées chez le groupe **HPA** au niveau du sérum, des différentes fractions de

lipoprotéines et des érythrocytes. La diminution des teneurs en TBARS sériques est probablement due à la réduction des contenus en TG sériques. En effet, une étude réalisée chez l'homme a révélé une corrélation positive entre la peroxydation des lipides plasmatiques et les TG plasmatiques (**Ledwozyw et al., 1986**). De plus, une réduction des contenus en TBARS est notée chez le groupe **HPS** au niveau des VLDL, HDL₂, HDL₃ et des érythrocytes. Ces résultats permettent de suggérer que l'effet de réduction de la peroxydation lipidique des hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle apparaît dès le 14^{ème} jour de l'expérimentation. Les faibles teneurs en TBARS des fractions et des érythrocytes notées avec les **HPA** et les **HPS** pourraient être dues à une diminution de l'attaque radicalaire suite à l'inhibition de la production des ERO et à l'augmentation de la défense antioxydante.

Par ailleurs, des teneurs élevées en sphingomyélines, qui représentent le pool résistant des phospholipides contre l'oxydation tel que rapporté par **Benomar et al., (2015)** peut expliquer chez le rat traité avec les **HPS** et en particulier par les **HPA**, la réduction de la peroxydation lipidique au niveau sérique et lipoprotéique. En effet, **Sargis & Subbaiah, (2006)** ont montré que les sphingomyélines jouent un rôle important dans la protection contre l'oxydation du cholestérol libre. De plus, la diminution des contenus en TBARS des VLDL et des LDL-HDL₁ avec les **HPA** est probablement due à l'augmentation des contenus en APOA4-HDL. En effet, selon les résultats de **Benomar et al., (2015)**, les teneurs élevées en APOA4-HDL pourraient expliquer l'efficacité de protection des **HPA** contre le stress oxydatif en inhibant la peroxydation des LDL et VLDL. Ces auteurs ont montré que le traitement des rats soumis à un régime hypercholestérolémique avec les hydrolysats de protéines de bogue, augmente le contenu en APOA4-HDL.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Benomar et al., (2015)** qui ont montré chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol, que les hydrolysats de protéines de sardine et de bogue (*Boops boops*), diminuent significativement le contenu en MDA sérique et des fractions de lipoprotéines. De plus, **Nazeer et al., (2012)** ont rapporté *in vivo* et *in vitro*, que les peptides isolés à partir des hydrolysats de protéines du muscle du saumon (*Otolithes ruber*), inhibent la peroxydation lipidique et protègent l'ADN.

Dans ce travail on a étudié également la peroxydation lipidique au niveau tissulaire. En effet, le stress oxydant qui entraîne la peroxydation des lipides peut perturber la fonction et les propriétés des tissus notamment les tissus ciblent de l'athérosclérose. Nos résultats montrent que les contenus en TBARS du cœur, de l'aorte, du foie et du muscle gastrocnémien

sont significativement réduits chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle comparés au **GT**. Ces résultats sont probablement dus à une inhibition de la production et/ou piégeage des radicaux libres oxygénés sous l'action des hydrolysats de protéines de poisson. Les **HPS**, et en particulier les **HPA** peuvent donc protéger les tissus et/ou réduire les lésions tissulaires au niveau du cœur, de l'aorte, du foie, et du muscle, causées par la peroxydation lipidique lorsque les rats sont soumis à un régime enrichi en cholestérol. Ce résultat pourrait probablement être expliqué en partie par le rôle protecteur des peptides et des acides aminés hydrophobes (**Hong et al., 2014 ; He et al., 2013 ; Aleman et al., 2011b ; Mendis et al., 2005b**) contenus dans les **HPS** et les **HPA** contre le stress oxydant. De plus, l'activité de piégeage des radicaux libres de certains peptides pourrait être attribuée également à la présence d'acides aminés déterminés à l'intérieur de leur séquence qui pourraient donner des protons aux radicaux déficient en électrons (**Suetsuna et al., 2000**). En outre, cette capacité antioxydante pourrait être influencée par la conformation du peptide, l'abondance et la position de certains acides aminés au sein de la séquence peptidique (**Hernandez-Ledesma et al., 2005**).

Nos résultats sont conformes avec ceux de **Ktari et al., (2015)** qui ont révélé chez le rat soumis à un régime supplémenté en cholestérol, que le traitement avec les hydrolysats de protéines de Blennie zébrée (*Salaria basilisca*) pendant 8 semaines, entraîne une diminution des teneurs en TBARS au niveau du foie, comparés au groupe hypercholestérolémique. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Lassoued et al., (2014)** avec des hydrolysats de protéines de bogue et par **Ben Khaled et al., (2012)** avec les hydrolysats de protéines de sardinelle. De plus, **Halder et al., (2013)** ont rapporté chez des rats consommant un régime enrichi en cholestérol que les hydrolysats de protéines de carapaces de crevettes diminuent significativement les valeurs des peroxydes lipidiques (estimés par le contenu en MDA) dans le foie et le muscle. D'autres travaux ont montré chez la souris que les oligopeptides marins préparés à partir d'hydrolysats de saumon keta (*Oncorhynchus keta*), entraînent une réduction de la peroxydation lipidique au niveau du foie (**Yang et al., 2011b**).

D'un autre côté, les hydroperoxydes qui représentent les produits primaires de la peroxydation lipidique, sont également des bons indicateurs de la peroxydation des lipides. Ces molécules oxydées peuvent se décomposer en « produits secondaires » et « terminaux »

pour former des endoperoxydes cycliques et finalement des aldéhydes comme le MDA (Michel *et al.*, 2008).

Dans cette étude, les teneurs en hydroperoxydes au niveau du sérum, des lipoprotéines, des érythrocytes et des tissus sont significativement diminuées chez le groupe **HPS** et en particulier chez le groupe **HPA** comparés au **GT**. La réduction des hydroperoxydes au niveau sérique qui reflète probablement les teneurs plus faibles de ces produits dans les VLDL, les LDL-HDL₁ et les HDL₃, est probablement due à la diminution de la cholestérolémie chez les groupes traités. En effet, nos résultats montrent une corrélation positive entre le taux du cholestérol total sérique et les teneurs sériques en hydroperoxydes ($R = 0,588$ pour **HPS** et $R = 0,739$ pour **HPA**, $P < 0,001$) (Ohara *et al.*, 1993). De plus, ces résultats pourraient être expliqués par le fait que les hydrolysats de protéines de poisson, réduisent le contenu en esters de cholestérol (le pool principal du cholestérol total) connus pour être à l'origine de la production des hydroperoxydes d'esters de cholestérol (Yoshida *et al.*, 2003). Ces résultats permettent de suggérer que le traitement avec les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle peut corriger les détériorations du statut antioxydant causés par la supplémentation des régimes en cholestérol. Ces résultats vont dans le même sens avec ceux obtenus par Benomar *et al.*, (2015) qui ont montré que les hydrolysats de protéines de sardine et de bogue, diminuent significativement les teneurs en hydroperoxydes du sérum, des VLDL et des LDL. Les mêmes résultats ont été retrouvés par Hamaguchi, (2008) avec les hydrolysats de protéines de lieu noir et par Theodore, (2005) avec les hydrolysats de protéines du poisson chat préparés à différent degré d'hydrolyse (DH=5% et 30%) et par Wu *et al.*, (2003) avec les hydrolysats de protéines de maquereau.

D'un autre côté, Bielicki & Forte, (1999) ont montré que les produits de l'oxydation y compris les LDL oxydés peuvent altérer l'activité LCAT plasmatique et son cofacteur-activateur l'apo A-I. Ils ont démontré également que les hydroperoxydes sont des inhibiteurs de la LCAT. Dans notre étude, l'élévation de l'activité LCAT chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines sardine et de sardinelle, est probablement due à la diminution des contenus en hydroperoxydes, en particulier ceux des fractions LDL-HDL₁ et HDL₃.

D'autre part, la réduction des contenus en TBARS et en hydroperoxydes au niveau sérique, lipoprotéique, érythrocytaire et tissulaire, peut être expliquée *via* différent mécanismes. En effet, il a été rapporté que les propriétés antioxydantes des peptides, en particulier ceux liées la structure et la composition des peptides, peuvent être affectées par les

méthodes d'isolement et d'extraction des protéines, le degré d'hydrolyse, le type des protéases utilisés, la concentration des peptides et l'hydrophobicité (**Milan et al., 2014 ; Liu et al., 2010 ; Erdmann et al., 2008**). Le type et le nombre des acides aminés dans le peptide, ainsi que la séquence d'arrangement des acides aminés, jouent un rôle important dans l'activité antioxydante (**Milan et al., 2014 ; Di Bernardini et al., 2011 ; Erdmann et al., 2008**). En effet, les hydrolysats **HPS** et **HPA** riches en leucine, phénylalanine, glycine, alanine, diminuent significativement la peroxydation lipidique au niveau sérique et tissulaire. Il a été prouvé également que les peptides contenant de l'histidine, qui est présent en quantité importante dans nos hydrolysats **HPS** et **HPA**, possède un groupement imidazole, qui est considéré comme un piègeur du radical peroxyde lipidique et un chélateur métallique; le groupement (-SH) de la cystéine possède le même rôle en interaction avec les radicaux libres (**Milan et al., 2014 ; Sarmadi & Ismail, 2010 ; Qian et al., 2008**).

Les antioxydants sont des substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères possibles des processus ou réactions engendrant une oxydation excessive (**Amzal, 2010**). Les antioxydants sont donc des molécules qui peuvent prévenir la formation des espèces réactives à l'oxygène ou qui peuvent réagir avec ces derniers pour les neutraliser.

En effet, il a été rapporté que l'acide urique (AU) est l'un des plus important antioxydants du plasma *in vivo*, capable d'éliminer jusqu'à 60% des radicaux libres, en particulier le radical hydroxyle (HO°) (**Johnson et al., 2009 ; Olivier et al., 2007**). **Ktari et al., (2015)** ont montré une augmentation significative des teneurs en AU sérique chez des rats hypercholestérolémiques (1% de cholestérol et 0,1% d'acide cholique) comparés aux rats normaux.

Bien que l'AU peut agir comme un antioxydant, l'excès au niveau plasmatique lors d'un stress oxydant, principalement lors de phénomènes d'ischémie, est un facteur prédictif indépendant de toutes les causes de mortalité chez les patients à haut risque de MCV; il agirait dans ces conditions comme prooxydant (**Sautin et al., 2011 ; Gersch et al., 2009 ; Heinig & Johnson, 2006**) et contribuerait à l'augmentation de l'athérosclérose (**Ioachimescu et al., 2008**). Le mécanisme par lequel l'AU contribue à la pathogénèse des MCV n'est pas encore connu. Cependant, l'hyperuricémie est associée à des effets nuisibles sur la dysfonction endothéliale, le métabolisme oxydatif et l'adhérence plaquettaire (**Alderman & Redfern, 2004**). **Bellomo, (2006)** a suggéré que l'augmentation de l'AU peut être due à

l'augmentation du métabolisme de l'adénosine due à l'ischémie ou au dommage tissulaire et/ou une perte de l'inhibition de la xanthine oxydase dont le rôle est de bloquer l'action de l'enzyme qui synthétise l'AU par le NO et/ou une baisse du métabolisme oxydatif.

Dans ce travail, les effets des hydrolysats **HPS** et **HPA** sur les contenus en AU sérique ont été évalués pour leurs implications dans les changements possibles du statut antioxydant. Nos résultats montrent une diminution significative des teneurs sériques en AU chez le groupe **HPS** et en particulier chez le groupe **HPA**. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Ktari et al., (2015)** qui ont montré que le traitement des rats soumis à un régime hypercholestérolémique, avec 400 mg/Kg PC de rat d'hydrolysats de protéines de blennie zébrée (*Salaria basilisca*), diminue significativement le contenu sérique en AU, et elles sont en désaccord avec ceux de **Nasri et al., (2015)** qui ont rapporté chez des rats consommant un régime enrichi en lipides et en fructose, que l'administration de 400 mg/Kg PC de rat d'hydrolysats de protéines de gobie augmente les teneurs sérique en AU. L'explication possible de cette contradiction pourrait être due à la durée de traitement; en effet, nos hydrolysats (**HPS et HPA**) et ceux de **Ktari et al., (2015)** ont été administrés aux rats pendant 14 jours et 8 semaines respectivement, alors que ceux de **Nasri et al., (2015)** ont été administrés pendant 10 semaines, et/ou le type de protéases utilisées dans la préparation des hydrolysats protéiques. En effet, dans notre étude on a utilisé l'Alcalase 2,4L comme protéase, **Ktari et al., (2015)** ont utilisé des protéase alcalines brute extraites des viscères de la sardinelle, d'émissole lisse et de blennie zébrée, alors que **Nasri et al., (2015)** ont utilisé des protéases extraites à partir du *B. mojavensis* A21 et du baliste (*trigger fish*).

Pour assurer sa défense contre les attaques des radicaux libres, l'organisme possède un système enzymatique de protection; qui sont la paraoxonase-1, les superoxydes dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GSH-Px) et réductase (GSSH-Red), et la catalase (CAT), qui sont capables de piéger directement les radicaux prooxydants, et peuvent prévenir contre les maladies liées au stress oxydatif (**Otunola et al., 2014 ; Higashi et al., 2009**).

Dans ce travail, l'activité paraoxonase-1 sérique est améliorée chez les rats traités avec les hydrolysats de sardine et en particulier de sardinelle. L'augmentation de l'activité paraoxonase-1 chez ces deux groupes a probablement entrainer une réduction des teneurs en hydroperoxydes sériques comme le montrent nos résultats et notamment ceux de **Benomar et al., (2015)** au niveau des HDL. Ce qui laisse suggérer que les hydrolysats de protéines de poisson (**HPS et HPA**) peuvent stimuler et améliorer l'expression du gène de la paraoxonase-

1. En effet, **Durak *et al.*, (2004)** ont observé qu'un régime enrichi en cholestérol réduit significativement l'activité paraoxonase-1, associée avec une diminution de l'expression hépatique de cette protéine. De plus, **Jaouad *et al.*, (2003)** ont constaté à l'aide de différents systèmes d'induction d'oxydation des HDL (tel que l'oxydation induite par le radical hydroxyle (OH^\bullet) et l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$)) que le pouvoir antioxydant de la paraoxonase a été démontré, mais son activité diminuait rapidement, au fur et à mesure que la présence d'hydroperoxydes lipidiques augmentait. De même, il a été rapporté que l'élévation du contenu en peroxydes lipidiques est associée avec une réduction de l'activité paraoxonase-1 (**Rosenblat & Aviram, 2009 ; Aviram *et al.*, 2000**). Par ailleurs, la réduction des teneurs en monoxyde d'azote (NO) peuvent également expliquer l'augmentation de l'activité paraoxonase-1. En effet, **Ahmed *et al.*, (2001)** ont montré que la diminution des teneurs en NO va probablement entraîner une réduction du contenu en peroxy-nitrites connus par leurs capacité d'inhiber l'activité paraoxonase-1. **Takaeidi *et al.*, (2014)** ont montré également que l'augmentation de l'activité paraoxonase-1 sérique est peut être liée à l'inhibition de la synthèse du cholestérol.

D'autre part, il a été démontré que, en situation de stress oxydatif (tel un régime enrichi en cholestérol), la paraoxonase-1 peut être inactivée par S-glutathionylation. Cette inactivation entraîne la formation d'une liaison de disulfure entre le résidu de cystéine de la paraoxonase-1 et le glutathion oxydé (GSSG) (**Rozenberg & Aviram, 2006**). De ce fait, l'élévation de l'activité paraoxonase-1 est probablement due à une sur-activation du cycle oxydation/réduction du glutathion résultant d'une réduction efficace du glutathion oxydé par la glutathion réductase. Ces résultats laissent suggérer que les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier ceux de la sardinelle protègent les VLDL et les LDL contre les dommages oxydatifs résultant de l'alimentation riche en cholestérol, en améliorant l'activité paraoxonase-1.

