



Phytothérapie

Effet hypolipémiant des alcaloïdes de la coloquinte chez le rat Wistar soumis à un régime hyperlipidique

Hypolipidemic effect of colocynth alkaloids in Wistar rat fed high-fat diet

Khadidja TABANI^{1}, Zahia BIREM¹, Hanane HALZOUNE¹, Wassila SAIAH¹, Farid LAHFA², Elhadj Ahmed KOCEIR¹, Naima OMARI¹.*

¹Université des Sciences et Technologies Houari Boumediene. Faculté des Sciences Biologiques. Laboratoire Bioénergétique et Métabolisme Intermédiaire. Alger.

²Université de Tlemcen. Faculté SNVSTU. Laboratoire Chimiothérapie et Réponse Immunitaire Anti-tumorale. Tlemcen.

Reçu le 10 décembre, Accepté le 14 décembre 2015.

*Auteur correspondant : tabani@hotmail.fr

Résumé Introduction. Il est bien établi que les animaux nourris avec des régimes riches en graisses développent une hyperglycémie, une résistance à l'insuline, une hyperlipidémie et une obésité modérée qui ressemblent aux composants du syndrome métabolique. Plusieurs extraits de plantes ont été recommandés en médecine traditionnelle pour le traitement des troubles métaboliques. **Objectif.** Le but de cette étude est d'analyser les effets des alcaloïdes de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur les désordres métaboliques induits par une diète hyperlipidique chez le rat. **Matériel et méthodes.** Des rats mâles Wistar (n=18) sont répartis en trois lots : un lot témoin (LT) (n=6), reçoit un régime standard (1,3 MJ/100 g) et un lot expérimental (LE) (n=12), reçoit le régime standard enrichi en huile de palme (2,3MJ/100g). Après 4 mois de régime hyperlipidique, les animaux LE subissent une injection intra-péritonéale unique d'extrait d'alcaloïdes totaux de coloquinte, pendant 5 semaines (LTr). **Résultats.** Chez les animaux traités à la coloquinte comparés aux animaux expérimentaux, une réduction de la triglycéridémie (-73%), de la cholestérolémie (-30%) et des lipoprotéines de faible densité (LDL) (-47%) est notée. En revanche, la teneur des lipoprotéines de haute densité (HDL) est augmentée de 57%. L'activité enzymatique de l'aspartate amino-transaminase

(ASAT), de l'alanine amino-transaminase (ALAT) et de la phosphatase alcaline (PAL) est réduite de 37%, 20% et 34%, respectivement. **Conclusion.** Ces résultats suggèrent que les alcaloïdes ont des effets positifs sur les désordres métaboliques provoqués par le régime hyperlipidique chez le rat.

Mots clés: Rat, Syndrome métabolique, Régime hyperlipidique, Dyslipidémie, Alcaloïdes, *Citrullus colocynthis*

Abstract Introduction. Animals fed high-fat diet have been shown to develop hyperglycemia, insulin resistance, hyperlipidemia, and moderate obesity, which resemble to human metabolic syndrome. Many plant extracts have been recommended worldwide for metabolic disorders treatment. **Objective.** The purpose of this study was to examine the effects of alkaloids colocynth extract in rats fed high-fat diet. **Materials and Methods.** Male *Wistar* rats (n=18), were divided into three groups: a control group (LT) (n = 6) fed a standard diet (1.3 MJ/100 g), and an experimental group (LE) (n=12) received a standard diet enriched with palm oil (2.3 MJ/100 g). After four months of high-fat diet feeding, LE animals received intraperitoneally administration of alkaloids during five weeks (LTr). **Results.** Treated animals with bitter apple compared to experimental animals, showed significant reduction in serum triacylglycerols (-73%), total cholesterol (-30%), and low density lipoprotein (LDL) (-47%). Whereas, a significant increase was noted in high density lipoprotein (HDL) (+57%). Enzymatic activities of aspartate, alanine amino transaminase and alkaline phosphatase were lowered by 37, 20 and 34%, respectively. **Conclusion.** Our results suggest that alkaloids have positive effects on metabolic disorders caused by high-fat diet in rat.

