

2011.3428.2

Université de Montréal

**Déterminants de la dysbêtalipoprotéïnémie de type III : au-delà de
l'apolipoprotéine E**

par
Josianne Leblanc

Département des sciences biomédicales
Faculté des études supérieures / médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de M.Sc. en sciences biomédicales

décembre, 2005



© Josianne Leblanc, 2005

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Déterminants de la dysbêtalipoprotéïnémie de type III : au-delà de
l'apolipoprotéine E**

présenté par :

Josianne Leblanc

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Paul Poirier
président-rapporteur

Daniel Gaudet
directeur de recherche

Marie-Claude Vohl
membre du jury

RÉSUMÉ

La dysbêtalipoprotéïnémie (type III) est une perturbation lipidique associée à un risque de maladie cardiovasculaire coronarienne et périphérique important. Cette dyslipidémie est fréquemment associée au statut homozygote pour l'apolipoprotéine (apo) E2. La prévalence théorique du type III dans la population en général est de 1/5 000. Notons que plusieurs de ces cas s'expriment sans le statut homozygote pour l'apo E2, la présence de facteurs secondaires dyslipidémiant étant souvent nécessaire. Plusieurs facteurs contribuant à l'expression du type III ont été proposés, tels que des mutations ayant un effet hyperlipidémiant, le diabète de type 2, la résistance à l'insuline, l'obésité, l'hypothyroïdie, le retrait des oestrogènes après la ménopause, la diète et la consommation abusive d'alcool. Cette étude avait pour but d'identifier des déterminants génétiques, métaboliques et environnementaux associés à l'expression du type III. Les résultats ont démontré que l'hypothyroïdie, l'obésité abdominale et la présence de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique (LPL) augmentent le risque d'exprimer le type III chez des sujets hétérozygotes pour l'apo E2 (E2/3). Considérant le vieillissement de la population, l'endémisation de l'obésité dans les pays développés et même sous-développés ainsi que la fréquence de mutations dans le gène de la LPL d'environ 5% dans la population en général, les risques associés au type III augmenteront significativement dans les prochaines décennies. Il devient donc important de redéfinir les critères diagnostiques du type III afin de mieux cibler les sujets atteints ou à risque dont la prévalence est nettement sous-estimée.

Mots clés :

Dyslipidémie, diabète de type 2, obésité, tour de taille, lipase lipoprotéique, lipase hépatique, apolipoprotéine CIII, maladie cardiovasculaire, hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie.

ABSTRACT

Type III dysbetalipoproteinemia (type III) is associated with an increased risk of coronary and peripheral vascular disease. The estimated prevalence of type III is around 1/5,000. Type III expression has been associated with the homozygous status for the apolipoprotein (apo) e2 allele. However, additional factors are needed for the expression of type III, such as lipoprotein lipase (LPL) gene mutations, type 2 diabetes, insulin resistance, obesity, hypothyroidism, reduced estrogen levels, diet and abusive alcohol consumption. The aim of this study was to identify genetic, metabolic and environmental factors associated with type III expression. The results have shown that hypothyroidism, abdominal obesity and LPL gene mutations were all associated with an increased risk of type III expression in heterozygous carriers for the apo e2 allele (E2/3 subjects). Considering the increasing prevalence of abdominal obesity in developed and underdeveloped countries, and that LPL gene mutations are not rare in the general population, type III-associated risk may significantly increase in the next decades. Thus, diagnosis criteria must be revised to improve the prevention strategies among high-risk individuals.

Key words :

Dyslipidemia, type 2 diabetes, obesity, waist circumference, lipoprotein lipase, hepatic lipase, apolipoprotein CIII, cardiovascular disease, hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ ET MOTS CLÉS (FRANÇAIS).....	iii
RÉSUMÉ ET MOTS CLÉS (ANGLAIS).....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
DÉDICACE.....	xiii
REMERCIEMENTS.....	xiv
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I REVUE DE LITTÉRATURE.....	3
1.1 Le métabolisme lipidique-lipoprotéique.....	3
1.1.1 Les différentes voies métaboliques.....	3
1.1.2 L'apolipoprotéine E.....	6
1.2 La dysbétalipoprotéïnémie de type III.....	8
1.3 Les facteurs de risque métaboliques.....	10
1.3.1 L'obésité abdominale.....	10
1.3.2 La résistance à l'insuline et le diabète de type 2.....	13
1.3.3 L'hypothyroïdie.....	16
1.3.4 La ménopause.....	17
1.4 Les facteurs de risque génétiques.....	19
1.4.1 La lipase lipoprotéique.....	19
1.4.2 La lipase hépatique.....	21
1.4.3 L'apolipoprotéine CIII.....	23
1.5 Les facteurs de risque environnementaux et les habitudes de vie.....	27
1.5.1 La consommation d'alcool.....	27
1.5.2 Les habitudes alimentaires.....	29
1.5.3 L'activité physique.....	30

CHAPITRE II	MATÉRIEL ET MÉTHODE.....	32
2.1	Échantillon.....	32
2.2	Évaluation phénotypique.....	33
2.3	Analyse métabolique.....	34
2.4	Analyse génotypique.....	34
	2.4.1 Extraction de l'ADN.....	34
	2.4.2 Amplification en chaîne par polymérase (PCR).....	34
	2.4.3 Polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP)....	36
	2.4.4 Fluorescence polarisée (FP).....	37
2.5	Analyses statistiques.....	39
CHAPITRE III	RÉSULTATS.....	41
3.1	Caractéristiques phénotypiques et génétiques des sujets.....	41
3.2	Évaluation du risque relatif associé à la présence de modulateurs métaboliques de l'expression du type III.....	46
	3.2.1 Obésité abdominale.....	46
	3.2.2 Diabète de type 2.....	49
	3.2.3 Hypothyroïdie.....	49
3.3	Évaluation du risque relatif associé à la présence de modulateurs génétiques de l'expression du type III.....	50
	3.3.1 Lipase lipoprotéique.....	50
	3.3.2 Lipase hépatique.....	52
	3.3.3 Apolipoprotéine CIII.....	53
3.4	Évaluation du risque relatif associé à la présence de plusieurs modulateurs de l'expression du type III.....	53
	3.4.1 Lipase lipoprotéique et obésité abdominale.....	53
CHAPITRE IV	DISCUSSION.....	57
4.1	Les facteurs de risque métaboliques.....	58
4.2	Les facteurs de risque environnementaux et les habitudes de vie.....	62
4.3	Les facteurs de risque génétiques.....	63

CHAPITRE V	CONCLUSION.....	69
CHAPITRE VI	BIBLIOGRAPHIE.....	71
ANNEXES	xv
I	Caractéristiques des sujets selon le diagnostic du type III.....	xv
	a) Hommes.....	xv
	b) Femmes.....	xvi
II	Bilan lipidique des sujets selon le diagnostic du type III.....	xvii
	a) Hommes.....	xvii
	b) Femmes.....	xviii
III	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) associé à la présence de modulateurs métaboliques connus de l'expression du type III.....	xix
	a) Obésité.....	xix
	b) Obésité abdominale.....	xix
	c) Diabète de type 2 non traité.....	xx
	d) Hypothyroïdie.....	xx
IV	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) associé à la présence de modulateurs génétiques connus de l'expression du type III.....	xxi
	a) Lipase lipoprotéique (LPL).....	xxi
	b) Mutation P207L dans le gène de la LPL.....	xxi
	c) Mutation D9N dans le gène de la LPL.....	xxi

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Les lipoprotéines et leur contenu en apolipoprotéines.....	3
Tableau II	Classification du statut pondéral en fonction de l'indice de masse corporelle proposée par l'Organisation mondiale de la santé.....	11
Tableau III	Critères diagnostiques de la dysbétalipopotéinémie de type III utilisés à la Clinique régionale des maladies lipidiques du Centre de santé et des services sociaux de Chicoutimi.....	33
Tableau IV	Caractéristiques des sujets selon le diagnostic du type III.....	42
Tableau V	Bilan lipidique des sujets selon le diagnostic du type III	43
Tableau VI	Prévalence (%) de modulateurs génétiques, métaboliques et environnementaux connus de l'expression de la dysbétalipoprotéinémie de type III selon les quintiles du ratio cholestérol-VLDL / TG.....	44
Tableau VII	Effet du génotype de l'apolipoprotéine E sur l'expression du type III chez des porteurs de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique.....	52

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Les voies exogènes et endogènes du métabolisme des lipoprotéines.....	5
Figure 2	Xanthomes plans palmaires.....	9
Figure 3	Les différents indices anthropométriques.....	13
Figure 4	Nombre d'individus atteints de diabète de type 2 (en millions) à l'échelle mondiale, la prévalence estimée pour 2010 et le pourcentage d'augmentation prévu.....	14
Figure 5	Effets de l'apolipoprotéine CIII sur le métabolisme des lipoprotéines : inhibition (↓) ou activation (↑) de la lipolyse, de l'élimination et de la liaison hépatique des lipoprotéines.....	24
Figure 6	Localisation des polymorphismes du gène APOC3 et organisation du regroupement APO A1/C3/A4.....	25
Figure 7	Amplification de séquences d'ADN cible selon la technique d'amplification en chaîne par polymérase (PCR).....	35
Figure 8	Électrophorèse sur un gel de polyacrylamide 12% représentant les génotypes de l'apolipoprotéine E.....	36
Figure 9	Génotypage selon la technique de la fluorescence polarisée.....	38
Figure 10	Principe de la fluorescence polarisée.....	39
Figure 11	Prévalence des différents génotypes de l'apolipoprotéine E chez l'ensemble des sujets selon les quintiles du ratio cholestérol-VLDL / TG.....	45
Figure 12	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence d'obésité abdominale.....	46
Figure 13	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) d'avoir un indice de masse corporelle >27 kg/m ² selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E chez des individus exprimant le type III.....	47
Figure 14	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) de présenter de l'obésité abdominale selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E chez des individus exprimant le type III.....	48

Figure 15	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence d'hypothyroïdie...	50
Figure 16	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique.....	51
Figure 17	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique chez des sujets a) sans obésité abdominale et, b) présentant de l'obésité abdominale.....	54
Figure 18	Influence de différents génotypes de l'apolipoprotéine E, de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique et de l'obésité abdominale sur le ratio cholestérol-VLDL / TG (I.C. 95%), chez des sujets âgés de moins de 45 ans.....	55
Figure 19	Risque relatif (<i>odds ratio</i>) d'exprimer le type III selon l'absence ou la présence d'obésité abdominale et de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique, chez des sujets n'étant pas porteurs de l'Apo E2 et âgés de moins de 45 ans.....	56

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN	acide désoxyribonucléique
Apo	apolipoprotéine
APOA1	gène de l'apolipoprotéine AI
APOA4	gène de l'apolipoprotéine AIV
APOC3	gène de l'apolipoprotéine CIII
B/E	récepteur reconnaissant spécifiquement les Apo B ou E
β -VLDL	VLDL ayant une migration électrophorétique pré- β
CETP	protéine de transfert des esters de cholestérol
CSSSC	Centre de santé et des services sociaux de Chicoutimi
FP	fluorescence polarisée
HDL	lipoprotéine de haute densité
LH	lipase hépatique
IDL	lipoprotéine de densité intermédiaire
IMC	indice de masse corporelle
LCAT	lécithine-cholestérol-acyl-transférase
LDL	lipoprotéine de faible densité
LIPC	gène de la lipase hépatique
LPL	lipoprotéine lipase
LRP	<i>low density lipoprotein receptor-related protein</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	<i>odds ratio</i>
PCR	amplification en chaîne par polymérase
RFLP	polymorphismes de longueur des fragments de restriction
R-LDL	récepteur des LDL
SLSJ	Saguenay - Lac-Saint-Jean
T3	triiodothyronine
T4	tétraïodothyronine
TG	triglycéride
TRL	lipoprotéine riche en triglycéride

TSH	hormone thyroïdienne
type III	dysbêtalipoprotéïnémie de type III
VLDL	lipoprotéine de très faible densité

DÉDICACE

J'aimerais rendre hommage à une personne grâce à qui j'ai complété cette maîtrise ainsi que bien d'autres projets. C'est elle qui m'a soutenue, m'a encouragée, m'a aidée, m'a aimée depuis ma venue au monde. C'est elle qui m'a permis de croire en moi et d'être forte malgré toutes les épreuves. Malheureusement, elle m'a quittée au tout début de ce périple. J'ai tenté de rester forte afin de lui prouver qu'elle avait raison d'être fière de moi. Aujourd'hui, je lui dédie ce mémoire afin de la remercier pour tout ce qu'elle a fait pour moi.

Merci maman

Josianne

REMERCIEMENTS

Je voudrais en premier lieu remercier mon père qui, tout comme ma mère, a toujours été présent pour moi. Il m'a aidée à persévérer malgré la dure épreuve que nous avons traversée. Je suis très reconnaissante de l'intérêt qu'il a porté à tout le cheminement de cette maîtrise. Il a toujours été disponible afin de lire, commenter, corriger et même comprendre mes travaux qui ne sont pas du domaine de sa spécialité. Sa grande culture générale m'a aidée à maintes reprises et sa soif de connaissances fait de lui un bon modèle. C'est sans doute pourquoi j'ai décidé de poursuivre mes études afin d'en savoir plus sur les sujets qui me fascinent.

J'aimerais également remercier mon conjoint Olivier pour sa patience et son amour. Il m'a toujours soutenue dans mes études en me rappelant que je dois travailler fort pour atteindre mes objectifs. Il n'a jamais mis de barrières à mes projets d'aller étudier à l'extérieur et je lui en suis très reconnaissante. Il fait preuve de beaucoup d'enthousiasme même si mes projets ont toujours eu des répercussions sur sa vie.

Un remerciement spécial à Daniel Gaudet pour m'avoir permis d'intégrer son équipe de recherche. Merci à Diane Brisson pour son aide précieuse tout au long de cette maîtrise et particulièrement lors de la rédaction de mon mémoire. Merci à Denise Morin et Nadia Mior pour leur aide au laboratoire ainsi que leur grande sociabilité. Finalement, j'aimerais remercier les autres étudiantes avec qui j'ai partagé trois belles années remplies de rebondissements. Merci à Nancy Tremblay pour son aide à mes débuts. Elle a été un grand modèle de minutie. Merci à Karine Tremblay de m'avoir fait découvrir ses goûts culturels et culinaires. Merci à Annie Chamberland pour sa joie de vivre et son aide informatique. Merci à Anne-Marie Madore pour ses suggestions ou ses réponses à mes questions existentielles.

INTRODUCTION

Au 21^e siècle, les maladies cardiovasculaires constituent la principale cause de décès dans les pays industrialisés. Alors que les connaissances en cardiologie ne cessent de croître, que les techniques chirurgicales sont de plus en plus précises, et que les causes favorisant l'apparition de maladies cardiovasculaires sont démystifiées, la prévalence de ce problème de santé publique ne cesse d'augmenter. Les recherches et les nouvelles technologies permettent maintenant de transplanter un cœur artificiel ou de remplacer des segments de vaisseaux sanguins, mais il est toutefois plus difficile de prévenir la maladie. Les stratégies préventives, quoique prometteuses, présentent un coût élevé et nécessitent des ressources humaines importantes. Une autre barrière concerne les habitudes de vie qui vont souvent à l'encontre des méthodes de prévention. En effet, depuis plusieurs décennies, la société tend à se sédentariser, surtout dans le cadre professionnel qui est très exigeant et laisse peu de temps pour l'activité physique. En plus, on constate l'abandon des saines habitudes alimentaires au profit de l'alimentation rapide et peu nutritive. Ainsi, la facilité préconisée par la société va à l'encontre des stratégies de prévention des maladies cardiovasculaires.

De plus, la recherche en génétique a démontré que de nouveaux éléments doivent être pris en considération dans l'évaluation du risque cardiovasculaire. Au-delà des habitudes de vie, les interactions gènes-gènes et gènes-environnement doivent être considérées dans l'élaboration de stratégies thérapeutiques et préventives. Les traits complexes comme les maladies cardiovasculaires et les phénotypes intermédiaires s'expriment ainsi en présence de facteurs génétiques de susceptibilité et d'un contexte favorable.

Un exemple de trait complexe est la dysbétalipoprotéïnémie de type III (type III), une hyperlipidémie ayant comme conséquence le développement précoce de l'athérosclérose. Cette perturbation métabolique s'inscrit bien dans la démarche actuelle

d'évaluation du risque car elle a souvent été considérée comme une maladie monogénique, alors que les études tendent maintenant à démontrer son caractère polygénique et multifactoriel. Le type III est décrit comme une dyslipidémie rare dans la littérature mais au Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ) les particularités démographiques de la région font en sorte que plusieurs centaines de cas ont été diagnostiqués. Ce projet de maîtrise vise donc à :

- réévaluer la prévalence théorique du type III;
- identifier des déterminants génétiques, métaboliques et environnementaux associés à l'expression du type III ;
- revoir les critères diagnostiques du type III.

Pour ce faire, le Chapitre I présente une description du métabolisme des lipides, du type III et des différents facteurs de risque génétiques, métaboliques et environnementaux qui ont été proposés. Le Chapitre II met en lumière les différentes étapes de réalisation de ce projet de maîtrise, tant au niveau de la caractérisation des sujets que des techniques utilisées. Les résultats obtenus sont présentés dans le Chapitre III et sont mis en contexte avec les objectifs de l'étude dans le Chapitre IV. Finalement, la synthèse des informations obtenues ainsi que les perspectives sont exposées au Chapitre V.

CHAPITRE I

REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Le métabolisme lipidique-lipoprotéique

1.1.1 Les différentes voies métaboliques

Les lipides sont des molécules hydrophobes constituées de triglycérides (TG) et de cholestérol estérifié [1, 2]. Leur transport dans le sang s'effectue sous forme de lipoprotéines constituées par leur liaison à des composés hydrophiles, tels que les phospholipides, le cholestérol non estérifié et les différentes apolipoprotéines (apo). Parmi celles-ci, il y a la famille des apo A, des apo C et l'apo E, qui se retrouvent en quantité variable à la surface de certaines lipoprotéines, de même que l'apo B, dont on ne retrouve qu'une seule molécule par lipoprotéine (Tableau I). Le rôle de ces lipoprotéines est d'assurer le transport sanguin des lipides vers les tissus afin de distribuer le cholestérol produit par le foie ou d'éliminer le cholestérol provenant de l'alimentation [1].

Tableau I. Les lipoprotéines et leur contenu en apolipoprotéines

Lipoprotéines	Apolipoprotéines
Chylomicrons	AI, AII, B-48, CI, CII, CIII, E
VLDL	B-100, CI, CII, CIII, E
IDL	B-100, CI, CII, CIII, E
LDL	B-100
HDL	AI, AII, CI, CII, CIII, E

VLDL, lipoprotéine de très faible densité; IDL, lipoprotéine de densité intermédiaire; LDL, lipoprotéine de faible densité; HDL, lipoprotéine de haute densité

Il existe trois voies métaboliques pour la circulation sanguine des lipides : la voie exogène, la voie endogène (Figure 1) et le transport à rebours du cholestérol. Dans la voie exogène, suite à l'absorption des lipides alimentaires dans le tube digestif, ces derniers sont mis en circulation sous forme de chylomicrons. Les chylomicrons subissent une hydrolyse de leur contenu en TG par la lipase lipoprotéique (LPL) à l'aide de l'apo CII, un cofacteur de la LPL, jusqu'à ce que l'apo CIII entre en action et inhibe la LPL. Les acides gras produits sont captés par les cellules adipeuses, en plus d'être utilisés par les muscles comme source d'énergie. Simultanément à l'hydrolyse, les résidus de chylomicrons sont enrichis de cholestérol estérifié. Ensuite, l'apo B-48 ainsi que l'apo E aident à la reconnaissance et à la liaison des résidus à un récepteur membranaire hépatique apparenté à celui des lipoprotéines de faible densité (LDL), le récepteur LRP (*low density lipoprotein receptor-related protein*) [1, 3].

En ce qui a trait à la voie endogène, le foie fabrique des TG mis en circulation sous forme de lipoprotéines de très faible densité (VLDL). Après l'hydrolyse des TG par la LPL, les acides gras libérés sont distribués aux tissus périphériques. Les résidus obtenus, les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), sont ainsi enrichis de cholestérol estérifié. Une proportion de VLDL et IDL est captée par les tissus alors qu'une certaine quantité de IDL retourne au foie via un récepteur, lequel reconnaît spécifiquement les apo B ou E (récepteur B/E), afin d'y être éliminée. Les IDL résultants subissent par la suite l'hydrolyse de leur contenu en TG par la lipase hépatique (LH), dont le cofacteur est l'apo AII, afin de former des LDL, constitués en grande partie de cholestérol. Les LDL ont trois destinations finales : le foie et les tissus périphériques via le récepteur des LDL (R-LDL) de même que les macrophages à l'aide des récepteurs non spécifiques appelés « scavenger » [1]. Les macrophages agissent alors comme des éboueurs en captant les LDL, ce qui les transforme en cellules spumeuses pouvant mener à la formation de plaques athérosclérotiques [4].

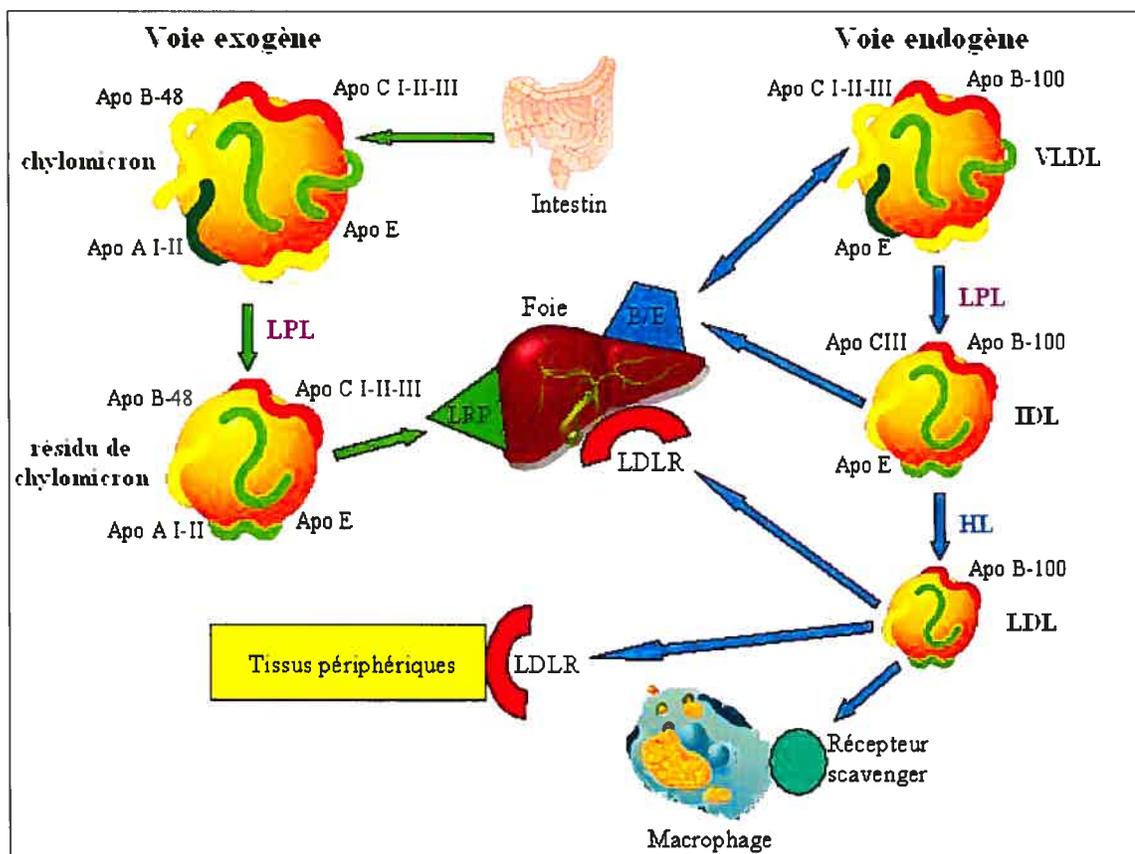


Figure 1. Les voies exogènes et endogènes du métabolisme des lipoprotéines

Apo, apolipoprotéine; B/E, récepteur reconnaissant les apo B et E; LH, lipase hépatique; IDL, lipoprotéine de densité intermédiaire; LDL, lipoprotéine de faible densité; R-LDL, récepteur des LDL; LPL, lipase lipoprotéique; LRP, récepteur hépatique apparenté à celui des LDL; VLDL, lipoprotéine de très faible densité.

Lors du transport à rebours du cholestérol, les lipoprotéines de haute densité (HDL) immatures provenant du foie captent le cholestérol non estérifié des cellules périphériques, ce qui explique une partie de leur effet anti-athérogénique [5]. Activée par l'Apo AI et l'Apo CI, la lécithine-cholestérol-acyl-transférase (LCAT) estérifie ensuite le cholestérol capté par les HDL immatures pour former des HDL₃ [6, 7]. Simultanément à la lipolyse des chylomicrons et des VLDL, les différentes apo A et C sont transférées aux HDL₃. De plus, la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) a pour rôle d'échanger le cholestérol estérifié des HDL₃ pour des TG, hydrolysés par la LPL et la LH, permettant ainsi la formation de HDL₂ [8]. Celles-ci retournent au foie à l'aide de l'apo E ou peuvent être hydrolysées par la LH pour reformer des HDL₃, et le cycle recommence.

1.1.2 L'apolipoprotéine E

L'apo E est un polypeptide de 299 acides aminés. Cette protéine ubiquitaire est produite principalement par le foie, mais on la retrouve également dans les surrénales, les reins, les poumons, le liquide céphalo-rachidien, les macrophages et les astrocytes [9]. L'apo E est liée à la plupart des lipoprotéines transportant le cholestérol et les TG dans le sang et assure l'épuration des lipoprotéines au niveau du foie et des tissus périphériques. En fait, l'apo E est située à la surface des VLDL, des IDL, des HDL, des chylomicrons, ainsi que des résidus de chylomicrons [10]. Sa principale fonction est de médier l'interaction des lipoprotéines avec les récepteurs cellulaires, incluant le R-LDL, le récepteur B/E, et le LRP [11]. L'apo E aurait d'ailleurs beaucoup plus d'affinité pour le R-LDL que l'apo B. En plus du métabolisme lipidique, l'apo E serait également impliquée dans la régénérescence nerveuse et l'immunorégulation [10].

Le gène de l'apo E est situé sur le bras long du chromosome 19 (19q13.2) et est formé de quatre exons et trois introns. Il est codé par trois allèles : $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ et $\epsilon 4$, correspondant chacun à un isoforme et donnant ainsi une possibilité de six génotypes : E2/E2, E3/E2, E3/E3, E4/E2, E4/E3 et E4/E4 [2]. Chaque isoforme se distingue par la substitution d'un acide aminé, une cystéine ou une arginine, aux positions 112 et 158 de la lipoprotéine et par une charge différente permettant leur séparation par électrophorèse [2]. Il existe d'autres isoformes rares de l'apo E, tels que l'apo E1, l'apo E5 et l'apo E7 dont la fréquence est élevée chez les Japonais [12]. La fréquence des allèles de l'apo E varie selon les populations mais l'allèle $\epsilon 3$ demeure le plus fréquent [13]. Dans la population caucasienne, l'allèle $\epsilon 3$ a une fréquence entre 0,70 et 0,80, l'allèle $\epsilon 4$ entre 0,10 et 0,15, tandis que l'allèle $\epsilon 2$ a une fréquence se situant entre 0,05 et 0,10 [14].