Les érythrocytes représentent une cible privilégiée de l'oxydation des acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires, ce qui provoque leur dégradation et leur fragmentation (**Novo & Parola, 2008**). Dans une étude réalisée sur des patients atteints de maladies artério-coronariennes, la réduction de l'activité GSH-Px dans les érythrocytes a été associée à un risque accru des événements cardio-vasculaires (**Blankenberg *et al.*, 2003**). Notre étude a révélé que le traitement des rats soumis à un régime hypercholestérolémique avec les **HPS** et en particulier avec les **HPA** réduit les teneurs en TBARS et hydroperoxydes

au niveau des érythrocytes. Ces résultats pourraient être dues au fait que ces hydrolysats empêcheraient probablement l'oxydation des acides gras polyinsaturés (**Novo & Parola, 2008**) en améliorant les activités SOD, GSH-Px et CAT. En outre, les effets bénéfiques des **HPS** et en particulier les **HPA** ne sont pas limités aux érythrocytes, toutefois ils améliorent également les activités SOD, GSH-Px et CAT au niveau du cœur, de l'aorte, du foie et du muscle. Ces résultats suggèrent que les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle protègent les tissus contre les effets de la supplémentation du régime en cholestérol en réduisant la peroxydation lipidique tissulaire.

Il a été rapporté que la CAT et la GSH-Px jouent un rôle important dans la régulation du système du second messenger du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui joue un rôle crucial dans le contrôle du statut antioxydant cellulaire (**Forman et al., 2010 ; Linnane et al., 2007**). La SOD neutralise efficacement les ERO par la dismutation de l'anion superoxyde en H_2O_2 , concomitante avec la CAT et la GSH-Px qui jouent un rôle important dans le catabolisme du H_2O_2 et la détoxification métabolique endogène des peroxydes et hydroperoxydes (**Hong et al., 2014 ; Sanchez-Venegaser et al., 2009**). Dans ce travail, les activités SOD, CAT et GSH-Px ont été améliorées différemment par les **HPS** et les **HPA**. En effet, la plus grande activité GSH-Px de l'aorte était obtenue avec les **HPS**, alors que celle de la CAT de l'aorte et du foie a été obtenue avec les **HPA**. Cela suggère que ces hydrolysats de protéines de poisson agissent probablement par des mécanismes différents. En outre, l'activité GSSH-Red au niveau des érythrocytes et des tissus étudiés est augmentée simultanément avec celle de GSH-Px chez le groupe **HPS** en particulier chez le groupe **HPA**; ce qui indique que la régénération du glutathion oxydé en glutathion réduit est stimulée par les **HPS** et les **HPA** pour une défense antioxydante efficace. Ces résultats peuvent expliquer la faible peroxydation lipidique érythrocytaire et tissulaire et vont dans le même sens que ceux de **Lassoued et al., (2014)** qui ont montré chez le rat Wistar soumis à un régime enrichi en cholestérol (1%), que les hydrolysats de protéines de bogue augmentent l'activité GSSH-Red du foie. Dans une autre étude, **Halder et al., (2013)** ont observé une augmentation de l'activité CAT et SOD au niveau des érythrocytes avec les hydrolysats de protéines des carapaces de crevettes. De plus, **Ben khaled et al., (2012)** ont noté une élévation des activités CAT, SOD et GSH-Px hépatiques avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Par ailleurs, l'activité antioxydante qui était plus puissante avec les **HPA** pourrait probablement due à leurs teneurs élevées en taurine. Cet antioxydant naturel réagit avec des

aldéhydes toxiques tels que l'acétaldéhyde et le malondialdéhyde (**Bouckennooghe et al., 2006**) et inhibe probablement les modifications oxydatives des LDL (**Yamori et al., 2004**).

De plus, les effets protecteurs de ces deux hydrolysats de protéines de poisson pourraient probablement impliquer la régulation de la production des enzymes antioxydantes au niveau transcriptionnel tel que le facteur nucléaire : *Nuclear factor E2-related protein 2* (Nrf2). Le Nrf-2 est un facteur de transcription redox, activé par un stimulus d'oxydation dans le cytoplasme qui provoque sa translocation et migration vers le noyau où il se lie à des régions ADN/ARN (des éléments de réponse antioxydante), entraînant ainsi l'expression des enzymes cytoprotectrices comme la glutathion-S-transférase, les superoxydes dismutase, l'hème oxygénase-1, le NADPH quinone-oxydase (**Eggler et al., 2008**). En effet, il a été rapporté que l'activation de Nrf2 et l'induction de gènes antioxydants conféraient une protection antioxydante contre le stress oxydatif dans les cardiomyocytes des cellules musculaires lisses vasculaires et inhibe l'inflammation vasculaire (**Dreger et al., 2009**). De ce fait nos résultats permettent de suggérer que l'absorption des peptides bioactifs issus des hydrolysats de protéines de poisson (sardine et sardinelle) permet d'activer ce facteur de transcription nucléaire, et par conséquent sur-exprimer les enzymes antioxydantes, améliorant ainsi le statut antioxydant.

Les protéines constituent également les principales cibles biologiques pour les altérations dans les cellules en raison de leur grande abondance et leur susceptibilité à réagir rapidement avec les radicaux libres, principalement l'oxygène singulet (**Gracanin et al., 2011**). Plusieurs études ont montré que la production des carbonyles (marqueur de l'oxydation protéique) est associée à des phénomènes cellulaires normaux, tel que la différenciation cellulaire, et dépend de l'âge, des habitudes des espèces et des conditions de vie (**Purdel et al., 2014 ; Dayanand et al., 2012**). Cependant, la formation et l'accumulation des carbonyles sont augmentées dans certaines situations pathologiques telles que l'hypercholestérolémie, la dyslipidémie, le diabète et les MCV (**Purdel et al., 2014 ; Pirinccioglu et al., 2010 ; Serdar et al., 2006 ; Dalle-Donne et al., 2006b**).

Dans notre étude le traitement avec les hydrolysats **HPS** et **HPA** réduit significativement les contenus en dérivés carbonylés au niveau sérique, lipoprotéique et tissulaire. Ces résultats sont probablement dus à la diminution de la peroxydation lipidique comme l'indique les faibles valeurs des TBARS sériques, lipoprotéiques et tissulaires d'une part et/ou aux faibles teneurs des hydrolysats **HPS** et **HPA** en acides aminés aromatiques en particulier la tyrosine et le tryptophane, et en acides aminés soufrés, en particulier la

méthionine. En effet, des études ont montré que le MDA et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) qui représentent les produits majeurs de la peroxydation lipidique, sont capables de se fixer facilement et de manière covalente aux protéines par la formation des adduits avec les acides aminés, en particulier les acides aminés aromatiques (**Gattellier *et al.*, 2010**), la cystéine et la méthionine, qui sont les plus sensibles aux modifications de l'oxydation (**Zhang *et al.*, 2013**). Nos résultats indiquent que les hydrolysats de protéines de poisson **HPS** et **HPA** améliorent les dommages oxydatifs protéiques causés par les taux élevés en ERO induites par la supplémentation du régime en cholestérol.

Les cellules endothéliales du système vasculaire protègent contre la thrombose et l'athérosclérose. Un régulateur clé de la fonction endothéliale, l'oxyde nitrique (NO) est produit par l'enzyme Nitrique Oxyde Synthase endothéliale (eNOS) (**Alderton *et al.*, 2001**). Le NO vasculaire relaxe les vaisseaux sanguins, prévient l'agrégation plaquettaire, limite l'oxydation du C-LDL, inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et diminue l'expression des gènes pro-inflammatoires qui favorisent l'athérogénèse (**Förstermann, 2008**). Le stress oxydatif, entraîne une réduction de la biodisponibilité vasculaire du NO à cause de son inactivation oxydative rapide par l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). En outre, il est démontré que la persistance du stress oxydatif provoquera un dysfonctionnement de l'eNOS, de sorte qu'il ne produit plus de NO, mais l' $O_2^{\cdot-}$ (**Förstermann, 2008 ; Förstermann & Münzel, 2006**).

Les mécanismes potentiels par lesquels les facteurs de risque de l'athérosclérose et diverses MCV conduisent au découplage de l'eNOS et la dysfonction endothéliale ont été étudiés. En effet, dans de nombreux MCV, les NADPH oxydases sont hautement régulés dans la paroi vasculaire et génèrent l' $O_2^{\cdot-}$. Il a été rapporté dans le diabète sucré et l'hypertension expérimentaux que cette régulation est médiée par la protéine kinase C (PKC) (**Mollnau *et al.*, 2002**). Cette dernière est activée dans les maladies vasculaires, ce qui entraîne l'augmentation de l'expression de l'eNOS (**Li *et al.*, 1998**). De plus, il a été démontré que le H_2O_2 , produit de dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$, peut activer l'expression de l'eNOS par l'intermédiaire de mécanismes transcriptionnel et post-transcriptionnel (superoxyde dismutase) (**Drummond *et al.*, 2000**). L'élévation de l'expression de l'eNOS et de l'activité des NADPH oxydase par

la PKC et le H_2O_2 , entraînent une augmentation de la production du NO et de $l'O_2^{\cdot-}$, qui se recombinaient rapidement pour former le peroxynitrite ($ONOO^{\cdot-}$) (Förstermann, 2010).

Des études expérimentales ont révélé chez le rat Wistar que la supplémentation du régime en cholestérol (1% cholestérol et 0,5% d'acide cholique) pendant 1 mois, augmente les teneurs en NO du sérum, du foie, du cœur et du tissu adipeux (Mir *et al.*, 2014). La supplémentation des régimes en cholestérol semble avoir un effet négatif en augmentant le stress oxydatif, qui entraîne une production importante du NO et des ERO (en particulier $l'O_2^{\cdot-}$), ce qui favorise la production du $ONOO^{\cdot-}$ (Aiyegoro & Okoh, 2010 ; Gersch *et al.*, 2009 ; Napoli *et al.*, 2006). En effet, il a été démontré chez le rat, que la consommation d'un régime enrichi en cholestérol (2%), entraîne la production du $ONOO^{\cdot-}$ au niveau du cœur (Onody *et al.*, 2003).

Dans cette étude, le traitement avec les **HPS** et en particulier les **HPA**, réduit significativement le contenu en NO dans le sérum, les érythrocytes et les tissus étudiés. La réduction des teneurs en NO avec les **HPS** et en particulier les **HPA** laisse suggérer que ces hydrolysats peuvent corriger le stress oxydant induit par la supplémentation du régime en cholestérol. Nos résultats sont en accord avec ceux de Ben Khaled *et al.*, (2012) qui ont observé une diminution significative du contenu en NO hépatique chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol et traités avec des hydrolysats de protéines de sardinelle. De même, Kangsanant *et al.*, (2014) ont montré *in vitro* que les hydrolysats de protéines de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) possèdent une activité d'inhibition du NO. Le mécanisme impliqué dans la réduction du NO par les hydrolysats protéiques n'est pas connu. Cependant, la réduction des taux du NO est probablement due à une diminution de la synthèse du NO par l'eNOS et/ou une augmentation de son élimination (Cuevas & Germain, 2004). En effet, Ko & Jeon, (2015) ont montré *in vivo*, que les hydrolysats de protéines de l'Ascidie japonaise (*Styela clava*) réduisent la production hépatique du NO.

Il en ressort que le traitement avec les hydrolysats de protéines de sardine, et en particulier de sardinelle réduit efficacement l'attaque radicalaire au niveau sérique, lipoprotéique, érythrocytaire et tissulaire, en atténuant la peroxydation lipidique, l'oxydation protéique et les teneurs en NO, et en améliorant le système antioxydant des érythrocytes et des tissus étudiés (cœur, aorte, foie et muscle). Ces résultats suggèrent que ces composants peuvent protéger efficacement les tissus, en particulier les tissus cibles de

l'athérosclérose, contre les effets délétères de la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique.

CONCLUSION

Dans ce travail nous nous sommes proposés de vérifier si les hydrolysats de protéines de sardine (*Sardina pilchardus*) ou de sardinelle (*Sardinella aurita*) administrés à court terme peuvent améliorer le profil lipoprotéique et le statut antioxydant après 14 jours de traitement.

Il en ressort de cette étude que les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle n'ont influencé ni le poids corporel, ni la prise alimentaire, ni l'efficacité nutritionnelle du régime administré. Ceci peut s'expliquer en partie par les teneurs inchangées de la leptine, hormone connue pour son effet anorexigène. Cependant, la baisse sensible du poids relatif du foie et du tissu adipeux épидидymaire mais sans effet sur le poids corporel peut s'expliquer au moins chez les animaux traités avec les hydrolysats de protéines de sardinelle par la baisse du taux d'insuline, qui est une hormone antilipolytique.

De plus, nos hydrolysats et en particulier ceux de la sardinelle ont agi favorablement sur la fonction hépatique comme le montrent les faibles activités transaminases.

Nos résultats montrent en premier lieu que la supplémentation du régime en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique) a permis de provoquer en 14 jours une hypercholestérolémie chez le rat Wistar.

Après 14 jours de traitement, les résultats montrent que les hydrolysats de protéines de sardine et particulièrement ceux de la sardinelle, ont permis de moduler le métabolisme lipidique en prévenant l'augmentation du cholestérol causée par le régime hypercholestérolémiant. Cet effet hypocholestérolémiant est dû aux faibles contenus en cholestérol des VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₃ et s'exprime également par une diminution des teneurs en cholestérol au niveau hépatique.

De plus, les hydrolysats de protéines de sardine, mais surtout ceux de sardinelle ont un effet antiathérogène puisqu'ils sont responsables d'une distribution du cholestérol en faveur d'une diminution de la fraction VLDL qui est la fraction athérogène. Ce résultat est confirmé par la diminution des indices d'athérogénicité.

Par ailleurs, les mécanismes d'action mis en jeu dans cet effet hypocholestérolémiant semblent faire intervenir l'activité lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT), enzyme responsable du transport reverse du cholestérol vers le foie qui est significativement stimulée par les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle. En effet, ces derniers augmentent l'activité LCAT, enzyme clé impliquée dans le métabolisme du cholestérol, qui en estérifiant

le cholestérol des HDL permet de maintenir un gradient de cholestérol entre les cellules et les HDL. Ce qui va faciliter le transfert du l'excès de cholestérol des tissus périphériques vers les HDL pour être excrété par le foie sous forme de stérols biliaires.

Cependant, 14 jours de traitement avec les hydrolysats de protéines de sardine n'ont pas eu d'effet hypotriglycéridémiant alors que ceux de la sardinelle ont permis de réduire la triglycéridémie. Cette hypotriglycéridémie résulte de la diminution du contenu en TG de toutes les fractions de lipoprotéines.

Le traitement des rats hypercholestérolémiques avec l'hydrolysat de protéine de sardine est caractérisé par une forte activité paraoxonase qui contribuerait en partie à l'amélioration de la distribution et du métabolisme des lipides y compris du cholestérol.

En plus de leur effet hypocholestérolémiant, nous avons étudié le potentiel antioxydant des hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle en mesurant quelques marqueurs de l'oxydation et les activités des enzymes antioxydantes au niveau sérique et tissulaire.

Il apparaît que les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle pourraient jouer un rôle important dans la défense anti-radicalaire, en diminuant la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique, et en augmentant les activités des enzymes antioxydantes.

En effet, les résultats obtenus à **J₁₄** montrent une diminution de la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique au niveau sérique, au niveau des VLDL, des HDL et au niveau tissulaire. Ce qui indique que les hydrolysats de protéines de poisson limitent la peroxydation lipidique en stimulant l'activité paraoxonase chez les groupes traités avec les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle. De plus, nos hydrolysats protéiques ont stimulé les enzymes de la défense antioxydante (superoxydes dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réductase et catalase) au niveau érythrocytaire ainsi qu'au niveau des tissus cibles (aorte, cœur) de l'athérosclérose. Ce qui est en faveur d'une protection de ces tissus contre le stress oxydant.

Par ailleurs, la réduction des dérivés carbonylés au niveau sérique, lipoprotéique et tissulaire (cœur, foie et muscle) par les hydrolysats de protéines de poisson (sardine et sardinelle) résultent probablement de la diminution de la peroxydation lipidique.

L'administration des hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle, diminuent significativement les teneurs en monoxyde d'azote (NO) au niveau sérique, érythrocytaire et tissulaire (cœur, aorte, foie et muscle).

