

Professeur **M. BENLEMLIH**

Docteur **J. GHANAM**

POLYPHENOLS d'HUILE d'OLIVE, TRESORS SANTE!

ÉTUDE SCIENTIFIQUE

PRÉFACE DU
PROFESSEUR HENRI JOYEUX

POLYPHENOLS AUX ACTIONS
ANTIOXYDANTES, ANTI-INFLAMMATOIRES,
ANTICANCÉREUSES, ANTI-VIEILLISSEMENT
ET PROTECTRICES CARDIO-VASCULAIRES

MedicatriX

Professeur BENLEMLIH Mohamed
Docteur GHANAM Jamal

POLYPHENOLS D'HUILE D'OLIVE, TRESORS SANTE!

Polyphénols aux actions
antioxydantes, anti-inflammatoires,
anticancéreuses, anti-vieillessement
et protectrices cardio-vasculaires

MedicatriX



Ce pictogramme mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du PHOTOCOPIAGE.

Nous rappelons à nos lecteurs français que le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droits.

Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation, en France, du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20 rue des Grands-Augustins, 75006 Paris) et en Belgique, de Reprobel (87 rue du Prince Royal, B-1050 Bruxelles).

Toute reproduction, adaptation, représentation ou traduction, même partielle, du présent ouvrage, sous la forme de textes imprimés, de microfilms, de photographies, de photocopies ou de tout autre moyen chimique, informatique, électronique ou mécanique ne peut être réalisée sans l'autorisation écrite de l'éditeur.

Tous droits réservés pour tous pays
y compris les états de l'ex-URSS et la Chine.

Imprimé en France (Nouvelle Imprimerie Laballery)

© marco pietteur, éditeur
ISBN 978-2-87211-117-6
Dépôt légal 2012/5053/P

39, avenue du Centenaire — B-4053 Embourg (Belgique)
Tél.: + 32 (0) 4 365 27 29 – Fax: + 32 (0) 4 341 29 21
Courriel: infos@mpéditions.be

L'huile d'olive riche en polyphénols

Aliment et Médicament !

Les polyphénols naturels de l'huile d'olive sont des molécules très biodisponibles et hautement bioactifs, ce qui leur confèrent de multitudes bienfaits sur la santé humaine. Ces composés font partie de la famille des antioxydants. Ils permettent de lutter contre les radicaux libres aux effets délétères : agressions des cellules, modification de l'ADN, oxydation des lipides.

Ainsi, des études récentes ont montré que l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive améliore la fonction mitochondriale qui prévient le vieillissement cellulaire et par conséquent le vieillissement du corps. Ceci nous ramène à confirmer que ce composé est un agent utile pour prévenir le vieillissement et les maladies liées à l'âge.

Les polyphénols de l'huile d'olive participent aussi à la protection et au traitement du cancer. Dans ce cadre, il a été démontré que l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine ont un effet anticancéreux sur le cancer du côlon, le cancer du sang, le cancer du sein, ... Ces fameux composés agissent contre le cancer par plusieurs mécanismes antiprolifératifs et pro-apoptotiques.

Les bienfaits des composés phénoliques de l'huile d'olive sur le système cardiovasculaire ont été élucidés par plusieurs auteurs. En effet, les polyphénols de l'huile d'olive favorisent la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire, augmentent la disponibilité du monoxyde d'azote, suppriment l'agrégation plaquettaire, protègent les LDL contre l'oxydation pour retarder l'athérosclérose et réduisent les réaction inflammatoires.

Actuellement, d'autres vertus des polyphénols de l'huile d'olive sont reconnues, incluant ainsi leur effet antibactérien, le traitement et la prévention du diabète et de la maladie d'Alzheimer.

*«L'olivier, arbre rustique
et pluriséculaire, est un symbole
de sagesse, de puissance, de paix et de santé»*

Pr Henri Joyeux

Préface du P^r Henri Joyeux

L'Huile d'Olive un trésor pour notre Santé

Voilà le livre qui manquait pour démontrer de manière scientifique et compréhensible par tous l'intérêt de l'Huile d'Olive, et pas n'importe laquelle, pour notre SANTÉ.

Comprendre sa fabrication, sélectionner la meilleure et la consommer régulièrement en connaissant tous les atouts qu'elle apporte à notre corps.

Prévenir l'Alzheimer qui fait si peur, éviter le vieillissement prématuré de nos tissus et organes, prévenir les cancers, les maladies cardiaques de surcharge, les excès de cholestérol, les accidents vasculaires cérébraux... bref rester en bonne Santé pour le siècle qui nous est donné, c'est notre souhait le plus cher.

L'Huile d'Olive de cette zone rocailleuse et rude de l'Atlas marocain est un trésor de santé. Comparée à toutes les autres huiles du pourtour de la Méditerranée et bien au-delà, elle concentre des polyphénols peu connus: Tyrosol et Hydroxytyrosol à des taux jamais mesurés dans un aliment, 30 fois plus (240 mg/kg) que dans les huiles généralement consommées (8 mg/kg). Sa teneur en polyphénols est maximale au début de la véraison, quand l'olive prend sa couleur vert-rouge-violacée au coucher de soleil de l'Atlas.

Pourquoi cette huile d'Olive extra vierge «OLIVIE Plus» est-elle si riche? La souffrance écologique de l'Olivier, lui fait donner le meilleur de lui-même pour se protéger et nous protéger: des anti-oxydants, anti-vieillessement, anti-athéromateux, anti-inflammatoires.

S'ajoutent de belles concentrations d'Acide Oléique, excellent transporteur du calcium végétal de nos aliments,

olives, amandes, noix, noisettes, persil et de tous les fruits et légumes de saison.

Sans oublier la Vitamine E, celle de la fécondité, de la jeunesse qui joue un si bon rôle pour «huiler nos neurones» et rendre plus amoureux les uns des autres spermatozoïdes et ovules.

Ce livre a une grande valeur scientifique. Je félicite chaleureusement mes collègues de l'Université de Fès qui apportent en plus de leur expérience, de nombreuses preuves scientifiques, les meilleures de la littérature mondiale.

J'ai goûté cette huile dorée, elle accompagne tous les menus familiaux et amicaux et je vais la prescrire largement, sans ordonnance, mais avec insistance, dans mon métier de cancérologue.

«En effet l'huile d'olive a des effets anti-cancer spécifiques chez les femmes atteintes de cancer du sein¹ qui veulent éviter les récides, et très probablement (bien que ce ne soit pas encore démontré scientifiquement) chez les hommes atteints de cancer prostatique ou qui veulent l'éviter. Une étude *in vitro* sur les lignées de cellules de cancer du sein, a démontré en janvier 2005 que l'acide oléique, le principal acide gras mono-insaturé de l'huile d'olive, tend à normaliser la surexpression d'un gène du cancer, l'oncogène Her-2/neu, promoteur d'une forme grave (1 patiente sur 5) du cancer du sein. Des chercheurs de Chicago (*Javier Menendez & coll in Annals of Oncology janvier 2005*) ont donc trouvé un mécanisme moléculaire qui explique les effets protecteurs de l'huile d'olive contre le cancer du sein chez les femmes consommatrices.

1 *Comment enrayer l'Epidémie des cancers du sein et des récides* - Pr Henri Joyeux et Dr Bérengère Arnal - Ed. FX de Guibert 2010.

De plus l'acide oléique stimule l'activité de l'Herceptine qui est le traitement de choix qui cible le gène Her-2/neu. L'acide oléique réduit de 46 % l'oncogène et l'Herceptine de 48 %. Ensemble (acide oléique + Herceptine), on observe une synergie d'effet avec réduction de 70 %. C'est donc l'effet *Herceptine like* de l'acide oléique et les polyphénols d'olive contre le cancer.»

Toutes ces données de science fondamentale concordent avec les résultats des études épidémiologiques qui ont montré que les habitudes alimentaires méditerranéennes ont des effets significatifs contre le cancer, les maladies cardio-vasculaires et même pour prévenir certains effets du vieillissement.

P^r Henri JOYEUX - Chirurgien Cancérologue

Spécialiste international de la Prévention
par la Nutrition des maladies de civilisation

Faculté de Médecine de Montpellier

Sommaire

L'huile d'olive riche en polyphénols	5
Huile d'olive, naturellement riche en polyphénols	10

1^{re} PARTIE

Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive	17
---	----

Chapitre 1 - L'Olive, un fruit grassement pourvu de nutriment santé	19
--	----

1. Origine	19
2. Historique	19
3. Caractéristiques de l'olivier et de son fruit, l'olive	20
3.1 Stades de maturation	22

Chapitre 2 - Du fruit d'olive à l'huile d'olive	27
--	----

1. Principe de l'extraction	27
1.1 Nettoyage des fruits	28
1.2 Broyage	28
1.3 Malaxage	28
1.4 Séparation de la phase liquide et solide	30
Système à presse	30
Centrifugation	32

Chapitre 3 - Conditions de stockage de l'huile d'olive	35
---	----

2^e PARTIE

Composition et propriétés chimiques de l'huile d'olive	37
---	----

Chapitre 1 - L'huile d'olive, source d'anti-oxydants et de bons acides gras	39
--	----

1. Acides gras, triacylglycérols, et glycérides partiels	43
2. Les polyphénols de l'huile d'olive, antioxydants très puissants	44
2.1 Les monomères phénoliques	45
3. Tocophérols	51
4. Hydrocarbures	51
5. Pigments	52

Chapitre 2 - Analyse et quantification des polyphénols de l'huile d'olive	53
3^e PARTIE	
Effets de l'huile d'olive sur la santé	55
Chapitre 1 - Les bienfaits de l'huile d'olive sont essentiellement attribués à ses polyphénols	57
Chapitre 2 - Les polyphénols de l'huile d'olive sont très biodisponibles et bioactifs	61
1. Absorption des composés phénoliques	61
2. Métabolisme	65
3. Excrétion	67
Chapitre 3 - Pouvoir antioxydant des polyphénols de l'huile d'olive	69
1. Systèmes antioxydants enzymatiques	72
2. Systèmes antioxydants non enzymatiques	72
3. Les polyphénols de l'huile d'olive, composés à fort pouvoir antioxydant	74
Chapitre 4 - L'huile d'olive riche en polyphénols, son effet contre le vieillissement	79
1. Effet positif de l'hydroxytyrosol sur la biogénèse mitochondriale	80
2. Effet antiviellissement des polyphénols de l'huile d'olive sur les cellules cardiaques	82
Chapitre 5 - L'hydroxytyrosol et l'oleuropéine contre le SIDA	83
Chapitre 6 - L'Hydroxytyrosol et les polyphénols de l'huile d'olive, puissants anticancéreux	85
1. Généralités	85
2. Hydroxytyrosol/Oleuropéine, polyphénols à fort effet anticancéreux	86

3. Effet efficace de l'Hydroxytyrosol/-Oleuropeïne sur le traitement et la prévention du cancer du sein	87
Chapitre 7 - Effet protecteur des polyphénols de l'huile d'olive sur le système cardiovasculaire	91
1. Généralités	91
2. Composés phénoliques et prévention de l'athérosclérose	94
3. Effet des polyphénols de l'huile d'olive contre l'agrégation plaquettaire	98
4. Effet anti-inflammatoire des polyphénols de l'huile d'olive	100
5. L'hydroxytyrosol de l'huile d'olive augmente le taux du monoxyde d'azote, gaz vasodilatateur	102
Chapitre 8 - La protection des polyphénols contre les lésions des protéines	105
Chapitre 9 - Effet antimicrobien des polyphénols de l'huile d'olive	107
Chapitre 10 - Prévention des polyphénols de l'huile d'olive contre le diabète	109
Chapitre 11 - Prévention des polyphénols contre la maladie d'Alzheimer	111
Références bibliographiques et ouvrages scientifiques	113

Huile d'olive

Naturellement riche en polyphénols

Les analyses de l'huile d'olive extra vierge « OLIVIE Plus » produite par la compagnie ATLAS OLIVE OILS, ont montré qu'il s'agit d'une huile naturellement riche en polyphénols et plus particulièrement en hydroxytyrosol à une concentration de 233 mg/kg, et en tyrosol à une concentration de 161 mg/kg (fig. 1). Environ 30 fois plus riche qu'une huile d'olive extra vierge en hydroxytyrosol et en tyrosol.

Le tableau 1 montre les teneurs en hydroxytyrosol et en tyrosol des 22 échantillons d'huile d'olive vierge conventionnelle de quatre pays méditerranéens producteurs d'huile d'olive *Erneirik* et *Frische* (2004).

Ci-joint le certificat d'analyse de l'huile délivré par un laboratoire italien de grande réputation. Les résultats de la figure 1 montrent clairement que *Olivie Plus* est l'huile d'olive extra vierge la plus saine au Monde. Elle regorge exceptionnellement de polyphénols (*Hydroxytyrosol* et *Tyrosol*), de plus, elle est douée d'une forte activité antioxydante.

Ces caractéristiques exceptionnelles et uniques de l'huile d'olive *Olivie Plus* proviennent d'oliviers plantés dans un désert de rocaïlle (fig. 2 et 3). Tout comme la vigne, il est bien connu que l'olivier a besoin de souffrir pour produire le meilleur de lui-même. Vu l'environnement très chaud (jusqu'à 50°C en été), le sol rocaïlleux où les racines ne peuvent se développer aisément, le manque d'eau, les oliviers se stressent. Il se produit un phénomène de panique dans les olives (instinct de survie) qui se traduit par une production élevée de polyphénols (anti-oxydants), et plus particulièrement, en Hydroxytyrosol et Tyrosol (auto-défense).



Figure 1. Analyse de laboratoire de l'huile d'olive naturelle- ment riche en polyphénols Olivie Plus.

Maroc	OPA	233	161
Tunisie	Moy	13,0	13,1
	22	10,9	6,3
	21	7,6	7,8
Grèce	20	11,2	15
	19	20,5	19,5
	18	18,9	11,9
	17	15,5	13,0
	16	6,6	10,5
	15	11,9	22,8
	14	1,4	10,8
	13	12,9	10,2
	12	14,7	9,1
	11	5,5	7,5
	10	9,2	7,8
	9	19,4	16,4
Espagne	8	14,6	6,3
	7	7,2	12,7
	6	18,9	6,1
	5	10,1	7,5
	4	8,7	17,1
	3	16,3	15,8
	2	10,0	9,0
Italie	1	7,4	8,2
		HT	T

Tableau 1. Comparaison du taux (mg/kg) de l'hydroxytyrosol (HT) et du tyrosol (T) entre 22 échantillons d'huile d'olive des 4 pays méditerranéens et celui de notre huile « OLIVIE Plus ».



Figure 2. Désert de rocaille, Maroc.



Figure 3. Oliveraie au milieu du désert de rocaille au Maroc.

1^{re} PARTIE

Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive

Chapitre 1

L'Olive, un fruit grassement pourvu de nutriments santé

1. Origine

L'olivier, arbre spécifique du bassin méditerranéen, a été depuis la nuit des temps considéré comme symbole de la sagesse, de la paix, de la richesse et de la gloire. Cet arbre parfaitement adapté au climat tempéré, aux sols rocheux et calcaires, ne nécessite pas d'apport de fertilisant. Originaire de la Syrie, l'Asie Mineure, l'Éthiopie, l'Égypte ou l'Inde. La Crète, le Péloponèse, les régions côtières de la Grèce, les îles de l'Égée orientale, tels que Lesbos, Samos et Thasos, et les îles Ioniennes possèdent tous des olive-
raies. De même, l'olivier est largement répandu à Chypre, les côtes de la Turquie, la Syrie, Liban, Palestine, le sud de l'Espagne, la France et l'Italie. En Afrique du nord, la culture de l'olivier existait déjà avant l'arrivée des Romains.

S'il est toujours l'apanage des pays méditerranéens, l'olivier est également cultivé de nos jours en Algérie du sud, Australie, Japon, dans certaines régions de la Chine (Ryan et Robards, 1998) et en Argentine (COI, 2010).

2. Historique

La culture des oliviers, ainsi que la production et l'utilisation d'huile d'olive ont été des pratiques bien connues et établies dans la région méditerranéenne il y a plus de 7000 années (Tsagaraki et al., 2004).

L'histoire ne nous renseigne pas sur l'existence de l'utilisation des produits de l'olivier par les habitants de la mer Egée. Néanmoins, il semble possible qu'au moins depuis l'époque néolithique, à savoir depuis 8000 A.J., le fruit oléastre a été occasionnellement cueilli avec d'autres fruits sauvages comestibles pour compléter l'alimentation quotidienne. La palynologie, une science relativement nouvelle qui étudie les grains de pollen, a révélé la présence de pollen d'oléastre vers la fin de l'âge néolithique, environ 3200-3100 A.J. en Kopais, Thessalie et en Crète.

Les principes de la culture de l'olivier ont été apparemment découverts et formulés un certain temps plus tard, à un moment donné dans le troisième millénaire A.J, au début de l'âge du bronze. Les Crétois étaient en contact avec les civilisations de la Méditerranée orientale et l'Afrique du Nord, où l'olivier a déjà été domestiqué. Ce contact a abouti à la diffusion de la connaissance de l'oléiculture en Crète.

Les archéologues suggèrent que les premières cultures d'olivier se sont répandues à l'Age du Bronze. Au cours de cette période, la gestion des populations d'olive, l'élagage intentionnel et sélectif ont été probablement réalisés par l'homme pour rajeunir l'olivier, afin de favoriser la production de fleurs et de fruits.

3. Caractéristiques de l'olivier et de son fruit, l'olive

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen, de 6 à 8 m de hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre et crevassée. Les feuilles sont blanches argentées sur la face inférieure, vertes grisâtres sur la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces et lancéolées. Les fleurs,

petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées.

L'olivier est le nom commun d'environ 35 espèces d'arbustes et d'arbres du genre *Olea*. Le nom est particulièrement utilisé pour l'espèce *Olea europaea*. L'origine botanique de cet arbre et le début de sa culture ont été un sujet de litige (Anon, 1983; Loukas et Krimbas, 1983; Blazquez, 1996).

Des 35 espèces connues du genre *Olea*, *O. Chrysophylla*, trouvée en Asie et en Afrique est considéré comme l'ancêtre de l'olivier. Cependant, une autre théorie existe et selon laquelle l'ancêtre est l'olivier méditerranéen sauvage, *Olea oléastre* (Loukas et Krimbas, 1983). D'autres considèrent *Olea oléastre* comme intermédiaire dans le développement de l'olivier sauvage *Olea chrysophylla* à *Olea europaea* (Blazquez, 1996; Lavee, 1996).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Dialypetales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europaea</i> L.
Sous-espèces	<i>O.europaea subsp.europaea var sylvestris</i>
	<i>O.europaea subsp.europaea var. europaea</i>
Tableau 2. Situation botanique de l'espèce <i>Olea europaea</i> L.	

L'olive est une drupe de forme ovale constituée d'un péricarpe et d'un endocarpe. Elle pèse de 2 à 12 g, bien

que certaines variétés puissent peser jusqu'à 20 g. Le péri-carpe comprend deux parties: l'épicarpe (la peau) et le mésocarpe (la pulpe) qui représente environ 65-83 % du poids total. L'endocarpe (noyau) représente 13 % à 30 % du poids total. L'épicarpe est couvert de cire et passe du vert clair au noir quand le fruit mûrit.

La composition chimique moyenne de l'olive est la suivante (fig. 4): l'eau, 50 %; huiles 22 %; polyphénols 1,5 %; protéines 1,5 %; sucres 18 %; cellulose 5,5 %; minéraux (cendres) 1,5 %. D'autres constituants importants sont les pectines, les acides organiques, les pigments et les glycosides de phénols.

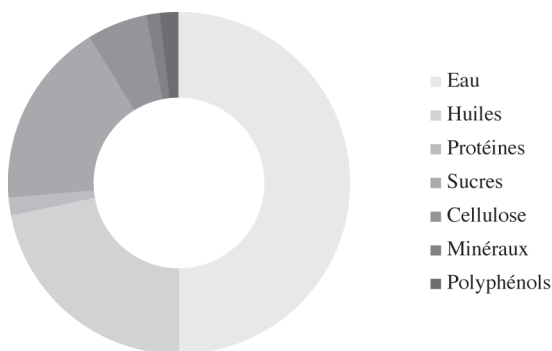


Figure 4. Composition chimique du fruit, l'olive.

3.1 Stades de maturation

L'augmentation du poids du fruit est remarquable au cours des différentes phases jusqu'en octobre ou mi-novembre. Ensuite, le poids du fruit commence à diminuer, essentiellement en raison de la perte d'humidité. Par conséquent, une augmentation de la teneur en huile est observée, généralement, à partir du mois d'octobre jusqu'au mois de décembre. L'accumulation de l'huile débute fin juillet à début d'août. Au cours de l'automne et

de l'hiver, le fruit devient noir et la teneur en huile atteint son maximum. L'huile est principalement concentrée dans le péricarpe (96-98 %).

La première étape de maturation (fig. 5), fin mai/juin-août, est connue sous le nom du stade « Vert » pendant lequel la taille du fruit augmente considérablement. Ensuite, la couleur des fruits vire au rouge-violacé, puis au noir. C'est le stade de la véraison qui survient à la mi-octobre. La teneur en polyphénols de l'olive est maximale au début de la véraison quand l'olive présente une couleur vert-rouge violacée.

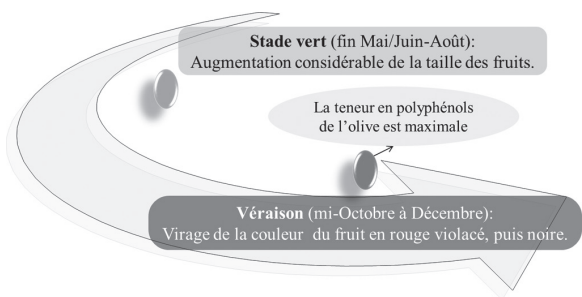


Figure 5. Stades de maturation de l'olive.

La maturation de l'olive est un lent et long processus qui dure plusieurs mois et varie selon la latitude, la variété, la disponibilité en eau, la température et les pratiques culturelles. Par conséquent, le degré de maturité est un facteur de qualité important. D'un point de vue scientifique, il est difficile de mesurer et d'exprimer en terme mathématique la contribution de chaque facteur à la qualité globale de l'huile extraite. Selon Montedoro et ses collègues (1986), le stade de maturité contribue à 30 % à la qualité de l'huile. D'autres facteurs contribuent aux pourcentages suivants: système d'extraction (30 %); transport et conditions de stockage (15 %); récolte (5 %); divers (20 %).