De nombreuses recherches ont permis de mettre en évidence les variations de concentration plasmatique de l'apo E selon les profils lipidiques. Ainsi, les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$, souvent hypocholestérolémiques, ont une concentration d'apo E supérieure par rapport aux porteurs de l'allèle $\epsilon 3$, alors que les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$, ayant un profil hypercholestérolémique, voient leur concentration diminuée [10, 14]. On

remarque également une différence marquée du profil lipidique-lipoprotéique selon le génotype de l'apo E. Dans la population générale, l'allèle $\epsilon 2$ est souvent associée à de faibles concentrations de cholestérol total, de cholestérol-LDL et d'apo B ainsi qu'à des concentrations élevées de TG, en comparaison avec l'allèle $\epsilon 3$. Quant à l'allèle $\epsilon 4$, il aurait pour effet d'augmenter la concentration de cholestérol total, de cholestérol-LDL, d'apo B, et de diminuer celle des TG [10, 11]. De ce fait, l'allèle $\epsilon 4$ a été associé à un risque accru de maladie coronarienne. Par ailleurs, depuis quelques années, il est aussi considéré comme un facteur de risque de la maladie d'Alzheimer [14].

Si le rôle athérogénique de l'allèle $\epsilon 4$ est bien établi dans la littérature, le rôle protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ l'est moins. L'allèle $\epsilon 2$ est très sensible à l'environnement, particulièrement en ce qui a trait à l'effet sur les TG. Quelques hypothèses sur l'effet hypocholestérolémiant de l'allèle $\epsilon 2$ ont été proposées. Par exemple, la faible concentration de cholestérol-LDL pourrait s'expliquer par une diminution de la conversion des VLDL en LDL, en interférant avec le processus lipolytique normal. Plus précisément, la réduction de la lipolyse des VLDL en IDL serait causée par l'inhibition de la LPL et le retrait de l'apo CII, un cofacteur important de la LPL. De plus, l'apo E2 diminuerait la capacité de la LH à provoquer la lipolyse des IDL en LDL [15]. Une autre hypothèse plus controversée est la faible affinité de l'apo E2 pour le R-LDL et le LRP, entraînant une diminution de la libération de cholestérol au foie. Un mécanisme de régulation positive des R-LDL hépatiques se produit alors pour augmenter leur nombre ainsi que la captation de cholestérol [16, 17]. Par contre, des expériences sur des souris tronquées pour le gène exprimant le R-LDL démontrent tout de même une diminution de cholestérol-LDL [18]. Par rapport à l'effet hypertriglycéridémiant de l'allèle $\epsilon 2$, la diminution de l'élimination des résidus lipoprotéiques riches en TG (TRL), comme les VLDL et les IDL, serait responsable de l'augmentation des concentrations de TG. Tous ces mécanismes font en sorte que dans la littérature, le type III a toujours été associé au statut homozygote pour l'apo E2 [14].

1.2 La dysbétalipoprotéinémie de type III

Le type III est une maladie dont la prévalence est d'environ 1 cas sur 5000 individus. Par contre, à la Clinique régionale des maladies lipidiques, située au Centre de santé et des services sociaux de Chicoutimi (CSSSC), près de 400 cas sont actuellement documentés, ce qui est à peu près huit fois la prévalence théorique estimée. Le type III, une perturbation du métabolisme lipidique provoquant le développement prématuré de l'athérosclérose tant au niveau coronarien que périphérique, est une des cinq hyperlipidémies familiales classées selon Fredrickson [14, 19]. Les individus atteints de type III présentent des concentrations plasmatiques de cholestérol et de TG de plus de 300 mg/dL ainsi qu'une accumulation de VLDL ayant une migration électrophorétique pré- β (β -VLDL), aussi appelés IDL. De plus, une diminution des niveaux de HDL et des LDL, un ratio cholestérol-VLDL / TG supérieur à 0,30 et la présence de xanthomes plans palmaires et, plus rarement, tubéreux sont d'autres signes caractéristiques du type III [14].

Parmi les différentes manifestations cutanées, les xanthomes plans palmaires sont pathognomoniques, bien qu'ils ne soient pas présents chez tous les patients (Figure 2). Les xanthomes seraient le résultat de la captation des β -VLDL par les macrophages, provoquant ainsi la transformation de ces derniers en cellules spumeuses enrichies en cholestérol et responsables de la formation de stries lipidiques [14]. Il est à noter que l'administration d'un traitement hypolipémiant résorbe complètement les xanthomes riches en cellules spumeuses.

Dans 90% des cas, cette dyslipidémie est associée au statut homozygote pour l'apo E2, dont l'activité de liaison aux récepteurs hépatiques est plus faible que celle de l'apo E4 et de l'apo E3. Cependant, plusieurs personnes expriment les éléments du type III sans être homozygotes pour l'apo E2. D'un autre côté, moins de 10% des individus homozygotes pour l'apo E2 vont développer le type III. Il semble que, mise à part l'accumulation de β -VLDL, ceux-ci sont d'ailleurs souvent normolipidiques, voire même hypocholestérolémiques [17]. Le profil hypercholestérolémique des sujets de type

III et homozygotes pour l'apo E2 pourrait alors s'expliquer par des facteurs augmentant le temps de séjour plasmatique des lipoprotéines circulantes, comme une anomalie de la captation des résidus lipoprotéiques par les récepteurs hépatiques, tels que le R-LDL [20]. D'ailleurs, il a été démontré que le nombre de R-LDL à la surface des hépatocytes est diminué par l'expression de certaines perturbations métaboliques, la diète, les médicaments et l'âge [14]. Le type III s'exprime ainsi rarement avant l'âge adulte et il est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes, ces dernières ne présentant généralement aucun signe de la maladie avant la ménopause. Il semble donc que le statut homozygote pour l'apo E2 est essentiel mais qu'il n'est pas suffisant pour l'expression du type III. D'autres facteurs génétiques, métaboliques ou environnementaux ont été proposés, tels que des mutations ayant un effet hyperlipidémiant, le diabète de type 2 de même que la résistance à l'insuline, l'obésité, l'hypothyroïdie, le retrait des oestrogènes après la ménopause, la diète et la consommation abusive d'alcool [14]. Par ailleurs, comme ces éléments ont une fréquence élevée dans la population générale et que le type III s'exprime également chez des individus qui ne sont pas homozygotes pour l'apo E2, cette dyslipidémie pourrait avoir une prévalence supérieure à ce qui est actuellement reconnu dans la littérature.

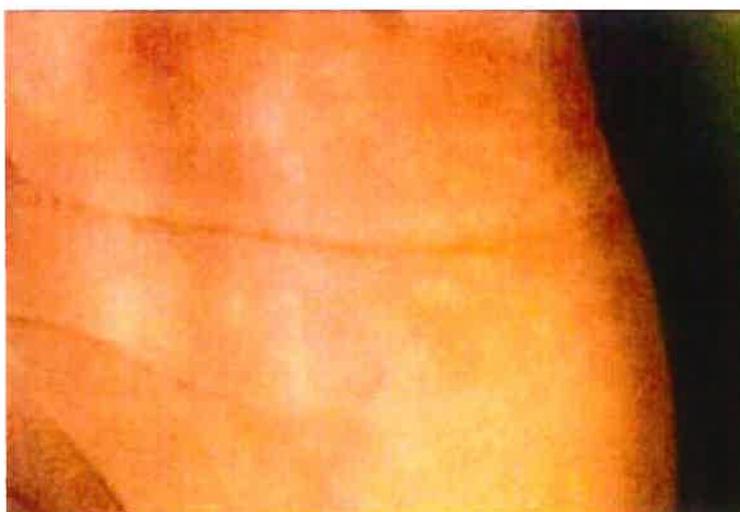


Figure 2. Xanthomes plans palmaires
(Tirée de www.lipimed.com)

1.3 Les facteurs de risque métaboliques

1.3.1 L'obésité abdominale

L'obésité est un problème de santé découlant entre autres choses des habitudes de vie des 20^e et 21^e siècles et dont la prévalence connaît une croissance fulgurante. L'augmentation du nombre d'individus obèses est telle que l'obésité est maintenant l'un des principaux problèmes de santé publique en Amérique du Nord et les coûts qui lui sont associés sont estimés à 1,8 milliard de dollars par année au Canada seulement [21]. Depuis 1960, la prévalence de l'obésité a presque doublé au Canada, affectant de nos jours environ 35% des hommes et 27% des femmes [22, 23]. De plus, l'obésité morbide est présente chez 2% des hommes et 4% des femmes [22]. Un fait nouveau à noter est l'augmentation de l'obésité dans les pays non industrialisés ainsi que chez les enfants. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette épidémie d'obésité mais tous s'entendent à dire que l'augmentation de la sédentarité et les mauvaises habitudes alimentaires sont les principales causes. Plusieurs études suggèrent également l'effet de certains gènes responsables de l'obésité. La contribution de facteurs génétiques dans la pathophysiologie de l'obésité a en effet été estimée entre 25% et 40%, alors que l'obésité abdominale subirait une influence génétique autour de 60% [24, 25].

Il a été démontré que l'expression de l'obésité diffère selon le genre, l'origine ethnique, l'éducation et les habitudes tabagiques [26, 27]. L'obésité est depuis longtemps considérée comme un facteur de risque de morbidité et de mortalité associé à la réduction de la durée de vie d'un individu [28]. En effet, l'obésité altère le métabolisme lipidique, thrombotique et inflammatoire, constituant donc un facteur de risque majeur des maladies cardiovasculaires [29]. L'obésité a également été associée à des perturbations métaboliques, telles que le diabète de type 2, l'hypertension artérielle, les dyslipidémies, des troubles respiratoires comme l'apnée du sommeil, ainsi que les cancers du sein, de l'utérus, de la prostate et du côlon [30]. D'autres études ont aussi associé l'obésité à certains états psychologiques comme la dépression, l'anorexie et la boulimie.

Tableau II. Classification du statut pondéral en fonction de l'indice de masse corporelle proposée par l'Organisation mondiale de la santé (1995)

Classification	IMC (kg/m²)
Insuffisance pondérale	< 18,5
Valeurs normales	18,5 à 24,9
Obésité I (surpoids)	25,0 à 29,9
Obésité II (obésité)	30,0 à 39,9
Obésité III (obésité massive)	≥ 40

IMC, indice de masse corporelle.

(Tirée de WHO Expert Committee; [31]).

D'un point de vue nutritionnel, l'obésité est le résultat d'un bilan énergétique positif à longue échéance, c'est-à-dire que la consommation calorique est supérieure à l'énergie dépensée [32]. En 1869, Quetelet a proposé une méthode pour mesurer l'obésité d'un individu à partir de l'indice de masse corporelle (IMC) défini par le rapport du poids, exprimé en kilogramme, au carré de la hauteur en mètre (kg/m²) (Tableau II) [33]. Bien que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ait fixé le diagnostic de l'obésité à un IMC > 30 kg/m², il n'existe aucun consensus et certains guides thérapeutiques suggèrent l'utilisation d'un IMC > 27 kg/m² [30]. Il est important de mentionner que la comparaison de la prévalence de l'obésité entre les populations à partir de l'IMC est très difficile à effectuer puisque cet indice ne tient pas compte de la distribution des gras corporels qui est variable d'une personne à l'autre et d'une population à l'autre. C'est pourquoi le professeur Jean Vague a introduit le concept de distribution de la masse grasse par rapport à la masse maigre il y a plus d'un demi-siècle [34]. Ainsi, deux profils de distribution de la graisse corporelle ont été définis : l'obésité androïde, caractérisée par une adiposité centrale au niveau du segment supérieur du corps, et l'obésité gynoïde, définie par une adiposité périphérique au niveau du segment inférieur du corps. À partir de ces observations, Kissebah a proposé l'utilisation du ratio taille / hanche afin de mieux évaluer la distribution de la masse grasse [35]. Par la suite, des études ont pu démontrer que la mesure du tour de taille à elle seule est l'indicateur anthropométrique reflétant le mieux les modifications de la distribution du tissu adipeux viscéral (Figure 3) [36, 37]. Toutefois, comme pour l'IMC, aucun consensus n'existe pour les valeurs du tour de taille utilisées dans le diagnostic de l'obésité abdominale. Le guide thérapeutique canadien suggère maintenant un tour de taille

supérieur à 102 cm chez les hommes et 88 cm chez les femmes comme critère d'obésité abdominale [38, 39]. Il faut par contre préciser qu'une augmentation significative du risque cardiovasculaire a été observée à partir de 90 cm chez les hommes et de 85 cm chez les femmes [40].

Il a été proposé que le risque cardiovasculaire associé à l'augmentation du tour de taille aurait pour origine l'accumulation de la masse grasse au niveau viscéral, provoquant une surexposition du foie aux acides gras libres [41]. D'autres d'études ont plutôt suggéré la diminution des concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL, entraînant une augmentation du ratio cholestérol / cholestérol-HDL, comme étant un des principaux modulateurs du risque cardiovasculaire chez les individus présentant de l'obésité abdominale [42]. De plus, un excès de tissus adipeux au niveau viscéral serait associé à un profil lipidique-lipoprotéique pro-athérogénique, tel que la présence de particules LDL petites et denses et d'une hypertriglycémie provoquée par une augmentation des concentrations plasmatiques des lipoprotéines contenant de l'apo B, comme les particules VLDL [33]. Par contre, le profil d'obésité gynoïde, retrouvé principalement chez les femmes, confère un risque cardiovasculaire moins important que le profil d'obésité androïde. Mis à part le risque cardiovasculaire, l'obésité abdominale serait un facteur de risque indépendant de l'hypertension artérielle, de la résistance à l'insuline et du diabète de type 2 [43]. En effet, des individus obèses ne présentant pas une grande adiposité viscérale auraient une réponse normale au glucose, au même titre que des individus minces [33].

Le profil lipidique pro-athérogénique des individus ayant un tour de taille élevé, caractérisé par des niveaux élevés de cholestérol-LDL et de TG, suggère l'implication de l'obésité abdominale dans l'expression du type III. C'est pourquoi l'obésité androïde pourrait être un facteur de risque métabolique associé au type III dont l'influence environnementale est importante, ce qui lui confère un certain degré de réversibilité.

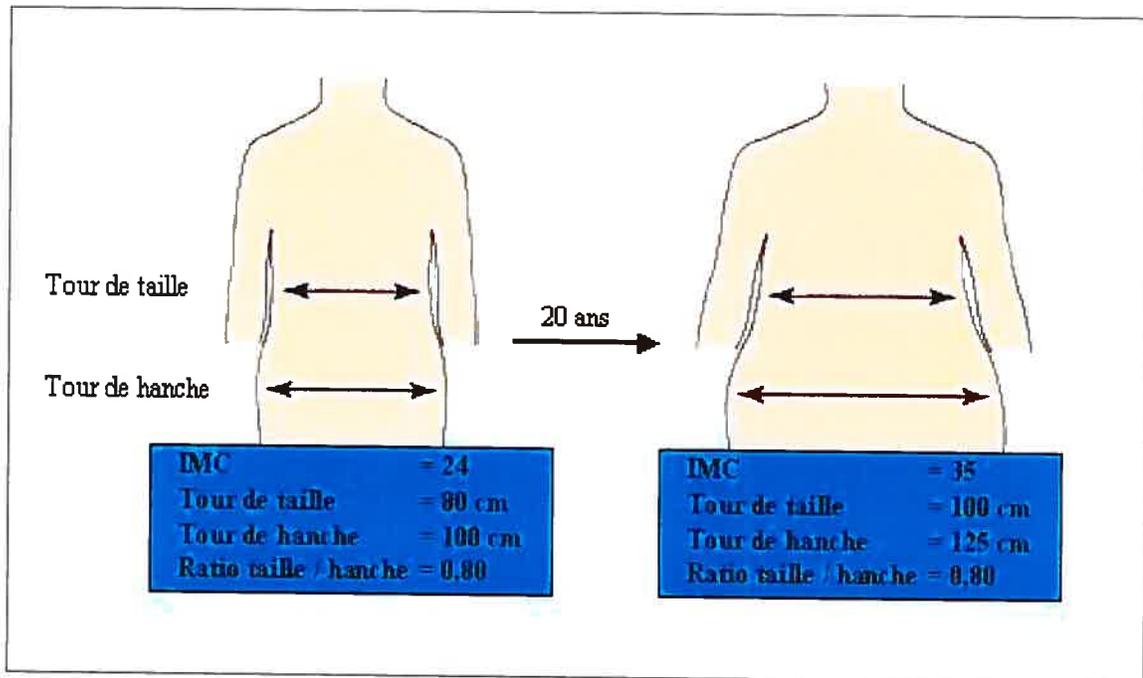


Figure 3. Les différents indices anthropométriques

L'utilisation du ratio taille / hanche seul ne permet pas d'évaluer la prise de poids. Alors que l'indice de masse corporelle (IMC) de la patiente augmente de 24 à 35 kg/m² en 20 ans, son tour de taille augmente de 20 centimètres (cm) et son ratio taille / hanche demeure stable.

(Modifiée de Després, J.P. ; 2001 [33])

1.3.2 La résistance à l'insuline et le diabète de type 2

Tout comme pour l'obésité, la prévalence du diabète de type 2 évolue de façon quasi épidémique. Il a été estimé qu'à travers le monde environ 150 millions d'individus expriment un diabète de type 2. La prévalence est estimée à 220 millions pour 2010 et à 300 millions pour 2025 (Figure 4) [44]. Cette croissance est surtout marquée par une augmentation importante de diabétiques dans les pays en développement et chez les enfants. La situation est d'autant plus alarmante si l'on considère la prévalence de la résistance à l'insuline qui se situe entre 10% et 25% de la population générale et dont la conséquence est le développement du diabète de type 2 [45].

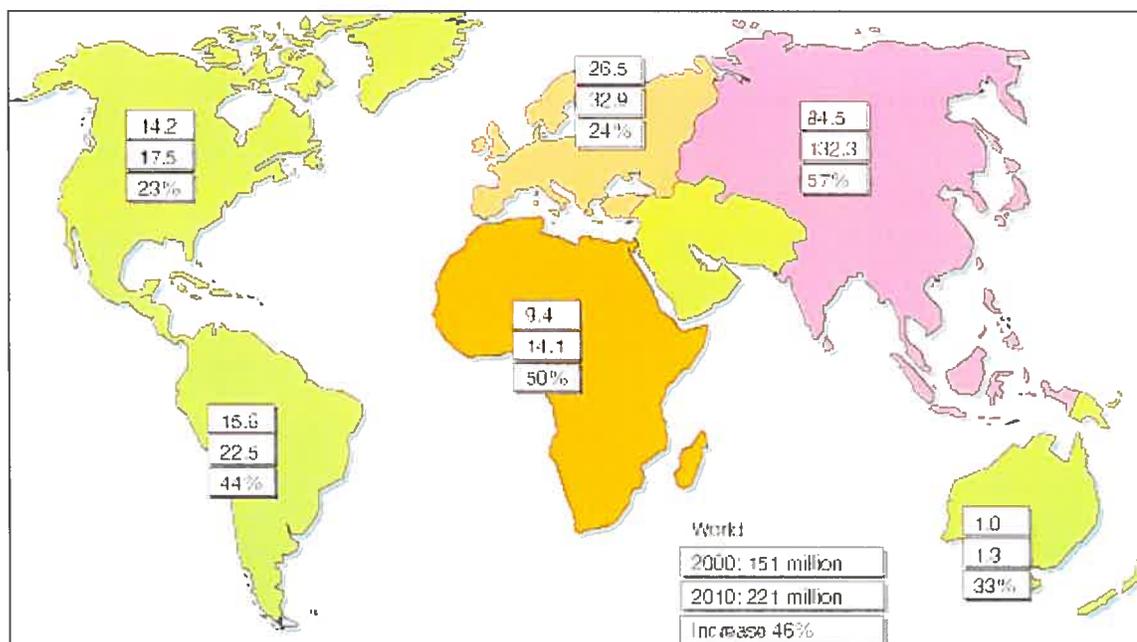


Figure 4. Nombre d'individus atteints de diabète de type 2 (en millions) à l'échelle mondiale, la prévalence estimée pour 2010 et le pourcentage d'augmentation prévu (Tirée de Zimmet, P.; 2001 [44])

L'insuline est une hormone produite par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas et est responsable de la régulation de la concentration sanguine du glucose, aussi appelée glycémie. Ainsi, une glycémie normale est maintenue selon la balance entre la sécrétion d'insuline et son action. La résistance à l'insuline est donc l'incapacité des tissus périphériques à répondre à des concentrations normales d'insuline et se traduit par une augmentation de l'activité des cellules bêta pancréatiques [45]. Ces dernières exercent une sécrétion compensatoire d'insuline provoquant une hyperinsulinémie afin de maintenir la glycémie. Toutefois, avec le temps, une dysfonction progressive des cellules bêta est susceptible d'être observée, les empêchant du fait de maintenir des niveaux suffisants d'insuline, ce qui prédispose au développement de l'intolérance au glucose et, éventuellement, au diabète de type 2. Donc cette perturbation métabolique est caractérisée par une hyperglycémie résultant de la combinaison d'une résistance à l'insuline et d'une réponse inadéquate à la sécrétion d'insuline. Aussi appelé diabète non insulino-dépendant, il diffère du diabète de type 1 insulino-dépendant, lequel est une maladie auto-immune apparaissant chez l'enfant et dont la destruction des îlots de Langerhans se traduit par une déficience de sécrétion en insuline [44].

Une des principales complications du diabète de type 2 est l'athérosclérose entraînant des conséquences macrovasculaires et microvasculaires telles que la néphropathie, la neuropathie, la rétinopathie pouvant mener à la cécité ainsi qu'à l'amputation des membres inférieurs [46]. Les maladies cardiovasculaires sont également une conséquence majeure du diabète de type 2. D'ailleurs, le ATPIII (*Adult Treatment Panel III*) du Programme d'éducation nationale sur le cholestérol (NCEP), aux États-Unis, inclut le diabète de type 2 comme facteur de risque cardiovasculaire [38]. Il a été remarqué que les diabétiques tendent à présenter de l'obésité abdominale, des concentrations élevées de TG, de faibles concentrations de cholestérol-HDL, des particules LDL petites et denses et des habitudes de tabagisme et de sédentarité [47].

La prévalence du diabète de type 2 et de ses facteurs de risque font en sorte que cette pathologie est devenue une des priorités en santé publique, d'autant plus que certains individus atteints réussissent à contrôler leur glycémie grâce à une diète stricte en plus de prévenir les événements cardiovasculaires en faisant de l'activité physique. Considérant que le profil pro-athérogénique des diabétiques est semblable à celui des individus exprimant le type III, il est pertinent de croire que le diabète de type 2 et même la résistance à l'insuline pourraient être des facteurs précipitant l'expression de cette dyslipidémie. En effet, la résistance à l'insuline peut induire une augmentation du flux d'acides gras vers le foie, ce qui stimule la sécrétion hépatique de VLDL et contribue ainsi à augmenter la concentration plasmatique de TG. Par conséquent, une plus grande quantité de particules VLDL augmente la formation de IDL, suite à l'hydrolyse par la LPL, et, accentue le risque d'accumulation de β -VLDL, un élément caractéristique du type III [48].

1.3.3 L'hypothyroïdie

Les perturbations du fonctionnement de la glande thyroïde touchent environ 200 millions de personnes dans le monde. L'hyperthyroïdie et l'hypothyroïdie sont les maladies thyroïdiennes les plus fréquentes et ont une prévalence beaucoup plus élevée chez les femmes. L'hypothyroïdie affecte environ 2% de la population et atteint une fréquence de 10% chez les personnes âgées [49]. Elle se traduit par une sécrétion insuffisante d'hormones thyroïdiennes : la tétraïodothyronine (T4) et la triiodothyronine (T3). Ces hormones sont impliquées dans l'homéostasie énergétique et le développement intellectuel [50]. Les symptômes de l'hypothyroïdie sont liés au ralentissement du métabolisme et leur sévérité varie beaucoup d'un individu à l'autre, ce qui complique grandement son diagnostic. Parmi les principaux symptômes, notons le manque d'énergie, la fatigue, une sensibilité au froid, un gain de poids, un rythme cardiaque ralenti et des faiblesses musculaires.

Plusieurs causes expliquent le développement de l'hypothyroïdie. Les plus fréquentes sont la thyroïdite d'Hashimoto, une maladie auto-immune provoquant la destruction de la glande thyroïde par des anticorps ainsi que les traitements altérant la glande thyroïde, tels que l'utilisation de l'iode radioactif pour traiter l'hyperthyroïdie ou l'ablation de la glande en raison d'un cancer [51]. Autrefois, la principale cause d'hypothyroïdie était la carence en iode, une composante essentielle à la formation de T4 et T3. Mais depuis 1924, les pays industrialisés font l'ajout d'iode dans le sel de table, diminuant ainsi les cas d'hypothyroïdie causés par une carence en iode. Paradoxalement, le nombre de cas d'hypothyroïdie ne cesse de croître, ce qui suggère une plus grande prévalence des autres causes, quoique le vieillissement de la population pourrait également expliquer ce phénomène. De plus, des chercheurs canadiens ont mis au point en 1975 un test sanguin permettant de dépister de façon systématique, chez tous les nouveaux-nés, l'hypothyroïdie néonatale caractérisée par l'absence de la glande thyroïde à la naissance [49]. Un traitement précoce permettra ainsi à l'enfant d'avoir un développement normal.

Il a été démontré que des individus hypothyroïdiens ont des concentrations plasmatiques élevées de cholestérol total et de cholestérol-LDL [52]. D'ailleurs, quelques études ont suggéré que l'hypothyroïdie pourrait être un facteur de risque du type III [14, 53]. Cette hypothèse s'appuie sur le profil lipidique athérogénique et l'obésité présents chez la majorité des individus atteints d'hypothyroïdie. Ainsi, même si aucune étude n'a jusqu'à maintenant évalué l'implication de la présence de l'hypothyroïdie dans le risque d'exprimer le type III, les effets délétères à long terme de l'hypothyroïdie sur le métabolisme lipidique, associés à d'autres facteurs de risque métaboliques, génétiques ou environnementaux, pourraient expliquer l'expression du type III chez certains individus exprimant cette dyslipidémie [51].

1.3.4 La ménopause

La ménopause se définit par l'arrêt complet des menstruations depuis au moins 12 mois, précédé d'un cycle menstruel irrégulier depuis quelques années et d'intervalles de plus en plus courts entre chaque menstruation [54]. À la ménopause, les ovaires cessent de remplir leur rôle de glandes endocrines par l'arrêt de sécrétion d'œstrogène provoquant l'atrophie des organes génitaux et des seins [55]. D'autres changements peuvent aussi survenir, tels que des troubles d'humeur, une vasodilatation des vaisseaux sanguins de la peau entraînant des bouffées de chaleur, un amincissement de la peau et une perte de masse osseuse [55]. Une étude portant sur 2570 femmes âgées entre 45 et 55 ans a permis d'évaluer l'âge médian de la ménopause à 51,3 ans. Les auteurs ont toutefois remarqué une ménopause plus précoce chez les fumeuses et les femmes n'ayant jamais eu d'enfants [56].

