

Influence de la forme d'apport des lipides de la graine de lin sur le métabolisme du cholestérol chez le hamster

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 11, Numéro 3, 230-6, MAI-JUIN 2004, Fondamental

Auteur(s) : Dominique HERMIER^{1,*}, Anne MORISE², Jacqueline FERZOU², Michel RIOTTOT², Evelyne FÉNART³, Pierre WEILL⁴

¹UMR Physiologie de la Nutrition et Comportement Alimentaire, INA-PG, 75005 Paris, 16, rue Claude-Bernard

²Laboratoire d'Endocrinologie de la Nutrition, Université Paris Sud, 91405 Orsay

³Onidol, 75008 Paris

⁴La Messayais, 35210 Combourtillé

*Téléphone : 01 69 15 62 38 Télécopie : 01 69 15 70 74.

Article reçu le 9 Avril 2004, accepté le 22 Juillet 2004

ARTICLE

Plusieurs études récentes, chez l'homme comme chez l'animal, ont montré les propriétés bénéfiques de la consommation de graines de lin oléagineux (*Linum usitatissimum*) sur le métabolisme des lipides et les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. Les effets décrits chez l'homme à jeun sont essentiellement une baisse de la cholestérolémie, sans effet net sur la triglycéridémie à jeun, aussi bien chez les sujets sains [1, 2] que chez les patients hyperlipidémiques [3]. Plusieurs constituants de la graine de lin sont susceptibles de modifier le métabolisme du cholestérol, parmi lesquels les acides gras polyinsaturés (AGPI) de l'huile, les protéines, les fibres solubles et les lignanes. La graine de lin entière contient environ 35-40 % [1, 4] de son poids en huile, constituée à 70 % d'AGPI. Parmi ces AGPI, l'acide α -linoléique (ALA, C18:3n-3) représente 50-55 % [2, 4] des acides gras totaux. Des études nutritionnelles réalisées avec des huiles riches en ALA (lin, colza, cameline) ont montré des effets dissemblables sur le bilan lipidique. Dans certains cas, la consommation de ces huiles abaissait la cholestérolémie [5, 6, 7], y compris chez des patients hypertendus [8] ou hyperlipoprotéïnémiques [9], avec de surcroît une baisse de la triglycéridémie chez ces deux groupes de patients. D'autres études chez l'homme ne montraient aucun effet sur le bilan lipidique [10-16]. Comparativement à ce que l'on observe pour les huiles riches en ALA, la consommation de graines de lin entières, ou de tourteau de lin, s'est révélée plus systématiquement hypocholestérolémiante, que ce soit chez l'homme sain [1, 2], chez le patient hyperlipidémique [3] ou chez l'animal [17]. Chez le lapin, l'utilisation d'une variété de graine de lin très pauvre en ALA (2-3 % des acides gras) a entraîné une réduction de l'hypercholestérolémie et de l'athérosclérose [18]. Il est donc manifeste que, à côté de l'ALA, d'autres constituants de la graine sont susceptibles d'influencer le métabolisme du cholestérol. C'est le cas des fibres solubles de l'enveloppe, et en particulier d'un mucilage qui représente jusqu'à 8 % de la graine entière [19]. Comme pour les autres fibres solubles (gomme de guar, pectine, etc.), les effets hypocholestérolémiants combineront une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol avec une augmentation de l'élimination fécale

des acides biliaires par piégeage physique de ces stérols au sein des fibres [20]. Les pertes fécales d'acides biliaires entraînent généralement une stimulation compensatrice de leur synthèse hépatique à partir du cholestérol, et donc une élimination accrue de ce dernier par cette voie [21]. Par ailleurs, comme cela a été démontré pour les protéines de soja, on peut envisager un effet hypocholestérolémiant des protéines du lin, attribuable à la composition particulière en acides aminés des protéines végétales [22]. Cependant, il ne semble pas que l'effet spécifique sur le métabolisme lipidique des fibres solubles ou des protéines de la graine de lin ait été évalué jusqu'à présent, que ce soit chez l'homme ou chez l'animal. Enfin, la graine de lin est la source végétale la plus riche en lignanes, majoritairement le secoisolariciresinol diglucoside (SDG, 0,6-1,8 %) [23]. Les propriétés estrogéniques du SDG, en particulier en tant qu'anti-oxydant au niveau des parois vasculaires, seraient analogues à celles des isoflavones de soja [24]. Des études chez les rongeurs ont montré effectivement que les propriétés anti-oxydantes du SDG s'ajoutent à ses propriétés hypocholestérolémiantes pour réduire l'athérosclérose hypercholestérolémique chez le lapin [18, 25] ou le diabète de type II chez le rat Zucker [26]. Ainsi, différents constituants de la graine de lin sont susceptibles d'améliorer un certain nombre de facteurs d'athérogénicité, en influençant à la fois le métabolisme du cholestérol et les processus oxydatifs. Cependant, apportés sous forme de graine entière, ces composants peuvent avoir sur le métabolisme un effet synergique (par exemple, la protection des AGPI de l'huile par les anti-oxydants naturellement présents, tels que la vitamine E et le SDG), ou antagonistes (par exemple, une moins bonne accessibilité aux enzymes digestives des composants protégés par l'enveloppe [27]). La forme d'apport pourrait donc jouer un rôle spécifique. Dans cette étude, nous avons voulu analyser plus particulièrement les effets de la forme d'apport alimentaire de la matière grasse du lin, soit sous forme de graines entières extrudées, soit sous forme d'huile apportée en même temps que le tourteau. L'effet de ces deux types d'aliments, comparé à celui d'un régime de composition équivalente en macronutriments, mais riche en AG saturés (AGS), a été étudié sur les paramètres du métabolisme lipidique du hamster. En effet, cette espèce est un bon modèle pour l'étude du métabolisme du cholestérol dans la mesure où elle se rapproche de l'homme par son profil de lipoprotéines plasmatiques [28, 29], son métabolisme biliaire [30] et sa réponse aux AG alimentaires [31, 32].

