

L'effet thérapeutique de l'huile de lin « *linum usitatissimum* » sur l'hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie chez des rats obèses âgés

Ahlem LAISSOUF*, Nassima Amel MOKHTARI SOULIMANE et Hafida MERZOUK

*Laboratoire physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition « PPABIONUT »
Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature, Vie,
Terre et univers, Département de Biologie, Algérie*

* Correspondance, courriel : ahlelmd15@yahoo.fr

Résumé

L'obésité, un des problèmes de santé les plus courants, est associée à des anomalies du glucose et du métabolisme des lipides; le vieillissement est aussi associée à des troubles lipidiques. Le rôle de l'huile de lin a été étudié à 2,5% et 5% dans la modulation de l'altération du métabolisme des lipides chez les rats âgés obèses. Des rats mâles âgés Wistar sont répartis en six groupes de 10 rats chacun: Groupe contrôle, groupe contrôle huile de lin 2,5%, groupe contrôle huile de lin 5%, groupe cafétéria, groupe cafétéria lin 2,5%, groupe cafétéria lin 5%. Le régime enrichi en huile de Lin est administré pendant 2 mois. Après sacrifices la glycémie est mesurée, ainsi le cholestérol au niveau sérique, hépatique et au niveau des HDL. Les triglycérides ont été également dosés. Nos résultats montrent que le régime cafeteria induit une hyperphagie et une obésité chez les rats âgés sous régime cafeteria comparés aux rats témoins.

L'augmentation de la masse grasse est accompagnée de modifications notables des paramètres lipidiques, avec une augmentation des teneurs plasmatiques et tissulaires en cholestérol et triglycérides et une diminution de taux de HDL-C. La glycémie est élevée au niveau du plasma chez le groupe cafeteria comparé aux rats témoins. L'effet bénéfique de l'huile de Lin est marqué par une augmentation de HDL-C des rats expérimentaux comparé aux rats témoins, diminution significative de la glycémie du Triglycérides et cholestérol au niveau de plasma et du foie chez les rats âgés rendu obèse par le régime cafeteria. L'huile de lin a des effets bénéfiques sur les troubles lipidiques et diminue de manière significative l'hyperglycémie et présente une protection contre ces anomalies lie à l'obésité et le vieillissement en termes d'apport en oméga-3.

Mots-clés : *cholestérol, triglycéride, huile de lin, obésité, omega 3, vieillissement.*

Abstract

The therapeutic effect of linseed oil "*Linum usitatissimum*" on hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia in obese aged rats

Obesity, one of the most common health problems, is associated with glucose and lipid metabolism abnormalities; Aging is also associated with lipid disorders. The role of dietary linseed oil was investigated at 2,5% and 5% in the modulation of the alteration of lipid metabolism in obese aged rats. Aging male wistar rats allocated into six groups of 10 rats each: group control, group control linseed oil 2,5% , group

control linseed oil 5% diet, group cafeteria, group cafeteria linseed oil 2,5% oil, group cafeteria linseed oil 5%. Linseed oil is administered for 2 months. After sacrifice glycemia is measured and total cholesterol in serum, liver and in HDL level. Triglycerides were also measured. Our results show that the cafeteria diet-induced hyperphagia and obesity in rats fed on cafeteria diet compared with control rats. The increase in fat mass is accompanied by significant changes in lipid parameters, with increased plasma and tissue levels of cholesterol and triglycerides and decreased HDL-C. Glycemia is elevated in the plasma of the cafeteria group compared to control group. The beneficial effect of linseed oil is marked by an increase in HDL-C in experimental rats compared to control rats, significant decrease in glycemia and cholesterol in plasma and liver in aged rats made obese by cafeteria diet. Linseed oil has beneficial effect on lipid disorders and significantly reduces hyperglycemia and has a protection against these anomalies linked in obesity and aging in terms of omega-3.