Il est maintenant connu que le processus de développement d'une maladie, les symptômes, le diagnostic et la réponse aux traitements sont différents chez l'homme et la femme. Par exemple, l'espérance de vie est plus élevée chez les femmes et ces dernières développent des maladies cardiovasculaires 10 à 20 ans plus tard que les hommes [57]. Cette protection cardiovasculaire avant la ménopause pourrait s'expliquer

par la présence de l'œstrogène qui favoriserait un meilleur profil lipidique [58]. En effet, comme les hormones sexuelles influencent la distribution du gras corporel, le profil d'obésité gynoïde, retrouvé principalement chez les femmes non ménopausées, confère un risque cardiovasculaire moindre que le profil d'obésité androïde. D'ailleurs, il a été démontré que l'apparition de la ménopause est associée à un gain de poids et à un changement dans la distribution des gras corporels en favorisant la région abdominale [59]. L'obésité androïde étant associée à une augmentation de la résistance à l'insuline et des concentrations de TG, expliquerait l'augmentation du risque cardiovasculaire observée à la ménopause [54]. Comme l'œstrogène augmente la quantité de R-LDL, l'absence d'œstrogène à la ménopause provoque la diminution de ces récepteurs, ce qui entraîne par conséquent l'accumulation de lipoprotéines athérogéniques et pourrait expliquer l'expression du type III chez les femmes d'un certain âge [60]. De plus, comme l'œstrogène influence négativement l'activité de la LH, l'activité de cette dernière augmente avec le retrait des oestrogènes à la ménopause, ayant pour conséquence la formation d'une plus grande quantité de particules LDL petites et denses et la diminution de cholestérol-HDL [61]. Heureusement, l'hormonothérapie permet de remédier à ces effets pro-athérogéniques de la ménopause, de même qu'à la prévention d'autres conséquences, telles que l'ostéoporose et les bouffées de chaleur. Cependant, la prise d'hormonothérapie est controversée par son implication potentielle dans le développement du cancer du sein et même des maladies cardiovasculaires. Des études récentes ont mis en évidence le rôle ambivalent de l'hormonothérapie dans la prévention des maladies cardiovasculaires [62].

Les maladies cardiovasculaires apparaissent donc plus tardivement chez les femmes par rapport aux hommes en raison de l'œstrogène qui aurait un rôle cardioprotecteur. Il est alors possible de déduire que l'expression du type III serait plus tardive chez les femmes et que le retrait des oestrogènes à la ménopause pourrait effectivement être un facteur de risque de cette dyslipidémie.

1.4 Les facteurs de risque génétiques

1.4.1 La lipase lipoprotéique

La LPL est un membre de la superfamille des lipases incluant la LH et la lipase pancréatique [63]. La LPL est synthétisée principalement dans le tissu adipeux et les muscles squelettiques mais elle est également formée dans les macrophages, les poumons, les reins, les neurones, les ovaires, les testicules, la rate, le cœur, le foie, le pancréas, les glandes surrénales et les glandes mammaires lactantes [64, 65]. Le principal rôle de la LPL est l'hydrolyse des TG, transportés dans la circulation sanguine par les chylomicrons et les VLDL, pour former des acides gras non estérifiés et du 2-monoacylglycérol, utilisés par les tissus comme source ou réserve d'énergie [63, 65]. Le site d'action de la LPL est situé à la surface luminale des vaisseaux sanguins, à laquelle l'enzyme est attaché par une chaîne de liaison hautement chargée, le HSPG (*heparan sulphate-proteoglycans*) [65]. La forme active de la LPL est un homodimère requérant un cofacteur spécifique, soit l'apo CII [65].

La LPL joue un rôle dans de nombreuses pathologies par son implication directe ou indirecte dans le développement de l'athérosclérose, de l'obésité, du diabète de type 2, de l'hyperchylomicronémie, de la maladie d'Alzheimer et de la cachéxie [63]. En 1973, Donald Zilversmit a suggéré l'importance de la LPL dans le processus athérosclérotique, en émettant l'hypothèse que l'enrichissement en cholestérol des chylomicrons et des VLDL, suite à l'hydrolyse des TG par la LPL, serait responsable des dépôts de cholestérol dans la paroi artérielle [66]. Comme l'hydrolyse des VLDL par la LPL permet ensuite la formation de LDL, un contributeur majeur de l'athérosclérose, l'oxydation des LDL et la captation de ces particules par les macrophages, via le récepteur « scavenger », entraîneraient la formation de cellules spumeuses [66]. D'ailleurs, il a été démontré que la LPL est présente en faibles concentrations dans la paroi des vaisseaux normaux mais qu'elle est abondante dans les lésions athérosclérotiques étant synthétisée et recrutée premièrement par les macrophages en réponse à une rétention des LDL oxydées sur la matrice extracellulaire, et ensuite par les

cellules spumeuses dans les lésions avancées [66, 67]. Dans les lésions athérosclérotiques, les cellules spumeuses seraient donc la principale source de LPL [66]. Par contre, il a rapidement été constaté que le rôle de la LPL dans l'athérogénèse varie selon les tissus où elle est exprimée. Ainsi, la LPL serait pro-athérogénique au niveau de la paroi artérielle alors que, dans les tissus musculaire et adipeux, la LPL peut constituer un facteur de protection en stimulant l'élimination des lipoprotéines en circulation ainsi qu'en augmentant le niveau de cholestérol-HDL [66].

Le gène de la LPL est situé sur le chromosome 8p22 et est formé de 10 exons et 9 introns [63]. Jusqu'à ce jour, une centaine de polymorphismes sur le gène de la LPL ont été répertoriés [64]. Certains ont été associés, à l'état hétérozygote, à un profil lipidique pro-athérogénique et à une augmentation du risque cardiovasculaire, en diminuant l'activité de la LPL, entraînant ainsi une augmentation des niveaux de TG et une réduction des niveaux de cholestérol-HDL [64]. À l'état homozygote, ces polymorphismes ont les mêmes conséquences sur la LPL mais l'effet est beaucoup plus sévère, allant même jusqu'à supprimer complètement son activité. D'un autre côté, il y a des polymorphismes associés à une augmentation de l'activité de la LPL qui pourraient conférer une protection contre la maladie cardiovasculaire athérosclérotique [68]. En effet, le polymorphisme S447X, présentant une fréquence autour de 20% dans la population, a été associé à une diminution de la concentration des TG, une augmentation de la concentration de cholestérol-HDL ainsi qu'à une diminution de la pression sanguine et du risque de maladie cardiovasculaire [64]. Cette association a surtout été observée chez les hommes.

La région du SLSJ est caractérisée par une fréquence élevée de la déficience familiale en LPL [68]. Les principales mutations retrouvées dans la population sont P207L, G188E, D9N et N291S, associées à une augmentation des niveaux de TG et de cholestérol-HDL [68, 69]. À l'état hétérozygote, P207L et G188E, des mutations nulles, ont pour conséquence de diminuer de 50% l'activité de la LPL, alors que D9N et N291S, des mutations défectives, provoquent une diminution d'environ 25% [70]. À l'échelle mondiale, certaines mutations de la LPL sont également fréquentes, pouvant même

atteindre une fréquence de 5%, ce qui suggère une prévalence importante de dyslipidémies ailleurs dans le monde [71].

Puisque la LPL est impliquée dans le métabolisme des TG et que des mutations de la LPL présentent une fréquence élevée dans la population, il a été suggéré que la LPL pourrait être un facteur de risque génétique précipitant l'expression du type III [72]. D'ailleurs, la mutation N291S a été associée à l'expression du type III chez des individus homozygotes pour l'apo E2 [72, 73]. Plusieurs facteurs génétiques, métaboliques et environnementaux semblent favoriser l'expression du type III via leur effet sur la LPL. Parmi ceux-ci, notons l'apo CIII, qui est un important inhibiteur de la LPL, le diabète de type 2, l'alimentation, la médication et même l'exposition au froid [68, 74, 75].

1.4.2 La lipase hépatique

La LH est une protéine de 499 acides aminés, synthétisée par les hépatocytes, les ovaires et les glandes surrénales, et retrouvée à la surface des capillaires sinusoidaux du foie [76]. La LH a une activité enzymatique permettant l'hydrolyse des TG et des phospholipides faisant en sorte d'affecter le contenu des différentes classes de lipoprotéines [76]. La LH module la composition des résidus IDL et LDL pour obtenir des particules lipoprotéiques plus denses, en plus de participer au transport à rebours du cholestérol [76, 77]. Par exemple, sous l'action de la LH, les particules LDL de grande flottabilité forment des particules LDL petites et denses et il en est de même pour les particules HDL₂ qui se transforment en HDL₃ [78]. Un autre rôle de la LH est de favoriser la liaison des lipoprotéines avec le R-LDL et le récepteur « scavenger » situé sur les macrophages [76, 78].

Considérant l'implication de la LH dans le métabolisme des lipides, la LH a souvent été associée de façon controversée au risque cardiovasculaire. Il a déjà été démontré que la LH peut être pro- ou anti-athérogénique selon la balance entre la

production de particules LDL petites et denses et le taux de transport à rebours du cholestérol [77-79]. C'est le niveau d'activité de la LH et la concentration de cholestérol-LDL qui influenceraient la priorité entre les deux voies. En effet, une activité élevée de la LH en présence d'une concentration élevée de cholestérol-LDL permet leur conversion en particules LDL petites, denses et athérogéniques. De plus, la LH joue également un rôle pro-athérogénique lorsque son activité ainsi que la concentration de cholestérol-LDL sont faibles. Il se produit alors une diminution du transport à rebours du cholestérol et du catabolisme des TRL. Par contre, chez les individus ayant une faible concentration de cholestérol-LDL, une activité élevée de la LH est anti-athérogénique puisqu'il y a une augmentation du transport à rebours du cholestérol. Dans le cas contraire, une concentration élevée de cholestérol-LDL et une faible activité de la LH, limitant la formation de particules LDL petites et denses, confèrent également un rôle anti-athérogénique à la LH [78].

Suite à ce constat ambivalent, des recherches ont été effectuées afin d'identifier des facteurs modulant l'activité de la LH. Parmi ceux-ci, les mieux documentés sont le tabagisme, la résistance à l'insuline, la masse grasse abdominale, les androgènes, la T3 et la T4, l'héparine et les fibrates, qui augmenteraient l'activité de la LH. Par contre, l'œstrogène, l'adrénaline, la leptine, les acides gras saturés et les statines auraient pour effet de réduire l'activité de la LH [76, 80].

Le gène de la LH (LIPC), situé sur le chromosome 15 (q15-q22), est formé de 8 introns et 9 exons [81]. Comme l'activité de la LH est modulée par des facteurs génétiques, la diminution d'activité de la LH pourrait s'expliquer par la présence de certains polymorphismes, dont -250G/A, -514C/T, -710T/C et -763A/G, tous en déséquilibre de liaison les uns avec les autres [82-84]. Dans la littérature, les deux polymorphismes les plus étudiés sont -250G/A et -514C/T. Ces derniers présentent une fréquence très variable et élevée de leur allèle muté, d'où l'intérêt qui leur est porté. Par exemple, -514T a une fréquence allélique allant de 0,15 à 0,21 chez les caucasiens et entre 0,45 et 0,53 chez les américains d'origine africaine [85]. Donc, l'effet athérogène de ces variants géniques par leur influence sur l'activité de la LH dépend des

concentrations plasmatiques de cholestérol-LDL. Chez les individus atteints de type III, puisque les concentrations de cholestérol-LDL tendent à être réduites, la présence de -250A ou -514T pourrait ainsi conférer un risque cardiovasculaire accru par la diminution du transport à rebours du cholestérol, et par le fait même, la diminution de formation de cholestérol-HDL. Même si peu d'études se sont attardées sur l'implication de cette voie lipidique dans l'expression du type III, cela demeure une avenue intéressante pour des études ultérieures.

1.4.3 L'apolipoprotéine CIII

L'apo CIII fait partie de la famille des apolipoprotéines C, tout comme l'apo CI et l'apo CII. L'apo CIII est un constituant majeur des chylomicrons, des VLDL et des HDL et a comme principal rôle d'inhiber l'activité de la LPL [2, 74]. Cette protéine est synthétisée dans le foie et en petite quantité dans l'intestin.

Comme l'apo CIII est impliquée dans le transport et le métabolisme du cholestérol et des TG, elle représente une bonne candidate pour la détermination d'associations génétiques entre les niveaux de lipoprotéines et les dyslipidémies. Par son inhibition de l'activité de la LPL, l'apo CIII diminue l'hydrolyse des TRL causant ainsi une augmentation des niveaux de TG et une accumulation plasmatique des TRL athérogéniques (Figure 5) [86]. De plus, l'apo CIII diminue la captation des résidus lipoprotéiques par les récepteurs B/E hépatiques et interfère avec la liaison des lipoprotéines à la matrice cellulaire de protéoglycans [87]. Il est à noter que la distribution de l'apo CIII est variable puisque la majorité de l'apo CIII est liée aux HDL chez les sujets normolipidiques, alors que chez les hypertriglycéridémiques l'apo CIII est surtout liée aux TRL [2]. L'apo CIII est donc transférée des HDL vers les TRL durant la lipolyse, surtout activée en période postprandiale.

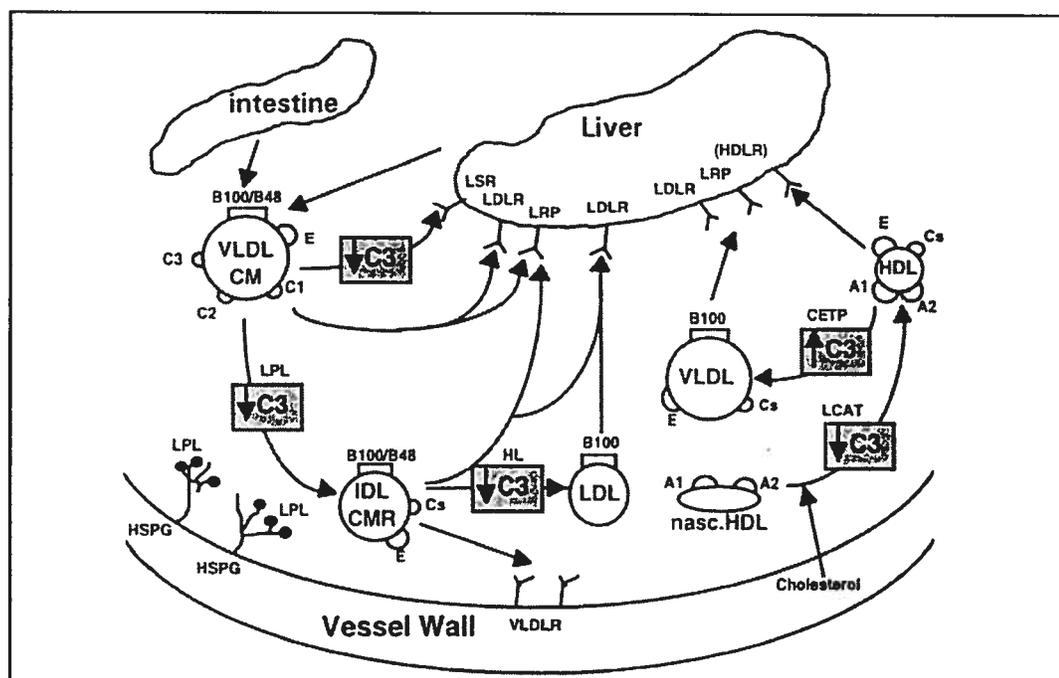


Figure 5. Effets de l'apolipoprotéine CIII sur le métabolisme des lipoprotéines : inhibition (↓) ou activation (↑) de la lipolyse, de l'élimination et de la liaison hépatique des lipoprotéines

A1, apolipoprotéine AI; A2, apolipoprotéine AII; B-100, apolipoprotéine B-100; B-48, apolipoprotéine B-48; C1, apolipoprotéine CI; C2, apolipoprotéine CII; CETP, protéine de transfert des esters de cholestérol; E, apolipoprotéine E; HDL, lipoprotéine de haute densité; HDLR, récepteur des HDL; LH, lipase hépatique; HSPG, *heparan sulphate-proteoglycans*; IDL, lipoprotéine de densité intermédiaire; LCAT, *lécithine-cholestérol-acyl-transférase*; LDL, lipoprotéine de faible densité; R-LDL, récepteur des LDL; LPL, lipase lipoprotéique; LRP, récepteur apparenté à celui des LDL; LSR, *lipolysis stimulated receptor*; R-VLDL, récepteur des VLDL. (Tirée de Jong, M.C.; 1999 [88])

Le gène de l'apo CIII (APOC3) est situé sur le bras long du chromosome 11 (11q23.3) et a une longueur de 3,1 kb [89]. Formé de quatre exons et trois introns, il est entouré par les gènes APOA1 et APOA4 dans un groupement de 15 kb (Figure 6) [90]. APOC3 est contrôlé de façon positive et négative par un élément régulateur retrouvé tout au long du groupement APOA1/C3/A4. Plusieurs polymorphismes du gène APOC3 ont été identifiés. Parmi ceux-ci, *Sst1* (-3238C/G), présentant les allèles S1 et S2, se retrouve dans la région 3' non transcrite. Il existe d'autres variants géniques dont -935G/A, -641C/A, -630G/A, -482C/T, -455T/C et la délétion -625T situés dans le promoteur, en plus de -110C/T situé dans l'exon 3 [91]. Les plus étudiés étant -482C/T et -455T/C, il est reconnu que ces derniers sont en déséquilibre de liaison entre eux et avec *Sst1*. De

plus, ces polymorphismes sont à proximité d'un élément de réponse à l'insuline, un modulateur des niveaux d'insuline, situé entre les nucléotides -449 et -490 du promoteur.

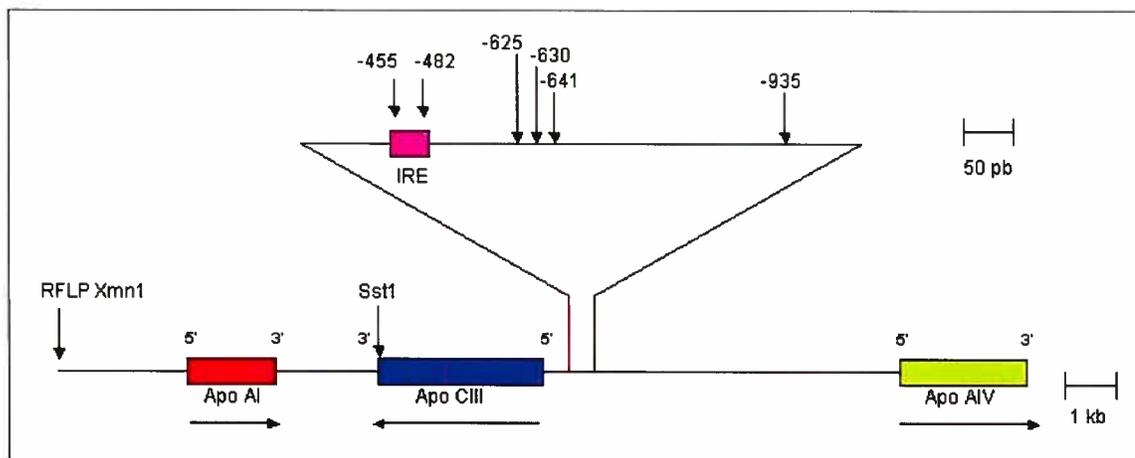


Figure 6. Localisation des polymorphismes du gène APOC3 et organisation du regroupement APO A1/C3/A4
(Tirée de Shoulders, C.C. ; 1996 [92])

Les analyses génétiques chez des souris ont permis de mettre en évidence l'influence de polymorphismes du gène APOC3 sur le métabolisme des lipoprotéines. D'ailleurs, l'ajout de copies du gène APOC3 humain chez des souris transgéniques résulte en une hypertriglycéridémie, alors qu'une réduction des TG est observée chez des souris tronquées pour ce gène [93]. Chez l'humain, la présence de polymorphismes à proximité du gène de l'apo CIII a également été associée avec des niveaux élevés de lipides, une plus grande prévalence de maladies cardiovasculaires et une plus grande susceptibilité d'exprimer une hypertriglycéridémie [94, 95]. Tout d'abord, il a été observé que la fréquence de l'allèle S2 du variant génique *Sst1* est augmentée chez des individus hypertriglycéridémiques [94, 95]. L'allèle S2 semble également être associé à une augmentation des niveaux de cholestérol-LDL, TG-LDL et TG-HDL ainsi qu'à une diminution des niveaux de cholestérol-LDL et cholestérol-HDL₃ chez des hommes présentant une obésité abdominale, par rapport aux sujets homozygotes pour l'allèle S1 [96]. Certaines études ont même rapporté une association entre S2 et les niveaux d'apo B, de cholestérol total et la pression sanguine systolique [97].

Deux autres polymorphismes situés dans le promoteur les plus fréquemment étudiés, -482C/T et -455T/C, ont été associées à l'hypertriglycéridémie [94, 98]. Étant situés dans l'élément de réponse à l'insuline, ces deux variants géniques sont plus souvent associés à une diminution de la réponse à l'insuline, en inactivant cet élément de réponse à l'insuline [99]. Par exemple, l'allèle sauvage -482C permet une régulation négative de la transcription du gène APOC3 par l'insuline lorsque les niveaux d'insuline sont élevés. Par contre, l'allèle muté -482T abolit l'effet de l'insuline sur l'activité du promoteur, le rendant constitutivement actif pour toutes les concentrations d'insuline [99]. C'est pourquoi, l'apo CIII a été proposé comme facteur de risque génétique de la résistance à l'insuline [91]. D'ailleurs, l'allèle -482T a été associé à une augmentation des niveaux de glucose et d'insuline durant une hyperglycémie orale provoquée, suggérant une diminution de la tolérance au glucose et une certaine résistance à l'insuline chez les porteurs de l'allèle -482T [91]. De plus, il semblerait que le variant sauvage -455T serait responsable de 40% à 50% de la régulation négative du gène APOC3, médiée par l'insuline [99].

Ainsi, tout indique que des polymorphismes du gène APOC3 contribuent au développement du type III par leur implication dans l'apparition de facteurs métaboliques nécessaires au développement de la maladie, tels que l'hypertriglycéridémie et la résistance à l'insuline. Sijbrands a d'ailleurs observé une expression sévère du type III chez des sujets hyperinsulinémiques, homozygotes pour l'apo E2 et porteur de l'allèle S2 [100]. Ces résultats suggèrent une implication d'APOC3 comme facteur génétique entraînant l'expression du type III. Comme l'APOC3 est également en interaction avec l'insulinémie, via les variants -455T/C et -482C/T de l'élément de réponse à l'insuline, il est d'autant plus pertinent de tenir compte de ce gène dans la recherche étiologique de cette dyslipidémie.

1.5 Les facteurs de risque environnementaux et les habitudes de vie

1.5.1 La consommation d'alcool

Il y a longtemps que la consommation abusive d'alcool est reconnue comme étant la cause de plusieurs perturbations métaboliques mais la communauté scientifique s'y intéresse depuis seulement une trentaine d'années. Aujourd'hui les moyens de prévention et les traitements associés à une consommation abusive d'alcool sont bien documentés [101]. Cet intérêt est d'autant plus pertinent sachant que l'OMS estime le nombre de consommateurs à plus de deux milliards de personnes, dont 76,3 millions présenteraient une dépendance à l'alcool [102]. Parmi les conséquences liées à une consommation abusive d'alcool, plusieurs présentent une sévérité variable selon la quantité d'alcool consommée et la régularité de consommation. La dépendance à l'alcool entraîne notamment des dommages cellulaires et tissulaires pouvant résulter en une cirrhose du foie, une pancréatite, des cardiomyopathies, de l'hypertension artérielle, des anomalies cérébrales, un déficit immunitaire et diverses formes de cancers affectant la bouche, le larynx, le pharynx, l'œsophage et le foie [103].

De plus, certaines populations ont une tolérance à l'alcool inférieure à d'autres causant plus rapidement des dommages cellulaires et tissulaires. Ceci pourrait s'expliquer par la variation de la structure et du niveau d'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme de dégradation de l'alcool selon l'origine ethnique [104]. D'ailleurs, des études sur le processus d'ingestion de l'éthanol ont démontré que l'absorption de l'alcool au niveau gastro-intestinal, la distribution de l'alcool dans le corps et son élimination, sont influencées par des facteurs génétiques et environnementaux variants d'une ethnie à l'autre [103].

Bien que la consommation d'alcool soit associée à plusieurs pathologies, elle aurait également un effet cardioprotecteur. En effet, il a été démontré que les individus qui consomment de l'alcool de façon modérée ont un plus faible risque de décès par maladie coronarienne par rapport à ceux qui ne consomment pas d'alcool [105].

Plusieurs mécanismes ont été suggérés, tels que l'influence sur la fonction hépatique, sur la sensibilité à l'insuline et sur l'inflammation, mais il semblerait que l'augmentation des concentrations de cholestérol-HDL soit la principale conséquence d'une consommation d'alcool régulière et modérée [103]. Une diminution des concentrations de cholestérol-LDL chez les consommateurs a également été rapportée mais cet effet est plus controversé et dépendrait de beaucoup d'autres facteurs [106]. L'impact fonctionnel d'une augmentation des concentrations de cholestérol-HDL n'est pas clairement défini mais l'action protectrice pourrait impliquer une augmentation de l'activité de la paraoxonase, une enzyme dont le rôle est de protéger les LDL contre l'oxydation. Donc une consommation modérée et régulière d'alcool, sans période épisodique d'alcoolisme, aurait un effet bénéfique au niveau cardiovasculaire. Comme les habitudes de consommation sont variables d'un pays à l'autre, aucune étude n'avait permis jusqu'à maintenant de définir la quantité et le type de boissons alcooliques conférant de tels bénéfices. Toutefois, une étude récente chez des sujets américains a permis de démontrer que l'ingestion de plus de deux consommations alcoolisées par jour est associée à une augmentation du risque de présenter un accident vasculaire cérébral et que le vin rouge, comparativement au vin blanc, à la bière et aux liqueurs alcoolisées, est associé à un plus faible risque [107]. Les effets bénéfiques du vin rouge seraient causés par des composées phénoliques ayant comme propriété de prévenir l'oxydation des particules de cholestérol-LDL [107].

D'un autre côté, une consommation abusive d'alcool exerce un effet délétère sur le métabolisme lipidique en augmentant les niveaux de TG [108]. Il a été démontré que l'ingestion d'une grande quantité d'alcool augmente la concentration de TG-VLDL et augmente par le fait même le risque cardiovasculaire [109]. Cet effet hypertriglycéridémiant pourrait donc être un facteur de risque environnemental influençant l'expression du type III.

1.5.2 Les habitudes alimentaires

Au cours des dernières décennies, l'augmentation de l'obésité et des perturbations qui lui sont associées, causée en partie par la modification des habitudes alimentaires vers une alimentation dite « rapide », riche en gras saturé et très calorifique, a entraîné l'apparition de nombreux régimes amaigrissants. Ce phénomène n'est que la réponse à un besoin de société si l'on tient compte d'une étude américaine démontrant qu'un tiers des adultes tente de perdre du poids alors qu'un autre tiers essaie de maintenir leur poids [110]. La principale cible des diètes étant le gras, on retrouve sur le marché une grande quantité de produits portant la mention « faible en gras » ou « sans gras ». Toutefois, ces produits contiennent souvent plus d'hydrates de carbone et de sucres et ne semblent pas apporter l'effet escompté étant donné que la prévalence d'obésité et de diabète de type 2 ne cesse d'augmenter [111]. Dès lors, certains pays ont fait de la saine alimentation leur principal cheval de bataille en santé publique. Ainsi, des programmes nationaux de recommandations nutritionnelles ont vu le jour, tels que le *Guide alimentaire canadien pour manger sainement*, créé en 1990. Ce guide suggère une alimentation variée, axée sur les quatre groupes alimentaires, surtout les glucides complexes, et riche en vitamines et minéraux [112].

L'alimentation joue un rôle important dans le traitement du type III et d'autres dyslipidémies. Dans certains cas, seule une diète diminuant les taux de lipides sanguins permet de normaliser le bilan lipidique. L'objectif d'une telle diète est de diminuer l'apport en cholestérol, en acides gras saturés et parfois en calories si le patient présente un surplus de poids [113]. De plus, la consommation de glucides complexes, tels que les féculents, les légumineuses, les fruits et les légumes, doit être augmentée. Ainsi, une diète faible en cholestérol aura pour effet d'augmenter la synthèse de R-LDL et par le fait même diminuer la concentration de cholestérol en circulation. De plus, la restriction de l'apport en acides gras saturés, en faveur des acides gras monoinsaturés et polyinsaturés, aura pour conséquence de diminuer les concentrations de cholestérol-LDL et même d'augmenter celles de cholestérol-HDL [38]. Donc, les effets bénéfiques d'une telle diète sur le métabolisme lipidique sont nombreux et validés [111]. C'est pourquoi,

une mauvaise alimentation riche en acides gras saturés et en cholestérol aura un effet délétère pro-athérogénique sur le métabolisme lipidique et constitue un facteur de risque environnemental modifiable de l'expression du type III.