Matériels et méthodes

Animaux

Trente hamsters syriens dorés mâles (*Mesocricetus auratus*) provenant de l'élevage Janvier (Le Genest-St-Isle, France) et âgés de 4 semaines, ont été placés en cages collectives (4 ou 5 animaux par cage) sur litière, dans un environnement contrôlé (22 °C, cycle lumineux 14 h de jour/10 h de nuit). Jusqu'à 8 semaines, ils ont reçu ad libitum de l'eau distillée, ainsi que des croquettes du commerce broyées de type UAR 113 (UAR, Villemoisson, France), apportant 59,6 % de glucides, 19,0 % de protéines, 6,0 % de lipides et 5,45 % de minéraux.

Régimes

Les aliments expérimentaux étaient constitués de 76 % de croquettes broyées, auxquelles ont été rajoutés selon le cas : des graines de lin extrudées (Valoméga, V), de l'huile et du tourteau de lin (HT), ou du beurre et du tourteau de lin (BT) (tableau 1) (Tableau 1). Le Valoméga, l'huile de lin et le tourteau de lin ont été fournis par la société Valorex (La Messayais, 35210 Combourtille, France). Afin de se rapprocher de la composition lipidique du beurre, du cholestérol, préalablement dissous dans

l'huile, a été ajouté aux aliments V et HT en quantité égale à celle apportée par le beurre, ainsi que de l'huile de tournesol oléique (Oléisol, Lesieur, Neuilly-sur-Seine, France) pour augmenter la proportion finale d'acide oléique (OL, 18:1n-9) et diminuer celle d'acide linoléique (LA, 18:2n-6). Le cholestérol était purifié et cristallisé avant emploi pour éliminer les traces d'oxystérols. Enfin, étant donné que le Valoméga contient du son de blé, ce constituant a été ajouté en quantités équivalentes aux régimes HT et BT. La composition nutritionnelle théorique des aliments, ainsi que leur teneur en cholestérol et leur composition en acides gras, déterminées par CPG, sont données dans le tableau 2 (Tableau 2). La teneur en lipides des régimes a été mesurée (V : 13,7 %, HT : 13,6 %, BT : 13,6 %) et ne différait pas sensiblement de la valeur théorique. Ainsi, les trois régimes sont isoprotéiques, isoglucidiques et isolipidiques, et ils apportent des quantités semblables de cholestérol et de fibres. Les régimes V et HT apportent des proportions identiques de tous les AG, tandis que le régime BT apporte beaucoup plus d'AGS, 5 fois moins d'ALA, et des quantités légèrement plus faibles d'OL et de LA.

Tableau 1 Composition des régimes expérimentaux (pour 100 g).

Produits	V	HT	BT
Valoméga	huile de lin + tourteau de lin	beurre + tourteau de lin	
Huile de lin	0	4,81	0
Beurre	0	0	10,33
Oléisol	4,03	3,93	0
Valomega	19,66	0	0
Croquette	74,71	74,65	74,80
Tourteau de lin	0	8,94	8,96
Son	0	5,89	5,91
Cholestérol	0,020	0,019	0
Eau	1,57	1,75	0

Tableau 2 Composition nutritionnelle des régimes.

		V	HT	BT
Valoméga	huile de lin + tourteau de lin	beurre + tourteau de lin		
Glucides	g / 100g	51,98	52,08	52,18

Protéines	18,01	17,91	17,95	
Lipides	14,04	14,00	13,89	
Humidité	11,01	11,00	11,03	
Minéraux	5,02	4,98	4,99	
Cholestérol	g / 100g	0,051	0,053	0,059
AG saturés	% des acides gras totaux	11,9	12,0	48,6
C18:1n-9	36,3	36,6	24,4	
C18:2n-6	25,9	26,0	19,3	
C18:3n-3	24,2	23,6	4,2	