L'ensemble de ces résultats a permis de montré l'effet bénéfique des hydrolysats de protéines de sardine et particulièrement de sardinelle dans la prévention de l'hypercholestérolémie et le stress oxydant. Cependant, afin de confirmer tous ces effets il serait intéressant;

- D'identifier le (les) peptides bioactifs responsables de ces effets hypocholestérolémiantes et antioxydants et voir s'il est possible de les utilisés comme ingrédients fonctionnels dans les régimes alimentaires destinés aux sujets hypercholestérolémiques pour prévenir et/ou réduire, voire améliorer le profil lipidique et le statut antioxydant.
- D'étudier les mécanismes d'action moléculaires au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel agissant sur le métabolisme des lipides et le statut antioxydant.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Adler-Nissen J. (1986).** A review of food hydrolysis specific areas. In J. Adler-Nissen (Ed.), enzymatic hydrolysis of food proteins (pp. 57-109). Copenhagen, Denmark: Elsevier Applied Science Publishers. London and New York.
- **Aebi H. (1974).** Catalase. In: Berg Meyer H, editor. Methods of enzymatic analysis. 2nd ed. Weinheim: Verlag Chemie. p. 673-84.
- **Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) (2010).** Consommation des poissons, mollusques et crustacés : aspects nutritionnels et sanitaires pour l'Homme. Rapport. Maisons Alfort.
- **Ahmed Z., Ravandi A., Maguire G.F., Emili A., Draganov D., La Du B.N., Kuksis A., Connelly P.W. (2001).** Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (PON-1) during high density lipoprotein oxidation with a peroxynitrite donor. *J Biol Chem.* **276**: 24473-81.
- **Ahna C.B., Kim J.G., Je J.Y. (2014).** Purification and antioxidant properties of octapeptide from salmon byproduct protein hydrolysate by gastrointestinal digestion. *Food Chem.* **147**: 78-83.
- **Aït-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.
- **Aiyegoro O.A. & Okoh A.I. (2010).** Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* **10**: 21.
- **Alderman M. & Redfern J.S. (2004).** Serum uric acid-a cardiovascular risk factor. *Ther Umsch.* **61**: 547-552.
- **Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. (2001).** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J.* **357**: 593-615.
- **Aleman A., Giménez B., Pérez-Santín E., Gómez-Guillén M.C., Montero P. (2011a).** Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptides sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chemistry.* **125**: 334-341.
- **Aleman A., Pérez-Santín E., Bordenave-Juchereau S., Arnaudin I., Gomez-Guillin M.C. and Montero P. (2011b).** Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. *Food research International.* **44**: 1044-1051.
- **Al-Numair K.S. (2009).** Hypocholesterolemic and Antioxidant Effects of Garlic (*Allium sativum* L.) Extract in Rats Fed High Cholesterol Diet. *Pakistan Journal of Nutrition.* **8**(2): 161-166.

- **Aly Sadeek F.E. & Abd El Fatah Faïd S.M. (2015).** The Effect of Cocoa Powder, White Chocolate and Dark Chocolate on Oxidative Stress and Lipid Profile on Hypercholesterolemic Rats. *Journal of American Science*. **11**(4): 110-122.
- **Amiot J. & Brisson G.J. (1985).** L'utilisation des actions enzymatiques pour modifier la valeur nutritionnelle et propriétés fonctionnelles des matières protéiques végétales. livre: Protéines Végétales. p. 551-578.
- **Amom Z., Zakaria Z., Mohamed J., Azlan A., Bahari H., Baharuldin M., Aris-Moklas M., Osman K., Asmawi Z. & Hassan M. (2008).** Lipid lowering effect of antioxidant alphalipoic acid in experimental atherosclerosis. *J Clin Biochem Nutr*. **43**:88-94.
- **Amzal H. (2010).** Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. *Thèse de doctorat*, Discipline : Biologie, Spécialité : Biochimie-Pharmacologie.
- **Ascencio C., Torres N., Isoard-Acosta F., Gómez-Pérez F.J., Hernández-Pando R. and Tovar A.R. (2004).** Soy Protein Affects Serum Insulin and Hepatic SREBP-1 mRNA and Reduces Fatty Liver in Rats. *J. Nutr*. **134**(3): 522-529.
- **Athmani N., Boualga A., Lamri-Senhadj M. & Belleville J. (2005).** HDL₂, HDL₃ and LCAT activity in hypercholesterolemic rat fed a sardine protein. International conference; *Traditional Mediterranean diet: past, present and future*. Ed. Philipson and Konstantinid. P 109-112.
- **Athmani N., Dehiba F., Allaoui A., Barkia A., Bougatef A., Lamri-Senhadj M.Y., Nasri M. & Boualga A. (2015).** *Sardina pilchardus* and *Sardinella aurita* protein hydrolysates reduce cholesterolemia and oxidative stress in rat fed high cholesterol diet. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*. **5**(1): pp8.
- **Aviram M., Hardak E., Vaya J., Mahmood S., Milo S., Hoffman A., Billicke S., Draganov D., Rosenblat M. (2000).** Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON-1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation*. **101**: 2510-7.

B

- **Balti R., Nedjar-Arroume N., Bougatef A., Guillochon D., Nasri M. (2010).** Three novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from cuttlefish (*Sepia officinalis*) using digestive proteases. *Food Research International*. **43**(4): 1136-1143.
- **Barelli S., Canellini G., Thadikkaran L., Crettaz D., Quadroni M., Rossier J.S., Tissot J.D., Lion N. (2008).** Oxidation of proteins: Basic principles and perspectives for blood proteomics. *Proteomics Clinical Applications*. **2**(2): 142-157.
- **Bartlett T.C., Cuthbertson B.J., Shephard E.F., Chapman R.W., Grop P.S. & Wan G.W. (2002).** Crustins homologue of are 11, 5 –kDa antibacterial peptide, from

two species panaeid shrimp, *Litopenaeus Vannamei* and *litopenaeus setiferus*. *Marine biotechnology*. **4**: 278-293.

- **Basheeruddin Asdaq S.M. (2015).** Antioxidant and Hypolipidemic Potential of Aged Garlic Extract and Its Constituent, S-Allyl Cysteine, in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 328545, 7 pages.
- **Baudin B. (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt Cardio*. **2**(1): 43-52.
- **Beauchesne-Rondeau E., Gascon A., Bergeron J., Jacques H. (2003).** Plasma lipids and lipoproteins in hypercholesterolemic men fed a lipid-lowering diet containing lean beef, lean fish, or poultry. *Am J Clin Nutr*. **77**: 587-93.
- **Beaudeau J.L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A., Peynet J. (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immunologie et biologie spécialisée*.
- **Beevi S.S., Narasu M.L., Gowda B.B. (2010).** Polyphenolics Profile, Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Leaves and Stem of *Raphanus sativus* L. *Plant Foods For Human Nutrition*. **65**(1): 8-17.
- **Bellomo G. (2006).** Micro-albuminuria and uric acid in healthy subjects. *J Nephrol*. **19**: 458-464.
- **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 Research International*. **45**: 60-68.
- **Ben Khaled H., Ktari N., Ghorbel-Bellaaj O., Jridi M., Lassoued I., Nasri M. (2014).** Composition, functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. *Journal of Food Science and Technology*. **51**(4): 622-633.
- **Benomar S., Yahia S., Dehiba F., Guillen N., Jesús Rodriguez-Yoldi M., Osada J., Boualga A. (2015).** Differential antioxidative and hypocholesterolemic responses to two fish protein hydrolysates (*Sardina pilchardus* and *Boops boops*) in cholesterol-fed rats. *Nutrition & Food Science*. **45**(3).
- **Bielicki J.K. & Forte T.M. (1999).** Evidence that lipid hydroperoxides inhibit plasma lecithine: cholesterol acyltransferase activity. *J. lipid Res*. **40**: 948-54.
- **Blankenberg S., Rupprecht H.J., Bickel C., Torzewski M., Hafner G., Tiret L et al. (2003).** Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. **349**: 1605-13.
- **Blom D.J. (2011).** Familial hypercholesterolemia. *South African Family Practice*. **53**(1): 11-18.

- **Bolkent S.I., 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): 391-8.
- **Bouckennooghe T., Remacle C. & Reusens B. (2006).** Is taurine a functional nutrient? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* **9**: 728-733.
- **Bouderbala S., Lamri-Senhadj M., Boualga A., Bouchenak M., Belleville J. (2009).** Reverse cholesterol transport in hypercholesterolemia rats fed different proteins and lipids origins. *Nutr Food Sci.* **48**: 162-169.
- **Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y., Nasri M. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry.* **114**(4): 1198-1205.
- **Bougatef A., Nedjar-Arroume N., Manni L., Ravalec-Ple, R., Guillochon D., Barkia A., Nasri M. (2010a).** Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chemistry.* **118**: 559-565.
- **Bougatef A., Ravallec R., Nedjar-Arroume N., Barkia A., Guillochon D. & Nasri M. (2010b).** Evidence of in vivo satietogen effect and control of food intake of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysate in rats. *Journal of Functional Foods.* **2**: 10-16.
- **Bouglé D. (2007).** Peptides fonctionnels marins. *Phytothérapie.* Numéro Hors-Série: HS22-HS26.
- **Boukourt F.O., Girard A., Prost J.L., Ait-Yahia D., Bouchenak M., Belleville J. (2004).** Fish protein improves the total antioxidant status of streptozotocin-induced diabetes in spontaneously hypertensive rat. *Med Sci Monit.* **10**: 397-404.
- **Bursill C.A. & Roach P.D. (2006).** Modulation of cholesterol metabolism by the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in cultured human liver (HepG2) cells. *J Agric Food Chem.* **54**:1621-6.
- **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. *Biochemistry.* **71**: 741-746.
- **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**: 583-95.

C

- **Cadenas E. & Davies K.J. (2000).** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine.* **29**: 222-230.

- **Canabady-Rochelle L. & Hedhilib K. (2012).** Peptides issus des procédés d'hydrolyse : Filières Industrielles. *Colloque AdebioTech/SFGP, 2 et 3 octobre 2012.*
- **Chalamaiah M., Dinesh Kumar B., Hemalatha R., Jyothirmayi T. (2012).** Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chem.* **135**: 3020-3038.
- **Chen A. & Lacko M. (1986).** Determinations of endogenous cholesterol esterification by Lecithin: cholesterol acyltransferase in plasma. *Methods in enzymology.* **129**: 781-782.
- **Chi C.F., Cao Z.H., Wang B., Hu F.Y., Li Z.R. & Zhang B. (2014).** Antioxidant and Functional Properties of Collagen Hydrolysates from Spanish Mackerel Skin as Influenced by Average Molecular Weight. *Molecules.* **19**: 11211-11230.
- **Chiang J.Y.L. (2009).** Bile acids: regulation of synthesis. *J. Lipid Res.* **50**: 1955-1966.
- **Choi J.Y., Jeon J.E., Jang S.Y., Jeong Y.J., Jeon S.M., Park H.J., Choi M.S. (2011).** Differential effects of powdered whole soy milk and its hydrolysate on antiobesity and antihyperlipidemic response to high-fat treatment in C57BL/6N mice. *J Agric Food Chem.* **59**(6): 2584-91.
- **Claudel T., Inoue Y., Barbier O., Duran-Sandoval D., Kosykh V., Fruchart J., Fruchart J-C., Gonzalez F.J., Staels B. (2003).** Farnesoid X receptor agonists suppress hepatic apolipoprotein CIII expression. *Gastroenterology.* **125**(2): 544-555.
- **Cojocaru E., Filip N., Ungureanu C., Filip C., Danciu M. (2014).** Effects of Valine and Leucine on Some Antioxidant Enzymes in Hypercholesterolemic Rats. *Health.* **6**: 2313-2321.
- **Cortas N. & Wakid N. (1990).** Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin. Chem.* **36**:1440-1443.
- **Côté I., Ngo Sock E.T., Levy E., Lavoie J.M. (2013).** An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: effect of endurance training. *Eur J Nutr.* **52**(5): 1523-32.
- **Council of European Communities (1987).** Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. Official Journal European Communities (JO 86/609/CEE), L358, 1-28, *Corrigendum Official Journal* L 117 of 05.05.1987.
- **Cuevas A.M. & Germain A.M. (2004).** Diet and endothelial function. *Biol Res.* **37**: 225-30.

- **Dalle-Donne I., Aldini G., Carini M., Colombo R., Rossi R., Milzani A. (2006b).** Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J. Cell. Mol. Med.***10**: 389-406.
- **Dalle-donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A. (2006a).** Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.***52**: 601-623.
- **Darewicz M., Borawska J., Vegarud G.E., Minkiewicz P. & Iwaniak A. (2014).** Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activity and ACE Inhibitory Peptides of Salmon (*Salmo salar*) Protein Hydrolysates Obtained by Human and Porcine Gastrointestinal Enzymes. *Int. J. Mol. Sci.***15**: 14077-14101.
- **Davalos A., Miguel M. Bartolomé B., López-Fandiño R. (2004).** Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Protection.* **67**(9): 1939-1944.
- **Dayanand C.D., Pradeep K.V., Kutty A.V. (2012).** Protein carbonyl content as a stable oxidative stress marker in type II diabetes. *Int J Biol Med Res.* **3**(4): 2362-2365.
- **De Bose-Boyd R.A. (2008).** Feed Back regulation cholesterol synthesis: sterol-accelareted ubiquitination and degradation of HMG-CoA reductase. *Cell Research.* **18**: 609-621.
- **De Goede J., Geleijnse J.M., Boer J.M.A., Kromhout D., Verschuren W.M.M. (2010).** Marine (n-3) fatty acids, fish consumption, and the 10-year risk of fatal and nonfatal coronary heart disease in a large population of Dutch adults with low fish intake. *J Nutr.* **140**: 1023-1028.
- **Dejong C.H.C., van de Poll M.C.G., Soeters P.B., Jalan R. & Olde Damink S.W.M. (2007).** Aromatic amino acid metabolism during liver failure. *J Nutr.* **137**: 1579S-1585S.
- **Del Mar Yust M., Del Carmen Millan-Linares M., Alcaide-Hidalgo J.M., Millan F. and Pedroche J. (2012).** Hypocholesterolemic and antioxidant activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. *J Sci Food Agric.* **92**: 1994-2001.
- **Delattre J., Beaudeau J.L., Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier Ed TEC & DOC Paris, 1- 405.
- **Démarchez M. (2012).** Le vieillissement intrinsèque ou vieillissement chronologique. *Biologie de la peau.*
- **Di Bernardini R., Harnedy P., Bolton D., Kerry J., O'Neill E., Mullen A. M., Hayes M. (2011).** Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chemistry.* **124**(4): 1296-1307.
- **Direction de la pêche et des ressources halieutiques (DPRH) (2012).** Rapport sur les statistiques des pêches. *Edt 2012.*

- **Direction de la pêche et des ressources halieutiques (DPRH) (2013).** Rapport sur les statistiques des pêches. *Edt 2013*.
- **Direction de la pêche et des ressources halieutiques (DPRH). (2014).** Les secteurs de la pêche et de l'aquaculture en Algérie. *Capacités et perspectives. MPRH*.
- **Divakaran S. (2006).** Taurine: an amino acid rich in fish meal. *Avances Nutricion Acuicola VIII*. 310-317.
- **Dong S., Zeng M., Wang D., Liu Z., Zhao Y., Yang H. (2008).** Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*. **107**(4): 1485-1493.
- **Dreger H., Westphal K., Weller A., Baumann G., Stangl V., Meiners S. et al. (2009).** Nrf2-dependent upregulation of antioxidative enzymes: A novel pathway for proteasome inhibitor-mediated cardioprotection. *Cardiovasc Res*. **83**: 354-61.
- **Drummond G.R., Cai H., Davis M.E., Ramasamy S., Harrison D.G. (2000)** Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by hydrogen peroxide. *Circ Res*. **86**: 347-354.
- **Dumay J., Donnay-Moreno C., Barnathan G., Jaouen P., Bergé J.P. (2006).** Improvement of lipid and phospholipid recoveries from sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using industrial proteases. *Process Biochem*. In press.
- **Duncan D.B. (1955).** Multiple ranges and multiple range F-tests. *Biometrics*. **11**: 41-42.
- **Durak I., Ozbek H., Devrim E., Karagenç N., Ergüder I.B. (2004).** Effect of cholesterol supplementation on antioxidant enzymes activities in rat hepatic tissues: possible implications of hepatic paraoxonase in pathogenesis. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis*. **14**: 211-214.

E

- **Eggler A.L., Gay K.A., Mesecar A.D. (2008).** Molecular mechanisms of natural products in chemoprevention: induction of cytoprotective enzymes by Nrf2. *Mol Nutr. Food Res*. **52**(1): S84-S94.
- **Erdmann K., Cheung B.W., Schröder H. (2008).** The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **19**(10): 643-654.
- **Erdmann K., Grosser N., Schipporeit K., & Schroder H. (2006).** The ACE inhibitory dipeptide Met-Tyr diminishes free radical formation in human endothelial cells via induction of heme oxygenase-1 and ferritin. *The Journal of Nutrition*. **136**: 2148-2152.
- **Ezeukwu A.O. & Agwubike E.O. (2014).** Anthropometric measures of adiposity as correlates of atherogenic index of plasma in non-obese sedentary Nigerian males. *Libyan Journal of Medicine*. **9**: 23798.