1.5.3 L'activité physique

La sédentarité est un phénomène en croissance, en conséquence d'un accès facilité à de nombreux moyens de transport et à la technologie pouvant remplacer l'action humaine. Associée à de mauvaises habitudes alimentaires, l'inactivité physique est en partie responsable de l'augmentation de l'obésité, du diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires [114, 115]. Il est reconnu que l'activité physique est associée à une plus grande espérance de vie et à une diminution d'environ 30% de la mortalité [116]. Il est admis que la pratique régulière d'une activité physique réduit la pression sanguine, augmente la sensibilité à l'insuline, améliore le profil lipidique par l'augmentation des concentrations de cholestérol-HDL et la diminution des concentrations de cholestérol total, de cholestérol-LDL et de TG [114]. Dans un processus de perte de poids, l'activité physique est d'autant plus importante puisqu'elle favorise l'utilisation du gras corporel comme source d'énergie plutôt que de l'emmagasiner dans les cellules adipeuses [117]. Des bénéfices psychologiques au niveau de la gestion de l'anxiété et de la dépression ont également été observés chez les individus faisant de l'activité physique régulièrement depuis plusieurs années [118].

Malheureusement, l'inactivité physique est fréquente et ce, partout dans le monde. Par exemple, une étude américaine a démontré que 22% des adultes font de l'exercice sur une base régulière, 60% pratiquent une activité physique de façon ponctuelle et 25% sont sédentaires [117]. De plus, l'inactivité physique est plus fréquente chez les femmes que chez les hommes et augmente rapidement chez les personnes de plus de 65 ans. En ce qui à trait aux enfants et aux adolescents, le portrait est encore plus désastreux depuis la grande popularité des jeux vidéo. Pour remédier à cette situation, plusieurs recommandations ont été émises. Il n'existe aucun consensus

sur la fréquence, la durée et l'effort qui doivent être fournis afin de prévenir l'apparition des conséquences liées à l'inactivité physique. Mais un minimum de 30 minutes par jour d'une activité physique modérée est recommandé [119].

La sédentarité, par ses nombreuses conséquences sur le métabolisme lipidique, la sensibilité à l'insuline et le maintien d'un poids santé, pourrait être un autre élément favorisant l'expression du type III chez des individus présentant d'autres facteurs de risque.

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Échantillon

Les 1836 participants de cette étude ont été recrutés à la Clinique régionale des maladies lipidiques du CSSSC à l'aide de critères précis associés au métabolisme lipidique. En effet, la sélection des sujets s'est effectuée selon la disponibilité des données concernant l'âge, le genre, l'IMC, le tour de taille, le diabète de type 2, le bilan thyroïdien, les maladies cardiovasculaires athérosclérotiques, le type III, l'hyperchylomicronémie familiale (type I), le ratio cholestérol-VLDL / TG, le génotype de l'apo E et l'absence de pharmacothérapie lors de la mesure du bilan lipidique. Les sujets traités à l'aide d'une thérapie hypolipémiante ont été exclus afin d'éliminer le biais introduit par la médication, dont les effets sont d'améliorer le profil lipidique d'individus ayant déjà présenté les caractéristiques d'une dyslipidémie. De plus, les individus exprimant le type I ont été éliminés car ces derniers présentent des signes cliniques semblables à ceux du type III, comme l'hypertriglycéridémie et un faible taux de cholestérol-LDL et de cholestérol-HDL, mais dont l'origine est l'homozygotie pour une mutation nulle dans le gène de la LPL [120]. De plus, ces individus n'ont pas un risque cardiovasculaire augmenté, comme les personnes exprimant le type III, mais plutôt un risque semblable à la population générale, alors que les principales conséquences du type I sont des douleurs abdominales et une pancréatite sévère. Les sujets ayant le génotype apo E2/4 ont quant à eux été exclus, étant donné la rareté et le peu de connaissance des effets de ce génotype sur le métabolisme lipidique. Tous les sujets ont donné leur consentement pour participer à cette étude et ont reçu un code permettant de dénominaliser systématiquement toutes les données cliniques [121]. L'étude a également reçu l'approbation du Comité d'éthique à la recherche du CSSSC.

2.2 Évaluation phénotypique

L'IMC a été calculé en kg/m^2 . Le critère d'obésité utilisé est un $\text{IMC} > 27 \text{ kg/m}^2$ [39]. Le tour de taille a été mesuré selon la procédure standard et une valeur supérieure à 90 cm chez l'homme ou 85 cm chez la femme est considérée comme étant élevée [40]. Le type III est diagnostiqué selon les critères énumérés dans le Tableau III. Les sujets contrôles non type III sont ceux n'ayant pas reçu de diagnostic de type III, d'hypercholestérolémie familiale, de type I et n'ayant pas un génotype apo E2/E4. Le diagnostic du diabète de type 2 est basé sur les critères de l'OMS, soit une glycémie à jeun de 7,0 mmol/L ou $\geq 11,1 \text{ mmol/L}$ deux heures suivant une charge orale de glucose (Glucodex, 75g) [122, 123]. L'hyperglycémie se traduit par une valeur de glucose à jeun $\geq 11 \text{ mg/L}$ [38]. Le critère diagnostique d'une maladie coronarienne athérosclérotique se traduit par une sténose $\geq 50\%$ dans au moins un vaisseau coronarien [124]. Le diagnostic de l'hypothyroïdie s'appuie sur des valeurs d'hormone thyroïdienne (TSH) $> 5 \text{ mU/L}$, tel que recommandé par l'*American Association of Clinical Endocrinologists* [125]. L'hypertension artérielle a été définie par la présence d'une pression systolique moyenne $\geq 140 \text{ mmHg}$ ou une pression diastolique moyenne $\geq 90 \text{ mmHg}$ mesurée au moins deux fois par visite, lors de deux visites médicales, ou par la prise d'hypotenseur [126]. La consommation régulière d'alcool correspond à une absorption supérieure à 5 onces d'alcool absolu par semaine.

Tableau III. Critères diagnostiques de la dysbêtalipopotéinémie de type III utilisés à la Clinique régionale des maladies lipidiques du Centre de santé et des services sociaux de Chicoutimi^a

-
- cholestérol-VLDL / TG $> 0,5$
 - une concentration de cholestérol total équivalente à celle des TG (en mg/dL)
 - la présence de VLDL ayant une migration électrophorétique pré- β
 - la présence de xanthes plans palmaires ou tubéreux
 - un génotype apo E2/2
-

^aLe diagnostic du type III est basé sur la présence d'au moins deux de ces critères. VLDL, lipoprotéine de très faible densité; TG, triglycéride

2.3 Analyse métabolique

Tous les prélèvements sanguins ont été effectués après un jeûne de 12 heures et le sang a été recueilli dans un tube de prélèvement contenant l'anticoagulant EDTA. Les concentrations plasmatiques de cholestérol et de TG ont été mesurées à l'aide d'analyses enzymatiques sur un Multiparity Analyzer CX7 (Beckman). Les particules de VLDL ($d < 1,006$ g/mL) ont été isolées par ultracentrifugation alors que les concentrations de HDL ont été obtenues après précipitation des particules LDL ($d > 1,006$ g/mL) au dextran-sulfate et chlorure de magnésium ($MnCl_2$) [127]. Le ratio cholestérol-VLDL / TG a permis d'estimer la concentration plasmatique des particules IDL. La concentration d'apo B a été déterminée par néphélométrie.

2.4 Analyse génotypique

2.4.1 Extraction de l'ADN

L'acide désoxyribonucléique (ADN) génomique a été extrait à partir de culots sanguins selon la technique Genomic-tip 100/G (QIAGEN) [128]. Cette technique consiste à faire éclater les globules rouges du sang en créant un choc osmotique et à purifier le culot avec l'ajout de détergent et d'une protéinase K ayant pour rôle de détruire les résidus cellulaires. L'ADN libre est ensuite précipité sous forme de filament en utilisant de l'alcool isopropylique. L'ADN peut être dissous dans un tampon à 55°C, ce qui facilite sa congélation et le maintien de sa stabilité pour les analyses génotypiques ultérieures.

2.4.2 Amplification en chaîne par polymérase (PCR)

La technique PCR (*polymerase chain reaction*) permet d'amplifier de façon exponentielle des séquences spécifiques d'ADN et d'augmenter ainsi sa quantité [129]. La portion d'ADN à amplifier doit être délimitée par des amorces composées d'oligonucléotides complémentaires aux deux brins d'ADN et d'une longueur d'environ

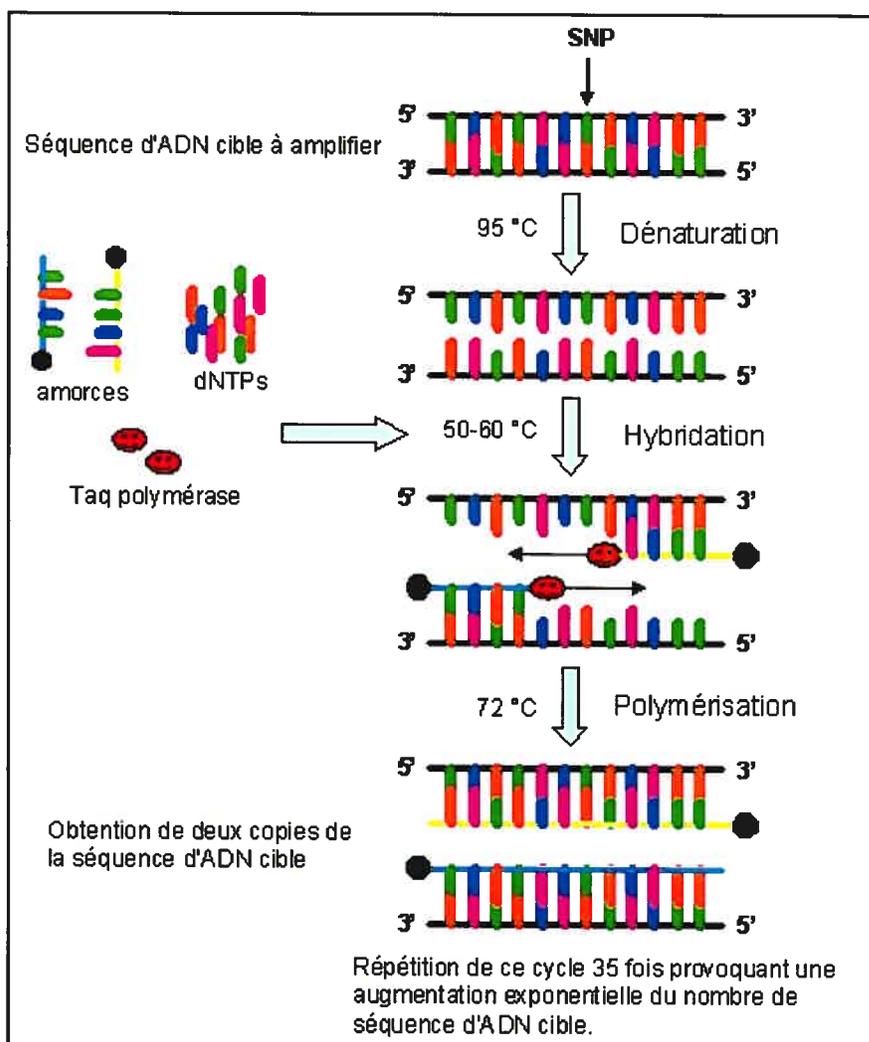


Figure 7. Amplification de séquences d'ADN cible selon la technique d'amplification en chaîne par polymérase (PCR)

La technique PCR consiste en trois étapes : la dénaturarion, l'hybridation et la polymérisation dont le résultat final est la multiplication du nombre d'un fragment d'ADN cible.

SNP, polymorphisme; dNTPs, nucléotides libres; ADN, acide désoxyribonucléique.

18 à 30 nucléotides. Trois étapes distinctes mènent à l'amplification d'un seul double brin d'ADN et ce cycle est répété une trentaine de fois pour obtenir une grande quantité de séquence d'ADN cible (Figure 7). La première étape consiste à la dénaturarion de l'ADN qui se traduit par la séparation des deux brins dans des conditions précises, soit une température de 95°C durant environ une minute. Ensuite, l'hybridation effectuée entre 50°C et 60°C permet la fixation d'une amorce sur chacun des deux brins. La dernière étape, la polymérisation, se fait à l'aide d'une ADN polymérase résistante à la

chaleur, soit la Taq polymérase extraite d'une bactérie thermophile. La Taq polymérase a pour rôle de former de nouveaux brins d'ADN complémentaires aux brins d'origine à partir des amorces et de nucléotides libres ajoutés dans la réaction.

2.4.3 Polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP)

En ce qui à trait à ce projet, l'enzyme de restriction *Hha I* a été utilisée pour génotyper l'apo E, ainsi que les enzymes *Taq I*, *Rsa I* et *Dde I* pour les mutations D9N, N291S et P207L du gène de la LPL [130-133]. L'électrophorèse a été effectuée sur un gel de polyacrylamide 8% pour l'apo E et 12% pour la LPL.

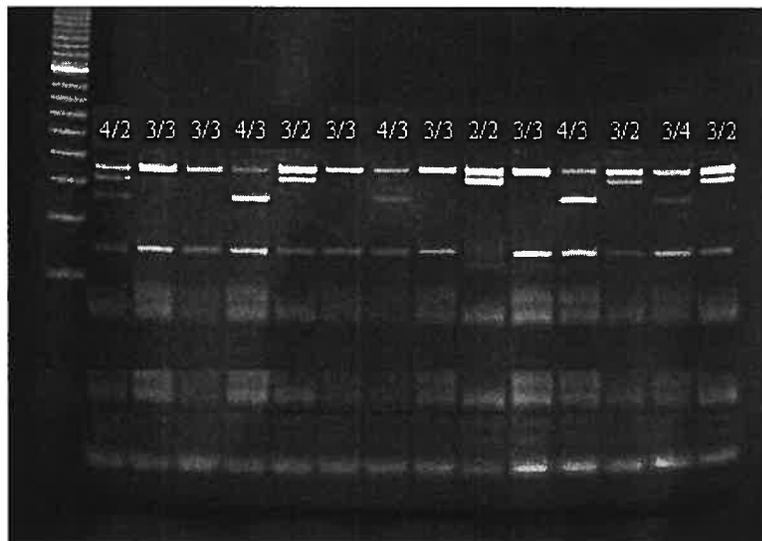


Figure 8. Électrophorèse sur un gel de polyacrylamide 12% représentant les génotypes de l'apolipoprotéine E

Suite à l'amplification de l'ADN par la technique PCR, il est possible de connaître le génotype de chaque individu pour un polymorphisme précis à l'aide de la technique RFLP (*restriction fragment length polymorphisms*) [134]. Cette technique est basée sur l'utilisation d'une enzyme de restriction, soit une endonucléase extraite de bactéries et capable de reconnaître une courte séquence spécifique de 4 à 10 pb lui permettant ensuite de cliver l'ADN à l'endroit reconnu. Les fragments obtenus sont

ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose ou de polyacrylamide. La migration permet de séparer les fragments selon leur taille et ainsi d'identifier le patron de migration de chaque individu, soit différents fragments de tailles précises représentant les allèles d'un même polymorphisme (Figure 8).

2.4.4 Fluorescence polarisée (FP)

Cette technique a été utilisée pour les polymorphismes du gène LIPC (-250G/A et -514C/T) ainsi que pour ceux du gène APOC3, (-482C/T, -455T/C et -3238C/G).

La fluorescence polarisée (FP) est une technique de génotypage à débit moyen dont la première étape consiste en une amplification par la technique PCR [135]. La deuxième étape est une dégradation des amorces et des nucléotides libres en excès à l'aide du réactif Exo-SAP (PerkinElmer Life Sciences) (Figure 9). Ensuite, l'ajout d'autres amorces, se terminant au nucléotide précédent le polymorphisme, sont ajoutées ainsi que l'AcycloPol, une polymérase de grande affinité. Cette dernière permet la liaison d'un AcycloTerminator à la suite de l'amorce et se caractérise par un nucléotide complémentaire au polymorphisme et marqué d'un fluorochrome.

Les fragments amplifiés et marqués par un fluorochrome sont excités par une lumière polarisée (Figure 10). Selon le principe de fluorescence polarisée, une grosse molécule, liée à un fluorochrome, subit une rotation lente permettant la conservation de la lumière polarisée, tandis qu'une petite molécule tourne rapidement sur elle-même et une dépolarisation de la lumière est alors observée [136]. Donc, le génotype de chaque individu est identifié selon la fluorescence polarisée émise pour chaque fluorochrome associé à un des quatre nucléotides.

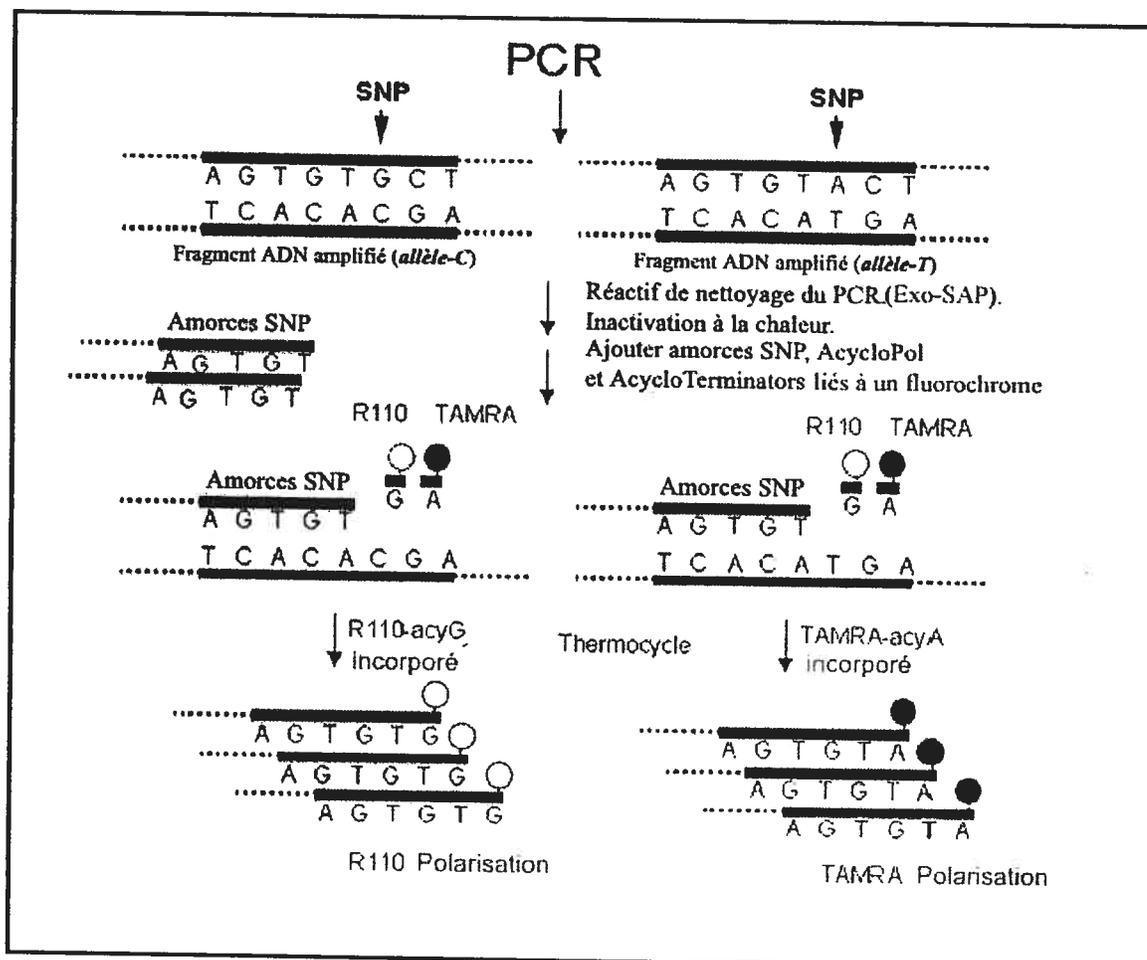


Figure 9. Génotypage selon la technique de fluorescence polarisée

Suite à une amplification en chaîne par polymérase (PCR), des amorces se lient au fragment d'acide désoxyribonucléique (ADN) amplifié et une polymérase (Acyclopol) permet la liaison d'un nucléotide marqué d'un fluorochrome R110 ou TAMRA (AcycloTerminators). La lecture d'une lumière polarisée et fluorescente permet d'identifier l'allèle présent pour un polymorphisme (SNP) particulier chez un individu.

(Modifiée de Greene, R.A.; 2001 [137])

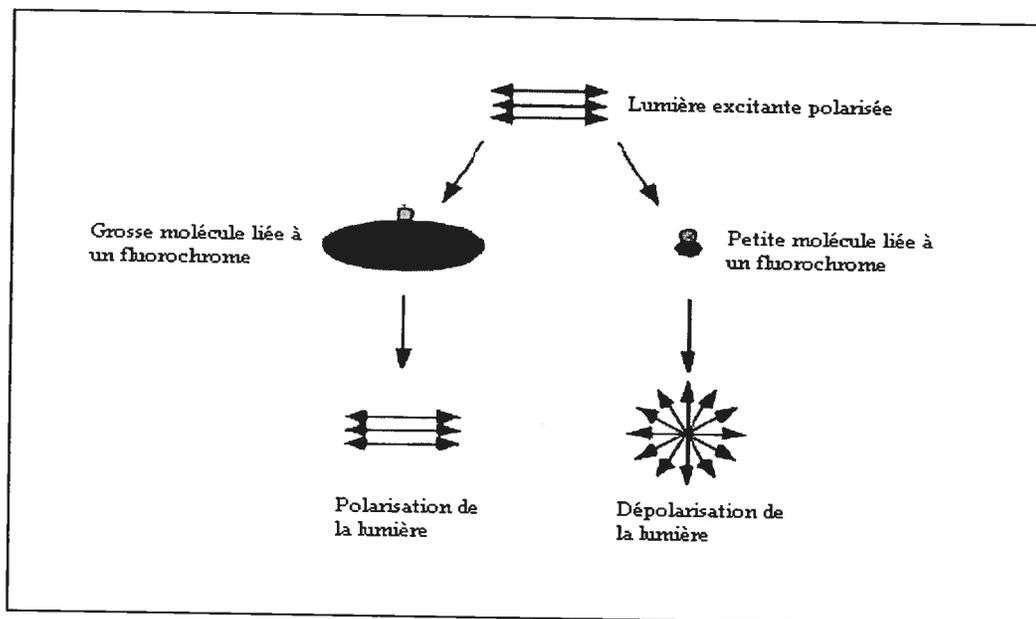


Figure 10. Principe de la fluorescence polarisée

Une grosse molécule, comme un fragment d'ADN amplifié marqué d'un fluorochrome, permet la conservation de la polarisation de la lumière et l'émission d'une fluorescence, tandis qu'une petite molécule dépolarise la lumière et n'émet aucun signal.

(Tirée de Kwok, P.Y.; 2002 [136])

2.5 Analyses statistiques

Les distributions des variables discrètes ont été comparées entre les sujets atteints du type III et ceux non atteints à l'aide d'un test de χ^2 , alors que les variables continues ont été comparées à l'aide d'un test-*t* de Student bilatéral. L'égalité des variances des populations d'origine a été vérifiée à l'aide d'un test de Levene ($\alpha=0,05$). Les TG totaux ainsi que les fractions de TG liés aux différentes lipoprotéines ont subi une transformation logarithmique afin de normaliser leur distribution.

Différents modèles de régression logistique multivariée ont été construits afin d'évaluer l'effet de l'association entre le génotype apo E2/E3 avec des facteurs de risque métaboliques, génétiques et environnementaux sur la probabilité d'exprimer le type III. Le risque relatif [*odds ratio* (OR)] a été calculé en intégrant au modèle les variables susceptibles de modifier l'expression du type III, telles que l'âge, le genre, le diabète de type 2, la dysthyroïdie, le tour de taille, la présence de mutations dans le gène de la LPL

et une consommation régulière d'alcool. L'effet des variables discrètes a été évalué de façon dichotomique en fonction de l'absence ou de la présence de celles-ci. Une valeur P inférieure à 0,05 a été considérée comme étant significative. L'équilibre de Hardy-Weinberg a été vérifié pour tous les polymorphismes étudiés. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS version 10.0.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

3.1 Caractéristiques phénotypiques et génétiques des sujets

Parmi les 1836 individus participant à l'étude, 307 sujets ont reçu un diagnostic positif de type III (Tableau IV). Ceux-ci, majoritairement des hommes ($p < 0,001$), présentent un IMC ($p = 0,017$) et un tour de taille moyen plus élevés ($p = 0,001$), et un plus grand nombre d'entre eux sont des consommateurs réguliers d'alcool ($p = 0,003$) et de porteurs de mutations défectives ou nulles dans le gène de la LPL ($p = 0,001$). De plus, on remarque une différence statistiquement significative entre les deux groupes concernant la distribution des différents génotypes de l'apo E ($p < 0,001$). Notamment, 30,9% des individus exprimant le type III ont un génotype apo E2/2, par rapport à une prévalence nulle chez les non type III, alors que 39,8% des type III ont le génotype apo E2/E3. De plus, 69,1% des individus type III ne sont pas homozygotes pour l'apo E2 et 29,3% ne sont pas porteurs de l'allèle $\epsilon 2$. Les caractéristiques des sujets sont également présentées séparément chez les hommes (Annexe Ia) et les femmes (Annexe Ib).

L'équilibre de Hardy-Weinberg a été vérifié pour toutes les mutations et les polymorphismes étudiés. Les polymorphismes *Sst1* (-3238C/G) dans le gène de l'apo CIII, -514C/T et -250G/A dans le gène de la LH, ainsi que les mutations dans le gène de la LPL respectent la loi de l'équilibre Hardy-Weinberg. En ce qui à trait à l'apo E et aux polymorphismes -482C/T et -455T/C dans le gène de l'apo CIII, leurs probabilités se situent en-dessous de la limite inférieure d'acceptation de l'équilibre Hardy-Weinberg ($\alpha = 0,05$).

Les concentrations plasmatiques moyennes de cholestérol total, cholestérol-VLDL, TG totaux, TG-VLDL, TG-LDL et TG-HDL sont plus élevées chez les individus exprimant le type III ($p < 0,001$) (Tableau V). Le ratio β -VLDL / cholestérol-LDL ($p = 0,006$) et la concentration d'apo B totale ($p = 0,004$) sont également plus élevés.