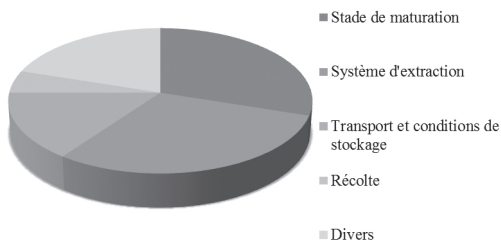


Figure 6. Différents facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive.

Diverses méthodes ont été proposées pour déterminer le stade de maturité des olives. Parmi celles-ci, on cite la détermination du ratio d'absorbance de la pâte d'olive en spectrophotométrie dans la région visible à deux différentes longueurs d'onde (665 nm et 525 nm). Le Conseil Oléicole International (1984) a proposé une technique simple basée sur l'évaluation de la couleur de 100 olives extraites, au hasard, à partir d'1 kg de l'échantillon. Pour calculer l'indice de maturation, la formule suivante est utilisée :

$$\text{Maturation} = \frac{(0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + \dots (7 \times n_7)}{100}$$

Où $n_0, n_1, n_2, \dots, n_7$, sont le nombre d'olives appartenant à chacune des huit catégories suivantes :

- 0 = Olives dont la peau est d'une couleur profonde ou vert foncé.
- 1 = Olives dont la peau est de couleur jaune ou jaune-vert.
- 2 = Olives dont la peau est de couleur jaunâtre avec des tâches rougeâtres.
- 3 = Olives dont la peau est rougeâtre ou de couleur violet clair.
- 4 = Olives dont la peau est noire et la chair est encore complètement verte.

- 5 = Olives dont la peau est noire et la chair de couleur vert-violet.
- 6 = Olives dont la peau est noire et la chair est d'un violet presque tout au long du noyau.
- 7 = Olives dont la peau est noire et la chair est complètement noire.

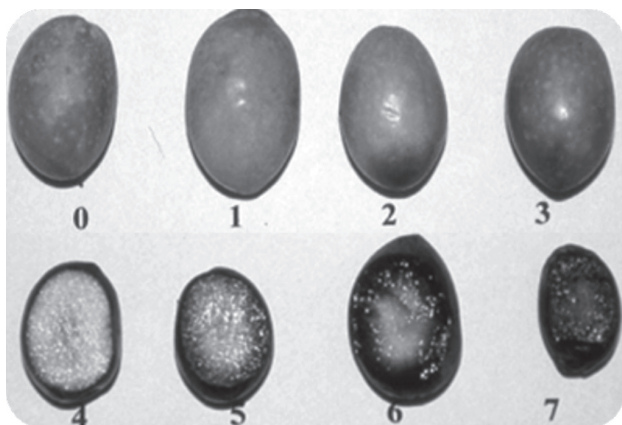


Figure 7. Les indices de maturation du fruit d'olive.

Selon cette approche, la meilleure période de récolte de l'olive correspond à la valeur de l'indice de maturation de 5. Cet indice a une valeur relative et son utilisation ne peut être généralisée puisque sa valeur peut être affectée par plusieurs facteurs tels la variété d'olive, la zone de culture et les conditions climatiques. Ainsi, l'indice de maturation peut être calculé dans les différents pays producteurs, en corrélant la valeur de maturation des olives provenant de certaines zones à la qualité de l'huile qui est produite et aux taux de composés phénoliques. En règle générale, la teneur maximale en polyphénols des fruits d'olive est atteinte au début de la véraison. Par conséquent, la décision de produire des olives plus douces avec une teneur plus élevée en huile ou une huile plus piquante, est fortement

dépendante de période de la récolte qui est le facteur le plus déterminant de la composition et de la qualité sensorielle.

Chapitre 2

Du fruit d'olive à l'huile d'olive

L'huile d'olive, pur jus de fruit, est saine et conseillée par les nutritionnistes. Sachez comment elle est fabriquée pour mieux la choisir !

L'huile d'olive est obtenue par trituration des péricarpes des fruits et pas de leurs graines, dans un moulin à huile spécifique. La teneur en huile varie en fonction du terroir, de la variété (cultivar), du stade de maturité à la récolte et des pratiques agronomiques locales.

Durant ces dernières années, ce processus général de trituration des olives a connu des développements technologiques qui tendent vers la mécanisation complète du processus, l'augmentation de la capacité de travail et la spécialisation du processus d'extraction dans le souci de réduire les coûts, mais aussi d'améliorer la qualité de l'huile (Ben Sassi et al., 2006).

1. Principe de l'extraction

L'objectif idéal de toute méthode d'extraction consiste à produire la plus grande quantité d'huile possible sans altération de sa qualité d'origine. Toutefois, si la qualité ne doit pas être modifiée, il est nécessaire d'utiliser uniquement des méthodes mécaniques ou physiques pour extraire l'huile, en évitant les réactions chimiques et enzymatiques qui pourraient changer sa composition naturelle. Le schéma de l'extraction récemment mis en œuvre comprend quatre opérations principales :

1. Nettoyage des fruits (défoliation, lavage des olives);
2. Préparation de la pâte (broyage, malaxage);
3. Séparation de la phase solide (grignons) et liquide (huile et eau de végétation);
4. Séparation des phases liquides (huile / eau de végétation).

1.1 Nettoyage des fruits

Le nettoyage comporte deux opérations : l'effeuillage et le lavage. Les défoliateurs aspirent les feuilles, les brindilles et les saletés à travers un flux d'air puissant généré par un ventilateur d'extraction. Après quoi, les olives sont lavées par un courant d'eau.

1.2 Broyage

Cette opération est destinée à broyer les cellules de l'olive et à libérer les gouttelettes d'huile contenues dans la vacuole. Du point de vue pratique, il est impossible de broyer toutes les cellules, et par conséquent, d'extraire toute l'huile qu'elles contiennent. D'autre part, les gouttelettes sont entourées d'une pseudo-membrane amphotère qui tend à maintenir l'huile dans un état d'émulsion, dont la stabilité dépend de la taille des gouttelettes : plus elles sont petites, plus elles sont stables. En outre, une petite quantité d'huile reste prise dans le système colloïdal formé par les pectines dans la pâte.

1.3 Malaxage

L'huile doit être extraite par des moyens mécaniques et doit être libérée à partir des tissus de telle sorte que les gouttelettes peuvent fusionner en gouttes plus grosses jusqu'à ce qu'elles forment ce qu'on appelle les « poches ».

Le malaxage est fondamental pour augmenter le rendement de l'extraction. Il est conçu pour renforcer l'effet d'écrasement et d'uniformiser la pâte. Son premier objectif est de briser l'émulsion huile/eau de sorte que les gouttelettes d'huile se rassemblent pour former des gouttes plus grosses.

Di-Giovacchino (1989, 1996) a étudié le pourcentage de taille des gouttes d'huile dans la pâte broyée. Après broyage, seulement 45 % des gouttes ont présenté un diamètre de plus de 30 microns, qui est la taille minimale pour la séparation de l'huile en système continu, alors que ce pourcentage s'élève à 80 % après malaxage, avec une augmentation concomitante du nombre de gouttes de grand diamètre (fig. 8a et 8b).

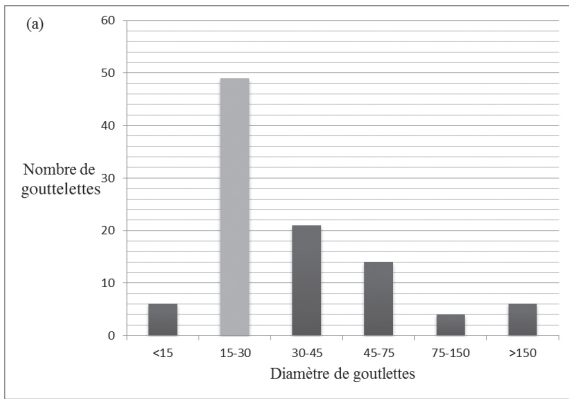


Figure 8a. Pourcentages des tailles des gouttes d'huile dans la pâte, après broyage (a). (*Di Giovacchino et al., 2002*).

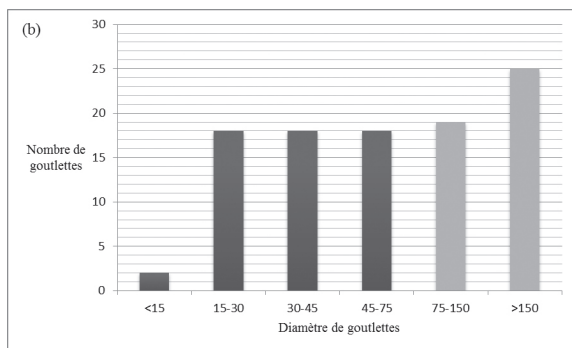


Figure 8b. Pourcentages des tailles des gouttes d'huile dans la pâte, après malaxage (b) (*Di Giovacchino et al., 2002*).

1.4 Séparation de la phase liquide et solide

Le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d'une pâte qui contient de la matière solide et des fluides. La matière solide appelée **grignon** est constituée de débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires...etc., alors que la partie fluide est composée d'huile et d'eau de végétation appelée **marginé**.

La séparation des grignons du mélange huile/eaux de végétation fait appel à des systèmes de pression, de centrifugation et de percolation (*Caputo et al., 2003*). Au cours de ces étapes, différents appareils fonctionnant selon les principes des forces physiques sont utilisés.

Système à presse

Ce sont des systèmes classiques par pression à l'aide de broyeurs. Le broyage des olives suivi du malaxage se font sous des meules. Une pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ. Elle est composée de grignon et d'un moût contenant l'huile et les margines. La séparation des

deux phases solide-liquide se fait par simple pression, alors que l'huile est séparée des margines par décantation naturelle.

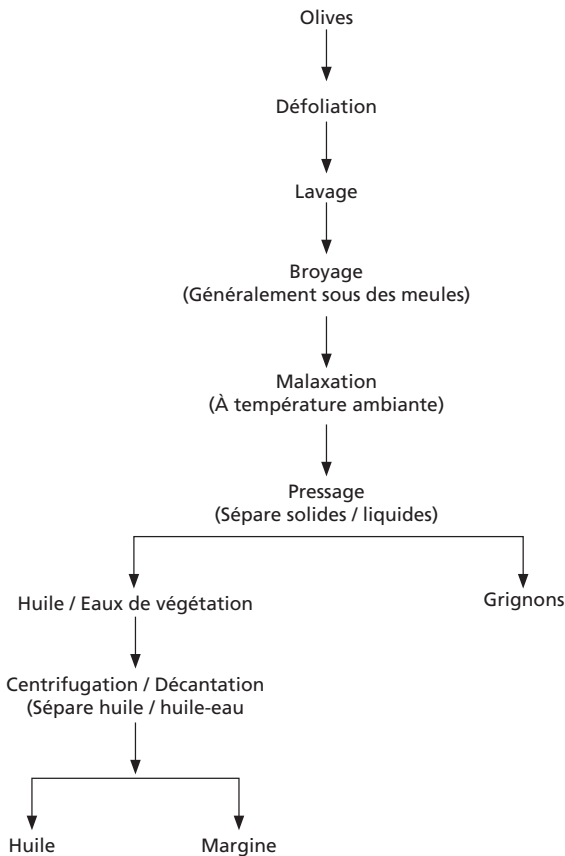


Figure 9. Extraction de l'huile d'olive par le système de presse traditionnel.

Aujourd'hui, l'extraction par pression (fig. 9) est effectuée en super-presses hydrauliques avec une pression allant jusqu'à 400 atm. Le système super-presse fonctionne

en mode simple avec une augmentation progressive de la pression jusqu'à sa valeur maximale obtenue après 45-60 min et qui est maintenue pendant 10-20 min. Après le pressage, une petite quantité d'eau est utilisée pour rincer le matériel et transférer l'huile vers les bassins de clarification. En moyenne, le rendement de transformation obtenu s'élève à 86-90 % et l'humidité des grignons à environ 28 %.

Centrifugation

Cette méthode est basée sur la séparation des différents constituants d'un mélange en fonction de leur densité.

Si seulement la force gravitationnelle est appliquée, la vitesse de séparation peut être extrêmement lente, toutefois, si le mélange est soumis à une force de gravitation artificielle, la vitesse de séparation peut être augmentée. Cela se fait avec des machines tournantes dont la vitesse et l'efficacité de séparation sont directement proportionnelles à la vitesse angulaire au rayon de rotation, ainsi que de la différence de la densité des liquides qui doivent être séparés.

Les machines utilisées sont des centrifugeuses horizontales qui opèrent à une vitesse angulaire jusqu'à 3000 fois plus grande que l'accélération gravitationnelle naturelle.

La centrifugation en continu (fig. 10) comprend les étapes suivantes : effeuillage et lavage, broyage des olives, malaxage de la pâte d'olive, centrifugation avec ou sans addition d'eau pour le système à deux phases et à trois phases, respectivement.

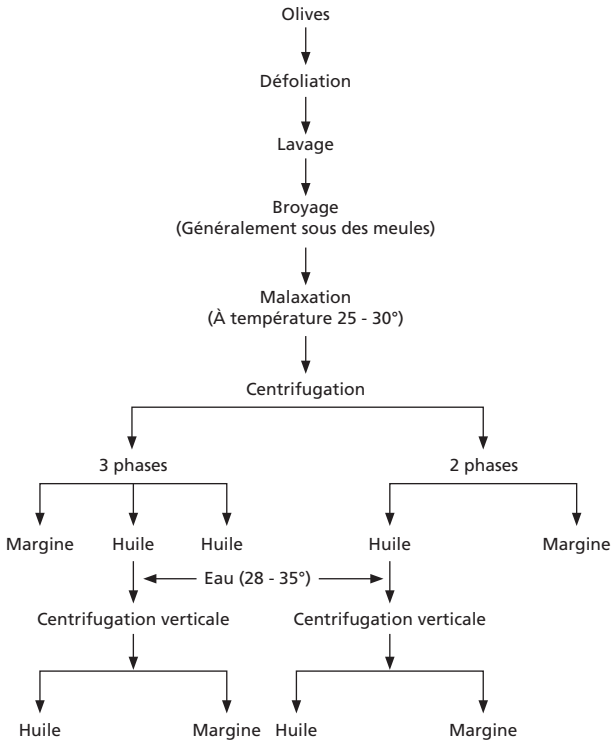


Figure 10. Extraction de l'huile d'olive par le système de centrifugation.

Chapitre 3

Conditions de stockage de l'huile d'olive

L'huile d'olive peut être stockée pendant plusieurs mois. Durant son stockage, l'huile d'olive peut subir des changements organoleptiques caractérisés par l'augmentation de l'acidité (due à l'action des lipases) et le développement des réactions de rancissement. Pour cela, un ensemble de précautions doivent être mis en place pour le stockage de l'huile d'olive :

- réservoirs ou tambours pour le stockage devraient être construits en matière inerte et imperméable à l'huile.
- l'huile doit être abritée de l'air, de la lumière, et de la fluctuation de la température.
- l'huile doit être conservée à l'intérieur de la chambre de stockage. Si le stockage a lieu à l'extérieur, les réservoirs doivent être revêtus d'un revêtement extérieur pour éviter les changements extrêmes de température.
- l'huile doit être stockée à une température entre 12-18°C, évitant à la fois le chauffage et le gel. Sinon, l'huile devient blanchâtre, relativement solide, avec un dépôt formé par la cristallisation partielle des triglycérides et des acides gras saturés au cours de l'hiver (à une température inférieure à 10°C).

Les températures supérieures à 22-25°C doivent également être évitées car elles accélèrent les modifications biochimiques et les phénomènes d'oxydation qui peuvent conduire au rancissement de l'huile d'olive (*Sacchi, 2007*).

2^e PARTIE

Composition
et propriétés chimiques
de l'huile d'olive

Chapitre 1

L'huile d'olive, source d'antioxydants et de bons acides gras

La composition chimique de l'huile d'olive contient des éléments majeurs et mineurs (fig. 11). L'huile d'olive possède une composition nutritionnelle équilibrée en acides gras et en triglycérides (98 % du poids total). L'abondance de l'acide oléique, un acide gras mono-insaturé, est la caractéristique qui définit l'huile d'olive en dehors des autres huiles végétales. L'acide oléique (C18:1 n-9) représente 56 à 84 % des acides gras de l'huile d'olive (*Rossell, 2001*), tandis que l'acide linoléique (C18:2 n-6) qui est un acide gras polyinsaturé essentiel pour l'alimentation humaine, représente 3 à 21 % (*Tiscornia et al., 1982; Visioli et al., 1998*). Les composants mineurs, représentent environ 2 % du poids total de l'huile, notamment, plus de 230 composés chimiques, tels que les alcools aliphatiques et triterpéniques, les stérols, les hydrocarbures, les composés volatils et les polyphénols (*Servili et al., 2002*).

Néanmoins, c'est la présence de composés phénoliques et d'autres antioxydants particuliers qui confèrent à l'huile d'olive une haute stabilité contre l'oxydation avec une couleur et une saveur unique la distinguant des autres huiles. Les principaux antioxydants de l'huile d'olive sont les carotènes et les composés phénoliques, y compris, les phénols lipophiles et hydrophiles (*Boskou, 1996*). Les tocophérols (phénols lipophiles) peuvent être retrouvés dans les huiles d'autres légumes, tandis que certains phénols hydrophiles tel l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive ne sont généralement pas présents dans les autres huiles et graisses (*Boskou, 1996; Shahidi, 1997*).

■ Triglycérides & Acides gras libres ■ Composés mineurs

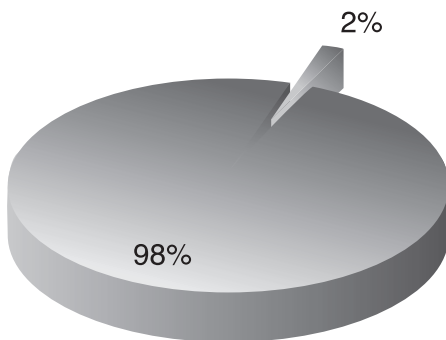


Figure 11. Composition chimique de l'huile d'olive.

Constituants	Huile d'olive extra vierge*	Huile d'olive vierge**	Huile d'olive raffinée***
Fraction glycérique			
Acides gras (g/100g)			
16:0 acide palmitique	6.6	8.6	9.1
16:1n-7 acide palmitoléique	0.4	1.1	0.6
18:0 acide stéarique	2.8	1.9	3.4
18:1n-9 acide oléique	83.1	78.7	78.6
18:2n-6 acide linoléique	5.1	8.3	6.2
18:3n-3 acide α -linoléique	0.6	—	0.4
18:3n acide γ -linoléique	0.4	—	0.5
Fraction non glycérique (mg/kg)			
Alcools aliphatiques			
C ₁₈ - C ₃₀ alcools	≤200	≤200	≤200
Tri-terpène alcools	500 -3,000	500 -3,000	500 -3,000
Total stérols	1,260.8	687.4	1,366.6
Cholestérol	1.9	2.8	2.0
Δ^3 -Avenasterol	91.5	35.1	82.7
B-Sitostérol	1,124.4	640.9	1,268.8
Tableau 3. Principaux constituants de l'huile d'olive (Huang et al., 2008).			

Constituants	Huile d'olive extra vierge*	Huile d'olive vierge**	Huile d'olive raffinée***
Sitostérol	7.3	2.3	1.1
Stigmastérol	8.2	6.4	12.0
Protéines (µg/kg)	1.76	1.76	1.76
Esters non glycéridés	100 250	100 250	100 250
Cires	≤250	≤250	≤350
Hydrocarbures			
Squaléne	4,277	ND	2,598
β-carotène	0.33–4.0	ND	ND
Polyphénols	236	164	11
• Lipophiles			
α-tocophérols	300	ND	200
Tocotrienols	ND	ND	None
• Hydrophiles	40-1,000	40-1,000	None
Hydroxytyrosol Tyrosol	Principaux représentants des composés phénoliques de l'huile d'olive avec une concentration moyenne de 8mg/kg		
Tableau 3. Principaux constituants de l'huile d'olive (Huang et al., 2008).			

***L'huile d'olive extra vierge** est l'huile obtenue du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. L'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes.

****L'huile d'olive vierge** est l'huile obtenue du fruit de l'olivier uniquement par des procédés et traitements identiques à l'huile d'olive extra vierge, mais dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes.

*****L'huile d'olive raffinée** est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glycéridique initiale.

1. Acides gras, triacylglycérols, et glycérides partiels

Les acides gras présents dans l'huile d'olive sont : l'acide palmitique (C16: 0), l'acide palmitoléique (C16: 1), l'acide stéarique (C18: 0), l'acide oléique (C18: 1), l'acide linoléique (C18: 2), l'acide linolénique (C18: 3), l'acide myristique (C14: 0). Les acides heptadécanoïque et eicosanoïque se trouvent en quantités infimes. *Scano et al., (1999)*, ont détecté des traces d'acides 11-cis-vaccénique et éicosénoïque en analysant une fraction de l'huile d'olive par RMN- ^{13}C (Résonance Magnétique Nucléaire).

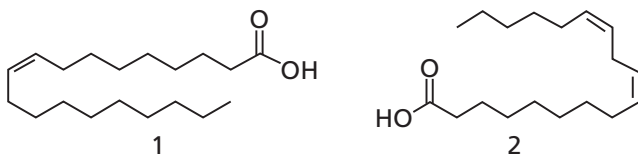


Figure 12. Structure des acides gras majeurs de l'huile d'olive, (1) acide oléique, (2) acide linoléique (*Amanda et al., 2010*).

La teneur en acides gras de l'huile d'olive varie en fonction de la zone de production, la latitude, le climat, la variété et le stade de maturation du fruit. *Baccouri et al. (2008)* ont prouvé que le ratio acide oléique/acide linoléique montre une tendance à baisser avec la maturité des olives. En outre, les huiles grecques, italiennes et espagnoles sont pauvres en acides linoléique et palmitique. De plus, elles présentent un pourcentage élevé en acide oléique. Les huiles marocaines et tunisiennes sont riches en acides linoléique et palmitique et plus faibles en acide oléique.

Sur la base de l'analyse des échantillons provenant de divers pays, les huiles d'olive peuvent être classées en deux types :

- huile avec une faible teneur en acides linoléique et palmitique et riche en acide oléique,
- huile avec une teneur élevée en acide linoléique et palmitique avec une faible teneur en acide oléique.

La composition en acides gras de l'huile dépend de la maturité de l'olive triturée. *Ninni (1999)*, a signalé que l'acide oléique se forme en premier dans le fruit et qu'il existe une forte relation antagoniste entre les acides oléique, palmitique, palmitoléique et l'acide linoléique.

2. Les polyphénols de l'huile d'olive, antioxydants très puissants

Le terme "**polyphénols**" est attribué à la fraction phénolique polaire de l'huile d'olive (un terme désuet dans les publications récentes). Ce terme est utilisé dans la littérature pour définir les substances qui possèdent un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyle, y compris leurs dérivés fonctionnels (*Harborne,*

1989). Les composés phénoliques présents dans l'huile d'olive, extractibles par le mélange eau/méthanol, sont communément désignés comme bio-phénols (*Uccella, 2001*).

