

Université de Montréal

**Prédicteurs de l'amélioration des facteurs de risques de  
diabète de type 2 suivant une diète hypocalorique**

par Viviane Provost

Département de Nutrition  
Faculté de Médecine

Mémoire présenté  
en vue de l'obtention du grade de M.Sc.  
en Nutrition

Décembre 2017

© Viviane Provost, 2017

## Résumé

**Problématique et hypothèse :** L'incidence du diabète de type 2 (DT2), ainsi que de la morbidité et mortalité associées, est en augmentation constante dans le monde. La perte de poids par diète hypocalorique réduit les facteurs de risque et l'incidence du DT2 chez les sujets obèses. Cependant, il existe une grande variabilité dans la réponse des sujets obèses à ce type d'interventions pour des raisons inconnues. La dysfonction du tissu adipeux blanc (TAB), l'hypertriglycémie post-prandiale, la résistance à l'insuline (RI) et l'hyperinsulinémie sont des facteurs de risque majeurs du DT2 chez l'humain. Des travaux de notre laboratoire ont démontré que les lipoprotéines porteuses d'apoB prédisent et promeuvent la dysfonction du TAB et les facteurs de risque associés chez des sujets obèses. Notre hypothèse était qu'un taux élevé d'apoB plasmatique au début de l'étude identifie les sujets obèses qui réduiront le plus les facteurs de risque de DT2 après une diète hypocalorique de 6 mois. Nous avons également exploré si le changement d'apport en fibres après l'intervention était prédictif de l'amélioration des facteurs de risque de DT2 indépendamment de la perte de poids.

**Méthodologie :** Cinquante-neuf participants (33 femmes, 26 hommes, 45-74 ans, IMC  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup>, sans maladies chroniques) ont complété l'intervention de diète hypocalorique (-500 calories/jour) d'une durée de 6 mois. La fonction du TAB *ex vivo* a été mesurée par sa capacité d'hydrolyse et d'entreposage de lipoprotéines riches en triglycérides synthétiques marquées au <sup>3</sup>H-trioléine. Le métabolisme post-prandial des lipides a été mesuré durant 6 heures après l'ingestion d'un repas riche en gras marqué au <sup>13</sup>C-trioléine. La sensibilité à l'insuline (SI) et la sécrétion d'insuline induite par le glucose (SIIG) ont été mesurées par clamp Botnia, qui combine un test de tolérance au glucose intraveineux de 1 heure et un clamp hyperinsulinémique-euglycémique de 3 heures. Les apports alimentaires ont été évalués par journaux alimentaires de 3 jours.

**Résultats :** Après la diète hypocalorique, les participants ont réduit leur apport calorique de  $11,1 \pm 22,6\%$  et lipidique de  $19,9 \pm 31,0\%$ , et ont perdu en moyenne  $5,40 \pm 4,76\%$  de leur poids initial. L'augmentation moyenne de la SI était de  $33,7 \pm 56,2\%$  et la diminution de la SIIG de  $-17,7 \pm 27,6\%$ . L'apoB au début de l'étude prédit l'augmentation de la fonction du tissu adipeux ( $p=0,002$ ,  $r=0,63-0,68$ ) et une diminution de la sécrétion d'insuline ( $p=0,006$ ,  $r=0,59$ ) après

l'intervention, indépendamment du sexe, du changement d'IMC, de masse grasse androïde et du ratio gras androïde/gynoïde. L'augmentation de l'apport en fibres prédit la diminution de la 2<sup>e</sup> phase de SIIG ( $p=0,040$ ,  $r=-0.49$ ) et de SI mesurée durant le TTGIV ( $p=0,026$ ,  $r=0,48$ ), indépendamment du sexe et du changement d'IMC, d'apport énergétique et d'apport en macronutriments.

**Conclusion :** Un taux élevé d'apoB plasmatique avant l'intervention ainsi qu'un apport élevé en fibres post-intervention identifie les sujets qui réduisent le plus la dysfonction du TAB, la RI et l'hyperinsulinémie après une diète hypocalorique. Cibler les sujets avec taux d'apoB élevé par une diète hypocalorique riche en fibres pourrait maximiser les bénéfices de la diète hypocalorique pour réduire l'incidence du DT2 chez les sujets obèses.

**Mots-clés :** Diabète de type 2, résistance à l'insuline, hyperinsulinémie, diète hypocalorique, perte de poids, fibres alimentaires, dysfonction du tissu adipeux

## Abstract

**Background and hypothesis:** The incidence of type 2 diabetes (T2D) and associated morbidity and mortality is constantly on the rise worldwide. Weight loss using behaviour modification programs, such as hypocaloric diets, reduce the risk factors for, and incidence of, T2D in obese subjects. However, there is a large inter-subject variability in the metabolic response of obese subjects to these interventions, the reasons for which are unclear. White adipose tissue (WAT) dysfunction, postprandial hypertriglyceridemia, insulin resistance (IR), and hyperinsulinemia are major risk factors for T2D in humans. Work from our lab demonstrated that apoB lipoproteins, measured in plasma as apoB, promote and predict WAT dysfunction and related risk factors in obese subjects. Our hypothesis was that elevated baseline plasma apoB identify obese subjects who best reduce the risk factors for T2D following a 6-month hypocaloric dietary intervention. We also explored whether the change in fiber intake following the intervention was most predictive of the amelioration in the risk factors for T2D independent of weight-loss.

**Methods:** Fifty-nine subjects (33 women, 26 men, 45-74 years, BMI  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup>, without chronic diseases) completed a hypocaloric dietary intervention (-500 kcal/day) over 6 months. *Ex vivo* WAT function was measured as the hydrolysis and storage of synthetic <sup>3</sup>H-triolein-labeled triglyceride-rich lipoproteins. Postprandial fat metabolism was measured over 6-hours after the ingestion of a <sup>13</sup>C-triolein-labeled high fat meal. Insulin sensitivity (IS) and glucose-induced insulin secretion (GIIS) were measured by a Botnia clamp, which is a combination of 1-hour intravenous glucose tolerance test followed by 3-hour hyperinsulinemic euglycemic clamp. Dietary intakes were evaluated using 3-days food recalls.

**Results:** Following the hypocaloric diet, subjects decreased caloric intake by 11.1 $\pm$ 22.6% and fat intake by 19.9 $\pm$ 31.0% and lost an average weight of 5.40 $\pm$ 4.76%. They also had an increase in IS by 33.7 $\pm$ 56.2% and a decrease in GIIS by -17.7 $\pm$ 27.6%. Baseline apoB predicted the post-intervention increase in WAT function (p=0.002, r=0.63-0.68) and decrease in GIIS (p=0.006, r=0.59), independently of sex, change in BMI, android fat mass and android/gynoid fat mass ratio. The increase in fiber intake predicted the decrease in 2<sup>nd</sup> GIIS (p=0.040, r=-0.49) and IS (p=0.026, r=0.48) measured during the IVGTT independent of sex and changes in BMI and energy intake or other macronutrients.

**Conclusions:** Elevated baseline plasma apoB and increased post-intervention fiber intake identifies subjects who best reduce WAT dysfunction, IR and hyperinsulinemia after a hypocaloric diet. Targeting subjects with high plasma apoB with fiber-enriched hypocaloric diet may maximize the benefit of hypocaloric diets to reduce the incidence of T2D in obese subjects.

**Keywords:** Type 2 diabetes, insulin resistance, hyperinsulinemia, hypocaloric diet, weight loss, dietary fiber, adipose tissue dysfunction

# Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures .....	viii
Liste des abréviations et sigles.....	ix
Remerciements.....	x
Introduction : Diabète de type 2.....	1
Chapitre 1 : Facteurs de risque du diabète de type 2 .....	3
1.1 Résistance à l'insuline et hyperinsulinémie .....	3
1.2 Dysfonction du tissu adipeux blanc et hypertriglycéridémie post-prandiale.....	5
1.3 Hyperapobetalipoprotéinémie.....	6
Chapitre 2 : Diètes hypocaloriques .....	11
2.1 Diètes hypocaloriques et incidence du diabète de type 2 .....	11
2.2 Diètes hypocaloriques et facteurs de risque de diabète de type 2.....	13
2.2.1 Résistance à l'insuline et hyperinsulinémie.....	13
2.2.2 Dysfonction du tissu adipeux blanc .....	15
2.2.3 Hyperapobetalipoprotéinémie.....	16
Chapitre 3 : Diètes isocaloriques .....	18
3.1 Diètes isocaloriques et incidence diabète de type 2.....	18
3.2 Diètes isocaloriques et facteurs de risque de diabète de type 2 .....	20
3.2.1 Résistance à l'insuline et hyperinsulinémie.....	20
3.2.2 Dysfonction du tissu adipeux blanc .....	23
3.2.3 Hyperapobetalipoprotéinémie.....	23
Chapitre 4 : Problématique, objectifs et hypothèses.....	25
4.1 Problématique .....	25

4.2 Objectifs .....	25
4.3 Hypothèses .....	25
Chapitre 5 : Méthodologie .....	26
5.1 Participants et déroulement de l'étude .....	26
5.2 Intervention nutritionnelle .....	28
5.3 Journaux alimentaires .....	29
5.4 Mesures anthropométriques et biochimiques.....	30
5.5 Sensibilité à et sécrétion d'insuline.....	30
5.6 Fonction du tissu adipeux blanc et métabolisme postprandial des lipides.....	32
5.7 Analyses statistiques .....	34
Chapitre 6 : Résultats – articles scientifiques .....	35
Premier article : High plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate white adipose tissue dysfunction, glucose-induced hyperinsulinemia and insulin resistance after a hypocaloric diet.....	35
Deuxième article : Increased fiber intake predicts amelioration in insulin secretion and sensitivity independent of weight-loss following a hypocaloric diet in obese subjects .....	85
Chapitre 7 : Discussion .....	116
Conclusion .....	124
Bibliographie.....	i
Annexes : Formulaires de consentement pour étude principale et sous-étude .....	xviii

## Liste des tableaux

Tableau I. Critères d'inclusion et d'exclusion des participants à l'étude .....	26
---	----



## Liste des figures

Figure 1. Relation entre la sensibilité à l'insuline et la sécrétion d'insuline durant le clamp Botnia (adapté de (20)) .....	3
Figure 2. Liens entre les facteurs de risque de DT2 : dysfonction du TAB, hypertriglycéridémie post-prandiale, RI, hyperinsulinémie et hyperapoB.....	10
Figure 3. Déroulement du Clamp Botnia (adapté de (20)).....	32

## Liste des abréviations et sigles

AGL : Acides gras libres

ApoB : Apolipoprotéine B

ApoB-48 : Apolipoprotéine présente sur les chylomicrons et résidus de chylomicrons

ApoB-100 : Apolipoprotéine présente sur les VLDL, IDL et LDL

DEXA : Scan pour la composition corporelle (*Dual-Energy X-ray Absorptiometry*)

DT2 : Diabète de type 2

ELISA : Méthode de dosage immuno-enzymatique (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

HDL : Lipoprotéines de haute densité (*High Density Lipoproteins*)

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale

HIEG : Hyperinsulinémique-euglycémique (clamp HIEG)

HOMA-IR : Indice de résistance à l'insuline (*Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance*)

HyperapoB : Hyperapobetalipoprotéinémie

IDL : Lipoprotéines de densité intermédiaire (*Intermediate Density Lipoproteins*)

IMC : Indice de masse corporelle

IL-1 $\beta$  : Interleukine-1 $\beta$

IL-1Ra : Récepteur de l'antagoniste de l'IL-1 (*IL-1 Receptor Antagonist*)

IL-6 : Interleukine-6

IL-10 : Interleukine-10

LDL : Lipoprotéines de basse densité (*Low Density Lipoproteins*)

LPL : Lipase lipoprotéique (*Lipoprotein Lipase*)

RI : Résistance à l'insuline

SI : Sensibilité à l'insuline

SIIG : Sécrétion d'insuline induite par le glucose

TAB : Tissu adipeux blanc

TG : Triglycérides

TNF- $\alpha$  : Facteur de nécrose tumorale (*Tumor Necrosis Factor*)

TTGIV : Test de tolérance au glucose intraveineux

VLDL : Lipoprotéines de très basse densité (*Very Low Density Lipoproteins*)

## Remerciements

Je souhaite d'abord remercier Dre May Faraj pour son soutien tout au long de ma maîtrise, sa passion et son dévouement pour son laboratoire. Je veux ensuite remercier mes amis et collègues de laboratoire : Marie Devaux, notre infirmière exceptionnelle, ainsi que Simon Bissonnette, Valérie Lamantia et Yannick Cyr, les étudiants au doctorat du laboratoire. Sans vous, ma maîtrise n'aurait pas été la même! Vous avez su ensoleiller chaque journée, les agrémenter de conseils, de discussions, d'histoires, de *fun facts*, de blagues et de fous rires. Je veux aussi remercier « les filles » du RabLab (qui compte maintenant deux jeunes hommes!) pour tous les bons moments. Merci également à l'association étudiante de l'IRCM et à l'ensemble des étudiants : en discutant ensemble, on se rend compte que malgré nos domaines de recherche éloignés, on vit tous les mêmes choses aux études supérieures et qu'on finit par surmonter nos problèmes.

Merci à ma famille, maman, papa et Maude, pour votre support et vos bons mots. Merci à Xavier d'avoir toujours été là pour moi. Merci à mes amies du baccalauréat en nutrition, surtout celles qui font également une maîtrise, et avec qui j'ai pu partager mes problèmes et frustrations, mais aussi mes joies.

Finalement, merci aux médecins qui collaborent à nos études pour les visites médicales, la supervision des clamps et les biopsies de tissu adipeux, et merci à tous les participants aux études de notre laboratoire, sans qui nos études ne seraient pas possibles.

## **Introduction : Diabète de type 2**

Le diabète est une maladie dont la prévalence a augmenté de manière importante au cours des dernières décennies, autant dans les pays en développement que dans les pays plus développés et qui affecte des hommes et des femmes de tous niveaux socioéconomiques. Dans les années 1980, environ 108 millions de personnes, représentant 4,7% de la population mondiale, étaient atteintes de diabète, alors qu'en 2014, 422 millions de personnes, ou 8,5% de la population, étaient atteintes (1-3). Au Canada, la prévalence de diabète ajustée pour l'âge est passée de 2,5% en 1994 à 3,6% en 2005, soit une augmentation de 45% (4). Selon une estimation de la Fédération Internationale du Diabète, c'était plus de 10% de la population canadienne qui était atteinte de diabète en 2013 (5). La prévalence du diabète devrait continuer à augmenter partout dans le monde, sauf si des mesures sont mises en place pour freiner cette épidémie (1-3). La vaste majorité des personnes diabétiques, entre 90 et 95%, souffre de diabète de type 2 (DT2), une maladie associée à l'âge, au surpoids et à un mode de vie malsain, et pouvant être prévenue par des changements aux habitudes de vie (1, 2, 6-8).

Le diabète est associé à une augmentation accrue de la morbidité et de la mortalité ainsi qu'à de nombreuses complications. Il est estimé que, chez les individus âgés de 20 à 79 ans à l'échelle de la population mondiale, 14,5% des décès étaient reliés au diabète en 2015, ce qui représente 5 millions de personnes (2). Les néphropathies sont des conséquences fréquentes du diabète : environ 40% des personnes diabétiques développeront une insuffisance rénale chronique reliée au diabète au cours de leur vie (9), et cette insuffisance rénale est la principale cause d'insuffisance rénale terminale, impliquée dans près de la moitié des cas (10). La rétinopathie diabétique est une autre complication commune du diabète – sa prévalence se situe entre 20 et 40% selon les études (11, 12) – et est la principale cause de perte de vision dans le monde (1, 2). Les maladies cardiovasculaires sont également associées étroitement au diabète : il s'agit de la première cause de mortalité chez les personnes diabétiques (2), et celles-ci ont un risque deux à trois fois plus élevé que les personnes non diabétiques d'avoir un événement cardiovasculaire (1). Les problèmes de circulation et les neuropathies périphériques associées au diabète expliquent que cette maladie soit la première cause d'amputation non-traumatique; les blessures passent inaperçues à cause du manque de sensibilité et s'infectent (1, 2, 13).

D'ailleurs, les personnes diabétiques ont un risque 25 fois plus élevé qu'une personne non diabétique de subir une amputation (2).

En plus d'avoir des impacts majeurs sur la santé des personnes qui en sont atteintes, le diabète engendre de lourdes conséquences économiques, au niveau de la société et des individus. Environ 12% des dépenses en santé seraient reliées au diabète selon la Fédération Internationale du Diabète, et les frais de santé annuels d'une personne diabétique seraient deux à trois fois plus élevés que ceux d'une personne non diabétique (2). Dans plusieurs pays en développement ou sans système de soins de santé généralisé, les coûts de traitements du diabète incombent aux personnes diabétiques et à leur famille (2). Cela est d'autant plus désastreux que les personnes diabétiques ont de moindres probabilités d'occuper un emploi et ont un revenu moins élevé (14).

L'augmentation de la prévalence du diabète ainsi que les conséquences que cette maladie a sur les individus et la société renforcent l'importance et l'urgence d'agir pour diminuer l'incidence de cette maladie. Il a déjà été démontré qu'il est possible de prévenir ou de retarder l'apparition du DT2 par des interventions médicamenteuses mais aussi de manière plus spectaculaire par des interventions d'amélioration du mode de vie (alimentation, activité physique et perte de poids) (6-8). Cependant, il existe une grande variabilité dans la réponse des individus à ce genre d'interventions. Déceler les facteurs responsables de cette variabilité permettrait de prédire la réponse individuelle à une intervention et de cibler les personnes qui en bénéficieraient le plus.

Les principaux facteurs de risque de DT2 (hyperinsulinémie et résistance à l'insuline, dysfonction du tissu adipeux blanc (TAB), hypertriglycémie postprandiale, hyperapobetalipoprotéinémie) seront d'abord exposés, ainsi que leur définition et les interactions entre eux, puis les liens entre la nutrition, le DT2 et ces facteurs de risque dans des diètes hypocaloriques et isocaloriques seront explorés. La méthodologie appliquée pour déterminer les prédictors de l'amélioration des facteurs de risque de DT2 durant une diète hypocalorique sera expliquée, et deux articles rapportant les résultats de cette étude suivront. Finalement, les implications de cette étude seront discutées.

# Chapitre 1 : Facteurs de risque du diabète de type 2

## 1.1 Résistance à l'insuline et hyperinsulinémie

L'insuline est une hormone sécrétée par les cellules  $\beta$  du pancréas, qui a comme rôle principal de faire diminuer la glycémie en permettant au glucose d'entrer dans les cellules (15). Différents niveaux de sensibilité ou de résistance à l'insuline (RI) sont possibles et, pour maintenir une glycémie normale, la sécrétion d'insuline devra compenser (16). Une personne très sensible à l'insuline aura besoin de sécréter peu d'insuline pour que celle-ci soit efficace et maintenir une glycémie normale. Au contraire, lorsqu'une personne devient graduellement résistante à l'insuline, la sécrétion d'insuline devra augmenter pour compenser pour sa moindre efficacité (16-18). D'ailleurs, on peut observer une relation hyperbolique entre la sensibilité à l'insuline (SI) et la sécrétion d'insuline (Figure 1) (19, 20), et le produit de ces deux facteurs reste constant tant que la glycémie est maintenue dans la normale (16).

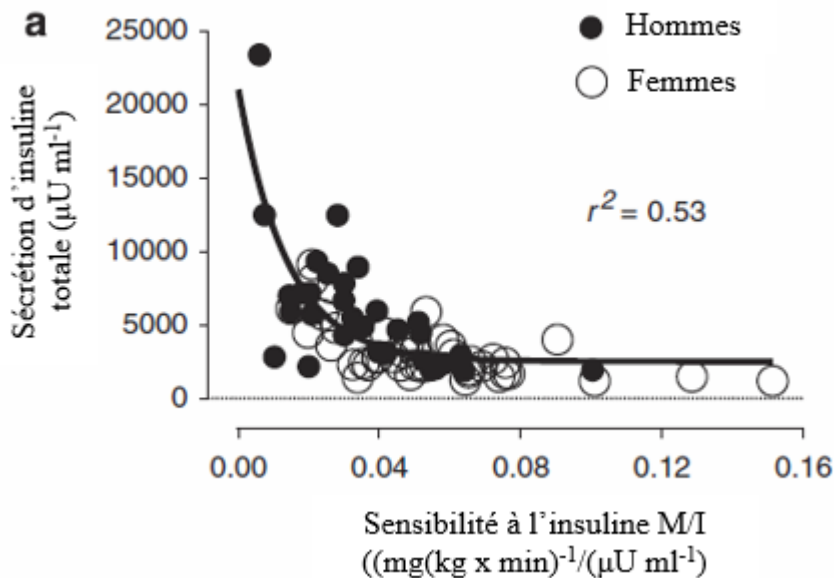


Figure 1. Relation entre la sensibilité à l'insuline et la sécrétion d'insuline durant le clamp Botnia (adapté de (20))

Chez des individus avec une même glycémie, ceux qui sont plus résistants à l'insuline, et donc plus hyperinsulinémique, ont plus de risques de développer le DT2 (21). Une importante RI et l'hyperinsulinémie sont des facteurs de risque majeurs du DT2 car elles peuvent mener à

l'épuisement des cellules  $\beta$  du pancréas (18). Dans la progression de la RI, la demande d'insuline aux cellules  $\beta$  du pancréas augmente et à un certain point, chez des individus susceptibles, peut mener à leur épuisement (18). Dans cette situation, la sécrétion d'insuline ne parvient plus à compenser pour la RI et l'individu passe d'une tolérance normale au glucose à l'intolérance au glucose (ou prédiabète), puis au DT2 (16).

Plusieurs facteurs sont associés à la RI et à l'hyperinsulinémie qui l'accompagne, et peuvent expliquer pourquoi une personne est résistante à l'insuline alors qu'une autre y est sensible. Le poids et la surnutrition sont fortement associés à la RI (16, 18) et à l'hyperinsulinémie (17, 22, 23). Une relation semblable à celle entre la SI et la sécrétion d'insuline existe entre l'indice de masse corporelle (IMC) et la SI : plus une personne a un IMC élevé, plus elle est résistante à l'insuline. Cependant, il y a une grande variation dans cette relation et certaines personnes avec un IMC normal ou bas présentent tout de même une RI (16). La sécrétion d'insuline est aussi plus élevée chez les sujets obèses à jeun, à l'état post-prandial et en réponse à une infusion de glucose (clamp hyperglycémique), tel que démontré dans étude comparant la sécrétion d'insuline chez 14 sujets avec IMC normal et 15 avec obésité (17). La qualité de la diète influence le niveau de SI (tel que discuté au chapitre 3.2.1) (24-28), ce qui pourrait expliquer la variabilité de SI que l'on retrouve chez des individus de même IMC. Une composante génétique explique également une partie de la RI et de l'hyperinsulinémie : certaines personnes sont prédisposées à ces anomalies, et certaines ont des cellules  $\beta$  du pancréas susceptibles de faillir et de ne plus pouvoir compenser adéquatement pour la RI, menant au développement du DT2 (18). Finalement, le sexe a aussi un impact sur la SI et l'insulinémie. Notre laboratoire a démontré que les femmes modulent généralement leur glycémie par leur SI, celle-ci étant plus élevée que chez les hommes, alors que ces derniers sécrètent plus d'insuline pour maintenir une glycémie normale (20).

Des relations existent entre la RI, l'hyperinsulinémie, et les autres facteurs de risque de DT2 qui seront explorés plus bas, puisque l'insuline est impliquée à la fois dans la fonction du TAB et dans le métabolisme des lipoprotéines porteuses d'apoB (29). Le TAB dysfonctionnel est plus résistant à l'action de l'insuline, ce qui contribue à la RI périphérique (30). De plus, la RI diminue la suppression de la lipolyse des TG contenus dans le TAB par l'insuline à l'état postprandial, ce qui entraîne une augmentation des acides gras libres (AGL) en circulation (29).

Ce flux accru d'AGL au foie entraîne à son tour une hypersécrétion de VLDL, ce qui augmente l'apoB plasmatique (29).

## **1.2 Dysfonction du tissu adipeux blanc et hypertriglycémie post-prandiale**

Le TAB représente la majeure partie du tissu adipeux chez l'humain (il existe également du tissu adipeux brun, riche en mitochondries et qui produit beaucoup de chaleur, mais on en retrouve peu chez l'humain adulte) (31). Le TAB sert principalement de réserve d'énergie : chaque adipocyte blanc contient une grosse gouttelette de lipides pouvant être utilisés en cas de besoin (31). À l'état postprandial, le TAB hydrolyse les triglycérides (TG) contenus dans les chylomicrons par la lipase lipoprotéique (LPL) et capte les AGL ainsi libérés. Ces AGL sont ensuite réestérifiés et entreposés dans la gouttelette de lipides sous forme de TG. Ce processus est nommé lipogénèse et survient en période de surplus d'énergie (23, 32). À l'état de jeûne, les TG contenus dans les adipocytes sont hydrolysés par la lipase hormonosensible, et les AGL sont libérés dans la circulation pour être utilisés comme source d'énergie : c'est la lipolyse (32, 33). Une autre fonction importante du TAB, découverte plus récemment, est endocrinienne : le TAB sécrète de nombreuses hormones (par exemple, la leptine, l'adiponectine, la résistine, etc.), désignées par le terme adipokines ou adipocytokines (32, 34-36). Ces hormones sont entre autres impliquées dans le métabolisme des lipides, des glucides et dans la SI (34). Les adipokines sont sécrétées proportionnellement avec la masse adipeuse, à l'exception de l'adiponectine, une hormone qui augmente la SI et dont la sécrétion diminue avec l'augmentation de la masse grasse (32, 34). Il existe des différences dans la répartition et la fonction du TAB entre les femmes et les hommes; ces premières accumulent le TAB au niveau gynoïde avant la ménopause, alors que ces derniers l'accumulent plutôt au niveau androïde et viscéral, dépôts associés à un risque cardiométabolique accru (37). Cette accumulation préférentielle dans un dépôt spécifique est régie par l'activité de la LPL (qui est plus élevée au niveau gynoïde chez les femmes et au niveau androïde chez les hommes) et est liée aux hormones sexuelles. Elle s'atténue donc après la ménopause avec la diminution des œstrogènes (37).

L'obésité est associée à une dysfonction du TAB : une étude comparant plus de 200 hommes de poids normal à autant d'hommes obèses montre une hypertriglycémie post-



prandiale caractérisée par la clairance retardée des chylomicrons et un taux d'AGL en circulation plus élevé après les repas chez les sujets obèses (23). En situation de surplus d'énergie, le tissu adipeux peut croître de deux façons pour stocker plus de lipides : en augmentant la taille de ses adipocytes (hypertrophie) ou en augmentant le nombre d'adipocytes (hyperplasie) (38). Plusieurs études associent l'hypertrophie à une moins bonne fonction du TAB, à l'inflammation, à la RI et ultimement au développement du DT2 (31, 34, 38-41). Un TAB dysfonctionnel peut aussi présenter une mauvaise différenciation des adipocytes, de l'inflammation, de la fibrose (39) et l'infiltration de macrophages (31, 42, 43).

La dysfonction du TAB limite son action d'hydrolyse des TG et de captation des acides gras (30, 41, 44), ce qui provoque une hypertriglycémie post-prandiale et la déposition ectopique des lipides au niveau viscéral et dans des tissus non adipeux comme le foie, les muscles et le pancréas (45). Le tissu adipeux accumulé au niveau viscéral est métaboliquement très actif et inflammé, ce qui l'associe au développement de la RI et du DT2 (41, 46). Les dépôts ectopiques de lipides induisent une dysfonction des tissus périphériques qui exacerbe d'autant plus la RI, les anomalies dans la sécrétion d'insuline et le risque de développer le DT2 (23, 35). Tel que mentionné plus haut, la dysfonction du TAB résulte en une plus grande sécrétion de VLDL par le foie car un flux important d'AGL lui parvient, n'ayant pas été captés par le TAB. Des données de notre laboratoire nous indiquent que la relation va aussi dans le sens inverse, et que l'hyperapoB induit une dysfonction du TAB (44).

### **1.3 Hyperapobetalipoprotéinémie**

Les apolipoprotéines B (apoB) sont des apolipoprotéines que l'on retrouve sur les lipoprotéines athérogènes. On retrouve l'apoB-48 (qui représente 48% de la taille de l'apoB-100) sur les chylomicrons et résidus de chylomicrons, lipoprotéines riches en TG sécrétées par l'intestin après l'ingestion d'aliments. L'apoB-100 se retrouve sur les lipoprotéines de très basse densité (VLDL), les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) et les lipoprotéines de basse densité (LDL) (29). La mesure du taux d'apoB plasmatique indique le nombre total de particules porteuses d'apoB (apoB-100 et apoB-48). À jeun, l'apoB se retrouve principalement sur les particules de LDL (>90%) (44). Comme on retrouve une seule particule d'apoB par lipoprotéine, mesurer le taux d'apoB plasmatique donne une meilleure indication du nombre de lipoprotéines

athérogènes en circulation que de mesurer le LDL cholestérol seulement (puisque les particules de LDL peuvent être de tailles variées et que les LDL petites et denses sont plus athérogènes que les grosses LDL) (47). Les hommes présentent généralement un taux d'apoB plus élevé que les femmes et qui varie peu durant l'âge adulte (48). Chez les femmes, ce taux augmente graduellement avec l'âge, et s'accroît davantage après la ménopause pour atteindre des niveaux comparables à ceux observés chez les hommes (48).

L'hyperapoB plasmatique, ou un taux élevé d'apoB dans le plasma, est un élément de la dyslipidémie athérogène caractéristique des personnes avec DT2. Cette dyslipidémie comprend également une hypertriglycéridémie, un taux de HDL-cholestérol abaissé et un taux de LDL-cholestérol normal ou légèrement élevé (la combinaison d'apoB plasmatique élevée et LDL-C plasmatique normal indique que les particules de LDL sont petites et denses) (47). C'est donc pourquoi il est pertinent de mesurer l'apoB plasmatique, puisque la seule mesure du LDL-cholestérol sous-estime la présence de dyslipidémie (47). L'apoB s'élève graduellement lors de la transition vers le DT2, tel qu'observé dans une population d'hommes coréens (n=790) : les sujets avec tolérance normale au glucose avaient un taux d'apoB plus bas que ceux avec intolérance au glucose, et ces derniers plus bas que ceux avec DT2 *de novo* (49). Un court suivi sur trois mois révèle que les sujets ayant progressé vers le DT2 (soit de tolérance normale au glucose à intolérance au glucose ou d'intolérance au glucose à DT2) ont vu leur taux d'apoB augmenter alors que ceux n'ayant pas progressé ont conservé le même niveau d'apoB plasmatique (49).

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'un taux élevé de lipoprotéines porteuses d'apoB (ou hyperapoB) est un prédicteur du développement du DT2 et survient avant l'apparition d'autres signes avant-coureurs (49-53). C'est le cas dans une population turque (chez les femmes seulement, n=1146, suivi moyen de 5,9 ans) (50), finlandaise (études FINRISK, n=7827, suivi médian de 10,8 ans et Health 2000 Study, n=4976, suivi médian 7,1 ans) (51), d'autochtones canadiens (n=540, suivi de 10 ans) (52) et coréenne (n=84 394, suivi moyen de 3,3 ans) (53). La concentration plasmatique d'apoB restait un prédicteur du développement du DT2 après correction pour des facteurs de risque traditionnels du DT2 tels que l'âge, le sexe, le taux de HDL-cholestérol, de non-HDL-

cholestérol et de TG, l'IMC, le tour de taille, la pression artérielle, le tabagisme, la glycémie, l'hémoglobine glyquée ou l'historique de maladies cardiovasculaires (50-53).

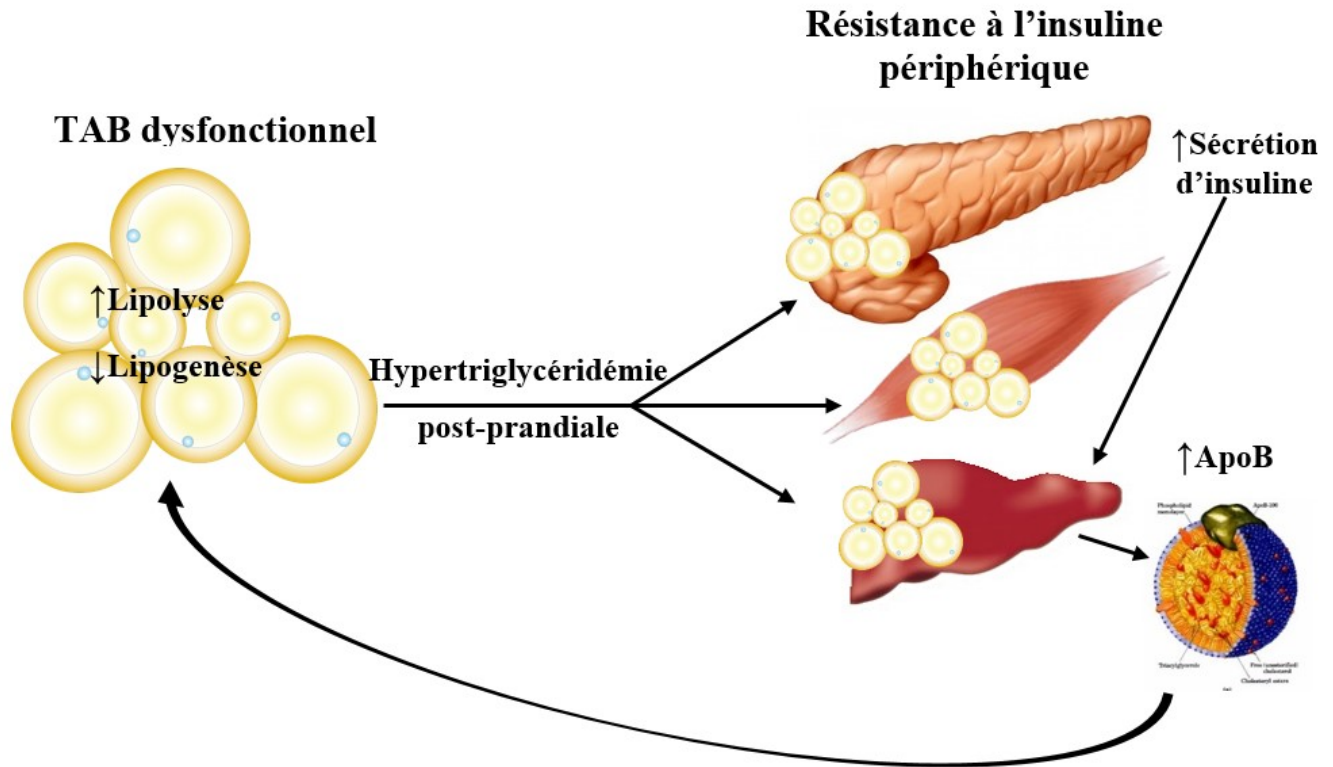
Les lipoprotéines porteuses d'apoB sont associées au développement du DT2 probablement puisqu'elles prédisent et promeuvent plusieurs facteurs de risque de DT2 chez les humains, tels que l'inflammation, la RI et les anomalies dans la sécrétion d'insuline. Dans une cohorte de 77 femmes ménopausées, obèses et non diabétiques examinées par notre équipe de recherche, la concentration d'apoB plasmatique était positivement corrélée à la concentration plasmatique de marqueurs inflammatoires tels que la protéine C-réactive, l'orosomucoïde, l'haptoglobine et l' $\alpha_1$ -antitrypsine (54). Après correction pour l'IMC, le taux d'apoB plasmatique prédisait toujours ces mêmes marqueurs et additionnellement l'interleukine-6. Les femmes hyperapoB de cette cohorte, comparativement à un groupe normoapoB de même IMC, avaient des taux de marqueurs inflammatoires, de cholestérol total, de LDL-cholestérol et de TG plus élevés, ainsi qu'un taux de HDL-cholestérol et une SI plus bas (54). Dans une autre cohorte de 81 sujets obèses sans maladies chroniques, le taux d'apoB plasmatique corrélait positivement avec l'antagoniste du récepteur de l'interleukine-1 (IL-1Ra), un indicateur de l'activation du système interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), système lié au développement du DT2 (20, 55). Dans la même étude, le taux d'apoB plasmatique était associé positivement à la sécrétion d'insuline et de c-peptide lors d'un test de tolérance au glucose intra-veineux (TTGIV), et négativement à la SI mesurée par clamp hyperinsulinémique-euglycémique (HIEG) (20). Des études sur des modèles animaux et cellulaires montrent que les particules de LDL peuvent être captées par les cellules  $\beta$  du pancréas et induire leur dysfonction et leur apoptose (56-58), ce qui pourrait être un des mécanismes liant l'hyperapoB aux anomalies de sécrétion d'insuline et ultimement au développement du DT2. Des effets similaires ont été notés dans des études avec des cellules musculaires et des pré-adipocytes (59, 60), ce qui pourrait expliquer la RI périphérique associée à l'hyperapoB et rapportée dans nos études (20, 54).