Tableau IV. Caractéristiques des sujets selon le diagnostic du type III

	Non type III (n = 1529)	Type III (n = 307)	Valeur P
Homme / Femme	752 / 777	201/106	< 0,001
Âge (années) ^a	48,7 [48,1-49,3]	49,0 [47,8-50,3]	NS
IMC (kg/m ²) ^a	27,4 [27,2-27,7]	28,1 [27,6-28,5]	0,017
Tour de taille (cm) ^a	91,5 [90,8-92,2]	94,0 [92,7-95,2]	0,001
Diabète de type 2 (%) ^b	15,8	12,7	NS
MCA (%) ^b	22,2	19,2	NS
HTA (%) ^b	33,3	29,6	NS
Hypothyroïdie (%) ^{b,1}	8,8	8,2	NS
Ménopause (%) ^{b,2}	57,6	61,8	NS
Consommation d'alcool (%) ^{b,3}	5,6	10,2	0,003
LPL (%) ^{b,4}	14,8	22,6	0,001
Apolipoprotéine E (%) ^b			< 0,001
E 2/2	0	30,9	
E 3/2	23,1	39,8	
E 3/3	51,6	19,5	
E 4/3	22,4	7,8	
E 4/4	2,9	2,0	
LIPC -250G/A (%) ^{b,5}	41,7	47,7	NS
LIPC -514C/T (%) ^{b,6}	39,9	46,6	0,071
APOC3 -3238C/G (<i>Sst1</i>) (%) ^{b,7}	28,3	33,5	NS
APOC3 -482C/T (%) ^{b,8}	49,9	48,1	NS
APOC3 -455T/C (%) ^{b,9}	63,8	67,2	NS

IMC = Indice de masse corporelle ^a Moyenne [IC 95%] ^b Proportion d'individus exprimant le diabète de type 2, une maladie coronarienne athérosclérotique (MCA), l'hypertension artérielle (HTA), l'hypothyroïdie, étant ménopausée, ayant une consommation régulière d'alcool et porteurs de polymorphismes dans le gène de la lipase lipoprotéique (LPL), de la lipase hépatique (LIPC -250G/A et -514C/T) et de l'apolipoprotéine CIII (APOC3 -3238C/G, -482C/T et -455T/C). Informations disponibles pour (1) n=1717, (2) n=781, (3) n=1739, (4) n=1761, (5) n=667, (6) n=779, (7) n=748, (8) n=741, (9) n=701. NS=p>0,1.

Toutefois, les concentrations de cholestérol-LDL et cholestérol-HDL sont plus faibles chez les sujets type III ($p < 0,001$). Tel qu'attendu, le ratio cholestérol-VLDL / TG est plus élevé chez les type III, avec une valeur moyenne de 0,63, comparativement à 0,37 chez les non type III ($p < 0,001$). Le bilan lipidique moyen analysé séparément pour les hommes et les femmes suit cette même tendance, à l'exception des valeurs moyennes du ratio β -VLDL / cholestérol-LDL et la concentration totale d'apo B qui ne diffèrent pas significativement entre les hommes non type III et type III (Annexe II).

Tableau V. Bilan lipidique des sujets selon le diagnostic du type III^{a,b}

	Non type III (n=1504)	Type III (n=304)	Valeur P
Cholestérol total (mmol/L)	5,75 [5,68-5,81]	7,22 [6,96-7,49]	< 0,001
Cholestérol-VLDL (mmol/L)	0,90 [0,85-0,94]	2,26 [2,06-2,46]	< 0,001
Cholestérol-LDL (mmol/L)	3,19 [3,14-3,23]	2,93 [2,82-3,04]	< 0,001
Cholestérol-HDL (mmol/L)	1,11 [1,09-1,13]	0,94 [0,91-0,97]	< 0,001
TG (mmol/L) ^c	1,92 [1,85-2,00]	3,52 [3,24-3,82]	< 0,001
TG-VLDL (mmol/L) ^c	1,13 [1,08-1,18]	2,10 [1,94-2,27]	< 0,001
TG-LDL (mmol/L) ^c	0,30 [0,29-0,31]	0,38 [0,36-0,40]	< 0,001
TG-HDL (mmol/L) ^c	0,30 [0,29-0,31]	0,34 [0,32-0,35]	< 0,001
Cholestérol-VLDL / TG	0,37 [0,37-0,37]	0,63 [0,61-0,66]	< 0,001
β -VLDL / cholestérol-LDL	3,06 [3,03-3,09]	3,18 [3,10-3,27]	0,006
Apolipoprotéine B total (g/l)	1,11 [1,10-1,13]	1,17 [1,13-1,20]	0,004

VLDL, lipoprotéine de très faible densité; LDL, lipoprotéine de faible densité; HDL, lipoprotéine de haute densité; TG, triglycérides. ^a Moyenne [IC 95%]. ^b Le bilan lipidique a été calculé seulement chez les sujets pour qui toutes les variables présentées étaient disponibles après ultracentrifugation. ^c Les moyennes géométriques et les valeurs P ont été obtenues après une transformation logarithmique (\log_{10}).

Puisque le ratio cholestérol-VLDL / TG est un critère diagnostique majeur de l'expression du type III, les valeurs ont été divisées en quintiles et la prévalence des facteurs de risque génétiques, métaboliques et environnementaux documentés pour le type III a été évaluée pour chaque quintile (Tableau VI). Ainsi, les individus obèses ($IMC > 27 \text{ kg/m}^2$) se situent majoritairement dans le cinquième quintile du ratio

cholestérol-VLDL / TG ($p < 0,001$), correspondant à des valeurs entre 0,48 et 1,72. Il en est de même pour les hommes présentant de l'obésité abdominale (tour de taille ≥ 90 cm ou ≥ 85 cm pour les femmes) ($p < 0,001$), étant porteurs de mutations défectives ou nulles dans le gène de la LPL ($p = 0,003$) et du polymorphisme *Sst1* dans le gène de l'apo CIII ($p = 0,013$). On remarque tout de même une certaine tendance pour les polymorphismes -250G/A et -514C/T dans le gène de la LIP à être observés principalement chez les sujets du dernier quintile ($p = 0,060$ et $p = 0,088$, respectivement). Par contre, la prévalence du diabète de type 2, de l'hypothyroïdie, de la ménopause avec ou sans hormonothérapie, de la consommation régulière d'alcool et des polymorphismes -482C/T et -455T/C dans le gène de l'apo CIII ne diffère pas significativement entre les sujets de chaque quintile.

Tableau VI. Prévalence (%) de modulateurs génétiques, métaboliques et environnementaux connus de l'expression du type III chez l'ensemble des sujets selon les quintiles du ratio cholestérol-VLDL / TG

	n	Quintiles					Valeur P
		1	2	3	4	5	
Obésité ^a	1836	14,8	19,0	21,4	22,3	22,5	< 0,001
Obésité abdominale ^b	1836	14,8	18,7	22,3	21,0	23,2	< 0,001
Diabète de type 2 ^c	1836	16,8	21,1	24,3	20,0	17,9	NS
Hypothyroïdie ^c	1717	20,1	16,8	22,1	19,5	21,5	NS
Ménopause ^c							NS
sans hormonothérapie	97	23,7	16,5	18,6	21,6	19,6	
avec hormonothérapie	353	26,3	21,2	24,4	14,7	13,3	
Consommation d'alcool ^c	1739	18,9	16,2	18,0	18,0	28,8	NS
LPL ^c	1761	15,1	14,8	20,4	21,8	27,8	0,003
LIP -250G/A ^c	667	9,2	9,9	16,0	20,8	44,0	0,060
LIP -514C/T ^c	779	10,3	9,7	17,6	20,7	41,6	0,088
APOC3 -3238C/G (<i>Sst1</i>) ^c	748	9,8	7,1	18,7	19,6	44,9	0,013
APOC3 -482C/T ^c	741	11,2	10,4	18,6	21,6	38,1	NS
APOC3 -455T/C ^c	701	9,9	10,7	18,2	21,1	40,1	NS

Quintiles: 1= 0,06-0,32 (n=367), 2= 0,33-0,37 (n=333), 3= 0,37-0,41 (n=402), 4= 0,41-0,48 (n=361), 5= 0,48-1,72 (n=373). ^a L'obésité est définie par un indice de masse corporelle > 27 kg/m² [39]. ^b L'obésité abdominale est caractérisée par un tour de taille ≥ 90 cm chez l'homme ou ≥ 85 cm chez la femme [40]. ^c Proportion d'individus atteints de diabète de type 2, d'hypothyroïdie, étant ménopausée avec ou sans hormonothérapie, ayant une consommation régulière d'alcool et porteurs de polymorphismes dans le gène de la lipase lipoprotéique (LPL), de la lipase hépatique (LIP -250G/A et -514C/T) et de l'apolipoprotéine CIII (APOC3 -3238C/G, -482C/T et -455T/C). NS= $p > 0,01$.

La distribution des différents génotypes de l'apo E a également été évaluée selon chaque quintile du ratio cholestérol-VLDL / TG (Figure 11). La prévalence du génotype apo E2/E2 augmente en fonction de la progression des quintiles pour atteindre 90,5% chez les sujets du dernier quintile ($p < 0,001$). Il en est de même pour le génotype apo E2/E3, dont la prévalence est de 31,8% pour les sujets du dernier quintile. On remarque par ailleurs que la prévalence du génotype E3/E3 ne varie pas significativement dans chaque quintile mais, tout comme les génotypes apo E3/E4 et apo E4/E4, il est plus fréquent dans les trois premiers quintiles du ratio cholestérol-VLDL / TG.

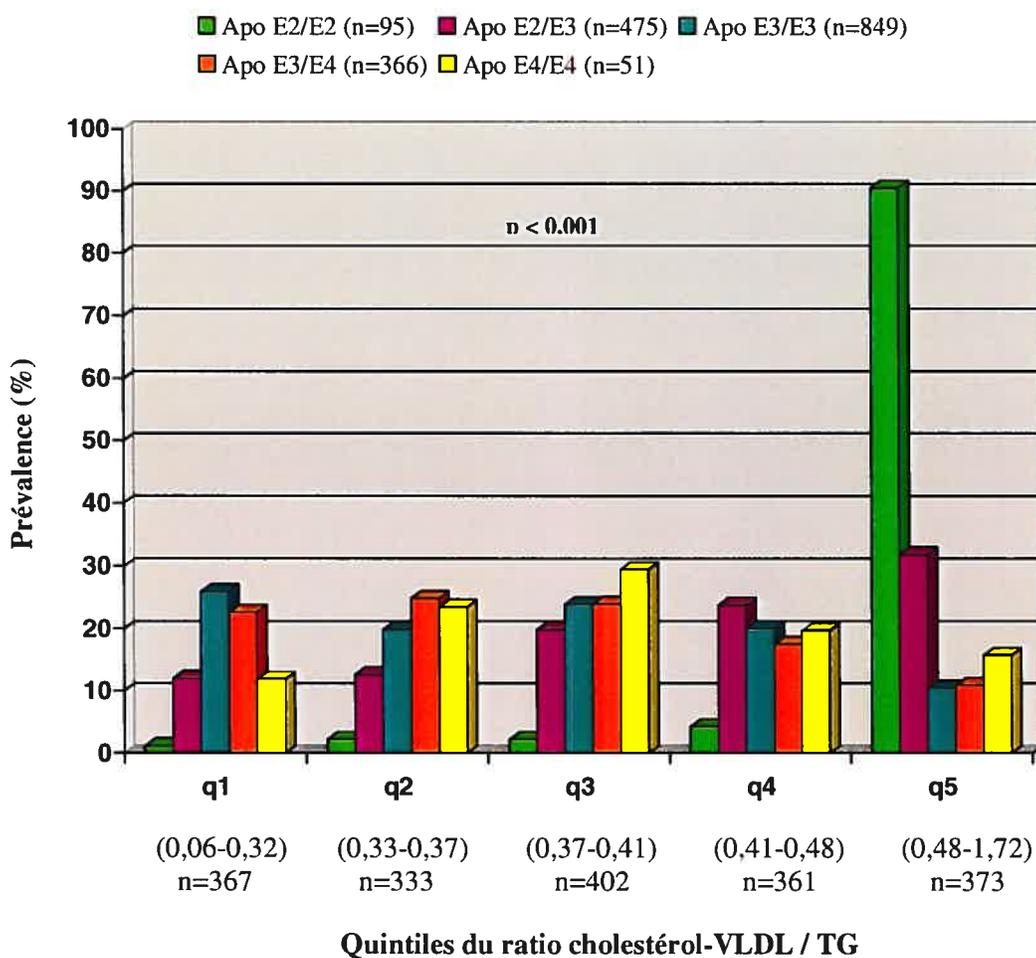


Figure 11. Prévalence des différents génotypes de l'apolipoprotéine E chez l'ensemble des sujets, selon les quintiles du ratio cholestérol-VLDL / TG

3.2 Évaluation du risque relatif associé à la présence de modulateurs métaboliques de l'expression du type III

3.2.1 Obésité abdominale

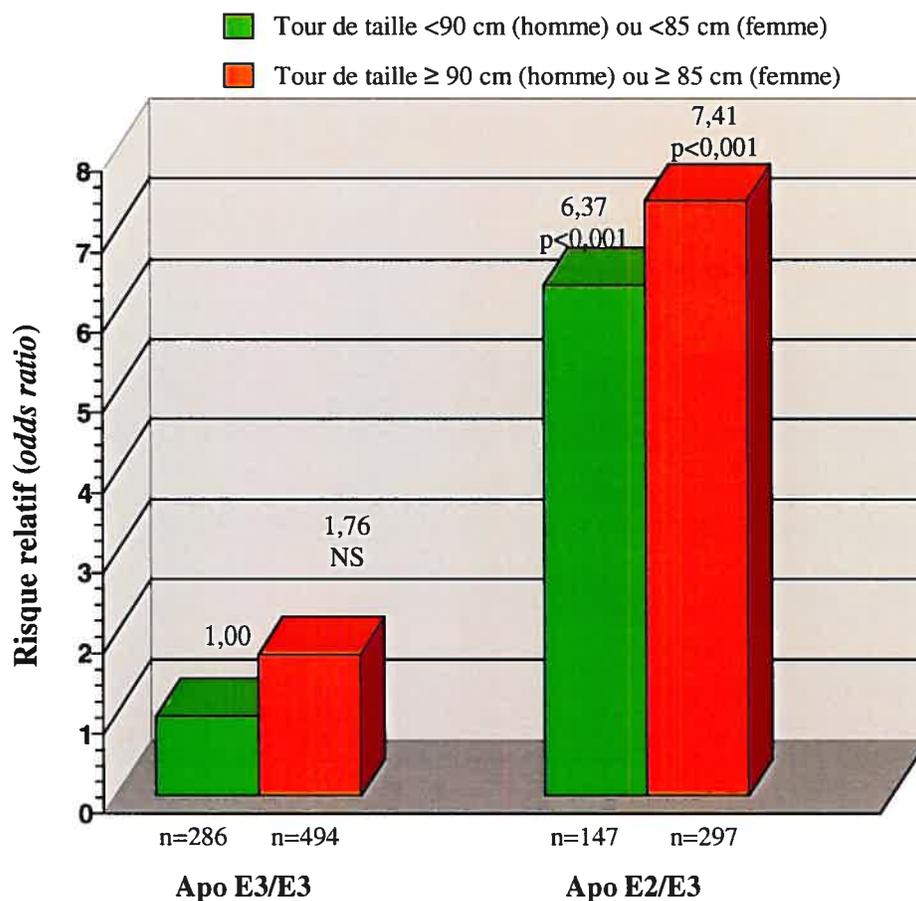


Figure 12. Risque relatif (*odds ratio*) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence d'obésité abdominale^a

^a L'obésité abdominale est définie par un tour de taille ≥ 90 cm chez l'homme ou ≥ 85 cm chez la femme [40]. Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et un tour de taille <90 cm pour les hommes ou <85 cm pour les femmes. L'âge, le genre, le diabète de type 2, la présence de mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle. NS=p>0,05.

Le risque d'exprimer le type III n'est pas significativement plus élevé chez des individus apo E2/3 en présence d'un IMC > 27 kg/m² (OR=5,99; p<0,001) comparativement aux individus ayant un IMC ≤ 27 kg/m² (OR=5,95; p<0,001). Cette même tendance est observée chez les hommes, alors que chez les femmes ayant un IMC > 27 kg/m², le risque relatif est légèrement augmenté (OR=5,33; p<0,001) par rapport à

celui des femmes ayant un $IMC \leq 27 \text{ kg/m}^2$ ($OR=4,95$; $p<0,001$) (Annexe IIIa). Toutefois, tel que le démontre la Figure 12, le risque relatif d'exprimer le type III semble être augmenté en présence du génotype apo E2/E3 chez des individus avec un tour de taille élevé ($OR=7,41$; $p<0,001$), par rapport à ceux ayant un tour de taille normal ($OR=6,37$; $p<0,001$). La même tendance est observée chez les hommes ($OR=6,64$; $p<0,001$) et les femmes ($OR=7,40$; $p<0,001$) (Annexe IIIb).

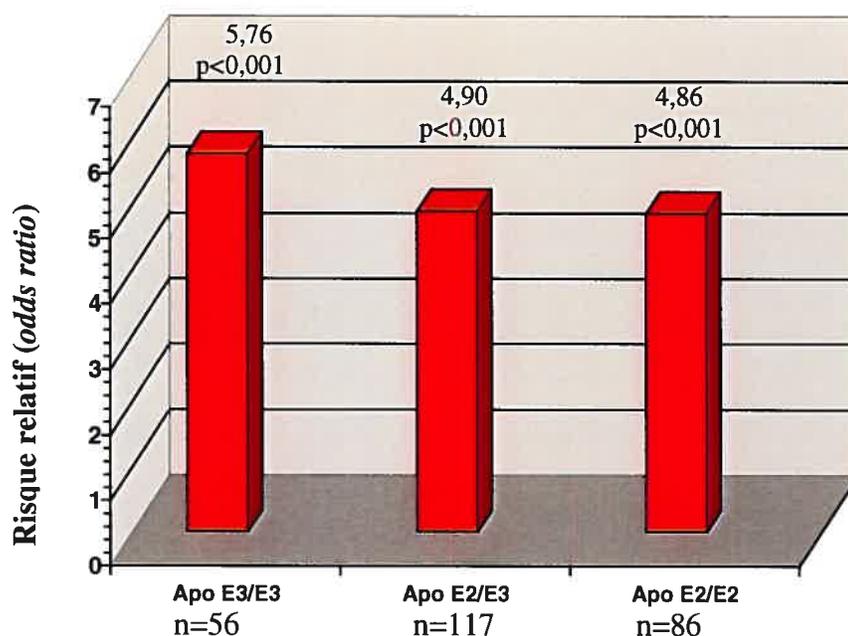


Figure 13. Risque relatif (*odds ratio*) d'avoir un indice de masse corporelle $> 27 \text{ kg/m}^2$, selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E, chez des individus exprimant le type III

Le groupe contrôle est formé de sujets n'exprimant pas le type III, ayant un génotype apo E3/E3, un ratio cholestérol-VLDL $< 0,3$, aucune mutation dans le gène du récepteur des LDL et un bilan lipidique normal selon les critères de Fredrickson [38, 138]. L'âge, le genre, le diabète de type 2, les mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.

Un autre modèle de régression logistique a été construit afin d'évaluer le risque de présenter un facteur provoquant l'expression du type III. Le modèle associant les génotypes apo E3/E3, E2/E3 et E2/E2 avec le diagnostic du type III a servi à mesurer le risque d'avoir un $IMC > 27 \text{ kg/m}^2$ et un tour de taille $\geq 90 \text{ cm}$ chez les hommes ou $\geq 85 \text{ cm}$ chez les femmes. Le groupe contrôle est formé de sujets non type III normolipidémiques. Chez des individus type III, le risque relatif d'avoir un $IMC > 27$

kg/m² est de 5,76 ($p < 0,001$) en présence d'un génotype apo E3/E3 et il diminue chez les sujets ayant le génotype apo E2/E3 (OR=4,90; $p < 0,001$) et apo E2/E2 (OR=4,86; $p < 0,001$) (Figure 13).

Concernant l'obésité abdominale, on remarque une augmentation du risque relatif d'avoir un tour de taille élevé chez les individus type III avec un génotype apo E3/E3 (OR=6,35; $p < 0,001$), par rapport aux individus apo E2/E3 (OR=4,42; $p < 0,001$) et apo E2/E2 (OR=4,55; $p < 0,001$) (Figure 14). Par contre, les individus exprimant le type III n'ont pas plus de risque d'être atteints de diabète de type 2 et d'hypothyroïdie par rapport aux non type III (résultats non présentés).

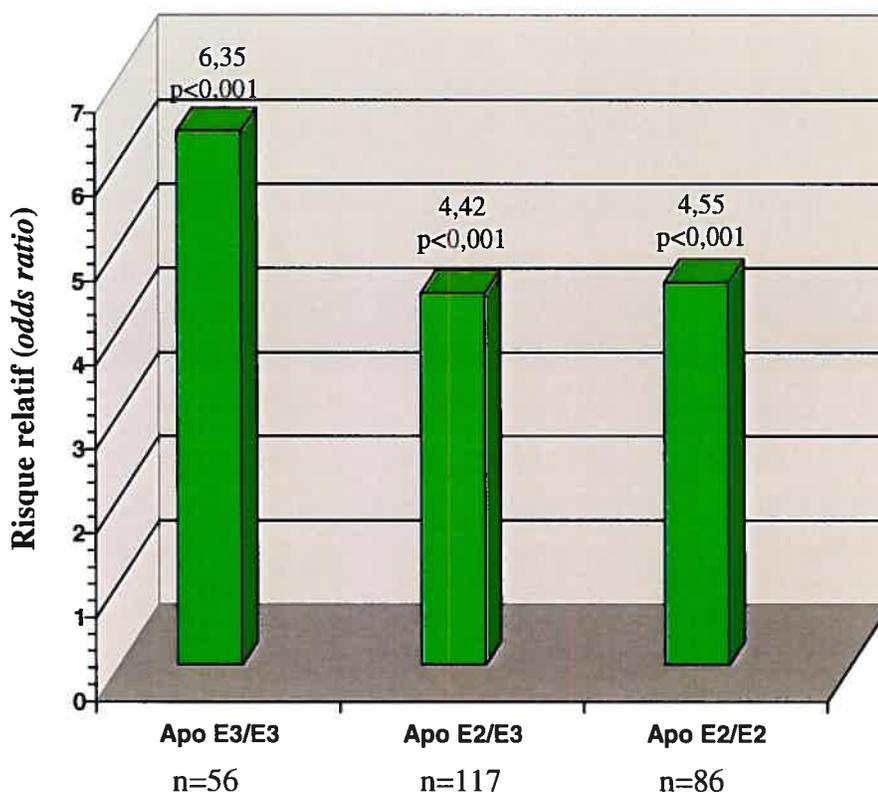


Figure 14. Risque relatif (*odds ratio*) de présenter de l'obésité abdominale selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E chez des individus exprimant le type III

L'obésité abdominale est définie par un tour de taille ≥ 90 cm chez l'homme ou ≥ 85 cm chez la femme [40]. Le groupe contrôle est formé de sujets n'exprimant pas le type III, ayant un génotype apo E3/E3, un ratio cholestérol-VLDL $< 0,3$, aucune mutation dans le gène du récepteur des LDL et un bilan lipidique normal selon les critères de Fredrickson [38, 138]. L'âge, le genre, le diabète de type 2, les mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.

3.2.2 Diabète de type 2

Une analyse de régression logistique multivariée a été effectuée à partir d'un modèle associant les génotypes apo E3/E3 et apo E2/E3 avec l'absence ou la présence du diabète de type 2. Le risque d'exprimer le type III diminue légèrement chez des individus diabétiques non traités et apo E2/E3 (OR= 5,27; $p<0,001$), par rapport aux individus apo E2/E3 non diabétiques (OR=3,73; $p=0,003$). La même relation est observée chez les hommes et les femmes (Annexe IIIc). Il semble également que l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline, associées au génotype apo E2/E3, ne modifient pas le risque d'exprimer le type III (résultats non présentés).

3.2.3 Hypothyroïdie

La présence du génotype apo E2/E3 chez un individu hypothyroïdique est associée à un risque relatif augmenté d'exprimer le type III (OR=8,29; $p<0,001$), et ce, même en contrôlant pour l'effet des autres modulateurs du type III (Figure 15). Cet effet associé à la présence simultanée du génotype apo E2/E3 et de l'hypothyroïdie sur l'expression du type III est également significatif chez les hommes (OR=11,66; $p=0,001$) et chez les femmes (OR=5,88; $p<0,001$) lorsque considérés séparément, de même que chez les femmes non ménopausées (OR=11,37; $p=0,019$) (Annexe IIIId).

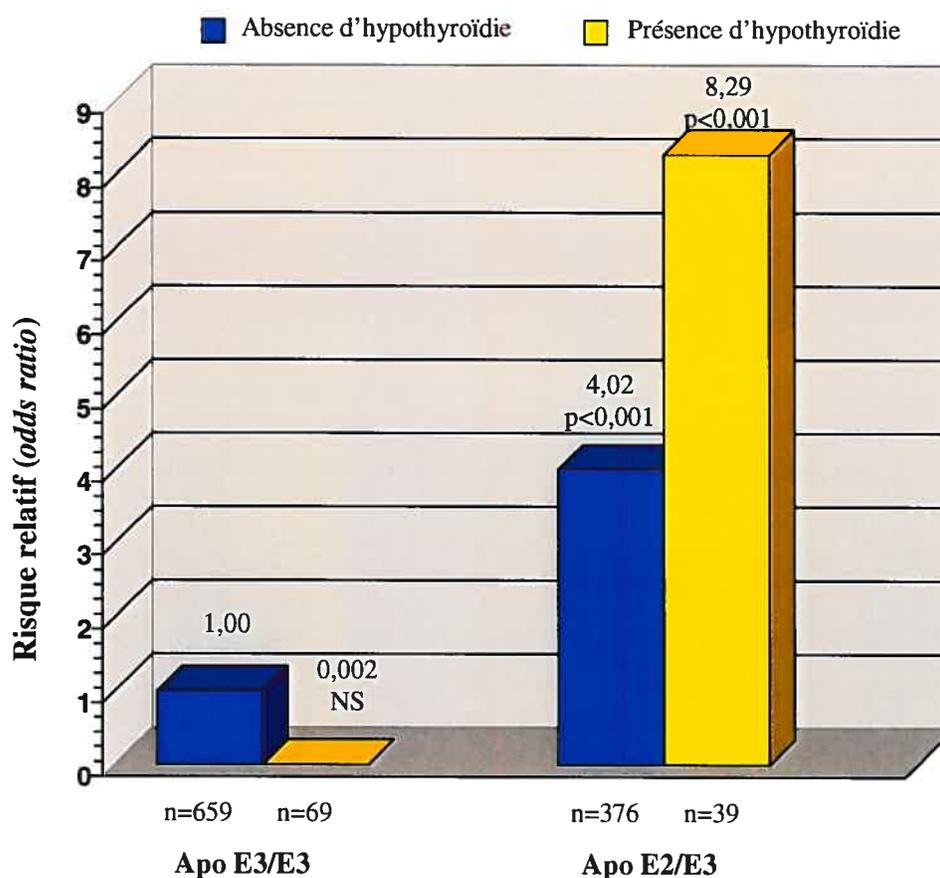


Figure 15. Risque relatif (*odds ratio*) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence d'hypothyroïdie

Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et ne présentant pas les signes cliniques de l'hypothyroïdie. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille, la présence de mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle. NS= $p>0,05$.

3.3 Évaluation du risque relatif associé à la présence de modulateurs génétiques de l'expression du type III

3.3.1 Lipase lipoprotéique

Des individus ayant un génotype apo E2/E3 et une mutation dans le gène de la LPL ont un risque relatif augmenté d'exprimer le type III (OR=8,42; $p<0,001$), par rapport aux individus apo E2/E3 sans mutation dans le gène de la LPL (OR=4,19;

$p < 0,001$) (Figure 16). La même tendance est observée si les hommes (OR=8,96; $p < 0,001$) et les femmes (OR=6,65; $p < 0,001$) sont analysés séparément (Annexe IVa).