Le nombre des travaux qui s'intéressent à ces composés a augmenté de façon exponentielle au cours de ces 10 dernières années, pour diverses raisons: les composés phénoliques sont liés à la stabilité de l'huile, notamment, pour leurs propriétés biologiques. Actuellement, plusieurs composés phénoliques contenus dans l'huile d'olive, principalement l'**hydroxytyrosol** et ses dérivés, sont sujet de recherches approfondies dans le but d'établir une relation entre les apports alimentaires et le risque de plusieurs maladies telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires.

La fraction phénolique de l'huile d'olive est constituée d'un mélange hétérogène de composés. Chacun affecte les propriétés chimiques et a une influence particulière sur la qualité de l'huile (*Psomadiou et al., 2003*). La présence de phénols hydrophiles dans l'huile a été mise en évidence il y a plus de 40 ans par *Cantarelli et Montedoro (1961; 1969)*.

2.1 Les monomères phénoliques

Les monomères phénoliques de l'huile d'olive, qui regroupent les acides et les alcools phénoliques sont (en ordre alphabétique): 4-acétoxy-éthyle-1, 2-dihydroxybenzène, 1-acétoxy-pinorésinol, apigénine, l'acide caféique, l'acide cinnamique (pas un phénol), acides o – et p-coumarique, acide férulique, l'acide gallique, l'acide homovanillique, acide p-hydroxybenzoïque, hydroxytyrosol, lutéoline, l'oleuropéine, pinorésinol, acide protocatéchique, l'acide sinapique, l'acide syringique, tyrosol, l'acide vanillique et la vanilline. La présence d'acide élénolique (pas un

phénol) dans la même fraction a également été vérifiée à plusieurs reprises (*Brenes et al., 2000, Morales et Tsimidou, 2000; Owen et al., 2000; García et al., 2001; Mateos et al., 2001; Boskou, 2002*).

Le tyrosol, l'hydroxytyrosol et leurs dérivés sont les principaux représentants de la fraction monomérique.

La partie la plus polaire de l'extrait méthanol/eau contient les phénols libres et les acides phénoliques. La partie la moins polaire contient l'oleuropéine aglycones (l'hydroxytyrosol estérifié à l'acide élénolique) et le ligs-troside (tyrosol estérifié à l'acide élénolique), la lutéoline et l'apigénine (flavones), et aussi l'acide cinnamique et l'acide élénolique.

Bianco et ses collaborateurs (2001) ont trouvé une nouvelle classe de phénols : hydroxyle-iso-chromanes. L'identification des deux composés de cette classe, 1-phényl-6, 7-dihydroxy-isochromane et 1 - (3-méthoxy-4-hydroxy) phényl-6, 7-dihydroxy-isochromane a été confirmée en comparant les spectres des polyphénols, isolés de l'huile par extraction en phase solide, avec les spectres LC-MS des composés dérivant d'une réaction entre l'hydroxytyrosol et les aldéhydes aromatiques (Benzaldéhyde et de la vanilline). Une telle réaction se produit également dans la nature et l'acide oléique joue le rôle du catalyseur.

L'hydroxytyrosol, présent dans les fruits d'olive, est dans sa forme glycosylée, mais principalement liée sous forme d'ester à la fraction aglycone de l'oleuropéine. Au cours de l'étape de malaxage, l'hydroxytyrosol est libéré sous l'action des glycosidases et des estérases (fig. 13). Ce processus hydrolytique, qui améliore également la quantité de composés carbonylés, favorise la formation de dérivés isochromane.

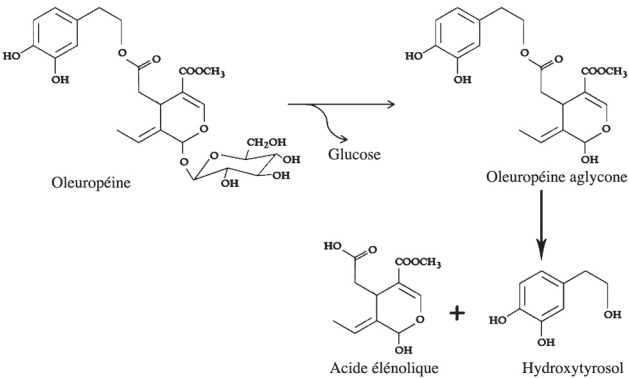


Figure 13. Origine de l'hydroxytyrosol (*Granados-Principal et al., 2010*).

Composé	Substituants (PM)	Structure
Acide benzoïque et ces dérivés		
Acide 3-Hydroxy-benzoïque	3-OH (138)	
Acide <i>p</i> -Hydroxy-benzoïque	4-OH (138)	
3,4-Dihydroxy-benzoïque	3,4-OH (154)	
Acide gentisique	2,5-OH (154)	
Acide vanillique	3-OCH3, 4-OH (168)	
Acide gallique	3,4,5-OH (170)	
Acide syringique	3,5-OCH3, 4-OH (198)	

Tableau 4. Les composés phénoliques dans l'huile d'olive vierge : nom de composés, la structure chimique générale et le poids moléculaire (PM : g.mol⁻¹), (Bendini et al., 2007).

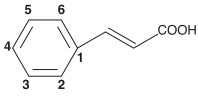
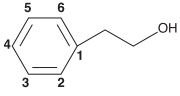
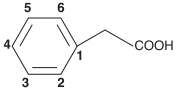
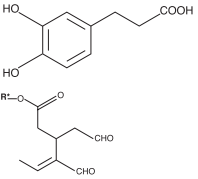
Composé	Substituants (PM)	Structure
Acide cinnamique et ces dérivés		
acide <i>o</i> -Coumarique	2-OH (164)	
acide <i>p</i> -Coumarique	4-OH (164)	
Acide Caféique	3,4-OH (180)	
Acide Férulique	3-OCH ₃ , 4-OH (194)	
Acide Sinapique	3,5-OCH ₃ , 4-OH (224)	
Alcools phénoliques		
Tyrosol [(<i>p</i> -hydroxyphényle) éthanol] ou <i>p</i> -HPEA	4-OH (138)	
Hydroxytyrosol [(3,4-dihydroxyphényle) éthanol] or 3,4-DHPEA	3,4-OH (154)	
Autres acides phénoliques et leurs dérivés		
acide <i>p</i> -Hydroxyphényle-acétique	4-OH (152)	
acide 3,4-Dihydroxyphényle-acétique	3,4-OH (168)	
acide 4-Hydroxy-3-méthoxyphénylacétique	3-OCH ₃ , 4-OH (182)	
acide 3-(3,4-Dihydroxyphényle) propénoïque	(182)	
Formes dialdéhyde de sécoiridoïdes		
Forme décarboxyméthyle d'aglycone d'oleuropéine (3,4-DHPEA-EDA)	R1-OH (304)	
Forme décarboxyméthyle d'aglycone de ligstroside (<i>p</i> -HPEA-EDA)	R1-H (320)	

Tableau 4. Les composés phénoliques dans l'huile d'olive vierge: nom de composés, la structure chimique générale et le poids moléculaire (PM : g.mol⁻¹), (Bendini et al., 2007).

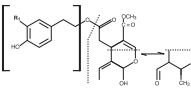
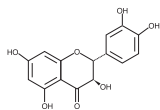
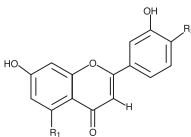
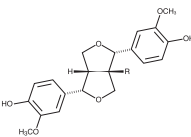
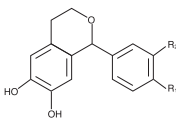
Composé	Substituants (PM)	Structure
Sécoiridoïdes aglycones		
Oleuropéine aglycone ou 3,4-DHPEA-EA	R ₁ -OH (378)	
Ligstroside aglycone ou p-HPEA-EA F	R ₁ -H (362)	
Forme aldéhydique de l'oleuropéine aglycone	R ₁ -OH (378)	
Forme aldéhydique de ligstroside aglycone	R ₁ -H (362)	
Flavonols		
(+)-Taxifoline	(304)	
Flavones		
Apigénine Lutéoline	R ₁ -OH, R ₂ -H (270) R ₁ -OH, R ₂ -OH (286)	
Les lignanes		
(+)-Pinorésinol	R-H (358)	
(+)-1-Acétoxypinorésinol	R-OCOCH ₃ (416)	
(+)-1-Hydroxypinorésinol	R-OH (374)	
Hydroxyisochromanes		
1-Phényl-6,7-dihydroxyisochromane R	R ₁ ,R ₂ -OH,R-H (242)	
1-(3'-Methoxy-4'-hydroxy)phényle 6,7-dihydroxyisochromane	R ₁ -OH, R ₂ -OCH ₃ (288)	

Tableau 4. Les composés phénoliques dans l'huile d'olive vierge: nom de composés, la structure chimique générale et le poids moléculaire (PM : g.mol⁻¹), (Bendini et al., 2007).

L'identification de l'oléocanthal et d'autres composés phénoliques a récemment eu lieu (Fig. 14) (*Bianco et al., 2005; Beauchamp et al., 2005*). Il reste à vérifier si ces composés sont présents dans les huiles spécifiques (extraites à partir de cultivars spécifiques) ou sont inhérentes aux huiles d'olive de bonne qualité. Beauchamp et ses collaborateurs (2005), affirment que l'oléocanthal, un composé qui a la même activité pharmacologique que l'ibuprofène®, médicament anti-inflammatoire, se trouve uniquement dans l'huile d'olive extra vierge fraîchement pressée et sa présence est liée à la sensation de picotement dans la gorge.

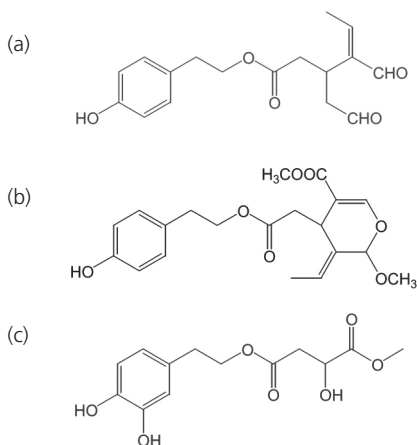


Figure 14. Composés phénoliques récemment identifiés dans l'huile d'olive: (a) oléocanthal, (b) acétate de méthyle de l'aglycone de ligstroside et (c) β -ester de méthyle hydroxytyrosol malate.

3. Tocophérols

La recherche sur la présence et les taux de tocophérols dans les huiles d'olive vierges a montré que parmi les huit "E-vitamères" connus, l' α -homologue comprend 90 % de la teneur en tocophérol total. L' α -tocophérol se trouve sous forme libre. Les taux enregistrés font apparaître une large gamme de milligrammes d' α -tocophérol par kg d'huile, qui dépend des cultivars et des facteurs liés aux technologies utilisées. L'introduction de bonnes pratiques de fabrication et de programmes de contrôle de qualité pour tous les types d'huile d'olive comestibles a eu un impact positif sur les taux de tocophérol. Les taux actuellement constatés sont beaucoup plus élevés que la valeur moyenne de 100 mg / kg affectée à l'huile d'olive dans le passé (*Gunstone et al., 1994; Belitz et al., 2004*).

Les niveaux d' α -tocophérol peuvent être liés à la quantité élevée de pigments de chlorophylle et à son activité concomitante contre les radicaux oxygénés (*Grammes et Eskins, 1972*). La concentration en tocophérol semble être réduite dans les fruits mûrs. Les données sur l'influence du système d'extraction varient (*Psomiadou et Tsimidou, 1998; Beltran et al., 2005*). Le raffinage ou l'hydrogénation entraîne une perte de tocophérols (*Andrikopoulos et al., 1989; Rabascall et Riera, 1987*).

4. Hydrocarbures

Deux hydrocarbures sont présents en quantités importantes dans l'huile d'olive, le squalène et le β -carotène. Le squalène (2,6,10,15,19,23 hexaméthyl-2-,6,10,14,18,22 tétracosahexane) est le métabolite précédant la formation du noyau des stérols. Sa présence est considérée comme partiellement responsable des effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé et de son action chimio-préventive contre certains cancers (*Rao et al., 1998, Smith et al.,*

1998). Il est le constituant majeur de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive et représente plus de 90 % des hydrocarbures (*Perrin, 1992; Lanzón et al., 1994*). Sa concentration varie de 200 à 7500 mg par kg d'huile (*Perrin, 1992*). Même des concentrations plus élevées jusqu'à 12000 mg / kg ont été également signalés (*Lanzón et al., 1994*). Cette quantité dépend du cultivar (*De Leonardis et al., 1998; Manzi et al., 1998*), de la méthode d'extraction de l'huile (*Nergiz et Ünal, 1990*), de plus, elle est considérablement réduite au cours du processus de raffinage (*Mariani et al., 1992; Lanzón et al., 1994*). La variation des concentrations peut être partiellement due aux différentes méthodes d'analyse utilisées (*Nenadis et Tsimidou, 2002*). La fraction d'hydrocarbures d'huile d'olive vierge contient aussi des diterpènes et des triterpènes, des polyoléfines isoprenoidal, et des n-paraffines (*Lanzon et al., 1994*).

5. Pigments

La couleur de l'huile d'olive est le résultat des teintes vertes et jaunes en raison de la présence de chlorophylles et de caroténoïdes, respectivement. Elle est influencée par le cultivar d'olive, l'indice de maturation, la zone de production, le système d'extraction et les conditions de stockage. Par conséquent, la couleur est considérée comme un indice de qualité malheureusement, des méthodes standardisées pour sa mesure n'existent pas à ce jour.

Les chlorophylles perdent leurs ions magnésium et se transforment en phéophytines qui sont des pigments verts olives jaunâtres. Parmi ces derniers, la phéophytines α (Phéo α) est prédominante (*Mínguez-Mosquera et al., 1990; Mínguez-Mosquera et al., 1991; Rahmani et Csal-lany, 1991; Gandul-Rojas et Mínguez-Mosquera, 1996; Psomiadou et Tsimidou, 2001*).

Chapitre 2

Analyse et quantification des polyphénols de l'huile d'olive

La teneur en polyphénols est significativement liée à la qualité de l'huile d'olive vierge et leur contribution à la stabilité oxydative de l'huile est largement acceptée. Les conditions agronomiques et technologiques de la production de l'huile d'olive affectent fortement la qualité et la quantité des composés phénoliques hydrophiles. Pour ces raisons, l'identification et la quantification de ces composants sont d'un grand intérêt. De nombreuses procédures d'analyse orientée vers la détermination du profil complet phénoliques ont été proposées.

La méthode colorimétrique universellement appliquée pour la détermination des phénols dans l'extrait eau-méthanol est basée sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont généralement exprimés en équivalents de l'acide caféique (mg acide caféique / kg d'huile), bien que d'autres phénols peuvent également être utilisés comme standards, à savoir: l'acide gallique et l'acide tanannique (*Tsimidou, 1999*). Les résultats peuvent varier, en fonction de la norme utilisée et la concentration relative des différents composés (*Singleton et al., 1999; Hrnčirik et Fritsche, 2004*). Cependant, la méthode colorimétrique classique est largement appliquée pour la quantification des phénols totaux polaires, car elle fournit une bonne indication sur la stabilité de l'huile (*Gutfinger, 1981; Aparicio et al., 1999; Blekas et al., 2002; Psomiadou et al., 2003*).

En général, la procédure d'analyse pour la détermination des différents composés phénoliques dans l'huile d'olive

comporte trois étapes principales : l'extraction à partir de l'huile, la séparation analytique et la quantification. L'ensemble des techniques d'extraction à base d'ELL (Extraction Liquide-Liquide) ou d'EPS (Extraction en Phase Solide) ont été utilisées pour isoler la fraction phénolique polaire de l'huile d'olive. Les techniques d'analyse sont basées sur des méthodes spectrophotométriques, telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et l'électrophorèse capillaire (CE). Toutefois, la CE a récemment été appliquée à l'analyse des composés phénoliques de l'huile d'olive, et ainsi, elle a ouvert de grands horizons, surtout en raison de sa haute résolution. La technique a été optimisée par la réduction du volume de l'échantillon et de la durée d'analyse (*Carrasco-Pancorbo et al., 2005*).

3^e PARTIE

Effets de l'huile d'olive sur la santé

Chapitre 1

Les bienfaits de l'huile d'olive sont essentiellement attribués à ses polyphénols

L'huile d'olive est riche en antioxydants, comme les polyphénols, et en particulier, l'hydroxytyrosol et le tyrosol. Ils permettent de prévenir et de traiter les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement. Ils sont antimicrobiens et jouent aussi un rôle important dans le renforcement du système immunitaire et la protection de certains tissus et organes contre les dommages oxydatifs : cerveau, foie, globules sanguins, muscles et artères.

L'intérêt pour le régime méditerranéen (RM) a augmenté à travers le monde au cours de la dernière décennie, même chez les nutritionnistes en dehors du bassin méditerranéen. Ceci est largement dû au fait que le RM a été associé à une plus grande longévité, une meilleure qualité de vie et à une réduction de l'incidence des maladies cardiovasculaires, du cancer et du déclin cognitif lié à l'âge (Trichopoulou et al., 2003; Trichopoulou et al., 2005), en dépit d'être un modèle alimentaire riche en graisses, contrairement aux régimes recommandés pendant plusieurs décennies par de nombreux experts en nutrition dans d'autres zones géographiques.

Cependant, la source principale de la matière grasse dans le RM (fig. 15) est dérivée d'un seul composant alimentaire, à savoir l'huile d'olive, ce qui signifie que

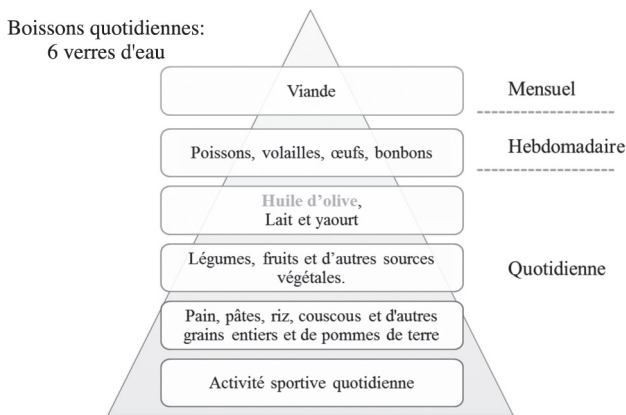


Figure 15. Principaux constituants de l'Alimentation méditerranéenne.

l'alimentation est pauvre en graisses saturées et riche en acides gras mono et polyinsaturés, en particulier, en acide oléique. Au cours de ces dernières années, grâce à des technologies modernes, d'autres types d'huiles avec une composition en matières grasses similaires sont devenues disponibles pour la nutrition humaine. Il s'agit, notamment, des huiles obtenues à partir de certains types de semences, dont certaines variétés sont riches en acide oléique, comme le tournesol, le soja et le colza oléique. Cette situation a généré un nouveau concept de RM, selon lequel l'acide oléique ne provient pas nécessairement de l'huile d'olive, mais plutôt à partir d'autres types d'huiles.

Le régime méditerranéen a été couplé à une faible consommation de viande, source d'acides gras saturés, et à une richesse en acides gras monoinsaturés d'origine végétale. Les recherches ont souligné l'importance des aliments végétaux (y compris les glucides et les fibres non digestibles) et de l'utilisation régulière d'huile d'olive.

En ce qui concerne le système cardio-vasculaire, les propriétés protectrices de l'huile d'olive ont été, jusqu'à une date récente, exclusivement reportées à sa teneur élevée en acide gras monoinsaturés (AGMI), principalement l'acide oléique. En effet, la supplémentation en AGMI conduit à une résistance accrue des LDL à l'oxydation (*Bonanome et al., 1992*), entraînant ainsi la baisse de l'un des facteurs de risque de maladie coronarienne (*Witztum et Steinberg, 2001*). À titre d'exemple, la FDA (Food and Drug Administration, USA) a autorisé une allégation de santé qualifiée pour les AGMI de l'huile d'olive et un risque réduit de maladie coronarienne (*FDA, P04-100, 2004*).

Cependant, plusieurs observations plaident contre l'hypothèse de l'acide oléique comme le facteur exclusif responsable de la baisse de taux des maladies cardiovasculaires dans la région méditerranéenne. Par exemple, les effets des AGMI sur les lipides et les lipoprotéines circulantes n'ont pas été entièrement clarifiés, alors que les principaux effets des AGMI sur le cholestérol sérique sont généralement considérés comme indirects (*Belkner et al., 1993; Hegsted et al., 1993; Gardner et Kraemer, 1995*). Certaines études (*Mensink et al., 2003*) ont prouvé l'effet hypocholestérolémiant direct, bien que modeste, des AGMI seuls quand ils remplacent les hydrates de carbone comme source d'énergie. En outre, les AGMI augmentent le taux des lipoprotéines de haute densité (HDL) plus que les acides gras polyinsaturés (AGPI) lorsque ces deux classes d'acides gras remplacent les glucides dans le régime alimentaire (*Mensink et al., 2003*).

Cependant, les bienfaits de la consommation de l'huile d'olive sont au-delà d'une simple réduction du cholestérol et des lipoprotéines de faible densité. Les effets biologiques et cliniques les plus importants liés à l'alimentation riche en AGMI (notamment l'acide oléique) sur le métabolisme des lipoprotéines, les dommages oxydatifs, l'inflammation,

la dysfonction endothéliale, la pression artérielle, la thrombose, et le métabolisme des glucides ont été étudiés par plusieurs auteurs (Covas, 2009; Huang et al., 2008).

Toutefois, l'acide oléique est l'un des acides gras prédominants dans les aliments d'origine animale largement consommés, tels que la volaille et le porc. Ainsi, contrairement à la croyance commune, le pourcentage d'acide oléique dans l'alimentation méditerranéenne n'est que légèrement supérieur à celui des autres types d'alimentation occidentaux, par exemple, en Amérique du Nord (Dougherty et al., 1987; Katan, 1995). Il est donc peu probable que l'acide oléique soit exclusivement responsable des propriétés bénéfiques de l'huile d'olive. Enfin, il est également intéressant de noter que plusieurs huiles de graines obtenues par sélection génétique, disponibles dans le commerce, comme le tournesol, le soja et les huiles de colza sont aujourd'hui riches en acides gras monoinsaturés mais dépourvues de composés phénoliques. Ces huiles non pas le même effet que celui de l'huile d'olive sur la réduction du cholestérol et des lipoprotéines de faible densité (Owen et al., 2000; Gunstone, 2004).