- **Fahmi A., Morimura S., Guo H. C., Shigematsu T., Kida K. Uemura, Y. (2004).** Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sea bream scale. *Process Biochemistry*. **39**(10): 1195-1200.
- **FAO. (2013).** Le rôle de l'aquaculture dans l'amélioration de la nutrition: possibilités et défis. *comité des pêches. COFI:AQ/VII/2013/7*.
- **FAO. (2014).** Le commerce du poisson et la nutrition humaine. comité des pêches. *COFI:FT/XIV/2014/4*.
- **FAO. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. (2012).** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2012, Rome, FAO. **241** p.
- **Farvin K.H.S., Andersen L.L., Nielsen H.H., Jacobsen C., Jakobsen G., Johansson I., Jessen F. (2014).** Antioxidant activity of Cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysates: In vitro assays and evaluation in 5% fish oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*. **149**: 326-34.
- **Finley J.W., Kong A.N., Hintze K.J., Jeffery E.H., Ji L.L., Lei X.G. (2011).** Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. *J. Agric. Food Chem.* **59**: 6837-6846.
- **Folador J.F., Karr-Lilienthal L.K., Parsons C.M., Bauer L.L., Utterback P.L., Schasteen C.S., Bechtel P.J. and Fahey G.C. (2006).** Fish meals, fish components, and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. *Journal of Animal Science*. **84** (10): 2752-2765.
- **Folch J., Lees M. & Sloane Stanley G.H. (1957).** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. **226**: 497-50.
- **Forman H.J., Maiorino M., Ursini F. (2010).** Signaling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry*. **49**: 835-842.
- **Förstermann U. & Münzel T. (2006).** Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. **113**: 1708-1714.
- **Förstermann U. (2008).** Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. **5**: 338-349.
- **Förstermann U. (2010).** Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Eur J Physiol*. **459**: 923-939.
- **Fournier T. (2011).** Une sociologie de la décision alimentaire. L'observance diététique chez des mangeurs hypercholestérolémiques. *Pôle Tourisme – Alimentation – Santé*.

- **Garcia S M. & Rosenberg A.A. (2010).** Food security and marine capture fisheries: characteristics, trends, drivers and future perspectives. *Philosophical Transactions of The Royal Society B -Biological Sciences*. **365**(1554): 2869-2880.
- **Gatellier Ph., Kondjoyan A., Portanguen S., Santé-Lhoutellier V. (2010).** Effect of cooking on protein oxidation in n-3 polyunsaturated fatty acids enriched beef. Implication on nutritional quality. *Meat Science*. **85**: 645-650.
- **Gbogouri G.A., Linder M., Fanni J. & Parmentier M. (2004).** Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of Food Chemistry and Toxicology*. **69**(8): 615-622.
- **Genest J., McPherson R., Frohlich J. & al. (2009).** Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult-2009 recommendations. *Can J Cardiol*. **25**(10): 567-79.
- **Gersch C., Palii S.P., Imaram W., Kim K.M., Ananth Karumanchi S., Angerhofer A., Johnson R.J. & Henderson G.N. (2009).** Reactions of peroxynitrite with uric acid: formation of reactive intermediates, alkylated products and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. **28**(2): 118-149.
- **Giménez B., Alemán A., Montero P., Gómez-Guillén M.C. (2009).** Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chemistry*. **114** (3): 976-983.
- **Girardet J.P. (2012).** Bénéfices nutritionnels et risques potentiels de la consommation de poisson. *réalités pédiatriques*, 172-Septembre 2012.
- **Gonzalez-Pena D., Angulo J., Vallejo S., Colina-Coca C., de Ancos B., Sanchez-Ferrer C.F., Peiro C. & Sanchez-Moreno C. (2014).** High-cholesterol diet enriched with onion affects endothelium-dependent relaxation and NADPH oxidase activity in mesenteric microvessels from Wistar rats. *Nutrition & Metabolism*. **11**:57.
- **Gormley T.R., Neumann T., Fagan J.D., Bruton N.P. (2006).** Taurine content of raw and processed fish fillets/portions. *European Food Research and Technology*. **225**: 837-42.
- **Gracanin M., Lam M.A., Morgan P.E., Rodgers K.J., Hawkins C.L., Davies M.J. (2011).** Amino acid, peptide, and protein hydroperoxides and their decomposition products modify the activity of the 26S proteasome. *Free Radical Biology & Medicine*. **50**(2): 389-399.
- **Gudbrandsen O.A., Wergedahl H., Liaset B., Espe M. & Berge R.K. (2005).** Dietary proteins with isoflavone content or low methionine-glycine and lysine-arginine ratios are hypocholesterolemic and lower the plasma homocysteine level in male Zucker fa/fa rats. *Br J Nutr*. **94**: 321-326.

- **Guérard F., Decourcelle N., Sabourin C., Floch-Laizet C., Le Grel L., Le Floch P., Gourlay F., Le Delezir R., Jaouen P. et Bourseau P. (2010).** Recent developments of marine ingredients for food and nutraceutical applications: a review. *Journal des Sciences Halieutique et Aquatique*. **2**: 21-27.
- **Guérard F., Sellos D., Le Gal Y. (2005).** Fish and Shellfish Upgrading, Tracability. *In: Advances In Biochemical Engineering/Biotechnology*, Editions Springer, Le Gal et Ulber Eds. **96**: 127-163.
- **Guérard, F., Guimas L. et al. (2002).** Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **19-20**: 489-498.
- **Guillaume J., Kaushik S., Bergot P. & Métailler R. (1999).** Fabrication des farines de poisson et contrôle de qualité: Principales matières premières d'origine animale. *In : INRA (ed) Nutrition et alimentation des poissons et crustacés*. pp. (346-351).

H

- **Hageman J., Herrema H., Groen A.K., Kuipers F. (2010).** A Role of the Bile Salt Receptor FXR in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. **30**: 1519-1528.
- **Halder S.K., Adak A., Maity C., Jana A., Das A., Paul T., Ghosh A., Das Mohapatra P.K., Pati B.R., Mondal K.C. (2013).** Exploitation of fermented shrimp shells hydrolysates as functional food: Assessment of antioxidant, hypocholesterolemic and prebiotic activities. *Indian Journal of experimental biology*. **51**: 924-934.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. **62**(10): 628-638.
- **Halldorsdottir S.M., Sveinsdottir H., Freysdottir J., Kristinsson H.G. (2013).** Oxidative processes during enzymatic hydrolysis of cod protein and their influence on antioxidant and immunomodulating ability. *Food Chemistry*. **142**: 201-209.
- **Halldorsdottir S.M., Jonsdottir D.R., Kristinsson H.G., Geirsdottir M., Kuttner E. (2014).** Comparing the effect of three antioxidants; Fucus vesiculosus extract, Rosemary extract and L-Ascorbic acid, during hydrolysis of Lumpfish head. *Seafood science of a changing demand*, 44th WEFTA meeting, 9-11 Juin bilbao, Spain.
- **Hallliwell B. & Gutteridge J.M.C. (2007).** Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*. 20-3.
- **Hamaguchi, (2008).** Bioactivity of saithe (*Pollachius virens L.*) protein hydrolysates. *5th world fisheries congress*, 21-24.
- **Hamza-Reguig S., Louala S., Boualga A. & Lamri-Senhadj M.Y. (2013).** Effect of sardine protein on redox status in hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Food Science*. **43**(3): 277-284.

- **Hartmann R. & Meisel H. (2007).** Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*. **18**: 163-169.
- **Hassan S., Abd El-Twab S., Hetta M., Mahmoud B. (2011).** Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus. *Saudi Journal of Biological Sciences*. **18**(4): 333-340.
- **He X., Cao W., Zhao Z., Zhang C. (2013).** Analysis of protein composition and antioxidant activity of hydrolysates from *Paphia undulate*. *Journal of Food and Nutrition Research*. **1**(3): 30-36.
- **Heinig M. & Johnson R.J. (2006).** Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome. *Cleve Clin J Med*. **73**: 1059-1064.
- **Heneman K.M., Chang H.C., Prior R.L., Steinberg F.M. (2007).** Soy protein with and without isoflavones fails to substantially increase postprandial antioxidant capacity. *Journal of Nutritional Biochemistry*. **18**: 46-53.
- **Hermes-Lima M., William G. Willmore. & Kenneth B. (1995).** Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III) xylenol orange complex formation. *Free Radical Biology and Medicine*. **19**: 271-280.
- **Hernandez-Ledesma B., Davalos A., Bartolomé B. & Amigo L. (2005).** Preparation of Antioxidant Enzymatic Hydrolysates from α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin. Identification of Active Peptides by HPLC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* **53** (3): 588-593.
- **Higashi Y., Noma K., Yoshizumi M., Kihara Y. (2009).** Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J*. **73**(3): 411-418.
- **Himaya S.W.A., Ngo D.H., Ryu B., Kim S.K. (2012).** An active peptide purified from gastrointestinal enzyme hydrolysate of Pacific cod skin gelatin attenuates angiotensin-1 converting enzyme (ACE) activity and cellular oxidative stress. *Food Chemistry*. **132**(4):1872-1882.
- **Hong I.S., Lee H.Y., Kim H.P. (2014).** Anti-Oxidative Effects of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*) on Immobilization-Induced Oxidative Stress in Rat Brain. *PLoS One*. **9**(1): 87061.
- **Horton J.D., Goldstein J.L., Brown M.S. (2002).** SREBPs: Activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest*. **109**: 1125-1131.
- **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.
- **Hosomi R., Fukunaga K., Arai H., Kanda S., Nishiyama T. & Yoshida M. (2013).** Effect of combination of dietary fish protein and fish oil on lipid metabolism in rats. *J Food Sci Technol*. **50**(2): 266-274.

- **Hosomi R., Fukunaga K., Arai H., Kanda S., Nishiyama T. & Yoshida M. (2012).** Fish Protein Hydrolysates Affect Cholesterol Metabolism in Rats Fed Non-Cholesterol and High-Cholesterol Diets. *Journal of Medicinal Food*. **15**(3): 299-306.
- **Hosomi R., Fukunaga K., Arai H., Kanda S., Nishiyama T., & Yoshida M. (2011).** Fish Protein Decreases Serum Cholesterol in Rats by Inhibition of Cholesterol and Bile Acid Absorption. *Journal of Food Science*. **76** (4): 116-121.
- **Howard A. & Udenigwe C.C. (2013).** Mechanisms and prospects of food protein hydrolysates and peptide-induced hypolipidaemia. *Food Funct*. **4**: 40-51.
- **Hoyle N. & Merritt J.H. (1994).** Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *J. of Food Sci*. **59**(1): 76-79.
- **Hu Y.W. Zheng L. & Wang Q. (2010).** Regulation of cholesterol homeostasis by liver X receptors. *Clinica Chimica Acta*. **411**: 617-625.

I

- **Infofish International. (2002).** Nouveaux produits, nouvelles découvertes et nouvelles technologies. *infofish international*. **5** :75.
- **Inoue N., Nagao K., Sakata K., Yamano N., Gunawardena P.E.R., Han S.Y., Matsui T., Nakamori T., Furuta H., Takamatsu K. and Yanagita T. (2011).** Screening of soy protein-derived hypotriglyceridemic di-peptides in vitro and in vivo. *Lipids Health Dis*. **10**: 85.
- **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**: 623-630.

J

- **Jaouad L., Milochkevitch C., Khalil A. (2003).** PON1 paraoxonase activity is reduced during HDL oxidation and is an indicator of HDL antioxidant capacity. *Free Radic Res*. **37**: 77-83.
- **Je J.Y., Lee K.H., Lee M. H., Ahn C.B. (2009).** Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. *Food Research International*. **42** (9): 1266-1272.
- **Jellinger P.S., Smith D.A., Mehta A.E., Handelsman Y., Rodbard H.W., Shepherd M.D., Seibel J.A . (2012).** AACE Task Force for the Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis Writing Committee. *Endocr Prat*. **18**(1): 3.
- **Jensen-Urstad A.P.L. & Semenkovich C.F. (2012).** Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: housekeeper or messenger? *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. **1821**: 747-753.

- **Jia L., Fu M., Tian Y., Xu Y., Gou L., Tian H. & Tian L. (2007).** Alterations of high-density lipoprotein subclasses in hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia. *Int J Cardiol.* **120**: 331-337.
- **Jiangwei M., Zengyong Q. & Xia X. (2011).** Aqueous extract of *Astragalus mongholicus* ameliorates high cholesterol diet induced oxidative injury in experimental rats models. *J Med Plants Res.* **5**: 855-858.
- **Jo H.Y., Jung WK. & Kim S.K. (2008).** Purification and characterization of a novel anticoagulant peptide from marine echiuroid worm, *Urechis unicinctus*. *Process Biochemistry.* **43**: 179-184.
- **Johnson I.R., Sautin Y.Y., Olivier W.J., Roncal C., Mu W., Gabriela Sanchez-Lozada L., Rorriguez-Iturbe B. Nakagawa T., Benner S.A. (2009).** Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society. *J Comp Physiol B.* **197**: 67-6.
- **Jones D.P. (2006).** Redefining oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal.* **8**: 1865-1879.

K

- **Kangsant S., Murkovic M. & Thongraung C. (2014).** Antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate: effect of ultrasonic pretreatment and ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. *International Journal of Food Science & Technology.* **49**(8): 1932-1938.
- **Kannan A., Hettiarachchy N.S., Marshall M., Raghavan S., Kristinsson H. (2011).** Shrimp shell peptide hydrolysates inhibit human cancer cell proliferation. *J. Sci. Food Agric.* **91**: 1920-4.
- **Karlsson H., Lindqvist H., Tagesson C. & Lindahl M. (2006).** Characterization of apolipoprotein M isoforms in low-density lipoprotein. *J Proteome Res.* **10**: 2685-2690.
- **Kechaou E.S., Dumay J., Donnay-Moreno C., Jaouen P., Gouygou J.P., Bergé J.P., Amar R.B. (2009).** Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* **107**: 158-164.
- **Kim S.K. & Mendis E. (2006).** Bioactive compounds from marine processing by-products, a review. *Food Research International.* **39**: 383-393.
- **Kim S.K. & Wijesekara I. (2013).** Marine-derived Peptides: Development and Health Prospects. Marine Proteins and Peptides: *Biological Activities and Applications, First Edition. Edited by Se-Kwon Kim.* PP 4.
- **Kim S.K., Kim Y.T., Byun H.G., Nam K.S., Joo D.S., Shahidi F. (2001).** Isolation and characterization of antioxydatif peptides from gelatin hydrolysate of Alaska Pollack. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **49**: 1984-1989.

- **Kim S.Y., Je J.Y., & Kim S.K. (2007).** Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **18**: 31-38.
- **Kishida T., Ishikawa H., Tsukaoka M., Ohga H., Ogawa H., Ebihara K. (2003).** Increase of bile acids synthesis and excretion caused by taurine administration prevents the ovariectomy-induced increase in cholesterol concentrations in the serum low-density lipoprotein fraction of Wistar rats. *J Nutr Biochem*. **14**(1): 7-16.
- **Ko S-C. & Jeon Y-J. (2015).** Anti-inflammatory effect of enzymatic hydrolysates from *Styela clava* flesh tissue in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and in vivo zebrafish model. *Nutr Res Pract*. **9**(3): 219-226.
- **Kongo-Dia-Moukala J.U., Nsor-Atindana J. and Zhang H. (2011b).** Hypocholesterolemic Activity and Characterization of Protein Hydrolysates from Defatted Corn Protein. *Asian J Biochem*. **6**: 439-449.
- **Kongo-Dia-Moukala J.U., Zhang H. and Irakoze P.C. (2011a).** In Vitro Binding Capacity of Bile Acids by Defatted Corn Protein Hydrolysate. *Int. J. Mol. Sci*. **12**: 1066-1080.
- **Kotzamanis Y.P., Gisbert E., Gatesoupe F.J., Zambonino Infante J., Cahu C. (2007).** Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comparative biochemistry and physiology*. **147**: 205-14.
- **Ktari N., Belguith-Hadriche O., Ben Amara I., Ben Hadj A., Turki M., Makni-Ayedi F., Boudaouara T., El Feki A., Boualga A., Ben Salah R., Nasri M. (2015).** Cholesterol regulatory effects and antioxidant activities of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in cholesterol-fed rats. *Food Funct*. **6**(7): 2273-2282.
- **Ktari N., Mnafigui K., Nasri R., Hamden K., Bkhairia I., Ben Hadj A., Boudaouara T., Elfeki A., Nasri M. (2013).** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats. *Food Funct*. **4**(11): 1691-9.
- **Kuo C.L. & La Du B.N. (1995).** Comparison of purified human and rabbit serum paraoxonases. *Drug Metab Dispos*. **23**: 935-944.