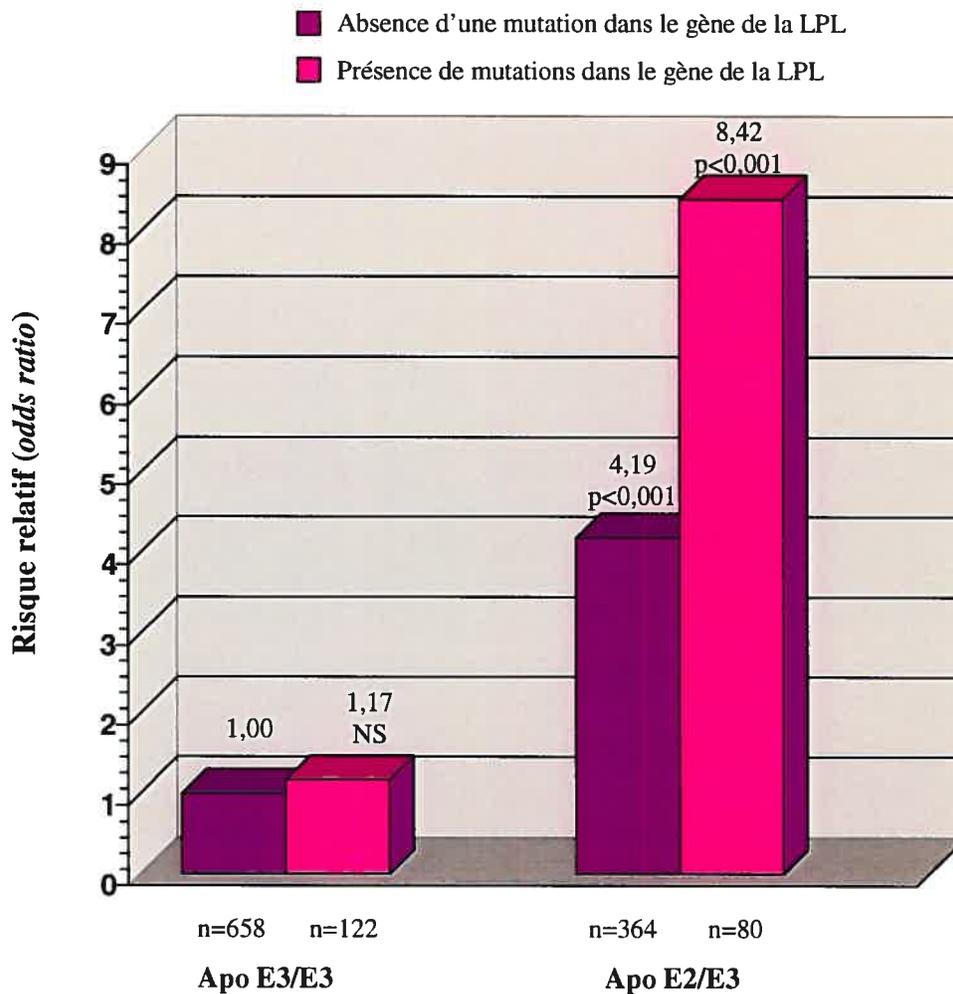


Figure 16. Risque relatif (*odds ratio*) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique

LPL, lipase lipoprotéique. Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et n'ayant aucune mutation dans le gène de la LPL. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle. NS= $p > 0,05$.

Afin d'identifier la ou les mutations majoritairement responsables de cet effet, les mêmes analyses ont été effectuées séparément pour toutes celles identifiées dans l'échantillon, soit P207L, D9N, G188E et N291S. Il semble que les mutations P207L et D9N soient celles contribuant le plus à l'augmentation du risque d'exprimer le type III chez les individus ayant un génotype apo E2/E3. En effet, le risque relatif est de 11,82

($p < 0,001$) pour les porteurs du polymorphisme P207L (Annexe IVb) et de 8,96 ($p < 0,001$) pour D9N (Annexe IVc). Par contre, le risque ne peut être évalué chez les porteurs des autres mutations dans le gène de la LPL car le nombre d'individus est négligable (résultats non présentés).

Tableau VII. Effet du génotype de l'apolipoprotéine E sur l'expression du type III chez des porteurs de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique

Mutation dans le gène de la LPL ^a	Apo E3/3 (n=123)	Apo E2 ^b (n=93)	Valeur P E3/3 vs E2
Défective (n=132)	7	28	< 0,001
Nulle (n=84)	3	20	< 0,001
Valeur P (défective vs nulle)	NS	NS	

^a Les mutations défectives dans le gène de la lipase lipoprotéique (LPL) sont N291S et D9N, alors que les mutations nulles sont P207L et G188E. ^b Le groupe apo E2 inclut les génotypes E2/2 (n=15) et E2/3 (n=78). NS= $p > 0,05$.

Le test de χ^2 permet d'observer que l'expression du type III est plus élevée chez des individus porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ et de mutations dans le gène de la LPL (Tableau VII). Il est toutefois important de noter que 10 individus homozygotes pour l'apo E3 et porteurs de mutations dans le gène de la LPL expriment le type III. Par contre, il n'y a pas de différence significative entre la proportion de sujets type III porteurs de mutations défectives ou nulles.

3.3.2 Lipase hépatique

Il semble que la présence des polymorphismes -250G/A et -514C/T, dans le gène de la LH, associé au génotype apo E2/E3, ne modifient pas le risque d'exprimer le type III (OR=0,90; $p=0,780$ et OR=1,09; $p=0,793$ respectivement), comparativement aux individus n'étant pas porteurs de ces polymorphismes (OR=0,66; $p=0,249$ et OR=0,92; $p=0,808$ respectivement) (résultats non présentés). La même relation est observée lorsque les hommes et les femmes sont analysés séparément.

3.3.3 Apolipoprotéine CIII

On observe également que la présence du polymorphisme *Sst1* (-3238C/G) dans le gène de l'apo CIII, associé au génotype apo E2/E3, ne modifie pas le risque d'exprimer le type III (OR=1,27; $p=0,532$), comparativement aux individus n'étant pas porteurs de ce polymorphisme (OR=0,80; $p=0,536$) (résultats non présentés). La même relation est observée lorsque les hommes et les femmes sont analysés séparément.

3.4 Évaluation du risque relatif associé à la présence de plusieurs modulateurs de l'expression du type III

3.4.1 Lipase lipoprotéique et obésité abdominale

En présence d'obésité abdominale et de mutations dans le gène de la LPL, les sujets apo E2/E3 ont un risque augmenté d'exprimer le type III (OR=7,60; $p<0,001$) par rapport aux individus apo E3/E3 minces et sans mutation dans le gène de la LPL (Figure 17a). Mais ce risque est plus important lorsque les sujets apo E2/E3 sont porteurs de mutations dans le gène de la LPL (OR=12,17; $p<0,001$). Par ailleurs, tel que le démontre la Figure 17b, lorsque aucune mutation connue n'est présente dans le gène de la LPL, le risque d'exprimer le type III est supérieur chez les sujets apo E2/E3 avec obésité abdominale (OR=8,27; $p<0,001$) en comparaison aux sujets minces. En outre, s'il y a présence concomitante de mutations dans le gène de la LPL et d'obésité abdominale, le risque relatif d'exprimer le type III augmente à 18,10 ($p<0,001$) chez des individus ayant le génotype apo E2/E3.

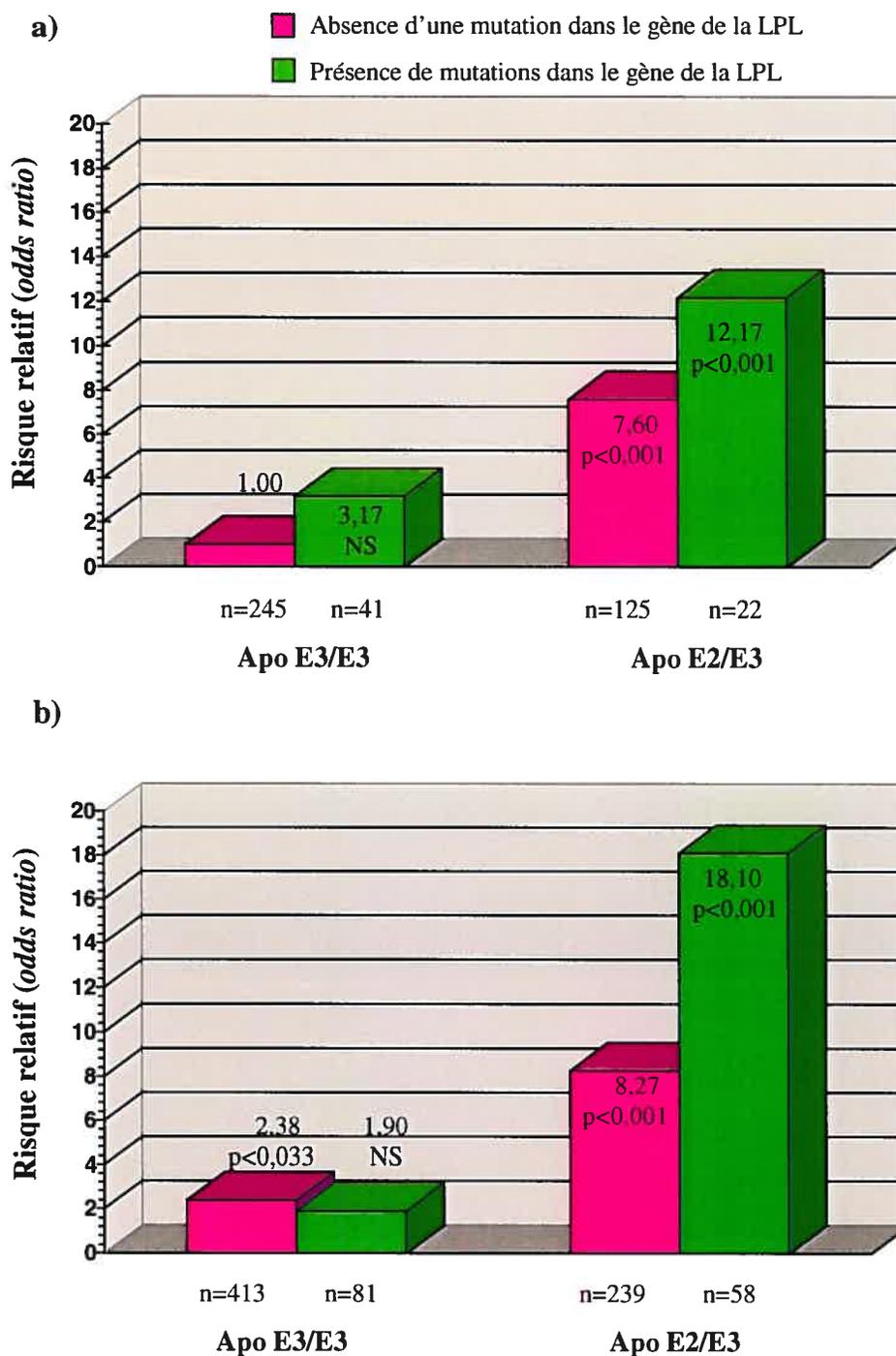


Figure 17. Risque relatif (*odds ratio*) d'exprimer le type III selon le polymorphisme de l'apolipoprotéine E et la présence de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique chez des sujets a) sans obésité abdominale et b) avec obésité abdominale^a

LPL, lipase lipoprotéique. ^a L'obésité abdominale est définie par un tour de taille ≥ 90 cm chez l'homme ou ≥ 85 cm chez la femme [40]. Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3, un tour de taille normal et n'ayant aucune mutation dans le gène de la LPL. L'âge, le genre, le diabète de type 2 et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle. NS= $p>0,05$.

Tel qu'illustré à la Figure 18, les sujets homozygotes pour l'apo E2 ont les valeurs moyennes du ratio cholestérol-VLDL / TG les plus élevées, suivis par les porteurs hétérozygotes de l'apo E2 et de mutations dans le gène de la LPL. De plus, pour les différents génotypes étudiés, il est possible d'observer une augmentation du ratio cholestérol-VLDL / TG en fonction de l'obésité abdominale, estimée à partir du tour de taille.

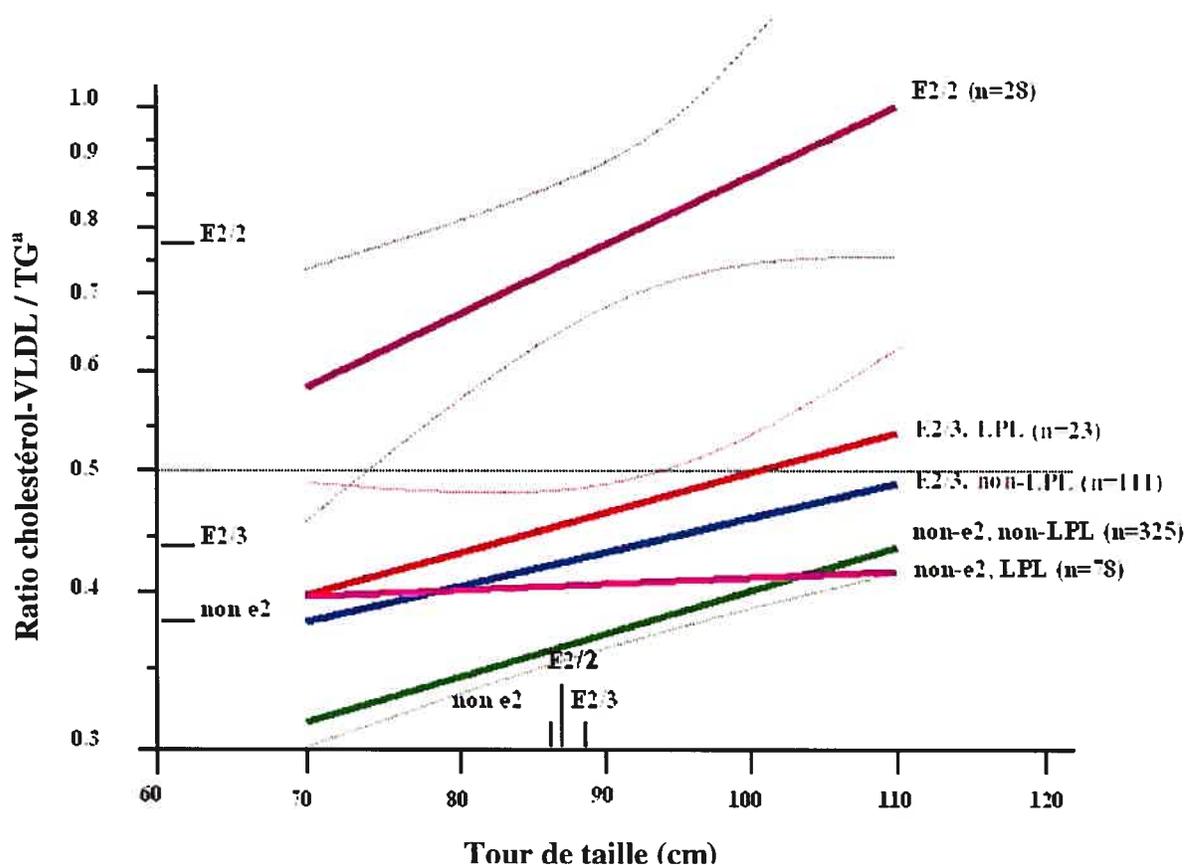


Figure 18. Influence de différents génotypes de l'apolipoprotéine E, de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique et de l'obésité abdominale sur le ratio cholestérol-VLDL / TG (I.C. 95%), chez des sujets âgés de moins de 45 ans

^a Une échelle logarithmique a été utilisée afin d'ajuster le ratio cholestérol-VLDL / TG pour l'âge. Tous les sujets ont un indice de masse corporelle inférieur à 35 kg/m².

Une analyse de régression logistique a également été effectuée chez un sous-groupe de l'échantillon n'étant pas porteur de l'allèle $\epsilon 2$, âgé de moins de 45 ans et ayant un IMC < 35 kg/m². Le risque d'exprimer le type III est très élevé chez ces individus

(OR=28,19; p=0,003) lorsqu'il y a présence concomitante d'obésité abdominale et de mutations dans le gène de la LPL (Figure 19).

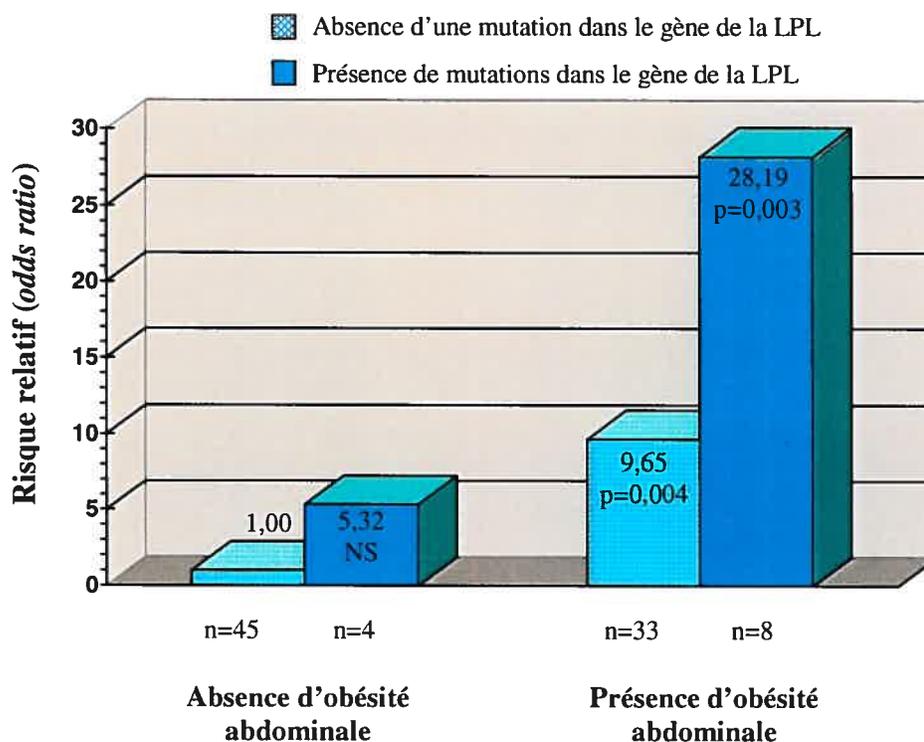


Figure 19. Risque relatif (*odds ratio*) d'exprimer le type III selon l'absence ou la présence d'obésité abdominale et de mutations dans le gène de la lipase lipoprotéique, chez des sujets n'étant pas porteurs de l'apo E2 et âgés de moins de 45 ans^a

LPL, lipase lipoprotéique. ^a L'obésité abdominale est définie par un tour de taille ≥ 90 cm chez l'homme ou ≥ 85 cm chez la femme [40]. Tous les sujets ont un indice de masse corporelle inférieur à 35 kg/m^2 . Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3, un tour de taille normal, un ratio cholestérol-VLDL / TG $< 0,3$ et n'ayant aucune mutation dans le gène de la LPL. L'âge et le genre sont inclus dans le modèle. NS=p>0,05.

CHAPITRE IV

DISCUSSION

L'objectif principal de ce projet de maîtrise était d'analyser le risque réel d'exprimer le type III en tenant compte de l'effet de déterminants génétiques, métaboliques et environnementaux connus comme étant associés à une augmentation du temps de résidence plasmatique des TRL. Dans la littérature, le type III a souvent été associé au statut homozygote pour l'apo E2. Or, plusieurs individus exprimeraient les signes cliniques du type III sans être homozygotes pour l'apo E2, ou même sans être porteurs de cet allèle. Inversement, le génotype apo E2/2 ne serait pas suffisant à lui seul pour conduire à l'expression du type III. Plusieurs autres facteurs de risque de l'expression du type III ont ainsi été proposés, tels que l'obésité, le diabète de type 2, l'hypothyroïdie, le retrait des oestrogènes à la ménopause, des mutations dans le gène de la LPL et une consommation abusive d'alcool, de même que certains variants géniques fréquents dans la population générale [14].

Il n'existe actuellement aucun consensus en ce qui a trait aux critères diagnostiques du type III. Durant plusieurs années, seul le génotype apo E2/2 et la présence de VLDL ayant une migration électrophorétique pré- β ont été utilisés [14]. De nombreuses études ont ensuite permis de mieux définir les signes cliniques du type III, c'est-à-dire la présence de xanthes, une hypercholestérolémie, une hypertriglycémie et un ratio cholestérol-VLDL / TG élevé, sans toutefois établir un consensus sur les valeurs seuils précises. La présente étude s'appuie donc sur les critères diagnostiques énumérés au Tableau III. Bien que tous les sujets proviennent d'un milieu clinique qui n'est pas représentatif de ce qui est observé dans la population en général, le nombre important de sujets type III inclus dans cette étude est bien au-delà de ce qui peut être estimé à partir de la prévalence théorique rapportée de 1 cas sur 5000 individus pour cette dyslipidémie [14]. Certaines variables sociodémographiques caractérisant la population du SLSJ, telles que l'effet fondateur, peuvent expliquer en partie la

prévalence et la distribution géographique du type III. L'effet fondateur est la création d'une nouvelle région formée d'émigrants provenant d'une même région mère [139, 140]. Dans le cas présent, il est question d'un triple effet fondateur prenant origine en France dont un groupe est venu s'établir à Québec. Leurs descendants ont par la suite colonisé Charlevoix et les générations subséquentes ont émigré au SLSJ. La quasi-absence d'unions interrégionales, causée par l'isolement, ainsi que la grande fécondité de ces colons ont fait en sorte que certains gènes délétères ont été perpétués de génération en génération faisant en sorte que le patrimoine génétique de la population du SLSJ est peu diversifié. Ce phénomène aurait, par exemple, entraîné la multiplication de porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ et pourrait en partie expliquer cette plus grande prévalence du type III au SLSJ par rapport aux autres régions. Par contre, comme le statut homozygote pour l'apo E2 n'est pas suffisant à lui seul pour conduire à l'expression du type III et que inversement cette dyslipidémie peut ne pas être associée à cet allèle, d'autres facteurs de risque fréquents, non seulement au SLSJ mais dans la majorité des populations, peuvent également contribuer à cette prévalence élevée.

4.1 Les facteurs de risque métaboliques

Les valeurs moyennes obtenues pour chaque variable du bilan lipidique démontrent bien que la plupart des sujets, qu'ils soient type III ou non, présentent des perturbations du métabolisme lipidique, ce qui concorde avec la sélection des sujets de cette étude à partir de la clientèle d'une clinique spécialisée dans le traitement des perturbations lipidiques. Effectivement, bien que le bilan lipidique des sujets type III soit significativement plus athérogénique que celui des non type III, ces derniers présentent des valeurs moyennes supérieures aux valeurs seuils des guides thérapeutiques pour la plupart des fractions lipoprotéiques [38, 138].

Les sujets type III de l'échantillon présentent une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie, tel que normalement illustré dans la littérature, en plus d'une diminution des concentrations plasmatiques moyennes de cholestérol-LDL et

cholestérol-HDL. À première vue, la diminution de la concentration de cholestérol-LDL chez ces sujets peut paraître incohérente mais plusieurs explications ont été proposées. Dans un premier temps, certaines observations ont suggéré une diminution de l'absorption de cholestérol par le foie chez les individus homozygotes pour l'apo E2, causée par une faible affinité des lipoprotéines pour le R-LDL. Un mécanisme de régulation positive des R-LDL hépatiques se produirait alors pour augmenter leur nombre, ainsi que la captation du cholestérol au foie [14, 17]. Cette hypothèse demeure néanmoins controversée puisque ce mécanisme compensatoire n'a pu être observé que chez des souris. La seconde hypothèse concerne la faible compétition entre les lipoprotéines liées à l'apo E2 avec celles liées à l'apo B-100 pour la captation par le R-LDL, favorisant ainsi l'absorption des LDL, par rapport à celles des VLDL et IDL [141]. Par contre, Huang a démontré que le R-LDL ne serait pas la cause de cette hypolipidémie chez les individus ayant le génotype apo E2/2. Il s'agirait plutôt d'une réduction de la lipolyse des VLDL en LDL, causée par l'inhibition de l'apo CIII sur la LPL et le retrait de l'apo CII, son cofacteur, en plus de la faible capacité de l'apo E2 à provoquer la conversion des IDL en LDL par la LH [18, 142].

Tel qu'attendu et démontré, les sujets exprimant le type III sont majoritairement des hommes. De plus, alors que dans l'ensemble de l'échantillon l'âge moyen des sujets exprimant le type III était similaire à celui des non type III, chez les femmes, le type III s'exprimerait à un âge moyen plus élevé. Toutefois, la prévalence de femmes ménopausées n'est pas plus élevée chez les type III. L'effet de l'âge pourrait alors s'expliquer par la présence de la périménopause autour de la cinquantaine, caractérisée par le retrait des oestrogènes, mais sans la confirmation du statut ménopausique. En effet, l'âge moyen à la ménopause est d'environ 51,0 ans chez les femmes des pays industrialisés, alors que l'intervalle de confiance de l'âge moyen des sujets type III se limite à 54,0 ans, au moment où la majorité des femmes subissent une modification hormonale [143].

Les sujets type III ont des valeurs moyennes d'IMC et de tour de taille significativement plus élevées. Ces données diffèrent quelque peu lorsque les hommes et

les femmes sont analysés séparément. Les femmes type III présentent un IMC moyen et un tour de taille moyen supérieur aux femmes non type III, probablement en raison de l'âge des femmes type III, tel que précédemment discuté. En effet, le retrait des œstrogènes, lors de la ménopause et même lors de la périménopause, influence la distribution des gras corporels, favorisant ainsi la région abdominale et donc l'augmentation du tour de taille [59]. Contrairement aux femmes, les hommes présentent des valeurs moyennes d'IMC et de tour de taille qui ne sont pas significativement différentes entre les non type III et les type III. Ces résultats peuvent une fois de plus s'expliquer par le fait que les sujets sélectionnés proviennent d'une clinique spécialisée dans le traitement des perturbations lipidiques. Ainsi, les sujets non type III peuvent présenter les signes cliniques et les facteurs de risque associés à d'autres perturbations métaboliques. Il a déjà été mentionné que l'obésité pouvait influencer l'expression du type III [14]. Or, dans la présente cohorte, ce déterminant ne semble pas modifier le risque, même si les type III ont un IMC moyen supérieur aux non type III et que le nombre d'individus ayant un $IMC > 27 \text{ kg/m}^2$ augmente en fonction des quintiles du ratio cholestérol-VLDL / TG. Ceci pourrait également s'expliquer par le fait que les sujets proviennent tous d'une clinique spécialisée dans le traitement des perturbations lipidiques et que des valeurs élevées du ratio cholestérol-VLDL / TG sont également présentes dans d'autres dyslipidémies. Par contre, le risque d'exprimer le type III est augmenté lorsque le tour de taille est considéré. Ce résultat vient confirmer la pertinence d'utiliser le tour de taille comme indicateur anthropométrique dans l'évaluation du risque cardiovasculaire, à l'instar de l'IMC qui ne tient pas compte de la distribution de la masse grasse [36, 37]. En effet, une accumulation de masse grasse au niveau viscéral augmenterait l'exposition du foie aux acides gras libres, en plus de favoriser un profil lipidique pro-athérogénique [36, 37, 41]. Aucune autre étude n'a évalué jusqu'à maintenant la présence d'un tour de taille élevé comme facteur de risque de l'expression du type III et encore moins avec des valeurs de 90 cm chez l'homme et 85 cm chez la femme. Considérant la croissance fulgurante de l'obésité abdominale et ses effets sur le métabolisme lipidique, il est à prévoir et surtout souhaitable que l'obésité abdominale devienne un critère important dans l'évaluation du risque d'expression du type III. Ce nouveau déterminant du type III devrait être considéré en clinique afin de sensibiliser les

patients aux conséquences cardiovasculaires associées à l'obésité abdominale. La réversibilité de ce facteur de risque augmente la pertinence de mesurer le tour de taille et d'appliquer un plan d'intervention ciblant les habitudes de vie pour ainsi réduire considérablement le risque d'exprimer une dyslipidémie telle que le type III, même chez les individus qui ne sont pas homozygotes pour l'apo E2.