Protocole expérimental

A l'âge de 8 semaines, les hamsters ont été répartis en 3 groupes de 10 dans des cages à sol grillagé, pesés chaque semaine et nourris ad libitum avec l'un des 3 aliments expérimentaux pendant 7 semaines. Au bout de 6 semaines, les hamsters ont été placés dans des cages individuelles sur grilles. Cinq jours avant le sacrifice, ils ont été changés de cage et ont reçu pendant 6 h un repas expérimental radiomarké par du cholestérol et du β -sitostanol, en prévision du recueil des fèces (voir ci-dessous). A la fin des 7 semaines de régime expérimental, soit à l'âge de 15 semaines, tous les hamsters ont été mis à jeun pendant une nuit (18 h-9 h), puis anesthésiés par injection intramusculaire de Zoletil® 50 (Virbac, Carros, France) à la dose de 4 mg/100 g de poids vif et pesés. Le sang a été prélevé par ponction intracardiaque au moyen d'une seringue héparinée (10 unités d'héparine/ml de sang). Le plasma a été séparé par centrifugation pendant 20 minutes à 4 °C et 1 700 g, puis conservé à - 20 °C. Les hamsters ont été euthanasiés par section des veines jugulaires. La vésicule biliaire a été examinée pour la présence éventuelle de calculs, et la bile a été prélevée puis conservée à - 20 °C. Le foie a été prélevé et pesé, puis un fragment d'environ 0,5 g a été prélevé et congelé à - 20 °C. Les tissus adipeux épididymaire et rétropéritonéal ont été prélevés, pesés et stockés à - 20 °C, ainsi que le muscle Vastus lateralis droit et l'aorte dans sa totalité. Après sacrifice de tous les animaux, les fèces ont été récupérées dans les cages, pesées et stockées à - 20 °C.

Analyses

Aliments. Les lipides ont été extraits selon la méthode de Folch [33] séchés sous azote et transméthylés par le BF_3 à 14 % dans le méthanol pendant 1 heure à 100 °C [34]. Les acides gras méthylés ont alors été extraits dans l'hexane, séchés rapidement sous azote, dilués dans l'hexane et analysés par chromatographie en phase gazeuse capillaire (CPG) grâce à un appareil Fisons 8000 (Thermo products, Les Ulis, France) équipé d'un injecteur « on-column ». La séparation s'est faite sur une colonne capillaire de silice, phase BPX70 (longueur 60 m, diamètre intérieur 0,32 mm, épaisseur du film 0,25 μm , SGE, Villeneuve-Saint-Georges, France), avec un flux d'hydrogène de 1,5 ml/mn et une programmation de température de 60 à 220 °C en 4 paliers.

Absorption du cholestérol. La mesure du coefficient d'absorption intestinale du cholestérol alimentaire a été réalisée selon la méthode du bilan fécal radioactif adaptée pour le hamster [35]. Cette méthode repose sur l'ingestion d'une dose unique de stérols marqués (2 μ Ci de 14 C-cholestérol, Perkin Elmer Life Sciences, Boston, USA et 1 μ Ci de 3 H- β -sitostanol, American Radiolabeled Chemicals, Saint Louis, USA) incorporés dans un repas, le cholestérol étant absorbable dans l'intestin grêle, et le β -sitostanol étant quasiment inabsorbable.

Lipides. Les concentrations du cholestérol total (CT), des triglycérides (TG) et des phospholipides (PL) du plasma ont été mesurées par des méthodes enzymatiques colorimétriques au moyen des kits fournis par Bio-Mérieux (Marcy-l'Etoile, France) [36-38] et d'un analyseur automatique (Abbott-VP, Rungis, France). Celle du cholestérol libre (CL) a été mesurée selon une procédure manuelle adaptée de celle de Richmond [36]. La concentration des esters de cholestérol (EC) a été calculée selon la formule : $EC = (CT - CL) \times 1,67$, en considérant que le rapport des poids moléculaires des EC par rapport au CL (1,67) était le même chez l'homme et le hamster. Les concentrations de CT et de PL dans la bile ont été déterminées selon les mêmes méthodes, après dilution de la bile au 1/10 dans l'eau distillée. Celle des acides biliaires (AB) a été mesurée par une méthode enzymatique manuelle après dilution au 1/20 [39]. L'index lithogénique a été calculé selon la méthode de Hofmann à partir des concentrations molaires du CT, des PL et des acides biliaires [40]. Les lipides hépatiques ont été dosés comme les lipides plasmatiques après extraction dans l'isopropanol à partir de 150 mg de foie broyé [41]. Le culot a été gardé et dissous dans la soude 1M pour la mesure des protéines (PR) hépatiques par la méthode de Lowry et al., en utilisant l'albumine bovine comme standard [42].

Lipoprotéines. Les lipoprotéines ont été séparées du plasma par ultracentrifugation dans un gradient de densité spécifiquement mis au point chez le hamster [43]. Trois classes de lipoprotéines ont été isolées : les VLDL, de densité $< 1,010$; les LDL (comprenant les IDL), de densité $1,010 < d < 1,050$; les HDL, de densité $1,050 < d < 1,190$. Dans chaque classe de lipoprotéines, les lipides ont été dosés comme dans le plasma, et les protéines directement par la méthode de Lowry et al. [42]. Les concentrations de lipoprotéines ont été calculées en faisant la somme des composants lipidiques et protéiques.