L

- **Larsson S.C., Virtamo J., Wolk A. (2011).** Fish consumption and risk of stroke in Swedish women. *Am J Clin Nutr*. **93**: 487-493.
- **Lassoued I., Trigui M., Ghilissi Z., Nasri R., Jamoussi K., Kessis M., Sahnoun Z., Rebai T., Boualga A., Lamri-Senhadj M., Nasri M. & Barkia A. (2014).** Evaluation of hypocholesterolemic effect and antioxidant activity of *Boops boops* proteins in cholesterol-fed rats. *Food Funct*. **5**: 1224-1231.

- **Ledwozyw A., Michalak J., Stepien A. & Kadziolka A. (1986).** The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. **155**: 275-83.
- **Lefebvre P., Cariou B., Lien F., Kuipers F. & Staels B. (2009).** Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev*. **1**: 147-191.
- **Lefèvre G., Beljean-Leymarie M., Beyerle F., Bonnefont-Rousselot D., Cristol J.P., Thérond P., Torreilles J. (1998).** Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Annales de Biologie Clinique*. **56**(3): 305-19.
- **Letendre J. (2009).** Effets combinés de l'intertidalité et de la contamination chimique chez *Mytilus edulis* : Mécanismes enzymatiques antioxydants et approche protéomique. Thèse Biologie des Organismes Spécialité Ecotoxicologie-Ecophysiologie. *Université du havre*.
- **Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S. & Stadtman ER. (1990).** Determination of carbonyls content in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol*. **186**: 464-478.
- **Li C., Haug T., Styrvol O.B., Jorgensen T.O. & Stensvag K. (2008).** Strongylocins, novel antimicrobial peptides from the green sea urchin. Development and Comparative. *Immunology*. **32**: 1430-1440.
- **Li H., Oehrlein S.A., Wallerath T., Ihrig-Biedert I., Wohlfart P., Ulshofer T., Jessen T., Herget T., Forstermann U., Kleinert H. (1998).** Activation of protein kinase C alpha and/or epsilon enhances transcription of the human endothelial nitric oxide synthase gene. *Mol Pharmacol*. **53**: 630-637.
- **Liaset B., Julshamn K., Espe M. (2003).** Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymatic hydrolysis of salmon frames with Protamex. *Process Biochemistry*. **38**: 1747-1759.
- **Liaset B., Madsen L., Hao Q., Criaes 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 and Biophysica Acta*. **1791**: 254-262.
- **Linnane A.W., Kios M., Vitetta L. (2007).** Healthy aging: Regulation of the metabolome by cellular redox modulation and prooxidant signaling systems: The essential roles of superoxide anion and hydrogen peroxide. *Biogerontology*. **8**: 445-67.
- **Liu F., Liu C-E., Loren D., Zhang X., Fu Z. (2012).** Evaluation of the Antioxidant Activity of Collagen Peptide Additive Extracted from Cod Skin. *Journal of Environmental Protection and Ecology*. **13**(3A): 1836-1841.
- **Liu Q., Kong B., Xiong Y.L., Xia X. (2010).** Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysates as influenced by the degree of hydrolysis. *Food Chemistry*. **118**: 403-410.

- **Liu Z., Dong Z., Xu J., Zeng M., Son H. and Zhao Y. (2008).** Production of cysteine-rich antimicrobial peptide by digestion of oyster (*Crassostrea gigas*) with alcalase and bromelin. *Food control*. **19**: 231-235.
- **Lonn E., Bosch J., Yusuf S., Sheridan P., Pogue J., Arnold J.M., Ross C., Arnold A., Sleight P., Probstfield J., Dagenais G.R. (2005).** Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA*. **293**: 1338-1347.
- **Lopez-Alarcon C. & Denicola A. (2012).** Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*. pp 10.
- **Loulala S., Lamri-Senhadj 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**: 321-328.
- **Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.I. (1951).** Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.

M

- **Ma Y. & Xiong Y.L. (2009).** Antioxidant and bile acid binding activity of buckwheat protein in vitro digests. *J. Agric. Food Chem.* **57**(10): 4372-4380.
- **Macarulla M.T., Medina C., Aranzazu De Diego M., Chavarri M., Angeles Zulet M., Martinez J.A., Noel-Suberville C., Higuere P. & Portillo M.P. (2001).** Effects of the whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolemic rats. *British Journal of Nutrition*. **85**: 607-614.
- **Madani Z., Louchami K., Sener A., Malaisse W. J., Ait Yahia D. (2012).** Dietary sardine protein lowers insulin resistance, leptin and TNF- α and beneficially affects adipose tissue oxidative stress in rats with fructose-induced metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Medicine*. **29**: 311-318.
- **Maloney P.R., Parks D.J., Haffner C.D., Fivush A.M., Chandra G., Plunket K.D., Creech K.L., Moore L.B., Wilson J.G., Lewis M.C., Jones S.A. & Willson T.M. (2000).** Identification of a chemical tool for the orphan nuclear receptor fxr. *J Med Chem*. **16**: 2971-2974.
- **Marshall W.J. et al. (2005).** Biochimie médicale. Elsevier SAS.
- **Matarese M. (2015).** Au port d'Alger, le poisson vaut de l'or. *Visa pour l'Algérie*.
- **Mazzone T. (2007).** HDL cholesterol and atherosclerosis. *The Lancet*. **370**: 107-110.
- **McEwen B., Morel-Kopp M-C., Tofler G., Ward C. (2010).** Effect of omega-3 fish oil on cardiovascular risk in diabetes. *Diabetes Educ*. **36**: 565-84.

- **Megias C., Pedroche J., Del Mar Yust M., Alaiz M., Giron-Calle J., Millan F. and Vioque J. (2009).** Sunflower protein hydrolysates reduce cholesterol micellar solubility. *Plant Foods Hum Nutr.* **64**: 86-93.
- **Mellouk Z., Ait-Yahia D., Boukortt F.O. Benaicha 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.
- **Mendis E., Rajapakse N., Byun H.G., Kim S.K. (2005b).** Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. *Life Science.* **77**(17): 2166-2178.
- **Mendis E., Rajapakse N., Kim S.K. (2005a).** Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **53**: 581-587.
- **Michel F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Draï J., Thérond P. (2008).** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique: aspects analytiques. *Ann Biol clin.* **66**(6): 605-20.
- **Milan B.Z., Marija B., Jelena I., Jelena J., Marija D., Radmila M., Baltić T. (2014).** Bioactive peptides from meat and their influence on human health. *Tehnologija mesa.* **55**(1): 8-21.
- **Millane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur.* 13- 36.
- **Miller M., Stone N.J., Ballantyne C., Bittner V., Criqui M.H., Ginsberg H.N., Goldberg A.C., Howard W.J., Jacobson M.S., Kris-Etherton P.M. et al. (2011).** Triglycerides and Cardiovascular Disease. *Circulation.* **123**: 2292-2333.
- **Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques (MPRH) (2015).** Déficit annuel de 100 000 tonnes de sardines. *Les Echos d'Algérie ; Economie.*
- **Mir H., Krouf D., Taleb-Senouci D. & Taleb-Dida N. (2015).** Combined Treatment with Sardine Proteins and Citrus latifolia Extract Corrects Dyslipidemia, Prevents Lipid Peroxidation and Improves Lecithin: Cholesterol Acyltransferase and Paraoxonase 1 Activities in Hypercholesterolemic Rats. *British Journal of Applied Science & Technology.* **7**(2): 156-167.
- **Mir H., Krouf D., Taleb-Senouci D. (2014).** Beneficial effects of sardine proteins combined with Citrus latifolia extract on lipid profile and tissues redox status in rats fed a high-cholesterol diet. *J Food Nutr Disord.* **3**(2): pp10.
- **Mollnau H., Wendt M., Szocs K., Lassegue B., Schulz E., Oelze M., Li H., Bodenschatz M., August M., Kleschyov A.L., Tsilimingas N., Walter U., Forstermann U., Meinertz T., Griendling K., Munzel T. (2002).** Effects of angiotensin II infusion on the expression and function of NAD(P)H oxidase and components of nitric oxide/cGMP signaling. *Circ Res.* **90**: E58-E65.

- **Mongens M. (2013).** Origines et conséquences du stress oxydant. Thèse de doctorat vétérinaire de l'école nationale vétérinaire d'Alfort. *La faculté de médecine de Créteil, France.*
- **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.

N

- **Nakade K., Kaneko H., Oka T., Ahhmed A.M., Muguruma M., Numata M. and Nagaoka S. (2009).** A Cattle Heart Protein Hydrolysate Ameliorates Hypercholesterolemia Accompanied by Suppression of the Cholesterol Absorption in Rats and Caco-2 Cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* **73**: 607-612.
- **Napoli C., de Nigris F., Williams-Ignarro S., Pignalosa O., Sica V., Ignarro L.J. (2006).** Nitric oxide and atherosclerosis: An update. *Nitric Oxide.* **15**: 265-279.
- **Nasri R., Abdelhedi O., Jemil I., Daoued I., Hamden K., Kallel C., Elfeki A., Lamri-Senhadj M., Boualga A., Nasri M., Karra-Châabouni M. (2015).** Ameliorating effects of goby fish protein hydrolysates on high-fat-high-fructose diet-induced hyperglycemia, oxidative stress and deterioration of kidney function in rats. *Chemico-Biological Interactions.* **242**: 71-80.
- **Nazeer R.A., Sampath Kumar N.S. & Jai Ganesh R. (2012).** In vitro and in vivo studies on the antioxidant activity of fish peptide isolated from the croaker (*Otolithes ruber*) muscle protein hydrolysate. *Peptides.* **35** (2): 261-268.
- **Novo E. & Parola M. (2008).** Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair.* **1**: 5.

O

- **Ockerman H.W. (1992).** "Fishery by-products". Fish Processing technology. *Blackie Academic & Professional, Hall G. M. Ed., London*: 155-190.
- **Ohara Y., Peterson T.E. & Harrison D.G. (1993).** Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest.* **91**: 2546-2551.
- **Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. (1979).** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* **85**: 351-58.
- **Oliver J. (2007).** Uric acid and the development of hypertension. *Kidney Int.* **71**:193-194.
- **Onody A., Csonka C., Giricz Z. Ferdinandy P. (2003).** Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxynitrites formation in rat hearts. *Card Research.* **58**: 663-70.
- **Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2009).** Fiche thématique sur les maladies cardiovasculaires.

- **Osajima K., Ninomiya T., Harwood M., Danielewska-Nikiel B. (2009).** Safety evaluation of a peptide product derived from sardine protein hydrolysates (valtyron). *Int J Toxicol.* **28**(5): 341-56.
- **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**: 2203-2209.
- **Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T., Afolayan A.J. (2014).** Selected spices and their combination modulate hypercholesterolemia-induced oxidative stress in experimental rats. *Biol Res.* **47**(1): 5.
- **Ouellet V., Weisnagel J., Marois J., Bergeron J., Julien P., Gougeon R., Tchernof A., Holub B., Jacques H. (2008).** Dietary cod protein reduces plasma C-reactive protein in insulin-resistant men and women. *J Nutr.* **138**: 2386-91.
- **Owen J.L., Zhang Y., Bae S-H., Farooqi M.S., Liang G., Hammer R.E., Goldstein J.L. & Brown M.S. (2012).** Insulin stimulation of SREBP-1c processing in transgenic rat hepatocytes requires p70 S6-kinase. *PNAS.* **109**(40): 16184-16189.
- **Ozer J., Ratner M., Shaw M., Bailey W., Schomaker S. (2008).** The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology.* **245**(3): 194-205.

P

- **Pacheco-Aguilar R., Mazonra-Manzano M.A., Ramírez-Suárez J.C. (2008).** Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry.* **109**(4): 782-789.
- **Pandya N., Santani D. & Jain S. (2006).** Antioxidant activity of ezetimibe in hypercholesterolemic rat. *Indian J Pharmacol.* **38**: 205-206.
- **Park Y., Park E-M., Kim E-H. & Chung I-M. (2014).** Hypocholesterolemic metabolism of dietary red pericarp glutinous rice rich in phenolic compounds in mice fed a high cholesterol diet. *Nutrition Research and Practice.* **8**(6): 632-637.
- **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. (2014).** A Salmon Protein Hydrolysate Exerts Lipid-Independent Anti-Atherosclerotic Activity in ApoE-Deficient Mice. *plos one.* **9**(5): 97598.
- **Penda R.E. (2008).** Contribution à la valorisation des protéines d'hydrolysats obtenues par hydrolyse enzymatique des coproduits (squelette) de la sole tropicale: *Cynoglossus senegalensis* au Sénégal. *Thèse : méd. vét. Dakar.* **22**: 96.
- **Peterson, H.C. & Fronc K. (2007).** Fishing for consumers: market-driven factors affecting the sustainability of the fish and seafood supply chain. In W.W. Taylor,

M.G. Schechter & L.G. Wolfson, eds. *Globalization: effects on fisheries resources*. pp. 424-452. Cambridge, UK, Cambridge University Press.

- **Picot L., Bordenave S., Didelot S., Fruitier-Arnaudin I., Sannier F., Thorkelsson G., Bergé J.P., Guérard F., Chabeaud A. and Piot J. M. (2006).** Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. *Process Biochemistry*. **41**(5): 1217-1222.
- **Pineda Torra I., Claudel T., Duval C., Kosykh V., Fruchart J.C., Staels B. (2003).** Bile Acids Induce the Expression of the Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Gene via Activation of the Farnesoid X Receptor. *Mol. Endocrinol.* **17**: 259-272.
- **Pirinccioglu A.G., Gökalp D., Pirinccioglu M., Kizil G., Kizil M. (2010).** Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia. *Clinical Biochemistry*. **43**(15): 1220-1224.
- **Porez G., Prawitt J., Gross B. and Staels B. (2012).** Bile acid receptors as targets for the treatment of dyslipidemia and cardiovascular disease. *J. Lipid Res.* **53**: 1723-1737.
- **Powers S.K., Smuder A.J., Kavazis A.N., Hidson M.B. (2010).** Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. **20**: 2-4.
- **Purdel N.C., Margina D. & Ilie M. (2014).** Current Methods Used in the Protein Carbonyl Assay. *Annual Research & Review in Biology*. **4**(12): 2015-2026.

Q

- **Qian Z.J., Je J.Y., Kim S.K. (2007).** Antihypertensive effect of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from hydrolysates of bigeye tuna dark muscle, *Thunnus obesus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**: 8398-8403.
- **Qian Z.J., Jung W.K., Kim S.K. (2008).** Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysates of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw. *Bioresour Technology*. **99**: 1690-1698.
- **Quintanilha A.T., Packer L., Szyszlo J.M., Racanelly T.L. & Davies K.J. (1982).** Membrane effects of vitamin E deficiency bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **393**: 32-37.

R

- **Rajab T.M.A. (2012).** Comparative study for atherogenic index of plasma (AIP) in patients with type I diabetes mellitus, Type 2 diabetes mellitus beta thalassemia and hypothyroidism. *Int J Chem Res*. **2**: 1-9.