Si l'acide oléique a été doté d'importants effets cardioprotecteurs, à faible incidence de maladies cardiovasculaires et de grande longévité, ceci serait observé même à l'extérieur du bassin méditerranéen où la consommation de l'huile d'olive est bien faible.

Ce chapitre passe en revue les éléments de preuve qui indiquent comment les composants phénoliques de l'huile d'olive extra vierge jouent un rôle dans la protection et le traitement des maladies cardiovasculaires, du cancer, ainsi que d'autres pathologies dans la région méditerranéenne.

Chapitre 2

Les polyphénols de l'huile d'olive sont très biodisponibles et bioactifs

On entend par **biodisponibilité** d'une substance; la proportion de celle-ci parvenant à la circulation générale après une administration orale ainsi que sa métabolisation, sa distribution et son élimination. Ainsi, il est important de connaître non seulement la quantité journalière ingérée de polyphénols, mais également leur biodisponibilité, puisque leur qualité nutritionnelle et leurs effets systémiques dépendront de leur absorption au niveau du tractus digestif.

1. Absorption des composés phénoliques

Les composés phénoliques de l'huile d'olive ne sont pas toxiques et leur absorption dépend de la dose administrée. Ces composés sont très biodisponibles en tant que composants naturels de l'huile d'olive.

Bai et al. (1998) ont signalé que l'administration orale de l'hydroxytyrosol à des rats a entraîné son apparition rapide dans le sang, avec des concentrations maximales obtenues dans les **5-10 min** qui suivent. L'hydroxytyrosol est complètement éliminé et/ou métabolisé après 180 min de l'administration.

Visioli et ses collaborateurs (2000) ont étudié l'absorption des composés phénoliques de l'huile d'olive chez

l'homme. Six hommes volontaires (âgés de 27 à 33 ans) ont reçu 50 ml de quatre échantillons d'huile d'olive riche en hydroxytyrosol (*Olivie Plus*). Après 24 h, les urines ont été analysées et les résultats ont montré que le rapport tyrosol/hydroxytyrosol dans l'urine est similaire à celui présent dans l'huile (~ 1,7). D'après les résultats de ces auteurs, le taux de l'excrétion urinaire de tyrosol et d'hydroxytyrosol dépend de la dose administrée. Les données suggèrent que des composés phénoliques simples tels que le tyrosol et l'hydroxytyrosol sont absorbés après administration et sont excrétés sous forme de glucuronides conjugués. Dans une autre étude, l'analyse d'urine a révélé la présence de deux autres métabolites de l'hydroxytyrosol, l'acide homovanillique (4 -hydroxy-3-méthoxy acide phénylacétique) et l'homovanillyl (*Caruso et al., 2001*).

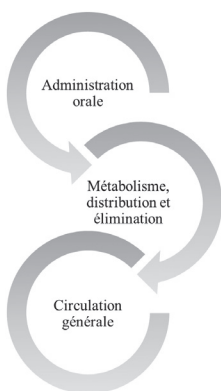


Figure 16.
Biodisponibilité
d'une substance
chimique.

Dans une autre étude de biodisponibilité, Tuck *et al.* (2001) ont examiné l'absorption et l'élimination d'hydroxytyrosol et du tyrosol radiomarqués, chez des rats Sprague-Dawley mâles. Après injection intraveineuse (dans une solution saline) et administration orale (dans l'huile d'olive et dans une solution aqueuse), pour les deux composés, la voie intraveineuse et l'administration par voie orale dans

un support huileux ont entraîné une élimination significativement plus importante dans les urines après 24 h, que lorsque ces composés ont été administrés oralement dans une solution aqueuse. Pour le tyrosol et l'hydroxytyrosol, il n'y avait aucune différence significative quant à la quantité éliminée dans l'urine après injection intraveineuse et administration orale dans une solution huileuse. L'analyse des échantillons d'urine a révélé la présence de l'hydroxytyrosol et de cinq autres métabolites. L'estimation de la biodisponibilité orale de l'hydroxytyrosol, lorsqu'il est administré dans une solution d'huile d'olive et dans une solution aqueuse était respectivement, de 99 % et 75 %. (fig. 17a), tandis que l'estimation de la biodisponibilité du tyrosol était de 98 % et 71 % (fig. 17b), respectivement.

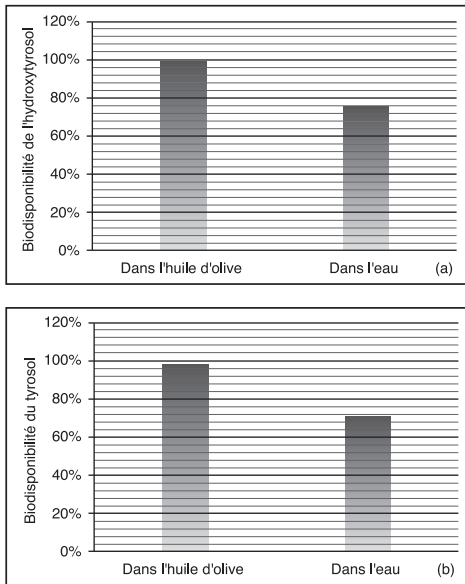


Figure 17. Biodisponibilité d'hydroxytyrosol (a) et de tyrosol (b) en fonction du support de transport.

En 2003 les mêmes auteurs Visioli *et al.*, ont confirmé leurs résultats sur l'Homme. Ils ont comparé l'excrétion de l'hydroxytyrosol chez l'Homme, lorsqu'il est consommé comme composante naturelle de l'huile d'olive extra vierge et lorsqu'il est ajouté à l'huile d'olive raffinée et le yogourt. L'excrétion de l'hydroxytyrosol était beaucoup plus élevée après son administration comme une composante naturelle d'huile d'olive (44,2 % d'hydroxytyrosol) que par son administration dans l'huile d'olive raffinée (23 % d'hydroxytyrosol) ou dans du yogourt (5,8 % d'hydroxytyrosol) (fig. 18). Le taux élevé de l'excrétion témoigne du degré élevé de l'absorption de l'hydroxytyrosol.

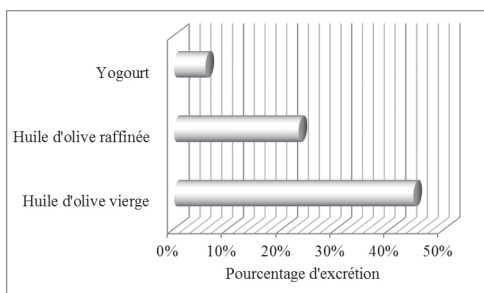


Figure 18. Excrétion urinaire de l'hydroxytyrosol en fonction du support de transport.

Dans une autre étude, huit volontaires sains ont avalé 100 g d'huile d'olive extra vierge, les échantillons de sang ont été collectés à différents moments après l'ingestion. Les chercheurs ont conclu que les composés phénoliques de l'huile d'olive ont été absorbés au niveau de l'intestin, toutefois, au travers d'une voie indépendante de la formation des chylomicrons (lipoprotéines qui se forment en période de digestion, responsables du transport des lipides de l'intestin grêle vers les tissus adipeux périphériques où ils sont retraités). Ces composés peuvent exercer un effet antioxydant important *in vivo*, probablement en phase post-prandiale (Bonanome *et al.*, 2000).

Dans une autre étude sur l'absorption supplémentaire des polyphénols de l'huile d'olive vierge chez les sujets avec iléostomie, *Visser et al.* (2001) ont signalé que ces composés sont essentiellement absorbés au niveau de l'intestin grêle. L'absorption a été confirmée par l'excrétion du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans l'urine. Il a été estimé que l'absorption apparente des composés phénoliques s'élevait au moins à 55-66 % de la dose ingérée. Dans une étude quantitative, *Ruiz-Gutierrez et al.*, (2000) ont signalé que le taux d'hydroxytyrosol dans le sang est estimé à 5 % après son administration au bout de 5 min.

Manna et al. (2000) ont étudié les mécanismes moléculaires du transport intestinal de l'hydroxytyrosol, en utilisant les cellules Caco-2 Monocouche différenciées comme modèle de l'épithélium intestinal humain. Les données cinétiques suggèrent que le transport du [^{14}C]-hydroxytyrosol se fait par un mécanisme de diffusion passive et est bidirectionnelle. La valeur du coefficient de la perméabilité apparente calculée suggère que l'hydroxytyrosol est 100 % absorbé au niveau intestinal. Ces données fournissent la preuve que l'hydroxytyrosol est hautement biodisponible.

2. Métabolisme

Après l'administration intraveineuse du [^{14}C]-hydroxytyrosol à des rats, moins de 8 % de la radioactivité administrée a été présente dans le sang 5 min après l'injection (6 % lié au plasma et 2 % à la fraction de cellules). Seulement 0,1 % de la dose administrée correspondait à de l'hydroxytyrosol détectable dans le sang 5 h après l'administration. Environ 90 % de la radioactivité administrée ont été dosés dans les urines durant les 5 heures suivantes, tandis qu'environ 5 % dans les selles et le contenu gastro-intestinal. Le [^{14}C]-hydroxytyrosol a été enzymatiquement converti en quatre dérivés oxydés et/ou méthyl-

lés. Une fraction significative de la radioactivité totale a été associée à des formes sulfo-conjuguées, ce qui a également représenté les principaux produits de l'excrétion urinaire. Sur base de ces résultats, plusieurs auteurs (fig. 19) ont proposé une voie métabolique de l'administration exogène de l'hydroxytyrosol impliquant la catéchol-o-méthyltransférase, l'alcool déshydrogénase, l'aldéhyde déshydrogénase et la phénolsulfotransférase (D'Angelo *et al.*, 2001).

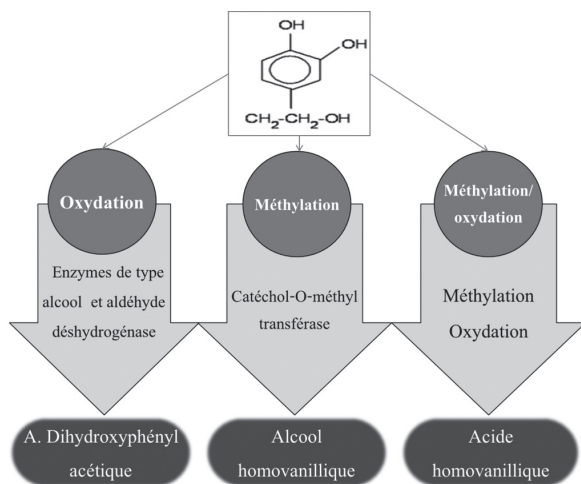


Figure 19. Principales voies métaboliques de l'hydroxytyrosol chez l'Homme proposées par D'Angelo *et al.*, (2001).

Trois groupes de rats Sprague-Dawley mâles ont été gavés de 1,5 ou 10 mg / kg d'extrait de margines, fournissant 41,4; 207 et 414 µg/kg d'hydroxytyrosol, respectivement. L'hydroxytyrosol a été absorbé et excrété dans les urines, principalement sous forme de glucuronide conjugué. Environ 25 % de la dose totale d'hydroxytyrosol administrée ont été retrouvés dans les urines (forme libre et conjugué au glucuronide).

Caruso *et al.* (2001) ont examiné la voie métabolique de l'hydroxytyrosol après ingestion d'huile d'olive vierge (50 ml, contenant 7 à 23 mg d'hydroxytyrosol total) à six sujets volontaires sains de sexe masculin. Les résultats suggèrent que le métabolisme de l'hydroxytyrosol nécessite l'enzyme catéchol-o-méthyltransférase.

En résumé, plusieurs chercheurs ont prouvé la grande biodisponibilité de d'hydroxytyrosol chez l'Homme après l'administration orale de l'huile d'olive. Ces études ont démontré la présence d'hydroxytyrosol dans le sang et l'urine. Il est à noter que, l'oleuropéine, qui est également présent dans l'huile d'olive, peut être absorbé et hydrolysé en hydroxytyrosol.

3. Excrétion

Visioli *et al.* (2003) ont étudié l'excrétion urinaire de l'hydroxytyrosol libre et conjugué chez les rats et l'Homme après administration d'huile d'olive. Les résultats de cette étude indiquent qu'après 24 heures de son administration dans l'huile, l'Homme excrète 31 % d'hydroxytyrosol, tandis que les rats excrètent seulement 5 %.

Dans une étude subséquente, Miro-Casas *et al.* (2003b) ont rapporté une augmentation de la concentration d'hydroxytyrosol suite à l'ingestion d'une dose unique (50 ml) et à la consommation à court terme (25 ml / jour pendant une semaine) d'huile d'olive vierge pour sept sujets en bonne santé. Miro-Casas *et al.* (2003a) ont également signalé une augmentation de la concentration de l'hydroxytyrosol et du 3-O-méthyl-hydroxytyrosol dans le plasma suite à l'ingestion d'huile d'olive vierge (25 ml) chez l'Homme, atteignant des concentrations maximales après 32 et 53 min, respectivement. L'estimation de la demi-vie d'élimination de l'hydroxytyrosol était de 2,43 h, tandis que la concentration maximale était de 26 µg/l.

Sur la base des résultats de cette étude, environ 98 % de l'hydroxytyrosol semblent être présents dans le plasma et l'urine sous forme conjuguée, principalement, aux glucuronides, suggérant un premier passage intestin/foie du métabolisme de l'hydroxytyrosol ingéré.

Dans une enquête de suivi sur les échantillons d'urine de l'étude d'absorption, Tuck *et al.* (2002) ont identifié trois métabolites d'hydroxytyrosol par spectroscopie de masse (MS/MS en tandem) à savoir, le conjugué monosulfate, le conjugué 3-O-glucuronide et l'acide 4-hydroxy-3-méthoxyphénylacétique (acide homovanillique). Tuck et Hayball (2002) ont signalé que l'hydroxytyrosol est excrété par les reins sous forme libre et aussi conjugué aux composés suivants : glucuroconide, sulfate, acide homovanillique, l'alcool homovanillyl, l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique et le 3,4-dihydroxyphénylacétaldehyde.

Chapitre 3

Pouvoir antioxydant des polyphénols de l'huile d'olive

L'homéostasie au niveau cellulaire et, surtout, au niveau de l'organisme, correspond à l'équilibre entre la formation des espèces oxygénées et azotées hautement réactives et l'action des antioxydants qui maintiennent des taux acceptables de ces substances et minimisent leurs réactions non spécifiques avec les biomolécules (acides nucléiques, protéines, acides gras etc.) (fig. 20) conduisant éventuellement à l'apparition de maladies dégénératives (par exemple, l'athérosclérose, le cancer, le diabète, l'arthrite rhumatoïde et les maladies inflammatoires), (Pérez-Jiménez, 2006).

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les

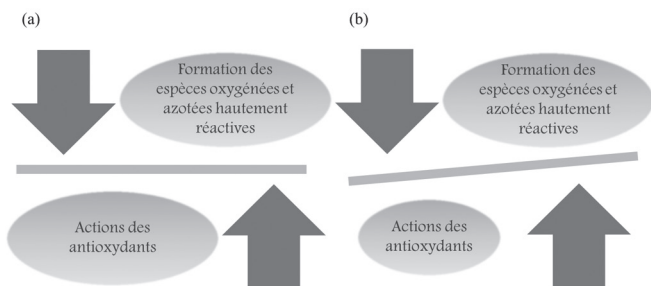


Figure 20. Équilibre entre la formation et l'élimination des espèces oxygénées et azotées hautement réactives, (a) cas normal et (b) en cas de stress oxydatif.

plus stables pour apparier son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule. L'oxygène est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbites externes deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en $O_2^{\bullet-}$ puis en H_2O_2 . Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species: ROS), radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$).

L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène (fig. 21 : anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

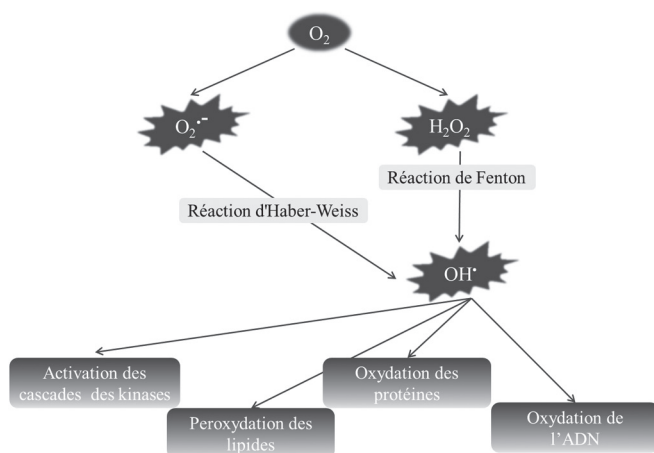


Figure 21. Schéma de différentes formes de ROS (Gutteridge et Halliwell, 1992).

L'anion superoxyde est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. La dismutation de cet $O_2^{\bullet-}$ entraîne la formation d'oxygène fondamental et de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 n'est pas un radical libre au sens propre, mais il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production.

Selon la réaction de Fenton, l' H_2O_2 se décompose, en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}), en un ion OH^- et un radical hydroxyle :



Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde qui régénère Fe^{3+} en Fe^{2+} selon la réaction d'Haber-Weiss :



Ainsi, la présence simultanée de peroxyde d'hydrogène, d'anion superoxyde et de fer permet la production de radical hydroxyle. L' $OH^{\bullet}$, avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, est la plus instable et la plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. La diffusion limitée de ce radical lui permet de réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à proximité (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires. L' $OH^{\bullet}$ apparaît comme l'espèce radicalaire ayant un rôle majeur dans la cytotoxicité des ROS (*Gutteridge et Halliwell, 1993*).

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à ceux d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou empêche l'oxydation de ce substrat (Halliwell et al., 1999).

1. Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (fig. 22) (le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS.

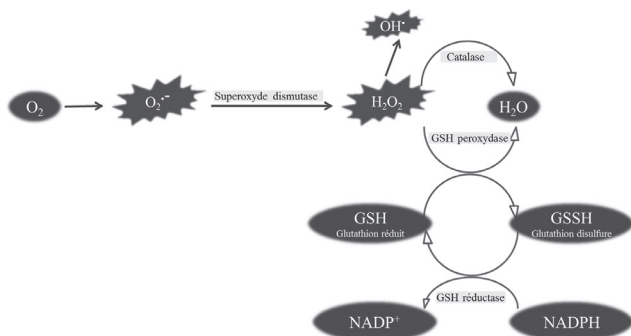


Figure 22. Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.

2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Chélateurs biologiques des métaux : empêchent la participation des ions métalliques transitoires dans la formation du radical hydroxyle et d'autres substances hautement réactives.

Molécules qui arrêtent la propagation de l'oxydation : cette classe de molécules agit quand une réaction d'oxydation est démarrée en dépit de la présence de ces systèmes biologiques antioxydants. C'est une vaste catégorie de molécules jouant un rôle crucial dans le processus de lutte contre les espèces hautement réactives. Cette classe comprend diverses substances hydrophiles et hydrophobes à faible ou à haut poids moléculaire, à savoir :

- Les polyphénols (huile d'olive),
- Les tocophérols, vitamine E (huile d'olive),
- Les caroténoïdes (huile d'olive),
- L'acide ascorbique (vitamine C),
- Le glutathion,
- Certains acides aminés (tels que la cystéine, méthionine, ou la tyrosine),
- L'acide urique.

Les principaux modes d'action de cette classe d'antioxydants est de réagir avec les radicaux libres pour former des radicaux moins réactifs incapables de réagir avec les biomolécules, ou pour réparer chimiquement une cible endommagée. Par conséquent, cette classe de composés est souvent nommée « piégeurs de radicaux libres ».

L'huile d'olive contient bien plus de substances protectrices à grand effet antioxydant que le vin rouge, le thé vert et la vitamine C. Les radicaux libres sont piégés d'une façon efficace par les polyphénols de l'huile d'olive ce qui explique leur grand pouvoir antioxydant.

Les antioxydants exogènes ont une double fonction ; ils empêchent l'oxydation des aliments, en particulier, les lipides et en même temps augmentent le taux d'antioxydants endogènes ce qui correspond à une protection contre les maladies dégénératives. Les antioxydants diététiques les plus importants sont certaines vitamines (acide

ascorbique, les tocophérols, carotènes) et les composés phénoliques, qui sont présents dans divers aliments d'origine végétale caractéristiques de l'alimentation méditerranéenne, comme l'huile d'olive (*Edwin et al., 2011*).

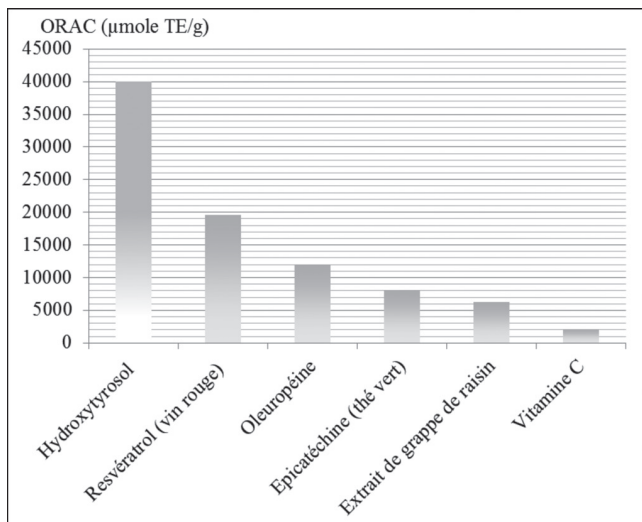


Figure 23. Pouvoir antioxydant de l'hydroxytyrosol (composé phénolique majeur de l'huile d'olive) par rapport à d'autres antioxydants. ORAC : Capacité d'Absorber les Radicaux Oxygénés.

3. Les polyphénols de l'huile d'olive, composés à fort pouvoir antioxydant

Les composés phénoliques peuvent agir comme des antioxydants de différentes manières. Dans les systèmes utilisant l'oxydation des métaux de transition tels que le cuivre et le fer, ils peuvent chélater ces ions métalliques, qui sont des initiateurs des réactions de Fenton pouvant générer de fortes concentrations de radical hydroxyle (fig. 21)

(Halliwell & Gutteridge, 1990; Halliwell et al., 1995). Toutefois, l'activité antioxydante la plus importante est liée à la capacité anti-radicalaire, en brisant la chaîne des réactions déclenchées par les radicaux libres. La propriété antioxydante des polyphénols est associée à leur capacité à former des liaisons hydrogène intramoléculaires entre le groupe hydroxyle et les radicaux phénoxyliques (Visioli & Galli, 1998b). Des études similaires sur les flavonoïdes ont déjà montré que le degré de l'activité antioxydante est corrélée au nombre de groupes hydroxyles (Rice-Evans et al., 1996; Cao et al., 1997). Le nombre de groupes hydroxyles et leurs positions sur le cycle aromatique sont déterminants pour l'activité des flavonoïdes et des polyphénols. L'étude des structures de résonance formées au cours des processus d'oxydation a permis de révéler que les composés ortho et para substitués sont plus stables que les méta substitués (Finotti et Di Majo, 2003). En particulier, la substitution orthodiphénolique favorise une haute capacité antioxydante, tandis qu'une seule substitution hydroxyle, comme pour le tyrosol, ne confère pas une forte activité, tant que le tyrosol ne protège pas les lipoprotéines de faible densité (LDL) des dommages oxydatifs induits chimiquement.