Les apoB lipoprotéines sont aussi associées à des défauts dans la fonction du TAB *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro* dans deux études de notre laboratoire, chez 22 femmes et 30 sujets (hommes et femmes) respectivement (30, 44). La taille des adipocytes du TAB gynoïde était positivement corrélée à l'apoB plasmatique (des adipocytes de plus grande taille sont associés à une moins bonne fonction du TAB, voir section sur la dysfonction du TAB plus haut) (30).

Les sujets avec taux d'apoB plasmatique élevé présentaient les anomalies déjà mentionnées (TG élevés à jeun, cholestérol total et LDL-cholestérol élevés, particules de LDL petites et denses, RI et sécrétion d'insuline plus élevés) mais aussi une clairance retardée des TG totaux et diététiques (marqués au  $^{13}\text{C}$ -trioléine) à l'état postprandial (30, 44), ainsi qu'une moins bonne captation par les tissus des AGL marqués au  $^{13}\text{C}$  (30, 44). Ces anomalies indiquent une dysfonction du TAB, soit une efficacité réduite pour la lipogenèse. La différenciation de pré-adipocytes et l'incubation de biopsies du TAB avec des LDL résultait en une moins bonne fonction comparativement à la différenciation et l'incubation sans LDL : les cellules étaient moins capables d'hydrolyser et d'entreposer un substrat de lipoprotéines riches en TG synthétiques marquées au  $^3\text{H}$ -trioléine (30, 44). Ce défaut n'était pas seulement dû à une moindre activité de la LPL : le TAB incubé avec des LDL était également moins efficace pour entreposer des AGL marqués (44). Les études de notre laboratoire ont donc démontré que l'apoB induit plusieurs dysfonctions au niveau du TAB, autant lors de l'exposition aiguë que chronique. Cela peut expliquer pourquoi un taux d'apoB élevé est associé à plusieurs facteurs de risque de DT2 : RI, hyperinsulinémie, dysfonction du TAB, hypertriglycémie postprandiale et inflammation systémique chronique (Figure 2) (20, 30, 44, 54).

Les cinq facteurs de risque exposés ici sont étroitement reliés entre eux et sont d'une importance majeure dans le développement du DT2. Améliorer la fonction du TAB réduit l'hypertriglycémie post-prandiale, la RI, l'hyperinsulinémie et l'hyperapoB, brisant ainsi la boucle de rétroaction positive entre l'hyperapoB et les facteurs de risque de DT2 qui y sont associés. Les modifications du mode de vie, principalement les changements à la diète, sont connus pour prévenir le DT2 et améliorer les facteurs de risque qui y sont associés. C'est pourquoi seront présentées dans les deux prochains chapitres les interventions nutritionnelles hypocaloriques et isocaloriques qui ont démontré réduire l'incidence de DT2 et améliorer la RI, l'hyperinsulinémie, la fonction du TAB et l'hyperapoB.

Figure 2. Liens entre les facteurs de risque de DT2 : dysfonction du TAB, hypertriglycéridémie post-prandiale, RI, hyperinsulinémie et hyperapoB



## Chapitre 2 : Diètes hypocaloriques

### 2.1 Diètes hypocaloriques et incidence du diabète de type 2

Le surpoids et l'obésité sont des facteurs de risque majeurs de DT2 (46, 61, 62). Dans plusieurs études épidémiologiques, les diètes hypercaloriques menant à une accumulation excessive de graisse corporelle sont associées à un risque accru de DT2 (46, 62, 63). La consommation d'une diète riche en lipides a déjà été associée au risque de DT2 dans certaines études mais cette relation était due au gain de poids associé à la consommation élevée d'aliments denses en énergie et était éliminée par un ajustement pour l'IMC (46). Dans une analyse du suivi sur 16 ans des participants survivants de la Framingham Study, la perte de poids maintenue était associée à une incidence de DT2 plus faible, comparativement au maintien du poids et à une perte de poids non maintenue (64).

Quelques grandes études randomisées contrôlées ont démontré qu'il était possible de prévenir le développement du DT2 par des changements aux habitudes de vie, incluant une perte de poids. L'étude *DaQing IGT and Diabetes Study*, menée en Chine, a randomisé 577 participants avec intolérance au glucose en quatre groupes : diète, exercice, diète et exercice, et contrôle. L'intervention de diète visait une alimentation faible en gras, en sucre et en alcool, et riche en légumes, avec une perte de poids chez les sujets en surpoids. L'intervention d'exercice visait une augmentation de l'activité physique quotidienne chez les participants, l'intervention diète et exercice combinait les changements à la diète et à l'exercice, et le groupe contrôle recevait simplement des informations générales sur le DT2, la nutrition et l'exercice. Les trois interventions ont été efficaces pour réduire l'incidence de DT2 chez les participants, de 33% dans le groupe diète, 47% dans le groupe exercice et de 38% dans le groupe exercice et diète. À noter que l'incidence de DT2 était moindre chez les sujets de poids normal, comparativement à ceux en surpoids, autant dans le groupe contrôle que dans les groupes d'intervention (7).

La *Diabetes Prevention Program Study* aux États-Unis est une autre étude très connue ayant démontré une réduction du risque de DT2 avec des changements au mode de vie. Une intervention intensive incluant une diète faible en calories et en gras, une perte de poids de 7% et 150 minutes d'activité physique par semaine était comparée à la prise de metformine et à un

placebo chez 3234 participants avec intolérance au glucose et anomalie de la glycémie à jeun. Après un suivi moyen de 2,8 ans, l'incidence de DT2 était réduite de 58% dans le groupe d'intervention intensive et de 31% dans le groupe metformine comparativement au groupe placebo. Comparer le groupe intensif au groupe metformine révèle une incidence de DT2 39% plus basse dans le groupe de mode de vie. Certains facteurs de variabilité dans la réponse des sujets aux interventions ont été décelés : ainsi, les sujets avec une glycémie 2h après hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) plus basse au début de l'étude bénéficiaient plus de l'intervention de mode de vie, alors que ceux avec un IMC et une glycémie à jeun plus élevés bénéficiaient plus de l'intervention de metformine. La différence de bénéfice entre l'intervention de mode de vie et celle de metformine était accrue chez les sujets plus âgés et avec IMC plus bas, alors que l'incidence de DT2 était presque identique chez les sujets plus jeunes ou avec IMC élevé des groupes de mode de vie et de metformine (6).

Une troisième étude, la *Finnish Diabetes Prevention Study*, a comparé un groupe suivant une intervention de mode de vie intensive à un groupe contrôle recevant des conseils généraux sur le mode de vie. Les 522 sujets présentaient ici aussi une intolérance au glucose et étaient en surpoids. L'intervention visait divers objectifs : perte de 5% du poids, diète faible en lipides totaux et saturés, riche en fibres, 30 minutes d'activité physique par jour. Après un suivi moyen de 3,2 ans, le groupe intervention avait une réduction de 58% de l'incidence du DT2 comparativement au groupe contrôle, et plus les sujets atteignaient d'objectifs visés par l'intervention, plus leur risque de DT2 était réduit (8).

À la suite de ces études, un groupe en Inde a voulu vérifier si ces conclusions s'appliquaient aussi à une population indienne, peu représentée dans les études déjà faites et plus à risque de DT2. Ce risque accru est relié à une RI qui est présente même chez les individus relativement jeunes, avec un IMC plus bas. Quatre groupes étaient comparés dans l'étude randomisée contrôlée complétée par 502 participants : traitement standard (groupe contrôle), modification du mode de vie, metformine et une combinaison du mode de vie et de metformine. L'intervention de mode de vie visait un minimum de 30 minutes d'activité physique par jour et une diète faible en calories, glucides raffinés, lipides et sucres ajoutés et riche en fibres. Les trois groupes d'intervention ont connu une réduction similaire du risque de DT2 (26-28%) par rapport au groupe contrôle après un suivi médian de 2,5 ans (65). Les programmes de prévention

du DT2 par diète hypocalorique, perte de poids et activité physique ont donc prouvé leur efficacité dans plusieurs populations. Les diètes hypocaloriques ont également démontré pouvoir améliorer les facteurs de risque de DT2 individuellement.

## **2.2 Diètes hypocaloriques et facteurs de risque de diabète de type 2**

### **2.2.1 Résistance à l'insuline et hyperinsulinémie**

La perte de poids a démontré pouvoir augmenter la SI et réduire l'hyperinsulinémie, à jeun ou en réponse à un test de tolérance au glucose, avec des diètes hypocaloriques de composition variée (66-72). Une étude chez 17 sujets plus âgés (60-75 ans) en surpoids ou obèses comparant l'effet d'une diète hypocalorique de 16 semaines (déficit énergétique de 500 à 1000 calories par jour et moins de 30% des calories provenant des lipides) à celui d'un programme d'exercice montre une amélioration similaire de la SI mesurée par clamp hyperinsulinémique euglycémique (HIEG) avec les deux interventions (amélioration d'environ 18% et diminution moyenne de la masse grasse de 5,6 et 3,2 kg dans le groupe de diète et d'exercice, respectivement) (66). Cependant, seule l'intervention de diète hypocalorique entraînait une réduction de l'insulinémie à jeun (66).

Une autre étude, comparant 19 sujets obèses RI perdant 5% de leur poids (puis 9 d'entre eux perdant subséquemment 10% et 15% de leur poids, par diète hypocalorique avec substituts de repas au besoin, 50-55% des calories provenant des glucides, 30% des lipides et 15-20% des protéines) à 14 sujets obèses maintenant leur poids montre une amélioration progressive de la SI (mesurée par clamp HIEG) avec la perte de poids (67). L'insulinémie à jeun diminuait également progressivement avec la perte de poids, et l'aire sous la courbe de l'insuline plasmatique après une HGPO se trouvait réduite après la perte de poids, réduction qui était ici attribuée à une clairance plus rapide de l'insuline (67). La comparaison de deux diètes hypocalorique d'indice glycémique différent durant 6 mois chez 32 sujets sains en surpoids révèle une augmentation similaire de la SI ainsi qu'une réduction similaire de la sécrétion d'insuline en réponse à une HGPO et à un TTGIV dans les deux groupes (70). Les bienfaits de la perte de poids par diète hypocalorique sur la SI sont également présents chez des sujets sans surpoids mais RI, tel que démontré par une étude chez 5 jeunes adultes, ayant au moins un parent



diabétique de type 2, chez qui une diète hypocalorique (1200 kcal/jour, 43% protéines, 49% glucides, 7% lipides, substituts de repas liquides supplémentés de fruits et de légumes) d'une durée moyenne de 9 semaines menant à une perte de poids a amélioré la SI mesurée par clamp HIEG (71).

La perte de poids par chirurgie bariatrique permet également une amélioration importante de la SI (mesurée par clamp HIEG), tel que démontré chez 62 femmes suivies 2 ans après leur chirurgie de Roux-en-Y (68). Dans cette étude, la variabilité dans l'amélioration de la SI était en partie explicable par le changement de la taille des adipocytes des sujets : celles avec une plus grande réduction de la taille des adipocytes connaissaient une plus grande augmentation de la SI (68). Une réduction importante de l'insulinémie à jeun était également observée après la chirurgie bariatrique dans cette étude (68). Différentes chirurgies bariatriques ont des effets distincts sur la sécrétion d'insuline et sur l'insulinémie : certaines, comme la dérivation gastrique Roux-en-Y, causent une hypersécrétion d'insuline, alors que la diversion bilio-pancréatique augmente significativement la SI ce qui réduit la demande et la sécrétion d'insuline (73). À noter qu'une grande partie des études sur les chirurgies bariatriques vise la rémission du DT2, et donc dans ces circonstances, une augmentation de la sécrétion d'insuline n'est pas nécessairement néfaste et représente le rétablissement d'une sécrétion normale d'insuline (73).

Peu d'études ont comparé l'efficacité de diètes de compositions différentes entre elles dans l'amélioration de la sensibilité à et de la sécrétion d'insuline. La seule étude repérée comparait deux diètes hypocaloriques chez 32 sujets en surpoids, une avec consommation de poisson gras trois fois par semaine et l'autre sans, et indiquait une amélioration significative de la SI calculée par HOMA-IR seulement dans le groupe consommant le poisson (74). Certains facteurs de variabilité dans la réponse de sujets aux intervention hypocaloriques existent. L'ampleur de la perte de poids, ou de la diminution de masse grasse totale et viscérale, prédit dans certaines études l'ampleur des améliorations de SI et de sécrétion d'insuline (67, 75, 76). Étonnamment, dans l'une de ces études, les sujets ayant augmenté leur SI avaient également significativement réduit leur masse maigre, alors que ce n'était pas de cas des sujets ayant réduit leur SI (76). Les individus obèses avec des anomalies métaboliques améliorent plus leur SI que

les individus obèses métaboliquement sains (77), ces derniers détériorant même leur SI dans une étude chez des femmes postménopausées (78).

Bref, la perte de poids par diète hypocalorique, exercice ou chirurgie bariatrique mène à une augmentation de la SI et à une diminution de l'hyperinsulinémie. Cet effet pourrait être exacerbé chez les sujets métaboliquement anormaux, et avec une plus grande perte de poids et de masse grasse.

### **2.2.2 Dysfonction du tissu adipeux blanc**

Quelques études ont montré une amélioration de la fonction, ou de certaines caractéristiques du TAB associées à une moins bonne fonction, avec une perte de poids. Une étude mentionnée plus haut, chez 62 femmes obèses suivies 2 ans après leur chirurgie bariatrique révèle une réduction de la taille des adipocytes, ainsi qu'une forte association entre l'amélioration de ce paramètre et l'amélioration de la SI (68). Une grande variabilité dans la réduction de la taille moyenne des adipocytes était observée : la réduction allait de moins de 100 pL à plus de 1000 pL, alors que la taille moyenne des adipocytes était de  $972 \pm 177$  pL avant la chirurgie et  $450 \pm 179$  pL après (68). La chirurgie bariatrique amène non seulement une importante diminution de la masse grasse totale et de la taille des adipocytes, mais aussi une diminution du ratio entre la graisse viscérale et sous-cutanée, ce qui est associé à des améliorations métaboliques (41).

Les diètes hypocaloriques réduisent également la quantité de graisse viscérale, et les diètes faibles en glucides pourraient mener à une plus grande réduction ce dépôt adipeux, tel qu'étudié chez 22 sujets DT2 obèses suivant une diète faible en glucides ou faible en gras (79). Une perte de poids par diète hypocalorique (chez 78 sujets obèses, déficit énergétique de 500 calories par jour et administration de sibutramine) a mené à une diminution des taux de facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), d'interleukine-6 (IL-6), résistine et leptine, ainsi que des taux augmentés d'adiponectine et d'interleukine-10 (IL-10). Ces résultats peuvent être associés à une meilleure fonction du TAB, qui sécrète moins d'adipokines inflammatoires et plus d'adipokines anti-inflammatoires (80).

Les diètes très faibles en calories ou le jeûne provoquent initialement une augmentation de la lipolyse, ce qui accroît le taux d'AGL en circulation, situation qui se rétablit durant la perte

de poids (81). Pour ce qui est de la lipogenèse, elle est réduite après une courte diète très faible en calories mais augmentée après une perte de poids étalée sur une durée plus longue, et les adipocytes captent plus d'acides gras après la perte de poids (81, 82). L'évaluation de la fonction du TAB *ex vivo* chez 25 femmes obèses avant et après une perte de poids par chirurgie bariatrique (n=18) ou par diète hypocalorique (n=7), et chez 25 sujets contrôles appariés pour le poids et l'âge aux femmes après la perte de poids, révèle une normalisation (augmentation) de la lipogenèse après la perte de poids ainsi qu'une diminution de la lipolyse en réponse à divers stimuli, celle-ci atteignant des niveaux plus bas que chez les sujets contrôles (83). Il est intéressant de noter que dans cette étude, la taille des adipocytes des femmes après la perte de poids était inférieure à la taille des adipocytes des femmes contrôles n'ayant jamais subi d'importante perte de poids, et que le taux de lipolyse était corrélé à la taille des adipocytes.

Les évidences suggèrent que la perte de poids, par diète hypocalorique ou chirurgie bariatrique, permet d'améliorer les défauts au niveau de l'adipogenèse, de la répartition corporelle de la masse grasse (viscérale versus sous-cutanée), du métabolisme des lipides (lipogenèse et lipolyse), de l'inflammation et de l'infiltration de macrophages (81, 84). Certaines études suggèrent que les sujets avec obésité hypertrophique réduisent davantage la taille de leurs adipocytes suite à une diète hypocalorique que les sujets avec obésité hyperplasique, faisant de ces premiers de meilleurs candidats pour l'amélioration de la fonction du TAB par la perte de poids (81).

### **2.2.3 Hyperapobetalipoprotéïnémie**

L'hyperapoB peut également être améliorée par la perte de poids reliée à une diète hypocalorique, avec ou sans exercice, ou à une chirurgie bariatrique (85, 86). Diverses répartitions de macronutriments ont démontré réduire l'apoB plasmatique : diètes riches en glucides et faibles en gras (87, 88), ou faibles en glucides et plus riches en gras (85). Une étude comparant 20 hommes après une diète hypocalorique de 14 semaines et 2 semaines de stabilisation du poids (1467 calories par jour, 55% glucides, 25% lipides, 20% protéines) à 15 hommes sous diète isocalorique (40% glucides, 35% lipides, 20% protéines, 5% alcool) montre une diminution de l'apoB-100 suivant la diète hypocalorique (87). Le taux de production de VLDL se trouvait réduit, alors que la conversion de VLDL à LDL ainsi que le taux de

dégradation des LDL était augmenté, ce qui explique la réduction totale d'apoB ainsi que d'apoB se trouvant sur les VLDL et sur les LDL (87).

Une autre étude, chez 19 hommes avec syndrome métabolique, montre une plus importante diminution du taux d'apoB-100 plasmatique après une diète méditerranéenne avec perte de poids qu'après une diète méditerranéenne isocalorique, même si cette dernière menait déjà à des améliorations du métabolisme de l'apoB comparativement à une diète contrôle nord-américaine (88). Le taux de LDL-cholestérol n'était pas réduit davantage par l'addition de la perte de poids à la diète méditerranéenne, mais la taille des particules de LDL était augmentée, ce qui explique la diminution supplémentaire du taux d'apoB (88). Toujours dans la même étude, la diète méditerranéenne sans perte de poids a augmenté la dégradation des VLDL et des LDL, alors que l'addition de la perte de poids a augmenté davantage la dégradation des VLDL ainsi que leur conversion en IDL puis en LDL (88).

Une étude chez 84 sujets avec syndrome métabolique comparant une diète recommandée par l'American Heart Association (55% glucides, 30% lipides, 15% protéines, 3 à 5 repas par jour) à une diète méditerranéenne avec plus haute fréquence de repas (40% glucides, 30% lipides, 30% protéines, 7 repas par jour), toutes les deux fournissant 70% des besoins énergétiques quotidiens des participants et durant 8 semaines, montre une diminution similaire de l'apoB plasmatique dans les deux cas (89).

La chirurgie bariatrique a démontré diminuer le taux d'apoB-100 et d'apoB-48 plasmatique. Cet effet serait relié à une diminution de la production de chylomicrons et de VLDL ainsi qu'à une augmentation de la dégradation des lipoprotéines porteuses d'apoB-100 (86).

Les diètes hypocaloriques ont donc démontré leur efficacité à réduire le taux d'apoB plasmatique, mais il manque de données pour déterminer si certaines compositions de diètes sont plus efficaces que d'autres à cet effet. Les études de cinétique des lipoprotéines montrent que la perte de poids a des effets au niveau de la production, de la conversion et de la dégradation des lipoprotéines porteuses d'apoB.

## Chapitre 3 : Diètes isocaloriques

### 3.1 Diètes isocaloriques et incidence diabète de type 2

La composition de la diète peut avoir une influence sur l'incidence du DT2 même en absence de perte ou de gain de poids (diète isocalorique). L'apport en glucides et en lipides en tant que tel n'est généralement pas associé positivement ni négativement au risque de DT2, considérant la grande variabilité présente dans ces deux groupes de nutriments. Les glucides raffinés, à indice glycémique élevé ainsi que les sucres ajoutés et les boissons sucrées (diètes avec charge glycémique élevée) sont associés à un risque accru de développement du DT2, alors que les glucides non raffinés, riches en fibres et à indice glycémique bas sont associés à un risque réduit (46, 62). Pour ce qui est des lipides, ceux de sources végétales, en grande partie insaturés (monoinsaturés et polyinsaturés) sont associés à un risque réduit de DT2 alors que les lipides d'origine animale, largement saturés, et les lipides trans, à un risque accru (46, 62). Dans le cas des acides gras oméga-3, les associations sont variables entre les études (46, 62). L'apport total en protéines est associé à une augmentation du risque de DT2, et cette association est également retrouvée lorsque l'on considère seulement les protéines animales mais pas lorsque l'on considère seulement les protéines végétales (celles-ci sont associées à un risque légèrement réduit chez les femmes) (90). L'alcool, lorsque consommé modérément (1 à 2 consommations par jour ou ~20g d'alcool) est associé à un risque réduit comparativement à une consommation nulle mais aussi à une consommation excessive (46, 62, 91).

Certains micronutriments sont associés à des risques accrus ou réduits de DT2. La consommation de magnésium – que l'on retrouve dans certains légumes, produits céréaliers, légumineuses, noix, graines et poissons (92) – est associée à un risque réduit de DT2 (62). La vitamine D plasmatique est aussi associée à un risque réduit. Cependant, la vitamine D peut être synthétisée par le corps lors de l'exposition au soleil et la diminution du risque pourrait s'expliquer par un mode de vie plus actif (62). Un dernier micronutriment associé au DT2 est le fer hémique (retrouvé dans la viande), associé à un risque accru (62). Un taux de ferritine élevée, représentant les réserves en fer, est associé au même risque (62).

Puisque nous consommons des aliments, faisant partie de modèles alimentaires, et non des nutriments, il est important de s'attarder aux liens entre tous ces éléments et le risque de DT2. Les aliments associés à un risque réduit de DT2 sont généralement des produits végétaux peu transformés : grains entiers, fruits, légumes, légumineuses, noix et graines, café et thé (46, 62, 91, 93-99). La consommation de certains produits d'origine animale, comme le poisson et les produits laitiers (particulièrement le yogourt), est également associée à un risque diminué dans certaines études (100), mais pas toutes (46, 62, 101, 102). Cependant, certaines études associent la consommation de poisson à un risque augmenté (103-105). De l'autre côté, les aliments associés à un risque accru de DT2 sont souvent d'origine animale et/ou très transformés : viandes rouges et transformées, boissons sucrées et grains raffinés (46, 62, 97, 98, 106-109). Les œufs ont été associés à un risque accru de DT2 dans des études américaines, mais pas dans les autres études (110-112).

Divers modèles alimentaires ont été associés à un risque réduit de DT2. C'est le cas de la diète méditerranéenne, riche en fruits, légumes, grains entiers, légumineuses, poisson et huile d'olive, modérée en vin rouge et faible en viande rouge et en sucre ajouté (62, 93). La diète DASH, originalement conçue pour réduire l'hypertension, a aussi été associée à un risque réduit de DT2 (93, 113). Elle vise une alimentation faible en gras et en sodium, riche en grains entiers, fruits, légumes, produits laitiers faibles en gras, viandes et volailles faibles en gras, légumineuses, noix et graines (93). Le *Healthy Eating Index* (HEI) a été conçu comme outil d'évaluation de la compliance aux recommandations américaines. Ces recommandations incluent une consommation élevée de fruits, légumes (particulièrement verts), produits laitiers, aliments riches en protéines, poisson et fruits de mer, légumineuses et acides gras insaturés, et une consommation modérée de grains raffinés, acides gras saturés, sodium et calories vides (114). Une alternative à cet indice, le *Alternative Healthy Eating Index* (aHEI) a été élaboré en considérant les aliments et nutriments connus pour prévenir les maladies chroniques : beaucoup de fruits, légumes, grains entiers, noix, légumineuses, acides gras oméga-3 et polyinsaturés, modérément l'alcool et peu de boissons sucrées, viandes rouges et transformées, acides gras trans et sodium (115). Ces deux indices ont été associés à des risques réduits de DT2 (62, 93, 115). Les diètes végétariennes, excluant la viande ou tous les produits d'origine animale, sont également associées à un risque réduit de DT2 (62, 116, 117), et cette réduction serait

proportionnelle au degré d'exclusion des produits animaux (risque plus faible chez végétaliens, puis ovo lacto végétariens, puis non végétariens) même après correction pour plusieurs facteurs confondants possibles (âge, IMC, facteurs sociodémographiques) (116). Quelques études se sont penchées sur les modèles alimentaires malsains, ou occidentaux (produits céréaliers raffinés, fritures, viandes rouges et transformées, produits laitiers riches en gras et œufs) et y ont associé un risque de DT2 augmenté (93, 118).

Les modèles alimentaires et les aliments associés à un risque réduit de DT2 se recoupent et produisent une réduction similaire du risque de DT2 : les produits végétaux peu transformés sont associés à des risques réduits, les produits transformés et la viande rouge, à un risque accru (119). Dans tous les cas, la réduction du risque est plus importante lorsque les sujets étudiés sont à risque élevé de DT2, par exemple avec un historique de diabète gestationnel ou de maladies cardiovasculaires, que lorsque les sujets sont sains (119).

## **3.2 Diètes isocaloriques et facteurs de risque de diabète de type 2**

### **3.2.1 Résistance à l'insuline et hyperinsulinémie**

Quelques études observationnelles ont associé des composantes de la diète à la SI ou la sécrétion d'insuline. La plupart de ces études utilisent des formules pour estimer la SI à partir de valeurs de glucose et d'insuline à jeun – par exemple, l'indice HOMA-IR – mais d'autres se basent sur des valeurs de test de tolérance au glucose oral et/ou intraveineux. Dans la *Insulin Resistance Atherosclerosis Study* (IRAS, 1992-1994), une association positive entre la consommation de grains entiers (évaluée par questionnaires de fréquences alimentaires) et la SI (par TTGIV modifié avec insuline, analysé par modèle minimal) a été révélée dans un sous-échantillon de 978 sujets qui excluait les sujets diabétiques (25). Dans le même échantillon, des modèles alimentaires sains (fruits, légumes, grains entiers, vin) étaient associés à une meilleure SI que des modèles moins sains (pain blanc, friture, produits laitiers riches en gras, viande, sucreries) (24). D'autres études ont obtenu des résultats similaires, avec des modèles alimentaires sains riches en produits végétaux frais et peu transformés associés à une meilleure SI et des modèles malsains riches en produits d'origine animale, produits transformés, en gras et en sucre associés à la RI (26-28). Une autre étude, chez des sujets américains d'origine

mexicaine incluant des femmes avec historique de diabète gestationnel et les membres de leurs familles, a associé une diète riche en gras (35% de l'apport calorique) à une RI (par TTGIV analysé par modèle minimal) comparativement aux diètes modérée et faible en gras (28% et 20% de l'apport calorique respectivement) (120).

Les études interventionnelles sont plus nombreuses à avoir étudié les liens entre la sensibilité et la sécrétion d'insuline, et les composantes alimentaires. En effet, plusieurs études ont démontré qu'il était possible de moduler la sensibilité et la sécrétion d'insuline même par des interventions de courte durée et par des changements relativement modestes du mode de vie. Diverses études testant des diètes riches en fibres, par supplémentation ou en ciblant certains aliments, ont montré pouvoir augmenter la SI même lors de diètes isocaloriques, et donc n'entraînant aucune perte de poids. L'ajout de fibres à la diète abaisse la glycémie et l'insulinémie postprandiales, comme démontré chez des sujets diabétiques (121) et chez des femmes saines (122), mais améliore également la SI mesurée chez des sujets sains, RI ou hyperinsulinémiques par clamp HIEG (123-127) et durant un test de tolérance à un repas (125, 126, 128). L'insulinémie à jeun est également plus basse dans certaines de ces études après les diètes riches en fibres (126, 127), et l'aire sous la courbe de l'insuline après un test de tolérance à un repas se trouve abaissée après une supplémentation d'amidon résistant dans deux études, effet dû à une clairance accrue de l'insuline (125, 128). Ces études avaient une durée d'intervention variant entre 24 heures (128) et 18 semaines (123).

Une étude randomisée en chassé-croisé chez 7 femmes avec un historique de diabète gestationnel et une intolérance au glucose comparant des pains riches en fibres et à indice glycémique bas à des pains pauvres en fibres et la IG élevé (combiné à la diète habituelle des participantes) a montré une sécrétion d'insuline moindre lors d'un TTGIV après la période durant laquelle le pain riche en fibres était consommé (129).

Si les fibres sont associées à une augmentation de la SI dans de nombreuses études, les protéines sont parfois associées à une plus grande RI. C'est le cas dans une étude randomisée contrôlée en parallèle, avec 111 participants répartis en 4 groupes d'interventions isocaloriques : contrôle, diète riche en fibres, diète riche en protéines et diète à la fois riche en fibres et en protéines. Les participants recevaient des suppléments adaptés à leur diète ainsi que des conseils sur les aliments à privilégier. Après 6 semaines d'intervention, les participants du groupe



protéines avaient une SI réduite lors d'un clamp HIEG (alors que les participants des deux groupes avec suppléments en fibres avaient une augmentation de leur SI). Cet effet n'était cependant pas maintenu après 18 semaines d'intervention, possiblement à cause d'une réduction de la compliance à la diète (123).

Une revue systématique et méta-analyse portant sur la substitution des macronutriments (glucides pour gras saturés, monoinsaturés ou polyinsaturés, gras saturés pour gras insaturés, gras monoinsaturés pour polyinsaturés) montre que la composition de la diète peut moduler la SI, même dans des diètes isocaloriques (130). Remplacer 5% des calories sous forme de glucides par des lipides saturés ou polyinsaturés réduit l'insulinémie à jeun, alors que les remplacer par des lipides monoinsaturés réduit l'insulinémie 2h après une HGPO. Substituer des glucides ou des lipides saturés par des lipides insaturés (mono ou poly) réduit la RI calculée par HOMA-IR et l'hémoglobine glyquée (130). Les acides gras oméga-3 (en supplémentation ou dans une intervention nutritionnelle, de source marine ou végétale) ne semblent pas avoir d'effet marqué sur la SI, mais l'amélioreraient légèrement chez les femmes selon une méta-analyse (131). Cet effet pourrait être relié à certaines caractéristiques des études faites chez les femmes (plus longue durée d'intervention, plus grand échantillon, région géographique différente, ...) comparativement à celles faites chez les hommes, mais aussi possiblement à des différences reliées au sexe dans la réponse à une intervention d'acides gras oméga-3. Cependant, peu d'études ont mesuré leur effet en séparant les sujets selon le sexe et il est donc difficile de statuer sur cet effet spécifique au sexe (131).

L'alcool est un autre facteur pouvant modifier la SI : une étude randomisée en chassé-croisé chez 36 femmes ménopausées comparant 250 ml de vin blanc par jour pendant 6 semaines à une quantité égale de jus de raisin blanc révèle une insulinémie à jeun et un HOMA-IR plus bas après la période de vin (132).

Dans l'ensemble, les aliments et nutriments associés à une diète saine, tels que les fruits, légumes, grains entiers, vin, fibres alimentaires et lipides insaturés, sont associés à une meilleure SI et sécrétion d'insuline, alors que des aliments et nutriments associés à des diètes moins saines, grains raffinés, friture, sucre ajouté et gras saturés, à une RI.

### **3.2.2 Dysfonction du tissu adipeux blanc**

L'effet de diètes isocaloriques sur la fonction du TAB a été très peu étudié chez l'humain; plusieurs avenues sont prometteuses chez des modèles cellulaires ou animaux, mais peu ont été appliquées avec succès chez des sujets humains. Quelques nutriments, comme le fructose (133, 134), les lipides saturés et trans (43), et l'alcool (134), sont associés à une accumulation préférentielle de tissu adipeux au niveau viscéral, ce qui peut donner un indice de dysfonction du tissu adipeux. Les fibres alimentaires sont quant à elles associées inversement à la quantité de TAB viscéral (134).

Certains nutriments et aliments ont aussi démontré modifier l'expression de certains gènes dans le TAB, s'associant ainsi à une meilleure ou à une moins bonne fonction du TAB. Une diète riche en gras saturés, comparativement à une diète riche en gras monoinsaturés, a démontré augmenter, dans le tissu adipeux, l'expression de gènes associés à l'inflammation (135), alors qu'une supplémentation d'amidon résistant, comparativement à un placebo, a augmenté l'expression de gènes associés au métabolisme des lipides (126). Une consommation de 250 ml de vin blanc par jour pendant 6 semaines chez 36 femmes ménopausées a augmenté la concentration plasmatique d'adiponectine totale et de haut poids moléculaire ainsi que l'expression génique d'ADIPOQ, le gène codant pour l'adiponectine, dans le TAB (132).

Bref, peu d'évidences existent quant à la modulation de la fonction du TAB par la composition de la diète en l'absence de perte de poids. Les fibres alimentaires et le vin semblent promouvoir une meilleure fonction du TAB, alors que le fructose et les lipides saturés et trans, une moins bonne fonction, mais d'autres études sont nécessaires sur ce sujet puisqu'aucune n'a étudié directement la fonction du TAB avant et après une intervention isocalorique.

### **3.2.3 Hyperapobetalipoprotéïnémie**

Diverses interventions nutritionnelles isocaloriques ont démontré pouvoir moduler le taux d'apoB plasmatique. Au niveau des macronutriments, les diètes riches en glucides sont associées à un taux d'apoB plus élevé et remplacer une partie de ces glucides par des acides gras monoinsaturés réduit l'apoB plasmatique (85). Remplacer une partie des lipides saturés par des lipides mono et polyinsaturés a le même effet (85, 136). Les acides gras oméga-3 d'origine

marine (EPA et DHA), consommés sous forme de poisson gras ou de suppléments, réduisent aussi le taux d'apoB, alors qu'une consommation importante d'acides gras *trans* l'augmente (85). Certaines études rapportent une diminution de l'apoB avec une consommation de protéines de soya (environ 25 grammes par jour) (137) mais ce bénéfice n'est pas rapporté dans toutes les études (85). Des études transversales associent une consommation modérée d'alcool (surtout de vin rouge) à un taux d'apoB plasmatique plus bas qu'aucune consommation ou qu'une consommation excessive d'alcool, mais les études randomisées contrôlées n'ont pas démontré de résultats aussi clairs (85).

Un apport élevé en fibres alimentaires a également été associé à un taux d'apoB plus bas dans une population française (138), et des fibres solubles comme le psyllium, l'hydroxypropylméthylcellulose et les  $\beta$ -glucanes ont démontré pouvoir réduire l'apoB plasmatique (85, 139-141), tout comme les noix (142). L'impact des micronutriments sur le taux d'apoB a été peu étudié, et donc aucune recommandation ne peut être émise à ce sujet.

Finalement, certains modèles alimentaires, principalement la diète méditerranéenne, a démontré pouvoir réduire l'apoB (85, 88). D'autres modèles alimentaires, comme les diètes végétarienne, nordique, paléolithique et DASH sont prometteurs, mais il manque d'évidences pour statuer leur effet sur l'apoB (85, 143). Le taux d'apoB peut donc être modulé par la diète en l'absence de perte de poids, principalement par les lipides insaturés – incluant les acides gras oméga-3 – et les fibres solubles, ainsi que par les aliments contenant ces nutriments.

## **Chapitre 4 : Problématique, objectifs et hypothèses**

**4.1 Problématique :** La dysfonction du TAB, l'hypertriglycéridémie postprandiale, la RI, l'hyperinsulinémie, et l'hyperapoB sont des facteurs de risque importants du DT2 chez l'humain, et améliorer ces anomalies pourrait permettre de prévenir le développement du DT2. Des interventions de diètes hypocaloriques ont démontré pouvoir prévenir le DT2, augmenter la SI, réduire l'hyperinsulinémie, améliorer la fonction du TAB et réduire l'apoB plasmatique. Cependant, une grande variabilité existe entre les sujets dans leur réponse à ce genre d'interventions pour des raisons méconnues. De plus, la composition spécifique des diètes hypocaloriques promouvant les plus grandes améliorations des facteurs de risque de DT2 a été peu étudiée. D'un autre côté, plusieurs nutriments, aliments et modèles alimentaires sont associés à des risques réduits de DT2 et ont démontré améliorer la SI, l'hyperinsulinémie, la fonction du TAB et l'hyperapoB dans des diètes isocaloriques.