- **Rajapakse N., Mendis E., Byun H. G. & Kim S. K. (2005).** Purification and in vitro antioxidative effects of giant squid muscle peptides on free radical-mediated oxidative systems. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **16**: 562-569.
- **Rajaram D. & Nazeer R.A. (2010).** Antioxidant Properties of Protein Hydrolysates Obtained from Marine Fishes *Lepturacanthus savala* and *Sphyrna barracuda*. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*. **6**(3): 435-444.
- **Ranathunga S., Rajapakse N., Kim S.K. (2006).** Purification and characterization of antioxidative peptide derived from muscle of conger eel (*Conger myriaster*). *European Food Research and Technology*. **222** (3-4): 310-315.
- **Ravallec-Plé R. (2000).** Valorisation d'hydrolysats d'origine marine: optimisation de la concentration en peptides apparentés aux facteurs de croissance et aux agents sécrétagogues. *Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale*, 171 pp.
- **Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y. (2012).** Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. **24**: 981-90.
- **Reidelberger R., Haver A., Chelikani P.K., Apenteng B., Perriotte-Olson C., Anders K., Steenson S., Blevins J.E. (2012).** Effects of leptin replacement alone and with exendin-4 on food intake and weight regain in weight-reduced diet-induced obese rats. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. **302** (12): E1576-E1585.
- **Renard P., Percherancier Y., Kroll M., Thomas D., Virelizier J.L., Arenzana-Seisdedos F., Bachelier F. (2000).** Inducible NF-kappa B activation is permitted by simultaneous degradation of nuclear I kappa B alpha. *J. Biol. Chem*. **275**: 15193-15199.
- **Rieu D. (2012).** Composition des poissons : protéines, lipides, vitamine D, iode. *Arch Pediatr*. **19**: 36-37.
- **Roosha P. & Parloop B. (2010).** Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid and Cardiovascular Disease: A review. *Gujarat Medical Journal*. **65** (2): 66-70.
- **Rosenblat M. & Aviram M. (2009).** Paraoxonases role in the prevention of cardiovascular diseases. *Bio-Factors*. **35**(1): 98-104.
- **Rosenson R.S., Brewer H.B., Davidson W.S., Fayad Z.A., Fuster V., Goldstein J., Hellerstein M., Jiang X.C., Phillips M.C., Rader D.J., Remaley A.T., Rothblat G.H., Tall A.R., Yvan-Charvet L. (2012).** Efflux du cholestérol cellulaire et athéroprotection Nouveaux éléments à l'appui du concept de transport inverse du cholestérol. *Circulation*. **125**: 1905-1919.
- **Roy P. & Durand P. (1997).** Les enzymes dans la fabrication d'aliments à base de produits de la mer. *Enzymes en agroalimentaire, TEC & DOC, Lavoisier Ed*: 95-120.

- **Rozenberg O. & Aviram M. (2006).** S-Glutathionylation regulates HDL Associated paraoxonase-1 (PON-1) activity. *Biochem Biophys Res Commun.* **351**: 492-8.
- **Rubbo H. & O'Donnell V. (2005).** Nitric oxide, peroxynitrite and lipoxygenase in atherogenesis: mechanistic insights. *Toxicology.* **208**: 305-17.

S

- **Saeedi R., Li M., Frohlich J. (2015).** A review on lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency. *Clinical Biochemistry.* **48**: 472-475.
- **Saito M., Kiyose C., Higuchi T., Uchida N. & Suzuki H. (2009).** Effect of Collagen Hydrolysates from Salmon and Trout Skins on the Lipid Profile in Rats. *J. Agric. Food Chem.* **57** (21): 10477-10482.
- **Saka W.A., Akhigbre R.E., Ishola O.S., Ashamu E.A., Olayemi O.T. & Adeleke G.E. (2011).** Epatotherapeutic effect of Aloe Vera in alcohol-induced hepatic damage. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* **14** (14): 742-746.
- **Samaranayaka A.G.P. & Li-Chan E.C.Y. (2010).** Bioactive Peptides from Seafood and their Health Effects. In: Handbook of Seafood Quality, *Safety and Health Applications*. Edited by Alasalvar C., Shahidi F., Miyashita K. et Wanasundara U. Wiley-Blackwell, Oxford, 487-493.
- **Sanchez-Venegas J.R., Dinamarca J., Moraga A.G., Gidekel M. (2009).** Molecular characterization of a cDNA encoding Cu/Zn superoxide dismutase from *Deschampsia Antarctica* and its expression regulated by cold and UV stresses. *BMC Research Notes.* **2**: 1-7.
- **Santamarina-Fojo S., Gonzalez-Navarro H., Freeman L., Wagner E., and Nong Z. (2004).** Hepatic lipase, lipoprotein metabolism, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **24**: 1750-1754.
- **Sargis R.M. & Subbaiah P.V. (2006).** Protection of membrane cholesterol by sphingomyelin against free radical-mediated oxidation. *Free Rad Biol and Med.* **40** (545): 2092-2102.
- **Sarmadi B. H. & Ismail A. (2010).** Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides.* **31**:1949-1956.
- **Sautin Y.Y., Imaram W., Kim K.M., Angerhofer A., Henderson G., Johnson R. (2011).** Uric Acid and Oxidative Stress. *Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice.* 143-159.
- **Schacky C-V. (2014).** Omega-3 Index and Cardiovascular Health. *Nutrients.* **6**: 799-814.
- **Schultz-Moreira A.R., Benedı J., Gonzalez-Torres L., Olivero-David R., Bastida S., Sanchez-Reus M.I., Gonzalez-Munoz M.J. and Sanchez-Muniz F.J. (2011).** Effects of diet enriched with restructured meats, containing Himanthalia elongata, on

hypercholesterolemic induction, CYP7A1 expression and antioxidant enzyme activity and expression in growing rats. *Food Chem.* **129**: 1623-1630.

- **Schwabe R.F. & Maher J.J. (2012).** Lipids in liver disease: looking beyond steatosis. *Gastroenterology.* **142**(1): 8-11.
- **Serdar Z., Aslan K., Dirican M., Sarandöl E., Yeşilbursa D., Serdar A. (2006).** Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clinical Biochemistry.* **39** (8): 794-803.
- **Shallan M.A-A.M., Fayed S.A.E-K. S. & El Gazzar M.M.E.S.A. (2014).** Protective Effects of Wheat Bran and Buckwheat Hull Extracts against Hypercholesterolemia in Male Rats. *International Journal of Advanced Research.* **2**(4): 724-736.
- **Sheriff S.A., Sundaram B., Ramamoorthy B., Ponnusamy P. (2014).** Synthesis and in vitro antioxidant functions of protein hydrolysate from backbones of Rastrelliger kanagurta by proteolytic enzymes. *Saudi J Biol Sci.* **21**(1): 19-26.
- **Shimizu M., Tanabe S., Morimatsu F., Nagao K., Yanagita T., Kato N. & Nishimura T. (2006).** Consumption of Pork-Liver Protein Hydrolysate Reduces Body Fat in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats by Suppressing Hepatic Lipogenesis. *Biosci Biotechnol Biochem.* **70**: 112-118.
- **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. *British Journal of Nutrition.* **96**(4): 674-682.
- **Sinal C.J., Tohkin M., Miyata M., Ward J.M., Lambert G., Gonzalez F.J. (2000).** Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. **102**(6):731-44.
- **Sivalokanathan S., Ilayaraja M., Balasubramanian M.P. (2006).** Antioxidant activity of Terminalia Arjuna bark extract on N nitrosodiethylamine induced hepatocellular carcinoma in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry.* **281**(1-2): 87-93.
- **Slizyte R., Daukšas E., Falch E., Storror I., Rustad T. (2005).** Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) byproducts. *Process Biochem.* 1415-24.
- **Société algérienne de cardiologie (SAC). (2011).** l'Algérie sur l'évaluation de la prise en charge de l'hypercholestérolémie. *conférence de presse, 2011.*
- **Souissi N., Bougatef A., Triki-Ellouz Y. & Nasri M. (2007).** Biochemical and functional properties of Sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technol. Biotechnol.* **45**: 187-194.
- **Staels B. & Fonseca V.A. (2009).** Bile acids and metabolic regulation: Mechanisms and clinical responses to bile acid sequestration. *Diabetes Care.* **32**: 237-245.

- **Stensvag K., Haug T., Sperstad S.V., Rekdal O., Indrevoll B., Styrvold O.B. (2008).** Arasin 1, a proline-arginine-rich antimicrobial peptide isolated from the spider crab, *Hyas araneus*. *Dev. Comp. Immunol.* **32**: 275-285.
- **Sudhahar V., Kumar S.A., Sudharsan P.T., Varalakshmi P. (2007).** Protective effect of lupeol and its ester on cardiac abnormalities in experimental hypercholesterolemia. *Vascul. Pharmacol.* **46**(6): 412-418.
- **Suetsuna K., Ukeda H., Ochi H. (2000).** Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *J Nutr Biochem.* **11**(3): 128-31.

T

- **Takaeidi M.R, Jahangiri A., khodayar M.J., Siahpoosh A., Yaghooti H., Rezaei S., Salecheh M., Mansourzadeh Z. (2014).** The effect of date seed (*Phoenix dactylifera*) extract on Paraoxonase and Arylesterase activities in hypercholesterolemic rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* **9**(1): 30-34.
- **Takasaki M., Honma T., Yanaka M., Sato K., Shinohara N., Ito J., Tanaka Y., Tsuduki T., Ikeda I. (2012).** Continuous intake of a high-fat diet beyond one generation promotes lipid accumulation in liver and white adipose tissue of female mice. *J Nutr Biochem.* **23**: 640-645.
- **Tan M.H., Johns D., Glazer N.B. (2004).** Pioglitazone reduces atherogenic index of plasma in patients with type 2 diabetes. *Clin Chem.* **50**: 1184-8.
- **Tang H.G., Wu T.X., Zhao Z.Y., Pan X.D. (2008).** Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Zhejiang Univ Sci B.* **9**: 684-90.
- **Teratani T., Tomita K., Suzuki T., Oshikawa T., Yokoyama H., Shimamura K., Tominaga S., Hiroi S., Irie R., Okada Y., Kurihara C., Ebinuma H., Saito H., Hokari R., Sugiyama K., Kanai T., Miura S., Hibi T. (2012).** A high-cholesterol diet exacerbates liver fibrosis in mice via accumulation of free cholesterol in hepatic stellate cells. *Gastroenterology.* **142**: 152-164. e110.
- **Thannickal V.J. & Fanburg B.L. (2000).** Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Moll Physiol.* **279**: L1005-28.
- **Theodore A.E. (2005).** Bioactive and functional properties of catfish protein hydrolysates and catfish protein isolates. *A thesis presented to the graduate school of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science university of Florida.*
- **Tiengo A., Motta E.M.P. & Netto F.M. (2011).** Chemical composition and bile acid binding activity of products obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds. *Plant Foods Hum Nutr.* **66**: 370-375.
- **Tincu J.A. & Taylor S.W. (2004).** Antimicrobial peptides from marine invertebrates. *Ant Agents Chem.* **48**: 3645-3654.

- **Tissier M. (2011).** Contribution à l'étude du stress oxydant chez le chien de cross canin. *Thèse Méd. Vét.* Lyon.
- **Torres N., Torre-Villalvazo I., Tovar A.R. (2006).** Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *Journal of Nutritional Biochemistry.* **17**: 365-373.
- **Torre-Villalvazo I., Tovar A.R., Ramos-Barragán V.E., Cerbon-Cervantes M.A., Torres N. (2008).** Soy protein ameliorates metabolic abnormalities in liver and adipose tissue of rats fed a high fat diet. *J Nutr.* **138**(3): 462-8.
- **Tsutsumi K. (2003).** Lipoprotein lipase and atherosclerosis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **1**: 11-7.

V

- **Vanier P. (2006).** La sardine au fil du temps, Usages culinaires, Conservation, Écologie et environnement. *Nutrition. Encyclopédie des aliments.* Index: 0-9.

W

- **Wang B., Li L., Chi C.F., Ma J.H., Luo H.Y., Xu Y.F. (2013).** Purification and characterization of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein hydrolysates. *Food Chemistry.* **2-3** (138): 1713-1719.
- **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.
- **Wergedahl H., Gudbrandsen A.O., Halvorsen Rost T., Berge R.K. (2009).** Combinations of fish oil and fish protein hydrolysates reduce the serum cholesterol level with a concurrent increase in hepatic cholesterol level in high-fat-fed Wistar rats. *Nutrition.* **25**: 98-104.
- **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**: 1320-1327.
- **Wolff S.P. (1994).** Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods Enzymol.* **233**: 182-189.
- **Wu H. C., Chen H.M., Shiau C.Y. (2003).** Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International.* **36** (9-10): 949-957.

X

- **Xiao C.W. (2008).** Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. *J. Nutr.* **138**(6): 1244S-1249S.

- **Yamori Y., Liu L., Mori M., Saara M., Murakami S., Nara Y., Mizushima S. (2009).** Taurine as the nutritional factor for the longevity of the Japanese revealed by a world-wise epidemiological survey. *Adv. Exp. Med. Biol.* **643**: 13-25.
- **Yamori Y., Muraka Ikeda K. & Nara Y. (2004).** Fish and lifestyle-related disease prevention: experimental and epidemiological evidence for anti-atherogenic potential of taurine. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. **31**: S20-S23.
- **Yang C., Sun Z., Li Y., Ai J., Sun Q. & Tian Y. (2014).** The correlation between serum lipid profile with carotid intima-media thickness and plaque. *BMC Cardiovascular Disorders*. **14**: 181-188.
- **Yang J.I., Ho H.Y. Chu Y.J., Chow C.J. (2008).** Characteristic and antioxidant activity of retorted gelatin hydrolysates from cobia (*Rachycentron canadum*) skin. *Food Chemistry*. **110**: 128-136.
- **Yang P., Ke H., Hong P., Zeng S. & Cao W. (2011a).** Antioxidant activity of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) head protein hydrolysate prepared with Alcalase. *International Journal of Food Science & Technology*. **46**(12): 2460-2466.
- **Yang R., Wang J., Liu Z., Pei X., Han X., Li Y. (2011b).** Antioxidant Effect of a Marine Oligopeptide Preparation from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) by Enzymatic Hydrolysis in Radiation Injured Mice. *Mar. Drugs*. **9**: 2304-2315.
- **Yang X., Schnackenberg L.K., Shi Q. & Salminen W. F. (2014).** Hepatic toxicity biomarkers. R. Gupta (Ed): *Biomarkers in Toxicology*. Chapter **13**, Pages 241-259.
- **Yildiz G., Hür E., Özçiçek A., Candan F., Kayatas M. (2013).** The Mean Platelet Volume and Atherogenic Index of Plasma in Nondipper Normotensive Individuals Compared to Dippers. *Clinical and Experimental Hypertension*. **35** (1): 35-39.
- **Yokogoshi H. & Oda H. (2002).** Dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *Amino Acids*. **23**: 433-439.
- **Yoshida Y., Ito N., Shimakawa S., Niki E. (2003).** Susceptibility of plasma lipids to peroxidation. *Biochem Biophys Res Commun*. **305**: 747-53.
- **You L., Zhao M., Cui C., Zhao H., Yang B. (2008).** Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. **10**(2): 235-240.
- **You L., Zhao M., Regenstein J.M., & Ren J. (2011).** In vitro antioxidant activity and in vivo anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion. *Food Chemistry*. **124**: 188-194.

- **Zelcer N. & Tontonoz P. (2006).** Liver x receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest.* **3**: 607-614.
- **Zhang H., Yokoyama W.H and Zhang H. (2012a).** Concentration-dependent displacement of cholesterol in micelles by hydrophobic rice bran protein hydrolysates *J. Sci. Food Agric.* **92**: 1395-1401.
- **Zhang W., Xiao S. & Ahn D.U. (2013).** Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **53**(11): 1191-201.
- **Zhang Y., Duan X., Zhuang Y. (2012b).** Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. *Peptides.* **38**(1): 13-21.
- **Zhao C. & Wright K.D. (2010).** Liver X receptor in cholesterol metabolism. *Journal of Endocrinology.* **204**: 233-240.
- **Zhao Y., Li B., Liu Z., Dong S., Zhao X., Zeng M. (2009).** Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatine hydrolysate. *Process Biochemistry.* **42**: 1586-1591.
- **Zollner G. & Trauner M. (2009).** Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases. *Br. J. Pharmacol.* **156**: 7-27.

ANNEXE

Tableau XXI. Croissance pondérale et nourriture ingérée.

	GT	HPS	HPA
Croissance pondérale (g)			
J₀	350,21±5,00	350,12±5,07	350,14±5,11
J₅	362,11±17,05	350,10±12,08	352,21±20,00
J₁₀	366,13±16,11	358,22±14,07	360,15±19,00
J₁₄	369,15±21,08	360,10±20,10	364,16±18,12
Nourriture ingérée (g/j/ rat)	28,00±4,09	23,56±7,76	22,99±6,88

Tableau XXII. Teneurs en protéines et en lipides du sérum.

	GT	HPS	HPA
CT (mmol/L)	3,28±0,45 ^a	1,91±0,17 ^b	1,90±0,23 ^b
EC (mmol/L)	3,87±0,53 ^a	2,11±0,83 ^b	1,90±0,90 ^b
CL (mmol/L)	1,06±0,39 ^a	0,69±0,28 ^b	0,78±0,31 ^b
TG (mmol/L)	1,03±0,07 ^a	0,93±0,27 ^a	0,56±0,08 ^b
PL (mmol/L)	2,19±0,33	1,86±0,27	1,95±0,23

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

CT : Cholestérol total, **EC** : Esters de cholestérol, **CL** : Cholestérol libre, **TG** : Triglycérides, **PL** : Phospholipides.