Keywords : *cholesterol, triglycerides, linseed oil, obesity, omega 3, aging.*

1. Introduction

Le lien entre santé et alimentation est plus que jamais d'actualité. En effet, les recherches récentes confirment que l'alimentation joue un rôle déterminant dans la prévention de certaines maladies telles que les cancers, les maladies cardio-vasculaires et l'obésité qui est devenue un problème de santé public [1]. L'OMS définit l'obésité comme une surcharge pondérale par excès de masse grasse qui a des conséquences néfastes pour la santé, dans ses trois dimensions, somatique, psychique et sociale [2]. Le vieillissement est également associé à des altérations du métabolisme la présence accrue de l'obésité pourrait renforcer ces métaboliques anomalies. Les acides gras polyinsaturés (AGPI) de la famille n-3, qu'ils soient sous forme de précurseur (acide α -linoléique, ALA) ou de dérivés (acide eicosapentaénoïque, EPA et docosahexaénoïque, DHA) sont connus pour leurs propriétés protectrices de différentes pathologies, notamment des maladies cardiovasculaires et l'obésité [3,4]. D'importantes études ont démontré les effets bénéfiques et protecteurs des AGPI n-3 alimentaires sur les anomalies lipidiques et immunologiques associées aux maladies métaboliques [5]. Il est admis que les AGPI n-3 abaissent les concentrations plasmatiques en cholestérol et en triglycérides [6] et peuvent donc être utilisés dans le traitement des hyperlipidémies associées à l'obésité [7]. Les AGPI n-3 sont également susceptibles de réguler le métabolisme lipidique directement au niveau adipocytaire.

Des expériences réalisées avec des adipocytes isolés ont montré une augmentation de la lipolyse stimulée après consommation d'AGPI n-3 comparée à une consommation de lard [8]. Une supplémentation en AGPI n-3 améliore le contrôle glycémique et augmente la sensibilité à l'insuline chez les obèses. Les AGPI n-3 sont rapidement métabolisables donc moins stockés d'où leurs effets favorables sur la balance énergétique lors de l'obésité [7]. Parmi les plantes les plus riches en AGPI n-3 le lin *Linum usitatissimum* (Linaceae), probablement issue de la région qui s'étend du bassin méditerranéen à l'Inde. Cette plante est cultivée à la fois pour ses graines oléagineuses et ses fibres. Le lin se consomme depuis des siècles pour sa bonne saveur et sa gamme d'avantages nutritionnels révélée par les recherches scientifiques. Les premières études suggèrent que les graines de lin prises dans le régime alimentaire peuvent avantager les personnes ayant certains types de cancers du sein et de cancers de la prostate [9]. Une étude réalisée à la Duke suggère que la graine de lin peut retarder la croissance des tumeurs de la prostate. Le lin peut également diminuer la sévérité du diabète en stabilisant la glycémie [10]. Les graines peuvent abaisser le taux de cholestérol et améliorer les dyslipidémies vu ses qualités spécifiques qui sont attribuables à sa teneur élevée en graisse 40 % (AGPI n-3) [11]. Le but de cette étude est de tester l'effet bénéfique des acides gras polyinsaturés de la famille n-3 (AGPI n-3) de l'huile de lin sur les dyslipidémies et l'hyperglycémie induite par l'obésité au cours de vieillissement.

2. Matériel et méthodes

2-1. Protocole expérimental

L'étude est réalisée sur des rats wistar male âgés de 18 mois. L'élevage est réalisé dans une pièce éclairée 12 h par jour, et dont la température est maintenue constante (22 à 25°C). Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture. L'obésité est induite chez le rat par le régime Cafeteria selon Darimon et al [12]. Ce régime, hypercalorique et hyper lipidique, induit une hyperphagie suivie d'une obésité dont l'installation est rapide chez le rat Wistar. Les rats sont divisés en 6 groupes :

-Un lot témoin standard (TS) constitué de 10 males qui consomment le régime standard commercial (330 Kcal/100g), composé de 24% de protéines ; 5% de lipides et 70% de glucides.

-Un lot témoin cafeteria (TC) constitué de 10 males qui consomment le régime cafeteria (420 Kcal/100g), composé de 30g de régime standard et de 30g d'un mélange de saucisse- biscuits secs ,fromage, chips, chocolat, cacahuètes dans les proportions 2 :2 :2 :1 :1 :1 selon Darimon et al [12]. Ce régime contient 26% de protéines, 27% de glucides et 47% de lipides.

-Un lot constitué de 10 males qui consomment un régime standard enrichi en huile de lin à 2,5% (SL2,5%)

-Un lot constitué de 10 males qui consomment un régime cafeteria enrichi en huile de lin à 2,5% (CL2,5%)

-Un lot constitué de 10 males qui consomment un régime standard enrichi en huile de lin à 5% (SL5%)

-Un lot constitué de 10 males qui consomment un régime cafeteria enrichi en huile de lin à 5% (CL5%)

B. Sacrifices et prélèvements de sang et d'organes

Le régime est administré aux rats pendant deux mois au bout desquels, 10 rats de chaque lot sont pesés puis anesthésiés au pentobarbital sodique à 6,5% (0,1 ml par 100g de poids corporel) et sont sacrifiés après 12h de jeûne. Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale. Une quantité de sang prélevé est récupérée dans des tubes à EDTA et centrifugée à 3000 tr/min pendant 15 min pour doser le cholestérol total et les triglycérides. Le dosage du glucose se fait le jour même du prélèvement sur du sérum frais. Le foie est soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9‰, ensuite pesés. Une partie aliquote des différents organes est immédiatement broyée dans le tampon PBS, PH 7,4. L'homogénat obtenu est utilisé pour la détermination de cholestérol tissulaire.