Aortes. Après pesées, les aortes ont été saponifiées à chaud directement, dans un mélange d'éthanol et de potasse 10M (4/1 ; vol/vol) pendant 2 heures. Les stérols neutres ont ensuite été extraits du milieu à l'éther de pétrole. Après la troisième extraction, un lavage en retour a été réalisé avec de l'éthanol à 50 %. Les stérols neutres ont enfin été séchés et repris dans l'hexane, silylés avec du Deriva-sil (Chrompack, Middelburg, Pays-Bas), et additionnés d'un standard externe (cholestane-5 α) pour être analysés en CPG au moyen d'un appareil HRGC 4100 (Carlo-Erba, Milan, Italie). Les conditions analytiques étaient les suivantes : colonne capillaire en silice fondue de type WCOT longue de 25 mètres et greffée par une phase liquide OV1701 (épaisseur du film 0.2 μ m) (Spiral, Dijon, France), débit de gaz vecteur (H_2) 2mL/min, températures du four 230 °C, de l'injecteur et du détecteur 260 °C.

Analyses statistiques. Les données ont été analysées au moyen du logiciel Statview 4.5 (Abacus Concept, Berkeley, CA, USA), en faisant appel à une ANOVA suivie d'un test de Fisher a posteriori. Les différences entre moyennes ont été considérées comme significatives au seuil de 0,05.

Résultats

Composition corporelle

Le poids corporel (tableau 3) à l'âge de 16 semaines, après 7 semaines de régime, est identique dans les trois groupes, de même que les poids des tissus adipeux épidydimaire et rétropéritonéal, et que le poids du muscle Vastus lateralis.

En revanche, chez les hamsters ayant reçu le tourteau de lin (HT et BT), le poids du foie, en valeur absolue et en pourcentage du poids corporel, est significativement plus élevé chez ceux ayant consommé le beurre que chez ceux ayant consommé l'huile de lin, les valeurs étant intermédiaires chez les hamsters qui ont reçu les graines de lin extrudées.

Tableau 3 Composition corporelle.

Poids	V	HT	BT	RDS	P ANOVA
Au sacrifice (g)	115	113	113	6	0,8069
Foie (g)	3,96 ^{ab}	3,82 ^b	4,08 ^a	0,28	0,1116
Foie/poids corps (%)	3,46 ^{ab}	3,38 ^b	3,62 ^a	0,24	0,0506
TAR (g)	1,27	1,50	1,44	0,33	0,2856
TAE (g)	1,11	1,16	1,08	0,17	0,6023
Muscle VL (mg)	162	146	160	0,04	0,5790

Absorption du cholestérol

L'efficacité de l'absorption du cholestérol alimentaire est de $84,6 \pm 1,1\%$ avec le régime V, de $82,5 \pm 1,4\%$ avec le régime HT et de $85,3 \pm 0,9\%$ avec le régime BT. Elle ne diffère pas significativement entre les trois groupes.

Bilan sanguin

Pour tous les lipides circulants, CL, EC, TG et PL, les concentrations plasmatiques sont significativement plus élevées chez les hamsters ayant consommé le beurre ; en revanche elles ne diffèrent pas selon la forme d'apport de lipides de lin (tableau 4).

Chez ces animaux à jeun, les VLDL sont faiblement représentées. Chez ceux ayant consommé le beurre, leur concentration plasmatique est deux fois plus élevée qu'en réponse aux deux régimes apportant les matières grasses de lin. Cependant, elles sont plus riches en TG et plus pauvres en cholestérol, si bien que la concentration plasmatique du cholestérol transporté par les VLDL ne diffère pas entre les groupes. Comme pour les VLDL, la concentration plasmatique des LDL est deux fois supérieure chez les hamsters ayant consommé le beurre que dans les deux groupes ayant consommé l'huile de lin, qui ne diffèrent pas entre eux. Il en est de même pour la concentration de

cholestérol transporté par les LDL. Cependant, les LDL des animaux ayant consommé l'huile de lin et le tourteau séparément sont significativement plus pauvres en EC que celles des deux autres groupes. Enfin, comme pour les VLDL et les LDL, la concentration plasmatique des HDL chez les hamsters ayant consommé le beurre est supérieure à celle des deux autres groupes, qui sont identiques. La composition des HDL est très voisine dans les trois groupes ; cependant les HDL des hamsters ayant reçu l'huile et le tourteau de lin sont légèrement plus riches en PR et plus pauvres en TG. En conséquence, la concentration du cholestérol transporté par les HDL suit celle des HDL totales : elle est donc plus élevée avec le régime BT. Enfin, l'effet du régime est plus prononcé sur les LDL que sur les HDL, si bien que les rapports LDL-CT/HDL-CT et LDL-CT/CT sont plus élevés dans le groupe ayant consommé le beurre (BT) qu'avec les régimes à base de lin.

Tableau 4 Bilan lipidique sanguin.