**4.2 Objectifs :** L'objectif principal de ce mémoire est de déterminer les prédicteurs de l'amélioration des facteurs de risque de DT2 introduits – RI, hyperinsulinémie, dysfonction du TAB, hypertriglycéridémie post-prandiale et hyperapoB – durant une intervention de diète hypocalorique chez des sujets en surpoids ou obèses. Ces prédicteurs pourront correspondre à des paramètres mesurés au début de l'étude, ou encore au changement de certains paramètres après l'intervention hypocalorique.

**4.3 Hypothèses :** Une hypothèse principale est que le taux plasmatique d'apoB avant l'intervention sera un prédicteur important de l'amélioration des facteurs de risque de DT2. Nous prévoyons que les sujets avec un taux d'apoB élevé connaîtront de meilleures améliorations de SI, sécrétion d'insuline, fonction du TAB, hypertriglycéridémie post-prandiale, en plus de diminuer leur taux d'apoB.

Une autre hypothèse est que certains facteurs nutritionnels moduleront l'amélioration des facteurs de risque de DT2. Les nutriments qui ressortent le plus de la littérature sont les fibres alimentaires et l'alcool en quantité modérée pour la diminution des facteurs de risque de DT2, et les lipides saturés, les lipides trans, le sucre ajouté et l'excès d'alcool pour l'augmentation des facteurs de risque de DT2.

## Chapitre 5 : Méthodologie

### 5.1 Participants et déroulement de l'étude

Une étude prospective utilisant une intervention de diète hypocalorique de 6 mois s'est déroulée à l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM) entre 2010 et 2014. Les résultats principaux observés étaient les facteurs de risque de DT2, incluant la RI, la sécrétion d'insuline et l'inflammation systémique dans l'ensemble de la population à l'étude (étude principale), et additionnellement, le métabolisme post-prandial des lipides *in vivo* ainsi que la fonction et l'inflammation du TAB gynoïde *ex vivo* dans une sous-population (sous-étude). Les données sur les marqueurs inflammatoires ne seront pas présentées dans ce mémoire. La population étudiée et le déroulement de l'étude ont déjà été publiés dans des publications antérieures de notre laboratoire (20, 30, 44, 82, 144-146). Les participants à l'étude ont été recrutés par le biais de publicités dans des journaux distribués dans la région de Montréal et tous les sujets ont donné leur consentement éclairé avant de participer à l'étude. Les participants étaient des hommes et femmes en surpoids ou obèses mais globalement en bonne santé (voir tableau I) (20, 30, 44, 144, 145).

Tableau I. Critères d'inclusion et d'exclusion des participants à l'étude

Critères d'inclusion	Critères d'exclusion
Hommes et femmes ménopausées	Claustrophobie
Âge entre 45 et 74 ans	Diabète de type 1 ou 2
Surpoids ou obésité ( $IMC \geq 27 \text{kg/m}^2$ )	Maladie thyroïdienne non traitée
Poids stable dans les 3 derniers mois ( $\pm 2 \text{ kg}$ )	Maladie cardiovasculaire ou maladie vasculaire avec un évènement aigu moins de 6 mois auparavant
Sédentaire (<2h d'activité physique structurée par semaine)	Cancer au cours des 3 dernières années
Non-fumeur	Maladie inflammatoire chronique telle que lupus ou arthrite rhumatoïde

<2 consommations d'alcool par jour	Anomalies de la coagulation sanguine
	Intolérance au lactose (pour sous-étude)
	Cholécystectomie (pour sous-étude)
	Traitement hormonal (sauf hormones thyroïdiennes à dose stable), traitement aux estrogènes
	Corticostéroïdes, neuroleptiques, antihypertenseurs, hypolipidémiants, anticoagulothérapie, médication stimulant la perte de poids, psychoactive ou agonistes adrénergiques
	Abus d'alcool ou de drogues
	Dépasser la dose maximale de radiation admissible annuellement ou prévoir la dépasser (scans ou tomographie)
	Toutes autres conditions médicales ou psychologiques selon le jugement de l'investigateur

La participation à l'étude était d'une durée de 33 semaines et composée de 5 périodes différentes. Les personnes intéressées par l'étude répondaient d'abord à un questionnaire téléphonique pour vérifier s'ils correspondaient aux critères listés ci-haut, et, s'ils pouvaient participer, recevaient des explications sur le déroulement de l'étude. Un premier rendez-vous était pris, au cours duquel les participants lisaient et signaient le formulaire de consentement pour l'étude principale (après avoir reçu des clarifications et des réponses à toutes leurs questions). Les sujets inclus étaient invités à participer à la sous-étude, et ceux désirant participer signaient un deuxième formulaire de consentement. Les participants étaient pesés et mesurés durant cette première visite, leur pression artérielle était mesurée et un échantillon sanguin était prélevé pour vérifier si leurs paramètres biochimiques correspondaient aux critères d'inclusion et d'exclusion. Les participants passaient ensuite par une période de stabilisation du poids d'une durée de 4 semaines, durant laquelle on s'assurait que leur poids ne varie pas de plus de 2 kg. Durant la même période, une visite médicale était prévue pour s'assurer de l'état de santé et de

l'éligibilité des participants, et ils rencontraient la nutritionniste à deux reprises pour l'explication puis la révision du journal alimentaire. Après cette période, les participants venaient à l'Institut pour une journée de test (ou deux journées dans le cas des participants à la sous-étude, avec de 1 à 3 semaines d'intervalle entre les deux jours de tests). La première journée de tests servait à mesurer la sécrétion d'insuline induite par le glucose (SIIG) et la SI par clamp Botnia, alors que la deuxième journée de tests (sous-étude) visait à évaluer la fonction du TAB et le métabolisme postprandial des lipides après un repas riche en lipides marqué au <sup>13</sup>C-trioléine. Après ces journées de tests, l'intervention nutritionnelle commençait, pour une durée de six mois. Les journées de tests étaient répétées après les 6 mois d'intervention et une autre période de 4 semaines de stabilisation du poids.

Cent-dix personnes ont signé le formulaire de consentement, et 82 d'entre elles correspondaient aux critères d'inclusion et d'exclusion après les analyses sanguines et la visite médicale. Trente-deux de ces personnes ont accepté de participer à la sous-étude. Des 82 personnes ayant commencé l'étude, 23 n'ont pas terminé (7 par manque de temps, 8 pour raisons personnelles et 8 suite à des problèmes de santé non reliés à l'étude et nécessitant des traitements), donc 59 personnes, 26 hommes et 33 femmes, ont complété l'intervention hypocalorique et 25 personnes, 12 hommes et 13 femmes, ont complété la sous-étude (147). Les données de journaux alimentaires étaient incomplètes ou manquantes pour 4 participants donc les apports nutritionnels ont été analysés pour 55 participants.

## **5.2 Intervention nutritionnelle**

L'intervention nutritionnelle était une diète hypocalorique échelonnée sur 6 mois, durant laquelle les participants rencontraient la nutritionniste mensuellement et recevaient un appel téléphonique hebdomadaire (147). La perte de poids visée était de 10% du poids initial, à raison de 1 à 3 kilogrammes perdus par mois. L'apport calorique recommandé aux participants était calculé en mesurant la dépense énergétique au repos par calorimétrie indirecte (Vmax Encore, Carefusion, San Diego, CA, États-Unis), en multipliant le résultat par un facteur d'activité de 1,4, correspondant à un mode de vie sédentaire, puis en soustrayant 500 calories. Un plan alimentaire était donné à chaque participant correspondant à ses besoins et basé sur le Guide alimentaire canadien. Un nombre de portions de chaque groupe alimentaire était recommandé

pour, au total, correspondre à l'apport calorique suggéré ainsi qu'à la distribution des macronutriments suggérée (45-60% glucides, 20-35% lipides, 15-20% protéines) (148). Lors de chaque séance mensuelle, un sujet différent relié à l'alimentation était abordé. Les groupes alimentaires et la taille des portions étaient abordés à la première visite, les calories et la balance énergétique à la deuxième, les lipides (aliments riches en gras, lipides à favoriser et à limiter) à la troisième. Lors de la quatrième visite, les fibres alimentaires et leur effet sur la satiété étaient discutés, alors que les protéines étaient abordées à la cinquième visite, également pour leur effet sur la satiété. La densité calorique était le sujet de la sixième visite, et la dernière visite visait le contrôle de l'appétit par diverses stratégies. Un document était remis aux participants et ceux-ci devaient se donner un objectif relié au sujet de la séance, ainsi qu'un objectif de perte de poids pour le mois. Les appels téléphoniques hebdomadaires servaient de rappel et à suivre la progression des participants. Des conseils personnalisés étaient donnés à chaque participant pour l'aider à atteindre ses objectifs : idées de recettes, suggestions de menus, conseils pour éviter les mauvaises habitudes et le grignotage.

### **5.3 Journaux alimentaires**

Afin d'évaluer les apports alimentaires des participants et de comparer leur alimentation avant l'étude à leur alimentation durant l'intervention nutritionnelle, nous avons utilisé des journaux alimentaires de trois jours, incluant deux jours de semaine et une journée de fin de semaine (147). Les journées choisies pour remplir les journaux alimentaires devaient être représentatives de l'alimentation habituelle du participant. Les participants devaient noter tous les aliments et boissons consommés durant ces périodes, ainsi que les quantités et le mode de préparation. Des informations détaillées devaient être données : marque ou nom du produit, saveur, variété, grosseur, volume ou poids, etc. Les participants étaient encouragés à inclure les recettes, étiquettes et emballages des aliments consommés (avec tableau de valeur nutritive). Les instructions étaient données par une nutritionniste et des aide-mémoires ainsi que des exemples étaient présents sur le document remis. Une fois remplis, les journaux étaient révisés par la nutritionniste en compagnie du participant pour s'assurer qu'aucune information n'était manquante. Les journaux complétés étaient analysés par la nutritionniste à l'aide du logiciel *The Food Processor* (Esha Research, Salem, OR, États-Unis, Base de données canadienne). Ce



logiciel permet d'entrer des aliments faisant partie d'une base de données et d'ajouter d'autres aliments, et calcule les quantités de nutriments consommés par les participants. Pour les analyses, nous avons utilisé la moyenne pour chaque nutriment des trois jours du journal alimentaire. Seules les données pour les macro et micronutriments présents dans les tableaux de valeurs nutritives des emballages d'aliments (calories, lipides, lipides saturés et trans, cholestérol, sodium, glucides, fibres, sucre, protéines, vitamine A, vitamine C, calcium et fer) étaient disponibles pour tous les aliments.

## **5.4 Mesures anthropométriques et biochimiques**

Le poids des participants était mesuré à l'aide d'une balance électronique au dixième de kg près. La taille était mesurée avec un stadiomètre fixé au mur au mm près. Les circonférences de taille et de hanches étaient mesurées au mm près à l'aide d'un ruban à mesurer souple et selon un protocole défini : la circonférence de taille était mesurée au-dessus de la crête iliaque, alors que la circonférence des hanches était mesurée à la partie la plus large des fesses. Chaque circonférence était mesurée trois fois, et la moyenne des trois mesures était utilisée dans les analyses. La composition corporelle était mesurée par scan DEXA (*dual energy X-ray absorptiometry* iDXA, GE Healthcare, Little Chalfont, Royaume-Uni). Les lipides sanguins étaient mesurés par analyseur automatisé (Cobas Integra 400, Roche Diagnostic, Basel, Suisse), l'apoB-48, représentant les chylomicrons, par dosage immuno-enzymatique ELISA (Biovendor LLC, Asheville, NC, États-Unis), l'insuline et le C-peptide par dosage radio-immunologique (Millipore Corporation, Billerica, MA, États-Unis), et la glycémie par analyseur automatisé (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, États-Unis) (20, 30, 144-146).

## **5.5 Sensibilité à et sécrétion d'insuline**

Pour mesurer la sécrétion d'insuline et la SI des participants, le test du clamp Botnia a été utilisé (20, 30, 144). Il s'agit d'un test en deux étapes, combinant un TTGIV et un clamp HIEG. Pour effectuer ce test, le sujet devait être à jeun depuis 12 heures et avoir suivi une diète riche en glucides (225g/jour pour les femmes et 300g/jour pour les hommes au minimum) dans les trois jours précédant le test pour assurer des réserves de glycogène adéquates et que le glucose infusé durant le test soit utilisé pour l'oxydation plutôt que mis en réserve sous forme

de glycogène. Les sujets devaient également éviter l'alcool et l'exercice intense (marche permise) dans les trois jours précédant le test. Un cathéter flexible en téflon était inséré dans une veine de chaque bras, l'un pour l'injection de glucose et d'insuline, l'autre pour la collecte d'échantillons sanguins. Un échantillon sanguin était prélevé avant le début du test, centrifugé et la glycémie était mesurée dans le sérum par analyseur automatisé.

Tel que présenté dans la figure 3, le test débutait par l'injection d'un bolus de glucose (0,3g/kg) en moins de deux minutes. Des échantillons étaient prélevés aux temps 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes après l'injection du bolus de glucose et la glycémie était mesurée à chaque temps. Les échantillons de sérum étaient conservés et rapidement congelés pour la mesure subséquente de l'insuline et du C-peptide. La sécrétion d'insuline peut être séparée en deux phases, mesurées par l'aire sous la courbe de l'insuline dans le sérum. La première phase de sécrétion survient dans les 10 premières minutes du test et représente l'insuline relâchée immédiatement en réponse à l'augmentation de la glycémie. La deuxième phase survient dans les 50 minutes suivantes du test et est plus continue (149). La SI peut être estimée durant le TTGIV en divisant l'aire sous la courbe de la glycémie par l'aire sous la courbe de l'insulinémie.

Le clamp HIEG débutait 60 minutes après l'injection du bolus de glucose (Figure 3). Un bolus d'insuline ( $140 \text{ mU/m}^2$ ) était injecté en une minute, suivi d'une dose de maintien ( $75 \text{ mU/m}^2/\text{min}$ ), dans le but d'amener l'insulinémie à un taux supraphysiologique. Une infusion de glucose était débutée en même temps que l'insuline, pour contrebalancer cette augmentation d'insulinémie et éviter l'hypoglycémie. Le taux initial d'infusion de glucose était déterminé selon la glycémie du sujet au temps 50 minutes du TTGIV et selon son sexe. Ce taux était ensuite ajusté au besoin, après les mesures de glycémies faites chaque 10 minutes (ou chaque 5 minutes au besoin), dans le but d'obtenir une glycémie stable entre 4,5 et 5,5 mmol/L durant les 30 dernières minutes du test. La SI est calculée dans le clamp HIEG en divisant le taux d'infusion de glucose durant les 30 dernières minutes du test par l'insulinémie durant cette même période.

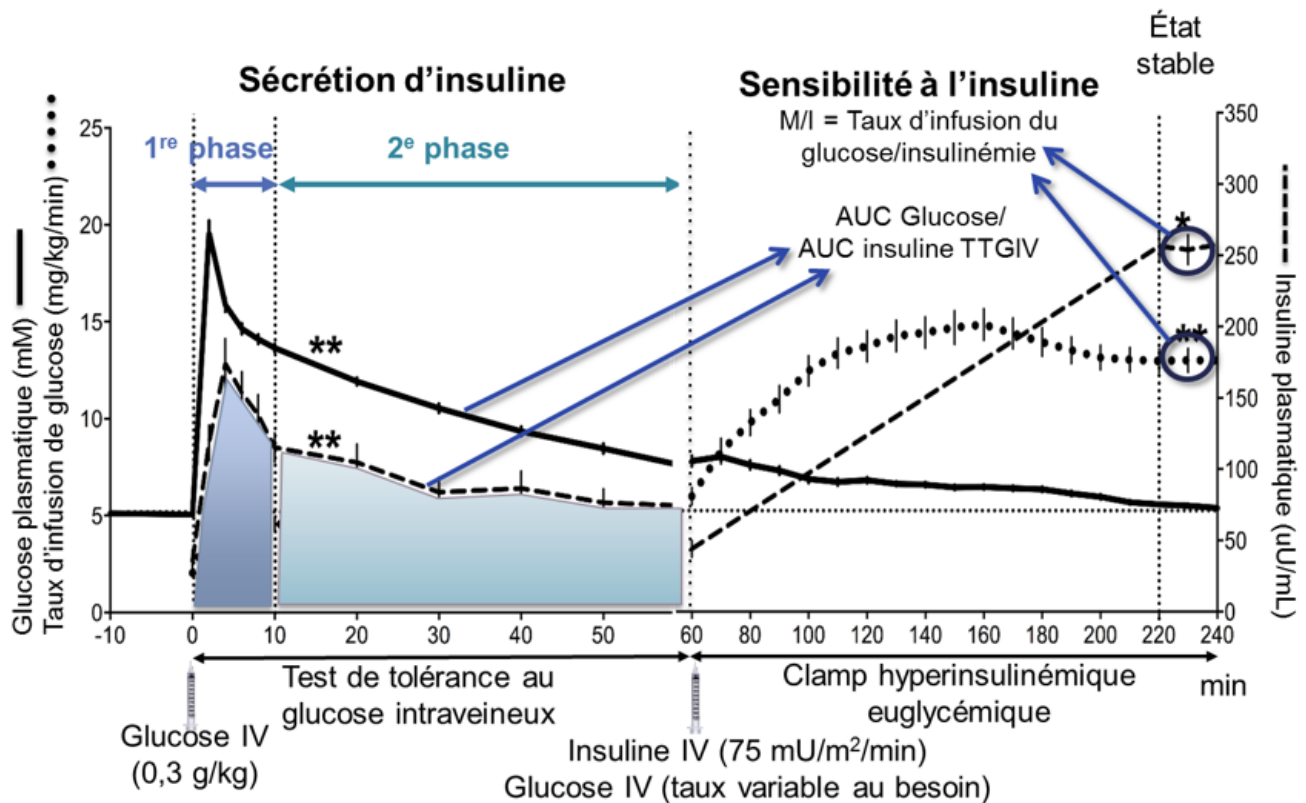


Figure 3. Déroulement du Clamp Botnia (adapté de (20))

## 5.6 Fonction du tissu adipeux blanc et métabolisme postprandial des lipides

Le métabolisme postprandial des lipides était mesuré après l'ingestion d'un repas riche en gras par les participants à l'étude (30, 44, 82, 144-146). Les sujets arrivaient à jeun depuis 12 heures à l'Institut. Un repas riche en lipides et ajusté à leur surface corporelle (600kcal/m<sup>2</sup>, 68% lipides, 18% glucides) composé de croissants, fromage, bacon et brownies était donné aux participants. Ce repas était marqué au carbone-13 (0,017g <sup>13</sup>C par gramme de lipides, glycérol tri-oléate-1-<sup>13</sup>C, Sigma Aldrich, Canada) par une huile ajoutée au croissant. Les participants étaient invités à manger le repas en moins de 15 minutes. Une biopsie de tissu adipeux sous-cutané était prélevée (sous anesthésie locale, xylocaïne 20mg/ml, AstraZeneca) par un médecin au niveau de la hanche droite avant le repas, et une deuxième au niveau de la hanche gauche quatre heures après le début du repas (N.B. les données sur les biopsies de TAB collectées à l'état postprandial ne sont pas présentées dans ce mémoire). Des échantillons sanguins et de

souffle étaient prélevés avant le repas et aux temps 1, 2, 4 et 6 heures après le début du repas. La dépense énergétique au repos à jeun et à l'état postprandial était mesurée par calorimétrie indirecte (Vmax Encore, Carefusion, San Diego, CA, États-Unis) aux mêmes temps. La clairance des TG, des TG diététiques et des chylomicrons étaient calculés par l'aire sous la courbe et l'aire sous la courbe incrémentale des TG totaux, marqués au  $^{13}\text{C}$  et de l'apoB-48, respectivement, après le repas.

La mesure de l'enrichissement en carbone-13 dans le plasma et dans le souffle a été effectuée pour mesurer la clairance postprandiale des lipides diététiques. Toutes ces procédures étaient effectuées avec des gants, en utilisant du matériel stérile à usage unique ou de la verrerie propre rincée au chloroforme trois fois pour éviter la contamination avec d'autres lipides. Les échantillons de plasma étaient conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse. Les lipides étaient d'abord extraits du plasma, puis séparés par chromatographie sur couche mince. Les AGL et les TG ainsi séparés étaient ensuite extraits du gel de silice de la plaque de chromatographie et analysés par spectrométrie de masse à ratio isotopique (Vario Micro CHNS Cube, Elementar Americas Inc.) pour déterminer leur enrichissement en  $^{13}\text{C}$ . Les échantillons de souffle recueillis durant le test de métabolisme postprandial des lipides ont été conservés dans des tubes de verre scellés, entreposés au réfrigérateur jusqu'à leur analyse. La mesure d'enrichissement en  $^{13}\text{C}$  dans le souffle était faite par spectrométrie de masse à ratio isotopique.

La fonction du TAB à jeun a été évaluée par sa capacité à hydrolyser via la LPL et à entreposer un substrat synthétique de chylomicron marqué à l'hydrogène-3 (30, 44, 144, 145). Immédiatement après la biopsie, des échantillons de 5 à 10 mg de TAB ont été nettoyés et séchés, puis transférés dans une solution tampon (HBSS) chaude pendant 30 minutes. Les échantillons ont ensuite été transférés dans des puits sur une plaque neuve avec 500  $\mu\text{L}$  de substrat de lipoprotéines riche en TG synthétique marqué au  $^3\text{H}$  (95% TG, 1,27 mmol/L TG). La plaque était incubée 4 heures à  $37^{\circ}\text{C}$  sur un agitateur. Les lipides et TG marqués au  $^3\text{H}$  du TAB et du milieu étaient ensuite récoltés, extraits par chromatographie sur couche mince et comptés.

## 5.7 Analyses statistiques

Dans les deux articles, les données présentées dans les tableaux représentent la moyenne  $\pm$  écart-type. Les différences entre les groupes (femmes vs. hommes, réduction de l'apport en fibres vs. augmentation de l'apport en fibres, taux d'apoB bas vs. élevé) ont été analysées par analyse de la variance à deux facteurs, avec mesures répétées (*RM 2-way ANOVA*), avec interactions entre les groupes et le temps (*group x time*). Les associations entre les variables ont été analysées par corrélations de Pearson, en séparant les sujets par sexe et en les regroupant si aucune différence entre les sexes n'était décelée. Des modèles de régressions séquentielles linéaires ont été utilisés pour prédire les variables dépendantes dans chaque article. Les modèles étaient analysés pour colinéarité. Les analyses statistiques étaient conduites sur SPSS V19, les analyses d'aire sous la courbe et les corrélations sur GraphPad Prism V7 (GraphPad Software, La Jolla, CA, États-Unis). Le seuil de signification était  $p < 0,05$  (147).

## **Chapitre 6 : Résultats – articles scientifiques**

### **Premier article : High plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate white adipose tissue dysfunction, glucose-induced hyperinsulinemia and insulin resistance after a hypocaloric diet**

Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Leroux C, Provost V, Cyr Y, Rabasa-Lhoret R, Faraj M. **High plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate white adipose tissue dysfunction, glucose-induced hyperinsulinemia and insulin resistance after a hypocaloric diet**, American Journal of Clinical Nutrition. *Revisions requested* November 2017.

**Contribution de l’auteur à l’article :** Viviane Provost a effectué une partie des mesures d’enrichissement du plasma en  $^{13}\text{C}$  pour cet article ( $\approx 20\text{-}30\%$  des mesures), ainsi qu’une partie des analyses d’apports alimentaires des participants (analyses statistiques). Pourcentage total de contribution à l’article  $\approx 5\%$

**High plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate white adipose tissue dysfunction and glucose-induced hyperinsulinemia after a hypocaloric diet**

Simon Bissonnette<sup>1,2,3</sup>, Nathalie Saint-Pierre<sup>3</sup>, Valerie Lamantia<sup>1,2,3</sup>, Catherine Leroux<sup>1</sup>,  
Viviane Provost<sup>1,2,3</sup>, Yannick Cyr<sup>1,2,3</sup>, Remi Rabasa-Lhoret<sup>1,2,3</sup>, May Faraj<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Institut de Recherches cliniques de Montréal (IRCM), Montréal, Québec*

<sup>2</sup> *Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec*

<sup>3</sup> *Montreal Diabetes Research Center (MDRC), Montréal, Québec*

**Send correspondence and reprints requests to;**

May Faraj P.Dt., Ph.D.

Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM)

Office 1770.2

110, Avenue des Pins Ouest Montréal, Québec H2W 1R7

Tel : (514) 987-5655

Email: [may.faraj@umontreal.ca](mailto:may.faraj@umontreal.ca)

**Study registration ID number and website:** ISRCTN14476404, BioMed Central

**List of authors' last names:** Bissonnette, Saint-Pierre, Lamantia, Leroux, Provost, Cyr, Rabasa-Lhoret, Faraj

**Running title:** ApoB predicts weight-loss changes in T2D risks

**Word count:** abstract = 300 words, body = 5,044 words, total number of figures and tables = 6

**Sources of support:** Supported by an operating grant from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR, MOP# 93581) to M.F. S.B. is supported by CIHR doctoral scholarship, V.L. is supported by CIHR Vanier doctoral scholarship and Y.C. is supported by Fonds de recherches du Québec (FRQ) doctoral scholarship.

**Online supplementary material:** Supplemental tables and figures are available from the “Online Supporting Material” link in the online posting of this article and from the same link in the online table of contents at [ajcn.nutrition.org](http://ajcn.nutrition.org).

**Abbreviations:** C, cholesterol; GIIIS, glucose-induced insulin secretion; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; IR, insulin resistance; IS, insulin

sensitivity; IVGTT, intravenous glucose tolerance test;  $iAUC_{6h}$ , increment increase in the area under the 6-hour postprandial curve above baseline; LPL, lipoprotein lipase; PCSK9, proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; NEFAs, non-esterified fatty acids; TRLs, triglyceride-rich lipoproteins; WAT, white adipose tissue



**Abstract:**

**BACKGROUND/ HYPOTHESIS:** To optimize the prevention of type 2 diabetes (T2D), high-risk obese subjects with the best metabolic recovery after a hypocaloric diet should be targeted. White adipose tissue (WAT) dysfunction promotes hypertriglyceridemia, insulin resistance (IR) and hyperinsulinemia. As apoB-lipoproteins provoke WAT dysfunction and associated risks, we hypothesized that high plasma apoB-lipoproteins (apoB) identifies subjects who best ameliorate these risk factors after a hypocaloric diet.

**DESIGN:** Fifty-nine men and post-menopausal women ( $58\pm 6$  yrs,  $32.6\pm 4.6$  kg/m<sup>2</sup>) completed a prospective study with a 6-month hypocaloric diet (-500kcal/day). Glucose-induced insulin secretion (GIIS) and insulin sensitivity (IS) were measured by 1-hour intravenous glucose-tolerance test followed by 3-hour hyperinsulinemia-euglycemia clamp, *respectively*. *Ex vivo* gynoid WAT function (i.e. hydrolysis and storage of <sup>3</sup>H-triolein-labeled-triglyceride-rich-lipoproteins) and 6-hour postprandial plasma clearance of <sup>13</sup>C-triolein-labeled-high-fat-meal were measured in a subpopulation (N=25).

**RESULTS:** Post-intervention 1<sup>st</sup> phase GIIS and total C-peptide secretion were decreased in both sexes, while 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS and clamp IS were ameliorated in men ( $P<0.05$ ). Baseline plasma apoB was associated with post-intervention increase in WAT function ( $r=0.61$ ) and IS ( $M/I_{\text{clamp}} r=0.30$ ) and decrease in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS ( $r=-0.30$  to  $0.35$ ) but not with hypertriglyceridemia, without sex-differences. Its association with post-intervention amelioration in WAT function and GIIS was independent of plasma cholesterol, sex and/or changes in body composition. Subjects with high baseline plasma apoB ( $1.2\pm 0.2$ g/L) had significant increase in WAT function (+105%,  $P=0.041$ ) and decrease in GIIS (-25 to -34%,  $P\leq 0.001$ ), while sex-matched subjects with low plasma apoB ( $0.7\pm 0.1$ g/L) did not, despite equivalent changes in body composition, energy intake and expenditure.

**CONCLUSIONS:** High plasma apoB identified obese subjects who best ameliorated WAT dysfunction and glucose-induced hyperinsulinemia independent of changes in adiposity following a hypocaloric diet. We propose that hyperapoB subjects are an optimal target group for the primary prevention of T2D by hypocaloric diets.

**Keywords:** HyperapoB, plasma apoB-lipoproteins, white adipose tissue function, postprandial fat clearance, insulin sensitivity and secretion, risk factors for type 2 diabetes, weight-loss, Botnia clamp, overweight and obese subjects.

## Introduction

Diabetes is a major cause of morbidity, mortality and health-care burden (1, 2). Recent analysis on worldwide trends in diabetes revealed that the number of adults with diabetes, more than 90% of which represents T2D, increased from 108 million in 1980 to 422 million in 2014 (2). While obesity is a major risk factor for T2D, only a minority (~10-20%) of obese subjects becomes diabetic (3). Moreover, T2D is preventable by behavior modification and medication (4, 5). In fact, an intensive lifestyle intervention with diet and exercise that aimed at 7% weight-loss over 5 years was better than metformin in preventing new-onset T2D in high-risk obese subjects (5). However, a large inter-subject variability exists in the response to lifestyle interventions (6). As not all obese subjects present the same risk for T2D nor do they respond equally to T2D prevention efforts, identifying and targeting high-risk subjects who would best respond to the hypocaloric diet may have a major impact the primary prevention of T2D.

White adipose tissue (WAT) dysfunction, more than obesity *per se*, plays a central role in the pathology of T2D (7, 8). After a meal, healthy WAT buffers the sudden influx of exogenous fat by the hydrolysis and storage of triglyceride-rich lipoproteins (TRLs) mediated by endothelial-bound lipoprotein-lipase (LPL) (7, 9, 10). On the other hand, dysfunctional WAT has reduced metabolic flexibility. This promotes a chronic state of hypertriglyceridemia that 1) competes with glucose oxidation leading to hyperglycemia, 2) favors the enlargement of visceral WAT increasing metabolic risk, and 3) promotes systemic lipotoxicity and associated insulin resistance (IR) (7, 11-13). Hyperinsulinemia develops to compensate for chronic IR, which in time is believed to promote  $\beta$ -cell exhaustion and progression to T2D (12, 14). Additionally, increased hepatic influx of lipids together with hepatic-IR promotes overproduction of atherogenic apoB-lipoproteins (VLDL, IDL and LDL) (15).

Work from our lab led us to propose that high plasma apoB-lipoproteins may be a cause, and not a mere consequence, of WAT dysfunction and T2D in humans (16, 17). Differentiation of preadipocytes in the presence of native human LDL decreases adipocyte differentiation and function (reduced hydrolysis and storage of TRLs) (17). In line, plasma apoB is an independent predictor of dysfunctional WAT and associated risk factors for T2D; IR, glucose-induced hyperinsulinemia, postprandial hypertriglyceridemia, and subclinical inflammation (16-20).

Additionally, plasma apoB predicts T2D before its onset by 3-10 years in Turkish (21), Canadian (22), Finnish (23), and Korean (24) populations, independent of traditional risk factors.

Consequently, we examined the hypothesis that high plasma apoB also identify overweight and obese subjects who best ameliorate WAT dysfunction and related risk factors for T2D following a hypocaloric diet. To test this hypothesis, we employed gold-standard techniques to assess the concomitant changes in glucose-induced insulin secretion (GIIS), insulin sensitivity (IS), postprandial fat metabolism and *ex vivo* WAT function in response to 6-month hypocaloric diet, and their association to baseline plasma apoB in non-diabetic overweight and obese subjects.

## Subjects, materials and methods

**Study objective, population and design:** A prospective clinical study, in conjunction with basic studies, was conducted at the Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM). Its objectives were to test the hypothesis that the plasma apoB-lipoproteins (i.e. apoB) was associated with baseline and post-intervention changes in risk factors for T2D following a 6-month hypocaloric diet in overweight and obese subjects, and that apoB-lipoproteins directly promote WAT dysfunction. The primary outcomes measured to assess risk factors for T2D were IS, GIIIS and systemic inflammation in the total population (termed principle study, N=82), in addition to postprandial fat metabolism and ex vivo gynoid WAT function and inflammation in a sub-population (termed sub-study, N=32). The total sample size (N=82) was based on the primary hypothesis that high plasma apoB was associated with IR. It was estimated from our previous study using the hyperinsulinemia euglycemia clamp in women with high and low plasma apoB with similar inclusion/exclusion criteria (N=17/group) (16). As no data existed for men, the sample size was doubled to allow the examination of sex-differences in the relation of plasma apoB to the risk factors for T2D. It was then increased by 20% to account for dropout and attrition during the 6-month intervention. Given the sensitivity of stable isotopes to trace dietary fat *in vivo*, and our previous work with <sup>13</sup>C-labeled high fat meal where a sample of 8 per group was sufficient to distinguish women with low and high efficiency of plasma clearance of dietary fat (9), the sample size needed to examine fat metabolism *in vivo* and *ex vivo* in WAT was set at N=32 to include men. Volunteers were recruited by newspaper advertisements with inclusion/ exclusion criteria as previously reported for baseline (17-20). In brief, men and post-menopausal women were aged 45–74 years, non-smokers, with a BMI > 27 kg/m<sup>2</sup>, a sedentary lifestyle, and a low alcohol consumption. Subjects were excluded if they had: High risk for CVD (>20% of Framingham Risk Score), CVD and hypertension requiring medication, diabetes, cancer (within the past 3 years), kidney or hepatic dysfunction, use of drugs affecting metabolism (including hormone-replacement therapy except thyroid at stable dose), lack of time, cholecystectomy (for the sub-study only), and all other medical/ psychological conditions deemed inappropriate by the physician (e.g. reactive hypoglycemia, aggressiveness). All volunteers who were enrolled in the principle study were invited to participate in the sub-study. Subjects signed informed consent forms approved by the Human Ethics Board at the IRCM.

Subjects were placed on 4-week weight-stability period verified weekly at the IRCM and aiming at maintaining weight within 2 kg range (25), after which baseline measurements of the risk factors for T2D were conducted. Three-day food records were also completed by the subjects (2 week-days, 1 weekend) and verified by the dietitian for completion upon reception. The assessment of GIIS, IS and systemic inflammation was conducted on one day, while the assessment of postprandial fat metabolism and WAT function and inflammation, when completed, were conducted on a 2<sup>nd</sup> day, one week apart. Subjects were then placed on 6-months hypocaloric diet and the post-intervention 3-day food records were completed in the last week of the intervention. A 4-week post-intervention weight-stabilization period followed the hypocaloric intervention, after which the measurement of the risk factors for T2D were repeated.

**Hypocaloric-diet intervention:** The hypocaloric diet was administered during individual sessions by 2 registered dietitians. Daily energy needs were calculated as basal metabolic rate, measured by indirect calorimetry (Vmax Encore, Carefusion, San Diego, CA, USA), multiplied by a sedentary physical activity factor of 1.4, from which 500 kcal were subtracted (25). Subjects were counseled to follow a balanced diet based on the Canadian Food Guide and Health Canada composed of 45-65% carbohydrate, 20-35% fat and 15-35% protein (26). To encourage compliance, subjects met monthly with the study dietitian for 1 hour at baseline and during the intervention. During these visits, body weight was recorded and subjects received written and oral counseling on 7 consecutive sets of nutritional topics covering: 1) recommended daily intake of the 6 food groups, 2) energy balance and how to achieve a negative balance to lose weight, 3) types of fat with the aim to decrease the intake of total, saturated and trans fats and increase the intake of unsaturated fats, 4) dietary fiber and their advantage in promoting satiety, 5) proteins and their advantage in promoting satiety, 6) energy density with the aim to increase the intake of low energy-dense items, and 7) strategies to control appetite during meal consumption. Subjects were encouraged to maintain their habitual (i.e. sedentary) activity level during the hypocaloric-diet. Nutritional analysis of the food journals was conducted using The Food Processor software (version 11.3.285, ESHA Research, Salem, OR).

**Insulin sensitivity and secretion technique:** Concomitant but independent measurements of GIIS and IS were conducted using a modified Botnia clamp (27) as previously reported (18-20).

Glucose-induced insulin and C-peptide secretions were measured during 1-hour intravenous glucose tolerance test (IVGTT, 0.3 g glucose/kg body weight). First phase, second phase and total GIIS and C-peptide secretion were measured as the AUC of the first 10 minutes, the following 50 minutes and the total 60 minutes of the IVGTT, respectively. Insulin sensitivity was then measured by 3-hour hyperinsulinemic-euglycemic clamp, during which hyperinsulinemia was maintained using a primed exogenous insulin infusion ( $75 \text{ mU/min}\cdot\text{m}^2$ ) while plasma glucose was maintained between 4.5 to 5.5 mmol/L using 20% dextrose infusion. Insulin sensitivity was expressed as glucose infusion rate ( $\text{GIR}_{\text{clamp}}$ ) alone or divided by plasma insulin in the last 30-minutes of the clamp (expressed as  $\text{M/I}_{\text{clamp}}$ ) (16, 18-20, 27). Fasting index of IR, HOMA-IR, was calculated as published (28). Three-days prior to the Botnia clamps, subjects were reminded by a phone call to maintain a high carbohydrate intake of at least 300 g/day for men and 225 g/day as previously published (18-20).