Bien que plusieurs des éléments associés à l'expression du type III soient des facteurs de risque du développement du diabète de type 2, celui-ci n'est pas plus prévalent chez les sujets type III par rapport aux non type III. De plus, selon nos observations, les individus diabétiques ne seraient pas plus à risque d'exprimer le type III que les sujets non diabétiques. Les résultats obtenus n'ont ainsi pu confirmer les hypothèses formulées dans la littérature, identifiant le diabète de type 2 comme un facteur de risque de l'expression du type III [14]. Étant donné le profil des sujets étudiés, cela laisse supposer que les individus exprimant un diabète de type 2 exprimeraient surtout une autre dyslipidémie que le type III. En effet, près de la moitié des individus du présent échantillon exprimeraient une dyslipidémie de type IV, aussi appelée hypertriglycéridémie familiale. Il n'en demeure pas moins que le diabète de type 2, de même que l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline, devraient être encore considérés comme des facteurs de risque de l'expression du type III. Les individus présentant une perturbation de l'homéostasie glycémique peuvent exprimer des éléments pouvant être associés au type III, tels que l'obésité abdominale, de faibles concentrations de cholestérol-HDL, en plus d'une hypertriglycéridémie causée par une hypersécrétion de VLDL due à l'augmentation du flux d'acide gras vers le foie. D'ailleurs, le diabète de type 2, l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline sont des perturbations métaboliques qui, toutes trois réunies, affectent le plus grand nombre d'individus et ont des conséquences cardiovasculaires graves [44, 45, 144]. C'est pourquoi d'autres analyses seront nécessaires en utilisant un échantillon témoin ne présentant pas d'autres perturbations métaboliques afin d'analyser l'association entre l'homéostasie du métabolisme glycémique et le risque d'expression du type III.

L'hypothyroïdie est une perturbation métabolique caractérisée entre autres choses par une hypercholestérolémie et de l'obésité. Ces deux éléments ont fait en sorte que l'hypothyroïdie a été suggérée comme facteur de risque de l'expression du type III [14, 53]. Alors que la prévalence d'hypothyroïdie n'est pas statistiquement différente entre les sujets type III et non type III, le risque relatif d'exprimer le type III est toutefois influencé par l'hypothyroïdie et il est même plus important que celui conféré par l'obésité abdominale. Toutefois, la diminution du risque chez les individus hypothyroïdiens ayant le génotype apo E3/3 par rapport à ceux ne présentant pas les signes cliniques de l'hypothyroïdie pourrait s'expliquer par la possibilité d'exprimer une autre dyslipidémie que le type III. En effet, le génotype apo E3/3 n'est présent que chez 19,5% des type III de l'échantillon et d'autres études ont démontré une fréquence plus élevée d'hypothyroïdie chez des individus présentant des perturbations du métabolisme lipidique comme une hypercholestérolémie [50].

4.2 Les facteurs de risque environnementaux et les habitudes de vie

Parmi les facteurs de risque environnementaux connus comme étant associés à l'expression du type III, seule la consommation régulière d'alcool a pu être mesurée. La prévalence de sujets ayant une consommation régulière d'alcool est presque deux fois supérieure chez les type III, appuyant ainsi une disparition de l'effet protecteur de l'alcool lorsque consommé en trop grande quantité sur une base régulière [109]. Il aurait été toutefois très intéressant d'évaluer aussi l'effet associé à la quantité, la fréquence et le type d'alcool consommé. De plus, la comparaison du bilan lipidique entre les sujets ne consommant pas d'alcool, les consommateurs réguliers et les consommateurs abusifs aurait été pertinente afin de vérifier les hypothèses de l'effet bénéfique de l'alcool sur les concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL par exemple. Il demeure néanmoins que les autres facteurs environnementaux ne doivent pas être ignorés pour autant dans l'élaboration des stratégies d'intervention puisque le risque cardiovasculaire associé à chacun de ces éléments semble considérable [111, 114, 115]. Comme plusieurs facteurs environnementaux sont parfois présents simultanément chez un même individu et que la

prévalence de ces derniers est très élevée dans les pays industrialisés, et même de plus en plus dans les pays en voie de développement, il est essentiel que des mesures soient prises afin d'évaluer le risque attribuable qui leur est associé dans l'expression du type III [44, 145].

4.3 Les facteurs de risque génétiques

La présence de mutations dans le gène de la LPL est depuis longtemps considérée comme un facteur de risque génétique de l'expression du type III. Cette relation a été observée chez des individus homozygotes pour l'apo E2 [72, 73]. Dans le présent échantillon, les individus ayant le génotype apo E2/3 et porteurs de mutations dans le gène de la LPL présentent effectivement un risque relatif augmenté d'exprimer le type III. Les mutations considérées dans ce projet sont celles présentant une plus grande prévalence dans la population générale, tout comme dans celle du SLSJ, telles que P207L et G188E, des mutations nulles ayant pour effet de diminuer de 50% l'activité de la LPL chez les porteurs hétérozygotes, ainsi que D9N et N291S, des mutations défectives provoquant une diminution d'environ 25% de son activité chez les hétérozygotes [70]. Ainsi, les mutations diminuent l'activité de la LPL ce qui entraîne une accumulation de TG et une réduction des niveaux de cholestérol-HDL, tel qu'observé chez les type III [64]. Par définition, les mutations nulles ont un impact plus important sur le métabolisme lipidique car elles inactivent l'enzyme et donc seraient plus susceptibles d'être impliquées dans l'expression du type III que les mutations défectives, dont les conséquences sont moins sévères. Selon les résultats obtenus, les mutations P207L et D9N seraient, en effet, celles contribuant le plus au risque d'exprimer le type III par rapport à G188E et N291S. Toutefois, cette différence ne serait pas statistiquement significative. De plus, d'autres analyses démontrent qu'il n'y a aucune différence significative entre la prévalence de mutations défectives et nulles chez des sujets type III. Cela démontre bien qu'une réduction de l'activité de la LPL, aussi minime soit-elle, est suffisante pour conduire à l'expression du type III. Il y a néanmoins une plus grande prévalence de type III associé à une mutation dans le gène de la LPL

chez des porteurs de l'allèle $\epsilon 2$, par rapport aux homozygotes pour l'apo E3. Ces derniers sont par contre au nombre de 10 à exprimer le type III. Ainsi, une diminution de l'activité de la LPL causée par la présence de mutations n'est pas compensée par la grande affinité de l'apo E3 pour les différents récepteurs, favorisant le processus d'élimination des lipoprotéines et semble suffisante à induire l'expression du type III. La présence de mutations dans le gène de la LPL semble donc un facteur de risque important de l'expression du type III par leurs conséquences sur le métabolisme des TRL et la grande modulation du gène via d'autres facteurs.

Le type III est un trait complexe dont l'expression est susceptible d'être induite par l'interaction entre plusieurs facteurs de risque présents simultanément chez un individu. Toutefois, dans cette étude, seule l'association entre l'obésité abdominale et la présence de mutations dans le gène de la LPL semble influencer significativement le risque d'expression du type III. Tel qu'il a déjà été discuté, les individus hétérozygotes pour l'apo E2 (Apo E2/3) ayant une mutation dans le gène de la LPL ont un risque important d'exprimer le type III. Ce risque augmente toutefois considérablement lorsque ces mêmes individus présentent simultanément une obésité abdominale, telle que définie par des valeurs de tour de taille supérieures à 90 cm chez les hommes et 85 cm chez les femmes [40]. Afin de vérifier l'ampleur du risque associé à la présence concomitante d'obésité abdominale et de mutations dans le gène de la LPL, des analyses ont été effectuées chez un sous-groupe de sujets âgés de moins de 45 ans n'étant pas porteurs de l'allèle $\epsilon 2$, donc souvent considérés comme étant exposés à un faible risque d'exprimer le type III, et ayant un IMC $< 35 \text{ kg/m}^2$, afin d'éliminer les cas d'obésité extrême. Les résultats obtenus démontrent que la présence concomitante d'obésité abdominale et de mutations dans le gène de la LPL confère un risque d'expression du type III très élevé même chez ce groupe d'individus. De plus, comme le ratio cholestérol-VLDL / TG est un critère diagnostique important du type III, les valeurs moyennes ont été calculées pour ce même groupe d'individus, selon les génotypes de l'apo E. Les valeurs moyennes du ratio cholestérol-VLDL / TG se sont ainsi révélées supérieures à 0,5 pour ceux étant homozygotes pour l'apo E2, par rapport aux individus apo E2/3 et ceux n'étant pas porteurs de l'allèle $\epsilon 2$. Par ailleurs, pour tous les génotypes, le ratio cholestérol-VLDL /

TG augmente en fonction du tour de taille. Ceci permet finalement de démontrer que le type III est une dyslipidémie qui ne doit plus être seulement associée au statut homozygote pour l'apo E2 et que des interactions gènes-gènes et gènes-environnement doivent être prises en considération. De plus, il est maintenant possible de suggérer l'obésité abdominale et la présence de mutations dans le gène de la LPL comme des facteurs de risque très importants de l'expression du type III. Ces deux facteurs influencent le risque cardiovasculaire de manière considérable même en absence de l'apo E2. Considérant la prévalence de ces deux éléments dans la population en général, et le fait qu'il n'est pas rare qu'un même individu présente simultanément de l'obésité abdominale et une mutation dans le gène de la LPL, le risque attribuable est considérable et suggère une sous-estimation de la prévalence actuelle du type III.

Par l'implication dans le métabolisme des lipoprotéines, plus particulièrement les TRL, la LH a souvent été associée à la modulation du risque cardiovasculaire [77-79]. En effet, la LH peut parfois être considérée comme un facteur pro-athérogénique lorsque son niveau d'activité est faible et que les concentrations plasmatiques de cholestérol-LDL sont diminuées, comme c'est le cas chez les individus exprimant le type III [77, 78]. Parmi les modulateurs de l'activité de la LH, les polymorphismes -250G/A et -514C/T ont souvent été étudiés et associés à une faible activité de l'enzyme [82-84]. L'effet de ces polymorphismes sur le métabolisme lipidique, tel que la diminution du transport à rebours du cholestérol, permettrait de croire que des variants géniques dans le gène de la LH pourraient être impliqués dans l'expression du type III, surtout si l'on considère les concentrations abaissées de cholestérol-HDL chez ces sujets. Cependant, aucune analyse n'a permis de confirmer cette hypothèse, étant donné que la présence des polymorphismes -250G/A et -514C/T chez des individus ayant le génotype apo E2/3 ne modifie pas le risque d'exprimer le type III. Il est notamment possible d'observer que la prévalence des allèles mutées -250A et -514T n'est pas significativement plus élevée chez les sujets type III et ceux ayant un ratio cholestérol-VLDL / TG situé dans le dernier quintile. Ces résultats laissent donc croire à une implication potentielle plutôt indirecte de la LH dans l'expression du type III, en plus de diminuer l'importance de l'influence du transport à rebours du cholestérol dans l'étiologie de cette dyslipidémie, sans toutefois négliger les conséquences cardiovasculaires de la diminution de ce

mécanisme. La mesure du niveau d'activité de la LH aurait été un moyen efficace de statuer sur l'effet pro- ou anti-athérogénique de la LH chez les sujets exprimant le type III, étant donné que la faible concentration de cholestérol-LDL est une variable connue. De cette façon, des modulateurs de l'activité de la LH, autres que ceux génétiques, comme l'obésité abdominale qui augmente l'activité de la LH et l'œstrogène qui la diminue, pourraient également influencer l'effet protecteur ou néfaste de la LH chez les type III [146, 147]. De plus, il est probable que ces modulateurs entraînent l'expression de perturbations métaboliques augmentant le risque d'exprimer le type III. D'ailleurs, Connelly et Hegele ont déjà proposé qu'une déficience en LH confère un risque athérogénique spécialement en présence d'un second facteur génétique ou environnemental affectant les niveaux plasmatiques de lipoprotéines [148]. Cette affirmation vient consolider l'importance d'évaluer les effets d'interactions gènes-gènes et gènes-environnement dans l'évaluation des déterminants d'une maladie à traits complexes comme le type III. D'autant plus que les polymorphismes étudiés présentent une grande prévalence dans la population en général et qu'un même individu peut être porteur de plus d'un polymorphisme à la fois.

Le principal rôle de l'apo CIII étant d'inhiber l'activité de la LPL, elle a été associée au développement de l'hypertriglycéridémie et à l'augmentation du risque cardiovasculaire due à l'accumulation de TRL athérogéniques [86]. Comme l'allèle S2 du polymorphisme *Sst1* (-3238C/G) semble provoquer une hypertriglycéridémie, via une augmentation de l'expression d'apo CIII, et que les sujets exprimant le type III présentent cette caractéristique clinique, il a été proposé que la présence de polymorphismes dans le gène de l'apo CIII augmente le risque d'exprimer le type III. Toutefois, les trois polymorphismes les plus étudiés dans le gène de l'apo CIII, *Sst1*, -482C/T et -455T/C, ne sont pas plus fréquents chez les sujets type III, bien que près de la moitié des porteurs de l'allèle S2 ont un ratio cholestérol-VLDL / TG se situant dans le dernier quintile. Malgré cette dernière observation, les résultats démontrent que la présence du polymorphisme *Sst1* n'influencerait pas le risque d'exprimer le type III chez des individus de la cohorte étudiée. L'équipe de Sijbrands a quant à elle réussi à établir une relation entre le type III et la présence du polymorphisme *Sst1* et le type III, mais

chez des individus homozygotes pour l'apo E2 et présentant une hyperinsulinémie [100]. Puisque l'apo CIII est en interaction avec l'insulinémie par les variants -482C/T et -455T/C de l'élément de réponse à l'insuline, l'hypertriglycéridémie présente chez les individus exprimant le type III pourrait être expliquée par le biais de l'hyperinsulinémie qui stimule la sécrétion de VLDL, dont l'élimination est diminuée chez les porteurs de l'allèle ϵ_2 [48]. Une augmentation de production de TRL comme les VLDL et la diminution de leur élimination sont donc associées à un risque accru de développer de l'athérosclérose. De plus, ceci entraîne également une augmentation du ratio cholestérol-VLDL / TG, reflétant ainsi la présence de β -VLDL, un indice majeur de l'expression du type III chez un individu [14]. Malgré ces principes, aucun résultat concluant n'a été obtenu pour les trois variants de l'apo CIII. Comme il a été précédemment souligné, l'ensemble des sujets de l'échantillon présente des perturbations métaboliques comme de l'hypertriglycéridémie. Le risque qui lui est associé peut donc concerner l'expression d'une autre dyslipidémie que le type III. En outre, il a déjà été suggéré que l'effet de *Sst1* pourrait être causé par un autre polymorphisme dans le même gène ou dans un autre gène adjacent puisque *Sst1* est situé dans la région non codante du gène [100]. Il aurait donc été intéressant de génotyper les sujets de l'échantillon pour d'autres polymorphismes connus du gène de l'apo CIII, ou bien de séquencer certaines régions entourant le polymorphisme *Sst1*. De plus, comme pour les autres facteurs génétiques suggérés dans cette étude, la présence de modulateurs métaboliques ou environnementaux, augmentant la production d'apo CIII, pourrait également influencer le risque d'expression du type III.

Ce présent projet de maîtrise se démarque bien des études antérieures sur le type III par le nombre de sujets recrutés exprimant le type III. Par contre, comme les sujets témoins provenaient également de la Clinique régionale des maladies lipidiques, certains déterminants, suggérés à l'hypothèse de départ, n'ont pu être associés à l'expression du type III. La comparaison des sujets type III avec des sujets non type III, provenant de la population générale et ne présentant pas de perturbations métaboliques aurait probablement donné des résultats différents. Certains déterminants comme le diabète de type 2 ou des polymorphismes dans les gènes de la LH et de l'apo CIII auraient

probablement été associés à l'expression du type III, étant donné leurs conséquences sur le métabolisme lipidique. De plus, l'absence de données concernant certaines habitudes de vie, telles que l'alimentation et l'activité physique, n'a pas permis de vérifier une association potentielle entre des comportements fréquents qui sont à risque pour l'expression du type III. Il demeure toute de même que ce projet a permis d'identifier, et dans certains cas de confirmer, des déterminants métaboliques, génétiques et environnementaux associés à l'expression du type III et de soulever des questionnements quant aux critères diagnostiques utilisés, afin de mieux cibler les stratégies de prévention et d'intervention.

CHAPITRE V

CONCLUSION

Le métabolisme lipidique est un processus complexe impliquant une multitude d'interactions entre des facteurs génétiques et environnementaux, dont les conséquences sont l'hétérogénéité phénotypique de l'expression des différentes dyslipidémies et la difficulté à établir des stratégies d'intervention. Cette complexité donne toute sa pertinence à la révision des approches préventives et thérapeutiques dans le processus d'évaluation des risques individuels. Les critères métaboliques utilisés pour le diagnostic du type III, lesquels sont également utilisés dans l'évaluation du risque cardiovasculaire, doivent être redéfinis. C'est pourquoi cette étude avait pour but d'identifier des déterminants génétiques, métaboliques et environnementaux associés à l'expression du type III, en plus de revoir les critères diagnostiques décrits dans la littérature.

Le statut homozygote pour l'apo E2, identifié comme étant un élément pathognomonique du type III dans plusieurs publications, réduit l'importance de cette perturbation métabolique. En effet, ce projet de maîtrise a démontré que l'hypothyroïdie, l'obésité abdominale et la présence de mutations dans le gène de la LPL augmentent le risque d'exprimer le type III chez des sujets hétérozygotes pour l'apo E2. De plus, il apparaît que l'obésité abdominale est un déterminant majeur de l'expression du type III, spécialement en présence simultanée de mutations dans le gène de la LPL. D'ailleurs, cet effet est plus important chez des sujets âgés de moins de 45 ans et n'étant pas porteurs de l'allèle $\epsilon 2$, lesquels sont souvent associés à un faible risque d'expression du type III et de maladies cardiovasculaires.

Considérant le vieillissement de la population, l'endémisation de l'obésité dans les pays développés et même sous-développés ainsi que la fréquence de mutations dans le gène de la LPL d'environ 5% dans la population en général, les risques associés au type III augmenteront significativement dans les prochaines décennies. Il devient donc

important de redéfinir les critères diagnostiques du type III afin de mieux cibler les sujets atteints ou à risque, dont la prévalence est nettement sous-estimée.

CHAPITRE VI

BIBLIOGRAPHIE

1. Havel R.J., Kane J.P., Structure and metabolism of plasma lipoproteins. In: *The metabolic basis of inherited diseases*. Beaudet A.L., Scriver C.R., Sly W.S., Valle D., eds., McGraw-Hill, New-York, 2001; **ch. 114**: p. 2705-16.
2. Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C. Jr., Weisgraber K.H. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res* 1984; **25**: p.1277-94.
3. Gotto A. M. Jr. Interrelationship of triglycerides with lipoproteins and high-density lipoproteins. *Am J Cardiol* 1990; **66**: p.20A-30A.
4. Berliner J. A., Navab M., Fogelman A. M., Frank J. S., Demer L. L., Edwards P. A., Watson A. D. , Lusis A. J. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995; **91**: p.2488-96.
5. Sviridov D., Nestel P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002; **161**: p.245-54.
6. Von Eckardstein A., Nofer J.R., Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; **21**: p.13-27.
7. Kwiterovich P.O. Jr. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *Am J Cardiol* 2000; **21**: p.5L-10L.
8. Nofer J.R., Kehrel B., Fobker M., Levkau B., Assmann G., Von Eckardstein A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 2002; **161**: p.1-16.
9. Mahley R. W. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; **240**: p.622-30.
10. Davignon J., Roederer G. Phénotype de l'apolipoprotéine E, l'hyperlipidémie et l'athérosclérose. *Union Med Can* 1988; **117**: p.56-61.
11. Hagberg J.M., Wilund K.R., Ferrell R.E. APO E gene and gene-environment effects on plasma lipoprotein-lipid levels. *Physiol Genomics* 2000; **4**: p.101-8.

12. Ordovas J. M., Litwack-Klein L., Wilson P. W., Schaefer M. M., Schaefer E. J. Apolipoprotein E isoform phenotyping methodology and population frequency with identification of apoE1 and apoE5 isoforms. *J Lipid Res* 1987; **28**: p.371-80.
13. Hallman D. M., Boerwinkle E., Saha N., Sandholzer C., Menzel H. J., Csazar A., Utermann G. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 1991; **49**: p.338-49.
14. Mahley R.W., Rall S.C., Type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): the role of apolipoprotein E in normal and abnormal metabolism. In: *The metabolic basis of inherited diseases*. Beaudet A.L. Scriver C.R., Sly W.S., Valle D., eds., McGraw-Hill, New-York, 2001; **ch. 119**: p. 2835-62.
15. Mahley R.W., Huang Y., Rall S.C. Jr. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia). Questions, quandaries, and paradoxes. *J Lipid Res* 1999; **40**: p.1933-49.
16. Mahley R. W., Angelin B. Type III hyperlipoproteinemia: recent insights into the genetic defect of familial dysbetalipoproteinemia. *Adv Intern Med* 1984; **29**: p.385-411.
17. Davignon J., Gregg R.E., Sing C.F. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; **8**: p.1-21.
18. Huang Y., Liu X. Q., Rall S. C., Jr., Mahley R. W. Apolipoprotein E2 reduces the low density lipoprotein level in transgenic mice by impairing lipoprotein lipase-mediated lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins. *J Biol Chem* 1998; **273**: p.17483-90.
19. Fredrickson D.S., Levy R.I., Lees R.S. Fat transport in lipoproteins-an integrated approach to mechanisms and disorders. *N Engl J Med* 1967; **276**: p.34-42.
20. Schneider W. J., et al. Familial dysbetalipoproteinemia. Abnormal binding of mutant apoprotein E to low density lipoprotein receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal of rats, rabbits, and cows. *J Clin Invest* 1981; **68**: p.1075-85.
21. Birmingham C. L., Muller J. L., Palepu A., Spinelli J. J., Anis A. H. The cost of obesity in Canada. *CMAJ* 1999; **160**: p.483-8.
22. Macdonald S. M., Reeder B. A., Chen Y., Després J. P. Obesity in Canada: a descriptive analysis. Canadian Heart Health Surveys Research Group. *CAMJ* 1997; **157 Suppl 1**: p.S3-9.
23. WHO, *Obesity: preventing and managing the global epidemic (report of a WHO consultation on obesity)*. 1997, World Health Organization: Geneva. p. 98.

24. Ravussin E., Bouchard C. Human genomics and obesity: finding appropriate drug targets. *Eur J Pharmacol* 2000; **410**: p.131-45.
25. Greenfield J. R., *et al.* Moderate alcohol consumption, dietary fat composition, and abdominal obesity in women: evidence for gene-environment interaction. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: p.5381-6.
26. Burke G. L., *et al.* Correlates of obesity in young black and white women: the CARDIA Study. *Am J Public Health* 1992; **82**: p.1621-5.
27. Croft J. B., *et al.* Socioeconomic and behavioral correlates of body mass index in black adults: the Pitt County Study. *Am J Public Health* 1992; **82**: p.821-6.
28. Drenick E. J., Bale G. S., Seltzer F., Johnson D. G. Excessive mortality and causes of death in morbidly obese men. *JAMA* 1980; **243**: p.443-5.
29. Gaudet D., *et al.* Relationships of abdominal obesity and hyperinsulinemia to angiographically assessed coronary artery disease in men with known mutations in the LDL receptor gene. *Circulation* 1998; **97**: p.871-7.
30. Douketis J. D., Feightner J. W., Attia J., Feldman W. F. Periodic health examination, 1999 update: 1. Detection, prevention and treatment of obesity. Canadian Task Force on Preventive Health Care. *CMAJ* 1999; **160**: p.513-25.
31. WHO, *Physical status : the use and interpretation of anthropometry (Report of a WHO expert committee)*. 1995, World Health Organization: Geneva (Technical Report Series #854).
32. Kukarni S.K., Gurpreet K. Obesity: an insight into its neurochemical basis and treatment. *Indian Journal of Pharmacology* 1999; **31**: p.388-403.
33. Després J. P., Lemieux I., Prud'homme D. Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patients. *Bmj* 2001; **322**: p.716-20.
34. Vague J. La différenciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité. *Press Med* 1947; **30**: p.339-40.
35. Kissebah A. H., Krakower G. R. Regional adiposity and morbidity. *Physiol Rev* 1994; **74**: p.761-811.
36. Lemieux S., Prud'homme D., Tremblay A., Bouchard C., Després J. P. Anthropometric correlates to changes in visceral adipose tissue over 7 years in women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; **20**: p.618-24.
37. Pouliot M. C., *et al.* Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue

- accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 1994; **73**: p.460-8.
38. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA* 2001; **285**: p.2486-97.
 39. Genest J., Frohlich J., Fodor G., Mcpherson R. Recommendations for the management of dyslipidemia and the prevention of cardiovascular disease: summary of the 2003 update. *CMAJ* 2003; **169**: p.921-4.
 40. St-Pierre J., Lemieux I., Vohl M. C., Perron P., Tremblay G., Després J. P., Gaudet D. Contribution of abdominal obesity and hypertriglyceridemia to impaired fasting glucose and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002; **90**: p.15-8.
 41. Després J. P., *et al.* The insulin resistance-dyslipidemic syndrome: contribution of visceral obesity and therapeutic implications. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; **19 Suppl 1**: p.S76-86.
 42. Lemieux I., *et al.* Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation* 2000; **102**: p.179-84.
 43. Carr D. B., *et al.* Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes* 2004; **53**: p.2087-94.
 44. Zimmet P., Alberti K. G., Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001; **414**: p.782-7.
 45. Ovalle F., Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002; **77**: p.1095-105.
 46. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993; **329**: p.977-86.
 47. Resnick H. E., Howard B. V. Diabetes and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 2002; **53**: p.245-67.
 48. Laws A., Reaven G. M. Evidence for an independent relationship between insulin resistance and fasting plasma HDL-cholesterol, triglyceride and insulin concentrations. *J Intern Med* 1992; **231**: p.25-30.

49. Griffin J.E., The thyroid. In: *Textbook of endocrine physiology*. Sergio R. Ojeda James E. Griffin,eds., Oxford University Press, New York, 2000; 303-27.
50. Lindsay R. S., Toft A. D. Hypothyroidism. *Lancet* 1997; **349**: p.413-7.
51. Ineck B. A., Ng T. M. Effects of subclinical hypothyroidism and its treatment on serum lipids. *Ann Pharmacother* 2003; **37**: p.725-30.
52. Canaris G. J., Manowitz N. R., Mayor G., Ridgway E. C. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med* 2000; **160**: p.526-34.
53. Feussner G., Ziegler R. Expression of type III hyperlipoproteinaemia in a subject with secondary hypothyroidism bearing the apolipoprotein E2/2 phenotype. *J Intern Med* 1991; **230**: p.183-6.
54. Carr M. C. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: p.2404-11.
55. Ojeda S.R., Female reproductive function. In: *Textbook of endocrine physiology*. Sergio R. Ojeda James E. Griffin,eds., Oxford University Press, New York, 2000; 202-42.
56. Zapantis G., Santoro N. The menopausal transition: characteristics and management. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; **17**: p.33-52.
57. Hazzard W. R. Why do women live longer than men? Biologic differences that influence longevity. *Postgrad Med* 1989; **85**: p.271-8, 81-3.
58. Manolio T. A., et al. Cholesterol and heart disease in older persons and women. Review of an NHLBI workshop. *Ann Epidemiol* 1992; **2**: p.161-76.
59. Crawford S. L., Casey V. A., Avis N. E., Mckinlay S. M. A longitudinal study of weight and the menopause transition: results from the Massachusetts Women's Health Study. *Menopause* 2000; **7**: p.96-104.
60. Huang Y., Schwendner Sw., Rall Sc Jr., Sanan Da., Mahley Rw. Apolipoprotein E2 transgenic rabbits. Modulation of teh type III hyperlipoproteinemic phenotype by estrogen and occurrence of spontaneous atherosclerosis. *Huang Y, Schwendner SW, Rall SC Jr, Sanan DA, Mahley RW*. 1997; **272**: p.22685-95.
61. Tikkanen M. J., Kuusi T., Nikkila E. A., Stenman U. H. Variation of postheparin plasma hepatic lipase by menstrual cycle. *Metabolism* 1986; **35**: p.99-104.
62. Harman S. M., Naftolin F., Brinton E. A., Judelson D. R. Is the Estrogen Controversy Over? Deconstructing the Women's Health Initiative Study: A Critical Evaluation of the Evidence. *Ann N Y Acad Sci* 2005; **1052**: p.43-56.