Bien que l'huile d'olive contienne une concentration relativement faible en α -tocophérol, elle est connue pour être très résistante à la dégradation oxydative. Ceci est dû, au moins en partie, à la teneur relativement faible en acides gras polyinsaturés, mais surtout, à **la forte teneur en composés phénoliques**. L'activité antioxydante des composés phénoliques de l'huile d'olive, et en particulier, de l'hydroxytyrosol et de l'oleuropéine, a été étudiée dans de nombreux modèles expérimentaux avec utilisation de métaux de transition; l'oxydation des LDL induite chimiquement; la formation des ROS, par exemple le radical superoxyde, le radical trichlorométhylperoxylique et l'acide hypochloreux (Aeschbach et al., 1994; Salami et al., 1995; Visioli et al., 1995a, 1998; Aruoma et al., 1998). En esti-

mant l'activité antioxydante de ces composés polyphénoliques sur la base de leur capacité à inhiber la formation des peroxydes, il a été démontré que l'acide caféique, l'hydroxytyrosol et l'acide protocatéchique ont une plus grande activité antiradicalaire (*Papadopoulos & Boskou, 1991*). L'activité antioxydante de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol a également été démontrée sur des modèles cellulaires et *in vivo* sur des animaux (*Manna et al., 1997; Speroni et al., 1998*).

Keceli et Gordon (2001), ont comparé l'activité antioxydante de l' α -tocophérol et des composés phénoliques extraits à partir d'olives et d'huile d'olive au fil du temps. Il a été démontré que dans les premières 15 minutes, l'activité de l' α -tocophérol a été plus élevée, mais elle chute rapidement. L'extrait d'olives et d'huile d'olive continuent à réduire plus lentement la concentration des radicaux; après les 60 minutes de la réaction, les extraits d'olive et d'huile d'olive ont été beaucoup plus actifs que l' α -tocophérol. Cette activité s'étend jusqu'au 6^e jour.

Les effets de l'activité antioxydante des polyphénols de l'huile d'olive sur l'intégrité et la fonction des cellules ont été étudiés sur les érythrocytes et les cellules intestinales (Caco-2). La capacité des polyphénols à prévenir les dommages dans ces cellules a été vérifiée lors de leur exposition à un stress oxydatif, en présence du H_2O_2 . Les érythrocytes humains ont été choisis parce qu'ils sont les cellules les plus exposés au risque oxydatif, puisque leur rôle spécifique est de transporter l'oxygène. La cible principale du H_2O_2 est l'hémoglobine, qui est oxydée en méthémoglobine. L'oxydation spontanée de l'hémoglobine produit des radicaux d'anion superoxyde qui causent la dismutation du H_2O_2 (fig. 21). En présence d'ions métalliques réduits, en particulier le Fer, ces composés forment un radical hydroxyle hautement réactif qui peut endom-

mager la membrane cellulaire causant ainsi l'hémolyse des cellules (Sadrzadeh *et al.*, 1984; Van Dyke & Saltman, 1996). Dans les conditions physiologiques normales, les ROS sont rapidement éliminés par les deux systèmes enzymatiques et non enzymatiques. Toutefois, si la production des ROS est excessive ou si la défense antioxydante est affaiblie, de graves dommages oxydatifs peuvent se produire, à la fois au niveau de la membrane plasmique et du cytosol, ce qui conduit finalement à l'hémolyse.

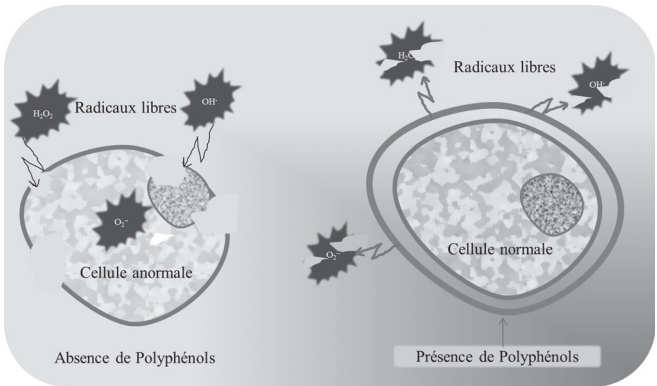


Figure 24. Schéma explicatif de l'effet protecteur des polyphénols de l'huile d'olive contre les radicaux libres.

Les érythrocytes prétraités par les composés phénoliques extraits de l'huile d'olive extra vierge résistent à l'oxydation des lipides et à l'hémolyse après un stress oxydatif induit par H_2O_2 . L'hydroxytyrosol empêche l'altération du transport des acides aminés par H_2O_2 dans les érythrocytes intacts (Manna *et al.*, 1999). De la même façon dans les cellules de tumeur intestinale (Caco-2) traitées avec H_2O_2 , pré-traitement avec polyphénols, l'huile d'olive exerce un effet antioxydant puissant. La préincubation des cellules Caco-2 avec hydroxytyrosol empêche totalement les altérations induites par H_2O_2 (Manna *et al.*, 1999).

Chapitre 4

L'huile d'olive riche en polyphénols, son effet contre le vieillissement

Hydroxytyrosol, puissant composé phénolique de l'huile d'olive, augmente la production de mitochondries. Le nombre élevé de mitochondries dans la cellule est un indicateur de la jeunesse du corps et de la bonne santé.

Le vieillissement est un processus physiologique complexe par lequel les fonctions de plusieurs organes du système se détériorent (*Sung et al., 2005*). Plusieurs auteurs ont montré que les changements et les dommages liés à l'âge sont directement liés au stress oxydatif et aux réactions inflammatoires déclenchées par les radicaux libres qui sont des espèces chimiques hautement réactives (*Sung et al., 2005*).

Ces dommages sont plus remarquables au niveau des mitochondries, organites omniprésents dans les cellules, siège de réactions d'oxydoréduction produisant de l'énergie en convertissant les éléments nutritifs en adénosine triphosphate (ATP), molécule qui est utilisée pour le fonctionnement normal et l'entretien des cellules. Les mitochondries sont également impliquées dans la régulation de la survie cellulaire. Récemment, il a été suggéré que la perte de la fonction mitochondriale non seulement contribue à des maladies, mais joue également un rôle important dans le processus de vieillissement (*Raederstorff et al., 2010*).

Une diminution du nombre de mitochondries dans certains organes et une altération de la chaîne respiratoire mitochondriale sont souvent associée au processus de vieillissement et est considéré comme un facteur majeur du vieillissement (*Hao et al., 2010*). Des sujets sains âgés de 65 à 75 années présentent des signes de modification des propriétés de mitochondries caractérisés par une perte de l'activité enzymatique oxydative mitochondriale et le contenu des tissus (*Raederstorff et al., 2010*). En outre, les tissus provenant d'animaux âgés montrent des changements dans la structure mitochondriale associée à une faible production d'énergie. Ainsi, le vieillissement est associé à une biogenèse mitochondriale réduite et une accumulation de dommages mitochondriaux.

1. Effet positif de l'hydroxytyrosol sur la biogenèse mitochondriale

La biogenèse mitochondriale se réfère à des processus de croissance, d'amplification et d'entretien sain de la mitochondrie. C'est un processus complexe impliquant à la fois des acteurs nucléaire et mitochondrial. L'ADN mitochondrial code pour un petit nombre de protéines, qui sont traduites sur les ribosomes des mitochondries. La plupart de ces protéines sont les sous-unités hydrophobes de la chaîne respiratoire, qui est localisée dans la membrane mitochondriale interne. Or, la plupart des protéines mitochondriales sont codées par l'ADN nucléaire et traduites sur les ribosomes cytosoliques puis transportées vers les mitochondries. Ces protéines comprennent des protéines de structure, des enzymes ou des sous-unités d'enzymes, des composants de la réplication, la transcription, la traduction et les protéines chaperones.

Le PGC-1 α (peroxisome proliferator activator receptor γ coactivator-1 α) est un facteur de régulation co-trans-

criptionnelle du métabolisme énergétique cellulaire qui est impliqué dans la biogenèse mitochondriale, et par conséquent, le contrôle de la fonction mitochondriale. La diminution de PGC-1 α dans les tissus vieillissants est un facteur clé dans la dysfonction mitochondriale qui peut être prévenue par une élévation du PGC-1 α conduisant à une augmentation de la biogenèse mitochondriale.

Raederstorff et ses collaborateurs ont prouvé que l'hydroxytyrosol améliore la fonction mitochondriale grâce à l'activation des complexes de chaîne respiratoire mitochondriale et l'augmentation de la biogenèse mitochondriale en induisant l'expression du facteur PGC-1 α . Dans le même sens, Hao et ses collègues (2010) ont montré qu'une concentration de 0.1 à 10 $\mu\text{mol/l}$ d'hydroxytyrosol a stimulé l'expression du facteur PGC-1 α et ses cibles en aval, ce qui conduit à une augmentation de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et du nombre de mitochondries dans les adipocytes 3T3-L1.

Ainsi, une amélioration de la fonction mitochondriale pourrait prévenir le vieillissement cellulaire, et par conséquent, le vieillissement du corps (fig. 25). En conclusion, l'hydroxytyrosol peut être considéré comme un agent utile pour prévenir le vieillissement et les maladies liées à l'âge.

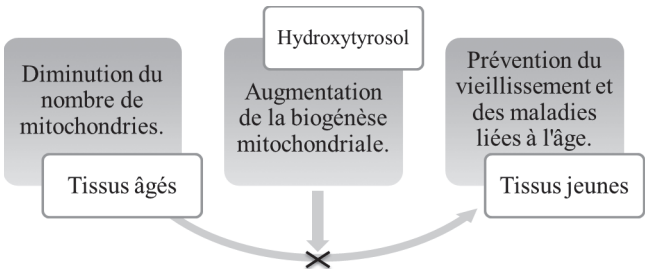


Figure 25. Effet antivieillesse de l'hydroxytyrosol.

2. Effet antvieillissement des polyphénols de l'huile d'olive sur les cellules cardiaques

Mukherjee et ses collaborateurs (2009), ont étudié la capacité de l'hydroxytyrosol et du tyrosol, ainsi que d'autres sources de polyphénols, à induire l'expression des protéines liées à la longévité des cellules cardiaques. Les cellules cardiaques, des rats traités par **2,5 mg/kg/j** de tyrosol et d'hydroxytyrosol pendant 14 jours, ont été isolées dans le but d'étudier leur teneur en protéines.

Les résultats ont prouvé la capacité du tyrosol et de l'hydroxytyrosol à induire plusieurs protéines liées à la longévité (antvieillissement) des cellules cardiaques, y compris PBEF, SirTs, et FoxOs.

Chapitre 5

L'hydroxytyrosol et l'oleuropéine contre le SIDA

L'oleuropéine et l'hydroxytyrosol sont des agents utiles pour inhiber la fusion et l'intégration du VIH dans les cellules humaines.

A l'heure actuelle, 29 médicaments sont autorisés aux États-Unis par la FDA (Food and Drug Administration) pour le traitement de l'infection VIH-1 (*Hammer, 2005*). Ces agents peuvent être classés selon leur mécanisme d'action: (i) inhibiteurs de la reverse transcriptase (IRT), (ii) inhibiteurs de la protéase (IP), (iii) inhibiteurs de la fusion. La combinaison des IRT et des IP, communément connue sous le nom du Traitement Antirétroviral Haute-ment Actif (HAART) (*Hammer, 2005; Cohen, 2002*), a considérablement réduit la morbi-mortalité causée par le VIH-1, en transformant le VIH/SIDA en une simple maladie chronique. Bien que le HAART puisse ralentir la progression de la maladie, il ne guérit pas l'infection au VIH. Le traitement antiviral doit être maintenu à long terme, ce qui conduit à l'apparition de graves toxicités chroniques et à la résistance aux médicaments. Ceci conduit les chercheurs à orienter leurs efforts vers l'exploration de nouvelles drogues efficaces et non toxiques.

Dans ce cadre, *Lee-Huang et al. (2003)* ont rapporté que l'extrait de feuilles d'olivier est efficace contre le VIH-1. Il a été prouvé que l'efficacité de l'extrait des feuilles d'olives est due à la présence de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol. Ces deux composés, **abondants dans l'huile d'olive**

(Olivie Plus) riches en polyphénols, sont actifs au niveau de plusieurs étapes du cycle de vie du VIH-1. Ils inhibent la transmission du VIH-1 d'une cellule à l'autre et ralentit considérablement la multiplication virale.

Des études *in vitro* indiquent que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol réagissent avec la partie hydrophobe conservée sur la surface de la centrale trimérique superhélice du complexe de fusion gp41 du VIH, le groupe de six hélicoïdales (6HB) et le domaine catalytique du site actif de l'intégrase. Par conséquent, ces deux composés ont un effet inhibiteur dose-dépendant sur la formation du complexe de fusion du VIH-1 avec la cellule hôte, avec une EC_{50} (concentration nécessaire pour atteindre 50 % de l'effet) de l'ordre de 58-66 nM, sans toxicité détectable (Lee-Huang et al., 2007).

Chapitre 6

L'Hydroxytyrosol et les polyphénols de l'huile d'olive, puissants anticancéreux

Hydroxytyrosol et polyphénols de l'huile d'olive sont de puissants protecteurs contre le cancer. Ces composés naturels sont aussi d'excellentes substances pour le traitement du cancer.

1. Généralités

L'incidence du cancer dans les pays méditerranéens est plus faible que dans le reste des pays européens et les États-Unis (Keys et al., 1981). Des études épidémiologiques ont montré un faible taux du cancer du gros intestin, du sein, de l'endomètre et de la prostate dans le bassin méditerranéen. La principale raison pour cela, en dehors de possibles facteurs génétiques, est attribuée aux pratiques alimentaires. L'alimentation méditerranéenne traditionnelle se caractérise par une consommation élevée d'aliments d'origine végétale, une consommation relativement faible de viande rouge et une forte consommation d'huile d'olive et ses produits. Il y a un certain nombre d'études qui se sont intéressées aux effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé. Ces études ont rapporté que les lipides d'huile d'olive sont préventifs contre le cancer en comparaison aux autres formes de lipides ajoutés, en raison de leurs teneur élevée en acides gras monoinsaturés (Owen et al., 2000a, b; Visioli et Galli, 2001). Une alimentation contenant 15 % d'huile d'olive pourrait réduire considérablement les lésions pré-cancéreuses du sein et du côlon chez le rat (Martin-Moreno et al., 1994; Corona

et al., 2007; *Paula et al.*, 2007). Cependant, la même quantité d'huile de soja n'a pas eu un tel effet protecteur comme on s'y attendait (*La Vecchia et al.*, 1998). En outre, l'incidence du cancer du sein était de 70 % moindre pour un groupe de rats nourris à l'huile d'olive par comparaison à un autre groupe ayant consommé l'huile de carthame sous les mêmes conditions expérimentales (*Owen et al.*, 2000a, b). Ces données suggèrent que l'effet préventif de l'huile d'olive contre le cancer n'est pas seulement attribuable à la teneur en "bonnes" matières grasses.

2. Hydroxytyrosol/Oleuropéine, polyphénols à fort effet anticancéreux

Les composés mineurs de l'huile d'olive peuvent participer à la protection contre le cancer, tel est le cas des composés phénoliques de l'huile d'olive. Dans ce cadre, il a été démontré que l'hydroxytyrosol a un effet anticancéreux sur un adénocarcinome du côlon humain (cellules HT-29) et la leucémie promyélocytaire (cellules HL-60) (*Fabiani et al.*, 2002, 2006), alors que l'oleuropéine inhibe la croissance des cellules (*Hamdi et Hamdi et 2005*):

- LN-18, peu différenciés du glioblastome (tumeur primitive du cerveau la plus fréquente et la plus agressive);
- TF-1a, érythroleucémie;
- 786-O, l'adénocarcinome rénal;
- RPMI-7951, mélanome malin de la métastase du ganglion lymphatique de la peau;
- LoVo d'adénocarcinome colorectal.

Des propriétés anticancéreuses de l'oleuropéine et d'hydroxytyrosol ont été bien confirmées *in vitro* sur des lignées cellulaires différentes par plusieurs auteurs. De

plus, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent la possible corrélation entre la consommation de produits de l'olivier et l'incidence du cancer du sein.

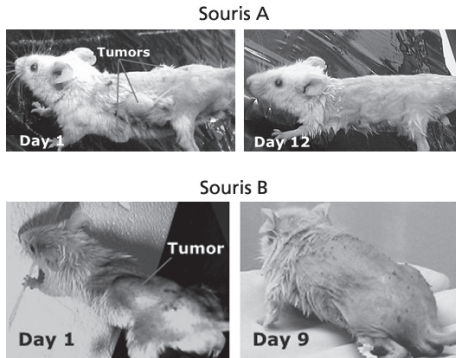


Figure 26. L'hydroxytyrosol glycosylé induit une régression tumorale *in vivo*. Des souris porteuses de tumeurs spontanées ont été administrées à 1 % d'oleuropéine dans l'eau potable. Certaines souris présentent des tumeurs multiples (représentée par la souris A), tandis que d'autres portaient une masse tumorale unique (représentée par la souris B). Après 9 à 12 jours de traitement, les tumeurs avaient complètement régressé (Hamdi et Castellon, et 2005).

3. Effet efficace de l'Hydroxytyrosol/ Oleuropéine sur le traitement et la prévention du cancer du sein

Han *et al.*, 2009 ont étudié l'effet anti-prolifératif et apoptotique *in vitro* de l'oleuropéine et d'hydroxytyrosol (200 µg/ml et 50 µg/ml respectivement pendant 12h de

culture) sur les cellules MCF-7 du cancer du sein, les résultats (fig. 27) ont montré que ces deux produits :

- diminuent la viabilité des cellules en induisant l'apoptose des cellules MCF-7 ;
- inhibent la prolifération des cellules MCF-7 ;

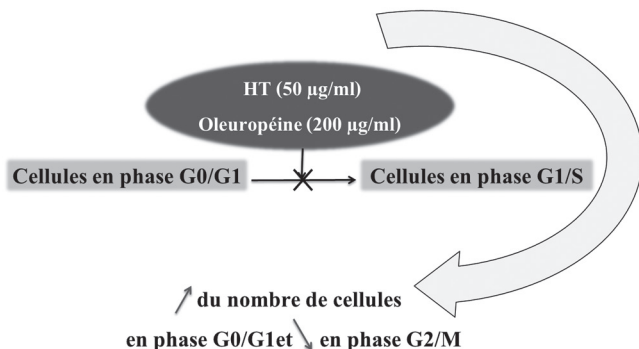


Figure 27. Effet anti-prolifératif de l'hydroxytyrosol sur les cellules MCF-7 du cancer du sein.

De nombreux aliments d'origine végétale contiennent des substances possédant des propriétés anticancéreuses (*Huang et al., 1994; Johnson et al., 1994; Pezzuto, 1997*), la plupart d'entre elles sont actives comme antioxydants (*Aruoma, 1994*). Depuis la découverte de l'implication des ROS dans la genèse des tumeurs, l'étude de l'activité antitumorale des composés phénoliques de l'huile d'olive s'est avérée primordiale.

Les peroxynitrites (ONOO^-) sont des composés très réactifs, capables d'induire la peroxydation des lipides, l'oxydation de la méthionine et la lésion de l'ADN par désamination et nitration (*Yermilov et al., 1995*). Les peroxynitrites sont formés par la réaction entre le monoxyde d'azote (NO) et l'anion superoxyde. La désamination de la guanine et de l'adénine casse la chaîne de l'ADN, ce qui

mène alors à l'apparition de mutations (*de Rojas-Walker et al., 1995*); l'oxydation de l'ADN est également potentiellement mutagène (fig. 28) (*Newcomb & Loeb, 1998*). *In vitro*, la présence d'hydroxytyrosol réduit les effets biochimiques des peroxyxynitrites, tels que la désamination de l'adénine et de la guanine dans certaines lignées cellulaires (*Deiana et al., 1999*).

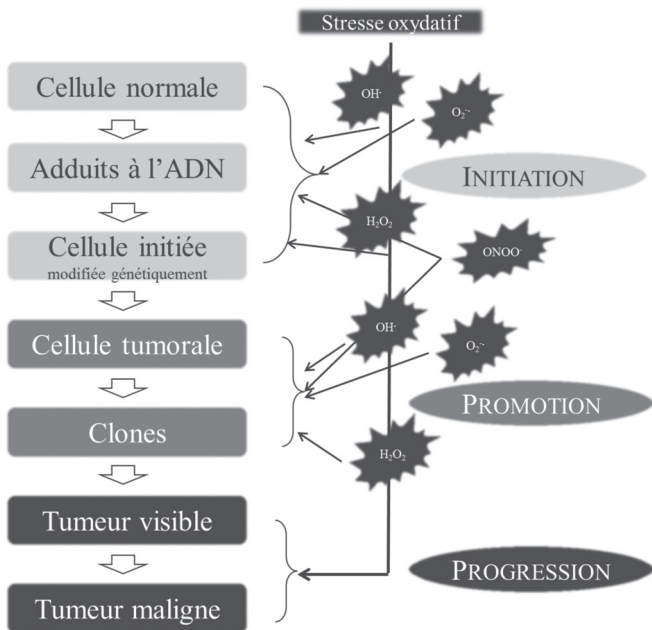


Figure 28. Effet du stress oxydatif sur les trois étapes de la carcinogénèse.

En plus de cette action, les extraits d'huile d'olive vierge montrent une action inhibitrice sur l'activité de la xanthine oxydase, avec une réduction conséquente de la formation du superoxyde (*Owen et al., 2000a*). Un apport adéquat d'huile d'olive a donc une double action : il donne une pro-

tection contre les effets des radicaux oxygénés et réduit l'activité de la xanthine oxydase, une enzyme potentiellement impliquée dans la cancérogenèse (*Tanaka et al., 19*).

Bernini et ses collègues (2011) ont synthétisé un nouvel ester d'hydroxytyrosol et d'acide α -lipoïque avec un rendement satisfaisant par des procédures simples et originales. L'activité antiproliférative de ce produit à base d'hydroxytyrosol a été évaluée sur l'adénocarcinome colorectal humain, lignée cellulaire HT-29. Le composé a montré une activité inhibitrice de la croissance cellulaire significativement plus puissante que les composés parents naturels correspondants, très probablement, due à l'induction de l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M. Ces données suggèrent que le nouvel ester peut exercer une activité antitumorale plus efficace que l'hydroxytyrosol et l'acide α -lipoïque.