Keywords: Rat, Metabolic syndrome, High-fat diet, Dyslipidemia, Alkaloids, *Citrullus colocynthis*

Introduction

Le syndrome métabolique (SM) constitue un réel problème de santé publique [1]. Le SM est un désordre complexe associé à une obésité abdominale, une hyperglycémie, une dyslipidémie et/ou une pression artérielle élevée [2]. Ce syndrome est associé à un risque accru de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires (MCV) [3]. Les déséquilibres nutritionnels, liés à une surcharge lipidique, sont des éléments essentiels dans l'émergence du SM. Il a été rapporté que les animaux nourris avec des régimes riches en matières grasses développent des troubles métaboliques semblables à ceux du SM de l'homme [4].

Plusieurs extraits de plantes ont fait l'objet de recherches pour le traitement des maladies

métaboliques, et c'est dans cette optique que s'inscrit cette étude. Nous avons choisi d'étudier une plante largement répandue et utilisée dans le traitement du diabète : la *Citrullus colocynthis*, appelée communément coloquinte. Cette dernière est une cucurbitacée originaire des sols arides. Elle est réputée en raison de ses vertus thérapeutiques et est particulièrement utilisée en médecine traditionnelle dans les pays méditerranéens pour traiter certaines pathologies. Les analyses phyto-chimiques de cette plante révèlent la présence de diverses substances bioactives, tels que les glycosides, les alcaloïdes, les saponines, les flavonoïdes et les tanins [5], à propriétés thérapeutiques: anti-inflammatoire [6], insulino-stimulante [7], hypolipémiante [8], antioxydante [9] et hypoglycémiant [10,11].

La présente étude a pour but d'analyser l'effet de l'extrait d'alcaloïdes totaux de coloquinte sur la dyslipidémie provoquée expérimentalement chez le rat *Wistar*, par une diète hyperlipidique à base d'huile de palme et contenant 50% d'acide palmitique, en raison de son effet hypercholestérolémiant [12]. Sa surconsommation occasionne l'expansion de certaines maladies métaboliques comme l'insulinorésistance, le diabète de type 2, les MCV et le stress oxydatif [13].

Matériel et méthodes

Animaux et régimes

Des rats mâles de souche *Wistar* (n=18) âgés de 5 semaines et pesant 140±4g sont utilisés dans cette étude. Les animaux sont maintenus dans une animalerie à une température ambiante constante de 25±2°C avec une humidité comprise entre 60 et 80%. Les animaux sont placés dans des cages et reçoivent de l'eau *ad libitum* durant toute l'étude. Après une semaine d'adaptation, les animaux sont répartis en trois lots. Un lot témoin (LT) (n=6) reçoit le régime standard contenant 49,80% de glucides, 23,50% de protéines, 5,00% de lipides, 1% de vitamines et 4% de minéraux, à raison de 30g.j⁻¹ rat¹. Un lot expérimental (LE) (n=12) reçoit le régime standard enrichi en huile de palme, à raison de 30g de granulés + 8g de lipides, soit une supplémentation lipidique de 45%. Au bout de quatre mois de régime hyperlipidique, les animaux LE subissent une injection intra-péritonéale unique d'extrait d'alcaloïdes totaux de coloquinte, pendant 5 semaines (LTr).

Préparation du matériel végétal

Les fruits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schard), famille des cucurbitacées ont été récoltés à maturité durant le mois de septembre 2010 dans la région de Ain Sefra, wilaya de Naama (sud-ouest algérien). Les graines sont récupérées à partir des fruits, mises à sécher à l'abri de la lumière et

broyées. Une délipidation du matériel végétal est effectuée selon la technique de Bruneton (1999) [14], afin d'éliminer les substances qui perturbent le processus extractif. L'extraction des alcaloïdes totaux en milieu acide est réalisée selon la méthode de Harborne (1998) [15].

Prélèvements sanguins

Les animaux sont suivis sur le plan métabolique grâce à des prises de sang effectuées par ponction au niveau du sinus rétro-orbital sur l'animal à jeun, une fois par mois durant toute l'expérimentation. Le sang est recueilli sur tubes héparinés et centrifugé à 3000 tours/min, pendant 10 min. Le plasma obtenu est stocké à -25 °C jusqu'aux analyses.