**Postprandial fat metabolism technique:** Postprandial plasma clearance and oxidation rates of a high-fat meal labeled with  $^{13}\text{C}$ -triolein (600 kcal/m<sup>2</sup>, 0.017 g  $^{13}\text{C}$ -triolein/g fat, 68% fat, 18% carbohydrate) were measured for 6 hours as reported (17-20, 29-31). The  $^{13}\text{C}$  enrichment in breath  $\text{CO}_2$  and plasma TGs was measured by isotopic ratio mass spectrophotometer (Elementar Americas Inc). Postprandial plasma clearance of total TGs,  $^{13}\text{C}$ -TGs and chylomicrons was measured as the incremental increase in the area under the 6-hour curve above baseline ( $\text{iAUC}_{6\text{h}}$ ) of plasma total TGs,  $^{13}\text{C}$ -TGs, and apoB48, respectively.

**Ex vivo gynoid WAT function technique:** Fasting WAT samples were obtained from the right hip by needle biopsy under local anesthesia (Xylocaine 20 mg/ml, AstraZeneca) and gynoid WAT function was assessed as *in situ* LPL activity as reported (17, 18, 20, 29, 30, 32, 33). Briefly, clean fresh WAT samples (2-4 pieces/well, for a total of 5–10 mg/well, with 3- 6 wells/subject) were incubated in 500  $\mu\text{l}$  of synthetic  $^3\text{H}$ -triolein-labeled TRLs ( $^3\text{H}$ -TRLs) (95% TGs, 1.27 mmol/L TGs) for 4 hours. WAT function was measured as the hydrolysis of the  $^3\text{H}$ -TRLs and the uptake and storage of released  $^3\text{H}$ -non-esterified fatty acids ( $^3\text{H}$ -NEFAs). To assess WAT function independently of LPL activity, separate sets of WAT samples were incubated with 500  $\mu\text{L}$   $^3\text{H}$ -NEFAs (1 mmol/L oleate:0.167 mmol/L BSA) for 4 hours. WAT  $^3\text{H}$ -

lipids were extracted, counted and expressed per milligram of WAT for the experiments using  $^3\text{H}$ -TRLs or  $^3\text{H}$ -NEFAs.

**Anthropometry and metabolic measurements:** Body composition was measured by dual energy X-ray Absorptiometry (iDXA, GE Healthcare, Little Chalfont, UK), plasma lipids, apoB and apoA-1 by an automated analyzer (Cobas Integra 400, Roche Diagnostic, Basel, SWE), plasma apoB48 (i.e. chylomicrons) by an ELISA kit (Biovendor LLC, Asheville, NC, USA), plasma proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) by an ELISA Kit (CircuLex, MBL International), plasma glucose by an automated analyzer (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, USA), serum insulin and C-peptide by radioimmunoassay kits (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) and LDL diameter by an automated FDA-approved system (Lipoprint, Quantimetrix, Redondo Beach, CA, USA) as reported (17-20, 29, 34). Sample analyses were conducted in a blinded manner using subject identification number.

**Separation of the subjects into groups of high and low baseline plasma apoB:** We divided the study population who underwent the principal study with complete measures of GIIS and IS during the Botnia clamp into tertiles based on baseline plasma apoB per sex, to account for sex difference in the measured parameters. Two women completed the IVGTT but not the hyperinsulinemic euglycemic clamp due to discomfort during the clamp and were excluded from this group analysis (i.e. N=57). Accordingly, each group included 9 men and 10 women. Average apoB in the high apoB group was  $1.22 \pm 0.16$  g/L (women=1.05-1.80 and men=1.04-1.34 g/L) and in the low group was  $0.69 \pm 0.16$  g/L (women=0.34-0.79 and men=0.51-0.85). Given the smaller sample size in the sub-study (N=25), subjects were divided based on median plasma apoB per sex (women=1.05 and men=0.99 g/L). Average apoB in the high apoB group was  $1.22 \pm 0.18$  g/L (N=13) and in the low apoB group was  $0.79 \pm 0.16$  g/L (N=12). Notably, average plasma apoB in the groups with low and high plasma apoB (in both the principle and substudy) were  $\leq 25\text{th}$  and  $> 75\text{th}$  percentile of a Canadian population, respectively (35).

**Statistical analyses:** Data are presented as mean  $\pm$  SD. Group differences before and after the intervention were analysed by RM 2-way ANOVA with (group x time) interaction, with correction for multiple comparisons using Bonferroni's statistical hypothesis testing. When the interaction was significant, the multiple comparisons between and within groups are reported.



The association between the examined variables was analysed by Pearson correlation per sex. When no-sex differences existed in the regression lines (in slope and elevation), data from women and men were pooled and a solid regression line was presented on the graphs. Stepwise forward regression analysis was used to predict GIIIS and IS and was adjusted for sex and absolute changes in BMI, android fat mass, and android/gynoid fat ratio. Regression analysis to predict postprandial fat metabolism and WAT function were adjusted for either sex or absolute change in BMI, change in android fat or change in android/gynoid fat ratio (given the smaller sample size in the sub-study). All regression models used baseline plasma apoB, total cholesterol, HDL-C and LDL-C as independent variables, and all models were analysed for collinearity. Statistical analyses were performed using SPSS V19, while the analyses of the AUC and the sex-differences in regression lines were performed using GraphPad Prism V7 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Significance was set at  $P < 0.05$ .

## Results

**Baseline and post-intervention changes in the risk factors for T2D:** The recruitment for this study was initiated in March 2010 and was completed in November 2013. A total of 110 subjects were screened. Eighty-two subjects met the inclusion/exclusion criteria and were enrolled (33 men and 49 women), of whom 50 completed the principle study measurements and 32 completed the principle study and the sub-study measurements. Fifteen subjects dropped out during follow-up; 8 for lack of time, 5 for personal and family reasons, 1 for not wanting to undergo the post-intervention clamp, and 1 was unreachable. Moreover, 8 subjects were excluded by the investigators (6 for developing health conditions unrelated to the intervention that required medical treatment, and 2 for having malaise following the IVGTT). One woman who accepted to participate in the sub-study did not complete the  $^{13}\text{C}$ -labeled-high-fat meal. Thus, she was excluded from the analysis of the sub-study and was analysed for the principle study parameters only (GIIS and IS). Accordingly, this analysis presents data on all primary outcomes (except systemic and WAT inflammation) examined in 59 subjects (26 men and 33 women) who completed the principal study, among whom 25 subjects (12 men and 13 women) also completed the sub-study (Supplemental Figure 1).

The anthropometry and metabolic characteristics of the study population before and after the intervention are presented in Table 1. Total energy intake decreased by an average of  $11.1 \pm 22.6\%$ , accompanied by a reduction of  $5.6 \pm 4.9\%$  in BMI,  $10.7 \pm 9.9\%$  in total fat mass, and  $15.2 \pm 13.0\%$  in the risk-associated android fat in the whole group, with no sex differences except for the reduction in android/gynoid fat ratio that was significant in men only. As anticipated, there was a large inter-subject variability in post-intervention changes in body composition assessed as weight, BMI, total, gynoid and android fat, lean body mass, and waist and hip circumferences (Supplemental Figure 2A-H), fasting plasma lipoprotein-related parameters including total, LDL and HDL cholesterol, LDL size, TG, apoB, apoA-1 and PCSK9 (Supplemental Figure 3A-H), and indices of GIIS assessed as 1st phase, 2nd phase and total insulin secretion and total C-peptide secretion (Supplemental Figure 4A-D) and clamp IS assessed as  $\text{GIR}_{\text{clamp}}$  and  $\text{M}/\text{I}_{\text{clamp}}$  (Supplemental Figure 4E and 4F). On average in men, there was a decrease in all the incidences of GIIS (1st phase, 2nd phase and total GIIS and total C-

peptide secretion) and an increase in fasting and clamp indices of IS (i.e. decreased HOMA-IR and increased  $GIR_{clamp}$ ,  $M/I_{clamp}$  and total  $AUC_{IVGTT}$  glucose). In women, who had higher baseline IS (lower insulin and HOMA-IR and higher  $GIR_{clamp}$ ) and lower GIIS (2<sup>nd</sup> phase and total) (Table 1 and previously reported (19)), only HOMA-IR, total  $AUC_{IVGTT}$  glucose, 1<sup>st</sup> phase GIIS and total C-peptide improved following the intervention (Table 1).

Data related to the sub-study examining postprandial fat metabolism and *ex vivo* gynoid WAT function (as *in situ* LPL activity using  $^3H$ -TRLs and as the uptake and storage of  $^3H$ -NEFAs) are presented in Table 1. Similar to the clamp data, there was a large inter-subject variability in these parameters in response to the dietary intervention (Supplemental Figure 4G-L). There was a significant post-intervention delay in postprandial plasma clearance of dietary  $^{13}C$ -TGs ( $iAUC_{6h}$   $^{13}C$ -TG) and an increase in postprandial plasma clearance of chylomicrons ( $iAUC_{6h}$  apoB48) with no sex differences. No other significant changes were observed including in postprandial oxidation rate of  $^{13}C$ -TG and in *ex vivo* WAT function (Table 1).

There was a sex-dependent association between the changes in body fat distribution and gynoid WAT function with the changes in the measured outcomes. In men, the increase in clamp indices of IS ( $GIR_{clamp}$  or  $M/I_{clamp}$ ) was associated with a decrease in adiposity (BMI, android fat or gynoid fat, Supplemental Figure 5, 6, and 7, E and F), but not with the change in *ex vivo* gynoid WAT function (Supplemental Figure 8, E and F), while the decrease in glucose-induced C-peptide secretion $_{IVGTT}$  was only associated with the decrease in android fat (Supplemental Figure 6D). In women, the decrease in GIIS $_{IVGTT}$  (1st phase, 2nd phase and total) was associated with an increase in gynoid WAT function (Supplemental Figure 8A, B, and C) but not with the changes in any measure of adiposity including android fat mass (Supplemental Figure 5, 6, and 7, A-C). Moreover, the increase in gynoid WAT function (Supplemental Figure 8G) was associated with a decrease in fasting plasma TGs in pooled data of men and women. The changes in adiposity or body composition were not associated with the change in gynoid WAT function (Supplemental Figures 5, 6, and 7).

Association of the baseline plasma apoB with the changes in gynoid WAT dysfunction and associated risk factors for T2D following the hypocaloric diet: We previously reported in the baseline analysis that fasting plasma apoB was positively associated with 2<sup>nd</sup> phase and total

GIIS<sub>IVGTT</sub>, total C-peptide secretion IVGTT, and iAUC<sub>6h</sub> of postprandial plasma clearance of TGs, dietary <sup>13</sup>C-TGs, and apoB48 (in women for iAUC<sub>6h</sub> apoB48). It was also negatively associated with the clamp indices of IS (GIR<sub>clamp</sub> and M/I<sub>clamp</sub>) and ex vivo WAT function (in situ LPL activity using <sup>3</sup>H-TRLs) independent of sex (except for iAUC<sub>6h</sub> apoB48) and body composition (18-20). These associations of baseline plasma apoB with the risk factors for T2D remained significant in the smaller sample who completed the principal study (Figure 1C, E, G) and the sub-study (Figure 2A, C, E, G).

As hypothesized, baseline plasma apoB was associated with post-intervention decrease in 1<sup>st</sup> phase (Figure 1B), 2<sup>nd</sup> phase (Figure 1D) and total GIIS<sub>IVGTT</sub> (Figure 1F) and increase in IS (M/I<sub>clamp</sub>, Figure 1H). Plasma apoB was also associated with the increase in gynoid WAT function (*in situ* LPL activity using <sup>3</sup>H-TRLs, Figure 2B), but not with baseline or post-intervention changes in WAT function using <sup>3</sup>H-NEFAs, strengthening our baseline conclusions that the association of plasma apoB with gynoid WAT function was LPL-dependent (17). However, despite the association of plasma apoB with all measures of delayed baseline postprandial plasma clearance of TRLs (Figure 2C-E-G), it was not associated with post-intervention changes in postprandial plasma clearance of total plasma TGs (Figure 2D) or apoB48 (Figure 2H), while it associated with an increase, not a decrease, in iAUC<sub>6h</sub> <sup>13</sup>C-TGs (Figure 2F). Exploratory analysis of the data revealed however that the post-intervention increase in iAUC<sub>6h</sub> <sup>13</sup>C-TGs was also associated with the decreases in 1<sup>st</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> in pooled data of men and women (Supplemental Figure 9A and 9C), and with the decrease in 2<sup>nd</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> in men (Supplemental Figure 9B).

Given that the post-intervention changes in the risk factors for T2D were associated with changes in BMI in a sex-dependent-manner (Supplemental Figure 5), we examined in regression analyses whether the association of baseline plasma apoB with the post-intervention changes in the risk factors for T2D were dependent on sex and changes in adiposity. We also examined whether plasma cholesterol (total, LDL and HDL) rather than apoB-lipoprotein number was a better predictor of the post-intervention changes in these risk factors. As presented in Table 2, concomitant adjustment for sex, and changes in BMI, android fat, and android/gynoid fat ratio eliminated the association of plasma apoB with the increase in IS. It also rendered baseline

plasma cholesterol the primary predictor of 1<sup>st</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub>. On the other hand, baseline plasma apoB remained the primary predictor of the reduction in 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> and the increase in gynoid WAT function (*in situ* LPL activity), whereas total cholesterol, LDL-C and HDL-C were excluded from the regression model. Furthermore, plasma apoB remained positively associated with post-intervention change in iAUC<sub>6h</sub> <sup>13</sup>C-TGs, and not associated with those of iAUC<sub>6h</sub> total TGs or apoB48.

**Differences in subjects with high versus low baseline plasma apoB:** In sub-analysis to further test our hypothesis, we evaluated the concomitant changes in gynoid WAT dysfunction and associated risk factors in subjects with high versus low baseline plasma apoB with equal composition of men and women. Despite the lack of significant differences in the baseline and post-intervention changes in body composition, baseline metabolic rate, total energy intake, macronutrient intake and alcohol consumption (Table 3), subjects with high baseline plasma apoB had a significant amelioration in Botnia indices of IS (decreased AUC<sub>IVGTT</sub> glucose) and a decrease in GIIS<sub>IVGTT</sub> (1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub>, and total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub>) as presented for the absolute changes (Table 3) and/or the percent changes (Figure 3A-D). These parameters were not significantly improved in subjects with low baseline plasma apoB. Moreover, the changes in gynoid WAT function (*in situ* LPL activity) were significantly different between subjects with high versus low plasma apoB, and only those with high plasma apoB had a significant increase in % WAT function (Table 3, Figure 3EA). However, no group differences existed in the changes in gynoid WAT function using <sup>3</sup>H-NEFAs (Table 2, Figure 4B) or in all measures of postprandial plasma clearance of TRLs (TGs, <sup>13</sup>C-TGs, apoB48) (Table 2). Notably, there were no significant differences in baseline or changes in body composition, energy intake and expenditure between the groups with low or high baseline plasma apoB examined in the principal study versus the sub-study.

## Discussion

In this study in overweight and obese men and post-menopausal women, we examined the novel hypothesis that baseline plasma apoB was associated with the amelioration in *ex vivo* gynoid WAT dysfunction and associated risk factors for T2D (hyperinsulinemia, IR, and delayed postprandial plasma clearance of TRLs) in response to a 6-month hypocaloric-diet. The major findings reported were: 1) baseline plasma apoB was associated with post-intervention improvement in *ex vivo* gynoid WAT dysfunction and with clamp IS and GIIS<sub>IVGTT</sub> with no sex differences, 2) the association of plasma apoB to post-intervention changes in GIIS<sub>IVGTT</sub> and WAT dysfunction was independent of baseline plasma cholesterol and/or the changes in adiposity or fat distribution, and 3) despite equal post-intervention changes in body composition, energy intake and expenditure, only subjects with high, not low, baseline plasma apoB had significant improvement in WAT function and GIIS<sub>IVGTT</sub>. While the increase in clamp measure of IS following hypocaloric diets was reported in previous studies, including ours (25, 36), to our knowledge, this is the 1<sup>st</sup> study that examined the effect of hypocaloric diets on GIIS<sub>IVGTT</sub> and a dynamic measure of WAT function in obese subjects. Moreover, although many of the analyses presented remain correlative in nature, this study is strengthened by the use of gold-standard techniques for the assessment of multiple major risk factors for T2D in relation to each other concomitantly in the same cohort and in both sexes.

A major aim of hypocaloric-diets is to correct cardiometabolic abnormalities that may have been induced by the accumulation of excess body fat. However, it is well accepted that WAT dysfunction more than obesity *per se* plays a central role in the pathophysiology of cardiometabolic diseases such as T2D (7, 8, 14). Indeed, we recently reported that lower gynoid WAT function, measured as lower *in situ* LPL activity, was associated with lower IS ( $M/I_{\text{clamp}}$ ) and delayed postprandial plasma clearance of chylomicrons in women in the baseline analyses of this intervention (20). Adiposity *per se* was not associated with gynoid WAT function in both sexes (20), nor was the hypocaloric-diet induced change in adiposity associated with the change in gynoid WAT function as reported here. Thus, this may further adds to the large inter-subject variability that exists in the response to hypocaloric diets, as unlike body weight, WAT function is not assessable, and is therefore not followed, in clinical practice. Having a simple clinical

index to predict the benefit of hypocaloric diets on WAT function and associated risk factors may optimize the prevention of T2D in obesity.

Work from our lab (17, 18, 20) and others (37, 38) documented that apoB-lipoproteins predict and promote adipocyte and WAT dysfunction. The negative effect of apoB-lipoproteins is induced by 2 mechanisms. The first is chronic, as the uptake of native (17) and oxidized (37, 38) LDL, the major form of apoB-lipoproteins, into preadipocytes during their differentiation reduces adipocyte differentiation and function (i.e. reduced *in situ* LPL activity). This suggests that increased LDL uptake during WAT turnover, which requires ~10 years to be completed in humans (39), may promote the generation of dysfunctional WAT (i.e. reduced LPL mass and/or activity, reduced adipogenic and/or lipogenic gene expressions and function, etc). The 2<sup>nd</sup> mechanism is acute, and may be related to the “physical” interaction of LDL with LPL, TRLs and NEFAs in the postprandial phase. LDL were reported to compete with the binding of TRLs with purified LPL (40) and to associate with NEFAs *in vitro* promoting the generation of electronegative or modified/ oxidized LDL *in vivo* (41-43). Furthermore, we reported that LDL inhibit the activity of purified and heparin-releasable LPL from adipocytes in a dose-dependent manner, as well as the hydrolysis and storage of 3H-TRLs in adipocytes and human WAT (17, 20). Collectively, this explains why baseline plasma apoB is associated with baseline *ex vivo* WAT dysfunction and associated risks (hyperinsulinemia, IR and delayed postprandial plasma clearance of TRLs) as reported for this population (17-20) and demonstrated here. Moreover, apart from WAT-related abnormalities, uptake of apoB-lipoproteins into myocytes impairs glucose-metabolism and insulin signaling (44, 45), while their uptake into pancreatic cell promotes  $\beta$ -cell apoptosis and dysfunction (46-49). Accordingly, we hypothesized here that baseline plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate WAT dysfunction and associated risk factors for T2D after a hypocaloric diet given that it identified the highest risk subjects at baseline.

Indeed, as presented in the correlation analyses (Figure 1) and separation of the study subjects based on plasma apoB (Table 3, Figure 3 and 4), high plasma apoB identified subjects with favorable responses to the hypocaloric-diet in respect to increasing *ex vivo* gynoid WAT function and IS and decreasing GIIS<sub>IVGTT</sub>. Intriguingly, the adjustment for multiple post-

intervention changes in body composition did not eliminate the association of baseline plasma apoB with the improvement in gynoid WAT dysfunction and  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$ . This suggests that intervention-related factors other than the changes in body composition promoted increased gynoid WAT function and reduced  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  in subjects with high plasma apoB. While these factors remain to be investigated, it is doubtful that improved preadipocytes differentiation was involved, as 6-month may be too short to induce measurable changes in WAT turnover, which is estimated at a rate of 10% per year (39). However, this may be related to increased WAT-specific IS and/or endocrine function, which were not evaluated in this study.

On the other hand, high baseline plasma apoB was associated with a deterioration, not an amelioration in postprandial clearance rate of  $^{13}\text{C}$ -TGs following the intervention. This may be confounded by the negative association of post-intervention changes in  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  with both baseline plasma apoB and post-intervention changes in postprandial plasma clearance of  $^{13}\text{C}$ -TGs. While it cannot be determined with certainty, WAT-IS was likely increased following the intervention, supported by an increase in systemic peripheral IS measured during the clamp. The post-intervention reduction in  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  may have hindered insulin-mediated activation of WAT-LPL activity resulting in reduced postprandial hydrolysis and clearance of dietary  $^{13}\text{C}$ -TGs in vivo. It should be noted however that the pool of dietary  $^{13}\text{C}$ -TGs represents a minor fraction of total plasma TGs, which is unlikely to offset the overall benefit of hypocaloric diets on reducing the risk factors for T2D in subjects with high plasma apoB.

Finally, it is importance to underscore that the finding of this study is limited to subjects who are free of cardiometabolic disease and not taking any lipid lowering agents. Subjects with low plasma apoB secondary to medical interventions such as statins have higher risk for T2D, which may be secondary to increased uptake of apoB-lipoproteins into peripheral tissues reducing their function as previously proposed (18, 20). In addition, it remains to be examined whether a reduction in plasma apoB in subjects with high plasma apoB would add to the beneficial effects of a hypocaloric diet on WAT dysfunction, particularly with longer interventions to allow WAT turnover. While there was no reduction in plasma apoB in this study, we reported in a recent review that hypocaloric diets that induced a weight loss of ~6-12% over 4-52 weeks reduce fasting plasma apoB in parallel with a reduction in fasting plasma



TGs (which reduce hepatic production of apoB-lipoproteins) (50). Moreover, isocaloric diets composed of 26-50% carbohydrates, 36-46% fat and 14-32% proteins (over 3-4 weeks only) have a beneficial effect on plasma apoB (50). In this study, the cardiovascular health criteria for inclusion were elevated to exclude subjects requiring hypocholesterolemic agents during the 6-month intervention, which resulted in normal baseline plasma apoB (average < 50th percentile (35)). This, together with the healthy baseline dietary composition may explain why there was little post-intervention changes in plasma apoB-lipoprotein parameters.

In conclusion, high plasma apoB identifies overweight and obese subjects who best ameliorate ex vivo WAT function (*in situ* LPL activity) and  $GIIS_{IVGTT}$  independent of sex, plasma cholesterol and changes in body composition including android fat in response to a 6-month hypocaloric diet. We propose that subjects with hyperapoB are an optimal target group for hypocaloric diets aiming at the primary prevention of T2D in an overweight and obese population.

## **Acknowledgement**

M.F. designed research; S.B., N.S.P., V.L. Y.C., R.R.L. and M.F. conducted research; S.B., N.S.P., V.L. Y.C., C.L., V.P. and M.F. analysed data; and S.B. and M.F. wrote the paper; M.F. had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript. We acknowledge the invaluable work of Drs Alexis Baass and Robert Dufour in subject screening, recruitment and medical follow-up. We also acknowledge the statistical support of Mr Miguel Chagnon, MSc (Statistical department, University of Montréal) throughout this study.

**Conflict of interest:** All authors declare no conflict of interest.

## Figure Legends

**Figure 1:** Pearson correlation of baseline plasma apoB to baseline and change in 1<sup>st</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (A and B), baseline and change in 2<sup>nd</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (C and D), baseline and change in total GIIS<sub>IVGTT</sub> (E and F), and baseline and change in IS (M/I<sub>clamp</sub>) (G and H) during the Botnia clamp (N=26 men and N=33 women, except panels G and H where N=25 men and N=31 women for missing data)

**Figure 2:** Pearson correlation of baseline plasma apoB to baseline and change in fasting *ex vivo* gynoid WAT function (A and B) and baseline and change in iAUC<sub>6h</sub> total plasma TGs (C and D), baseline and change in iAUC<sub>6h</sub> plasma <sup>13</sup>C-TGs (E and F), and baseline and change in iAUC<sub>6h</sub> plasma apoB48 (G and H) during the 6-hour postprandial measure of fat metabolism (N=12 men and N=13 women, except panel A and B where N=11 men and N=11 women, panel G and H where N=11 men and N=13 women for missing data).

**Figure 3:** Post-intervention percent changes in 1<sup>st</sup>-phase GIIS (A), 2<sup>nd</sup> phase GIIS(B), and total GIIS (C) and total glucose response (D) during the IVGTT in subjects with the lowest versus the highest tertile of fasting baseline plasma apoB in the principle study, and post-intervention percent changes in *ex vivo* gynoid WAT function measured as the hydrolysis and storage of <sup>3</sup>H-TRLs (A) and the uptake and storage of <sup>3</sup>H-NEFAs (B) in subjects below versus above the median of fasting baseline plasma apoB in the sub-study. Data is analysed by RM 2-way ANOVA (N=9 men and N=10 women per group for panels A-D. For panel E, N=6 men and N=5 women for the low and N=5 men and N=6 women for the high apoB group, and for panel F N=1 man and N=5 women for the low and N=3 men and N=6 women for the high apoB group for missing data).

**Table 1:** Baseline data, post-intervention data and absolute changes in anthropometric and metabolic parameters in men and women who completed the principal study (N=59) and the sub-study (N=25)

Principal study parameters	Men (N=26)			Women (N=33)			Time
	Baseline	Post- intervention	Change	Baseline	Post- intervention	Change	P value
<i>Anthropometric parameters</i>							
Age (years)	57.2±6.5	57.8±6.6	0.6±0.5	58.9±6.1	59.6±6.2	0.7±0.5	<0.001
Weight (kg)	101.6±20.5	96.4±20.9	-5.2±5.0	81.2±11.8 <sup>###</sup>	76.7±11.3 <sup>###</sup>	-4.6±4.2	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.4±5.5	31.7±5.7	-1.7±1.6	31.9±3.8	30.1±3.8	-1.79±1.52	<0.001
Waist circumference (cm)	115.1±13.5	110.2±14.1	-4.9±5.8	101.4±10.5 <sup>###</sup>	98.4±11.3 <sup>###</sup>	-3.0±6.1	<0.001
Hip circumference (cm)	110.0±10.6	108±11	-2.4±3.3	112.3±8.2	108.0±9.3	-4.3±5.4	<0.001
Fat mass (kg)	37.0±13.9	33.0±14.3	-4.0±4.5	36.7±8.3	33.0±8.1	-3.7±3.6	<0.001
Lean body mass (kg)	60.9±8.2	60.2±8.7	-0.6±1.8	41.6±4.7 <sup>###</sup>	41.0±4.4 <sup>###</sup>	-0.5±1.2	0.004
Android fat mass (g)	4424±1694	3761±1697	-664±668	3374±967 <sup>###</sup>	2891±991 <sup>###</sup>	-483±422	<0.001
Gynoid fat mass (g)	4920±1985	4399±1858	-521±576	6220±1329 <sup>###</sup>	5491±1349 <sup>###</sup>	-729±692	<0.001
Android/gynoid (g/g)	0.92±0.19	0.87±0.17	<b>-0.06±0.07<sup>SSS</sup></b>	0.55±0.12 <sup>###</sup>	0.53±0.12 <sup>###</sup>	-0.02±0.04	<0.001
Basal metabolic rate (kcal/d)	1633±287	1612±196	-20.9±312	1259±126 <sup>###</sup>	1236±220 <sup>###</sup>	-23.9±199	0.51
Energy intake (kcal) <sup>1</sup>	2527±497	2191±638	-337±615	1798±523 <sup>###</sup>	1568±436 <sup>###</sup>	-230±446	<0.001
Fat intake (% kcal) <sup>1</sup>	34.4±6.0	31.1±7.7	-3.3±7.7	34.1±6.9	29.2±6.8	-4.9±5.6	<0.001
Carbohydrate intake (% kcal) <sup>1</sup>	45.5±8.2	47.6±8.6	2.1±7.8	46.3±6.0	48.9±4.8	2.6±5.2	0.010

Protein intake (% kcal) <sup>1</sup>	17.0±3.5	18.8±3.4	1.8±4.5	17.1±2.7	19.5±3.4	2.5±3.4	<0.001
Alcohol (% kcal) <sup>1</sup>	3.17±4.28	2.52±4.16	-0.15±1.71	2.51±3.99	2.36±3.84	-0.65±2.55	0.17
<i>Fasting parameters</i>							
Systolic blood pressure (mm Hg)	131±13	128±14	-1±11	119±18 <sup>#</sup>	119±17 <sup>#</sup>	0±11	0.77
Diastolic blood pressure (mm Hg)	82±8	81±8	-1±6	75±10 <sup>#</sup>	75±9 <sup>#</sup>	0±6	0.64
Plasma apoB (g/L)	0.96±0.22	0.97±0.27	0.00±0.18	0.92±0.28	0.95±0.30	0.03±0.15	0.43
Plasma cholesterol (mmol/L)	4.90±0.97	4.65±1.00	-0.26±0.69	5.60±1.12 <sup>###</sup>	5.57±1.19 <sup>###</sup>	-0.03±0.55	0.08
Plasma non-HDL-C (mmol/L)	3.87±1.00	3.55±0.97	-0.31±0.69	4.05±1.20	3.94±1.26	-0.11±0.49	0.008
Plasma LDL-C (mmol/L)	2.75±0.56	2.73±0.78	-0.02±0.57	3.33±0.95 <sup>###</sup>	3.33±1.03 <sup>###</sup>	0.00±0.45	0.87
Plasma HDL-C (mmol/L)	1.04±0.20	1.09±0.21	0.06±0.14	1.55±0.48 <sup>###</sup>	1.63±0.46 <sup>###</sup>	0.08±0.18	0.002
Plasma TGs (mmol/L)	2.45±1.79	1.97±2.04	-0.48±2.03	1.59±0.97 <sup>#</sup>	1.34±0.87 <sup>#</sup>	-0.24±0.48	0.06
Plasma NEFA (mmol/L)	0.40±0.12	0.40±0.16	0.00±0.16	0.50±0.18 <sup>###</sup>	0.55±0.17 <sup>###</sup>	0.05±0.18	0.32
Plasma ApoA-I (g/L)	1.39±0.19	1.41±0.19	0.02±0.19	1.67±0.29 <sup>###</sup>	1.72±0.28 <sup>###</sup>	0.05±0.20	0.17
Plasma PCSK9 (ng/mL)	251±71	240±81	-11±81	340±131 <sup>###</sup>	329±139 <sup>###</sup>	-11±133	0.47
Mean LDL size (Å)	266±7	267±7	1±5	269±5 <sup>###</sup>	271±4 <sup>###</sup>	2±5	0.029
Plasma glucose (mmol/L)	5.30±0.49	5.22±0.43	-0.08±0.46	5.05±0.43 <sup>###</sup>	4.86±0.46 <sup>###</sup>	-0.18±0.34	0.015
Plasma insulin (μU/mL)	23.1±12.0	16.0±6.3	<b>-7.1±9.0<sup>S</sup></b>	<b>17.9±5.6*</b>	15.1±8.0	-2.8±5.4	<0.001
Plasma C-peptide (ng/ml)	2.60±0.90	2.21±1.00	-0.39±0.72	2.16±0.76	1.94±1.43	-0.22±1.12	0.021
HOMA-IR (mmol/L) x (μU/mL)	5.45±2.89	3.71±1.42	<b>-1.74±2.19<sup>S</sup></b>	<b>4.03±1.35*</b>	3.32±2.00	<b>-0.71±1.33<sup>S</sup></b>	<0.001

<i>Botnia clamp data</i>							
1 <sup>st</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (μU/mL)	1158±961	926±745	-232±512	825±470	669±347	-156±214	<0.001
2 <sup>nd</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (μU/mL)	4389±3713	2977±3109	<b>-1412±1583<sup>S</sup></b>	<b>2698±1555*</b>	2291±1481	-408±723	<0.001
Total GIIS <sub>IVGTT</sub> (μU/mL)	5547±4509	3903±3664	<b>-1644±1960<sup>S</sup></b>	<b>3523±1937*</b>	2959±1758	-564±856	<0.001
Total C-peptide <sub>IVGTT</sub> (ng/mL)	351±160	284±100	-67±134	305±116	242±104	-64±78	<0.001
Total AUC <sub>IVGTT</sub> glucose (mmol/L)	664±68	634±62	-30±49	647±86	637±66	-10±73	<0.001
IS (GIR <sub>clamp</sub> mg/kg*min) <sup>2</sup>	9.76±3.39	12.21±4.49	<b>2.45±3.53<sup>S</sup></b>	<b>12.75±3.95**</b>	12.36±3.29	<b>-0.39±2.16**</b>	<0.001
IS (M/I <sub>clamp</sub> (mg/kg*min)/(μU/ml)) <sup>3</sup>	0.040±0.020	0.062±0.028	<b>0.02±0.02<sup>S</sup></b>	0.053±0.028	0.052±0.021	<b>0.00±0.02***</b>	<0.001
<b>Sub-study parameters</b>	<b>Men (N=12)</b>			<b>Women (N=13)</b>			
	Baseline	Post-intervention	Change	Baseline	Post-intervention	Change	Time <i>P</i> value
Fasting plasma TGs (mmol/L)	1.65±0.79	1.50±0.86	-0.15±0.43	1.61±1.06	1.33±0.76	-0.28±0.61	0.05
Fasting plasma apoB48 (mg/L) <sup>4</sup>	7.84±4.14	5.28±3.37	-4.83±8.14	7.45±4.74	7.28±5.58	-0.17±5.37	0.13
iAUC <sub>6h</sub> TGs (mmol/L)	5.73±2.04	6.19±3.45	0.46±2.53	6.97±4.27	6.44±4.53	-0.53±1.32	0.92
iAUC <sub>6h</sub> <sup>13</sup> C-TGs (μmol/L)	373±188	495±368	121±267	373±274	525±410	152±205	0.008
% <sup>13</sup> C recovered in breath	6.24±2.27	6.11±3.15	-0.13±1.94	6.51±2.14	6.20±1.57	-0.31±1.53	0.60
iAUC <sub>6h</sub> apoB48 (mg/L) <sup>4</sup>	46.8±16.2	12.9±12.3	-28.7±22.5	39.2±20.4	27.6±20.1	-11.6±24.4	<0.001

Gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H lipids) (nmol <sup>3</sup> H-TGs hydrolyzed/ mg) <sup>5</sup>	4.98±3.90	3.89±3.37	-1.09±4.38	3.64±1.86	4.25±2.94	0.62±3.14	0.78
Gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H lipids) (nmol <sup>3</sup> H-NEFAs uptake/ mg) <sup>6</sup>	3.97±3.17	6.97±7.70	3.00±9.40	4.39±2.03	5.00±3.03	0.61±3.60	0.28

Data are presented as average ± SD. Statistical analysis conducted using RM 2-way ANOVA, *P* value in table for the time-effect, # *p*<0.05, ## *p*<0.01, ### *p*<0.001 for group-effect. When the group x time interaction was significant, \* *p*<0.05, \*\* *p*<0.01, \*\*\* *p*<0.01 for difference from men, and § *p*<0.001 for difference from baseline (data in bold). <sup>1</sup> for N=25 men and N=30 women, <sup>2</sup> for N=31 women, <sup>3</sup> for N=25 men and N=31 women, <sup>4</sup> for N=11 men, <sup>5</sup> for N=11 men and N=11 women, and <sup>6</sup> for N=4 men and N=11 women for missing data.

**Table 2:** Prediction of post-intervention changes in the risk factors for T2D following the hypocaloric-diet by baseline plasma lipoprotein-related parameters.