2-2. Détermination des teneurs en glucose en cholestérol et en triglycérides

Au niveau sérique le glucose, le cholestérol total, le cholestérol HDL, et les triglycérides sont déterminé par la méthode enzymatique et colorimétrique (kit Boehringer, Mannheim, Germany)

3. Analyse statistique

Après vérification de la distribution normale des variables (Test Shapiro- Wilk), la comparaison des moyennes entre les six groupes des rats est effectuée par test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétées par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c) sont significativement différentes ($p \leq 0,05$)

4. Résultats et interprétation

Le poids corporel des rats âgés recevant le régime cafeteria est significativement plus élevé que celui des rats témoins cependant les rats recevant le régime cafétéria enrichie en huile de lin à 2,5 et à 5% présentent une diminution de poids par rapport aux rats sous régime cafeteria (TC)

Tableau 1 : poids corporel et poids du foie des rats

| Rats témoin | | Rats obese | |
|--------------------|--------------------------|------------|--------------------------|
| poids des rats (g) | | | |
| TS | 380,16±6.79 ^c | TC | 573,83±8,33 ^a |
| SL2,5% | 339,33±6.68 ^d | CL2,5% | |
| SL5% | 330±8.79 ^c | CL5% | |
| Poids de foie(g) | | | |
| TS | 22,67± 1.43 ^c | TC | 24,65±1,17 ^c |
| SL2,5% | 21,75± 1.23 ^b | CL2,5% | 23,93±1,1 ^e |
| SL5% | 23,75±0,13 ^a | CL5% | 22,99±1,21 ^a |

La quantité de nourriture ingérée est identique chez les lots de rats TS et TC. Cependant, chez les rats nourris au régime cafeteria ou au régime standard enrichi en huile de lin à 2,5% et à 5%, on note une réduction de la prise alimentaire. Le poids relatif du foie chez les rats de différents groupes ne présente pas de variations sauf pour les rats TC où il augmente significativement. Les rats âgés TC présente une augmentation significative de la glycémie par rapport aux témoins TS, alors que le régime enrichi en huile de lin diminue significativement la glycémie avec -19.7% pour les rats CL5% et -17 % CL2,5%

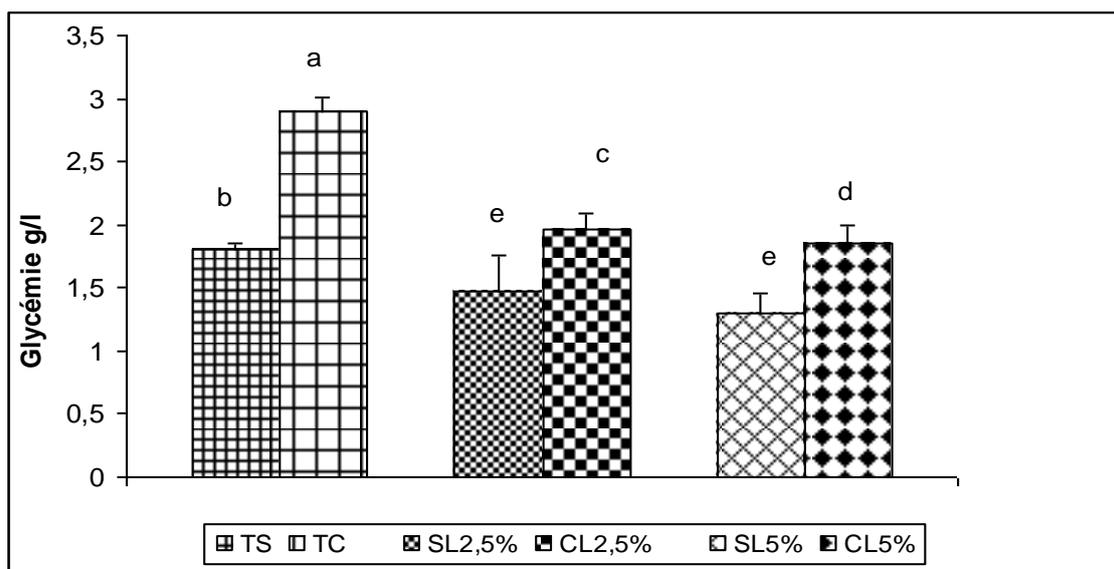


Figure 1 : Teneurs plasmatiques en glucose (g/L)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=10. TS : rats témoins nourris au régime standard; TC : rats témoins nourris au régime cafétéria; SL2,5% : rats expérimentaux nourris au régime standard enrichi en huile de lin à 2,5%; CL2,5% rats expérimentaux nourris. Au régime cafeteria enrichi en huile de lin à 2,5%; SL5% : rats expérimentaux nourris au régime standard enrichi en huile de lin à 5% ; CL5% : rats expérimentaux nourris au régime cafeteria enrichi en huile de lin à 5% . Après vérification de la distribution normale des variables (Test Shapiro- Wilk), la comparaison des moyennes entre les six groupes des rats est effectuée par test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c) sont significativement différentes ($p \leq 0,05$)