Lipide	Unité	V	HT	BT	RDS	P ANOVA
CT	g/l plasma	1,55 ^b	1,56 ^b	2,14 ^a	0,33	< 0,0001
CL		0,32 ^b	0,29 ^b	0,46 ^a	0,09	< 0,0001
EC		2,13 ^b	2,09 ± ^b	2,87 ^a	0,45	< 0,0001
TG		0,40 ^b	0,39 ^b	0,64 ^a	0,29	0,0149
PL		1,87 ^b	1,77 ^b	2,38 ^a	0,34	< 0,0001
VLDL	mg/l plasma	402 ^{ab}	332 ^b	715 ^a	404	0,0753
VLDL-CT	94,8	82,2	115,1	45,9	0,0982	
LDL	761 ^b	766 ^b	1386 ^a	474	0,0018	
LDL-CT	272 ^b	241 ^b	500 ^a	182	0,0013	
HDL	4420 ^b	4467 ^b	5297 ^a	608	0,0527	
HDL-CT	867 ^b	892 ^b	1060 ^a	134	0,0005	
LDL-CT/HDL-CT		0,318 ^b	0,276 ^b	0,487 ^a	0,187	0,0247
LDL-CT/CT	0,177 ^{ab}	0,154 ^b	0,229 ^a	0,063	0,0229	

Bilan hépatique et biliaire

En ce qui concerne les lipides structuraux du foie (CL et PL), on n'observe aucun effet lié au régime, que ce soit en mg/foie total ou en mg/g de protéines (tableau 5). En revanche, le stockage des EC est plus faible chez les animaux ayant reçu la graine de lin entière (V) que dans les autres groupes. Le

stockage des TG est le plus faible en réponse à la graine de lin entière, et le plus élevé en réponse au régime BT, les hamsters au régime LT ayant des valeurs intermédiaires.

Dans la bile, on n'a jamais observé de calculs cholestéroliques. En revanche, 8 hamsters des groupes LT et BT, et seulement 6 du groupe V, présentaient une lithiase due à des calculs pigmentaires. La concentration du CT est plus élevée avec le régime BT qu'avec le régime LT, alors que celle des PL est plus élevée avec le régime V que dans les deux autres groupes (tableau 6). C'est aussi en réponse au régime V, contenant les graines de lin entières, que la concentration des AB est la plus élevée. En conséquence, la bile des hamsters ayant consommé l'huile de lin, sous forme de graine (V) ou associée au tourteau (HT), est proportionnellement plus riche en PL et plus pauvre en CT et en AB que celle des animaux ayant consommé le beurre associé au tourteau de lin (BT). En conséquence, l'index lithogénique de la bile (IL) est le plus élevé chez les hamsters ayant consommé le beurre, et ne diffère pas entre les deux groupes de hamsters ayant consommé l'huile de lin.

Tableau 5 Composition hépatique.

	Unité	V	HT	BT	RDS	P ANOVA
CL	mg/foie total	8,98	8,44	8,40	1,02	0,3730
mg/g PR	12,1	11,8	11,2	1,5	0,4146	
EC	mg/foie total	73,9 ^b	97,0 ^{ab}	109,5 ^a	28,8	0,0142
mg/g PR	99,6 ^b	135,4 ^a	146, ^a	39,8	0,0181	
TG	mg/foie total	35,9 ^b	39,3 ^{ab}	51,6 ^a	15,1	0,0453
mg/g PR	48,4 ^b	55,3 ^{ab}	70,0 ^a	22,2	0,0809	
PL	mg/foie total	79,1	80,8	80,7	5,8	0,7728
mg/g PR	106,0	112,4	107,7	8,8	0,2788	
PR	mg/g foie	190	189	184	13,7	0,5779
mg/foie total	749	720	753	73	0,6164	

Tableau 6 Composition biliaire.

	Unité	V	HT	BT	RDS	P ANOVA
CT	g/L	0,66 ^{ab}	0,52 ^b	0,67 ^a	0,16	0,0737
PL		13,9 ^a	11,0 ^b	9,7 ^b	2,8	0,0017
AB		96,6 ^a	81,2 ^b	88,8 ^{ab}	15,1	0,0784
CT	% molaire	0,81	0,76	0,91	0,22	0,3440
PL	8,43 ^a	7,80 ^a	6,41 ^b	1,50	0,0122	
AB	90,76 ^b	91,43 ^b	92,68 ^a	1,61	0,0400	
IL		0,10 ^b	0,10 ± ^b	0,13 ^a	0,03	0,0576

Cholestérol aortique

Que ce soit en quantité totale ou relative, la teneur en CT des aortes ne diffère pas significativement en fonction des régimes (tableau 7).

Tableau 7 Teneur en cholestérol des aortes.

	Unité	V	HT	BT	RDS	P ANOVA
CT/aorte	µg	30,6 ± 1,0	30,1 ± 1,6	31,4 ± 0,6	3,6	0,5529
CT	µg/mg d'aorte	2,32 ± 0,10	2,64 ± 0,18	2,45 ± 0,16	0,90	0,6543

Discussion

La principale différence de composition des aliments expérimentaux, outre celle de la composition en acides gras, concerne la forme d'apport de la matière grasse, soit emprisonnée dans la matrice cellulaire (graine de lin entière extrudée), soit sous forme libre (huile de lin ou beurre) et réassociée au tourteau de lin en proportions équivalentes à celles trouvées dans la graine entière. Les conditions de cette étude permettent donc de comparer les deux formes d'apport des lipides du lin.