<b>Dependent variable</b>	<b>Steps</b>	<b>Independent variables</b>	<b>Constant</b>	<b>Coefficients</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P value</b>
Change in IS ( $GIR_{clamp}$ ) <sup>1</sup>			0.71			0.289
		Model 1		-16.29	0.41	0.043
Change in IS ( $M/I_{clamp}$ ) <sup>2</sup>			0.01			0.029
		Model 1		-0.13	0.36	0.002
Change in 1 <sup>st</sup> phase $GIIS_{IVGTT}$			324.72			0.171
		Model 1		-2074.33	0.13	0.057
	1	Total cholesterol		-105.76	0.21	0.015
Change in 2 <sup>nd</sup> phase $GIIS_{IVGTT}$			236.31			0.698
		Model 1		-7147.56	0.27	0.034
	1	ApoB		-1503.87	0.36	0.010
Change in total $GIIS_{IVGTT}$			446.31			0.545
		Model 1		-9391.34	0.25	0.022
	1	ApoB		-1930.13	0.35	0.006
Change in total C-peptide secretion <sub>IVGTT</sub>			-16.21			0.532
		Model 1		307.70	0.19	0.313
Change in gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H-lipids from <sup>3</sup> H-TRLs) <sup>3</sup>			-9.54			0.002
	1	Sex		1.29	0.05	0.335
Change in gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H-lipids from <sup>3</sup> H-TRLs) <sup>3</sup>			-8.31			0.005
	1	ApoB		8.51	0.43	0.002
Change in gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H-lipids from <sup>3</sup> H-TRLs) <sup>3</sup>			-8.31			0.005
		Change in BMI		0.42	0.03	0.288
	1	ApoB		8.78	0.43	0.002
Change in gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H-lipids from <sup>3</sup> H-TRLs) <sup>3</sup>			-7.95			0.006
		Change in android fat		0.00	0.07	0.155
	1	ApoB		8.66	0.46	0.002
Change in gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H-lipids from <sup>3</sup> H-TRLs) <sup>3</sup>			-8.80			0.004
		Change in android/gynoid fat		4.49	0.02	0.710



	1	ApoB	8.64	0.40	0.002
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma TGs			0.46		0.431
		Sex	-0.99	0.06	0.226
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma TGs			0.35		0.594
		Change in BMI	0.20	0.03	0.429
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma TGs			0.03		0.967
		Change in android fat	0.00	0.00	0.867
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma TGs			0.9		0.869
		Change in android/gynoid fat	2.70	0.01	0.689
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma <sup>13</sup> C-TGs			-232.71		0.204
		Sex	26.33	0.00	0.768
	1	ApoB	349.85	0.18	0.044
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma <sup>13</sup> C-TGs			-213.34		0.246
		Change in BMI	3.92	0.00	0.887
	1	ApoB	351.96	0.17	0.043
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma <sup>13</sup> C-TGs			-203.91		0.214
		Change in android fat	-0.05	0.01	0.498
	1	LDL-C	92.86	0.19	0.041
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma <sup>13</sup> C-TGs			-215.91		0.234
		Change in android/gynoid fat	84.12	0.00	0.908
		ApoB	351.28	0.17	0.044
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma apoB48 <sup>4</sup>			-28.66		0.000
		Sex	17.08	0.13	0.082
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma apoB48 <sup>4</sup>			-11.32		0.153
		Change in BMI	4.25	0.08	0.168
Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma apoB48 <sup>4</sup>			-15.40		0.057
		Change in android fat	0.01	0.02	0.462
			-14.86		0.032

Change in iAUC <sub>6h</sub> plasma apoB <sup>4</sup>	Change in android/gynoid fat	90.85	0.05	0.264
---	------------------------------	-------	------	-------

---

Independent variables entered in stepwise forward regression analyses were baseline fasting plasma apoB, total cholesterol, LDL-C, and HDL-C. Analysis to predict changes in GIR<sub>clamp</sub>, M/I<sub>clamp</sub>, and 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> and total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> were adjusted for sex and post-intervention changes in BMI, android fat, and android/gynoid fat ratio (Model 1) (N=26 men and N=33 except for <sup>1</sup> for N=31 women, and <sup>2</sup> for N=25 men and N=31 women for missing data). Analyses to predict changes the in gynoid WAT function and iAUC<sub>6h</sub> TGs, <sup>13</sup>C-TGs and apoB48 were adjusted for sex or post-intervention changes in BMI or android fat or android/gynoid fat ratio (N=12 men and N=13 women except <sup>3</sup> for N=11 men and 11 women, <sup>4</sup> for N=11 men for missing data).

**Table 3.** Baseline data, post-intervention data, and absolute changes in anthropometric and metabolic parameters in subjects with low versus high baseline plasma apoB separated based on tertiles plasma apoB in the principal study, and based on median plasma apoB in the sub-study

Principal study parameters	Low baseline plasma apoB (N=19)			High baseline plasma apoB (N=19)			P value
	Baseline	Post-intervention	Change	Baseline	Post-intervention	Change	
Plasma apoB (g/L)	0.69±0.13	0.71±0.21	0.02±0.15	1.22±0.16 <sup>###</sup>	1.19±0.26 <sup>###</sup>	-0.03±0.20	0.99
<i>Anthropometric parameters</i>							
Age (years)	58.0±5.3	59.0±5.2	0.7±0.5	58.9±5.6	59.7±5.8	0.8±0.4	<0.001
Weight (kg)	91.6±14.4	86.3±12.1	-5.3±4.4	90.3±19.3	84.0±17.9	-6.3±5.2	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.4±3.9	31.5±3.6	-1.9±1.5	32.3±4.0	30.0±3.5	-2.3±1.8	<0.001
Waist circumference (cm)	109.5±13.0	104.7±10.5	-4.9±6.6	107.3±12.9	103.2±12.5	-4.1±5.8	<0.001
Hip circumference (cm)	112.2±8.1	109.4±8.4	-2.9±4.1	110.6±10.6	106.6±8.9	-3.9±4.3	<0.001
Total fat mass (kg)	37.2±9.7	32.7±8.8	-4.4±4.1	37.3±10.1	32.2±8.8	-5.1±3.8	<0.001
Lean body mass (kg)	51.0±11.6	50.7±11.7	-0.2±11.5	49.9±12.1	48.8±11.5	-1.1±1.5	<0.001
Android fat mass (g)	3820±1191	3158±973	-662±670	3978±1309	3238±1168	-740±460	<0.001
Gynoid fat mass (g)	5816±1890	5097±1750	-719±722	5625±1771	4798±1468	-827±730	<0.001
Android/gynoid (g/g)	0.70±0.23	0.66±0.20	-0.04±0.07	0.75±0.29	0.70±0.26	-0.05±0.05	<0.001
Basal metabolic rate (kcal/d)	1457±278	1426±282	-41±193	1442±263	1416±294	-26±258	0.37
Energy intake (kcal) <sup>1</sup>	2121±585	1817±662	-304±339	2155±647	2006±604	-150±617	<0.001
Fat intake (% kcal) <sup>1</sup>	35.0±6.6	30.6±7.6	-4.4±5.6	35.7±4.7	30.8±7.2	-5.0±6.3	<0.001

Carbohydrate intake (% kcal) <sup>1</sup>	45.2±7.9	48.6±8.1	3.4±5.8	44.3±5.8	46.5±6.1	2.2±6.3	0.009
Protein intake (% kcal) <sup>1</sup>	16.9±3.2	18.4±4.2	1.4±4.6	17.0±3.0	19.8±3.3	2.9±4.1	0.006
Alcohol intake (% kcal) <sup>1</sup>	2.86 4.16	2.47 4.62	-4.7±49.8	2.97 4.35	2.85 3.82	34.9±100.4	>0.99
<i><u>Fasting parameters</u></i>							
Systolic blood pressure (mm Hg)	121±20	119±19	-2.3±8.2	124±15	124±14	0.3±12.3	0.44
Diastolic blood pressure (mm Hg)	75±11	74±9	-1.3±5.7	79±8	79±8	0.0±6.0	0.52
Plasma cholesterol (mmol/L)	4.47±0.62	4.37±1.02	-0.10±0.65	6.29±1.05 <sup>###</sup>	5.90±1.21 <sup>###</sup>	-0.39±0.68	<0.001
Plasma non-HDL-C (mmol/L)	3.04±0.60	2.86±0.85	-0.18±0.56	5.01±1.04 <sup>###</sup>	4.55±1.10 <sup>###</sup>	-0.45±0.66	<0.001
Plasma LDL-C (mmol/L)	2.44±0.53	2.45±0.72	0.01±0.45	3.77±0.74 <sup>###</sup>	3.76±0.94 <sup>###</sup>	-0.01±0.61	0.96
Plasma HDL-C (mmol/L)	1.43±0.60	1.51±0.57	0.08±0.17	1.28±0.41	1.35±0.41	0.07±0.15	0.007
Plasma TGs (mmol/L)	1.32±0.72	0.91±0.40	-0.41±0.58	2.70±1.95 <sup>###</sup>	1.74±0.85 <sup>###</sup>	-0.96±1.74	0.003
Plasma NEFAs (mmol/L)	0.47±0.21	0.49±0.22	0.02±0.16	0.49±0.13	0.47±0.16	-0.02±0.12	0.94
Plasma ApoA-I (g/L)	1.53±0.31	1.59±0.35	0.07±0.22	1.56±0.31	1.56±0.26	0.00±0.19	0.30
Plasma PCSK9 (ng/mL)	262±64	246±59	-16±69	314±118	290±93	-24±107	0.18
Mean LDL size (Å°)	270±4	272±3	1.6±4.0	265±8 <sup>#</sup>	267±7 <sup>#</sup>	2.0±6.2	0.039
Plasma glucose (mmol/L)	5.2±0.4	5.1±0.5	-0.03±0.32	5.3±0.6	5.0±0.4	-0.26±0.41	0.025
Plasma insulin (µU/mL)	18.7±7.0	15.6±3.7	-3.1±7.1	21.0±8.0	15.3±7.1	-5.7±6.9	<0.001
Plasma C-peptide (ng/mL)	289±123	243±108	-0.3±0.6	371±143	272±107	-0.4±1.5	0.06
HOMA-IR (mmol/Lol/L) x (µU/mL)	4.3±1.7	3.5±0.8	-0.8±1.5	4.9±1.9	3.5±1.9	-1.4±1.7	0.001

*Botnia Clamp parameters*

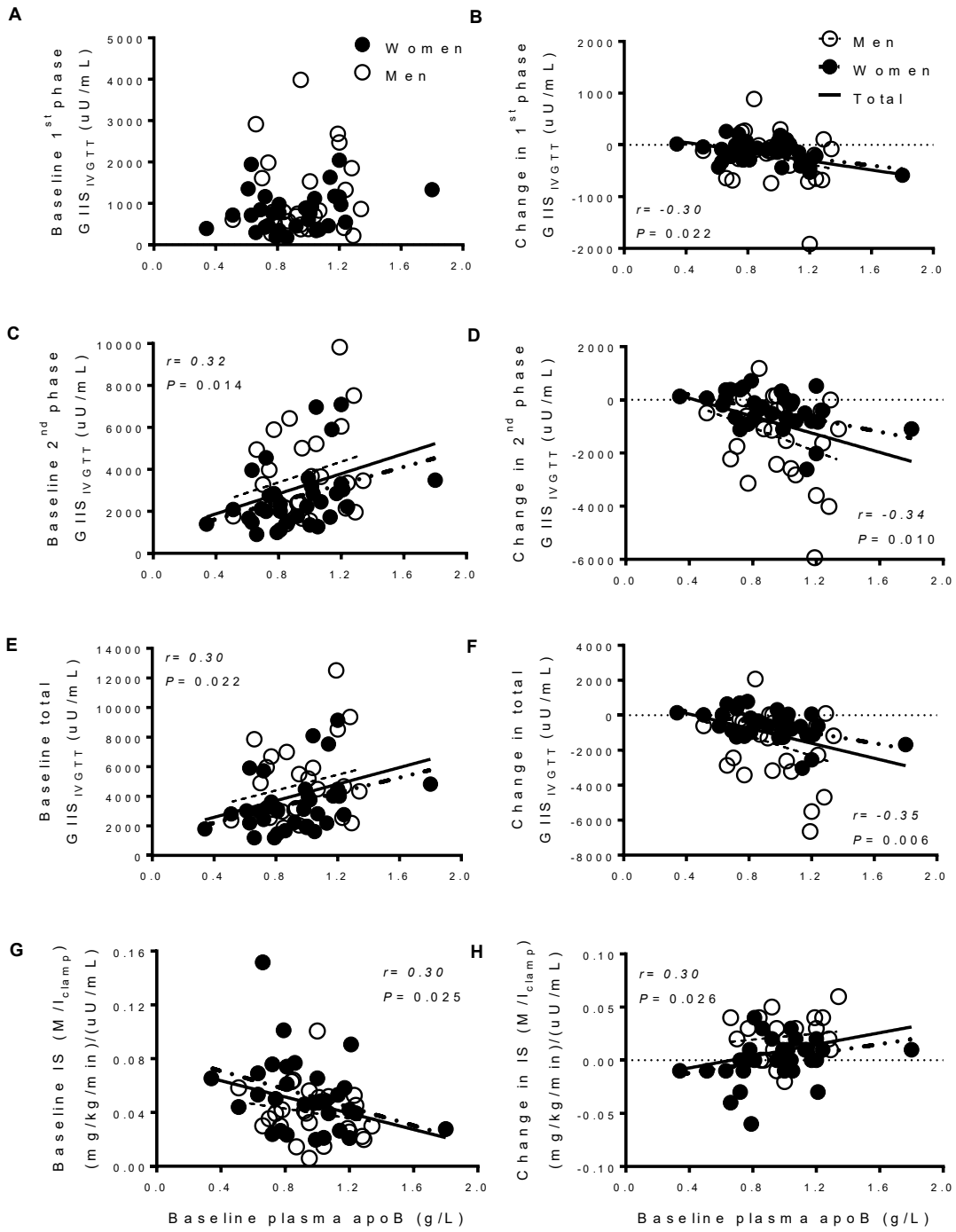
1 <sup>st</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (μU/mL)	898±720	847±563	-51±355	1125±731	738±461	-387±451	<0.001
2 <sup>nd</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (μU/mL)	2698±1405	2301±980	-396±1078	4029±2296*	2414±1493	<b>-1615±1635<sup>S*</sup></b>	<0.001
Total GIIS <sub>IVGTT</sub> (μU/mL)	3596±1972	3149±1425	-448±1332	5154±2963	3153±1875	<b>-2001±1927<sup>S</sup></b>	<0.001
Total C-peptide secretion <sub>IVGTT</sub> (ng/mL)	289±123	243±108	-46±107	374±139	275±105	-100±80	<0.001
Total AUC <sub>IVGTT</sub> glucose (mmol/L)	657±78	653±55	-4±72	669±78	626±65	-43±50	0.050
IS (GIR <sub>Clamp</sub> mg/kg*min)	12.25±3.47	13.3±4.4	1.1±4.2	9.70±3.35 <sup>#</sup>	11.5±3.1 <sup>#</sup>	1.8±2.4	0.014
IS (M/I <sub>Clamp</sub> (mg/kg*min) /(μU/mL)) <sup>2</sup>	0.057±0.03 1	0.059±0.029	0.002±0.031	0.039±0.018	0.055±0.019	0.016±0.020	0.042

Sub-study parameters	Low baseline plasma apoB (N=12)			High baseline plasma apoB (N=13)			P value
	Baseline	Post-intervention	Changes	Baseline	Post-intervention	Changes	
Fasting plasma apoB (g/L)	0.79±0.16	0.90±0.17	0.10±0.18	1.22±0.18 <sup>###</sup>	1.23±0.37 <sup>###</sup>	0.01±0.21	0.16
Fasting plasma TGs (mmol/L)	1.20±0.59	1.11±0.57	-0.09±0.40	2.03±1.01 <sup>#</sup>	1.69±0.89 <sup>#</sup>	-0.34±0.61	0.05
Fasting plasma apoB48 (mg/L)	5.91±3.47	5.50±4.45	-0.41±4.89	9.35±4.65	7.22±5.00	-4.25±8.45	0.17
iAUC <sub>6h</sub> TGs (mmol/L)	5.76±2.95	5.67±3.66	-0.09±2.01	6.94±3.75	6.91±4.30	-0.03±2.10	<0.001
AUC <sub>6h</sub> <sup>13</sup> C-TGs (μmol/L)	327±231	443±324	134±229	434±239	573±434	140±244	0.008
% <sup>13</sup> C recovered in breath	6.74±2.45	5.93±2.01	-0.81±1.75	6.04±1.89	6.36±2.78	0.32±1.53	0.46
iAUC <sub>6h</sub> apoB48 (mg/L)	38.3±21.9	19.9±14.2	-18.5±21.8	47.0±14.3	21.8±22.8	-21.0±27.8	<0.001

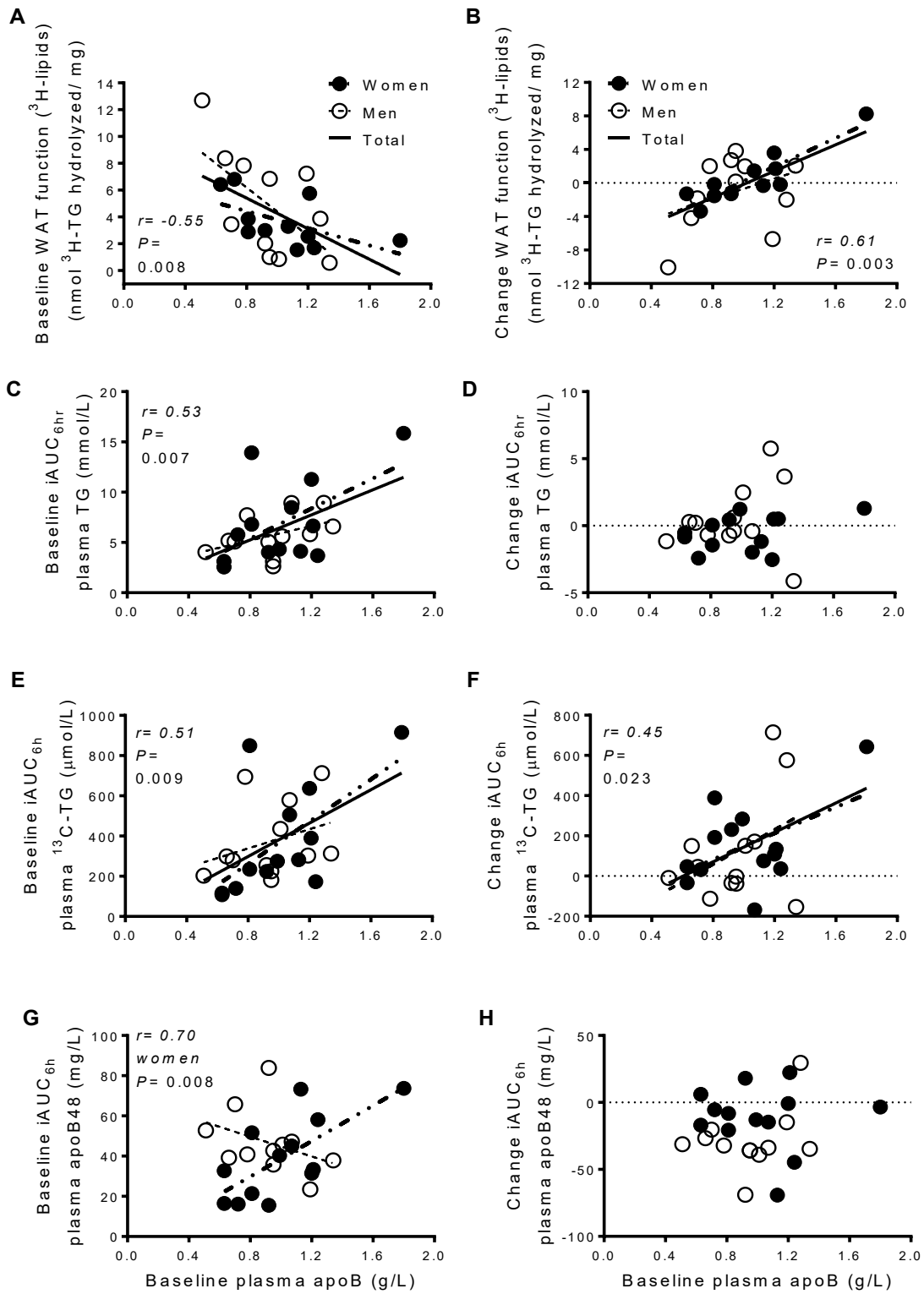
Gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H lipids) (nmol <sup>3</sup> H-TGs hydrolyzed/ mg) <sup>3</sup>	5.87±3.19	3.53±2.56	-2.34±3.68	2.75±2.04	4.61±3.59	<b>1.86±2.73**</b>	0.73
Gynoid WAT function ( <sup>3</sup> H lipids) (nmol <sup>3</sup> H-NEFAs uptake/ mg) <sup>4</sup>	4.37±1.73	7.81±6.10	3.5±7.2	4.21±2.66	3.99±2.30	-0.2±3.6	0.27

Data are presented as average ± SD. Statistical analysis conducted using RM 2-way ANOVA, *P* value in table is for the time-effect, # *p*<0.05, ## *p*<0.01, ### *p*<0.001 for group-effect. When the group x time interaction was significant, \* *p*<0.05, \*\* *p*<0.01 for difference from low apoB group, and <sup>§</sup> *p*<0.001 for difference from baseline (data in bold). For the principle study parameters, N=9 men and N=10 women per group except <sup>1</sup> for N=8 men and N=9 women in the high apoB group and <sup>2</sup> for N=8 men in the low apoB group for missing data. For the sub-study parameters, N=6 women and N=6 men for the low apoB group and N=7 women and N=6 men for the high apoB group except <sup>3</sup> for N=5 women for the low apoB group and N=6 women and N=5 men for the high apoB group, <sup>4</sup> for N=5 women and N=1 man for the low apoB group and N=6 women and N=3 men for the high apoB groups for missing data.

**Figure 1:**

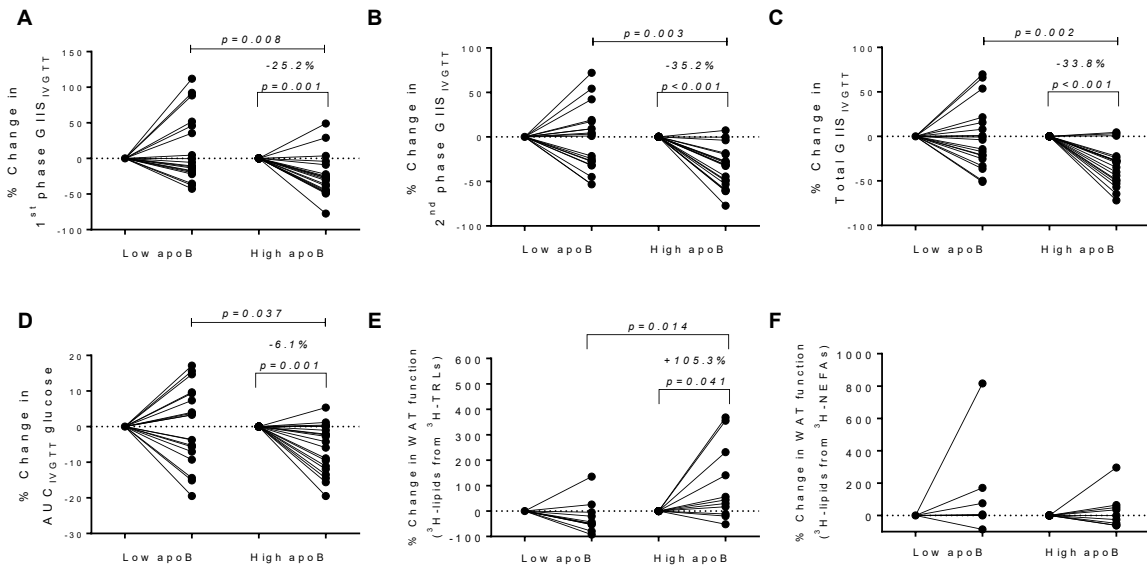


**Figure 2:**





**Figure 3:**



## References

1. Seuring T, Archangelidi O, and Suhrcke M. The Economic Costs of Type 2 Diabetes: A Global Systematic Review. *Pharmacoeconomics* 2015; 33: 811-31.
2. (NCD-RisC) NRFC. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4·4 million participants. *Lancet* 2016; 387: 1513-30.
3. Lee DS, Chiu M, Manuel DG, Tu K, Wang X, Austin PC, Mattern MY, Mitiku TF, Svenson LW, Putnam W, et al. Trends in risk factors for cardiovascular disease in Canada: temporal, socio-demographic and geographic factors. *Can Med Assoc J* 2009; 181: E55-E66.
4. Jermendy G. Can type 2 diabetes mellitus be considered preventable? *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 68: S73-S81.
5. Group DPPR. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl j Med* 2002; 2002: 393-403.
6. Dunkley AJ, Bodicoat DH, Greaves CJ, Russell C, Yates T, Davies MJ, and Khunti K. Diabetes Prevention in the Real World: Effectiveness of Pragmatic Lifestyle Interventions for the Prevention of Type 2 Diabetes and of the Impact of Adherence to Guideline Recommendations A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care* 2014; 37: 922-33.
7. Faraj M, Lu HL, and Cianflone K. Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. *Biochem Cell Biol* 2004; 82: 170-90.
8. Gastaldelli A, Gaggini M, and DeFronzo RA. Role of Adipose Tissue Insulin Resistance in the Natural History of T2DM: Results from the San Antonio Metabolism Study. *Diabetes* 2017:
9. Faraj M, Jones P, Sniderman AD, and Cianflone K. Enhanced dietary fat clearance in post-obese women. *J Lipid Res* 2001; 42: 571-80.
10. Evans K, Burdge GC, Wootton SA, Clark ML, and Frayn KN. Regulation of dietary fatty acid entrapment in subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle. *Diabetes* 2002; 51: 2684-90.
11. Lemieux I, Poirier P, Bergeron J, Almeras N, Lamarche B, Cantin B, Dagenais GR, and JP D. Hypertriglyceridemic waist: a useful screening phenotype in preventive cardiology? *Can J Cardiol* 2007; 23: 23B-31B.

12. Carpentier A, Mittelman SD, Bergman RN, Giacca A, and Lewis GF. Acute enhancement of insulin secretion by FFA in humans is lost with prolonged FFA elevation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1999; 276: E1055-E66.
13. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, and Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23: 201-29.
14. Stumvoll M, Goldstein B, and Van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet* 2005; 365: 1333-46.
15. Ginsberg HN, Zhang Y, and Hernandez-Ono A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Intern Med* 2005; 36: 232-340.
16. Faraj M, Messier L, Bastard JP, Tardif A, Godbout A, Prud'homme D, and Rabasa-Lhoret R. Apolipoprotein B: a predictor of inflammatory status in postmenopausal overweight and obese women. *Diabetologia* 2006; 49: 1637-46.
17. Bissonnette S, Salem H, Wassef H, Saint-Pierre N, Tardif A, Baass A, Dufour R, and Faraj M. Low density lipoprotein delays clearance of triglyceride-rich lipoprotein by human subcutaneous adipose tissue. *J Lipid Res* 2013; 54: 1466-76.
18. Wassef H, Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Cyr Y, Chretien M, and Faraj M. The apoB/ PCSK9 ratio: a new index for metabolic risk in humans. *J Clin Lipidol* 2015; 9: 664-75.
19. Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Cyr Y, Wassef H, and Faraj M. Plasma IL-1Ra: linking hyperapoB to risk factors for type 2 diabetes independent of obesity in humans. *Nutr Diabetes* 2015; 5: e180.
20. Lamantia V, Bissonnette S, Wassef H, Cyr Y, Baass A, Dufour R, Rabasa-Lhoret R, and Faraj M. ApoB-lipoproteins and dysfunctional white adipose tissue; Relation to risk factors for type 2 diabetes in humans. *J Clin Lipidol* 2017; 11: 34-45.
21. Onat A, Can G, Hergenc G, Yazici M, Karabulut A, and Albayrak S. Serum apolipoprotein B predicts dyslipidemia, metabolic syndrome and, in women, hypertension and diabetes, independent of markers of central obesity and inflammation. *Int J Obes* 2007; 31: 1119-25.
22. Ley SH, Harris SB, Connelly PW, Mamakeesick M, Gittelsohn J, Wolever TM, Hegele RA, Zinman B, and Hanley AJ. Association of Apolipoprotein B with Incident Type 2 Diabetes in an Aboriginal Canadian Population. *Clin Chem* 2010; 56: 666-70.

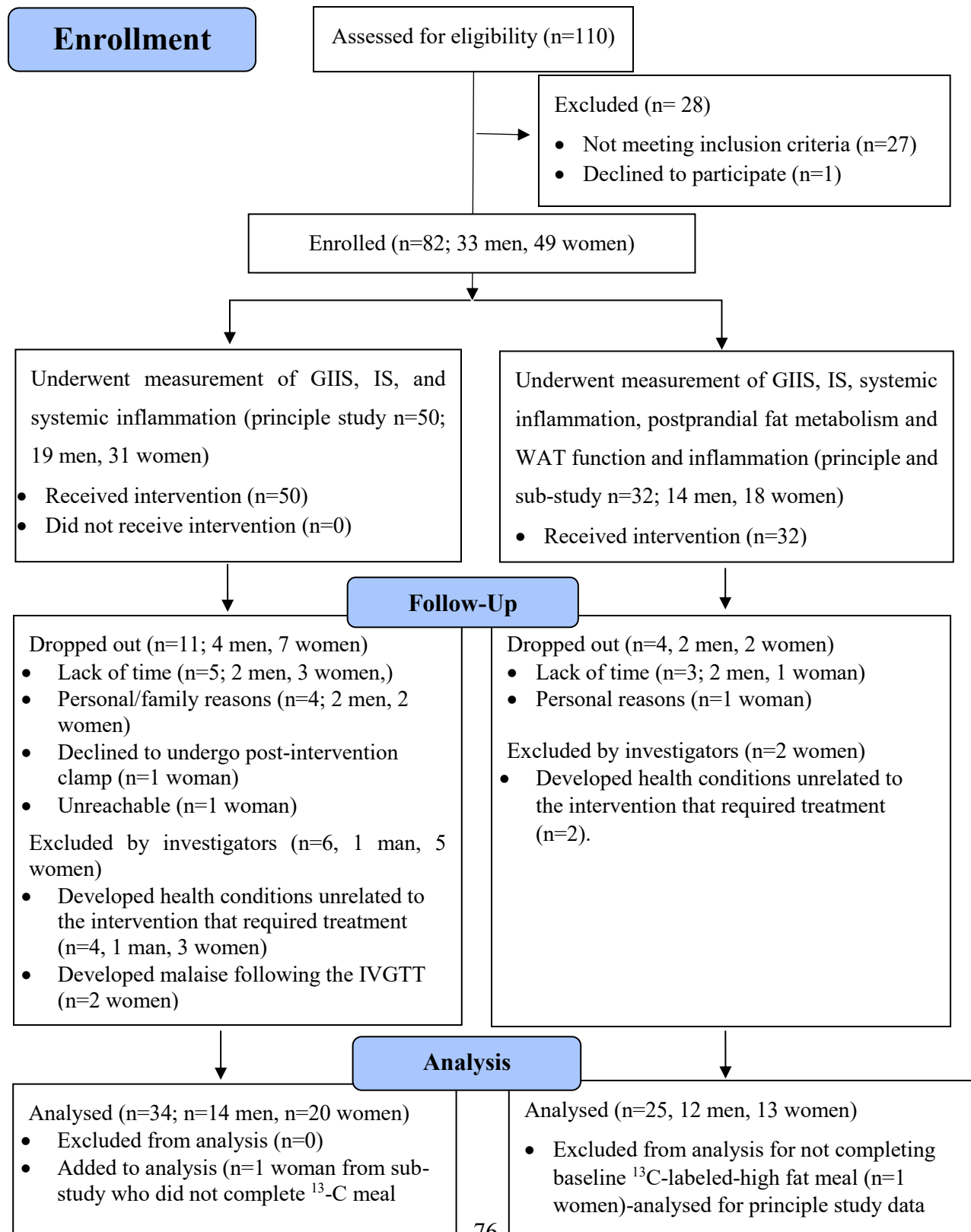
23. Salomaa V, Havulinna A, Saarela O, Zeller T, Jousilahti P, Jula A, Muenzel T, Aromaa A, Evans A, Kuulasmaa K, et al. Thirty-One Novel Biomarkers as Predictors for Clinically Incident Diabetes. *PLoS One* 2010; 5: e10100.
24. Hwang YC, Ahn HY, Park SW, and Park CY. Apolipoprotein B and non-HDL cholesterol are more powerful predictors for incident type 2 diabetes than fasting glucose or glycated hemoglobin in subjects with normal glucose tolerance: a 3.3-year retrospective longitudinal study. *Acta Biologica* 2014: 1-6.
25. Faraj M, Lavoie M-E, Messier L, Bastard JP, and Prud'homme D. Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in post-menopausal women: A MONET study. *Atherosclerosis* 2010; 211: 682-8.
26. Health Canada. Dietary Reference Intakes. 2006; Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy-eating/dietary-reference-intakes/tables/reference-values-macronutrients-dietary-reference-intakes-tables-2005.html>.
27. Tripathy D, Wessman Y, Gullstrom M, Tuomi T, and Groop L. Importance of Obtaining Independent Measures of Insulin Secretion and Insulin Sensitivity During the Same Test: Results with the Botnia clamp. *Diabetes Care* 2003; 26: 1395-401.
28. Bastard JP, Vandernotte JM, Faraj M, Karelis AD, Messier L, Malita FM, Garrel D, Prud'homme D, and Rabasa-Lhoret R. Relationship between the hyperinsulinemic-euglycaemic clamp and a new simple index assessing insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *Diabetes Metab* 2007; 33: 261-8.
29. Wassef H, Salem H, Bissonnette S, Baass A, Dufour R, Davignon J, and Faraj M. White adipose tissue-apoC-I secretion; relation to delayed plasma clearance of dietary fat in humans. *Arterioscler Throm Vasc Biol* 2012; 32: 2785-93.
30. Cyr Y, Wassef H, Bissonnette S, Lamantia V, Davignon J, and Faraj M. White adipose tissue apoC-I secretion; role in delayed chylomicron clearance in vivo and ex vivo in white adipose tissue in obese subjects *J Lipid Res* 2016; 57: 1074-85.
31. Wassef H, Bissonnette S, Dufour R, Davignon J, and Faraj M. Enrichment of Triglyceride-Rich Lipoproteins with Apolipoprotein C-I Is Positively Associated with Their Delayed Plasma Clearance Independently of Other Transferable Apolipoproteins in Postmenopausal Overweight and Obese Women. *J Nutr* 2017; 147: 754-62.