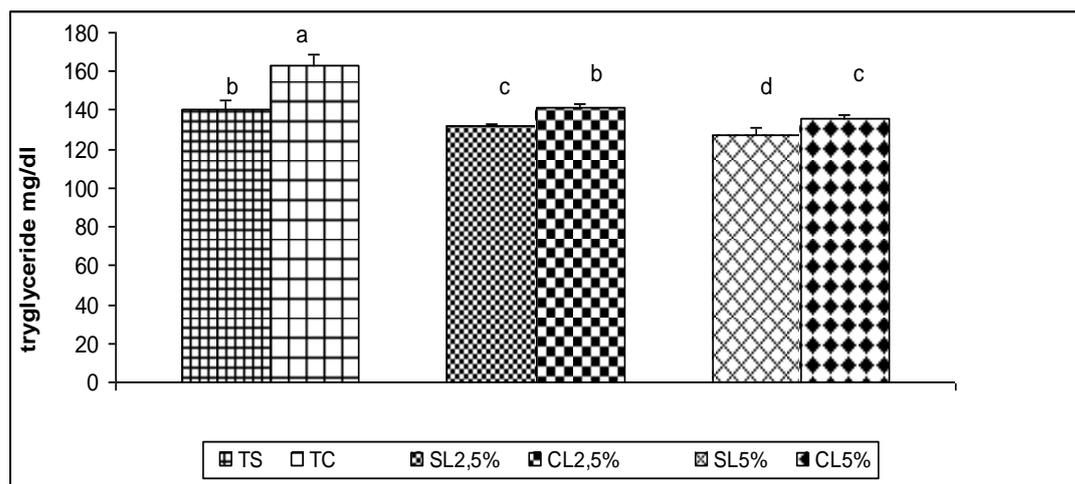


Figure 2 : *Teneurs plasmatiques en triglycérides total (mg/dl)*

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=10.

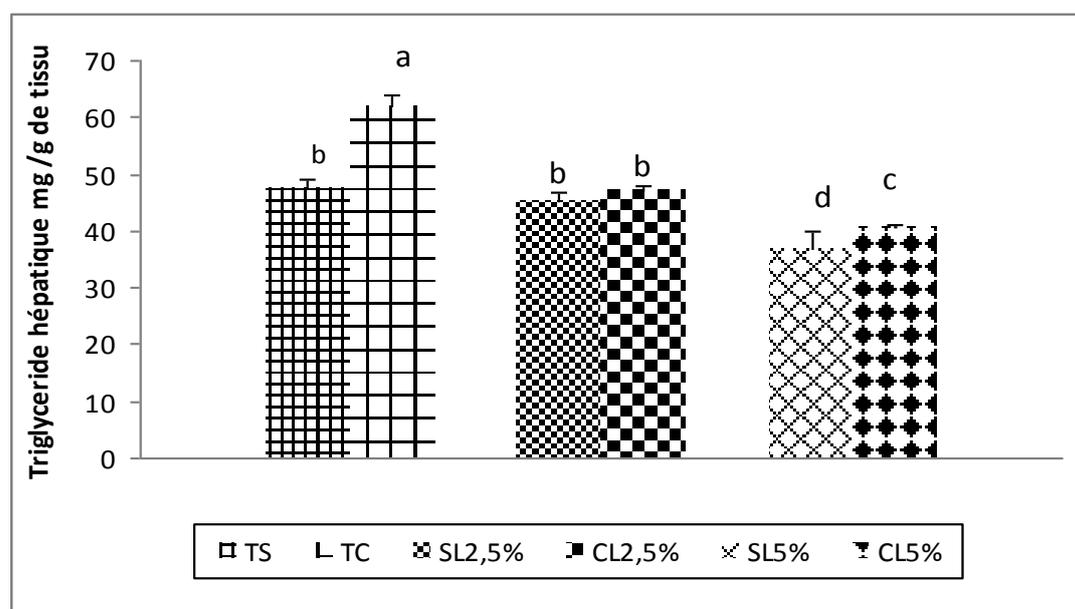


Figure 3 : *Teneurs en triglycérides hépatique (mg/g de tissu)*

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=10.