63. Mead J.R., Irvine S.A., Ramji D.P. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med* 2002; **80**: p.753-69.
64. Merkel M., Eckel R. H., Goldberg I. J. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J Lipid Res* 2002; **43**: p.1997-2006.
65. Mead J. R., Ramji D. P. The pivotal role of lipoprotein lipase in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2002; **55**: p.261-9.
66. Mead J. R., Cryer A., Ramji D. P. Lipoprotein lipase, a key role in atherosclerosis? *FEBS Lett* 1999; **462**: p.1-6.
67. Auerbach B. J., Bisgaier C. L., Wolle J., Saxena U. Oxidation of low density lipoproteins greatly enhances their association with lipoprotein lipase anchored to endothelial cell matrix. *J Biol Chem* 1996; **271**: p.1329-35.
68. Ruel II., *et al.* Characterization of LDL Particle Size Among Carriers of a Defective or a Null Mutation in the Lipoprotein Lipase Gene: The Quebec LIPD Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; **22**: p.1181-6.
69. Fisher R. M., Humphries S. E., Talmud P. J. Common variation in the lipoprotein lipase gene: effects on plasma lipids and risk of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1997; **135**: p.145-59.
70. Julien P., *et al.* Dyslipidemias associated with heterozygous lipoprotein lipase mutations in the French-Canadian population. *Hum Mutat* 1998; **Suppl 1**: p.S148-53.
71. Wittekoek M.E., *et al.* A common mutation in the lipoprotein lipase gene (N291S) alters the lipoprotein phenotype and risk for cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; **97**: p.729-35.
72. Zhang H., *et al.* Patients with apoE3 deficiency (E2/2, E3/2, and E4/2) who manifest with hyperlipidemia have increased frequency of an Asn 291-->Ser mutation in the human LPL gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; **15**: p.1695-703.
73. Brummer D., *et al.* Expression of type III hyperlipoproteinemia in patients homozygous for apolipoprotein E-2 is modulated by lipoprotein lipase and postprandial hyperinsulinemia. *J Mol Med* 1998; **76**: p.355-64.
74. Wang C. S., Mcconathy W. J., Kloer H. U., Alaupovic P. Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III. *J Clin Invest* 1985; **75**: p.384-90.

75. Enerback S., Gimble J. M. Lipoprotein lipase gene expression: physiological regulators at the transcriptional and post-transcriptional level. *Biochim Biophys Acta* 1993; **1169**: p.107-25.
76. Jansen H., Verhoeven A.J., Sijbrands E.J. Hepatic lipase: a pro- or anti-atherogenic protein? *J Lipid Res* 2002; **43**: p.1352-62.
77. Deeb S.S., Zambon A., Carr M.C., Ayyobi A.F., Brunzell J.D. Hepatic lipase and dyslipidemia: Interactions between genetic variants, obesity, gender and diet. *J Lipid Res* 2003; **44**: p.1279-86.
78. Zambon A., Deeb S.S., Pauletto P., Crepaldi G., Brunzell J.D. Hepatic lipase: a marker for cardiovascular disease risk and response to therapy. *Curr Opin Lipidol* 2003; **14**: p.179-89.
79. Dugi K.A., *et al.* Low hepatic lipase activity is a novel risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 2001; **104**: p.3057-62.
80. Perret B., Mabile L., Martinez L., Terce F., Barbaras R., Collet X. Hepatic lipase: structure/function relationship, synthesis, and regulation. *J Lipid Res* 2002; **43**: p.1163-9.
81. Ameis D., *et al.* Isolation and characterization of the human hepatic lipase gene. *J Biol Chem* 1990; **265**: p.6552-5.
82. Guerra R., Wang J., Grundy S.M., Cohen J.C. A hepatic lipase (LIPC) allele associated with high plasma concentrations of high density lipoprotein cholesterol. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; **94**: p.4532-7.
83. Zambon A., Deeb S.S., Hokanson J.E., Brown B.G., Brunzell J.D. Common variants in the promoter of the hepatic lipase gene are associated with lower levels of hepatic lipase activity, buoyant LDL, and higher HDL2 cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; **18**: p.1723-9.
84. Jansen H., *et al.* Common C-to-T substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter associated with a lowered lipase activity in coronary artery disease patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; **17**: p.2837-42.
85. Carr M. C., *et al.* A hepatic lipase gene promoter polymorphism attenuates the increase in hepatic lipase activity with increasing intra-abdominal fat in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; **19**: p.2701-7.
86. Marcoux C., Tremblay M., Fredenrich A., Davignon J., Cohn J.S. Lipoprotein distribution of apolipoprotein C-III and its relationship to the presence in plasma of triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Metabolism* 2001; **50**: p.112-9.

87. Windle R E., Havel R.J. Inhibitory effects of C apolipoproteins from rats and humans on the uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants by the perfused rat liver. *J Lipid Res* 1985; **26**: p.556-63.
88. Jong Mc, Hofker Mh., Havekes Lm. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; **19**: p.472-84.
89. Protter A. A., *et al.* Isolation and sequence analysis of the human apolipoprotein CIII gene and the intergenic region between the apo AI and apo CIII genes. *DNA* 1984; **3**: p.449-56.
90. Karathanasis S. K. Apolipoprotein multigene family: tandem organization of human apolipoprotein AI, CIII, and AIV genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; **82**: p.6374-8.
91. Waterworth D.M., *et al.* ApoCIII gene variants modulate postprandial response to both glucose and fat tolerance tests. *Circulation* 1999; **99**: p.1872-7.
92. Shoulders Cc., *et al.* Hypertriglyceridemia and the apolipoprotein CIII gene locus: lack of association with the variant insulin response element in Italian school children. *Hum Genet* 1996; **98**: p.557-66.
93. Maeda N., *et al.* Targeted disruption of the apolipoprotein C-III gene in mice results in hypotriglyceridemia and protection from postprandial hypertriglyceridemia. *J Biol Chem* 1994; **269**: p.23610-6.
94. Dammerman M., Sandkuijl L.A., Halaas J.L., Chung W., Breslow J.L. An apolipoprotein CIII haplotype protective against hypertriglyceridemia is specified by promoter and 3' untranslated region polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90**: p.4562-6.
95. Ordovas J. M., *et al.* Restriction fragment length polymorphisms of the apolipoprotein A-I, C-III, A-IV gene locus. Relationships with lipids, apolipoproteins, and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1991; **87**: p.75-86.
96. Couillard C., *et al.* Effect of apoC-III gene polymorphisms on the lipoprotein-lipid profile of viscerally obese men. *J Lipid Res* 2003; **44**: p.986-93.
97. Surguchov Ap., Page Gp., Smith L., Patsch W., Boerwinkle E. Polymorphic markers in apolipoprotein C-III gene flanking regions and hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; **16**: p.941-7.
98. Hegele Ra., Connelly Pw., Hanley Aj., Sun F., Harris Sb., Zinman B. Common genomic variation in the APOC3 promoter associated with variation in plasma lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; **17**: p.2753-8.

99. Li W. W., *et al.* Common genetic variation in the promoter of the human apo CIII gene abolishes regulation by insulin and may contribute to hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1995; **96**: p.2601-5.
100. Sijbrands E.J., *et al.* Severe hyperlipidemia in apolipoprotein E2 homozygotes due to a combined effect of hyperinsulinemia and an SstI polymorphism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; **19**: p.2722-9.
101. Room R., Babor T., Rehm J. Alcohol and public health. *Lancet* 2005; **365**: p.519-30.
102. World Health Organization, *Global Status Report on Alcohol*. 2004, World Health Organization, Department of Mental Health and Substance Abuse: Geneva.
103. Russo D., Purohit V., Foudin L., Salin M. Workshop on Alcohol Use and Health Disparities 2002: a call to arms. *Alcohol* 2004; **32**: p.37-43.
104. Mulligan C. J., *et al.* Allelic variation at alcohol metabolism genes (ADH1B, ADH1C, ALDH2) and alcohol dependence in an American Indian population. *Hum Genet* 2003; **113**: p.325-36.
105. Handa K., Sasaki J., Saku K., Kono S., Arakawa K. Alcohol consumption, serum lipids and severity of angiographically determined coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1990; **65**: p.287-9.
106. Savolainen M. J., Kesaniemi Y. A. Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1995; **6**: p.243-50.
107. Mukamal K. J., *et al.* Alcohol and risk for ischemic stroke in men: the role of drinking patterns and usual beverage. *Ann Intern Med* 2005; **142**: p.11-9.
108. Lee W. Y., Jung C. H., Park J. S., Rhee E. J., Kim S. W. Effects of smoking, alcohol, exercise, education, and family history on the metabolic syndrome as defined by the ATP III. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; **67**: p.70-7.
109. Siler S. Q., Neese R. A., Parks E. J., Hellerstein M. K. VLDL-triglyceride production after alcohol ingestion, studied using [2-13C1] glycerol. *J Lipid Res* 1998; **39**: p.2319-28.
110. Serdula M. K., *et al.* Prevalence of attempting weight loss and strategies for controlling weight. *JAMA* 1999; **282**: p.1353-8.
111. Hu F. B., Manson J. E., Willett W. C. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *J Am Coll Nutr* 2001; **20**: p.5-19.

112. Canada Santé. Le guide alimentaire canadien pour manger sainement. 1992;Ottawa: p.
113. Levine G. N., Keaney J. F., Jr., Vita J. A. Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med* 1995; **332**: p.512-21.
114. Melzer K., Kayser B., Pichard C. Physical activity: the health benefits outweigh the risks. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; **7**: p.641-7.
115. Hu F. B., *et al.* Walking compared with vigorous physical activity and risk of type 2 diabetes in women: a prospective study. *JAMA* 1999; **282**: p.1433-9.
116. Kesaniemi Y. K., *et al.* Dose-response issues concerning physical activity and health: an evidence-based symposium. *Med Sci Sports Exerc* 2001; **33**: p.S351-8.
117. Keim N. L., Blanton C. A., Kretsch M. J. America's obesity epidemic: measuring physical activity to promote an active lifestyle. *J Am Diet Assoc* 2004; **104**: p.1398-409.
118. Paluska S. A., Schwenk T. L. Physical activity and mental health: current concepts. *Sports Med* 2000; **29**: p.167-80.
119. Pate R. R., *et al.* Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995; **273**: p.402-7.
120. Havel R.J., Kane J.P., Introduction: Structure and metabolism of plasma lipoproteins. In: *The metabolic basis of inherited diseases*. Beaudet A.L. Scriver C.R., Sly W.S., Valle D.,eds., McGraw-Hill, New-York, 2000; **ch. 114**: p. 2705-16.
121. Gaudet D., *et al.* Procedure to protect confidentiality of familial data in community genetics and genomic research. *Clin Genet* 1999; **55**: p.259-64.
122. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; **26 Suppl 1**: p.S5-20.
123. Committee World Health Organization Expert, *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus*. 1999, World Health Organization: Geneva.
124. Gaudet D., *et al.* Relationships of abdominal obesity and hyperinsulinemia to angiographically assessed coronary artery disease in men with known mutations in the LDL receptor gene. *Circulation* 1998; **97**: p.871-7.

125. Kek P.C., Ho S.C., Khoo D.H. Subclinical thyroid disease. *Singapore Med J* 2003; **44**: p.595-600.
126. Chobanian A. V., *et al.* The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; **289**: p.2560-72.
127. Warnick G. R., Benderson J., Albers J. J. Dextran sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 1982; **28**: p.1379-88.
128. QIAGEN Genomic DNA Handbook. *QIAGEN*. 1999; 62 p.
129. Mullis K., *et al.* Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; **51 Pt 1**: p.263-73.
130. Hixson J.E., Vernier D.T. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990; **31**: p.545.
131. De Bruin T.W., *et al.* Lipoprotein lipase gene mutations D9N and N291S in four pedigrees with familial combined hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest* 1996; **26**: p.631-39.
132. Ma Y., *et al.* A missense mutation (Asp250----Asn) in exon 6 of the human lipoprotein lipase gene causes chylomicronemia in patients of different ancestries. *Genomics* 1992; **13**: p.649-53.
133. Bijvoet S.M., Hayden M.R. Mismatch PCR: a rapid method to screen for the Pro207-->Leu mutation in the lipoprotein lipase (LPL) gene. *Hum Mol Genet* 1992; **1**: p.541.
134. Kaplan J.C., Delpech M. Prenatal diagnosis by DNA analysis. *Rev Prat* 1987; **37**: p.2595-611.
135. Chen X., Levine L., Kwok P.Y. Fluorescence polarization in homogeneous nucleic acid analysis. *Genome Res* 1999; **9**: p.492-8.
136. Kwok P.Y. SNP genotyping with fluorescence polarization detection. *Human Mutation* 2002; **19**: p.315-23.
137. Greene R.A., *et al.* A novel method for SNP analysis using fluorescence polarization. *PerkinElmer Life Sciences*. Boston, 2001; 7 p.
138. Grover S. A., *et al.* Lipid screening to prevent coronary artery disease: a quantitative evaluation of evolving guidelines. *CMAJ* 2000; **163**: p.1263-9.

139. Bouchard C., De Braekeleer M. Pourquoi des maladies héréditaires? Les éditions du Septentrion ed. 1992, Sillery. 184.
140. Scriver C. R. Human genetics: lessons from Quebec populations. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001; **2**: p.69-101.
141. Woollett L. A., Osono Y., Herz J., Dietschy J. M. Apolipoprotein E competitively inhibits receptor-dependent low density lipoprotein uptake by the liver but has no effect on cholesterol absorption or synthesis in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; **92**: p.12500-4.
142. Chung B. H., Segrest J. P. Resistance of a very low density lipoprotein subpopulation from familial dysbetalipoproteinemia to in vitro lipolytic conversion to the low density lipoprotein density fraction. *J Lipid Res* 1983; **24**: p.1148-59.
143. World Health Organization, *Research on the menopause in the 1990s. Report of a WHO scientific group*. 1996: Geneva. p. 116.
144. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe. *Lancet* 1999; **354**: p.617-21.
145. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of WHO consultation. *World Health Org Techn Rep Ser*. 2000; **Geneva**: p. 1-253.
146. Carr M. C., *et al.* The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: p.2831-7.
147. Applebaum D. M., Goldberg A. P., Pykalisto O. J., Brunzell J. D., Hazzard W. R. Effect of estrogen on post-heparin lipolytic activity. Selective decline in hepatic triglyceride lipase. *J Clin Invest* 1977; **59**: p.601-8.
148. Connelly P. W., Hegele R. A. Hepatic lipase deficiency. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1998; **35**: p.547-72.

ANNEXE I

Caractéristiques des sujets selon le diagnostic du type III

a) Hommes

	Non type III (n = 752)	Type III (n = 201)	Valeur P
Âge (années) ^a	47,7 [46,9-48,5]	47,5 [46,0-49,0]	NS
IMC (kg/m ²) ^a	28,0 [27,7-28,3]	28,0 [27,3-28,4]	NS
Tour de taille (cm) ^a	97,7 [97,0-98,6]	96,5 [95,2-97,9]	NS
Diabète de type 2 (%) ^b	16,4	10,0	0,024
MCA (%) ^b	30,0	22,4	0,032
HTA (%) ^b	28,5	25,4	NS
Hypothyroïdie (%) ^{b.1}	4,1	3,6	NS
Consommation d'alcool (%) ^{b.2}	10,4	14,5	NS
LPL (%) ^{b.3}	15,2	24,6	0,002
Apolipoprotéine E (%) ^b			<0,001
E 2/2	0	25,8	
E 3/2	21,7	42,2	
E 3/3	53,0	20,0	
E 4/3	22,1	9,5	
E 4/4	3,2	2,5	
LIPC -250G/A (%) ^{b.4}	45,4	50,3	NS
LIPC -514C/T (%) ^{b.5}	42,1	50,6	0,083
APOC3 -3238C/G (<i>Sst1</i>) (%) ^{b.6}	28,8	32,7	NS
APOC3 -482C/T (%) ^{b.7}	49,8	47,1	NS
APOC3 -455T/C (%) ^{b.8}	65,1	67,5	NS

IMC = Indice de masse corporelle ^a Moyenne [IC 95%] ^b Proportion d'individus exprimant le diabète de type 2, une maladie coronarienne athérosclérotique (MCA), l'hypertension artérielle (HTA), l'hypothyroïdie, ayant une consommation régulière d'alcool et porteurs de polymorphismes dans le gène de la lipase lipoprotéique (LPL), de la lipase hépatique (LIPC -250G/A et -514C/T) et de l'apolipoprotéine CIII (APOC3 -3238C/G, -482C/T et -455T/C). Informations disponibles pour (1) n=896, (2) n=903, (3) n=910, (4) n=362, (5) n=426. (6) n=401. (7) n=397, (8) n=375. NS=p>0.1.

b) Femmes

	Non type III (n = 777)	Type III (n = 106)	Valeur P
Âge (années) ^a	49,7 [48,8-50,6]	52,0 [49,8-54,1]	0,089
IMC (kg/m ²) ^a	26,9 [26,5-27,2]	28,4 [27,5-29,3]	0,006
Tour de taille (cm) ^a	85,5 [84,6-86,4]	89,1 [86,6-91,5]	0,010
Diabète de type 2 (%) ^b	15,2	17,9	NS
MCA (%) ^b	14,8	13,2	NS
HTA (%) ^b	38,1	37,7	NS
Hypothyroïdie (%) ^{b,1}	13,3	16,8	NS
Ménopause (%) ^{b,2}	57,7	61,8	NS
Consommation d'alcool (%) ^{b,3}	1,0	2,0	NS
LPL (%) ^{b,4}	14,4	18,8	NS
Apolipoprotéine E (%) ^b			<0,001
E 2/2	0	40,6	
E 3/2	24,3	34,9	
E 3/3	50,5	18,9	
E 4/3	22,5	4,7	
E 4/4	2,7	0,9	
LIPC -250G/A (%) ^{b,5}	38,4	43,0	NS
LIPC -514C/T (%) ^{b,6}	37,8	39,4	NS
APOC3 -3238C/G (<i>Sst1</i>) (%) ^{b,7}	27,8	34,8	NS
APOC3 -482C/T (%) ^{b,8}	50,0	50,0	NS
APOC3 -455T/C (%) ^{b,9}	64,3	66,7	NS

IMC = Indice de masse corporelle ^a Moyenne [IC 95%] ^b Proportion d'individus exprimant le diabète de type 2, une maladie coronarienne athérosclérotique (MCA), l'hypertension artérielle (HTA), l'hypothyroïdie, étant ménopausée, ayant une consommation régulière d'alcool et porteurs de polymorphismes dans le gène de la lipase lipoprotéique (LPL), de la lipase hépatique (LIPC -250G/A et -514C/T) et de l'apolipoprotéine CIII (APOC3 -3238C/G, -482C/T et -455T/C). Informations disponibles pour (1) n=821, (2) n=781. (3) n=836, (4) n=851, (5) n=305. (6) n=353, (7) n=347, (8) n=344, (9) n=326. NS=p>0,1.

ANNEXE II

Bilan lipidique des sujets selon le diagnostic du type III^{a,b}

a) Hommes

	Non type III (n=740)	Type III (n=199)	Valeur <i>P</i>
Cholestérol total (mmol/L)	5,74 [5,65-5,84]	7,10 [6,79-7,42]	< 0,001
Cholestérol-VLDL (mmol/L)	0,97 [0,91-1,03]	2,15 [1,93-2,38]	< 0,001
Cholestérol-LDL (mmol/L)	3,22 [3,15-3,28]	2,92 [2,79-3,06]	< 0,001
Cholestérol-HDL (mmol/L)	0,95 [0,93-0,97]	0,89 [0,86-0,92]	0,001
TG (mmol/L) ^c	2,08 [1,98-2,20]	3,54 [3,19-3,93]	< 0,001
TG-VLDL (mmol/L) ^c	1,29 [1,22-1,37]	2,07 [1,88-2,28]	< 0,001
TG-LDL (mmol/L) ^c	0,29 [0,28-0,30]	0,37 [0,35-0,39]	< 0,001
TG-HDL (mmol/L) ^c	0,26 [0,26-0,27]	0,31 [0,30-0,32]	< 0,001
Cholestérol-VLDL / TG	0,39 [0,38-0,39]	0,63 [0,61-0,66]	< 0,001
β-VLDL / cholestérol-LDL	3,08 [3,03-3,12]	3,14 [3,05-3,23]	NS
Apolipoprotéine B total (g/l)	1,13 [1,12-1,15]	1,15 [1,11-1,19]	NS

VLDL, lipoprotéine de très faible densité; LDL, lipoprotéine de faible densité; HDL, lipoprotéine de haute densité; TG, triglycérides, ^a Moyenne [IC 95%]. ^b Le bilan lipidique a été calculé seulement chez les sujets pour qui toutes les variables présentées étaient disponibles après ultracentrifugation. ^c Les moyennes géométriques et les valeurs *P* ont été obtenues après une transformation logarithmique (Log₁₀). NS=*p*>0,05.

b) Femmes

	Non type III (n=764)	Type III (n=105)	Valeur <i>P</i>
Cholestérol total (mmol/L)	5,76 [5,67-5,85]	7,45 [6,95-7,96]	< 0,001
Cholestérol-VLDL (mmol/L)	0,83 [0,77-0,89]	2,45 [2,05-2,86]	< 0,001
Cholestérol-LDL (mmol/L)	3,16 [3,09-3,22]	2,95 [2,75-3,15]	0,055
Cholestérol-HDL (mmol/L)	1,27 [1,24-1,30]	1,04 [0,98-1,10]	< 0,001
TG (mmol/L) ^c	1,78 [1,69-1,88]	3,48 [3,03-3,99]	< 0,001
TG-VLDL (mmol/L) ^c	0,91 [0,93-1,05]	2,15 [1,85-2,49]	< 0,001
TG-LDL (mmol/L) ^c	0,31 [0,30-0,32]	0,40 [0,35-0,45]	< 0,001
TG-HDL (mmol/L) ^c	0,33 [0,32-0,34]	0,39 [0,37-0,41]	< 0,001
Cholestérol-VLDL / TG	0,35 [0,35-0,36]	0,63 [0,60-0,67]	< 0,001
β-VLDL / cholestérol-LDL	3,04 [2,99-3,09]	3,27 [3,10-3,44]	0,010
Apolipoprotéine B total (g/l)	1,09 [1,07-1,11]	1,20 [1,12-1,27]	0,006

VLDL, lipoprotéine de très faible densité; LDL, lipoprotéine de faible densité; HDL, lipoprotéine de haute densité; TG, triglycérides, ^a Moyenne [IC 95%]. ^b Le bilan lipidique a été calculé seulement chez les sujets pour qui toutes les variables présentées étaient disponibles après ultracentrifugation. ^c Les moyennes géométriques et les valeurs *P* ont été obtenues après une transformation logarithmique (Log₁₀).

ANNEXE III

Risque relatif (*odds ratio*) associé à la présence de modulateurs métaboliques connus de l'expression du type III

a) Obésité^a

	OR	Valeur <i>P</i>	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + IMC ≤ 27 kg/m ²	5,99	< 0,001	207
Apo E2/E3 + IMC > 27 kg/m ²	5,95	< 0,001	237
Hommes			
Apo E2/E3 + IMC ≤ 27 kg/m ²	6,84	< 0,001	95
Apo E2/E3 + IMC > 27 kg/m ²	6,21	< 0,001	137
Femmes			
Apo E2/E3 + IMC ≤ 27 kg/m ²	4,95	< 0,001	112
Apo E2/E3 + IMC > 27 kg/m ²	5,33	< 0,001	100

^a L'obésité est définie par un indice de masse corporelle (IMC) > 27 kg/m². Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et un IMC < 27. L'âge, le genre, le diabète de type 2, les mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.

b) Obésité abdominale^a

	OR	Valeur <i>P</i>	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + tour de taille < 90 ou 85 cm	6,37	< 0,001	147
Apo E2/E3 + tour de taille ≥ 90 ou 85 cm	7,41	< 0,001	297
Hommes			
Apo E2/E3 + tour de taille < 90 ou 85 cm	5,89	0,001	43
Apo E2/E3 + tour de taille ≥ 90 ou 85 cm	6,64	< 0,001	189
Femmes			
Apo E2/E3 + tour de taille < 90 ou 85 cm	7,19	< 0,001	104
Apo E2/E3 + tour de taille ≥ 90 ou 85 cm	7,40	< 0,001	108

^a L'obésité abdominale est définie par un tour de taille ≥ 90 cm chez l'homme ou ≥ 85 cm chez la femme [40]. Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et un tour de taille < 90 cm chez les hommes et < 85 cm chez les femmes. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille, des mutations dans le gène de l'apo CIII et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.

c) Diabète de type 2 non traité

	OR	Valeur P	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + non diabétique	5,27	< 0,001	373
Apo E2/E3 + diabétique non traité	3,73	0,003	37
Hommes			
Apo E2/E3 + non diabétique	5,61	< 0,001	201
Apo E2/E3 + diabétique non traité	4,79	0,004	18
Femmes			
Apo E2/E3 + non diabétique	4,72	< 0,001	172
Apo E2/E3 + diabétique non traité	2,17	NS	19

Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et ne présentant pas les signes cliniques du diabète de type 2. L'âge, le genre, le tour de taille, les mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle. NS=p>0,1.

d) Hypothyroïdie

	OR	Valeur P	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + non hypothyroïdique	4,02	< 0,001	376
Apo E2/E3 + hypothyroïdie	8,29	< 0,001	39
Hommes			
Apo E2/E3 + non hypothyroïdique	4,68	< 0,001	211
Apo E2/E3 + hypothyroïdie	11,66	< 0,001	9
Femmes			
Apo E2/E3 + non hypothyroïdique	2,89	0,001	165
Apo E2/E3 + hypothyroïdie	5,88	< 0,001	30
Femmes non ménopausées			
Apo E2/E3 + non hypothyroïdique	1,70	NS	55
Apo E2/E3 + hypothyroïdie	11,37	0,019	5

Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et ne présentant pas les signes cliniques de l'hypothyroïdie. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille, les mutations dans le gène de la LPL et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle. NS=p>0,1.

ANNEXE IV

Risque relatif (*odds ratio*) associé à la présence de modulateurs génétiques connus de l'expression du type III

a) Lipase lipoprotéique (LPL)

	OR	Valeur <i>P</i>	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + non muté LPL	4,19	< 0,001	364
Apo E2/E3 + muté LPL	8,42	< 0,001	80
Hommes			
Apo E2/E3 + non muté LPL	4,26	< 0,001	182
Apo E2/E3 + muté LPL	8,96	< 0,001	50
Femmes			
Apo E2/E3 + non muté LPL	4,16	< 0,001	182
Apo E2/E3 + muté LPL	6,65	< 0,001	30

Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et n'ayant aucune mutation dans le gène de la LPL. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.

b) Mutation P207L dans le gène de la LPL

	OR	Valeur <i>P</i>	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + non muté LPL	4,22	< 0,001	364
Apo E2/E3 + muté LPL	11,82	< 0,001	22

Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et n'ayant pas la mutation P207L dans le gène de la LPL. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.

c) Mutation D9N dans le gène de la LPL

	OR	Valeur <i>P</i>	n
Total de l'échantillon			
Apo E2/E3 + non muté LPL	4,22	< 0,001	364
Apo E2/E3 + muté LPL	8,962	< 0,001	50

Le groupe contrôle est formé d'individus non type III ayant le génotype apo E3/3 et n'ayant pas la mutation D9N dans le gène de la LPL. L'âge, le genre, le diabète de type 2, le tour de taille et la consommation d'alcool sont inclus dans le modèle.