32. Faraj M, Sniderman A, and Cianflone K. ASP enhances in situ lipoprotein lipase activity by increasing fatty acid trapping in adipocytes. *J Lipid Res* 2004; 45: 657-66.
33. Faraj M and Cianflone K. Differential regulation of fatty acid trapping in mouse adipose tissue and muscle by ASP. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287: E150-E9.
34. Wassef H, Davignon J, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, and Faraj M. Changes in total and central fat mass after a hypocaloric diet associate with changes of apoC-I in postmenopausal obese women. *J Clin Lipidol* 2014; 8: 510-9.
35. Connelly PW, Poapst M, Davignon J, Lussier-Cacan S, Reeder B, Lessard R, Hegele RA, and Csima A. Reference values of plasma apolipoproteins A-I and B, and association with nonlipid risk factors in the populations of two Canadian provinces: Quebec and Saskatchewan. Canadian Heart Health Surveys Research Group. *Can J Cardiol* 1999; 15: 409-18.
36. Straznicki NE, Grima MT, Sari CI, Lambert EA, Phillips SE, Eikelis N, Kobayashi D, Hering D, Mariani JA, Dixon JB, et al. Reduction in peripheral vascular resistance predicts improvement in insulin clearance following weight loss. *Cardiovasc Diabetol* 2015; 14: 113.
37. Masella R, Vari R, D'Archivio M, Santangelo C, Scazzocchio B, Maggiorrella MT, Sernicola L, Titti F, Sanchez M, Di Mario U, et al. Oxidised LDL modulate adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by affecting the balance between cell proliferation and differentiation. *FEBS Lett* 2006; 580: 2421-9.
38. D'Archivio M, Scazzocchio B, Filesi C, Vari R, Maggiorrella MT, Sernicola L, Santangelo C, Giovannini C, and Masella R. Oxidised LDL up-regulate CD36 expression by the Nrf2 pathway in 3T3-L1 preadipocytes. *FEBS Lett* 2008; 582: 2291-8.
39. Arner E, Westermark PO, Spalding KL, Britton T, Rydén M, Frisén J, Bernard S, and Arner P. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes* 2010; 59: 105-9.
40. Xiang S-Q, Cianflone K, Kalant D, and Sniderman AD. Differential binding of triglyceride-rich lipoproteins to lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 1999; 40: 1655-62.
41. Benítez S, Sánchez-Quesada JL, Lucero L, Arcelus R, Ribas V, Jorba O, Castellví A, Alonso E, Blanco-Vaca F, and Ordóñez-Llanos J. Changes in low-density lipoprotein

- electronegativity and oxidizability after aerobic exercise are related to the increase in associated non-esterified fatty acids. *Atherosclerosis* 2002; 160: 223-32.
42. Benítez S, Villegas V, Bancells C, Jorba O, González-Sastre F, Ordóñez-Llanos J, and Sánchez-Quesada JL. Impaired binding affinity of electronegative low-density lipoprotein (LDL) to the LDL receptor is related to nonesterified fatty acids and lysophosphatidylcholine content. *Biochemistry* 2004; 43: 15863-72.
  43. Mello APQ, da Silva IT, Abdalla DSP, and Damasceno NRT. Electronegative low-density lipoprotein: Origin and impact on health and disease. *Atherosclerosis* 2011; 215: 257-65.
  44. Pedrini MT, Kranebitter M, Niederwanger A, Kaser S, Engl J, Debbage P, Huber LA, and Patsch JR. Human triglyceride-rich lipoproteins impair glucose metabolism and insulin signalling in L6 skeletal muscle cells independently of non-esterified fatty acid levels. *Diabetologia* 2005; 48: 756-66.
  45. Boon J, Hoy AJ, Stark R, Brown RD, Meex RC, Henstridge DC, Schenk S, Meikle PJ, Horowitz JF, Kingwell BA, et al. Ceramides Contained in LDL Are Elevated in Type 2 Diabetes and Promote Inflammation and Skeletal Muscle Insulin Resistance. *Diabetes* 2013; 62: 401-10.
  46. Gruppung AY, Cnop M, Van Schravendijk C, Hannaert JC, van Berkel TJC, and Pipeleers DG. Low Density Lipoprotein Binding and Uptake by Human and Rat Islet Beta-Cells. *Endocrinology* 1997; 138: 4064-8.
  47. Cnop M, Hannaert JC, Gruppung AY, and Pipeleers DG. Low density lipoprotein can cause death of Islet (beta)-Cells by its cellular uptake and oxidative modification. *Endocrinology* 2002; 143: 3449-53.
  48. Roehrich ME, Mooser V, Lenain V, Herz J, Nimpf J, Azhar S, Bideau M, Capponi A, Nicod P, Haefliger JA, et al. Insulin-secreting Beta-Cell Dysfunction Induced by Human Lipoproteins. *J Biol Chem* 2003; 278: 18368-75.
  49. Rutti S, Ehses JA, Sibler RA, Prazak R, Rohrer L, Georgopoulos S, Meier DT, Niclauss N, Berney T, Donath MY, et al. Low- and High-Density Lipoproteins Modulate Function, Apoptosis, and Proliferation of Primary Human and Murine Pancreatic beta-Cells. *Endocrinology* 2009; 150: 4521-30.
  50. Lamantia V, Sniderman A, and Faraj M. Nutritional management of hyperapoB. *Nutr Res Rev* 2016; 29: 202-33.

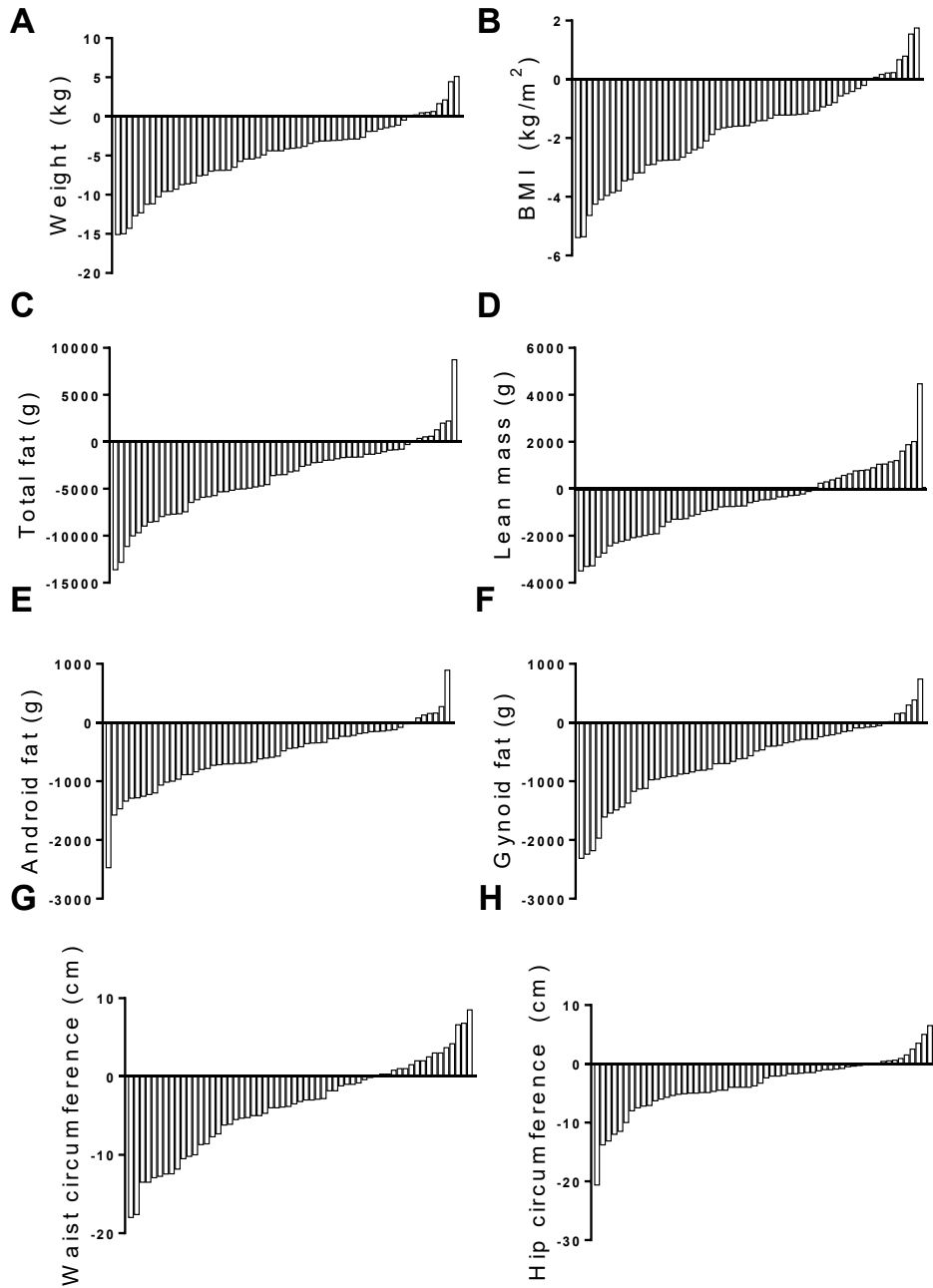
## Online Supplemental Material

### Supplemental Figure 1: Subject flow chart



## Online Supplemental Material

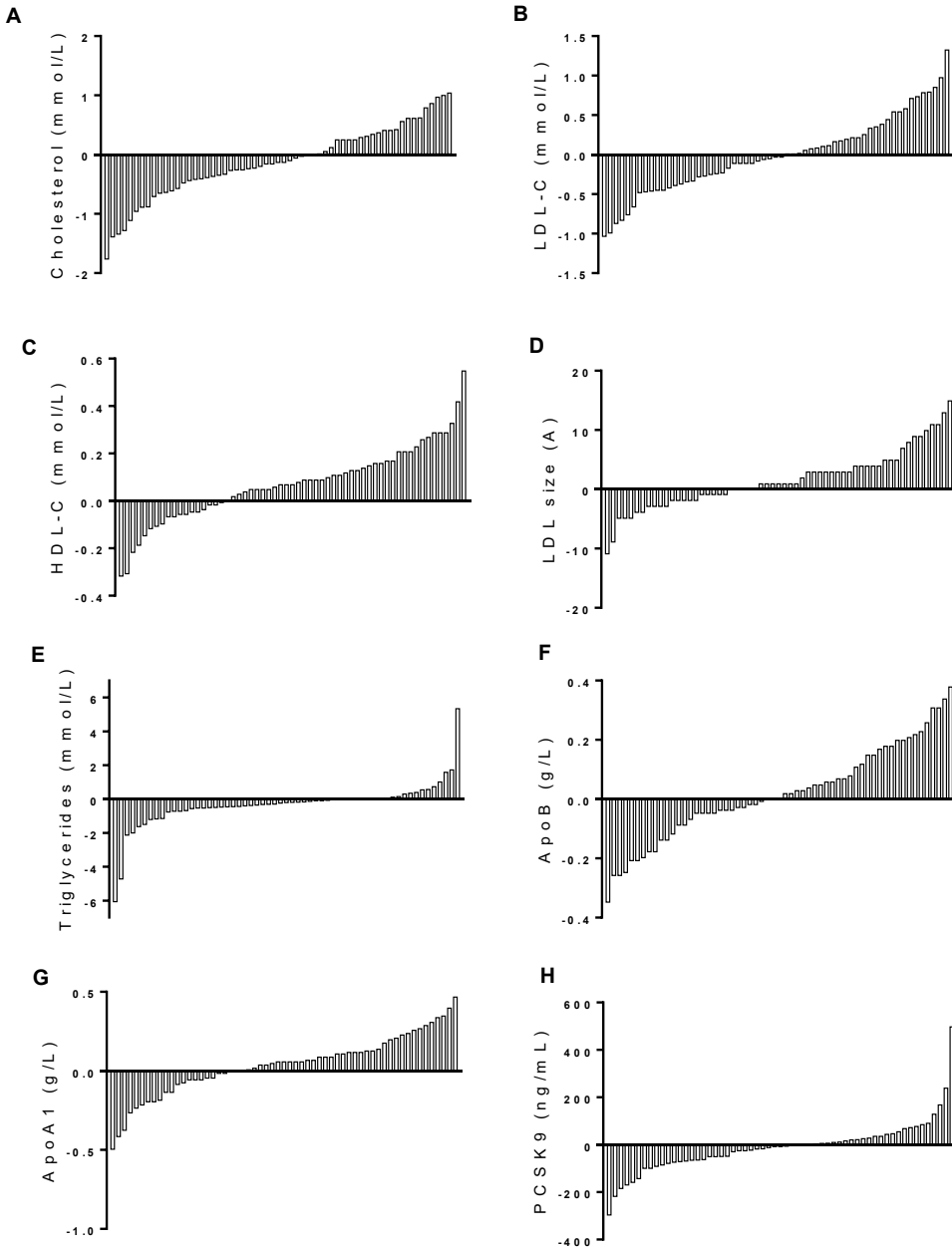
**Supplemental Figure 2:** Individual changes in body composition in response to the 6-months hypocaloric diet intervention (N=26 men and N=33 women).





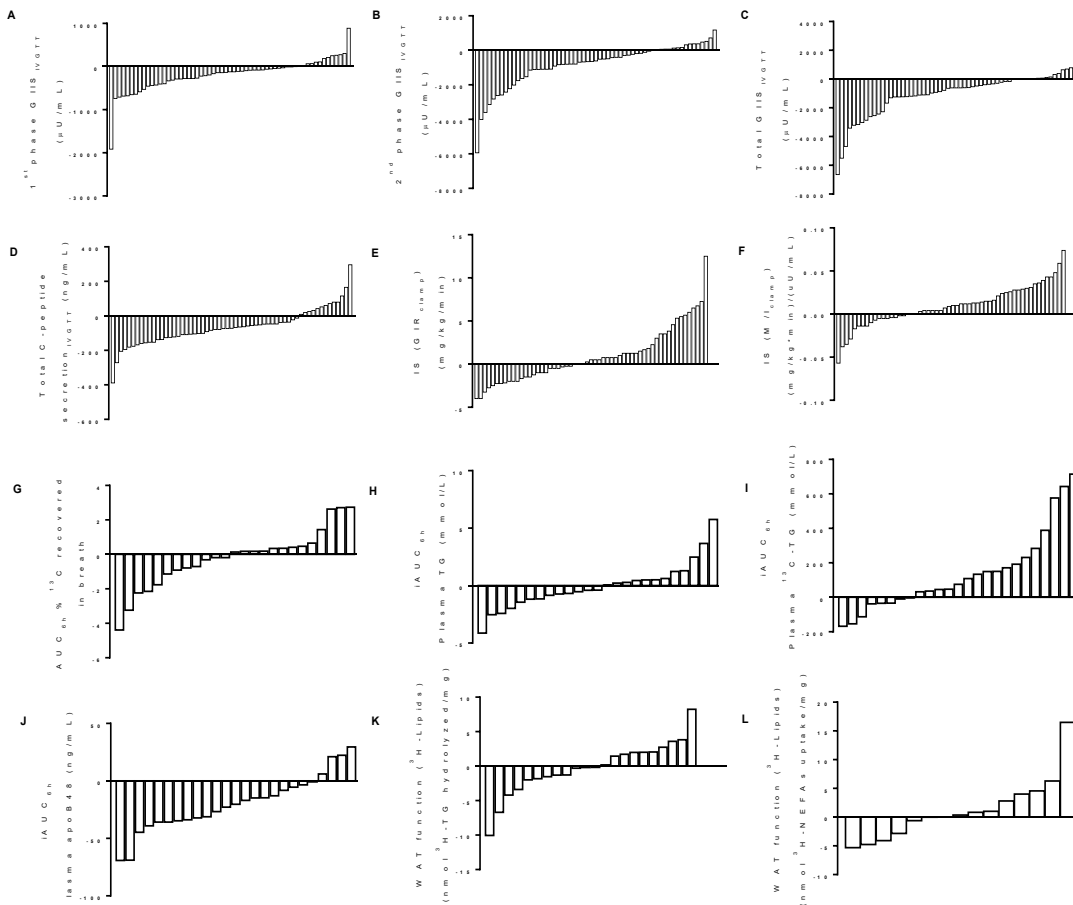
## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 3:** Subject individual changes in fasting plasma lipoprotein-related parameters in response to the 6-months hypocaloric diet intervention (N=26 men and N=33 women)



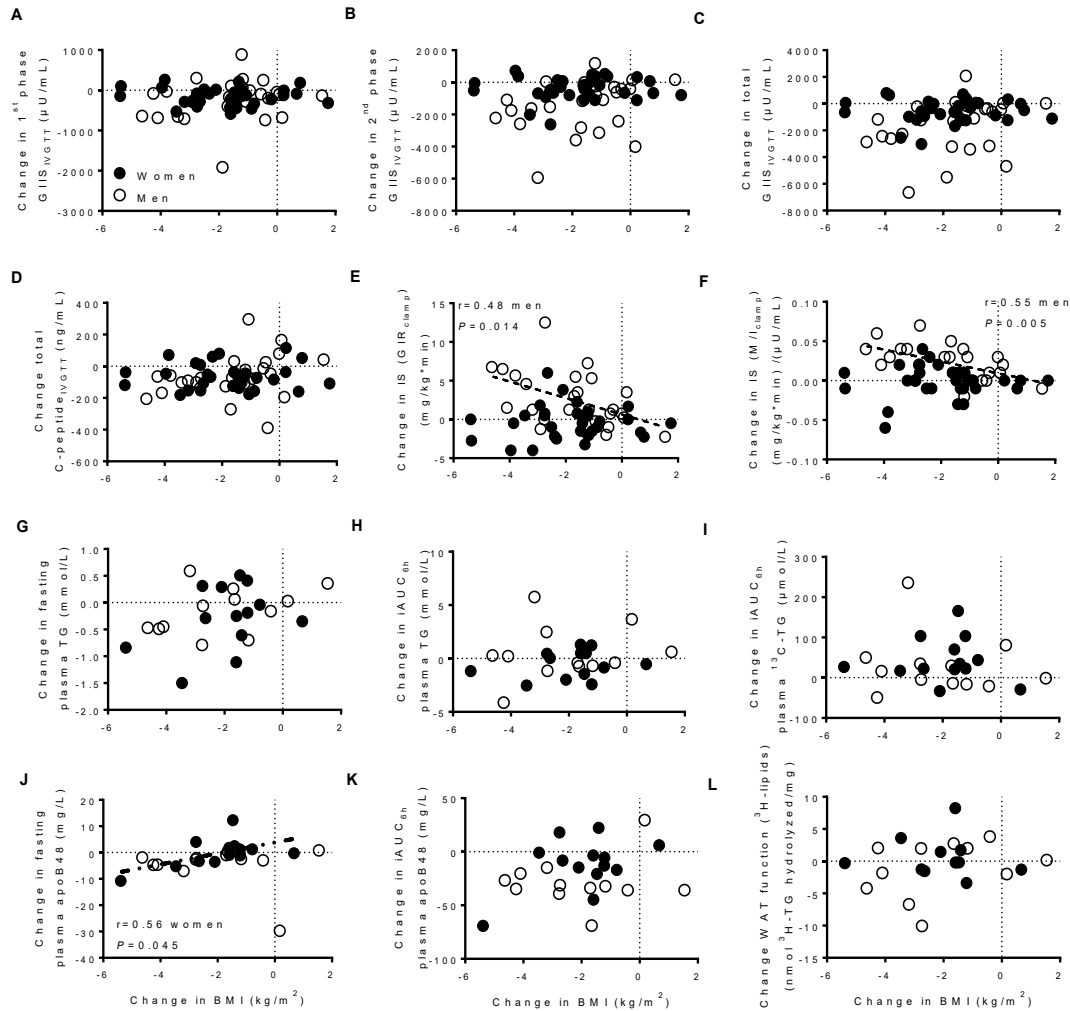
## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 4:** Individual changes in response to the 6-month hypocaloric diet in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> (A-C), total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> (D), and IS (GIR<sub>clamp</sub> and M/I<sub>clamp</sub>, E and F) during the Botnia clamp, and in % <sup>13</sup>C recovered in breath CO<sub>2</sub> (G), postprandial plasma clearance of total TG, dietary <sup>13</sup>C-TG and chylomicrons (H-J), and *ex vivo* gynoid WAT function (using <sup>3</sup>H-TRL and <sup>3</sup>H-NEFA, K and L) during the 6-hour measurement of postprandial fat metabolism (Panels A-F included N=26 men and N=33 women, except panels E where N=31 women, and F where N=25 men and N=31 women. Panels G-L included N=12 men and N=13 women, except panel J where N=11 men and N=13 women, panel K where N=11 men and N=11 women, and panel L where N=4 men and N=11 women for missing data).



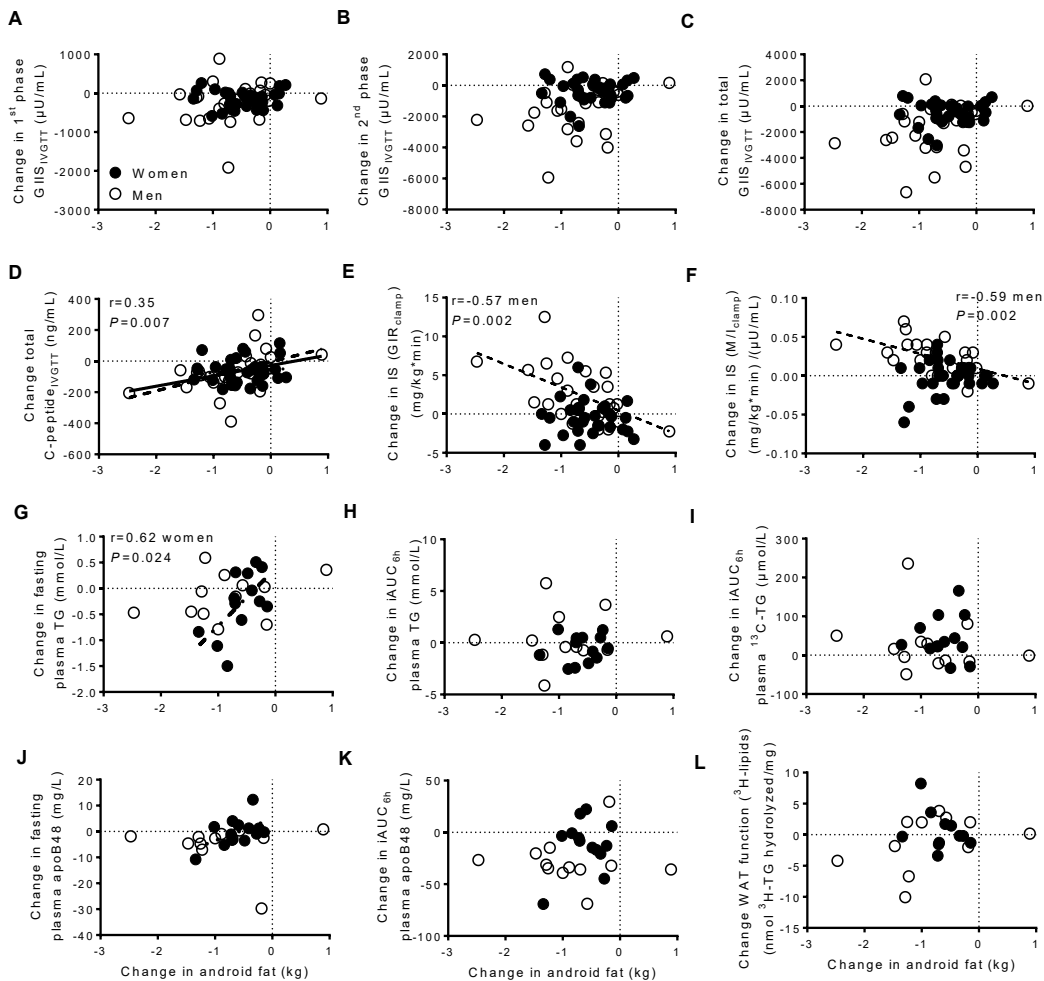
## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 5:** Pearson correlation of the post-intervention change in BMI with changes in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> (A-C), total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> (D), and IS (GIR<sub>clamp</sub> and M/I<sub>clamp</sub>, E and F) during the Botnia clamp, and in fasting and postprandial plasma clearance of total TG (G and H), postprandial plasma clearance of dietary <sup>13</sup>C-TG (I), fasting and postprandial plasma clearance of chylomicrons (J and K) and *ex vivo* gynoid WAT function (using <sup>3</sup>H-TRL, L) during the 6-hour measurement of postprandial fat metabolism (Panels A-F included N=26 men and N=33 women, except panels E where N=31 women, and F where N=25 men and N=31 women. Panels G-L included N=12 men and N=13 women, except panel K where N=11 men and N=13 women and panel L where N=11 men and N=11 women for missing data).



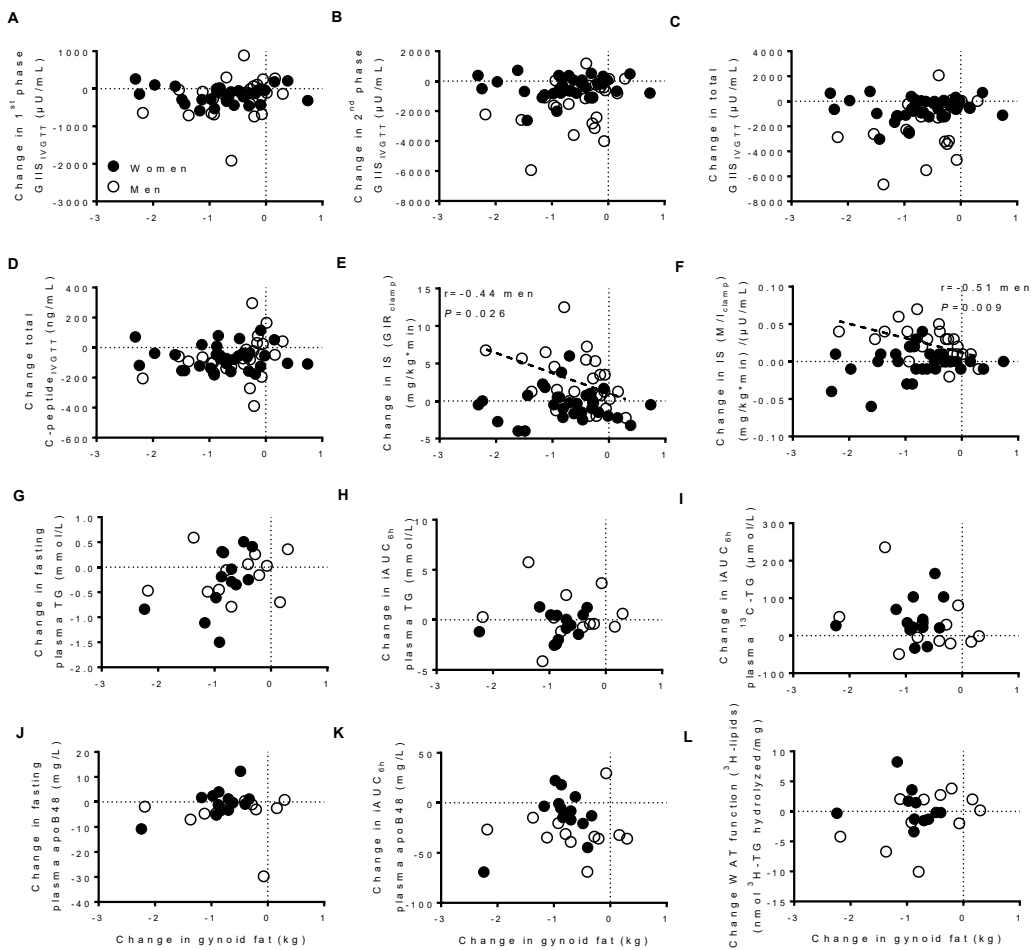
## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 6:** Pearson correlation of the post-intervention change in android fat mass with changes in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> (A-C), total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> (D), and IS (GIR<sub>clamp</sub> and M/I<sub>clamp</sub>, E and F) during the Botnia clamp, and in fasting and postprandial plasma clearance of total TG (G and H), postprandial plasma clearance of dietary <sup>13</sup>C-TG (I), fasting and postprandial plasma clearance of chylomicrons (J and K) and *ex vivo* gynoid WAT function (using <sup>3</sup>H-TRL, L) during the 6-hour measurement of postprandial fat metabolism (Panels A-F included N=26 men and N=33 women, except panels E where N=31 women, and F where N=25 men and N=31 women. Panels G-L included N=12 men and N=13 women, except panel K where N=11 men and N=13 women and panel L where N=11 men and N=11 women for missing data).



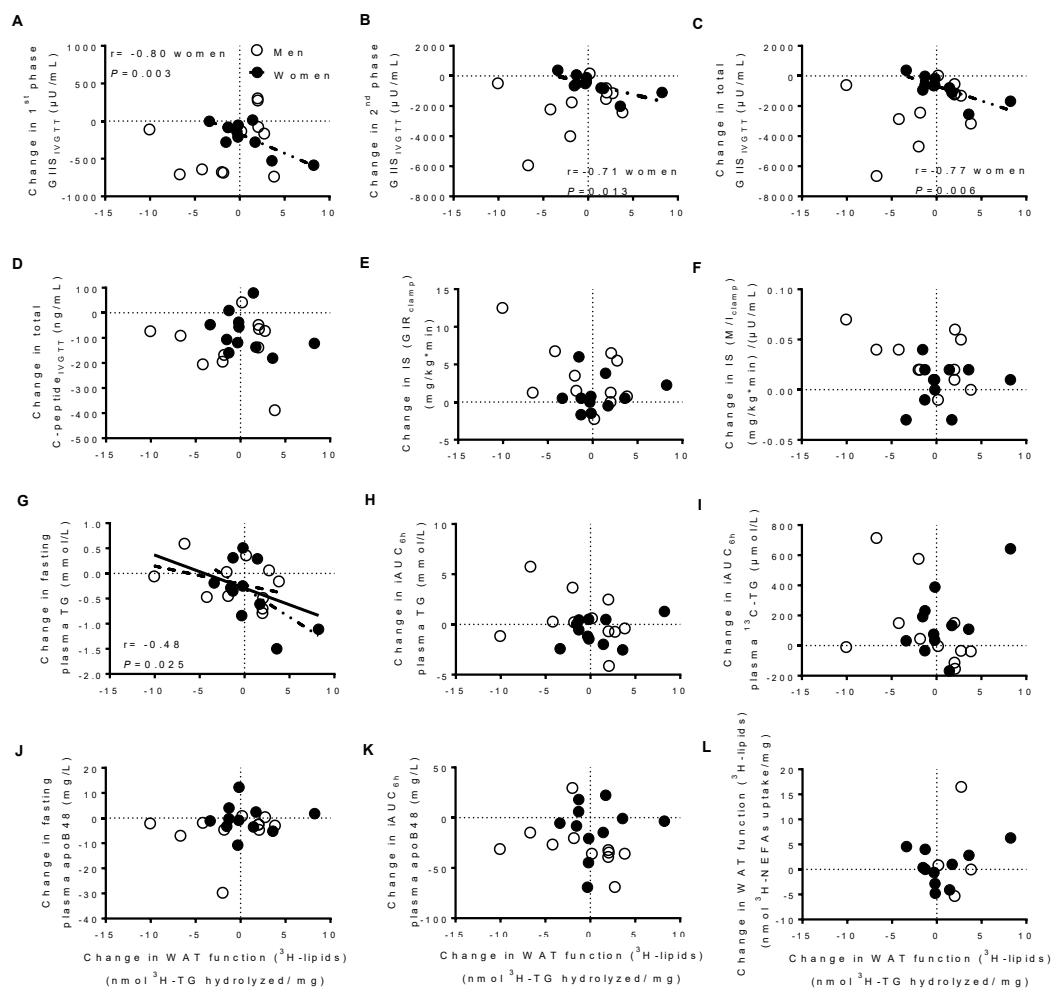
## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 7:** Pearson correlation of the post-intervention change in gynoid fat mass with changes in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> (A-C), total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> (D), and IS (GIR<sub>clamp</sub> and M/I<sub>clamp</sub>, E and F) during the Botnia clamp, and in fasting and postprandial plasma clearance of total TG (G and H), postprandial plasma clearance of dietary <sup>13</sup>C-TG (I), fasting and postprandial plasma clearance of chylomicrons (J and K) and *ex vivo* gynoid WAT function (using <sup>3</sup>H-TRL, L) during the 6-hour measurement of postprandial fat metabolism (Panels A-F included N=26 men and N=33 women, except panels E where N=31 women, and F where N=25 men and N=31 women. Panels G-L included N=12 men and N=13 women, except panel K where N=11 men and N=13 women and panel L where N=11 men and N=11 women for missing data).



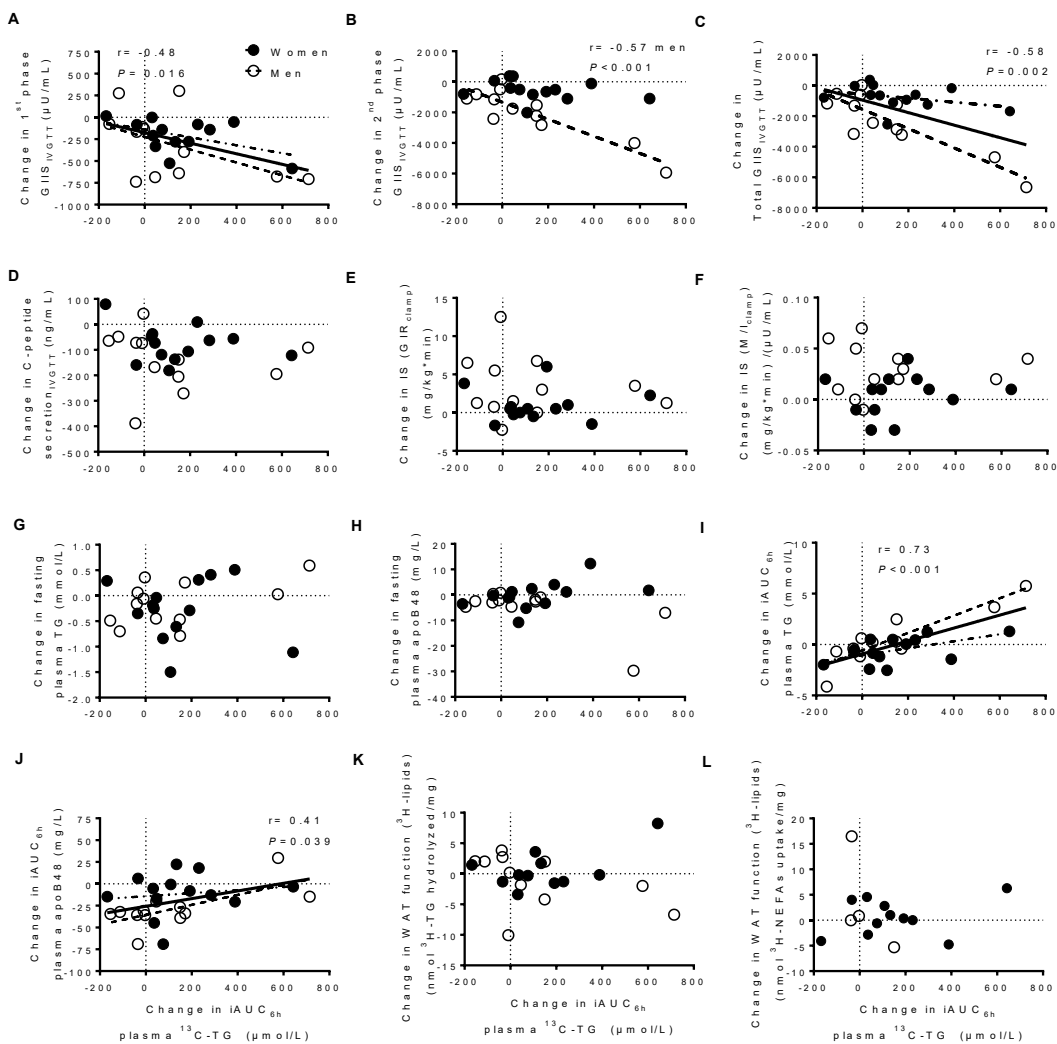
## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 8:** Pearson correlation of the post-intervention change in *ex vivo* gynoid WAT function with changes in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total GIIS<sub>IVGTT</sub> (A-C), total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> (D), and IS (GIR<sub>clamp</sub> and M/I<sub>clamp</sub>, E and F) during the Botnia clamp, and in fasting and postprandial plasma clearance of total TG (G and H), postprandial plasma clearance of dietary <sup>13</sup>C-TG (I), fasting and postprandial plasma clearance of chylomicrons (J and K) and *ex vivo* gynoid WAT function (using <sup>3</sup>H-TRL, L) during the 6-hour measurement of postprandial fat metabolism (N=11 men and N=11 women for missing data).



## Online Supplemental Material

**Supplemental Figure 9:** Pearson correlation of the post-intervention change in postprandial plasma clearance of dietary  $^{13}\text{C}$ -TGs with changes in 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  (A-C), total C-peptide secretion $_{\text{IVGTT}}$  (D), and IS ( $\text{GIR}_{\text{clamp}}$  and  $\text{M/I}_{\text{clamp}}$ , E and F) during the Botnia clamp, and in fasting and postprandial plasma clearance of total TG (G and H), postprandial plasma clearance of dietary  $^{13}\text{C}$ -TG (I), fasting and postprandial plasma clearance of chylomicrons (J and K) and *ex vivo* gynoid WAT function (using  $^3\text{H}$ -TRL, L) during the 6-hour measurement of postprandial fat metabolism (Panels A-F included N=26 men and N=33 women, except panels E where N=31 women, and F where N=25 men and N=31 women. Panels G-L included N=12 men and N=13 women, except panel K where N=11 men and N=13 women and panel L where N=11 men and N=11 women for missing data).



**Deuxième article : Increased fiber intake predicts amelioration in insulin secretion and sensitivity independent of weight-loss following a hypocaloric diet in obese subjects**

Provost V, Bissonnette S, Lamantia V, Cyr Y, Faraj M. **Increased fiber intake predicts amelioration in insulin secretion and sensitivity independent of weight-loss following a hypocaloric diet in obese subjects**, *Not submitted* December 2017.

**Contribution de l'auteur à l'article :** Pour cet article, Viviane Provost effectué les analyses statistiques des données et la rédaction du manuscrit. Elle a également contribué aux analyses des apports alimentaires des participants (analyses statistiques).

Pourcentage total de contribution à l'article  $\approx 60\%$



**Increased fiber intake predicts amelioration in insulin secretion and sensitivity independent of weight-loss following a hypocaloric diet in obese subjects**

Provost V<sup>1,2,3</sup>, Bissonnette S<sup>1,2,3</sup>, Lamantia V<sup>1,2,3</sup>, Cyr Y<sup>1,2,3</sup>, Faraj M<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Institut de Recherches cliniques de Montréal (IRCM), Montréal, Québec*

<sup>2</sup> *Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec*

<sup>3</sup> *Montreal Diabetes Research Center (MDRC), Montréal, Québec*

**Send correspondence and reprints requests to;**

May Faraj P.Dt., Ph.D.

Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM)

Office 1770.2

110, Avenue des Pins Ouest Montréal, Québec H2W 1R7

Tel: (514) 987-5655

Email: [may.faraj@umontreal.ca](mailto:may.faraj@umontreal.ca)

**List of authors' last names:** Provost, Bissonnette, Lamantia, Cyr, Faraj

**Running title:** Fiber intake predicts change in risk factors for T2D after hypocaloric diet

**Word count:** abstract = 299 words, body = 3729, total number of figures and tables = 7

**Sources of support:** Supported by an operating grant from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR, MOP# 93581) to M.F. S.B. is supported by CIHR doctoral scholarship, V.L. is supported by CIHR Vanier doctoral scholarship and Y.C. is supported by Fonds de recherches du Québec (FRQ) doctoral scholarship.

**Abbreviations:** AUC, area under the curve; BMI, body mass index; CVD, cardiovascular disease; GIIS, glucose-induced insulin secretion; HIEG, hyperinsulinemic-euglycemic; iDXA, dual-energy X-ray absorptiometry; IS, insulin sensitivity; IVGTT, intravenous glucose-tolerance test; M/I, insulin sensitivity measured during the HIEG clamp; SD, standard-deviation; T2D, type 2 diabetes

## Abstract

**BACKGROUND/HYPOTHESIS:** Reduced insulin sensitivity (IS) and increased glucose-induced insulin secretion (GIIS) are major risk factors for type 2 diabetes (T2D). Hypocaloric diets reduce these risk factors in obese subjects; however, large inter-subject variability exist in the response to these interventions and dietary components that relate to this variability remain unclear. Fiber intake modulate IS and GIIS with isocaloric interventions. We hypothesized here that changes in fiber intake following a hypocaloric diet explains the variability in IS and GIIS in overweight/obese subjects.

**METHODS:** Fifty-five subjects (45-74 years, BMI  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup>, without chronic diseases) completed a 6-month hypocaloric diet (-500kcal/day). Baseline and post-intervention dietary intake were evaluated using 3-day food recall. GIIS and IS were measured using 1-hour intravenous glucose-tolerance test (IVGTT) followed by 3-hour hyperinsulinemic-euglycemic (HIEG) clamp, *respectively*.

**RESULTS:** Subjects had an average weight-loss of  $-5.02 \pm 4.66\%$  with decreased energy ( $-11.1 \pm 22.6\%$ ) and fat ( $-19.9 \pm 31.0\%$ ) intakes. Post-intervention percent change in fiber intake correlated with that in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  ( $r = -0.44$ ,  $p < 0.001$ ) and IS (IVGTT AUC glucose/AUC insulin:  $r = 0.45$ ,  $p < 0.001$ , and  $M/I_{clamp}$ :  $r = 0.31$ ,  $p = 0.029$ ). Adjustment for sex and percent changes in BMI and energy intake did not eliminate its association with changes in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  or IS measured during the IVGTT, and was independent of changes in other macronutrients. Compared to sex-matched subjects with post-intervention decrease in fiber intake (N=27,  $-22.1 \pm 15.7\%$ ), those with increased fiber intake (N=28,  $31.3 \pm 29.0\%$ ) had a greater decrease in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  (increased fiber= $-28.1 \pm 30.5\%$  vs decreased fiber= $-9.4 \pm 23.6\%$ ,  $p < 0.001$ ) independent of changes in BMI, android or gynoid fat, or energy intake.

**CONCLUSION:** Differences in fiber intake during a hypocaloric diet may explain inter-subject variability in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  and associated IS, independent of sex and changes in adiposity and energy intake. Fiber-enriched hypocaloric diets may increase the effectiveness of these intervention to prevent T2D with in obese subjects.

## Introduction

Diabetes is a disease of increasing prevalence around the world. It affects an estimated 422 million adults in 2014, almost a 4-fold increase since 1980 (1), with type 2 diabetes (T2D) representing more than 90% of all cases (2). A prediabetes state precedes T2D, characterized by abnormalities in insulin sensitivity (IS) and glucose-induced insulin secretion (GIIS) (3). Whereas a small amount of GIIS is needed to maintain normal plasma glucose in healthy individuals with high IS, increased GIIS is needed to compensate for progressive insulin resistance (IR) that characterizes subjects with prediabetes, particularly in conjunction with obesity (3, 4). In time, this is believed to promote  $\beta$ -cells exhaustion and apoptosis, reduced GIIS and induction of T2D in susceptible subjects (5, 6).

Many risk factors are known to promote the progression from prediabetes to T2D, some of which are not modifiable such as genetic and aging, while others are, including obesity and an unhealthy lifestyle (1). Targeting these modifiable risk factors with behavioral modification programs has been shown to prevent T2D in high-risk obese subjects (7). Hypocaloric diet-induced weight loss of 5-10% is commonly recommended to target obesity-associated risk factors for T2D (8). However, it is well appreciated that large inter-subject variations exist in the metabolic response to these interventions that is not explained by weight loss *per se* and may be related to the dietary composition of the diet.

High fiber intake is associated with low risk for T2D in many cross-sectional and prospective studies (9). In the Nurses Health Study in over 75,000 middle-aged women, higher intake of whole grain was associated with lower incidence of T2D over 10 years after adjustment for multiple covariates (10). In the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS, 1992-1994), higher usual fiber intake, assessed by food frequency questionnaire, was associated with better IS assessed using intravenous glucose tolerance test (IVGTT) in 978 middle-aged adults (11). Moreover, in interventional studies with weight-maintenance diets, high fiber intake consumed from food items (12-15) or via supplementation (16-20) improved IS and GIIS in lean, obese or diabetic subjects. Together this data suggests that differences in fiber intake may explain inter-subject variations in IS and GIIS following a hypocaloric diet. However, this has not been examined.

Thus, we tested the hypothesis that high fiber intake is associated with amelioration in GIIS and IS in overweight and obese subjects following a hypocaloric-diet, independent of changes in body composition, total energy or macronutrient intakes. This was examined in post-hoc analysis of a 6-month hypocaloric dietary intervention in a cohort of 55 overweight and obese who were free of chronic disease including diabetes, where gold-standard techniques combining 1-hour IVGTT follow by 3-hour hypeminsulinemic euglycemic (HIEG) clamp were used to measure  $GIIS_{IVGTT}$  and IS, respectively.

## Methods

**Study population and design:** This is a prospective study with a 6-month intervention aiming at examining the changes in IS, GIIS, postprandial fat clearance, *ex vivo* white adipose tissue function and inflammation following a hypocaloric diet. The association of fiber intake with changes in IS and GIIS<sub>IVGTT</sub> only are presented in this post-hoc analysis of the study. Subjects were recruited by advertisements in local newspapers. Inclusion and exclusion criteria were previously reported (21-25). In brief, men and post-menopausal women were aged 45–74 years, non-smokers, had a BMI > 27 kg/m<sup>2</sup>, a sedentary lifestyle, and a low alcohol consumption. Exclusion criteria included; high risk for CVD (>20% of Framingham Risk Score), CVD and hypertension requiring medication, diabetes, cancer (within the past 3 years), kidney or hepatic dysfunction, use of drugs affecting metabolism (including hormone-replacement therapy except thyroid at stable dose), lack of time for the completion of the study, and all other medical/psychological conditions deemed inappropriate by the physician. All subjects gave their informed consent to participate to the study, and the study was approved by the Human Ethics Board at the IRCM.

Subjects underwent a 4-week weight stabilization period verified by weekly visits to the IRCM aiming at maintaining weight within 2 kg range (26). During weight-stabilization, 3-day food recalls were completed by the subjects (2 week-days, 1 weekend) and were verified by the dietitian for completion upon reception. The assessment of baseline GIIS, IS and body composition was then conducted. Subjects were placed on 6-months hypocaloric diet and the post-intervention 3-day food recalls were completed in the last week of the intervention. A 4-week post-intervention weight-stabilization period followed the hypocaloric intervention, after which the baseline measurements were repeated.

**Anthropometry and metabolic measurements:** Body composition was measured by dual energy X-ray Absorptiometry (iDXA, GE Healthcare, Little Chalfont, UK). Height was measured with a stadiometer to the nearest 0.1 cm. Weight was measured by a digital scale to the nearest 0.1 kg. Waist and hip circumference were measured the average of 3 measurements above the iliac crest and at the largest part of the buttocks, respectively, taken with a measuring tape by a trained member of the research team. Plasma lipids and apoB were measured by an

automated analyzer (Cobas Integra 400, Roche Diagnostic, Basel, SWE), plasma glucose by an automated analyzer (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, USA), and serum insulin and C-peptide by radioimmunoassay kits (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) as reported (21-25). Sample analyses were conducted in a blinded manner using subject identification number.

**Dietary intervention:** The hypocaloric diet was administered during individual sessions by 2 registered dietitians (25). Daily energy needs were estimated from basal metabolic rate, measured by indirect calorimetry (Vmax Encore, Carefusion, San Diego, CA, USA), multiplied by a sedentary physical activity factor of 1.4, from which 500 kcal were subtracted (26). The diet was adapted to the subject's habits and needs, based on Canada's Food Guide and Health Canada's guidelines, and was composed of 45-65% carbohydrate, 20-35% fat and 15-35% protein (27). To encourage compliance, subjects met monthly with the study dietitian for 1 hour at baseline and during the intervention. During these visits, body weight was recorded and subjects received written and oral counseling on 7 consecutive sets of nutritional topics covering: 1) recommended daily intake of the 6 food groups, 2) energy balance and how to achieve a negative balance to lose weight, 3) types of fat with the aim to decrease the intake of total, saturated and trans fats and increase the intake of unsaturated fats, 4) dietary fiber and their advantage in promoting satiety, 5) proteins and their advantage in promoting satiety, 6) energy density with the aim to increase the intake of low energy-dense items, and 7) strategies to control appetite during meal consumption.

**Food recalls:** Subjects were instructed on how to complete the food recalls by a dietitian. Each food record included two weekdays and one weekend day. Details on the food items were noted down (e.g. type, brand) and the recalls were revised by the dietitian together with the study subject to avoid missing data. Completed food recalls were then analyzed using The Food Processor (version 11.3.285, ESHA Research, Salem, OR), with a Canadian Database. Average of the three days were used for the analyses.

**Insulin sensitivity and secretion technique:** Separate measurements of  $GIIS_{IVGTT}$  and IS were conducted using a modified Botnia clamp (28) as previously reported (21, 23-25). Glucose-induced insulin and C-peptide secretions were measured during 1-hour intravenous glucose tolerance test (IVGTT, 0.3 g glucose/kg body weight). First phase, second phase and total

GIIS<sub>IVGTT</sub> and C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub> were measured as the area under the curve (AUC) of the first 10 minutes, the following 50 minutes and the total 60 minutes of the IVGTT, respectively. IS during the IVGTT was estimated from AUC glucose/AUC insulin. Insulin sensitivity was then measured using a 3-hour HIEG clamp, during which hyperinsulinemia was maintained using a primed exogenous insulin infusion (75 mU/min\*m<sup>2</sup>) while plasma glucose was maintained between 4.5 to 5.5 mmol/L using 20% dextrose infusion. Insulin sensitivity was expressed as glucose infusion rate divided by plasma insulin in the last 30-minutes of the clamp (expressed as M/I<sub>clamp</sub>) (21, 23-25). Three-days prior to the Botnia clamps, subjects were reminded by a phone call to maintain a high carbohydrate intake of at least 300 g/day for men and 225 g/day as previously published (21, 23-25).

**Separation of the subjects into groups of post-intervention increase versus decrease in fiber intake:** We divided the study population (N=55) around the median of percent post-intervention change in fiber intake (men: 3.64 % and women: -10.7%) per sex to account for sex-differences in the measured parameters. Average % change in fiber intake was  $-22.1 \pm 15.7\%$  in the group with decreased fiber intake (N=15 women and N=12 men) and  $31.3 \pm 29.0\%$  in the group with increased fiber intake (N=15 women and N=13 men).

**Statistical analysis:** Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Group differences before and after the intervention were analysed by RM 2-way ANOVA with (group x time) interaction. When group x time interaction was significant, intra- and inter-group differences were measured by paired and independent Student t-test, respectively. The association between the examined variables was analysed by Pearson correlation per sex. When no-sex differences existed in the regression lines (in slope and elevation), data from women and men were pooled and a solid regression line was presented on the graphs. Stepwise forward regression analysis was used to predict percent changes in GIIS<sub>IVGTT</sub> and IS, and were adjusted for sex and percent changes in BMI and in energy intake. Independent variables entered in the regression models were percent changes in carbohydrate, protein, fiber, sugar, fat and saturated fat. Statistical analyses were performed using SPSS V19, while the analyses of the AUC and the sex-differences in regression lines were performed using GraphPad Prism V7 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Significance was set at  $p < 0.05$ .

## Results

Fifty-nine subjects completed the 6-months hypocaloric intervention (25). As complete dietary data was available from 55 subjects (30 women, 25 men), this analysis is conducted on 55 subjects only. Following the hypocaloric diet, subjects lost an average of  $5.0 \pm 4.7\%$  of their initial body weight; and had a decrease in all measures of a total and central adiposity as presented in Table 1. Women and men had a decrease in the measures of  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  (2<sup>nd</sup> phase and total  $\text{GIIS}$ , and total C-peptide secretion), while 1<sup>st</sup> phase  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  was decreased in women only. Insulin sensitivity measured during the IVGTT (AUC glucose/AUC insulin) was increased in both sexes, while that measured independent of  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  during the HIEG clamp ( $\text{GIR}_{\text{clamp}}$  and  $\text{M/I}_{\text{clamp}}$ ) was increased in men only. There was a significant decrease in the intakes of total energy, fat and saturated fat in both men and women, while the intakes of carbohydrate, fiber, sugar and protein were unchanged.

There was no association between post-intervention percent changes in energy intake with that of  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  in men (1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> phase  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$ , Figure 1A and 1B), while there was a negative association with percent change in 2<sup>nd</sup> phase  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  in women (Figure 1B). Moreover, there was no association between percent changes in energy intake with any measure of IS (IVGTT AUC glucose/AUC insulin and  $\text{M/I}_{\text{clamp}}$ , Figure 1C and 1D) in both sexes. Similarly, there was no correlation between the percent change in BMI with all measures of  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  and IS (Figure 2) except in men, where it correlated positively with percent change in 2<sup>nd</sup> phase  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  (Figure 2B) and negatively with that of IS ( $\text{M/I}_{\text{clamp}}$ , Figure 2D). On the other hand, there was a much stronger correlation between changes in measures of IS and  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  with that of fiber intake. Percent change in fiber intake was negatively correlated with percent change in 2<sup>nd</sup> phase  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  (Figure 3B), and with both measures of IS (IVGTT AUC glucose/AUC insulin and  $\text{M/I}_{\text{clamp}}$ , Figure 3C and 3D) with no sex-differences.

To explore whether the correlations between percent change in fiber intake with those of  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  and IS were dependent on changes in adiposity and energy intake, stepwise forward regression analysis was conducted. As presented in Table 3, after adjustment for sex, percent change in BMI and percent change in energy intake, percent change in fiber intake remained the primary predictor of percent change in 2<sup>nd</sup> phase  $\text{GIIS}_{\text{IVGTT}}$  and IS measured during the IVGTT



(AUC glucose/AUC insulin). However, this adjustment eliminated the association of percent change in fiber intake with that of IS measured during the HIEG clamp ( $M/I_{\text{clamp}}$ ). None of the percent changes in macronutrients (carbohydrates, protein, fat, saturated fat, and sugar) were retained in these regression models. Moreover, none of the macronutrients, including fiber, was predictive of 1st phase and total  $GIIS_{IVGTT}$  after adjustment for sex and percent changes in energy intake and BMI.

**Group-differences in subjects with post-intervention decrease versus increase in fiber intake:** Although average post-intervention absolute (Table 1) and percent change ( $5.08 \pm 35.6\%$ ) in fiber intake was not significantly changed following the intervention, about half the study population decreased, while the other half increased fiber intake over the 6-month intervention (Figure 4A and 4B). Thus, we separated the study population based on median % change in fiber intake per sex. As presented in Table 3, there were group-differences in anthropometric and dietary parameters, where subjects with higher fiber intake had lower total and android body fat, and hip and waist circumferences than subjects with decreased fiber intake. They also had higher total energy, fat, saturated fat, carbohydrate, fiber and protein intakes. Both groups decreased all measures of total and central adiposity following the intervention, and decreased total energy, fat and saturated fat intake. Both groups also had post-intervention amelioration in fasting (plasma insulin and glucose) and Botnia clamp measures of  $GIIS_{IVGTT}$  (decreased 1<sup>st</sup> phase, 2<sup>nd</sup> phase and total  $GIIS_{IVGTT}$  and total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub>) and increase in IS ( $IVGTT$  AUC glucose/AUC insulin and  $M/I_{\text{clamp}}$ ).

However, subjects with increased fiber intake had a greater post-intervention decrease in android and gynoid fat and decrease in 2<sup>nd</sup> phase and total  $GIIS_{IVGTT}$ . Adjustment for % change in android fat did not eliminate group-differences in % change in 2<sup>nd</sup> phase ( $p=0.020$ ) or total ( $p=0.048$ )  $GIIS_{IVGTT}$ , while only group differences in % change in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  remained significant after adjustment for % change in gynoid fat ( $p=0.023$ ). Finally, as was conducted for the whole group of 55 subjects, adjustment for % change in energy intake or BMI did not eliminate group-differences in % change in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  ( $p=0.033$  and  $p=0.023$ , respectively) (N.B. the 2 parameters cannot be adjusted concomitantly given the smaller sample size).

## Discussion

In this weight-loss study in 55 overweight and obese subjects we report that 1) the increase in fiber intake during a hypocaloric diet was associated with decreased 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  and increase IS, independent of sex and changes in BMI and energy intake and 2) compared to sex-matched subjects who decreased fiber intake, those who increased fiber intake had a greater decrease in 2<sup>nd</sup>  $GIIS_{IVGTT}$ , independently of changes in android fat, gynoid fat, BMI and energy intake.

While evidence on the effect of increasing fiber intake on IS and  $GIIS_{IVGTT}$  is lacking during a hypocaloric diet, ameliorations in these risk factors were reported in several randomized controlled crossover trials with isocaloric fiber-rich or fiber-supplemented diets. Consuming a whole-grain (fiber-rich) diet for 6-weeks resulted in lower fasting plasma insulin and higher HIEG clamp measure of IS than consuming a refined grain diet for the same period in a cohort of 11 hyperinsulinemic overweight or obese subjects (13). In 7 women with a history of gestational diabetes and impaired glucose tolerance, substituting a high glycemic index/ low fiber bread for a low glycemic index/ high fiber bread for 3 weeks reduced  $GIIS_{IVGTT}$  without affecting HIEG clamp IS (14). Additionally, supplementation with resistant starch (a type of insoluble fiber), containing 60, 30 and 40 grams per day over 24 hours, 4 weeks and 8 weeks, respectively, improved IS measured during a meal tolerance test (16, 17) and HIEG clamp (16, 18) compared to a placebo. The lower AUC of plasma insulin during the meal tolerance test after the resistant starch supplementation was attributed to faster clearance of plasma insulin, as C-peptide was not affected (16, 17). On the other hand, while insoluble oat fiber supplementation (31.2 grams/day) added in bread for 3 days improved IS measured by HIEG clamp in 18 overweight or obese women compared to white bread, it had no effect on insulin clearance (19). Finally, in a study in 89 subjects with features of metabolic syndrome, comparing 4 diets (high cereal fiber, high protein, mix of fiber and protein, and control, achieved with supplements and emphasis on certain foods for 6 weeks of intense counselling and 12 additional weeks without counselling) showed improvements in HIEG clamp IS with the high cereal fiber diet only (20).

Secretion of insulin in response to glucose requires 2 phases; the 1<sup>st</sup> phase involves the fusion of “readily releasable pool” of granules (~ 50-200) that are pre-docked (29), or situated close to (30), the plasma membrane, which induces a quick discharge of insulin into the circulation (31). The 2<sup>nd</sup> phase represents a “reserve pool” of storage granules that are mobilized in response to glucose and produces a substantial and prolonged GIIS (29). Quantitatively, the 2<sup>nd</sup> phase insulin secretion represents the bulk of total insulin secretion (~ 80%) (29) as also demonstrated here. Moreover, current knowledge on the progression from normal glucose tolerance to T2D in humans favors a 2-step model (6, 32). In the 1<sup>st</sup> step, normal glucose tolerance progresses to impaired glucose tolerance with progressive IR driving higher insulin secretion. In the 2<sup>nd</sup> step, impaired glucose tolerance progresses to T2D, with the progressive loss of  $\beta$ -cell function and eventual decline in insulin secretion. First phase  $GIIS_{IVGTT}$  is the most affected during the progressive loss of  $\beta$ -cell function (6, 32). Our study demonstrated that increasing fiber intake during hypocaloric-diet was associated with decreased 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$ , but not with 1<sup>st</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  or total C-peptide secretion<sub>IVGTT</sub>, and with increased IS measured during the IVGTT and HIEG clamp. Adjustment for sex and changes in BMI and energy intake eliminated the association of fiber intake with IS measured during the clamp. This suggests that the positive association of fiber intake with IS is not independent of reduced 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$ , which being the bulk of total  $GIIS_{IVGTT}$ , has a major effect on improved IS. This was also confirmed using a separate analysis in subjects with decreased versus increased fiber intake, as only the group-differences in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  remained significant after adjustment for changes in BMI, energy intake, android or gynoid fat. Moreover, given that changes in plasma C-peptide was not correlated with changes in fiber intake in any analysis, the effect of fiber intake is likely related to increased insulin clearance rather than decreased insulin secretion, as was previously shown for resistant starch supplementation with isocaloric diet (16, 17). Of note, despite their adiposity, subjects included in this study were free of any chronic disease and with normal fasting glucose, which represent is a very early stage in step 1 towards progression to T2D, if ever. Thus, it is not surprising that there was no improvement in a likely already normal 1<sup>st</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  with the hypocaloric diet nor was there an association of changes in fiber intake with that of 1<sup>st</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$ .

Fiber intake may affect  $GIIS_{IVGTT}$  and/or IS via several mechanisms. Fiber-rich diets delay gastric emptying and increase satiety (33-36), which may promote lower food intake and weight-loss that are well documented to improve IS (8, 37). This was also documented in this study where adjustment for sex and change in BMI and energy intake eliminated the association of change in fiber intake with that of measure of  $M/I_{clamp}$ , which is a measure of IS that is independent of  $GIIS_{IVGTT}$ . Fiber-rich diets may also reduce the availability and the absorption of certain nutrients, such as carbohydrates, lipids and cholesterol (36, 38, 39), which may explain why fiber intake is associated with lower body weight and greater weight loss with hypocaloric diets as also documented here (33, 40). Additionally, certain types of fiber, such as psyllium and  $\beta$ -glucan, reduce plasma apoB concentrations (41-44). ApoB-lipoproteins promote the dysfunction of pancreatic  $\beta$ -cells (45, 46) and their plasma concentration predict the development of T2D in several populations independent of traditional risk factors (47-50). Plasma apoB is also associated with major risk factors for T2D such as inflammation (51), insulin resistance (21, 23), glucose-induced hyperinsulinemia (21, 23) and white adipose tissue dysfunction (22), as shown by our research team. Finally, fiber-rich diets are known to modulate gut microbiota, to increase bacterial diversity and to promote the growth of certain bacteria types that ferment fiber and produce short-chain fatty acids (34, 36, 52). Such changes in gut microbiota are associated with lower risk for T2D and improved metabolic profile (53). It should be noted however that the association of fiber intake with the amelioration of  $GIIS_{IVGTT}$  and IS in this study were independent of changes in adiposity and energy intake. Moreover, there were no group differences in plasma apoB among subjects with increased versus decreased fiber intake following the intervention. Thus, the effect of fiber intake on the microbiota may be the most plausible mechanism. Alternatively, it may be the concomitant effects of all these mechanisms transcribing during the 6-month intervention, which were not reflected in a single measure of post-intervention changes.

It is important to note that this was a post-hoc analysis of a weight-loss study, where the increase in fiber intake was not the primary outcome. Subjects received counselling on how to increase fiber intake to more than 25 g/day. Analysis of the dietary data revealed however that many subjects were within target fiber intake at baseline, which may have limited further increase in fiber intake following the intervention. Additionally, there was no distinction

between soluble or insoluble fiber nor between the food sources of the fiber, which may have different effects on the measures of  $GIIS_{IVGTT}$  and IS during the hypocaloric diet. Nevertheless, the use of the gold-standard Botnia clamp to acquire separate measures of  $GIIS_{IVGTT}$  and IS, and the profound characterization of the study population allowed to isolate the association of fiber intake with 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$ , primarily reflecting increased insulin clearance, independent of many confounders.

In conclusion, the increase in fiber intake during the hypocaloric diet associated with improvement in 2<sup>nd</sup> phase  $GIIS_{IVGTT}$  independent of changes in BMI, energy intake, android or gynoid fat. We propose that increasing fiber intake during weight-loss intervention reduce the inter-subjects variability in response to these intervention and increase their effectiveness in the primary prevention of T2D.

## **Acknowledgement**

M.F. designed research; S.B., V.L. Y.C., and M.F. conducted research; V.P. S.B., V.L. Y.C., and M.F. analysed data; and V.P. and M.F. wrote the paper; M.F. had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript. We acknowledge the invaluable work of Drs Rémi Rabasa-Lhoret, Alexis Baass, Robert Dufour in subject screening, recruitment and medical follow-up. We also acknowledge the statistical support of Mr Miguel Chagnon, MSc (Statistical department, University of Montréal) throughout this study.

**Conflict of interest:** All authors declare no conflict of interest.

## Figure legend

**Figure 1:** Pearson correlation of % change in BMI following the 6-month hypocaloric diet with % change in 1<sup>st</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (A), 2<sup>nd</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (B), total IVGTT AUC glucose/ AUC insulin (mM/uU/mL) (C) and M/I<sub>clamp</sub> (D) during the Botnia clamp (n=30 women and 25 men).

**Figure 2:** Pearson correlation of % change in caloric intake following the 6-month hypocaloric diet with % change in 1<sup>st</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (A), 2<sup>nd</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (B), total IVGTT AUC glucose/ AUC insulin (mM/uU/mL) (C) and M/I<sub>clamp</sub> (D) during the Botnia clamp (n=30 women and 25 men).

**Figure 3:** Pearson correlation of % change in fiber intake following the 6-month hypocaloric diet with % change in 1<sup>st</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (A), 2<sup>nd</sup> phase GIIS<sub>IVGTT</sub> (B), total IVGTT AUC glucose/ AUC insulin (mM/uU/mL) (C) and M/I<sub>clamp</sub> (D) during the Botnia clamp (n=30 women and 25 men).

**Figure 4:** Percent (A) and absolute (B) changes in fiber intake following the 6-month hypocaloric-induced weight loss study (n=30 women and 25 men).

**Table 1: Subjects' characteristics at baseline and post-intervention, and post-intervention percent changes in these parameters.**

Parameters	Women n=30			Men n=25			p-value		
	Baseline	Post-intervention	% change	Baseline	Post-intervention	% change	Inter-action	Group effect	Time effect
Age (years)	58.3±5.75	59.0±5.85	1.20±0.82	57.4±6.52	58.0±6.59	1.09±0.85	-	-	<0.001
Weight (kg)	80.8±12.1	76.7±11.7	-5.01±4.79	100±19.4	95.2±20.5	-5.03±4.61	-	<0.001	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	31.8±3.78	30.2±3.83	-5.03±4.79	33.2±5.45	31.6±5.74	-4.98±4.55	-	-	<0.001
Total fat mass (kg)	36.4±8.44	33.0±8.42	-9.34±9.16	36.1±13.3	32.3±14.1	-11.3±10.9	-	-	<0.001
Android fat mass (g)	3365±994	2903±1027	-14.4±13.3	4303±1609	3676±1674	-15.5±13.9	-	0.019	<0.001
Gynoid fat mass (g)	6188±1370	5516±1412	-11.1±10.0	4745±1810	4266±1763	-10.38±9.42	-	0.002	<0.001
Android/gynoid fat	0.55±0.13	0.53±0.12	<b>-3.99±7.30‡</b>	<b>0.93±0.19***</b>	<b>0.87±0.17***</b>	<b>-6.19±7.66§</b>	0.016	<0.001	<0.001
Waist (cm)	102±10.7	98.7±11.7	-3.03±6.25	114±12.9	110±14.0	-4.00±4.67	-	0.001	<0.001
Hip (cm)	112±8.15	108±9.73	-3.67±4.96	109±9.90	107±10.7	-2.06±2.77	-	-	<0.001
Plasma TC (mM)	5.57±1.16	5.51±1.22	-0.65±9.68	4.90±0.99	4.67±1.01	-4.36±13.9	-	0.012	-
Plasma HDLC (mM)	1.55±0.49	1.63±0.48	6.91±14.	1.05±0.20	1.11±0.20	6.61±12.5	-	<0.001	0.003
Plasma LDLC (mM)	3.30±0.99	3.26±1.03	-0.60±12.2	2.76±0.57	2.73±0.80	-0.55±21.6	-	0.024	-
Plasma apoB (g/L)	0.91±0.29	0.94±0.31	3.52±15.8	0.96±0.22	0.97±0.28	1.15±18.5	-	-	-
Plasma TG (mM)	1.59±1.01	1.38±0.90	-8.45±30.7	2.41±1.81	1.99±2.08	-8.60±50.1	-	0.048	-
SBP (mmHg)	120±18.1	120±16.9	0.73±9.77	131±13.5	129±14.5	-0.17±8.26	-	0.030	-
DBP (mmHg)	75.8±9.91	75.9±9.16	0.65±8.58	82.3±8.17	80.7±8.68	-0.75±7.36	-	0.034	-
<b><u>Botnia clamp</u></b>									
Plasma glucose (mM)	5.08±0.45	4.90±0.47	-3.40±6.93	5.29±0.50	5.21±0.44	-0.96±8.44	-	0.022	0.025
Plasma insulin (uU/mL)	18.31±5.55	15.5±8.12	<b>-14.6±30.3†</b>	23.0±12.2	15.8±6.28	<b>-23.0±30.1§</b>	0.032	-	<0.001
1 <sup>st</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (uU/mL/10 min)	843±483	680±361	-12.7±29.7	1176±977	936±759	-8.06±44.1	-	-	<0.001
2 <sup>nd</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (uU/mL/50 min)	2813±1583	2387±1521	<b>-11.3±27.3†</b>	<b>4355±3785*</b>	2991±3172	<b>-28.1±28.1*§</b>	0.006	-	<0.001



Total GIIS <sub>IVGTT</sub> (uU/mL/60 min)	3656±1975	3068±1810	<b>-11.99±26.7†</b>	<b>5532±4600*</b>	3927±3737	<b>-24.3±28.7§</b>	0.015	-	<0.001
Total C-peptide secretion <sub>IVGTT</sub> (ng/ml)	314±118	256±102	-18.2±24.6	360±159	283±102	-16.9±30.9	-	-	<0.001
Total IVGTT AUC glucose/ AUC insulin (mM/uU/mL)	0.23±0.13	0.26±0.11	21.0±33.9	0.18±0.10	0.23±0.12	44.8±56.8	-	-	<0.001
M/I <sub>clamp</sub> (mg/kg/min)/(uU/mL)	0.052±0.029	0.052±0.022	5.77±31.4	0.041±0.020	0.062±0.028	<b>63.9±56.4***§</b>	<0.001	-	<0.001
<b><u>Dietary</u></b>									
Energy intake (kcal)	1798±522	1568±436	-10.2±21.7	2527±497	2191±638	-12.2±24.0	-	<0.001	<0.001
Fat intake (g)	70.4±25.6	52.7±21.5	-22.9±22.5	97.2±27.9	79.1±40.3	-16.3±39.1	-	<0.001	<0.001
Saturated fat intake (g)	22.4±9.91	16.4±7.98	-23.3±28.2	31.0±10.1	23.9±13.0	-20.0±38.5	-	0.001	<0.001
Carbohydrate intake (g)	214±74.6	192±48.4	-4.73±25.5	285±62.9	260±74.7	-7.38±26.6	-	<0.001	0.012
Fiber intake (g)	22.4±6.04	21.3±7.64	-0.75±36.0	25.9±8.58	27.8±9.50	12.1±34.5	-	0.010	-
Sugar intake (g)	85.6±44.3	67.7±27.6	-7.08±48.9	88.5±34.3	88.6±34.1	10.5±50.1	-	-	-
Protein intake (g)	77.3±20.8	76.4±21.4	1.65±24.5	108±31.1	103±29.7	-0.37±29.6	-	<0.001	-

Data presented as averages ± SD. Data analyzed by RM 2-way ANOVA with group x time interaction. \*p≤0.05, \*\*p≤0.01, \*\*\*p≤0.001 for differences from women, and †p≤0.05, ‡ p≤0.01, §p≤0.001 for differences from baseline. Data in bold represents statistically significant differences from women. DBP; diastolic blood pressure, GIR; glucose infusion rate, HDLC; high density lipoprotein cholesterol, IVGTT; intravenous-glucose tolerance test, LDLC; low density lipoprotein cholesterol, SBP; systolic blood pressure, TC; total cholesterol, TG; triglycerides.

**Table 2:** Stepwise forward regression analysis to predict percent changes in GIIS<sub>IVGTT</sub> and IS after the hypocaloric diet intervention by percent change in macronutrients.

	Steps	Independent variables	Coefficients	R <sup>2</sup>	<i>p</i> -values
% Change in 2 <sup>nd</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub>	1		-23.53	0.17	0.001
		Sex	13.04		0.082
		% Change BMI	0.27		0.783
		% Change energy intake	-0.03		0.896
		% Change fiber	-0.300	0.24	0.040
% Change in IVGTT AUC glucose/ AUC insulin	1		37.60	0.15	0.001
		Sex	-16.93		0.167
		% Change BMI	-0.17		0.916
		% Change energy intake	0.01		0.984
		% Change fiber	0.536	0.23	0.026
% Change in M/I <sub>clamp</sub>			43.13	0.43	0.000
		Sex	-57.62		0.000
		% Change BMI	-4.05		0.003
		% Change energy intake	-0.00		0.987

Independent variables entered in the regression models were % changes in carbohydrate, protein, fiber, sugar, fat and saturated fat intake. Regression models were adjusted for sex and % change in BMI and energy intake. N=55 subjects (N=30 women and N=25 men).