Quel que soit le régime, l'absorption du cholestérol alimentaire est très élevée (83-85 %), ce qui est habituel dans la souche de hamsters utilisée, provenant de l'élevage Janvier [44]. Curieusement, cette absorption n'est pas plus faible qu'avec un régime de même apport lipidique, mais sans tourteau ajouté [45]. Dans notre modèle expérimental, on ne retrouve donc pas la baisse de

l'efficacité de l'absorption intestinale du cholestérol sous l'effet des fibres alimentaires, décrite dans d'autres études [20]. Par ailleurs, la composition en acides gras des régimes (riches en acides gras saturés ou en ALA) et la forme de présentation des fibres (graines entières extrudées ou tourteau) n'ont pas d'effet sur l'absorption.

Néanmoins, quand le régime est préparé à partir de matière grasse libre associée au tourteau de lin, la concentration biliaire du CT est plus élevée avec le beurre (BT) qu'avec l'huile de lin (HT) (tableau 6). L'effet sur le CT est dissocié de celui sur les AB puisque la concentration des AB est identique pour les groupes BT et HT, mais inférieure à celle obtenue dans le groupe recevant la graine de lin entière (V) (tableau 6). La forme d'apport de l'huile de lin ne jouerait donc pas sur l'excrétion biliaire du CT ; en revanche, l'apport sous forme de graine entière favoriserait l'excrétion des AB, donc leur synthèse par le foie, donc l'élimination du cholestérol par cette voie [21]. Cette hypothèse est en accord avec un stockage hépatique des EC plus faible avec la graine de lin entière qu'avec les composants dissociés (tableau 5). Ainsi, l'effet attribué aux fibres sur le métabolisme des acides biliaires [20, 23] entrerait en synergie avec celui de l'huile de lin sur le métabolisme du cholestérol quand les deux composants sont consommés ensemble sous forme de graine entière, plutôt que sous forme dissociée. Par ailleurs, ce stockage hépatique de cholestérol plus élevé en réponse au régime HT n'est pas responsable de la différence de poids de foie entre les deux groupes puisque, au contraire, c'est chez les hamsters ayant reçu le régime HT que le poids du foie est le plus faible (tableau 3). De la même façon, un stockage plus important quand les lipides sont apportés sous forme d'huile de lin (HT) que sous forme de beurre (BT) (tableau 5) ne suffit pas à expliquer la légère hépatomégalie des hamsters ayant consommé le beurre (tableau 3).

En revanche, les formes d'apport d'huile de lin sont très semblables dans leurs effets quantitatifs sur le bilan lipidique sanguin. Tout au plus, on observe une proportion plus faible d'EC dans les LDL des hamsters ayant reçu le régime HT, sans que cela n'abaisse significativement la concentration du cholestérol transporté par ces LDL. Par ailleurs, le remplacement du beurre par la matière grasse du lin (huile ou graines) diminue significativement la concentration du cholestérol plasmatique, et ce dans tous ses transporteurs (tableau 4). Ce résultat était prévisible, puisque les acides gras saturés qui représentent près de 50 % des acides gras du beurre (tableau 2), sont connus pour leur effet hypercholestérolémiant. L'hypothèse d'un effet spécifique de l'apport d'ALA, qui viendrait s'ajouter à la diminution des acides gras saturés pour abaisser la cholestérolémie, devra être validée par une formulation des régimes appropriée. De plus, l'effet du régime est beaucoup plus marqué sur les LDL que sur les HDL, ce qui se traduit par une amélioration des rapports LDL-CT/HDL-CT et LDL-CT/CT dans les deux groupes recevant l'huile de lin (tableau 4). En conséquence, on aurait pu s'attendre à une plus faible teneur en cholestérol des aortes provenant des hamsters de ces groupes, ce qui n'est pas le cas. Ces valeurs sont dans la zone inférieure des teneurs en cholestérol aortique chez le hamster (Vaille et al., communication personnelle) et il est possible que la présence, dans tous les régimes, de molécules telles que les SDG, présentes dans la graine ou le tourteau de lin, ait eu un effet protecteur, y compris chez les hamsters hypercholestérolémiques présentant un index d'athérogénicité élevé (groupe BT) [18, 25].

Conclusion

Ces résultats confirment l'intérêt de notre modèle pour l'étude de l'effet des acides gras alimentaires, et en particulier de la proportion d'ALA, sur le métabolisme lipidique [43]. De plus, un effet significatif de la forme d'apport de l'ALA a été mis en évidence, grâce à la comparaison d'un régime contenant des graines de lin entières extrudées et d'un régime associant huile de lin et tourteau de lin. Aucune différence n'a été observée sur l'absorption intestinale et le transport sanguin du CT. En revanche, l'apport de l'huile de lin sous forme de graine entière extrudée se traduit par une plus faible accumulation de CT par le foie, et par une concentration plus élevée des AB dans la bile. La synergie entre l'effet des fibres et celui de l'ALA sur le métabolisme hépatobiliaire du CT serait donc meilleure quand les deux constituants sont apportés sous forme de graine entière.