Analyses biochimiques

Les dosages biochimiques (cholestérol total, triglycérides, C-HDL et transaminases) au niveau du plasma sont déterminés par des méthodes colorimétriques enzymatiques (kits Spinreact, Espagne).

Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± erreur standard. Les valeurs sont comparées statistiquement par le test de Mann Whitney «U» (logiciel Statsoft Statistica). Les moyennes sont considérées comme significativement différentes à $P < 0,05$. * *LE vs LT*, § *LTr vs LE*.

Résultats

Les rats, soumis au régime hyperlipidique enrichi en huile de palme, présentent un désordre du bilan lipidique. En effet, une augmentation de la cholestérolémie (+71%) est notée chez les animaux expérimentaux comparés aux témoins. De même, la concentration des triglycérides plasmatiques est augmentée (+152%) chez le lot LE par rapport à celle du lot LT (Fig.1).

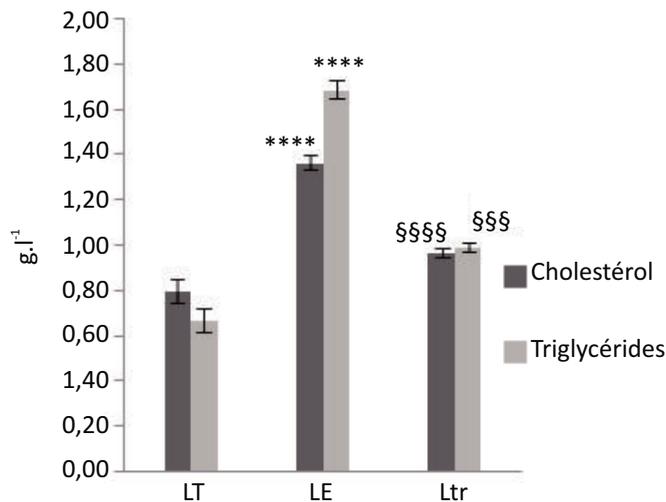


Fig. 1. Teneurs plasmatiques en cholestérol total et en triglycérides

LT : Lot Témoin. LE : Lot Expérimental. LTr : Lot traité. **** $p < 0,001$ LE vs LT ; §§§§ $p < 0,001$ LTr vs LE ; §§§ $p < 0,01$ LTr vs LE.

Le C-HDL est réduit de 29%, alors que le C-LDL est élevé (+128%) (Fig. 2). Une altération de la fonction hépatique qui se traduit par une élévation des teneurs plasmatiques en ASAT (+89%), ALAT (+93%) et PAL (+66,7%) est notée (Fig.3).

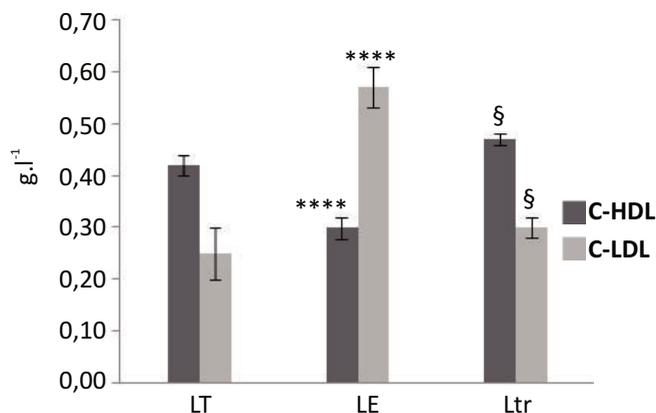


Fig. 2. Teneurs plasmatiques en C-HDL et C-LDL

LT : Lot témoin, LE : Lot expérimental, LTr : Lot traité. **** $p < 0,001$ LE vs LTr ; § $p < 0,05$ LTr vs LE.