Tableau XXIII. Teneurs en protéines et en lipides du foie.

	GT	HPS	HPA
CT (μmol/g)	37,11±3,04 ^a	33,08±2,12 ^{ab}	29,20±1,15 ^b
EC (μmol/g)	33,40±3,05 ^b	38,41±2,07 ^a	30,06±2,11 ^b
CL (μmol/g)	17,08±1,12 ^a	10,14±1,02 ^b	11,07±1,11 ^b
TG (μmol/g)	32,15±4,04	30,11±3,02	26,19±3,21
PL (μmol/g)	68,22±12,02	56,16±16,30	57,13±15,09
CL/CE	0,85±0,04 ^a	0,44±0,02 ^c	0,61±0,03 ^b
PT (mg/g)	12,50±1,70 ^b	23,50±2,10 ^a	20,50±2,60 ^a
LT (mg/g)	93,11±5,04 ^a	73,14±4,08 ^b	70,22±3,10 ^b
MG/MM (g/gx100)	0,85±0,03 ^a	0,62±0,05 ^b	0,60±0,02 ^b

Tableau XXIV. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des VLDL.

	GT	HPS	HPA
Masse (g/L)	1,63±0,13 ^a	1,17±0,11 ^b	1,05±0,02 ^b
Apo (g/L)	0,15±0,02	0,13±0,02	0,15±0,02
TG (mmol/L)	0,55±0,03 ^a	0,50±0,04 ^a	0,30±0,03 ^b
PL (mmol/L)	0,47±0,02 ^c	0,60±0,04 ^b	0,73±0,01 ^a
CL (mmol/L)	0,28±0,01 ^a	0,22±0,04 ^b	0,28±0,03 ^a
EC (mmol/L)	1,17±0,10 ^a	0,47±0,06 ^c	0,68±0,10 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Apo : Apolipoprotéines.

Tableau XXV. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des LDL-HDL₁.

	GT	HPS	HPA
Masse (g/L)	1,17±0,05 ^a	0,86±0,06 ^b	0,50±0,01 ^c
Apo (g/L)	0,12±0,03	0,11±0,02	0,14±0,03
TG (mmol/L)	0,26±0,01 ^a	0,28±0,02 ^a	0,15±0,02 ^b
PL (mmol/L)	0,55±0,02 ^a	0,42±0,01 ^b	0,28±0,03 ^c
CL (mmol/L)	0,44±0,03 ^a	0,19±0,02 ^b	0,18±0,02 ^b
EC (mmol/L)	0,46±0,03 ^a	0,36±0,04 ^b	0,32±0,01 ^b

Tableau XXVI. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des HDL₂.

	GT	HPS	HPA
Masse (g/L)	0,51±0,05 ^b	0,68±0,06 ^a	0,62±0,04 ^a
Apo (g/L)	0,17±0,01 ^b	0,24±0,02 ^a	0,22±0,02 ^a
TG (mmol/L)	0,120±0,008 ^a	0,100±0,004 ^a	0,050±0,007 ^b
PL (mmol/L)	0,18±0,03	0,18±0,02	0,18±0,03
CL (mmol/L)	0,11±0,04	0,12±0,02	0,13±0,05
EC (mmol/L)	0,24±0,02 ^b	0,41±0,01 ^a	0,36±0,03 ^a

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

	GT	HPS	HPA
Masse (g/L)	1,57±0,08 ^a	0,93±0,06 ^c	1,11±0,10 ^b
Apo (g/L)	0,23±0,04 ^c	0,29±0,03 ^b	0,34±0,04 ^a
TG (mmol/L)	0,070±0,008	0,080±0,008	0,050±0,022
PL (mmol/L)	0,81±0,19 ^a	0,56±0,04 ^b	0,74±0,10 ^a
CL (mmol/L)	0,27±0,02 ^a	0,12±0,02 ^c	0,17±0,01 ^b
EC (mmol/L)	1,50±0,07 ^a	0,99±0,07 ^b	0,95±0,08 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT**: groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Tableau XXVIII. Répartition des triglycérides entre les différentes fractions de lipoprotéines

(mmol/L)	GT	HPS	HPA
TG	1,03±0,07 ^a	0,93±0,27 ^a	0,56±0,08 ^b
TG-VLDL	0,55±0,03 ^a 55%	0,50±0,04 ^a 52%	0,30±0,05 ^b 54%
TG-LDL-HDL₁	0,26±0,01 ^a 26%	0,28±0,02 ^a 29%	0,15±0,02 ^b 28%
TG-HDL₂	0,120±0,008 ^a 12%	0,100±0,004 ^a 11%	0,050±0,007 ^b 9%
TG-HDL₃	0,070±0,008 7%	0,080±0,008 8%	0,050±0,022 9%

Tableau XXIX. Répartition du cholestérol total (CT), entre les différentes fractions de lipoprotéines

(mmol/L)	GT	HPS	HPA
CT	3,28±0,45 ^a	1,91±0,17 ^b	1,90±0,23 ^b
CT-VLDL	1,18±0,13 ^a 36%	0,69±0,09 ^b 36%	0,66±0,05 ^b 35%
CT-LDL-HDL₁	0,78±0,06 ^a 24%	0,23±0,06 ^b 12%	0,21±0,06 ^b 11%
CT-HDL₂	0,32±0,04 10%	0,23±0,02 12%	0,23±0,11 12%
CT-HDL₃	1,00±0,11 ^a 30%	0,76±0,04 ^b 40%	0,80±0,08 ^b 42%

Tableau XXX. Activité paraoxonase.

	GT	HPS	HPA
Paraoxonase sérique (U/ml)	4,10±1,00 ^b	5,10±1,40 ^{ab}	7,20±2,00 ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT**: groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Tableau XXXI. Activité catalase (CAT).

	GT	HPS	HPA
Érythrocyte (U/mL)	1929,93±23,95 ^c	2325,40±9,40 ^b	2894,19±5,30 ^a
Cœur (U/g de protéines)	8,14± 0,14 ^b	8,88± 0,16 ^a	9,20±0,26 ^a
Aorte (U/g de protéines)	7,97±0,01 ^c	9,37±0,16 ^b	10,70±0,40 ^a
Foie (U/g de protéines)	8,01±0,32 ^c	9,36±0,55 ^b	10,49±0,96 ^a
Muscle (U/g de protéines)	8,75±0,46	8,97±0,20	9,59±0,56

Tableau XXXII. Activité superoxydes dismutase (SOD).

	GT	HPS	HPA
Érythrocyte (U/mL)	316,16±5,71 ^b	329,51±9,51 ^b	431,86±43,76 ^a
Cœur (U/g de protéines)	213,22±15,13 ^c	356,51±42,36 ^a	254,86±12,29 ^b
Aorte (U/g de protéines)	265,87±3,91 ^b	314,54±5,94 ^b	807,30±14,23 ^a
Foie (U/g de protéines)	541,50±46,70 ^c	695,80±38,90 ^b	796,80±83,90 ^a
Muscle (U/g de protéines)	112,60±20,10 ^c	160,10±39,90 ^b	504,20±28,90 ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P<0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

Tableau XXXIII. Activité glutathion peroxydase (GSH-Px).

	GT	HPS	HPA
Érythrocytes (U/mL)	198,75±2,14 ^b	312,30±29,98 ^a	328,97±53,54 ^a
Cœur (U/g de protéines)	47,62±14,40	63,12±4,63	68,24±22,91
Aorte (U/g de protéines)	51,58±1,24 ^c	85,99±0,90 ^a	69,33±1,40 ^b
Foie (U/g de protéines)	15,20±3,60 ^b	31,70±2,80 ^a	36,60±5,10 ^a
Muscle (U/g de protéines)	19,70±2,26 ^b	50,10±3,00 ^a	51,60±4,20 ^a

Tableau XXXIV. Activité glutathion réductase (GSSH-Red).

	GT	HPS	HPA
Érythrocytes (U/mL)	93,05±13,71 ^c	143,02±16,70 ^b	175,43±29,40 ^a
Cœur (U/g de protéines)	89,71±5,50 ^b	102,13±1,98 ^b	146,35±6,85 ^a
Aorte (U/g de protéines)	126,66±9,85 ^c	260,52±16,50 ^a	180,32±11,14 ^b
Foie (U/g de protéines)	69,70±13,10 ^c	141,80±14,10 ^b	209,60±14,90 ^a
Muscle (U/g de protéines)	87,90±8,80 ^b	102,80±9,80 ^b	211,70±14,30 ^a

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de **Duncan (1955)**. Les moyennes portant des lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($P < 0,05$). **GT** : groupe témoin hypercholestérolémique non traité, **HPS** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardine, **HPA** : groupe traité avec les hydrolysats de protéines de sardinelle.

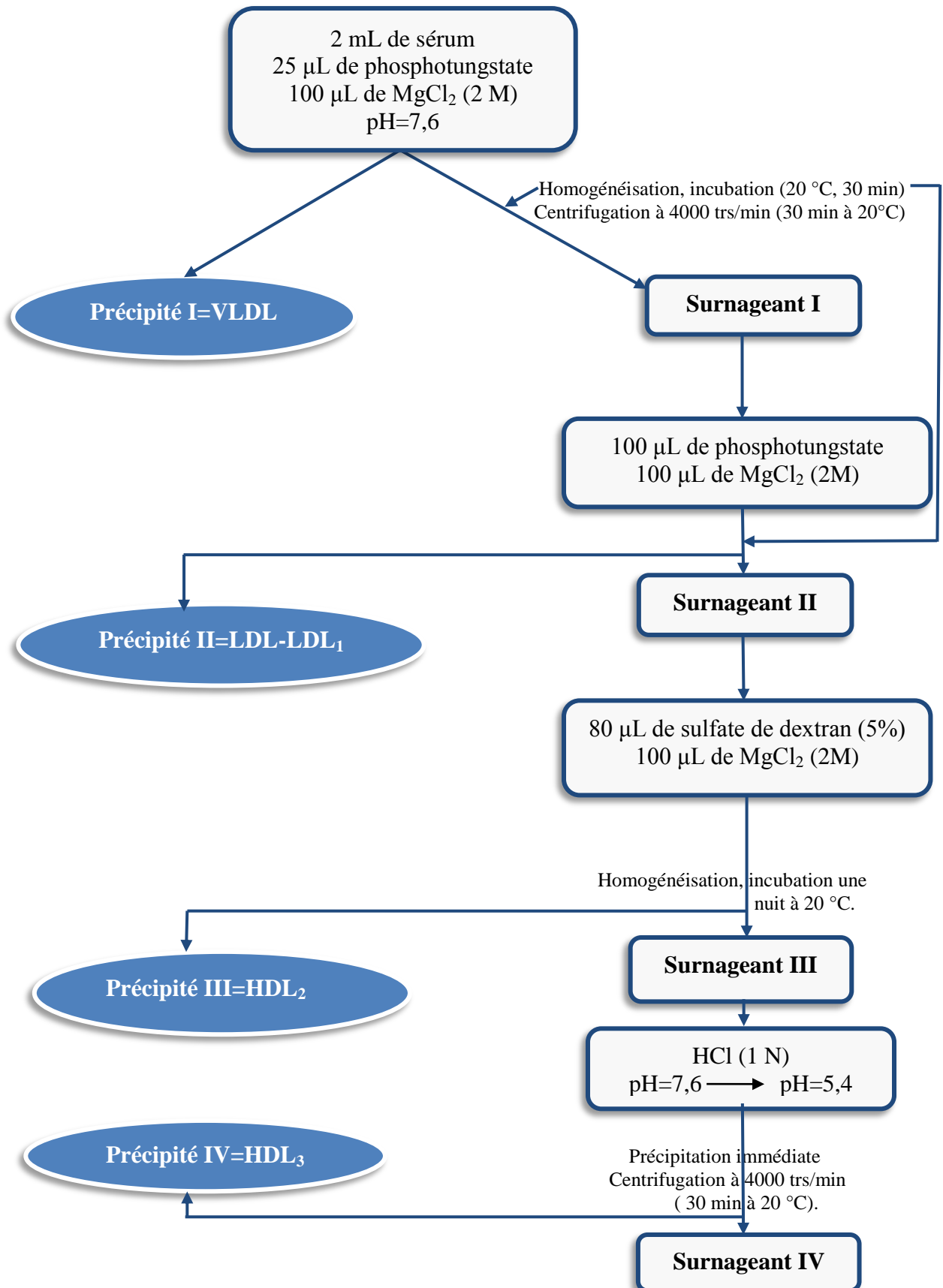


Fig. 24. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines selon la méthode de **Burstein et al., (1989).**

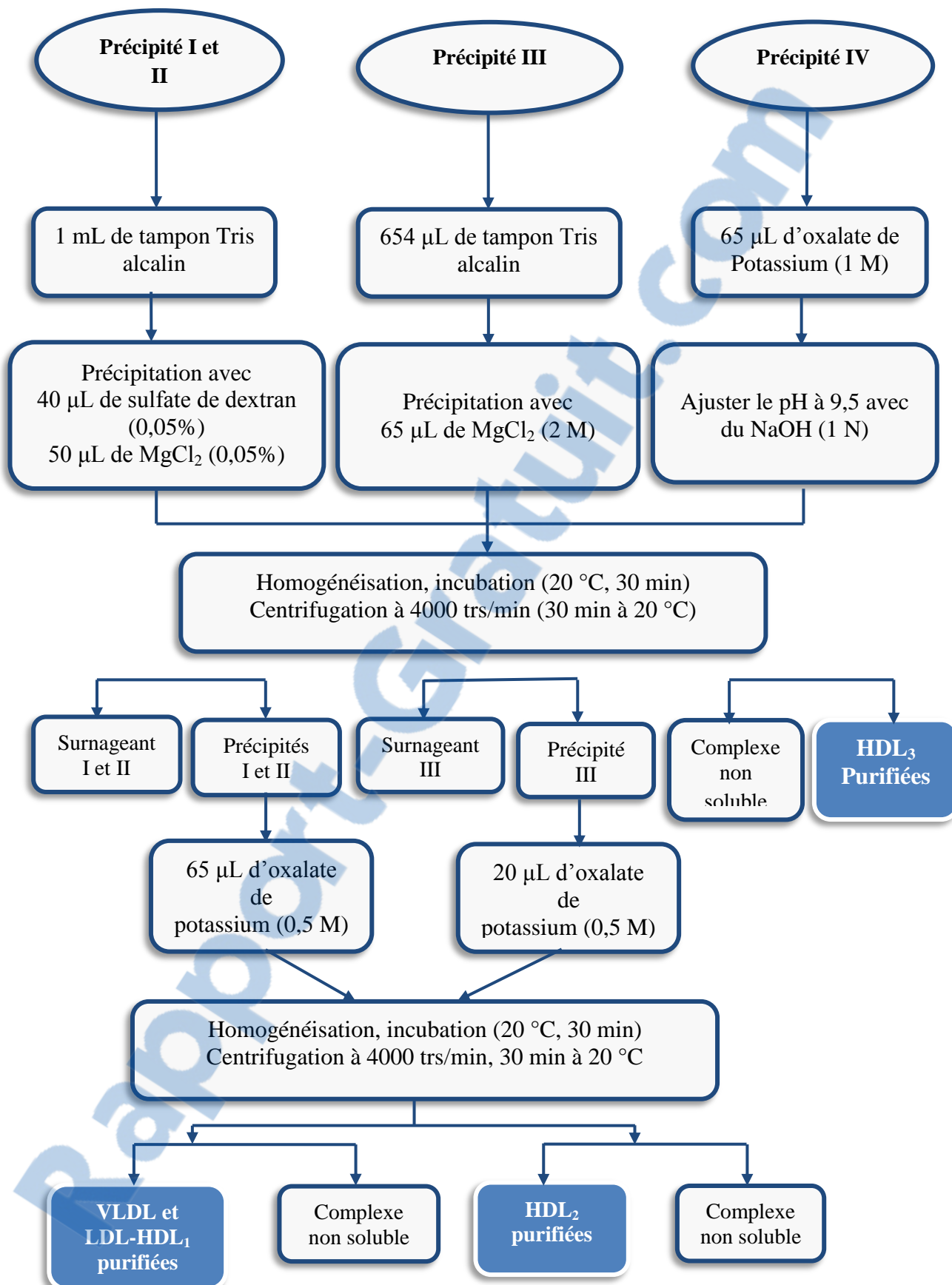


Fig. 25. Purification des différentes fractions de lipoprotéines selon la méthode de **Burstein et al.**, (1989 ; 1970).