Remerciements

Ce travail a reçu le soutien financier de l'ONIDOL et de l'ONIOL, que nous remercions vivement. Il a bénéficié du concours de Nathalie Samson pour la phase d'expérimentation animale. Nous remercions la société Valorex, et tout particulièrement Guillaume Chesneau, pour nous avoir fourni les matières premières entrant dans la composition des aliments expérimentaux.

Références

- 1 CUNNANE SC, GANGULI S, MENARD C, et al. High alpha-linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans. *Br J Nutr* 1993 ; 69 : 443-53.
- 2 LUCAS EA, WILD RD, HAMMOND LJ, et al. Flaxseed improves lipid profile without altering biomarkers of bone metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87 : 1527-32.
- 3 BIERENBAUM ML, RIECHSTEIN R, WATKINS TR. Reducing atherogenic risk in hyperlipemic humans with flax seed supplementation: a preliminary report. *J Am Coll Nutr* 1993 ; 12 : 501-4.
- 4 BHATTY RS. Nutrient composition of whole flaxseed and flaxseed meal. In : Cunnane SC, Thompson LU, editors. *Flaxseed in human nutrition*. Champaign : AOCS Press, 1995.
- 5 NYDAHL M, GUSTAFSSON IB, OHRVALL M, VESSBY B. Similar serum lipoprotein cholesterol concentrations in healthy subjects on diets enriched with rapeseed and with sunflower oil. *Eur J Clin Nutr* 1994 ; 48 : 128-37.
- 6 SEPPANEN-LAAKSO T, VANHANEN H, LAAKSO I, KOHTAMAKI H, VIKARI J. Replacement of butter on bread by rapeseed oil and rapeseed oil- containing margarine: effects on plasma fatty acid composition and serum cholesterol. *Br J Nutr* 1992 ; 68 : 639-54.
- 7 KARVONEN HM, ARO A, TAPOLA NS, SALMINEN I, UUSITUPA MIJ, SARKKINEN ES. Effect of alpha-linolenic acid -rich *Camelina sativa* oil on serum fatty acid composition and serum lipids in hypercholesterolemic subjects. *Metabolism* 2002 ; 51 : 1253-60.

- 8 SINGER P, JAEGER W, BERGER I, et al. Effects of dietary oleic, linoleic and alpha-linolenic acids on blood pressure, serum lipids, lipoproteins and the formation of eicosanoid precursors in patients with mild essential hypertension. *J Hum Hypertens* 1990 ; 4 : 227-33.
- 9 SINGER P, WIRTH M, BERGER I. A possible contribution of decrease in free fatty acids to low serum triglyceride levels after diets supplemented with n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 1990 ; 83 : 167-75.
- 10 KESTIN M, CLIFTON P, BELLING GB, NESTEL PJ. n-3 fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am J Clin Nutr* 1990 ; 51 : 1028-34.
- 11 KELLEY DS, NELSON GJ, LOVE JE, et al. Dietary alpha-linolenic acid alters tissue fatty acid composition, but not blood lipids, lipoproteins or coagulation status in humans. *Lipids* 1993 ; 28 : 533-7.
- 12 LAYNE KS, GOH YK, JUMPSEN JA, RYAN EA, CHOW P, CLANDININ MT. Normal subjects consuming physiological levels of 18:3(n-3) and 20:5(n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipids and lipoprotein fatty acid levels. *J Nutr* 1996 ; 126 : 2130-40.
- 13 MCMANUS RM, JUMPSON J, FINEGOOD DT, CLANDININ MT, RYAN EA. A comparison of the effects of n-3 fatty acids from linseed oil and fish oil in well-controlled type II diabetes. *Diabetes Care* 1996 ; 19 : 463-7.
- 14 FREESE R, MUTANEN M. Alpha-linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1997 ; 66 : 591-8.
- 15 GOH YK, JUMPSEN JA, RYAN EA, CLANDININ MT. Effect of omega 3 fatty acid on plasma lipids, cholesterol and lipoprotein fatty acid content in NIDDM patients. *Diabetologia* 1997 ; 40 : 45-52.
- 16 EZAKI O, TAKAHASHI M, SHIGEMATSU T, et al. Long-term effects of dietary alpha-linolenic acid from perilla oil on serum fatty acids composition and on the risk factors of coronary heart disease in Japanese elderly subjects. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1999 ; 45 : 759-72.
- 17 BHATHENA SJ, ALI AA, HAUDENSCHILD C, et al. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *J Am Coll Nutr* 2003 ; 22 : 157-64.
- 18 PRASAD K, MANTHA SV, MUIR AD, WESTCOTT ND. Reduction of hypercholesterolemic atherosclerosis by CDC-flaxseed with very low alpha-linolenic acid. *Atherosclerosis* 1998 ; 136 : 367-75.
- 19 MAZZA G, OOMAH BD. Flaxseed dietary fiber and cyanogens. In : Cunnane SC, Thompson LU, editors. *Flaxseed in human nutrition*. Champaign : AOCS Press, 1995.
- 20 MIETTINEN TA, TARPILA S. Effect of pectin on serum cholesterol, fecal bile acids and biliary lipids in normolipidemic and hyperlipidemic individuals. *Clinica Chimica Acta* 1997 ; 79 : 471-7.
- 21 MARLETT J, HOSIG K, VOLLENDORF N, SHINNICK F, HAACK V, STORY J. Mechanism of serum cholesterol reduction by oat bran. *Hepatology* 1994 ; 20 : 1450-7.