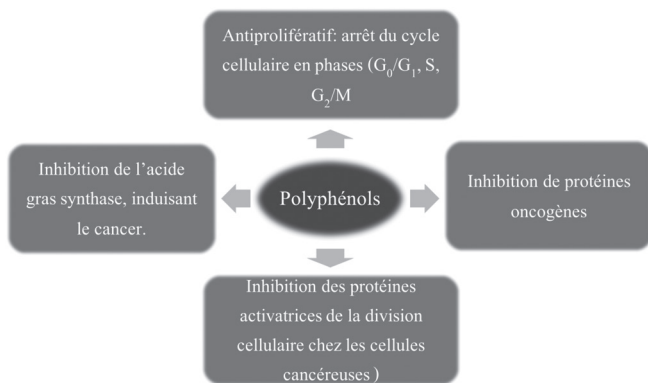


Figure 29. Autres effets anticancéreux des polyphénols.

Chapitre 7

Effet protecteur des polyphénols de l'huile d'olive sur le système cardiovasculaire

L'huile d'olive riche en polyphénols permet la prévention et le traitement des maladies cardio-vasculaires. En effet, les polyphénols de l'huile d'olive favorisent la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire, augmentent la disponibilité du monoxyde d'azote, suppriment l'agrégation plaquettaire, stimulent les antioxydants endogènes des LDL pour retarder l'artériosclérose et réduisent les réactions inflammatoires.

1. Généralités

Les maladies non transmissibles seront responsables de plus de trois quarts de tous les décès en 2030 (Ortega, 2006). Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de morbi-mortalité dans le monde, avec un nombre de décès qui va augmenter de 17,1 millions en 2004 à 23,4 millions en 2030 (Ortega, 2006). La cardiopathie ischémique a été classée comme la première cause mondiale de mortalité en 2004 et, malheureusement, en 2030 dans les pays industrialisés (Ortega, 2006). Ainsi, l'incidence de la mortalité par la cardiopathie ischémique est également en croissance rapide dans les pays moins développés. L'infarctus aigu du myocarde constitue une manifestation catastrophique de la cardiopathie ischémique et l'athérosclérose coronarienne. Des taux élevés, inaccep-

tables, de mortalité à cause de l'infarctus aigu du myocarde existent encore dans de nombreux pays développés.

Cependant, une faible incidence de ces maladies, étonnamment, est observée dans plusieurs pays du sud européen comme la France, l'Espagne, la Grèce, l'Italie et le Portugal, en comparaison aux pays nordiques ou aux États-Unis (fig. 30b). Ce contraste contribue partiellement à expliquer la hausse de l'espérance de vie dans les régions méditerranéennes. L'alimentation méditerranéenne a été désignée comme étant le principal facteur responsable de cet avantage (*Menotti et al., 1997; Perez-Jimenez et al., 1999*). Une des caractéristiques les plus importantes est la présence abondante d'huile d'olive comme principale graisse culinaire dans ces pays (fig. 30a).

Cependant, une variété de facteurs intervient pour la détermination des taux de mortalité causés par les maladies cardiovasculaires, y compris les différents régimes alimentaires régionaux, la qualité des soins de santé et le statut socio-économique. Il est généralement établi que le régime finlandais, basé sur les acides gras des viandes rouges, le beurre et le pain, favorise les maladies cardiovasculaires en comparaison à l'alimentation méditerranéenne. D'autres facteurs, y compris les déterminants génétiques, les gestions différentes de stress, la nature des activités quotidiennes, ainsi que l'environnement peuvent contribuer à ces disparités de santé observées.

Les pays méditerranéens, producteurs et consommateurs d'huile d'olive sont significativement moins touchés par les maladies cardiovasculaires que ceux qui ne consomment pas cette huile, à l'exception du Japon. Les japonais ont une alimentation riche en polyphénols.

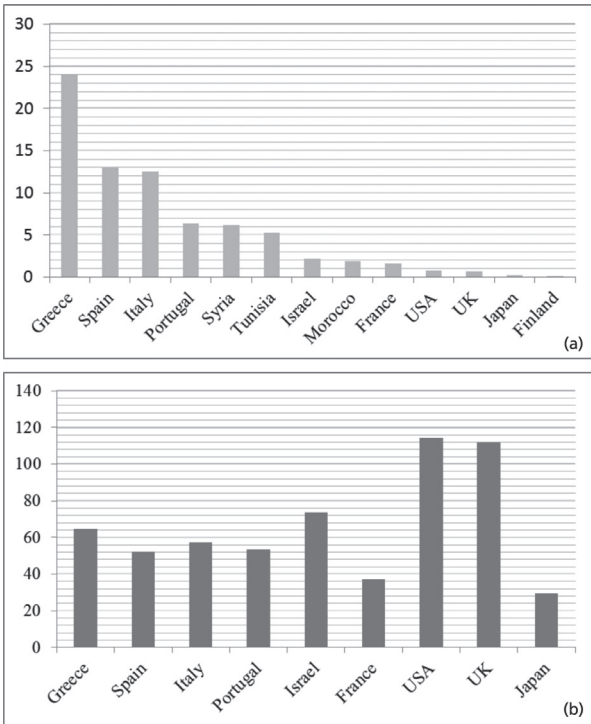


Figure 30. (a) la consommation par habitant d'huile d'olive dans certains pays (Conseil Oléicole International). (b) Le taux de mortalité par maladies cardiovasculaires selon l'Organisation Mondiale de la Santé (maladies cardio-vasculaires Infobase) (Huang et al., 2008).

Les polyphénols s'opposent à la chaîne de réactions initiée et soutenue par les radicaux libres. Cela empêche les dommages sur l'ADN, la formation d'hydroperoxyde et la peroxydation lipidique (Visioli et Galli, 1998; Katiyar et Mukhtar, 1996). En outre, les antioxydants exogènes augmentent la concentration d'antioxydants présents dans le corps et protègent contre les maladies dégénératives (Vi-

sioli et al., 1995). Les flavonoïdes contribuent à épargner les taux de base de α -carotène, urate (sels d'acide urique) et des vitamines C et E (*Sumpio et al., 2006*). Les composés phénoliques favorisent la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire, augmentent la disponibilité du monoxyde d'azote (NO), suppriment l'agrégation plaquettaire, stimulent les composés phénoliques des LDL pour retarder l'artériosclérose et réduisent les réactions inflammatoires (*Perez-Jimenez, 2005*).

2. Composés phénoliques et prévention de l'athérosclérose

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire de la paroi artérielle qui résulte d'une agression initiale de l'endothélium vasculaire par une multitude d'agents dont principalement les lipoprotéines athérogènes (LDL, petites-VLDL) et la fumée de tabac. Selon la classification de l'« American Heart Association » les plaques d'athérome peuvent présenter cinq phases successives d'évolution, identifiées d'un point de vue histopathologique par six types de plaque. Les deux premiers correspondent à l'absorption des LDL oxydées (Ox-LDL) par les macrophages sous-endothéliaux et à la formation de cellules spumeuses (type I), dont l'accumulation constitue les stries lipidiques (type II). La mort des cellules spumeuses (macrophage gonflé de gouttelettes de graisse, LDL) soit par apoptose, soit par nécrose, provoque le dépôt de cholestérol dans l'intima artériel, d'abord de façon diffuse (type III), puis sous forme de collections pour constituer un corps lipidique (type IV). L'inflammation générée par les Ox-LDL, ainsi que par l'activation des macrophages, des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses qui libèrent des cytokines et/ou des facteurs de croissance, permet aux cellules musculaires lisses de la média de migrer vers l'intima, de s'y multiplier et de synthétiser une chape de

protéines fibreuses qui recouvre le corps lipidique. Cette plaque augmente dès lors significativement de volume. Lorsque ce dernier dépasse les capacités de remodelage de la paroi artérielle, la plaque fait saillie de la paroi artérielle vers la lumière du vaisseau où elle réalise une sténose (type V) (Duriez, 2004).

Les radicaux libres sont responsables de l'oxydation des LDL plasmatiques en oxLDL athérogène qui déclenchent une multitude de réponses inflammatoires et de réactions biochimiques aboutissant au dépôt de plaques d'athérome sur les parois artérielles (fig. 31) (Sumpio et al., 2006). Les LDL plasmatiques ne sont athérogènes qu'après modification oxydative (Brown et Goldstein, 1983; Parthasarathy, 1991; Edwin, 2011). Certaines études ont montré que le stress oxydatif provoque l'apparition de l'athérosclérose

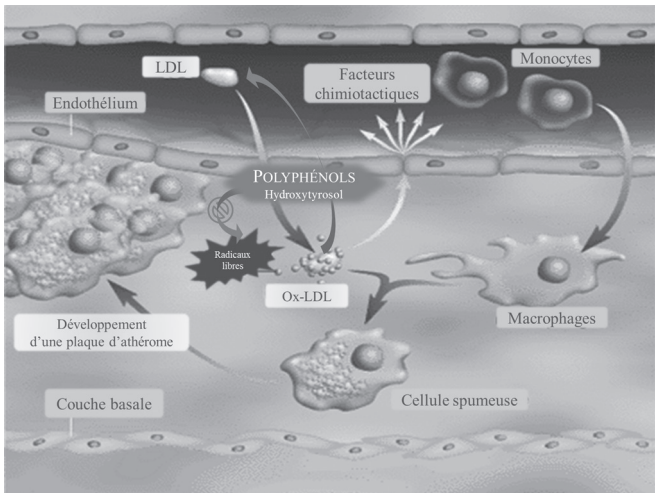


Figure 31. Les composés phénoliques empêchent l'oxydation des LDL qui aboutit à la formation de plaques d'athérome.

en induisant la peroxydation lipidique (*Halliwel, 1997*). De ce point de vue, les antioxydants qui empêchent la peroxydation des lipides peuvent avoir un rôle important dans la prévention de l'oxydation et la modification des LDL.

Les LDL du plasma humain contiennent une variété d'antioxydants capables d'inhiber leur peroxydation, comme l' α -tocophérol, ubiquinol-10, β -carotène, le lycopène et d'autres hydroxy-caroténoïdes. L' α -tocophérol est l'antioxydant le plus abondant dans les LDL (*Princen et al., 1992; Abbey et al., 1993; Reaven et al., 1993; Jialal et al., 1995; Hung et al., 2008*). Toutefois, il a été démontré que d'autres antioxydants, exogènes, sont en mesure de protéger les LDL contre l'oxydation (*Cominacini et al., 1991; Esterbauer et al., 1992*). Sur la base des études épidémiologiques antérieures soulignant la corrélation directe entre l'alimentation méditerranéenne et une incidence plus faible des maladies cardiovasculaires (*Hertog et al., 1993; Ruiz-Canela, 2011*), diverses études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont montré que les composés phénoliques d'huile d'olive extra vierge jouent un rôle important dans la prévention de l'oxydation des LDL aboutissant à l'athérosclérose (*Visioli et al., 1995a; Rice-Evans et al., 1996; Cao et al., 1997; Masella et al., 1999*). Dans un échantillon de LDL, l'oxydation de la vitamine E induite par CuSO_4 a été empêchée par l'addition de l'hydroxytyrosol ou les composés secondaires de l'oleuropéine; cet effet a été corrélé linéairement avec la concentration d'hydroxytyrosol. L'addition de composés phénoliques aux LDL entraîne une réduction significative de la formation de peroxydes lipidiques. Pour les LDL non traités par les composés phénoliques, ces peroxydes de lipide sont formés en même temps que la réduction des taux de la vitamine E. Cet appauvrissement de la vitamine E par les LDL se produit avant la peroxydation lipidique massive. Or, les composés phénoliques retardent le début du proces-

sus d'oxydation et préservent les antioxydants endogènes (*Visioli et al., 1995a, 2000a*).

Certaines études sur l'effet antioxydant des composés phénoliques sur les LDL plasmatiques ont été effectuées, dans le but de simuler le mieux possible la situation *in vivo*. Le plasma a été incubé en présence de divers composés phénoliques extraits d'huile d'olive; les LDL ont été ensuite isolés et soumis à l'action des radicaux libres, afin de tester leur résistance relative à l'oxydation. Les résultats ont indiqué que l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine sont plus efficaces contre la peroxydation des LDL que les mono-hydroxyphénols (tyrosol et ligstroside aglycone), confirmant les résultats antérieurs de Rice-Evans (1996) et Cao (1997) et leurs collaborateurs. Toutefois, la concentration d'antioxydants ajoutée au plasma pour inhiber l'oxydation des LDL a été sensiblement plus élevée que dans les études précédentes, où les antioxydants ont été ajoutés directement aux LDL isolés (*Leenen et al., 2002*). Ces données confirment d'autres études réalisées *in vivo* sur des animaux nourris avec des huiles d'olive riches en polyphénols; chez ces animaux, les lipoprotéines étaient beaucoup plus résistantes à l'oxydation que chez les animaux témoins nourris avec la même quantité d'acide oléique (*Scaccini et al., 1992*), en prenant soin de maintenir des niveaux constants de la vitamine E (*Wiseman et al., 1996*).

Une concentration sanguine élevée en cholestérol est un autre facteur de risque de l'athérosclérose. La régulation du cholestérol plasmatique est liée à l'activité de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase), l'enzyme clé de la biosynthèse du cholestérol. L'utilisation de substances inhibant la HMG-CoA réductase est très efficace dans la réduction de cholestérol dans le sang. Certaines études ont attiré l'attention sur l'effet des composés phénoliques contenus dans l'huile d'olive

vierge sur le métabolisme du cholestérol. Récemment, il a été démontré que l'activité de l'HMG-CoA réductase a significativement diminué dans les microsomes du foie de rats nourris avec les composés phénoliques. L'ingestion de l'huile d'olive représente un effet bénéfique à travers les composés phénoliques qui inhibent la HMG-CoA réductase et jouent un rôle important dans la prévention des maladies cardio-vasculaires. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires afin de tester la concentration de composés phénoliques capables de provoquer une telle réponse thérapeutique (*Benkhalti et al., 2002*).

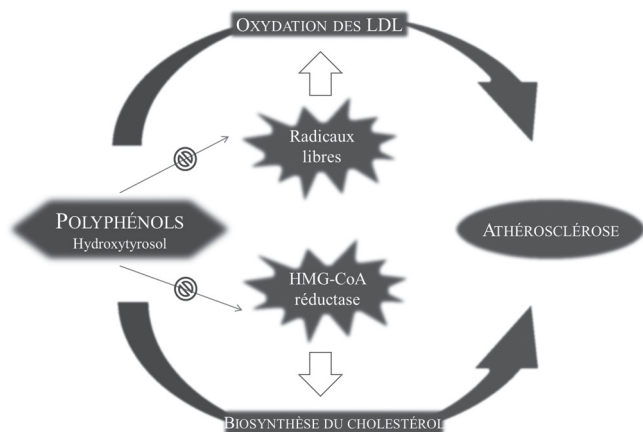


Figure 32. Effet anti-athérosclérose des polyphénols de l'huile d'olive.

3. Effet des polyphénols de l'huile d'olive contre l'agrégation plaquettaire

Une étude *in vitro* a examiné l'effet de l'hydroxytyrosol et de l'oleuropéine sur l'agrégation plaquettaire. L'hydroxytyrosol inhibe complètement l'ADP (2 μ M) et le collagène

(2 µg/ml) induisant l'agrégation plaquettaire dans le plasma riche en plaquettes sanguines (fig. 33) (Petrone *et al.*, 1995). L'effet antiagrégant d'hydroxytyrosol a été jugé équivalent à celui de l'aspirine. Dans la même étude, il s'est également avéré que l'hydroxytyrosol est un inhibiteur de la thrombine induisant la production de la thromboxane B₂ (fig. 33) (impliquée dans l'activation et l'agrégation plaquettaire en cas de blessure). Chez des volontaires, il a également été reporté que l'extrait de feuilles d'olive contenant 5,40 mg/ml de polyphénols, était capable d'inhiber l'activation des plaquettes *in vitro* chez des individus sains, non-fumeurs et de sexe masculin (Singh *et al.*, 2007).

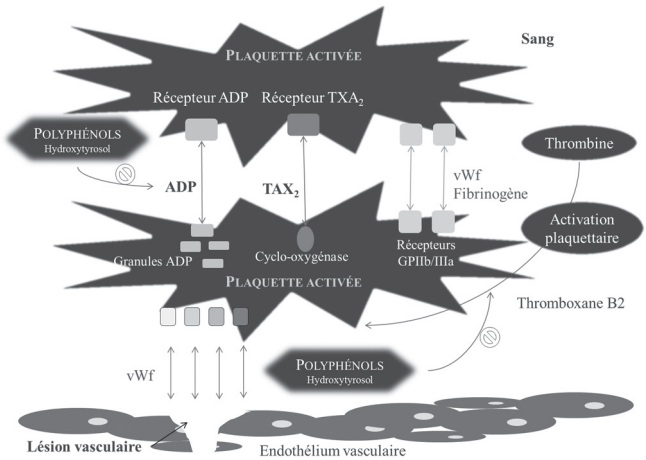


Figure 33. Effet antiagrégant plaquettaire des polyphénols de l'huile d'olive.

Dans le but de prouver que l'AMPC et la GMPc phosphodiesterase pourraient être la cible biologique de l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, Dell'Agli et ses collègues (2007) ont examiné les effets des extraits d'huile de haute et de basse teneur en polyphénol et des composés phénoliques simples sur l'agrégation plaquettaire. Les

extraits de l'huile et les phénols simples ont présenté un effet inhibiteur dépendant de la concentration administrée sur l'agrégation et sur l'AMPc phosphodiesterases.

Dans un essai contrôlé randomisé à Naples, en Italie, 180 sujets souffrant d'un trouble métabolique ont été invités à suivre une alimentation méditerranéenne complétée en l'huile d'olive. Après 2 ans, il y avait une nette amélioration de la fonction endothéliale, avec une diminution statistiquement significative de la pression artérielle, du cholestérol, des taux d'insuline et de glucose et de l'agrégation plaquettaire. Il y a eu des réductions substantielles des marqueurs d'inflammation vasculaire systémique, y compris la protéine C réactive et les interleukines. Plus de 66 % des sujets ont connu des réductions dans les facteurs de risque, de telle sorte qu'ils ne sont plus classés comme souffrant d'un syndrome métabolique (*Esposito et al., 2004*).

On ignore encore dans quelle voie exacte les polyphénols inhibent l'agrégation plaquettaire. Il est supposé qu'ils soient l'inducteur de la diminution de la production d'eicosanoïdes ou de la dégradation de l'AMPc (*Dell'Agli et al., 2007*).

4. Effet anti-inflammatoire des polyphénols de l'huile d'olive

La réponse inflammatoire au cours de l'athérogénèse comprend l'adhésion des leucocytes, des monocytes et des lymphocytes à l'endothélium. L'adhésion de ces cellules est facilitée par les molécules d'adhérence intercellulaire 1 (ICAM-1), les molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) et le facteur E-sélection (*Dell'Agli et al., 2006*). *Carluccio et al (2003)* ont rapporté que des doses physiologiquement pertinentes de composés phénoliques extraits de l'huile d'olive extra vierge réduisent l'expression des ICAM-1 et des VCAM-1 sur la surface des cellules

(fig. 34). Un mélange de polyphénols de l'huile d'olive, y compris l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et le tyrosol a aussi permis une diminution des taux d'ARNm de VCAM-1, du facteur E-sélection et l'activité du promoteur du gène codant pour l'ICAM-1 (*Carluccio et al., 2003*). L'étude PRE-DIMED sur des sujets humains a constaté que l'alimentation méditerranéenne complétée en l'huile d'olive a entraîné une progression statistiquement significative de la réduction des marqueurs de l'inflammation dont la protéine C-réactive (synthétisée par le foie), l'interleukine-6, ICAM-1 et VCAM-1 par rapport à une alimentation faible en graisses (*Estruch et al., 2003*).

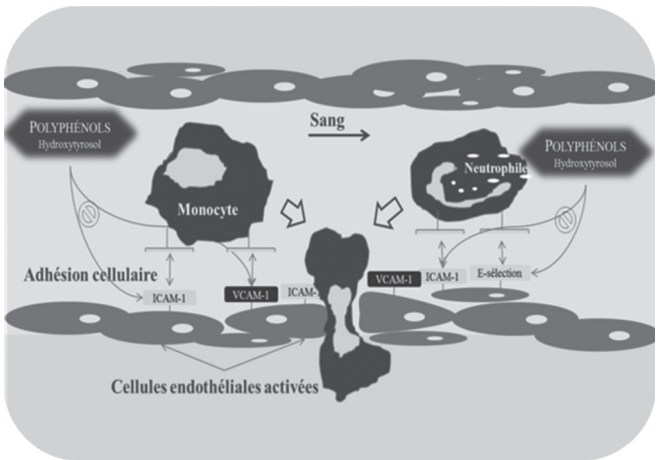


Figure 34. Effet des polyphénols sur les molécules d'adhésion endothéliales.

Enfin, peu de recherches ont examiné l'effet de l'alimentation méditerranéenne sur la paroi vasculaire. L'étude PREDIMED a examiné l'effet de l'huile d'olive sur les changements morphologiques de la paroi vasculaire. Les mesures de l'épaisseur intima-média de la carotide (EIM) ont été utilisées comme marqueurs de substitution

pour évaluer la gravité de la maladie d'athérosclérose. Une augmentation de 0,2 mm dans l'EIM a été impliquée dans 28 % et 31 % d'augmentation du risque d'infarctus du myocarde et d'accident vasculaire cérébral, respectivement (*de Groot et al., 2004*). Les données recueillies sur 190 participants ont montré que ceux qui ont consommé moins d'huile d'olive sont les plus exposés à l'augmentation de l'EIM. Une autre étude a révélé une différence statistiquement significative entre l'épaisseur de l'EIM de ceux qui ont consommé de 6 à 34 g d'huile d'olive par comparaison à ceux qui ont consommé 35 à 74 g d'huile d'olive par jour (*Buil-Cosiales, 2008*).

5. L'hydroxytyrosol de l'huile d'olive augmente le taux du monoxyde d'azote, gaz vasodilatateur

En cas d'hypercholestérolémie, la production d'anions superoxydes et d'autres espèces de radicaux libres a augmenté dans les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, et les monocytes par rapport à celle des contrôles normocholestérolémiques (*Keaney et Vita, 1995*). Ces espèces réagissent avec le monoxyde d'azote (NO) et dégradent l'endothélium vasculaire qui, dès lors, ne peut pas produire suffisamment de NO, ce qui peut conduire à l'agrégation plaquettaire aboutissant à la thrombose. La diminution de la bioactivité du NO peut provoquer une constriction des artères coronaires au cours de l'exercice physique et l'inflammation vasculaire conduisant à la formation de cellules spumeuses (*Cannon, 1998*).