Les teneurs plasmatiques en triglycérides sont significativement plus élevées chez les rats obèses âgés (TC) comparés aux témoins (TS), l'huile de lin entraîne une diminution significative des triglycérides plasmatique et hépatique chez les rats CL2,5% et CL5% par rapport aux rats TC

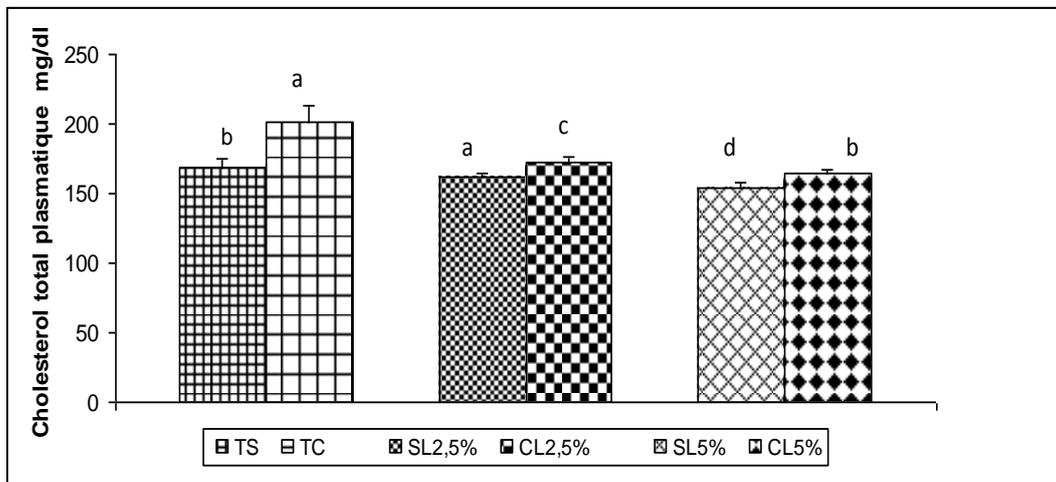


Figure 4 : Teneurs plasmatiques en cholestérol total (mg /dl)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=10.

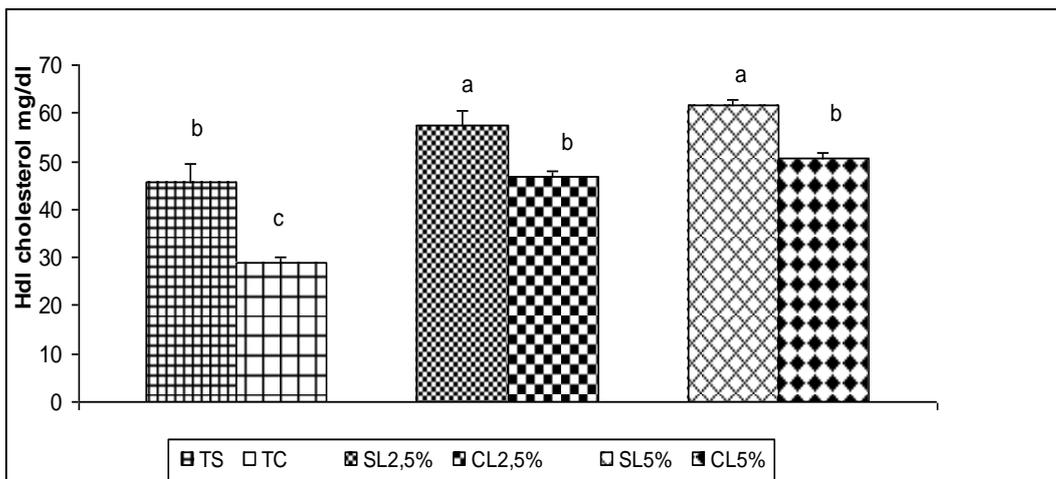


Figure 5 : Teneurs en HDL cholestérol (mg/dl)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=10.

Le cholestérol sérique totale des rats obèses comparés à leur témoin augmente de 32%, par contre l'huile de lin entraîne une diminution de -18% pour les rats obèses consommant l'huile de lin à 2,5 % et -21% pour les rats consommant l'huile de lin à 5%, Par ailleurs le régime cafeteria entraîne une augmentation significative des teneurs en cholestérol hépatique par rapport au régime témoin tandis que l'huile de lin diminue significativement le cholestérol hépatique chez les rats obèses. Le régime enrichi en huile de lin entraîne chez les rats obèses (CL2,5% et CL5%) une augmentation significative des HDL cholestérol par rapport aux témoins TC .