ملخص

تأثير بروتينات سمك السردين و السرد نال المنحلة إنزيمياً و المقدّمة عن طريق انبوب تغذية بجرعة منخفضة و لمُدّة قصيرة، على أيض الدهون بالأخص الكوليسترول و حالة مضادات الأكسدة، تمّت دراستهم عند جرد و يستار يخضع لتغذية غنيّة بالكوليسترول. تمّ تقسيم جردان ذكور من سلالة ويستار (ن=18)، معدّل وزنهم 15 ± 350 غ الى 3 مجموعات، يستهلك كلّ منها لمدة 14 يوم غذاء يحتوي على 20% كزيين، غنيّ بـ 1% كوليسترول و 0,5% حمض الكوليك و يعالجون اولا (GT) بـ 3 مل (100 مغ/مل) من بروتينات السردين المنحلة إنزيمياً (HPS) او السرد نال (HPA). تتم مقارنة الجرذان المعالجة بالبروتينات المنحلة إنزيمياً مع الجرذان الغير المعالجة. مستوى الكوليسترول المصلي الكلي (CT) انخفض بمعدّل 1,7- مرة عند المجموعات المعالجة. مستوى الغريسيديات الثلاثية (TG) في المصل هو أدنى بـ 1,8- مرة في مجموعة HPA. في الواقع، كتلة VLDL و محتواها من TG هما على التوالي، 1,6- و 1,8- مرة أقل في مجموعة HPA. و مع ذلك، مستوى TG الكبدي متشابه عند 3 مجموعات. في حين أنّ معدّلات CT هي 1,3- مرة أقلّ عند مجموعة HPA، إضافة إلى ذلك، معدّل الكوليسترول الحُر (CL) هو 1,6- مرة أدنى عند المجموعتين المعالجتين. كتلة و مستوى الدهون الفوسفاتية (PL) و CL في $LDL-HDL_1$ هم على التوالي، 1,4- و 2,3- مرة، 1,3- و 2- مرة و 2,4- مرة أدنى عند المجموعات المعالجة HPS و HPA، على التوالي. كتلة HDL_2 هي 1,3- مرة أعلى عند المجموعات HPS و HPA. علاوة على ذلك، إرتفع مستوى إستيرات الكوليسترول (EC) في HDL_2 بـ 41% و 33% على التوالي، عند المجموعات HPS و HPA. كتلة و معدّل CL في HDL_3 تراجعاً على التوالي بـ 41% و 29% و 55% و - 37% عند المجموعتين HPS و HPA، على التوالي. نشاط لستين: كوليسترول أسيل تغنسفيراز (ATLC) هو على التوالي، 1,7- و 1,6- مرة أعلى عند المجموعتين HPS و HPA بالمقارنة مع مجموعة GT.

فيما يخصّ حالة الاكسدة، معدّلات المواد المتفاعلة مع حمض البريتريك (TBARS) المصلية، انخفضت عند المجموعات المعالجة. مستوى TBARS في HDL_3 هو على التوالي، 2,3- و 2,5- مرة أدنى عند المجموعتين HPS و HPA. معدّل TBARS في كريات الدم الحمراء هو 1,5- مرة أقل عند مجموعة HPA. معدّلات TBARS في القلب و الكبد، تراجعت على التوالي بـ 72% و 82% و 68% و 48% عند HPS و HPA، على التوالي. مستويات الهيدروبيروكسيد (Hydroperoxydes) في VLDL و $LDL-HDL_1$ هي على التوالي، 2- و 2,5- مرة أدنى عند المجموعات المعالجة. معدّلات الهيدروبيروكسيد في الشريان الأورطي و الكبد، تراجعت على التوالي بـ 56% و 69% و 63% و 66% عند المجموعتين HPS و HPA، على التوالي. إنخفاض لمعدّل حمض اليوريك المصلي (-28%) سجّل عند مجموعة HPA. نشاط البراكسوناز (Paraoxonase) إرتفع بـ 1,3- و 1,8- مرة على التوالي، عند المجموعتين HPS و HPA. نشاط الكتالاز (Catalase) (CAT) في الكريات الدموية الحمراء إرتفع بـ 1,5- مرة عند مجموعة HPA. إضافة إلى ذلك، هذا النشاط إرتفع في القلب، الكبد و العضلات عند المجموعات المعالجة. نشاط سيبيروكسيد ديسميّناز (Superoxydes dismutase) (SOD) في الشريان الأورطي و العضلات، إرتفع بـ 67% و 78% عند مجموعة HPA. نشاط فليثيون بيروكسيداز (Glutathion peroxydase) (GSH-Px) في الكبد و العضلات، إرتفع على التوالي بـ 55% و 61% عند المجموعات المعالجة. نشاط فليثيون ريديكتاز (Glutathion reductase) (GSSH-Red) في الشريان الأورطي، الكبد و العضلات هو على التوالي، 2- و 1,4- مرة و 2- و 3- مرة و 2,4- مرة، أعلى عند المجموعتين HPS و HPA، على التوالي. معدّلات الكربونيل (Carbonyles) في HDL_2 و HDL_3 هي على التوالي، 2,3- و 2- مرة و 3,2- و 2,5- مرة أدنى عند المجموعتين HPS و HPA، على التوالي. على مستوى القلب و العضلات، هذه المعدّلات تراجعت بنسبة 51% و 55% و 64% و 69% عند المجموعتين HPS و HPA، على التوالي. مستويات مونوكسيد الازوت (Monoxyde d'azote) (NO) في الكريات الدموية الحمراء في القلب، الكبد و العضلات هي على التوالي، 1,7- مرة، 1,6- و 1,9- مرة، 2,9- مرة، 1,9- و 3,1- مرة أدنى عند المجموعتين HPS و HPA، على التوالي.

كخلاصة، عند الجرد الخاضع لتغذية غنيّة بالكوليسترول، العلاج ببروتينات السردين و السرد نال المنحلة إنزيمياً، يخفّض بشكل كبير مستوى الكوليسترول. يبدو أنّ هذه البروتينات المنحلة تعمل بشكل كبير على التّقليل العكسي للكوليسترول. بالإضافة الى ذلك، بروتينات السرد نال المنحلة تحفّز انخفاض معدّلات الدهون الثلاثية. علاوة على ذلك، بروتينات السردين و بالأخص السرد نال المنحلة إنزيمياً، تلعب دوراً هاماً في الدّفاع ضدّ الجذور الحرّة، و تحفّز نشاط الانزيمات المضادّة لأكسدة الدّهون (TBARS, Hydroperoxydes) و البروتينات.

الكلمات المفتاحيّة: جرد - بروتينات السردين المنحلّة - بروتينات السرد نال المنحلّة - CT - TG - LCAT - TBARS - Hydroperoxydes - حمض اليوريك - Paraoxonase - CAT - SOD - GSH - Px - GSSH - Red - Carbonyles - NO.

SUMMARY

The effect of sardine and sardinelle protein hydrolysates administrated by gavage at a low dose and short term, on lipid metabolism, in particular that of cholesterol and on the antioxidant status, was studied in rats fed cholesterol enriched diet. Male Wistar rats ($n=18$) weighing $350\pm15g$, were divided into 3 groups, each consuming for 14 days a diet containing 20% casein supplemented with 1% of dietary cholesterol and 0.5% of cholic acid and were treated or not (**GT**) with 3 ml (100 mg/ml) of sardine (**HPS**) or sardinelle (**HPA**) protein hydrolysates. Rats treated with hydrolysates were compared to untreated rats. Serum total cholesterol (TC) content was 1.7-fold lower in treated groups. The triacylglycerol (TG) level was 1.8-fold lower in **HPA** group. Indeed, the VLDL amount and its TG were respectively, 1.6- and 1.8-fold lower in **HPA** group. However, the liver TG contents were similar, whereas the TC value was 1.3-fold lower in the **HPA** group; indeed, unesterified cholesterol (UC) content was 1.6-fold lower in treated groups. The LDL-HDL₁ amount and its phospholipids (PL) and UC contents were respectively, (1.4- and 2.3-fold), (1.3- and 2-fold) and 2.4-fold lower in **HPS** and **HPA** groups, respectively. The amount of HDL₂ was 1.3-fold higher in **HPS** and **HPA** groups, indeed the cholesterol esters (CE) content of HDL₂ was respectively increased by +41% and +33% in **HPS** and **HPA** groups. The amount of HDL₃ and its UC content were respectively reduced by (-41% and -29%) and (-55% and -37%) in **HPS** and **HPA** groups, respectively. The lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) activity was respectively, 1.7- and 1.6-fold higher in **HPS** and **HPA** groups *versus* **GT**.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) concentrations were reduced in serum of treated groups. The HDL₃ TBARS contents were respectively, 2.3- and 2.5-fold lower in **HPS** and **HPA** groups. In red blood cells (RBC), the TBARS content was 1.5-fold lower in **HPA** group. Heart and liver TBARS values were respectively decreased by (-72% and -82%) and (-68% and -48%) in **HPS** and **HPA** groups, respectively. VLDL and LDL-HDL₁ hydroperoxydes levels were respectively, 2-, 2.5-fold reduced in treated groups. Aorta and liver hydroperoxydes values were respectively decreased by (-56% and -69%) and (-63% and -66%) in **HPS** and **HPA** groups, respectively. A decrease in serum uric acid (UA) content was observed (-28%) in **HPA** group. The paraoxonase activity was respectively, 1.3- and 1.8-fold higher in **HPS** and **HPA** groups. RBC catalase (CAT) activity was 1.5-fold higher in **HPA** group. Indeed, heart, liver and muscle CAT activities were increased in treated groups. Aorta and muscle superoxide dismutase (SOD) activities were respectively increased by +67% and +78% in **HPA** groups. Liver and muscle glutathione peroxidase (GSH-Px) activities were respectively increased by +55% and +61% in treated groups. Aorta, liver and muscle glutathione reductase (GSSH-Red) activities were respectively, (2- and 1.4-fold), (2- and 3-fold) and 2.4-fold higher in **HPS** and **HPA** groups, respectively. Carbonyls HDL₂ and HDL₃ values were respectively, (2.3- and 2-fold) and (3.2- and 2.5-fold) lowered in **HPS** and **HPA** groups, respectively. Heart and muscle carbonyls values were significantly reduced by (-51% and -55%) and (-64% and -69%) in **HPS** and **HPA** groups, respectively. Nitric oxide values of RBC, heart, aorta, liver and muscle were respectively, 1.7-fold, (1.6- and 1.9-fold), 2.9-fold and (1.9- and 3.1-fold) reduced in **HPS** and **HPA** groups, respectively.

In conclusion, in rats fed cholesterol-enriched diet, the sardine and sardinelle protein hydrolysates treatments decreased significantly cholesterolemia. These hydrolysates appear to act significantly on the reverse cholesterol transport. In addition, sardinelle protein hydrolysates induced hypotriglyceridemia effect. Moreover, sardine and sardinelle protein hydrolysates were able to reduce the oxidative stress by increasing the antioxidant enzymes activities and lowering the lipid (TBARS and hydroperoxydes contents) and protein oxidation.

Key word: Rat - Sardine protein hydrolysates - Sardinelle protein hydrolysates - TC - TG - LCAT - TBARS - Hydroperoxydes - Uric acid - Paraoxonase - CAT - SOD - GSH-Px - GSSH-Red - Carbonyls- NO.

RESUME

L'effet des hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle administrés par gavage à une faible dose et à court terme, sur le métabolisme des lipides en particulier celui du cholestérol et sur le statut antioxydant, est étudié chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol. Des rats mâles de souche Wistar (n=18) pesant 350 ± 15 g, sont divisés en 3 groupes consommant chacun pendant 14 jours un régime contenant 20% de caséine supplémentée avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique et sont traités ou non (**GT**) avec 3 ml (100 mg/ml) d'hydrolysats de protéines de sardine (**HPS**) ou de sardinelle (**HPA**). Les rats traités avec les hydrolysats sont comparés aux rats non traités. Le contenu sérique en cholestérol total (CT) est 1,7-fois plus faible chez les groupes traités. Les teneurs en triglycérides (TG) sériques sont 1,8-fois plus faibles chez le groupe **HPA**. En effet, la masse des VLDL ainsi que leur composition en TG sont respectivement, 1,6- et 1,8-fois plus faibles chez le groupe **HPA**. Cependant, le contenu en TG hépatiques est similaire, alors que celui en CT est 1,3-fois plus faible chez le groupe **HPA**; de même le contenu en cholestérol libre (CL) est 1,6-fois plus faible chez les groupes traités. La masse et le contenu en phospholipides (PL) et en CL des LDL-HDL₁ sont respectivement, (1,4- et 2,3-fois), (1,3- et 2-fois) et 2,4-fois plus faibles chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. La masse des HDL₂ est 1,3-fois plus élevée chez les groupes **HPS** et **HPA**, de plus le contenu en esters de cholestérol (EC) des HDL₂ est respectivement augmenté de +41% et +33% chez les groupes **HPS** et **HPA**. La masse et les teneurs en CL des HDL₃ sont respectivement diminuées de (-41% et -29%) et (-55% et -37%) chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. L'activité lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT) est respectivement, 1,7- et 1,6-fois plus élevée chez les groupes **HPS** et **HPA** *versus* **GT**.

En ce qui concerne le statut antioxydant, les teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sériques sont diminuées chez les groupes traités. Les valeurs des TBARS des HDL₃ sont respectivement, 2,3- et 2,5-fois plus diminuées chez les groupes **HPS** et **HPA**. Le contenu en TBARS des hématies est 1,5-fois plus faible chez le groupe **HPA**. Les valeurs des TBARS du cœur et du foie sont respectivement diminuées de (-72% et -82%) et (-68% et -48%) chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. Les teneurs en hydroperoxydes des VLDL et des LDL-HDL₁ sont respectivement, 2-, 2,5-fois plus faibles chez les groupes traités. Les valeurs des hydroperoxydes de l'aorte et du foie sont respectivement diminuées de (-56% et -69%) et (-63% et -66%) chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. Une réduction du contenu en acide urique est notée au niveau du sérum (-28%) chez le groupe **HPA**. L'activité paraoxonase est respectivement, 1,3- et 1,8-fois plus augmentée chez les groupes **HPS** et **HPA**. L'activité catalase (CAT) des hématies est 1,5-fois plus élevée chez le groupe **HPA**. De plus, cette activité est augmentée au niveau du cœur, du foie et du muscle chez les groupes traités. Les activités superoxydes dismutase (SOD) de l'aorte et du muscle sont respectivement augmentées de +67% et +78% chez le groupe **HPA**. Les activités glutathion peroxydase (GSH-Px) du foie et du muscle sont respectivement augmentées de +55% et +61% chez les groupes traités. Les activités glutathion réductase (GSSH-Red) de l'aorte, du foie et du muscle sont respectivement, (2- et 1,4-fois), (2- et 3-fois) et 2,4-fois plus élevées chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. Les teneurs en carbonyles des HDL₂ et HDL₃ sont respectivement, (2,3- et 2-fois) et (3,2- et 2,5-fois) plus faibles chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. Au niveau du cœur et du muscle, ces teneurs sont significativement diminuées de (-51% et -55%) et (-64% et -69%) chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement. Les teneurs en monoxyde d'azote (NO) des érythrocytes, du cœur, du foie et du muscle sont respectivement, 1,7-fois, (1,6- et 1,9-fois), 2,9-fois et (1,9- et 3,1-fois) plus faibles chez les groupes **HPS** et **HPA**, respectivement.

En conclusion, chez le rat soumis à un régime supplémenté en cholestérol, le traitement avec les hydrolysats de protéines de sardine et de sardinelle atténue significativement la cholestérolémie. Ces hydrolysats semblent agir de façon significative sur le transport inverse du cholestérol. De plus, les hydrolysats de protéines de sardinelle induisent un effet hypotriglycéridémiant. En outre, les hydrolysats de protéines de sardine et en particulier de sardinelle jouent un rôle considérable dans la défense antioxydante, en stimulant l'activité des enzymes antioxydantes et en réduisant l'oxydation lipidique (TBARS, hydroperoxydes) et protéique.

Mots clés : Rat- Hydrolysats de protéines de sardine - Hydrolysats de protéines de sardinelle - CT - TG - LCAT - TBARS - Hydroperoxydes - Acide urique - Paraoxonase - CAT - SOD - GSH-Px - GSSH-Red - Carbonyles - NO.