Ces différentes perturbations biochimiques s'améliorent après instauration du traitement aux alcaloïdes de la coloquinte. En effet, les résultats montrent chez les rats expérimentaux traités, une diminution de la cholestérolémie (-30%), de la triglycéridémie (-41%) et du C-LDL (-47%) ainsi qu'une augmentation du C-HDL (+57%) (Fig.1. et Fig. 2). Après traitement, l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT et la PAL diminue respectivement de 37%, 20% et 34% (Fig.3).

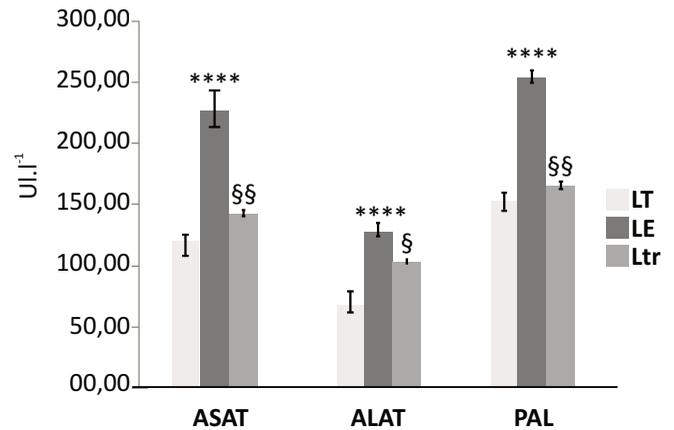


Fig. 3. Teneurs plasmatiques en ASAT, ALAT et PAL

ASAT : Aspartate amino-transférase, ALAT : Alanine amino-transférase, PAL : Phosphatase alcaline.

LT : Lot témoin. LE : Lot expérimental, LTr : Lot traité. **** $p < 0,001$ LE vs LT ; §§ $p < 0,02$ LTr vs LE ; § $p < 0,05$ LTr vs LE.

Discussion

La consommation d'un régime hyperlipidique, à base d'huile de palme durant quatre mois, entraîne des perturbations métaboliques chez le rat *Wistar*. En effet, une hyperlipémie, caractérisée par une augmentation de la cholestérolémie, de la triglycéridémie et du C-LDL, avec une réduction de la teneur plasmatique en C-HDL est notée. Nos résultats relatifs à la dyslipidémie confirment ceux de Wansiet *al.*, (2013) [1]. L'hypertriglycéridémie notée chez les animaux expérimentaux, peut être attribuée à l'augmentation de la production hépatique des lipoprotéines de très basse densité VLDL [16], liée probablement à une teneur élevée des substrats de la biosynthèse des TG et à une résistance de l'effet inhibiteur de l'insuline sur la production et la sécrétion des VLDL. L'élévation de la lipogenèse *de novo* (liée à une augmentation de l'expression de la *sterol regulatory element binding protein-1c* (SREBP- 1c) activant les enzymes de la lipogenèse dans le foie) peut être incriminée [17]. L'hypercholestérolémie notée chez les rats nourris avec le régime supplémenté en huile de palme, peut être due à l'activation de la HMG-CoA (3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl-CoA), enzyme clé dans la biosynthèse du cholestérol [1]. Par ailleurs, il existe une relation étroite entre le taux de cholestérol plasmatique, le C-HDL, le C-LDL et la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT), enzyme responsable de l'estérification du cholestérol.

térol plasmatique permettant le retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. Le déficit en cette enzyme est associé à une régression de la fraction cardio-protectrice (C-HDL) [18].

Parallèlement à ces désordres métaboliques, nos résultats révèlent une augmentation significative de l'activité enzymatique des biomarqueurs des lésions hépatiques (ASAT, ALAT, PAL). Ces résultats concordent avec ceux de Gloria *et al.*, (2010) [19] qui montrent une élévation des taux d'ASAT et d'ALAT plasmatiques chez le rat Wistar soumis à un régime hyperlipidique, suggérant ainsi des lésions hépatocellulaires sévères.

En réponse à un régime hyperlipidique, le rat Wistar développe des désordres métaboliques qui reflètent l'installation du SM. Nos résultats concordent avec ceux des données de la littérature qui ont démontré que les régimes riches en matières grasses constituent un facteur de risque dans l'émergence de l'obésité [20], du diabète et des MCV [21], ces pathologies sont liés à d'autres complications métaboliques, incluant entre autres, la dyslipidémie et l'intolérance au glucose.