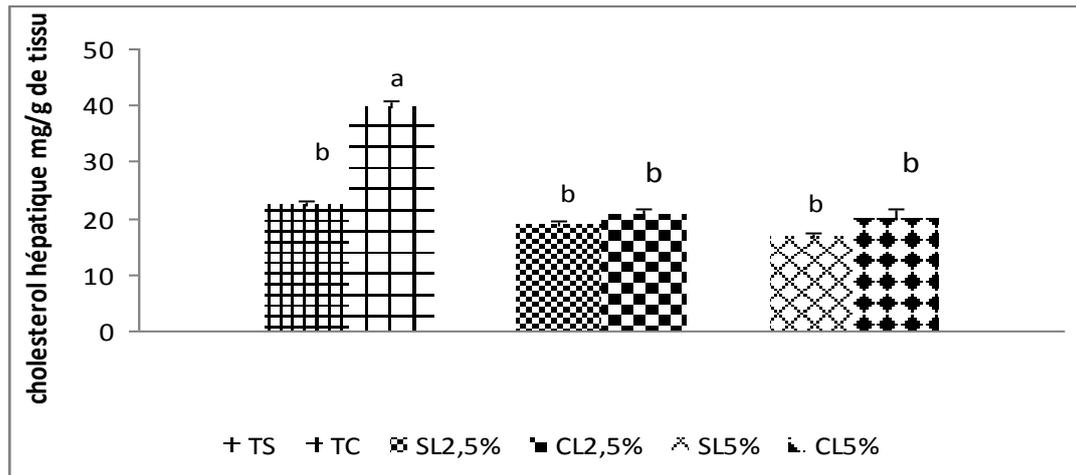


Figure 6 : Teneurs en Cholestérol hépatique (mg/g de tissu)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=10.

5. Discussion

Cette dernière décennie plusieurs études se sont intéressées aux acides gras polyinsaturés de la famille n-3 et leur bienfait entre autres sur les dyslipidémies [13]. Afin de compléter les recherches réalisées chez l'homme, nous avons utilisé un modèle animal d'obésité nutritionnelle le rat Wistar ou la consommation du régimecafeteria induit une obésité chez ce rat [14]. Nous avons testé l'effet des AGPI n-3 de l'huile de lin vu sa teneur riche en acide alpha-linolénique [15] sur l'hyperglycémie l'hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie induite par l'obésité chez les rats âgés. Le régime cafétéria induit une hyperphagie provoquée par des facteurs nutritionnels. Il s'agit, d'un régime hyperlipidique et hypercalorique associé à une accumulation de tissu adipeux et à une prise de poids aussi bien chez l'homme que chez le rat [16]. Dans notre étude, le régime cafeteria induit une obésité chez les rats âgés (TC) causé par une hyperphagie [17]. L'augmentation du poids chez les ratsâgés nourris au régime cafeteria est associée à l'augmentation du poids du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, confirmant les propriétésobésogènes du régime cafeteria. Cette obésité est associée à des altérations des métabolismes glucidique, lipidique et protéique similaires à celles observées au cours de l'obésité et le vieillissement humain [18-19].

Dans notre travail, la supplémentation du régime en huile de lin entraîne une légère perte de poids chez les témoins, mais elle provoque une importante chute de poids chez les rats obèses âgés. Le régime témoin supplémenté en huile de lin ne provoque pas de grandes variations du poids corporel, chez les rats (SL) comparées aux rats sous régime témoin normal (TS). Par contre, les rats obèses âgés nourris au régime cafeteria supplémenté en huile de lin (CL) ont un poids corporel significativement plus faible que celui des rats obèses âgés sous régime cafeteria (TC). Les effets hypolépédimiant selon Cunnane et al [20] de l'huile de lin peuvent être responsables de cette chute de poids [21]. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Shirouchi et al [22], qui montrent que le régime cafeteria enrichi en omega 3 induit une meilleure évolution du poids corporel. De même, la composition corporelle est modifiée et se traduit par une diminution du tissu adipeux blanc, D'après Parrish et al [23] chez le rat, un régime enrichi en huile de poisson riche en EPA et DHA n'entraîne pas d'obésité. Un régime hyperlipidique riche en LNA empêche le développement excessif du tissu adipeux [24]. Ces travaux vont dans le même sens que nos résultats.