D'autre part, des études ont montré que les oxLDL stimulent la transcription de la NO synthétase et la synthèse de NO dans les cellules aortiques bovines (*Hirata et al., 1995*). Des études ont également montré une expression

accrue de la NO synthétase dans les tissus aortiques du lapin atteint d'athérosclérose et dans les plaques d'athérome chez l'Homme. Cette surproduction accompagne l'inactivation oxydative ou la conversion rapide de NO en ONOO^- toxique en raison de l'accumulation des anions superoxyde et d'autres radicaux libres (*Cannon, 1998*).

Des études suggèrent que la dysfonction vasculaire peut être limitée grâce à l'apport des agents capables de piéger ces radicaux libres (*Perona et al., 2006*). La consommation d'un repas riche en composés phénoliques de l'huile d'olive a amélioré la vasodilatation microvasculaire endothélium-dépendante durant les 4 premières heures postprandiales parmi des volontaires hypercholestérolémiques. Des sujets alimentés par un repas riche en polyphénols ont montré une plus forte concentration de NO et des taux inférieurs de lipoperoxyde (lipides peroxydés) par rapport à ceux nourris avec un repas pauvre en polyphénols. Cette amélioration est liée à une diminution du stress oxydatif et une augmentation des produits finaux du NO (*Ruano et al., 2005*). En outre, l'oleuropéine stimule la production du NO dans les macrophages de la souris et active la forme inductible de la NO synthétase (*Visioli et al., 1998*).

Une enquête menée sur 20.343 sujets, dans le cadre de la cohorte grecque de l'EPIC (Prospective Européen de l'Etude sur le Cancer et la Nutrition) a constaté que l'adhésion au régime alimentaire méditerranéen est inversement proportionnelle à l'incidence des pressions artérielles systolique et diastolique. L'huile d'olive, les légumes et les fruits ont été les principaux facteurs responsables de l'effet global de l'alimentation méditerranéenne sur la pression artérielle. Or, les céréales, généralement considérées comme bénéfiques pour la santé humaine, ont été corrélées à une augmentation de la pression artérielle (*Psaltopoulou et al., 2004*).

Chapitre 8

La protection des polyphénols contre les lésions des protéines

Plusieurs études ont montré que les ondes longues ultraviolettes (UVA) du rayonnement induisent des lésions graves de la peau à travers la génération des ROS et l'épuisement des systèmes antioxydants endogènes. D'Angelo et ses collaborateurs (2001) ont remarqué une augmentation spectaculairement anormale des produits de peroxydation des lipides et du résidu L-isoaspartyl (marqueur de l'oxydation des protéines) pour des cellules de mélanome humain irradiées par les UVA.

Dans cette étude, l'effet de l'hydroxytyrosol sur les dommages cellulaires induits par les UVA a été étudié en utilisant une lignée cellulaire de mélanome humain (cellules M14) en tant que système modèle. Pour les cellules M14 irradiées par les UVA, l'hydroxytyrosol exerce un effet protecteur traduit par l'inhibition de l'ascension des marqueurs typiques de stress oxydatif, comme les TBARS (marqueurs d'oxydation des lipides). En outre, l'hydroxytyrosol empêche l'augmentation des résidus de L-isoaspartate modifiés et formés après l'irradiation des protéines par les UVA.

Ces résultats s'accordent avec l'hypothèse que le stress oxydatif joue un rôle majeur dans la médiation des dommages protéiques induits par les UVA. Les résultats suggèrent que l'hydroxytyrosol exerce des effets différents sur les cellules de mélanome en fonction de la dose utilisée. Cela doit toujours être pris en compte lors de la consommation de l'huile d'olive et de ses produits dérivés, y compris les produits cosmétiques et les aliments fonctionnels.

Chapitre 9

Effet antimicrobien des polyphénols de l'huile d'olive

Plusieurs études ont montré la capacité de l'hydroxytyrosol à retarder ou à empêcher la croissance d'une gamme de bactéries et des champignons y compris les bactéries pathogènes pour l'homme (agents pathogènes humains). Il a été rapporté que l'eau de végétation résultant de l'extraction de l'huile d'olive est toxique pour les bactéries phytopathogènes *Pseudomonas syringae* (Gram-négatif) et *Corynebacterium michiganense* (Gram-positif). Capasso et ses collègues (1995) ont signalé que parmi les principaux polyphénols de l'eau de végétation, le méthylcatéchol a montré une forte activité bactéricide contre *P. syringae*, en revanche, légèrement actif contre *C. michiganense*. D'autres polyphénols, tels que le catéchol et l'hydroxytyrosol, ont été moins actifs sur les souches de *P. syringae*, et inactifs sur *C. michiganense*.

Bisignano *et al.*, (1999) ont étudié la sensibilité *in vitro* de plusieurs agents pathogènes des voies respiratoires ou intestinales de l'homme à l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine. Les agents pathogènes étudiés étaient, cinq souches bactériennes standards (*Haemophilus influenzae* ATCC 9006; *Moraxella catarrhalis* ATCC 8176; *Salmonella typhi* ATCC 6539; *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et 44 isolats frais (isolés à partir de sujets hospitalisés) (*Haemophilus influenzae*, huit souches; *Moraxella catarrhalis*, six souches; *Salmonella typhi* espèces, 15 souches; *Vibrio cholerae*, une souche; *Vibrio alginolyticus*, deux souches; *Vibrio parahaemolyticus*, une souche; *Staphylococcus aureus*; cinq sensibles

à la pénicilline et six souches résistantes à la pénicilline). La concentration minimale inhibitrice (CMI) signalé dans cette étude a prouvé une large activité antimicrobienne d'hydroxytyrosol contre ces souches bactériennes (CMI entre 0,24 et 7,85 mg/ml pour les souches standards et entre 0,97 et 31,25 mg/ml pour les souches isolées cliniquement). Ces résultats suggèrent que l'hydroxytyrosol peut être utile dans le traitement antimicrobien des infections des tractus intestinal et respiratoire chez l'homme.

Chapitre 10

Prévention des polyphénols de l'huile d'olive contre le diabète

Les polyphénols d'olives sont efficaces contre l'hyperglycémie et peuvent jouer un rôle dans la prévention des complications diabétiques associées au stress oxydatif.

Le diabète de type 1 est une maladie métabolique provoquée par une insuffisance complète ou relative de la sécrétion d'insuline (Henquin et al., 1992). Elle est une des principales causes de nombreuses complications liées à de nombreuses maladies. L'augmentation chronique de la glycémie finira par causer des lésions tissulaires, qui peuvent être observées dans de nombreux organes et systèmes (Henquin et al., 1992; Hamden et al., 2008). L'hyperglycémie entraîne des complications à long terme qui sont classées parmi les principales causes de morbi-mortalité dans le monde (Palsamy et al., 2009). L'augmentation de la production de radicaux libres ainsi que le stress oxydatif semblent jouer un rôle important dans la pathogenèse du diabète et ses complications tardives (Palsamy et al., 2009).

Hamden et ses collaborateurs (2009) ont étudié l'effet des polyphénols d'olive (à une dose de 20 mg/kg/j) et d'autres composés phénoliques sur le stress oxydatif et l'hyperglycémie chez les rats diabétiques (traités par l'alloxane). Après deux mois de traitement, Le taux de glucose dans le plasma des rats traités par l'hydroxytyrosol a diminué de 55 % par rapport aux rats diabétiques non traités.

Cette étude démontre pour la première fois que les polyphénols de l'olive, riche en hydroxytyrosol, sont efficaces pour l'inhibition du stress oxydatif et de l'hyperglycémie. Ainsi, cette étude suggère que l'administration des polyphénols de l'huile d'olive peut être utile dans la prévention des complications diabétiques associées au stress oxydatif.

Prévention des polyphénols contre la maladie d'Alzheimer

Les études épidémiologiques indiquent que la consommation d'huile d'olive peut retarder le déclin cognitif (Solfrizzi et al., 1999, 2003, 2005, 2006; Panza et al., 2004).

Les protéines Tau (isoformes Tau) font partie de la famille des protéines associées aux microtubules qui sont principalement exprimées par les neurones du système nerveux central. Ils favorisent l'assemblage de la tubuline en microtubules monomères et permettent de moduler leur stabilité, jouant ainsi un rôle structurel clé dans la partie distale des axones. Pour la maladie d'Alzheimer et d'autres maladies neurodégénératives, quand la protéine Tau est hyperphosphorylée, elle se détache des microtubules. Elle va se conformer en paire de filaments hélicoïdaux pathologiques, qui s'agrègent en amas de neurofibrilles causant une neurodégénérescence fibrillaire progressive. Les substances nécessaires au fonctionnement du neurone ne pouvant plus être acheminées jusqu'au corps cellulaire, le neurone finit par mourir. Daccache et ses collègues (2011) ont étudié la capacité des trois composés phénoliques naturels obtenus à partir de l'huile d'olive ; à savoir l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine, et l'oleuropéine aglycone à prévenir l'agrégation des protéines Tau en écheveaux fibrillaires *in vitro*.

Les principaux constituants phénoliques des fruits, l'olive ou l'huile d'olive, oleuropéine, aglycone oleuropéine et l'hydroxytyrosol, inhibent l'agrégation des protéines Tau au même niveau que le bleu de méthylène (principe

actif de référence). Hydroxytyrosol, l'un des principaux métabolites de l'oleuropéine, atteint le cerveau après consommation d'huile d'olive. Les résultats montrent que ce métabolite agit en tant que polyphénol qui inhibe l'agrégation de protéines Tau d'une manière similaire à d'autres composés phénoliques (fig. 35). La présence de fragments aldéhyde dans les formes tautomères de l'oleuropéine aglycone augmente la capacité d'inhibition de ce dernier, par un mécanisme qui peut différer de celle des oléocanthal, un autre composé dialdéhydrique isolé de l'huile d'olive.

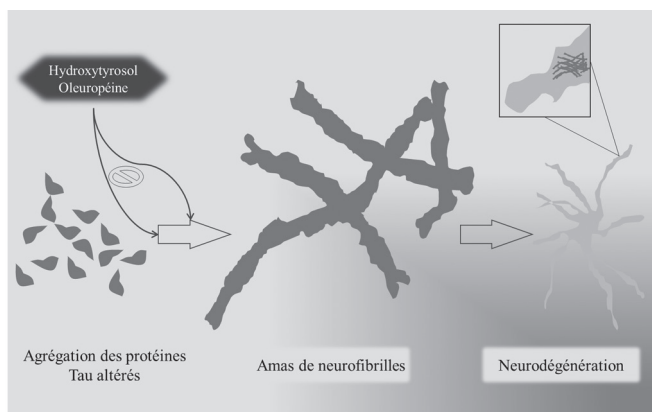


Figure 35. Effet des polyphénols de l'huile d'olive sur la maladie d'Alzheimer.

À la lumière de ces résultats, la capacité de l'oleuropéine aglycone, de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol à inhiber l'agrégation Tau est montrée. Ces composés peuvent ainsi être reliés à la réduction du risque de la maladie d'Alzheimer ou les démences neurodégénératives associées à l'alimentation méditerranéenne et la consommation d'huile d'olive et fournir une base chimique pour le développement des inhibiteurs de l'agrégation de protéines Tau.

Références bibliographiques et ouvrages scientifiques

Abbey M, Nestel PJ & Baghurst PA (1993). Antioxidant vitamins and low density lipoprotein oxidation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 58, 52.

Aeschbach R, Loliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B, Aurome OI (1994). Antioxidant actions of tymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*. 32 : 31–36.

Amanda L, Clark, Kathryn Mansfield Matera (2010). Effect of unsaturation in fatty acids on the binding and oxidation by myeloperoxidase : Ramifications for the initiation of atherosclerosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 20 : 5643–5648.

Andrikopoulos N, Hassapidou M, Manoukas A (1989). The Tocopherol Content of Greek Olive Oils. *J. Sci. Food Agric*. 46 : 503–509.

Anon (1983). Presencia Historica del Aceite de Oliva, in (Cabrera,F.B,ed), Las Raices del Aceite de Oliva, Ministerio de Agricultura, Servicio de Publicaciones Agrarias, Madrid.

Aparicio R., Luna G (2002). Characterization of Monovarietal Virgin Olive Oils. *Eur. J. Lipid Sci. Tech-* nol. 104 : 614–627.

Aruoma OI (1994). Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*. 32 : 671–683.

Aruoma OI, Deiana M, Jenner A, Halliwell B, Harparkash K, Banni S, Corongiu FF, Dessi MA, Aeschbach R (1998). Effect of hydroxytyrosol found in extravirgin olive oil on DNA damage and on low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 5181–5187.

Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, Zarrouk M, Daoud Ben Miled D (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietalvirgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*. 109: 743–754.

Bai C, Yan X, Takenakay M, Sekiya S, Nagata T. (1998). Determination of synthetic hydroxytyrosol in rat plasma by GC– MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 3998–4001.

Beauchamp G, Keast R, Morel D (2005). Ibuprofen-like Activity in Extra Virgin Olive Oil. *Nature*. 437 : 45-46.

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2004). Food Chemistry (3rd edition). Berlin : Springer Verlag.

Belkner J, Wiesner R, Rathman J, (1993). Oxygenation of Lipoproteins by Mammalian Lipoxygenases. *Eur J Biochem*. 213 : 251-261.

Beltran G, Aguilera A, del Rio C, (2005). Influence of Fruit Ripening Process on the Natural Antioxidant Content of Hojiblanca Virgin Olive Oils. *Food Chem*. 89 : 207-215.

Ben Sassi A, Boularbah A, Jaouad A, Walker G, Boussaid A (2006). A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochemistry*. 41 (1): 74-78.

Bendini A, Cerretani L, Carrasco-Pancorbo A, Maria Gómez-Caravaca A, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A and G Lercker (2007). Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade. *Molecules*. 12: 1679-1719.

Benkhalti F, Prost J, Paz E, Perez-Jimenez F, El Modafar C, El Boustani E (2002). Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. *Nutrition Research*. 22 : 1067-1075.

Bianco A, Chiacchio M, Grassi D (2006). Phenolic Components of Olea europaea: Isolation of New Tyrosol and Hydroxytyrosol Derivatives. *Food Chem*. 95 : 562-565.

Bianco A, Coccioli F, Guiso M (2001). Presence in Olive Oil of a New Class of Phenolic Compounds: Hydroxyl-isochromans. *Food Chem*. 77 : 405-411.

Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 51 : 971-974.

Blazquez-Martinez JM (1996). History of Olive Tree, The World Olive Encyclopaedia, IOOC. Madrid, pp19-54.

Blekas G, Psomiadou E, Tsimidou M (2002). On the Importance of Total Polar Phenols to Monitor the Stability of Greek Virgin Olive Oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 104 : 340-346.

Bonanome A, Pagnan A, Biffanti S (1992). Effect of Dietary Mono-unsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids on the Susceptibility of Plasma Low Density Lipoproteins to Oxidative Modification. *Arterioscler Thromb*. 12 : 529-533.

Bonanome A, Pagnan A, Caruso D, Toia A, Xamin A, Fedeli E, Berra B, Zamburlini A, Ursini F, Galli G, (2000). Evidence of postprandial absorption of olive oil phenols in humans. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 10: 111–120.

Boskou D (1996). Olive oil: Chemistry and Technology. *AOCS Press, Champaign*. IL: 52– 83.

Boskou D, In. Gunstone F (ed) (2002). Vegetable Oils in Food Technology. *Oxford: CRC Press*. 244–277.

Brenes M., Hidalgo F, Garcia A, (2000). Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, Two New Phenolic Compounds Identified in Olive Oil. *JAOCs*. 77:715–720.

Brown MS, Goldstein JL (1983). Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annual Review of Biochemistry*. 52: 223.

Buil-Cosiales P, Irimia P, Berrade N, (2008). Carotid intima-media thickness is inversely associated with olive oil consumption. *Atherosclerosis*. 196:742–748.

Cannon R (1998). Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. *Clin Chem*. 44:1809–1819.

Cantarelli C (1961). Sui polifenoli presenti nella drupa e nell'olio di oliva. *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 38: 69–72.

Cao G, Sofic E, Prior RL (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 22: 749–760.

Cao G, Sofic E, Prior RL (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 22: 749–760.

Capasso R, Evidente A, Schivo L, Orru G, Marcialis MA, Cristinzio G (1995). Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *Journal of Applied Bacteriology*. 79: 393–398.

Carluccio M, Siculella L, Ancora M, (2003). Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23:622–629.

Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Bendini A, Segura-Carretero A, Gallina-Toschi T, Fernandez-Gutierrez A (2005). Analytical determination of polyphenols in olive oils. *J. Sep. Sci*. 28: 837 – 858.

Caruso D, Visioli F, Patelli R., Galli C, Galli G (2001). Urinary excretion of olive oil phenols and their metabolites in humans. *Metabolism*. 50: 1426–1428.

Cohen J (2002). Therapies. Confronting the limits of success. *Science*; 296:2320–2324.

Cominacini L, Garbin U, Cenci B, Davoli A (1991). Predisposition to LDL oxidation during copper-catalyzed oxidative modification and its relation to α -tocopherol content in humans. *Clinica Chimica Acta*. 204: 57–68.

Covas MI, Konstantinidou V, Fito M (2009). Olive oil and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol*. 54: 477–82.

D'Angelo S, Manna C, Migliardi V, Mazzoni O, Morrica P, Capasso G, Pontoni G, Galletti P, Zappia V (2001). Pharmacokinetics and metabolism of hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil. *Drug Metabolism and Disposition*. 29: 1492–1498.

Daccache A, Lion C, Sibille N, Gerard M, Slomianny C, Lippens G, Cotelle P (2011). Oleuropein and derivatives from olives as Tau aggregation inhibitors. *Neurochemistry International*.

de Groot E, Hovingh G, Wiegman A, (2004). Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 109: III33–III38.

De Leonardis A, Macciola V, De Felice M (1998). Rapid Determination of Squalene in Virgin Olive Oils Using Gas-liquid Chromatography. *It. J. Food Sci*. 1: 75-80.

de Rojas-Walker T, Tamir S, Ji H, Wishnock J, Tennanbaum SR (1995). Nitric oxide induces oxidative damage in addition to deamination in macrophages DNA. *Chemical Research in Toxicology*. 8: 473–477.

Deiana M, Aruoma OI, Bianchi MDLP, Spencer JPE, Kaur H, Halliwell B, Aeschbach R, Banni S, Dessi MA, Corongiu FP (1999). Inhibition of peroxynitrite dependent DNA base modification and tyrosine nitration by the extra virgin olive oil-derived antioxidant hydroxytyrosol. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 762–769.

Dell'Agli M, Fagnani R, Mitro N (2006). Minor components of olive oil modulate proatherogenic adhesion molecules involved in endothelial activation. *J Agric Food Chem*. 54: 3259–3264.

Dell'Agli M, Maschi O, Galli G (2007). Inhibition of platelet aggregation by olive oil phenols via cAMP phosphodiesterase. *Br J Nutr*. 11:1–7.

Di Giovacchino L (1989). Olive Processing Systems. Separation of the Oil from the Must. *Olivae*. 26: 21-29.

Di Giovacchino L (1996). Influence of Extraction Systems on Olive Oil Quality, in (Boskou D., ed), *Olive Oil, Chemistry and Technology*. AOCS Press, Champaign, Illinois. 12-51.

Di Giovacchino L, Sestili S, Di Vincenzo D (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104: 587-601.

Dougherty RM, Galli C, Ferro-Luzzi A (1987). Lipid and Phospholipid Fatty Acid Composition of Plasma, Red Blood Cells, and Platelets and How They are Affected by Dietary Lipids: a Study of Normal Subjects From Italy, Finland, and the USA. *Am J Clin Nutr.* 45: 443-455.

DT Angelo S, Ingrosso D, Perfetto B, Baroni A, Zappia M, Lo bianco Lubrano L, Tufano MA, Galletti P (2001). UVA irradiation induces l-isoaspartyl formation in melanoma cell proteins. *Free Radic. Biol. Med.* 31:1-9.

Duriez P (2004). Mécanismes de formation de la plaque d'athérome. *La revue de médecine interne* 25: S3-S6.

Edwin N. Frankel (2011). Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*

Esposito K, Marfella R, Ciotola M, (2004). Effect of a Mediterranean style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA.* 292:1440-1446.

Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine.* 13: 341.

Estruch R, Mar tinez-Gonzalez M, Corella D (2006). Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors. *Ann Int Med.* 145:1-11.

Evagelia T, Harris N. Lazarides and Konstantinos B (2004). Olive Mill Wastewater Treatment. Petrotos Aristotle University of Thessaloniki, Department of Food Science and Technology, 54006, Thessaloniki, Greece.

Finotti E, Di Majo D (2003). Influence of solvents on the antioxidant property of flavonoids. *Nahrung/Food.* 47: 186-187.

Gandul-Rojas B, Mínguez-Mosquera M (1996). Chlorophyll and Carotenoid Composition in Virgin Olive Oils From Various Spanish Olive Varieties, *J. Sci. Food Agric.* 72: 31-39.

Gardner CD, Kraemer HC (1995). Monounsaturated Versus Polyunsaturated Dietary Fat and Serum Lipids. A Meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 15: 1917-1927.

Grams G, Eskins K (1972). Dye-sensitized Photooxidation of Tocopherols: Correlation Between Singlet Oxygen Reactivity and Vitamin E Activity. *Biochemistry.* 11: 606-608.

Granados-Principal SP, Quiles LJ, Ramirez-Tortosa CL, Sanchez-Rovira P, and Ramirez-Tortosa MC (2010). Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. *Nutrition Reviews.* 68(4):191–206.

Gunstone F, Harwood J, Padley F (eds) (1994). The Lipid Handbook (2nd Edition). London: Chapman and Hall.

Gunstone FD (2004). The Chemistry of Oils and Fats Sources, Composition, Properties and Uses. Oxford, UK: Blackwell Publishing.

Gutfinger T (1981). Polyphenols in Olive Oils. *JAOCS.* 58: 966-968.

Gutteridge JM, Halliwell B (1992). Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine, second edition, by Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. *Free Radic Biol Med.* 12: 93-95.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1999). "Free Radicals in Biology and Medicine." Oxford University Press, Oxford.

Halliwell B (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition Reviews.* 55, 44–52.

Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology.* 33: 601–617.

Halliwell B, Gutteridge MC (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology.* 186: 1–85.