Le traitement par les alcaloïdes de la coloquinte, administré à nos rats LE montre une action bénéfique sur les paramètres lipidiques plasmatiques. Cette amélioration est similaire à celle enregistrée par Marzyieh *et al.*, (2007) [22] qui ont noté un effet hypolipémiant des graines de *Citrullus colocynthis*, chez des lapins soumis à un régime hyperlipidique, après 18 semaines de traitement. L'effet hypocholestérolémiant est peut-être dû à l'amélioration de la sécrétion du cholestérol dans la bile ou à l'inhibition de la biosynthèse du cholestérol hépatique ou à l'inhibition de l'absorption intestinale du cholestérol. Quant à l'effet hypotriglycéridémiant, il peut être attribué à l'amélioration du catabolisme des lipoprotéines hépatiques ou à l'inhibition de la sécrétion des VLDL par le foie.

La correction du taux de C-HDL peut être expliquée par l'augmentation de la concentration de l'apolipoprotéine A-I (cofacteur-activateur de l'enzyme responsable du transport inverse du cholestérol). En effet, la LCAT joue un rôle important dans la voie anti-athérogène de transport du cholestérol, de sorte que l'excès de cholestérol des tissus périphériques est transporté du plasma vers le foie et excrété dans la bile, ce qui expliquerait

cette hypocholestérolémie et l'augmentation du C-HDL. En revanche, la diminution du taux de C-LDL peut être due à l'augmentation du nombre de récepteur-LDL, la fixation des LDL et l'élimination du cholestérol *via* la cholestérol 7 α -hydroxylase, enzyme impliquée dans la transformation du cholestérol en acides biliaires. Cette amélioration est similaire à celle notée par Xiao-Yang *et al.*, (2015) [23], qui ont étudié les alcaloïdes de *Coptischinensis*.

Nos résultats relatifs à la diminution des taux plasmatiques de l'ASAT, l'ALAT et de la PAL sont en accord avec ceux rapportés par Lakshmi *et al.*, (2013) [24], qui ont montré une normalisation de ces paramètres sur un autre modèle expérimental, le rat diabétique traité à la coloquinte. Syed *et al.*, (2015) [25] ont révélé aussi un effet hépatoprotecteur de la coloquinte chez des rats rendus hépatotoxiques par le paracétamol.

Conclusion

Il ressort de cette étude que les alcaloïdes extraits de *Citrullus colocynthis* exercent un effet hypolipémiant chez *le rat* soumis à un stress nutritionnel. Cet extrait présente aussi des effets positifs sur les biomarqueurs des lésions hépatiques. Ainsi, Il serait intéressant d'identifier les mécanismes moléculaires à l'origine de ces effets pour envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques dans le traitement des maladies liées à une consommation excessive de lipides.

Conflits d'intérêts

Aucun conflit d'intérêt en relation avec cette étude.

Références

1. Wansi SL., Tchumbiep Ngoune GL., Nguiefack TB., Wabo Pone J., Nyadjeu P, Kuete Fofie C. et al. Effect of high intake of palm oil on the plasma lipid profile and arterial blood pressure in rats. *Pharmaceutical, Chemical Biological Sci* 2013;3(3):627–34.
2. Cao K., Xu J., Zou X., Li Y., Chen C., Zheng A. et al. Hydroxytyrosol prevents diet induced metabolic syndrome and attenuates mitochondrial