- 22 ANDERSON JW, JOHNSTONE BM, COOK-NEWELL ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995 ; 333 : 276-82.
- 23 BAKKE JE, KLOSTERMAN HJ. A new diglucoside from flaxseed. *Proc North Dakota Acad Sci* 1956 ; 10 : 18-22.
- 24 ADLERCREUTZ H, HOCKERSTEDT K, BANNWART C, et al. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens, on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin (SHBG). *J Steroid Biochem* 1987 ; 27 : 1135-44.
- 25 PRASAD K. Reduction of serum cholesterol and hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside isolated from flaxseed. *Circulation* 1999 ; 99 : 1355-62.
- 26 PRASAD K. Secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed delays the development of type 2 diabetes in Zucker rat. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 2001 ; 138 : 32-9.
- 27 MELITO C, TOVAR J. Cell walls limit in vitro protein digestibility in processed legume seeds. *Food Chemistry* 1995 ; 53 : 305-7.
- 28 GOULINET S, CHAPMAN MJ. Plasma lipoproteins in the golden Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*): heterogeneity of apoB- and apoA-I-containing particles. *J Lipid Res* 1993 ; 34 : 943-59.
- 29 BRAVO E, CANTAFORA A, CALCABRINI A, ORTU G. Why prefer the golden Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) to the Wistar rat in experimental studies on plasma lipoprotein metabolism? *Comp Biochem Physiol* 1994 ; 107B : 347-55.
- 30 SINGHAL AK, FINVER-SADOWSKY J, MCSHERRY CK, MOSHBACH EH. Effect of cholesterol and bile acids on the regulation of cholesterol metabolism in hamster. *Biochim Biophys Acta* 1983 ; 752 : 214-22.
- 31 ROBINS SJ, FASULO JM, PATTON GM, SCHAEFER EJ, SMITH DE, ORDOVAS JM. Gender differences in the development of hyperlipemia and atherosclerosis in hybrid hamsters. *Metabolism* 1995 ; 44 : 1326-31.
- 32 WILSON TA, NICOLOSI RJ, LAWTON CW, BABIAK J. Gender differences in response to a hypercholesterolemic diet in hamsters: effects on plasma lipoprotein cholesterol concentrations and early aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999 ; 146 : 83-91.
- 33 FOLCH J, LEES M, SLOANE-STANLEY GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Biochem* 1957 ; 226 : 497-509.
- 34 MORISSON W, SMITH L. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetal from lipids with boron fluoride methanol. *J Lipid Res* 1964 ; 5 : 600-8.
- 35 QUINTAO E, GRUNDY SM, AHRENS EH. An evaluation of methods for measuring cholesterol absorption by the intestine in man. *J Lipid Res* 1971 ; 12 : 2221-32.
- 36 RICHMOND W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 1973 ; 19 : 1350-6.

- 37 FOSSATI P, PRENCIPE L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 1982 ; 28 : 2077-80.
- 38 TAKAYAMA M, ITOH S, NAGASAKI T, TANIMIZU I. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids. *Clin Chim Acta* 1977 ; 79 : 93-8.
- 39 TURLEY SD, DIETSCHY JM. Re-evaluation of the 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase assay for total bile acids in bile. *J Lipid Res* 1978 ; 19 : 924-8.
- 40 THOMAS PJ, HOFMANN AF. Letter: A simple calculation of the lithogenic index of bile: expressing biliary lipid composition on rectangular coordinates. *Gastroenterology* 1973 ; 65 : 698-700.
- 41 LOISON C, MENDY F, SEROUGNE C, LUTTON C. Dietary myristic acid modifies the HDL-cholesterol concentration and liver scavenger receptor B1 expression in the hamster. *Br J Nutr* 2002 ; 87 : 199-210.
- 42 LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDAL RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951 ; 193 : 265-75.
- 43 MORISE A, SEROUGNE C, GRIPOIS D, BLOUQUIT M-F, LUTTON C, HERMIER D. Effects of dietary alpha linolenic acid on cholesterol metabolism in male and female hamsters of the LPN strain. *J Nutrit Biochem* 2004 ; 15 : 51-61.
- 44 FERZOU J, COMBETTES-SOUVERAIN M, SOUIDI M, et al. Cholesterol, bile acid, and lipoprotein metabolism in two strains of hamster, one resistant, the other sensitive (LPN) to sucrose-induced cholelithiasis. *J Lipid Res* 2000 ; 41 : 2042-54.
- 45 MORISE A, MOUROT J, WEILL P, FÉNART E, HERMIER D. Influence of gender on response of lipid metabolism to dietary fatty acids. In : 6th congress of ISSFALL (ISSFALL, Ed.), Brighton. 2004.