Hamden K, Carreau S, Lajmi S, Aloulou D, kchaou D, Elfeki A (2008). Protective effect of 1,7-estradiol on hyperglycemia, stress oxidant, liver dysfunction and histological changes induced by alloxan in male rat pancreas and liver. *Steroids.* 94: 495–501.

Hamdi K. Hamdi, Castellon R (2005). Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 334: 769 778.

Hammer SM (2005). Clinical practice. Management of newly diagnosed HIV infection. *N Engl J Med;* 353: 1702–1710.

Han J, Talorete TP, Yamada P, Isoda H (2009). Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. *Cytotechnology*. 59:45–53.

Hao J, Shen W, Yu G, Jia H, Li X, Feng Z, Wang Y, Weber P, Wertz K, Sharman E, Liu J (2010). Hydroxytyrosol promotes mitochondrial biogenesis and mitochondrial function in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 21: 634–644.

Harborne JB, Dey PM.. Methods in Plant Biochemistry. Harborne JB (Ed.) (1989). AcademicPress, London (UK).

Hegsted DM., Ausman LM, Johnson JA (1993). Dietary Fat and Serum Lipids: an Evaluation of the Experimental Data. *Am J Clin Nutr*. 57: 875-883.

Henquin C, Debuyser A, Drews G (1992). Plant, Regulation of K⁺ permeability and membrane potential in insulin-secretory cells, in: P.R. Flatt (Ed.), Nutrient Regulation of Insulin Secretion, Portland, London. pp. 173–192.

Hertog MLG, Feskens EJM, Katan MB, Kromhout D (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*. 342: 1007.

Hrncirik K, Fritsche S (2004). Comparability and Reliability of Different Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 106: 540-549.

Huang CL, Sumpio BE (2008). Olive oil, the Mediterranean diet, and cardiovascular health. *J Am Coll Surg*. 207:407–16.

Huang MT, Osawa T, Ho CT, Rosen RT (1994). Food phytochemicals for cancer prevention. In Fruits and Vegetables. ACS Symposium Series no. 46. Washington, DC: American Chemical Society.

Jialal I, Fuller CJ, Huet BA (1995). The effect of α -tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose-response study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 15: 190–198.

Johnson IT, Williamson G, Musk SRR (1994). Anticarcinogenic factors in plant foods. A new class of nutrients. *Nutrition Research Reviews*. 7: 1–30.

Katan MB (1995). Fish and Heart Disease. *N Engl J Med*. 332: 1024-1025.

Katiyar S, Mukhtar H (1996). Tea in the chemoprevention of cancer: epidemiologic and experimental studies. *In t J Oncol*. 8: 221–238.

Keceli T, Gordon MH (2001). The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81 : 1391–1396.

Lanzón A, Albi T, Cert A (1994). The Hydrocarbon Fraction of Virgin Olive Oil and Changes Resulting From Refining. *JAOCS*. 71 : 285–291.

Lavee S (1996). Olive Tree Biology and Physiology, World Olive Encyclopedia, IOOC, Madrid, pp 5910.

Lee-Huang S, Lin Huang P, Zhang D, Wook Lee J, Bao J, Sun Y, Chang YT, Zhang J, Lee-Huang P (2007). Discovery of Small-Molecule HIV-1 Fusion and Integrase Inhibitors Oleuropein and Hydroxytyrosol: I. Fusion Inhibition. *Biochem Biophys Res Commun*. 23 ; 354(4) : 872–878.

Lee-Huang S, Zhang L, Huang PL, Chang YT (2003). Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys Res Commun*; 307 :1029–1037.

Leenen R, Roodenburg AJ, Visser MN, Schuurbijs JA, van Putte KP, Wiseman SA, van de Put FH (2002). Supplementation of plasma with olive oil phenols and extracts: influence on LDL oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 : 1290–1297.

Loukas M, Krimbas CB (1983). History of Olive Cultivars Based on the Generic Distances, *J.Hort. Science*. 58 : 121–127.

Manna C, Galletti P, Cucciolla V, Moliterno O, Leone A, Zappia V (1997). The protective effect of the olive oil polyphenol (3,4-dihydroxyphenyl) ethanol counteracts reactive oxygen metabolite-induced cytotoxicity in Caco-2 cells. *Journal of Nutrition*. 127 : 286–292.

Manna C, Galletti P, Cucciolla V, Montedoro GF, Zappia V (1999). Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 10 : 159–165.

Manna C, Galletti P, Maisto G, Cucciolla V, Dangelo S, Zappia V (2000). Transport mechanism and metabolism of olive oil hydroxytyrosol in Caco-2 cells. *FEBS Letters*. 470 : 341–344.

Manzi P, Panfili G, Esti M, (1998). Natural Antioxidants in the Unsaponifiable Fraction of Virgin Olive Oils From Different Cultivars. *J. Sci. Food Agric*. 77 : 115–120.

Martin S, Andriantsitohaina R (2002). Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51 : 304–315.

Masella R, Cantafora A, Modesti D, Cardilli A, Gennaro L, Bocca A, Coni E (1999). Antioxidant activity of 3, 4-DHPEA-EA and protocatechuic acid: a comparative assessment with other olive oil bio-phenols. *Redox Report*. 4: 113–121.

Mateos R, Espartero J, Trujillo M (2001). Determination of Phenols, Flavones and Lignans in Virgin Olive Oil by Solid Phase Extraction and HPLC With Diode Array Ultraviolet Detection. *J Agric. Food Chem.* 49: 2185-2192.

Menotti A, Blackburn H, Kromhout D, Nissinen A, Fidanza F, Giampaoli S, Buzina R, Mohacek I, Nedeljkovicff S, Aravanis C, et Toshima H (1997). Changes in population cholesterol levels and coronary heart disease deaths in seven countries. *Eur Heart J.* 18: 566–571.

Mensink RP, Zock PL, Kester AD (2003). Effects of Dietary Fatty Acids and Carbohydrates on the Ratio of Serum Total to HDL Cholesterol and on Serum Lipids and Apolipoproteins: a Meta-analysis of 60 Controlled Trials. *Am J Clin Nutr.* 77: 1146-1155.

Mínguez-Mosquera M, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B (1991). Color-pigment Correlation in Virgin Olive Oil. *JAOCS.* 68: 332-336.

Mínguez-Mosquera M., Gandul-Rojas B, Garrido-Fernández (1990). J Pigments Present in Virgin Olive Oil. *JAOCS.* 67: 192-196.

Mario-Casas E, Covas MI, Farre M, Fito M, Ortuno J, Weinbrenner T, Roset P, de la Torre R, (2003a). Hydroxytyrosol disposition in humans. *Clinical Chemistry.* 49: 945–952.

Mario-Casas E, Covas MI, Fito M, Farre-Albadalejo M, Marrugat J, de la Torre R (2003b). Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *European Journal of Clinical Nutrition.* 57: 186–190.

Mario-Casas E, Farre Albaladejo M, Covas MI, Rodriguez JO, Menoyo Colomer E, Lamuela Raventos RM, de la Torre R (2001). Capillary gas chromatography-mass spectrometry quantitative determination of hydroxytyrosol and tyrosol in human urine after olive oil intake. *Analytical Biochemistry.* 294: 63–72.

Montedoro GF, Cantarelli C (1969). Indagine sulle sostanze fenoliche presenti nell'olio di oliva. *Riv. Ital. Sost. Grasse.* 46: 115–124.

Montedoro GF, Garofolo L, Bertuccioli M (1986). Factors Shaping the Quality Characteristics of an Olive Oil. *Industrie Alimentari.* 25: 549-555.

Morales M, Tsimidou M, In Harwood J, Aparicio R (eds) (2002). Handbook of Olive Oil. Gaithersburg : Aspen Publishers. pp: 393-438.

Mukherjee S, Lekli I, Gurusamy N, Bertelli AAA, Das DK (2009). Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. *Free Radical Biology & Medicine*. 46 : 573-578.

Nenadis N, Tsimidou M (2002). Determination of Squalene in Olive Oil Using Fractional Crystallization for Sample Preparation. *JAOCS*. 79: 257-259.

Newcomb TG & Loeb LA (1998). Mechanism of mutagenicity of oxidatively-modified bases. In *Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases*, pp. 137-166 [OI Aruoma and B Halliwell, editors]. Saint Lucia : OICA International.

Ninni V (1999). A Statistical Approach to the Biosynthetic Route of the Fatty Acids in Olive Oil: Crosssectional and Time Series Analyses. *J.Sci.Food Agric*. 79: 2113-2121.

Ortega RM (2006). Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Publ Health Nutr*. 9: 1136-1140.

Owen R, Mier W, Giacosa A (2000). Identification of Lignans as Major Components in the Phenolic Fraction of Olive Oil. *Clinic. Chem*. 46: 976-988.

Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H (2000a). The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*. 36: 1235-1247.

Owen RW, Mier W, Giacosa A (2000). Identification of Lignans as Major Components in the Phenolic Fraction of Olive Oil. *Clin Chem*. 46: 976-988.

Palsamy P, Subramanian S (2009). Modulatory effects of resveratrol on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocinnicotinamide induced diabetic. *Chem. Biol. Interact*. 179: 356-362.

Panza F, Solfrizzi V, Colacicco AM, D'introno A, Capurso C, Torres F, Del Parigi A, Capurso, S, Capurso A (2004). Mediterranean diet and cognitive decline. *Public Health Nutr*. 7 : 959-963.

Papadopoulos G & Boskou D (1991). Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 68: 669-671.

Parthasarathy S (1991). Novel atherogenic oxidation modification of low density lipoprotein. *Diabetes/Metabolism Reviews*. 7: 163.

Perez-Jimenez F (2005). International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest*. 35: 421–424.

Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J (1999). Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis*. 145: 351–358.

Pérez-Jiménez F, Delgado Lista J, Pérez-Martínez P, López-Segura F, Fuentes F, Cortés B, Lozano A, López-Miranda J (2006). Olive oil and haemostasis: a review on its healthy effects. *Public Health Nutrition*. 9(8A): 1083–1088.

Perrin J (1992). Minor Components and Natural Antioxidants of Olives and Olive Oils. *Rev. Franç.*

Pezzuto JM (1997). Plant-derived anticancer agents. *Biochemical Pharmacology*. 53: 121–133.

Princen HMG, van Poppel G, Vogelzang C, Buytenhek R, Kok FJ (1992). Supplementation with vitamin E but not β -carotene *in vivo* protects low density lipoprotein from lipid peroxidation *in vitro* Effect of Cigarette Smoking. *Arteriosclerosis and Thrombosis*. 12: 554–562.

Psaltopoulou T, Naska A, Ofranos P (2004). Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Am J Clin Nutr*. 80: 1012–1018.

Psomiadis E, Karakostas K, Blekas G (2003). Proposed Parameters for Monitoring Quality of Virgin Olive Oil (Koroneiki cv). *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 105: 403–408.

Psomiadis E, Tsimidou M (1998). Simultaneous HPLC Determination of Tocopherols, Carotenoids and Chlorophylls for Monitoring Their Effect on Virgin Olive Oil Oxidation. *J. Agric. Food Chem*. 46: 5132–5138.

Psomiadis E, Tsimidou M (2001). Pigments in Greek Virgin Olive Oils: Occurrence and Levels. *J. Sci. Food Agric*. 41: 640–647.

Rabascall NH, Riera JB (1987). Variations of the Tocopherols and Tocotrienols Content in the Obtention, Refining and Hydrogenation Processes of Edible Oils. *Grasas Aceites*. 38: 145–148.

Raederstorff D, Wang-schmidt Y, Wertz K (2010). Use of hydroxytyrosol as anti-aging agent. Pub. No. : US 2010/0130621 A1.

Rahmanism M, Csallany A (1991). Chlorophyll and β -carotene Pigments in Moroccan Virgin Olive Oils Measured by High Performance Liquid Chromatography, *JAOCs*. 68: 672-674.

Rao C, Newmark H, Reddy B (1998). Chemopreventive Effect of Squalene on Colon Cancer. *Carcinogenesis*. 19: 287-290.

Raven PD, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Almazan F, Mattson FH, Khoo JC, Steinberg D, Witztum JL (1991). Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 54: 701-706.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996). Structure-Antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20: 933-956.

Rohn TT, Hinds TR, Vincenzi OF (1993). Ion transport ATPases as targets for free radical damage. Protection by an aminosteroid of the Ca21 pump ATPase and Na1/K1 pump ATPase of human red blood cell membranes. *Biochemical Pharmacology*. 46: 525-534.

Rossell JB (2001). Frying: Improving quality. Woodhead Publishing Limited, CRC Press, Boca Raton. Boston. New York Washington, DC.

Ruiz-Canela M, Martínez-González MA (2011). Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease. *Maturitas*. 68: 245-250.

Ruiz-Gutierrez V, Juan ME, Cert A, Planas JM (2000). Determination of hydroxytyrosol in plasma by HPLC. *Analytical Chemistry*. 72: 4458-4461.

Ryan D, Robardo K (1998). Critical review: phenolic compounds in olives. *Analyst*. 123: 31R-44R.

Sacchi R (2007). Extraction technology In L'Extravergine, a guide to the best certified quality olive oil in the world. *Oreggia, M. Ed Cucina Vini*. 82-103.

Sadrzadeh SMH, Graf E, Panther SS, Hallaway PE, Eaton JW (1984). Hemoglobin. A biologic Fenton reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 259: 14354-14356.

Salami M, Galli C, De Angelis L, Visioli F (1995). Formation of F2-isoprostanes in oxidized low density lipoprotein. Inhibitory effects of hydroxytyrosol. *Pharmacological Research*. 31: 275-279.

Scaccini C, Nardini M, D'Aquino M, Gentili V, Di Felice M, Tomassi G (1992). Effect of dietary oils on lipid peroxidation and on an-

tioxidant parameters of rat plasma and lipoprotein fractions. *Journal of Lipid Research*. 33: 627–633.

Scania P, Casu M, Lai A (1999). Recognition and Quantitation of Cis-vaccenic and Eicosenoic Fatty Acids in Olive Oils by C-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Lipids*. 34: 757759.

Servilism M, Piacquadio P, De Stefano G (2002). Influence of a New Crushing Technique on the Composition of the Volatile Compounds and Related Sensory Quality of Virgin Olive Oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 104: 483-489.

Shahidi F (1997). Natural antioxidants: Chemistry, health effects and applications. AOCS Press, Champaign, IL (USA), 97–149.

Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R, In. Packer L (ed) (1999). Methods in Enzymology (Vol. 299). San Diego: Academic Press, 152-178.

Smith T, Yang G, Serial D (1998). Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced Lung Tumorigenesis by Dietary Olive Oil and Squalene. *Carcinogenesis*. 19: 703-706.

Solfrizzi V, Colacicco AM, D’Introno A, Capurso C, Torres F, Rizzo C, Capurso A, Panza F, (2006). Dietary intake of unsaturated fatty acids and age-related cognitive decline: a 8.5-year follow up of the Italian longitudinal study on aging. *Neurobiol. Aging*. 27: 1694–1704.

Solfrizzi V, Colacicco AM, D’Introno A, Capurso C, Torres F, Rizzo C, Capurso A, Panza F, (2006). Dietary intake of unsaturated fatty acids and age-related cognitive decline: a 8.5-year follow up of the Italian longitudinal study on aging. *Neurobiol. Aging*. 27: 1694–1704.

Solfrizzi V, Panza F, Capurso A (2003). The role of diet in cognitive decline. *J. Neural. Transm*. 110: 95–110.

Solfrizzi V, Panza F, Torres F, Mastroianni F, Del Parigi A, Venezia A, Capurso A, (1999). High monounsaturated fatty acids intake protects against age-related cognitive decline. *Neurology*. 52: 1563–1569.

Speroni E, Guerra MC, Minghetti A, Crespi-Perello N, Pasini P, Piazza F, Roda A (1998). Oleuropein evaluated in vitro and in vivo as an antioxidant. *Phytotherapy Research*. 12: 98–100.

Sumpio B, Cordova A, Be rke-Schlessel D (2006). Green tea, the “Asian paradox,” and cardiovascular disease. *J Am Coll Surg*. 202:813–825.

Sung B, Jin Jeong KI, Seok Song YE, Jin Son M, Pal Yu B, Young Chung H (2005). cDNA representational difference analysis used in the identification of genes related to the aging process in rat kidney. *Mechanisms of Ageing and Development*. 126: 882–891.

Tanaka T, Makita H, Kawamori T, Kawabata K, Mori H, Murakami A, Satoh K, Hara A, Ohigashi H, Koshimizu K (1997). A xanthine oxidase inhibitor 10 acetoxychavicol acetate inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*. 18: 1113–1118.

Tiscornia E, Fiorina N, Evangelisti F (1982). Chemical Composition of Olive Oil and Variations Induced by Refining. *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 59: 519–555.

Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C (2003). Adherence to a Mediterranean Diet and Survival in a Greek Population. *N Engl J Med*. 348: 2599–2608.

Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T (2005). Modified Mediterranean Diet and Survival: EPIC- elderly Prospective Cohort Study. *Bmj*. 330: 991.

Tuck KL, Freeman MP, Hayball PJ, Stretch GL, Stupans I (2001). The *in vivo* fate of hydroxytyrosol and tyrosol, antioxidant phenolic constituents of olive oil, after intravenous and oral dosing of labeled compounds to rats. *Journal of Nutrition*. 131: 1993–1996.

Tuck KL, Hayball PJ (2002). Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 644.

Tuck KL, Hayball PJ, Stupans I (2002). Structural characterization of the metabolites of hydroxytyrosol, the principal phenolic component in olive oil, in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 2404–2409.

Uccella N (2001). The olive biophenols: hedonic-sensory descriptors of evoo and wotos in the Mediterranean aliment culture. In *Food flavours and Chemistry: Advances of the New Millennium*. A. H. Spanier, F. Shahidi, T.H. Parliment, C. J. Mussinan, C. T. Ho, E. TratrasContis Eds. *The Royal Society of Chemistry Publishers, Cambridge, UK*. 253–265.

van Dyke DR, Saltman P (1996). Hemoglobin: a mechanism for the generation of hydroxyl radicals. *Free Radical Biology and Medicine*. 20: 985–989.

Visioli F, Bellomo G, Montedoro G, Galli C (1995). Low density lipoprotein oxidation is inhibited *in vitro* by olive oil constituents. *Ath-*

erosclerosis. 117:25–32.

Visioli F, Bellomo G, Montedoro GF, Gallic (1995a). Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*. 117: 25–32.

Visioli F, Bellomo G, Montedoro GF, Gallic (1995a). Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*. 117: 25–32.

Visioli F, Caruso D, Plasmati E, Patelli R, Mulinacci N, Romani A, Galli G, Galli C (2001). Hydroxytyrosol, as a component of olive mill waste water, is dose-dependently absorbed and increases the antioxidant capacity of rat plasma. *Free Radical Research*. 34: 301–305.

Visioli F, Galli C (1998). The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutr Rev*. 56: 142–147.

Visioli F, Galli C (1998b). The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*. 56: 142–147.

Visioli F, Galli C (2001). Antiatherogenic components of olive/olive oil. *Current Atherosclerosis Reports*. 3: 64–67.

Visioli F, Galli C (2003). Olives and their production waste products as sources of bioactive compounds. *Current Topics in Nutraceutical Research*. 1: 85–88.

Visioli F, Galli C (2003). Olives and their production waste products as sources of bioactive compounds. *Current Topics in Nutraceutical Research*. 1: 85–88.

Visioli F, Galli C, Bonnet F, Mattei A, Patelli R, Galli G, Caruso D (2000). Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Letters*. 468: 159–160.

Visiers MN, Zock PL, Roodenburg AJC, Leenen R, Katan MB (2001). Olive oil phenols are absorbed in humans. *American Society for Nutritional Sciences*. 409–417.

Wiseman SA, Mathot JNJ, De Fouw NJ, Tijburg LBM (1996). Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atherosclerosis*. 120: 15–23.

Witztum JL, Steinberg D (2001). The Oxidative Modification Hypothesis of Atherosclerosis: Does it Hold for Humans? *Trends Cardiovasc Med*. 11: 93–102.

Yermilov V, Rubio J, Ohshima H (1995). Formation of 8-nitroguai-

nine in DNA treated with peroxynitrite *in vitro* and its rapid removal from DNA by depurination. *FEBS Letters*. 376 : 207–210.

Zhu LI, Liu Z, Feng ZHao J, Shen WEI, Li X, Sun L, Sharman E, Wang Y, Wertz K, Weber P, Shi X, Liu J (2010). Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 21 : 1089–1098.

Auteurs

Pr Benlemlih Mohammed

Professeur & chercheur à l'université USMBA, Fès, Maroc
Directeur du laboratoire de Biotechnologie
BP 1796 Atlas 30000 Fes, Maroc
benlemlihmo@yahoo.fr

D^r Ghanam Jamal

Chercheur au laboratoire de Biotechnologie
Université USMBA, Fes, Maroc
BP 1796 Atlas 30000 Fes, Maroc
jamalkacem@yahoo.fr

POLYPHENOLS d'HUILE d'OLIVE, TRESORS SANTE!

Pr **M. BENLEMLIH** & Dr **J. GHANAM**



Les polyphénols naturels de l'huile d'olive du désert marocain au pied de l'Atlas sont des molécules très biodisponibles et hautement bioactives, ce qui leur confèrent de multiples bienfaits pour la santé humaine. Ces composés font partie de la famille des antioxydants. Ils permettent de lutter contre les radicaux libres aux effets délétères : agressions des cellules, modification de l'ADN, oxydation des lipides.

Ainsi, des études récentes ont démontré que l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive améliore la fonction mitochondriale qui prévient le vieillissement cellulaire et, par conséquent, le vieillissement du corps.

Ceci nous permet de confirmer que ce composé est un agent utile pour la prévention du vieillissement et des maladies liées à la sénescence.

Les polyphénols de l'huile d'olive participent aussi à la protection et au traitement de certains types de cancers. Dans ce cadre, il a été démontré que l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine ont un effet anticancéreux sur le cancer du côlon, le cancer du sang, le cancer du sein, ... Ces fameux composés agissent contre le cancer par plusieurs mécanismes antiprolifératifs et apoptotiques.

En outre, les bienfaits des composés phénoliques de l'huile d'olive sur le système cardiovasculaire ont été élucidés par plusieurs auteurs.

En effet, les polyphénols de l'huile d'olive favorisent la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire, augmentent la disponibilité du monoxyde d'azote, suppriment l'agrégation plaquettaire, stimulent les composés phénolique des LDL pour retarder l'artériosclérose et réduisent les réactions inflammatoires.

Actuellement, d'autres vertus des polyphénols de l'huile d'olive sont reconnues, incluant ainsi leur effet antibactérien, le traitement et la prévention du diabète et de la maladie d'Alzheimer.

ISBN 978-2-87211-117-6

Medicatrix
(marco pietteur)

www.medicatrix.be

5,00 €



9 782872 111176