Les teneurs sériques en glucose varient significativement entre les rats TC et TS. Nos résultats concordent avec les travaux de Merzouk et al qui montrent que les rats obèses sont caractérisés par une insulino-résistance de l'organisme entier avec dysfonctionnement des cellules bêta à l'âge adulte [25]. Ainsi, le vieillissement est constamment associée à une insulino-résistance dont les mécanismes sont complexes [26]. L'huile de lin entraîne une diminution significative de glucose chez les rats âgés nourris au régime SL comparées aux rats TS. Aussi, la variation de la glycémie entre CL et TC est significative [27]. Nos résultats montrent que le régime cafeteria augmente significativement les teneurs plasmatiques en Cholestérol et en triglycérides total et hépatique et de HDL-C par rapport au régime témoin. Cette augmentation reflète les perturbations du métabolisme lipidique dues à l'état inflammatoire chronique provoqué par l'excès du poids et le vieillissement. Ces données vont dans le même sens que les travaux montrant l'existence d'une relation entre le régime alimentaire et la pathologie [28].

La supplémentation en huile de lin entraîne une diminution significative des taux sériques en cholestérol et en triglycérides chez les rats témoins âgés et obèses âgés, montrant un effet hypolipidémiant de l'huile de lin [29]. Le régime cafeteria provoque une augmentation significative des teneurs en cholestérol et triglycérides hépatique chez les rats obèses (TC) par rapport au régime témoin. Il apparaît clairement que le régime cafeteria augmente les lipides au niveau de foie. Le lin riche en acides gras polyinsaturés diminue le cholestérol et les triglycérides hépatiques nos résultats sont en accord avec ceux de Ruiz-Gutierrez et al [30]. L'augmentation du poids des rats nourris au régime cafeteria est associée à l'augmentation du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, confirmant les propriétés obésogènes du régime cafeteria [31]. Cette obésité est associée à des altérations des métabolismes glucidique et lipidique similaires à celles observées au cours de l'obésité humaine [32]. L'huile de lin provoque une augmentation des HDL cholestérol chez les rats obèses par rapport à leur témoins, Ceci est en faveur de l'effet bénéfique de l'huile de lin sur la cholestérolémie chez les obèses [33].

6. Conclusion

L'huile de lin a des effets bénéfiques sur les altérations du métabolisme lipidique due aux vieillissements et l'obésité ces effets sont principalement médiées par les acides gras polyinsaturé n-3. Des recherches plus poussées, y compris des études humaines à élucider les mécanismes d'action des oméga 3 sont nécessaire.

Références

- [1] - K.A. STEINMETZ, J.D. POTTER, Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association* 96 (10), (1996).1027–1039.
- [2] - O.ZIEGLER, Faut-il « démedicaliser » le traitement de l'obésité ? *Obésité*.(2009) 4: 87-88.
- [3] - A. NORDOY, *et al*, n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *Lipids*; 36 (Suppl) 127-129,(2001).
- [4] - M.DELORGERIL, *et al*, Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary HEART disease. *Lancet*; (1994) 343(8911): 1454-9.
- [5] - AH. LICHTENSTEIN, E. KENNED, P. BARRIER, Dietary fatty consumption and health, (1998).
- [6] - WS.HARRIS, Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: A critical review. *J Lipid Res.* (1989)785- 807.