- abnormalities in obese mice. *Free Radic Biol Med* 2014; 67:396–407.
3. Riséru U., Walter C., Willett B., Frank B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res* 2009; 48(1):44–51.
 4. Lingohr MK., Buettner R., Rhodes CJ. Pancreatic beta-cell growth and survival role in obesity-linked type 2 diabetes. *Trends Mol Med* 2002; 8:375–84.
 5. Sturm S., Schweider P., Seger C., Stuppner H. Analysis of *Citrullus colocynthis* cucurbitacin derivatives with HPLC–SPE–NMR. *Scientia Pharm* 2009; 77:254.
 6. Darwish-Sayed M., Balbaa SI., Afifi MSA. Nitrogenous bases of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica* 1973; 24(3): 260–5.
 7. Nmila R., Gross R., Rchid H., Roye M., Manteghetti M., Petit P. et al. Mise en évidence d'un effet insulino-stimulant de fractions de graines de coloquinte. *Biologie Santé* 2002; 66: 418–23.
 8. Dallak M., Bin-Jalilah I. Antioxidant activity of *Citrullus colocynthis* pulp extract in the RBC's of alloxan-induced diabetic rats. *Physiol* 2010; 6(1):1–5.
 9. Kumar S., Kumar D., Manjusha Saroha K., Singh N., Vashishta B. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* methanolic fruit extract. *Acta Pharm* 2008; 58 (2): 215–20.
 10. Rahbar A.R., Nabipour I. The hypolipidemic effect of *Citrullus colocynthis* on patients with hyperlipidemia. *Pak J Biol Sci* 2010; 13(24): 1202–7.
 11. Benariba N., Djaziri R., Zerriouth BH., Boucherit K., Louchami K., Sener A. et al. Antihyper-glycemic effect of *Citrullus colocynthis* seed aqueous extracts in streptozotocin induced diabetic rats. *Metab Func Res Diabetes* 2009; 2:71–6.
 12. Denke MA., Grundy SM. Comparison of effects of lauric acid and palmitic acid on plasma lipids and lipoproteins. *Clin Nutr* 1992; 56:895–8.
 13. Kochikuzhyil BM., Devi K., Fattepur SR. Effect of saturated fatty acid-rich dietary vegetable oils on lipid profile, antioxidant enzymes and glucose tolerance in diabetic rats. *Indian J Pharmacol* 2010; 42:142–5
 14. Bruneton J. Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 3^{ème} édition 1999.
 15. Harborne JB. Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. *Chapman & Hall Thomson Science* 3^{ème} édition 1998; 203-34.
 16. Taskinen MR. Diabetic dyslipidaemia from basic research to clinical practice. *Diabetologia* 2003; 46(6):733-49.
 17. Shimomura I., Matsuda M., Hammer RE., Bashmakov Y., Brown MS., Goldstein JL. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell* 2000; 6:77-86.
 18. Perlemuter L., Selam JL, Collinde l'Hortet G. Diabète et maladies métaboliques. 4^{ème} édition Paris: Masson 2003; 313–16.
 19. Gloria A., Oyelola B., Adenike T., Anthony A. Effects of diet-induced hypercholesterolemia on the lipid profile and some enzyme activities in female Wistar rats. *African J Biochem Res* 2010; 4(6):149–54.
 20. Erkkila A., de Mello VD., Riséru U., Laaksonen DE. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *Prog Lipid Res* 2008; 47:172–87.
 21. Hu P., Zhang D., Swenson L., Chakrabarti G., Abel ED., Litwin SE. Minimally invasive aortic banding in mice: effects of altered cardiomyocyte insulin signaling during pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285:H1261–H9.
 22. Marzyieh Z., Alireza O., Rahimi., Mahdavi R., Nikbakhsh M., Morteza V. et al. Assessment of anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis*. *Pharmacognosy* 2007; 17(4): 492–96.
 23. Xiao-Yang L., Zhen-Xiong Z., Min H., Ru F., Chi-Yu H., Chao M. et al. Effect of Berberine on promoting the excretion of cholesterol in high-fat diet-induced hyperlipidemic hamsters. *Transl Med* 2015; 13:278-85.
 24. Lakshmi B., Sendrayaperumal V., Subramanian S. Beneficial effects of *Citrullus colocynthis* Seeds extract studied in Alloxan-induced diabetic rats. *Pharm Sci* 2013; 10:47–55.
 25. Syed V., Neeraj F., Shivkanya F., Sokkalingam AD., Kaveti B., Sundram K. Evidences of hepatoprotective and antioxidant effect of *Citrullus colocynthis* fruits in paracetamol induced hepatotoxicity. *Pharm Sci* 2015; 28:951–57.