- [7] - LH .STORLIEN, AJ .HULBERT, PL. ELSE, Polyunsaturated fatty acids, membrane function and metabolic diseases such as diabetes and obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* (1998) 1:1559-563.
- [8] - AC.RUSTAN, BE. HUSTVEDT, CA. DREVON, Dietary supplementation of very long-chain-3 fatty acids decreases whole lipid utilization in the rat. *J Lipid Res.*(1993) 34: 1299-1309.
- [9] - LU. THOMPSON, JM. CHEN, T.LI, K.STRASSER-WEIPPL, PE.GOSS, Dietary flaxseed alters tumor biological markers in postmenopausal breast cancer. *Clin Cancer Res.* (2005) 11 (10): 3828–3835, (2005).
- [10] - WJ. DAHL, EA.LOCKERT, AL. CAMMER, Effects of Flax Fiber on Laxation and Glycemic Response in Healthy Volunteers. *Journal of Medicinal Food.*(2005) 8 (4): 508–511.
- [11] - A. PAN ,D. YU ,W. DEMARK-WAHNEFRIED , OH .FRANCO , X.LIN ,Metaanalysis of the effects of flaxseed interventions on blood lipids. *Am J Clin Nutr.*(2009) 90: 288-297.
- [12] - C.DARIMONT, M.YURINI, M.EPITAUX, I. ZBINDEN, M.RICHELE, E. MONTELL, AF. MARTINEZ, K.MACE, β 3-adrenoceptor agonist prevents alterations of muscle diacylglycerol and adipose tissue phospholipids induced by a cafeteria diet. *Nutrition Metabolism.*(2004) 1: 4-12.
- [13] - N.SOULIMANE-MOKHTARI, B.GHERMOUCHE, A.YESSOUFOU, M.SAKER, K.MOTAIROU, A.HICHAMI,, H.MERZOUK. AND N.A.KHAN, Modulation of lipid metabolism by (N-3) PUFA in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring, *Clin.Sci.*(2005) 109:287-295.
- [14] - S. BOUANANE, NB. BENKALFAT, FZ.BABA AHMED, H.MERZOUK, N.SOULIMANE MOKHTARI, S.MERZOUK,J.GRESTI, CH.TESSIER, M.NARCE, Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in cafeteria fed obese rats and their offspring. *Clin Sci.*(2009) 116: 669 – 680.
- [15] - RS. BHATTY, NUTRIENT COMPOSITION OF WHOLE FLAXSEED AND FLAXSEED MEAL. IN: CUNNANE THOMPSON LU, editors. *Flaxseed in human nutrition.*Champaign: AOCS Press (1995).55-61.
- [16] - A.GOLAY, Rôle des graisses alimentaires dans le développement de l'obésité : Obésité et lipides. *Oléagineux, corps gras, lipides*(1998)5(3): 205-207.
- [17] - J.A, ARMITAGE, PD, TAYLOR, I, POSTON. Experimental model of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J Physiol.* (2005) 565: 3-8.
- [18] - P.G.KOPELMAN, L'obésité comme un problème médical. *Nature.*(2000)404: 635-643.
- [19] - G.A. KELLEY, KS. KELLEY, ZV. TRAN, *Prev Cardiol,* (2005) 8, 206-214.
- [20] - S .C.CUNNANE, S.GANGALI, A.C.MENARD, M.J.LIEDE, Z.Y.HAMEDEH, T.M.CHEN,T.M.WOLEVER, D.J.A JENKINS,High α -linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*). Some nutritional properties in humans. *British Journal of Nutrition* 69 (2), (1993) 443–453.
- [21] - A.MORISE, C.SEROUGNE, D.GRIPOIS, M.F.BLOUQUIT, C.LUTTON, D.HERMIER. Effects of dietary alpha-linolenic acid on cholesterol metabolism in male and female hamsters of the LPN strain. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 15 (1), (2004) 51–61.
- [22] - B.Shirouchi, K.Nagao, N.Inoue, T.Ohkubo, H.Hibino,T.Yanagita.Effect of dietary omega 3 phosphatidylcholine on obesity-related disorders in obese Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *J Agric Food Chem.* (2007),55:71-76.
- [23] - CC. Parrish, DA.Pathy, A.Angel, Dietary fish oils limit adipose tissue hypertrophy in rats. *Metabolism.*(1990) 39 : 217-219.
- [24] - P. Flachs, Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia.* (2005) 2365-2375.
- [25] - S.Merzouk, M.Saker, K.Briksi, N.Soulimane ,H.Merzouk, B.Guermouche, A.Yahia Berrouguet, A.Hichami , NA.Khan, M.Narce. N-3 polyunsaturated fatty acids modulate in vitro T-cell function in diabetic patients. *Lipids.*(2008) 43: 485-497.

- [26] - A.Galassi ,K.Reynolds ,J. HE ,Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease:a meta-analysis. *Am. J. Med.*(2006) 119(10): 812-819.
- [27] - Fl.Milagro ,J.Campion , JA.Martinez ,Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress.*Obesity (Silver Spring).* (2006) 14(7):1118-1123.
- [28] - K Marinou; D Tousoulis; AS Antonopoulos; E Stefanadi; C Stefanadis, *International Journal of Cardiology*, (2010), 138, 3-8.
- [29] - M.Makni, H.Fetoui, N.K.Gargouri, El.M.Garoui, H.Jaber, J.Makni, T.Boudawara, N.Zeghal, Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in x-3 and x-6 fatty acids in hypercholesterolemic rats. *Food and Chemical Toxicology* (2008)46, 3714–3720.
- [30] - V.Ruiz-Gutierrez, A.Perez Espinosa, C.M .Vazquez, C.Santa Maria, Effects of dietary fats (fish, olive, and high-oleic sunflower oils) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver. *British Journal of Nutrition* (1999)82, 233–241.
- [31] - R.Groubet ,V.Pallet , B.Delage , A.Redonnet , P.Higueret , P.Cassand ,Hyperlipidic diets induce early alterations of the vitamin A signalling pathway in rat colonic, mucosa. *EndocrRegul.* (2003) 37(3) :137-144.
- [32] - PG.Kopelman ,L'obésité comme un problème médical. *Nature.*(2000)404 : 635-643.
- [33] - I.B.Gustafsson, B.Vessby, M.Ohrvall, M.Nydahl, A diet rich in monounsaturated rapeseed oil reduces the lipoprotein cholesterol concentration and increases the relative content of n-3 fatty acids in serum in hyperlipidemic subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* (1994) 59, 667–674.