**Table 3: Differences in sex-matched groups separated based on post-intervention % change in fiber intake**

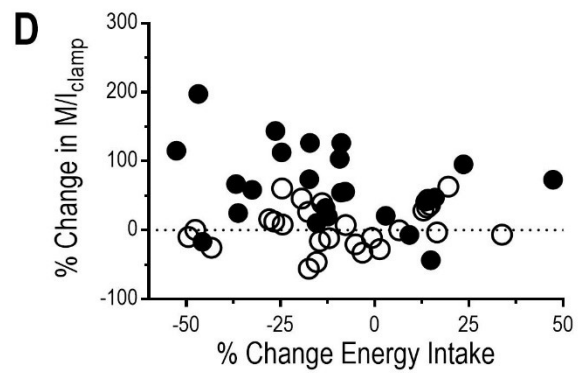
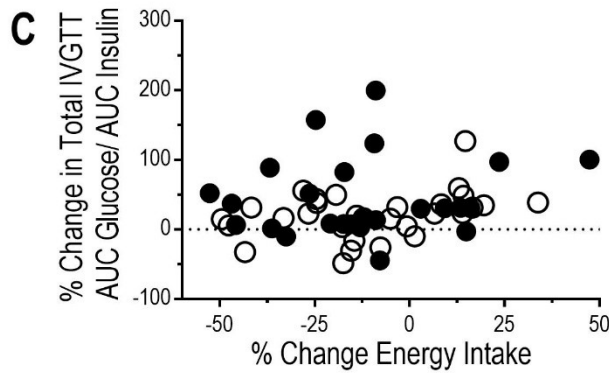
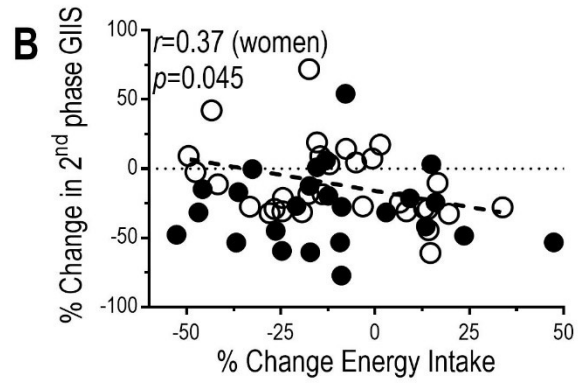
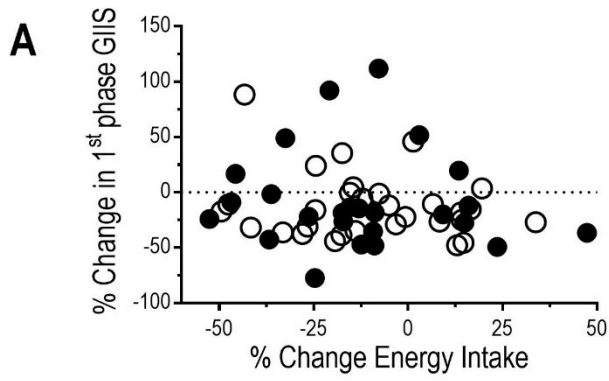
	Decreased % fiber intake (N=27)			Increased % fiber intake (N=28)			<i>p</i> -values		
	Baseline	Post-intervention	% Change	Baseline	Post-intervention	% Change	Inter-action	Group effect	Time effect
Weight (kg)	93.5±20.8	90.0±22.1	-4.07±3.53	85.7±15.2	80.4±13.3	-5.94±5.45	-	-	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.4±5.50	32.1±5.85	-4.08±3.52	31.4±3.39	29.5±3.09	-5.89±5.43	-	-	<0.001
Total fat mass (kg)	39.2±12.2	36.5±13.3	-7.96±8.57	33.4±8.49	29.0±7.27	-12.7±10.7	-	0.021	<0.001
Android fat mass (kg)	4.11±1.56	3.73±1.68	<b>-10.7±12.4§</b>	3.48±1.12	<b>2.80±0.87*</b>	<b>-18.9±13.5*§</b>	0.041	0.032	<0.001
Gynoid fat mass (kg)	5.82±1.72	5.42±1.78	<b>-7.28±8.08§</b>	5.25±1.72	<b>4.49±1.48*</b>	<b>-14.1±10.0**§</b>	0.027	-	<0.001
Android/gynoid fat	0.73±0.23	0.70±0.22	-4.03±7.08	0.71±0.27	0.66±0.24	-5.92±7.85	-	-	<0.001
Waist (cm)	111±13	109±14	-2.04±5.01	104±12	99±11	-4.85±5.80	-	0.009	<0.001
Hip (cm)	113±9	110±12	-2.81±5.03	108±8	105±7	-3.10±3.19	-	0.025	<0.001
Plasma TC (mM)	5.15±1.06	5.12±1.26	-1.02±11.2	5.37±1.19	5.14±1.15	-3.61±12.4	-	-	-
Plasma HDLC (mM)	1.34±0.51	1.40±0.51	5.04±11.9	1.30±0.42	1.39±0.40	8.44±14.5	-	-	0.002
Plasma LDLC (mM)	3.06±0.79	3.00±0.90	-1.94±14.2	3.04±0.94	3.03±1.03	0.74±19.5	-	-	-
Plasma apoB (g/L)	0.91±0.27	0.94±0.30	3.21±14.6	0.96±0.25	0.97±0.29	1.71±19.3	-	-	-
Plasma TGs (mM)	1.65±0.95	1.59±0.98	-1.98±36.6	2.27±1.81	1.73±1.99	-14.8±43.3	-	-	-
SBP (mmHg)	123±18.5	124±19.0	2.58±8.97	126±15.6	124±14.0	-1.71±8.85	-	-	-
DSP (mmHg)	78.0±11.0	78.3±9.99	2.10±8.59	79.5±8.31	77.7±8.57	-1.83±7.15	-	-	-
<b><u>Botnia clamp parameters</u></b>									
Plasma glucose (mM)	5.23±0.54	5.08±0.52	-2.55±7.80	5.12±0.42	5.00±0.44	-2.04±7.69	-	-	0.021
Plasma insulin (uU/mL)	19.9±9.63	16.8±8.71	-13.3±30.3	20.9±9.29	14.5±5.51	-23.4±29.9	-	-	<0.001
1 <sup>st</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (uU/mL/10 min)	901±813	757±648	-7.22±35.7	1084±708	835±527	-13.9±37.7	-	-	<0.001
2 <sup>nd</sup> phase GIIS <sub>IVGTT</sub> (uU/mL/50 min)	3442±3536	3119±3240	<b>-9.41±23.6†</b>	3585±2138	2220±1045	<b>-28.1±30.5*§</b>	0.002	-	<0.001
Total GIIS <sub>IVGTT</sub> (uU/mL/60 min)	4343±4258	3876±3818	<b>-9.91±21.9†</b>	4669±2696	3055±1388	<b>-25.0±31.5*§</b>	0.005	-	<0.001

Total C-peptide secretion <sub>IVGTT</sub> (ng/ml)	326±141	266±102	-15.3±25.4	335±142	262±112	-11.5±66.6	-	-	<0.001
Total IVGTT AUC glucose/ AUC insulin (mM/uU/mL)	0.23±0.13	0.24±0.12	14.4±24.7	0.19±0.11	0.25±0.11	48.6±56.5	-	-	<0.001
M/I <sub>clamp</sub> (mg/kg/min)/(uU/mL)	0.046±0.024	0.051±0.028	16.4±45.6	0.048±0.028	0.062±0.022	48.0±55.8	-	-	0.005
<b><u>Dietary parameters</u></b>									
Energy intake (kcal)	2168±598	1755±596	-18.5±18.7	2092±659	1944±634	-4.00±24.0	-	-	<0.001
Fat intake (g)	82.6±28.3	60.9±29.4	-24.6±27.1	82.5±31.4	68.4±37.8	-15.3±34.2	-	-	<0.001
Saturated fat intake (g)	27.4±11.0	18.4±8.98	-30.3±26.8	25.3±10.7	21.1±12.9	-13.6±36.6	-	-	<0.001
Carbohydrate intake (g)	253±84.6	211±72.5	-13.7±23.2‡	240±71.3	234±66.6	<b>1.58±26.3*</b>	0.042	-	0.008
Fiber intake (g)	25.8±7.43	20.1±7.01	<b>-22.1±15.7§</b>	22.3±7.19	<b>28.3±9.07***</b>	<b>31.3±29.0***§</b>	<0.001	-	-
Sugar intake (g)	89.2±45.0	72.3±29.6	-8.05±44.2	84.7±34.6	81.9±34.4	9.51±53.9	-	-	-
Protein intake (g)	91.2±26.0	84.1±26.2	-6.11±22.4	91.4±34.0	92.3±30.4	7.33±29.1	-	-	-

Data presented as averages ± SD. Data analyzed by RM 2-way ANOVA with group x time interaction. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$  for differences from decreased % fiber intake group, and † $p \leq 0.05$ , ‡  $p \leq 0.01$ , § $p \leq 0.001$  for differences from baseline. Data in bold represents statistically significant differences from subject with decreased % fiber intake. DBP; diastolic blood pressure, GIR; glucose infusion rate, HDLC; high density lipoprotein cholesterol, IVGTT; intravenous-glucose tolerance test, LDLC; low density lipoprotein cholesterol, SBP; systolic blood pressure, TC; total cholesterol, TG; triglycerides.

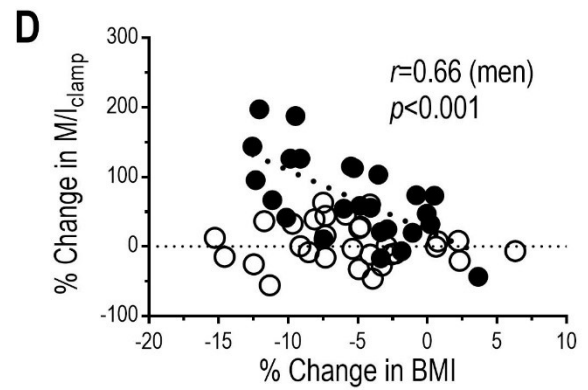
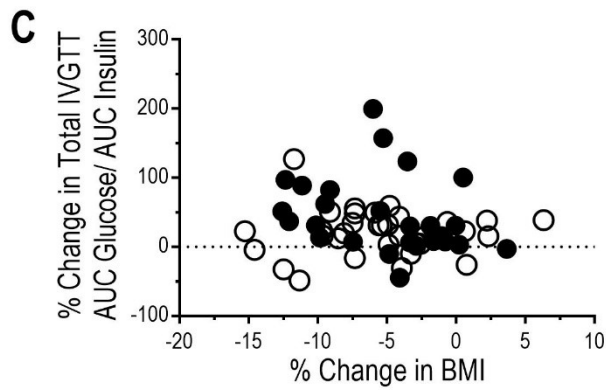
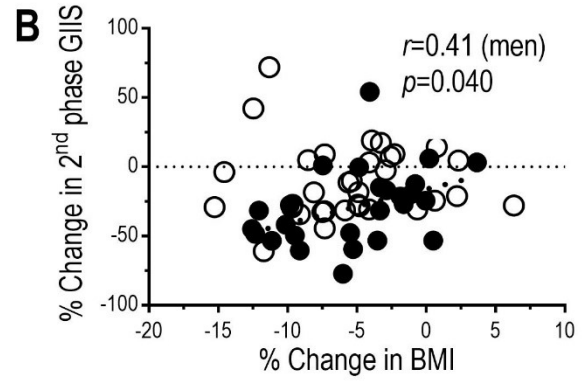
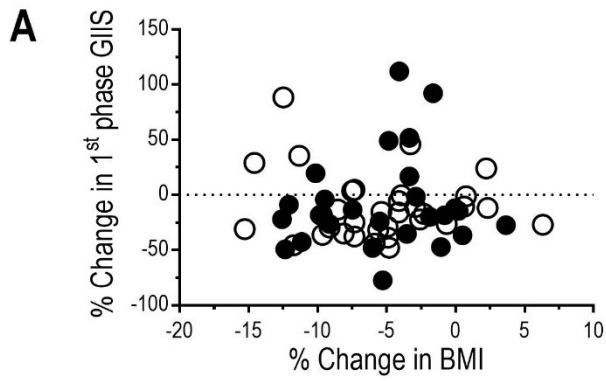
**Figure 1**

○ = women  
● = men



**Figure 2**

○ = women  
● = men



**Figure 3**

○ = women  
● = men

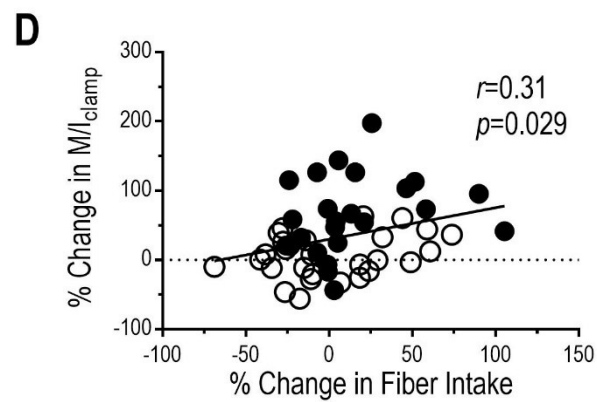
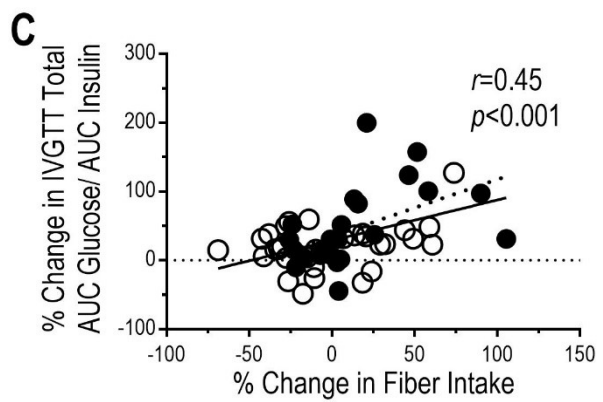
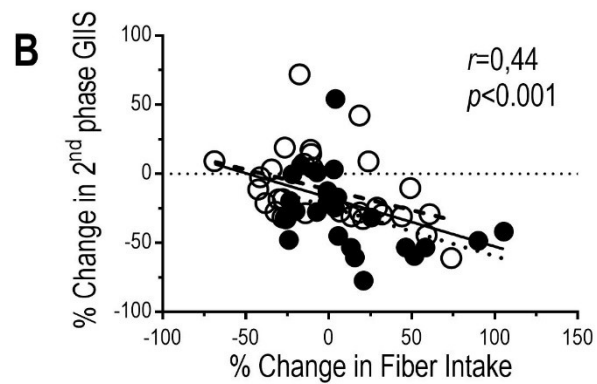
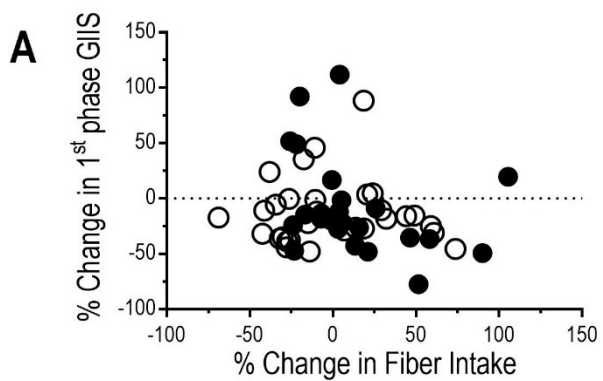
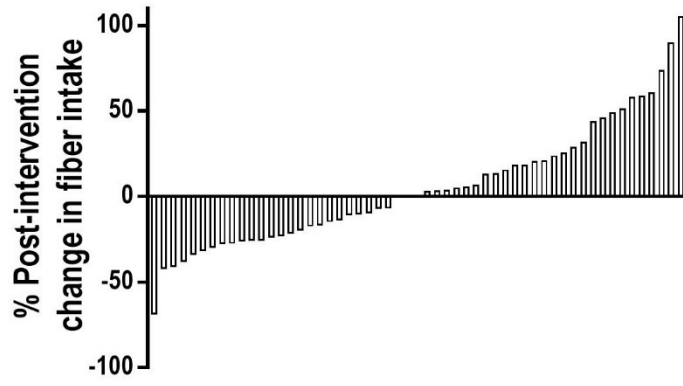
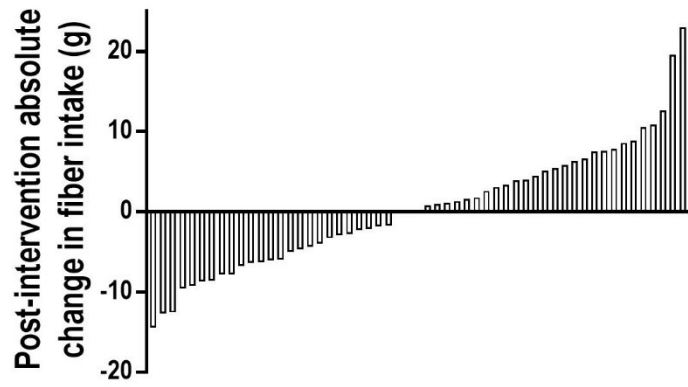


Figure 4

**A**



**B**





## References

1. World Health Organization. Global Report on Diabetes. 2016:88p.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, Seventh Edition. 2015:140p.
3. Christian Weyer CB, David M. Mott, and Richard E. Pratley. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation* 1999;104(6):787-94.
4. Stumvoll M. Control of glycaemia: from molecules to men. Minkowski Lecture 2003. *Diabetologia*. 2004;47(5):770-81.
5. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*. 2005;365(9467):1333-46.
6. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(7):1802-12.
7. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(6):393–403.
8. Magkos F, Fraterrigo G, Yoshino J, Luecking C, Kirbach K, Kelly SC, et al. Effects of Moderate and Subsequent Progressive Weight Loss on Metabolic Function and Adipose Tissue Biology in Humans with Obesity. *Cell Metab*. 2016;23(4):591-601.
9. Cho SS, Qi L, Fahey GC, Jr., Klurfeld DM. Consumption of cereal fiber, mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2013;98(2):594-619.
10. Liu. S, Manson. JE, Stampfer. MJ, Hu. FB, Giovannucci. E, Colditz. GA, et al. A Prospective Study of Whole-Grain Intake and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in US Women. *American Journal of Public Health*. 2000;90(9):1409-15.
11. Liese. AD, Roach. AK, Sparks. KC, Marquart. L, Jr. RBDA, Mayer-Davis. EJ. Whole-grain intake and insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2003;78:965-71.
12. Chandalia. M, Garg. A, Lutjohann. D, Bergmann. Kv, Grundy. SM, Brinkley. LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*. 2000;342(19):1392-8.

13. Pereira. MA, Jr. DRJ, Pins. JJ, Raatz. SK, Gross. MD, Slavin. JL, et al. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2002;75:848-55.
14. Ostman EM, Frid AH, Groop LC, Bjorck IM. A dietary exchange of common bread for tailored bread of low glycaemic index and rich in dietary fibre improved insulin economy in young women with impaired glucose tolerance. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2006;60(3):334-41.
15. Keogh JB, Lau CW, Noakes M, Bowen J, Clifton PM. Effects of meals with high soluble fibre, high amylose barley variant on glucose, insulin, satiety and thermic effect of food in healthy lean women. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2007;61(5):597-604.
16. Robertson. MD, Bickerton. AS, Dennis. AL, Vidal. H, Frayn. KN. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005;82:559-67.
17. Robertson MD, Currie JM, Morgan LM, Jewell DP, Frayn KN. Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects. *Diabetologia*. 2003;46(5):659-65.
18. Robertson MD, Wright JW, Loizon E, Debard C, Vidal H, Shojaee-Moradie F, et al. Insulin-sensitizing effects on muscle and adipose tissue after dietary fiber intake in men and women with metabolic syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(9):3326-32.
19. Weickert. MO, Möhlig. M, Schöfl. C, Arafat. AM, Otto. B, Viehoff. H, et al. Cereal Fiber Improves Whole-Body Insulin Sensitivity in Overweight and Obese Women. *Diabetes Care*. 2006;29(4):775-80.
20. Weickert MO, Roden M, Isken F, Hoffmann D, Nowotny P, Osterhoff M, et al. Effects of supplemented isoenergetic diets differing in cereal fiber and protein content on insulin sensitivity in overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;94(2):459-71.
21. Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Cyr Y, Wassef H, Faraj M. Plasma IL-1Ra: linking hyperapoB to risk factors for type 2 diabetes independent of obesity in humans. *Nutrition & Diabetes*. 2015;5:e180.

22. Bissonnette S, Salem H, Wassef H, Saint-Pierre N, Tardif A, Baass A, et al. Low density lipoprotein delays clearance of triglyceride-rich lipoprotein by human subcutaneous adipose tissue. *Journal of Lipid Research*. 2013;54(5):1466-76.
23. Lamantia V, Bissonnette S, Wassef H, Cyr Y, Baass A, Dufour R, et al. ApoB-lipoproteins and dysfunctional white adipose tissue: Relation to risk factors for type 2 diabetes in humans. *Journal of Clinical Lipidology*. 2017;11(1):34-45 e2.
24. Wassef H, Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Cyr Y, Chretien M, et al. The apoB-to-PCSK9 ratio: A new index for metabolic risk in humans. *Journal of Clinical Lipidology*. 2015;9(5):664-75.
25. Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Leroux C, Provost V, Cyr Y, et al. High plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate white adipose tissue dysfunction, glucose-induced hyperinsulinemia and insulin resistance after a hypocaloric diet *American Journal of Clinical Nutrition*. 2017:Submitted.
26. Faraj M, Lavoie ME, Messier L, Bastard JP, Prud'homme D. Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in post-menopausal women: A MONET study. *Atherosclerosis*. 2010;211(2):682-8.
27. Health Canada. Dietary Reference Intakes 2006 [14-12-2017]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy-eating/dietary-reference-intakes/tables/reference-values-macronutrients-dietary-reference-intakes-tables-2005.html>.
28. Tripathy. D, Wessman. Y, Gullström. M, Tuomi. T, Groop. L. Importance of Obtaining Independent Measures of Insulin Secretion and Insulin Sensitivity During the Same Test: Results with the Botnia clamp. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1395-401.
29. Sebastian Barg LE, Erik Renström, Patrik Rorsman. A Subset of 50 Secretory Granules in Close Contact With L-Type Ca<sup>2+</sup> Channels Accounts for First-Phase Insulin Secretion in Mouse Beta-Cells. *Diabetes*. 2002;51(Supplement 1):S74-82.
30. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*. 2011;121(6):2118-25.
31. Cerasi E, Ktorza A. [Anatomical and functional plasticity of pancreatic beta-cells and type 2 diabetes]. *Medecine Sciences (Paris)*. 2007;23(10):885-94.

32. Weir. GC, Bonner-Weir. S. Five Stages of Evolving Beta-Cell Dysfunction During Progression to Diabetes. *Diabetes*. 2004;53:S16-S21.
33. Weickert. MO, Pfeiffer. AFH. Metabolic Effects of Dietary Fiber Consumption and Prevention of Diabetes. *Journal of Nutrition*. 2008;138:439-42.
34. Rebello CJ, O'Neil CE, Greenway FL. Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety. *Nutrition Reviews*. 2016;74(2):131-47.
35. Samra. RA, Anderson. GH. Insoluble cereal fiber reduces appetite and short-term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2007;86:972-9.
36. Lattimer JM, Haub MD. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*. 2010;2(12):1266-89.
37. Menshikova EV, Ritov VB, Dube JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FGS, et al. Calorie Restriction-induced Weight Loss and Exercise Have Differential Effects on Skeletal Muscle Mitochondria Despite Similar Effects on Insulin Sensitivity. *Journals of Gerontology series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2017.
38. Baer. DJ, Rumpler. WV, Miles. CW, George C. Fahey J. Dietary Fiber Decreases the Metabolizable Energy Content and Nutrient Digestibility of Mixed Diets Fed to Humans. *Journal of Nutrition*. 1997;127:579-86.
39. Reppas C, Swidan SZ, Tobey SW, Turowski M, Dressman JB. Hydroxypropylmethylcellulose significantly lowers blood cholesterol in mildly hypercholesterolemic human subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2009;63(1):71-7.
40. Slavin JL. Dietary fiber and body weight. *Nutrition*. 2005;21(3):411-8.
41. Lamantia V, Sniderman A, Faraj M. Nutritional management of hyperapoB. *Nutrition Research Reviews*. 2016;29(2):202-33.
42. Ho HV, Sievenpiper JL, Zurbau A, Blanco Mejia S, Jovanovski E, Au-Yeung F, et al. The effect of oat beta-glucan on LDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol and apoB for CVD risk reduction: a systematic review and meta-analysis of randomised-controlled trials. *British Journal of Nutrition*. 2016;116(8):1369-82.
43. Maki KC, Carson ML, Miller MP, Anderson WH, Turowski M, Reeves MS, et al. Hydroxypropylmethylcellulose lowers cholesterol in statin-treated men and women with

- primary hypercholesterolemia. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2009;63(8):1001-7.
44. Shrestha S, Volek JS, Udani J, J.Wood R, Greene CM, Aggarwal D, et al. A Combination Therapy Including Psyllium and Plant Sterols Lowers LDL Cholesterol by Modifying Lipoprotein Metabolism in Hypercholesterolemic Individuals. *Journal of Nutrition*. 2006;136:2492-7.
  45. Roehrich ME, Mooser V, Lenain V, Herz J, Nimpf J, Azhar S, et al. Insulin-secreting beta-cell dysfunction induced by human lipoproteins. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(20):18368-75.
  46. Rutti S, Ehses JA, Sibler RA, Prazak R, Rohrer L, Georgopoulos S, et al. Low- and high-density lipoproteins modulate function, apoptosis, and proliferation of primary human and murine pancreatic beta-cells. *Endocrinology*. 2009;150(10):4521-30.
  47. Salomaa V, Havulinna A, Saarela O, Zeller T, Jousilahti P, Jula A, et al. Thirty-one novel biomarkers as predictors for clinically incident diabetes. *PLoS One*. 2010;5(4):e10100.
  48. Ley SH, Harris SB, Connelly PW, Mamakeesick M, Gittelsohn J, Wolever TM, et al. Association of Apolipoprotein B with Incident Type 2 Diabetes in an Aboriginal Canadian Population. *Clinical Chemistry*. 2010;56(4):666-70.
  49. Onat A, Can G, Hergenc G, Yazici M, Karabulut A, Albayrak S. Serum apolipoprotein B predicts dyslipidemia, metabolic syndrome and, in women, hypertension and diabetes, independent of markers of central obesity and inflammation. *International Journal of Obesity*. 2007;31(7):1119-25.
  50. Hwang Y-C, Ahn H-Y, Park S-W, Park C-Y. Apolipoprotein B and non-HDL cholesterol are more powerful predictors for incident type 2 diabetes than fasting glucose or glycated hemoglobin in subjects with normal glucose tolerance: a 3.3-year retrospective longitudinal study. *Acta Diabetologica*. 2014;51(6):941-6.
  51. Faraj M, Messier L, Bastard JP, Tardif A, Godbout A, Prud'homme D, et al. Apolipoprotein B: a predictor of inflammatory status in postmenopausal overweight and obese women. *Diabetologia*. 2006;49(7):1637-46.
  52. Simpson HL, Campbell BJ. Review article: dietary fibre-microbiota interactions. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2015;42(2):158-79.

53. Yoo JY, Kim SS. Probiotics and Prebiotics: Present Status and Future Perspectives on Metabolic Disorders. *Nutrients*. 2016;8(3):173.

## Chapitre 7 : Discussion

Deux prédicteurs importants de l'amélioration des facteurs de risque de DT2 sont ressortis de nos analyses, tel qu'exposé dans les deux articles inclus dans ce mémoire. D'abord, le taux d'apoB plasmatique au début de l'étude est un prédicteur de l'augmentation de la fonction du TAB et de la SI, ainsi que de la diminution de la SIIG après l'intervention de diète hypocalorique. Cette relation demeure, dans le cas de la SIIG et de la fonction du TAB, même après ajustement pour le sexe, le changement d'IMC, de masse grasse androïde et du ratio androïde/gynoïde. Ensuite, le pourcentage de changement d'apport en fibres après la diète prédit l'augmentation de la SI ainsi que la réduction de la SIIG. L'association avec la 2<sup>e</sup> phase de SIIG et la SI calculée durant le TTGIV n'est pas éliminée par l'ajustement pour le sexe, le changement d'IMC et le changement d'apport calorique, et est indépendante des autres macronutriments (glucides, sucre, lipides totaux et saturés, protéines). Dans les deux articles, la séparation de la population en deux groupes appariés pour le sexe – selon leur taux plasmatique d'apoB au début de l'étude (bas vs. haut) ou le changement d'apport en fibres (apport diminué vs. apport augmenté) – révèle de plus importantes améliorations des facteurs de risque de DT2 dans les groupes «taux d'apoB élevé» et «augmentation de l'apport en fibres».

Un taux élevé d'apoB lipoprotéines plasmatique est associé à un risque accru de développer le DT2 ainsi qu'aux facteurs de risque de DT2, tel qu'exposé dans la revue de littérature. En effet, le taux d'apoB plasmatique prédit l'incidence du DT2 (50-53), l'inflammation (20, 54), la RI (20, 54), l'hyperinsulinémie en réponse au glucose (20, 30, 144) et la dysfonction du TAB (30, 44). De plus, des études de notre laboratoire (30, 44) et d'autres laboratoires (56-59) ont montré que, plus qu'une simple corrélation, l'apoB induit des anomalies au niveau de la fonction du TAB, de la sécrétion d'insuline et de la SI. Au niveau du TAB, l'apoB a à la fois un effet chronique, nuisant à la différenciation de pré-adipocytes en adipocytes, et aigu, induisant une dysfonction de la LPL et réduisant la capacité du TAB à hydrolyser les TG et stocker les AGL (30, 44). Pour ce qui est de la sécrétion d'insuline, des études sur des cellules et des modèles animaux montrent une internalisation des particules de LDL dans les cellules  $\beta$  du pancréas, ce qui induit une réduction de la prolifération de ces cellules et de la sécrétion d'insuline, et une augmentation de l'apoptose (56-58). Cela pourrait être un

mécanisme liant directement l'hyperapoB plasmatique au développement du DT2 par la défaillance des cellules  $\beta$  du pancréas. Une étude sur des cellules musculaires lie quant à elle l'hyperapoB plasmatique à la RI; l'incubation des cellules avec des lipoprotéines riches en TG induit des défauts dans le métabolisme des glucides et la signalisation de l'insuline dans les cellules (59).

Comme expliqué dans la revue de la littérature, chacun des facteurs de risque de DT2 exposé dans ce mémoire est relié avec les autres; le TAB dysfonctionnel ne capte pas les TG des lipoprotéines riches en TG et relâche trop d'AGL en circulation (41), ce qui cause des dépôts ectopiques de ces lipides au niveau viscéral, musculaire, hépatique et pancréatique (45), ce qui augmente la RI périphérique et les anomalies de sécrétion d'insuline (31). L'arrivée de lipides au foie, couplée à la RI qui limite l'action de l'insuline d'inhiber la sécrétion de VLDL, stimule la sécrétion accrue de VLDL et donc fait augmenter le taux d'apoB (23, 29). L'apoB à son tour accentue la dysfonction du TAB, la RI et des défauts de sécrétion d'insuline (44). Ce cercle vicieux explique que l'on retrouve souvent ces anomalies simultanément chez un même sujet et qu'une anomalie puisse en prédire une autre (20, 30, 44, 54). En effet, dans la population étudiée, les sujets avec taux d'apoB plasmatique plus élevé au début de l'intervention présentaient une moindre SI et une 2<sup>e</sup> phase de SIIG plus élevée dans le TTGIV. Il est possible que ce soit les sujets avec taux d'apoB élevé qui aient le plus amélioré leurs facteurs de risque de DT2 puisque la perte de poids vient arrêter l'engrenage entre les différents facteurs de risque, ce qui entraîne des améliorations substantielles. L'utilisation de la simple mesure du taux d'apoB plasmatique à jeun permettrait l'identification des sujets susceptibles d'avoir la meilleure réponse métabolique à une intervention de diète hypocalorique. Cette identification n'est pas possible dans notre population en utilisant des indices du métabolisme des glucides à jeun (HOMA-IR, insuline, c-peptide ou glycémie), puisque ceux-ci n'étaient pas différents entre les sujets avec taux d'apoB bas ou élevé. De plus, l'utilisation du clamp Botnia pour évaluer la SI et la SIIG n'est pas possible dans un contexte clinique, puisqu'il s'agit d'un test invasif et long.

Tel que vu dans la revue de la littérature, les interventions entraînant une perte de poids (diminution de 6 à 12% du poids initial) par diète hypocalorique peuvent mener à une réduction de l'apoB plasmatique (85, 150), et cette réduction peut être accompagnée d'améliorations dans certains facteurs de risque de DT2, comme la RI et l'inflammation (150). Dans notre étude, nous



n'avons pas observé de diminution de l'apoB après l'intervention ayant entraîné une perte de 5% du poids, mais les sujets ont tout de même amélioré les facteurs de risque de DT2 que sont la dysfonction du TAB, la RI et l'hyperinsulinémie. Il n'a pas été évalué si la diminution de l'apoB promouvait de plus grandes améliorations de ces facteurs de risque lorsque combinée à une perte de poids.

Le deuxième prédicteur de l'amélioration des facteurs de risque de DT2 ayant ressorti de nos analyses est le changement d'apport en fibre alimentaires. Les fibres alimentaires font partie des nutriments pour lesquels le plus d'évidences ont été trouvées dans la revue de littérature quant à la réduction de l'incidence de DT2 et l'amélioration des facteurs de risque de DT2, autant dans des études épidémiologiques qu'interventionnelles. Un apport élevé en fibres et en aliments riches en fibres (grains entiers, fruits, légumes, légumineuses, noix et graines), ainsi que des modèles alimentaires privilégiant ces types d'aliments, ont été associés dans plusieurs études à une incidence réduite de DT2 (46, 62, 93-96, 119) et à une meilleure SI (24-28). De plus, les grandes études sur la prévention du DT2 ayant prouvé pouvoir réduire l'incidence du DT2 dans des populations à risque, telles que le *Diabetes Prevention Program*, *DaQing IGT and Diabetes Study* et la *Finnish Diabetes Prevention Study*, mettaient l'accent sur une diète riche en fibres (6-8). Plusieurs études randomisées contrôlées en chassé-croisé ont démontré pouvoir augmenter la SI en augmentant l'apport en fibres des participants par suppléments (123, 125, 126, 128), aliments enrichis en fibres (124), ou en mettant l'accent sur des aliments riches en fibres (127), et ce après des interventions aussi courtes que 24 heures (128). Une diète riche en fibres a aussi démontré un effet bénéfique sur la sécrétion d'insuline durant un TTGIV (129). Bien que les fibres n'aient pas été associées directement à la fonction du TAB dans les études, elles ont été associées à une quantité moindre de TAB viscéral (134), fraction du tissu adipeux qui est particulièrement active métaboliquement et associée au développement du DT2 (41). Une supplémentation d'amidon résistant a aussi démontré augmenter l'expression de gènes associés au métabolisme des lipides dans le tissu adipeux, ce qui suggère une meilleure fonction (126). Un lien est également à faire entre la consommation de fibres et l'apoB : un apport plus élevé en fibres est associé à un taux d'apoB plus bas dans une population française (138), et certaines fibres comme le psyllium,

l'hydroxypropylméthylcellulose et les  $\beta$ -glucanes ont démontré pouvoir réduire l'apoB plasmatique lors d'interventions (85, 139, 141).

Bref, l'apport en fibres alimentaires est associé à tous les facteurs de risque de DT2 examinés dans ce mémoire. Cependant, ces liens sont plus évidents avec la RI et l'hyperinsulinémie qu'avec l'hyperapoB et la dysfonction du TAB. En effet, beaucoup d'études ont démontré les effets bénéfiques d'un apport élevé en fibres sur la RI et l'hyperinsulinémie, alors que dans le cas de l'apoB l'effet est généralement très modeste, et que dans le cas de la dysfonction du TAB, ce sont des paramètres associés à une moins bonne fonction plutôt que la fonction directement qui a été évaluée. De plus, il n'y a pas eu d'amélioration de la fonction du TAB ou du taux d'apoB en moyenne dans notre population, probablement en raison des critères d'inclusion et d'exclusion qui faisaient en sorte que nos participants étaient en santé, ce qui limite la capacité de faire des analyses corrélatives. Cela peut expliquer l'absence d'associations observées dans notre population entre le changement d'apport en fibres durant notre intervention hypocalorique et le changement de fonction du TAB et d'apoB plasmatique. Il est aussi important de noter que l'ensemble des études dans lesquelles un changement d'apport en fibres a démontré améliorer les facteurs de risque de DT2 étaient des interventions isocaloriques, et donc n'induisant pas de perte de poids, alors que notre étude comprenait une intervention hypocalorique. L'effet de différents niveaux d'apport en fibres durant une diète hypocalorique sur la sensibilité à et la sécrétion d'insuline n'a pas été évaluée, bien qu'une diète hypocalorique riche en fibres a démontré induire une plus grande perte de poids qu'une diète hypocalorique pauvre en fibres (151).

Il est aussi important de noter que la réduction de SIIG plus importante observée chez les sujets ayant augmenté leur apport en fibres, comparativement à ceux l'ayant diminué, pourrait en partie être attribuable à une clairance plus rapide de l'insuline en circulation. Dans l'ensemble de la population, la diminution de la SIIG a été accompagnée par une diminution de la sécrétion de C-peptide, signifiant qu'il y a réellement eu réduction de la sécrétion d'insuline et non seulement de la concentration d'insuline. Cependant, lorsque l'on compare les sujets séparés selon leur changement d'apport en fibres, on remarque une diminution de la SIIG significativement plus importante chez les sujets ayant augmenté leur apport en fibres, alors qu'il n'y a pas de différence significative dans le changement de sécrétion de C-peptide entre

les groupes. Certaines études ont rapporté une augmentation similaire de la clairance de l'insuline avec une supplémentation en fibres, plus spécifiquement, en amidon résistant (125, 128). La clairance de l'insuline est associée positivement à la sensibilité à l'insuline, et négativement à la glycémie à jeun et 2 heures après un TTGIV, à l'insulinémie à jeun et à la SIIG (152).

Plusieurs mécanismes pourraient expliquer la SI accrue et la SIIG moindre que nous avons remarquées chez les sujets ayant augmenté leur apport en fibres – polysaccharides non digérés par les enzymes sécrétées par le corps humain et non absorbées dans l'intestin grêle (153) – et qui ont été rapportées dans de nombreuses études. Premièrement, au niveau de l'estomac, les fibres, particulièrement celles qui sont solubles, absorbent de l'eau et forment un gel, ce qui ralentit la vidange gastrique et augmente la satiété (153-157). Ces effets peuvent réduire l'apport calorique car le rassasiement sera plus rapidement atteint et la faim se fera sentir plus tard (158). Deuxièmement, les fibres solubles réduisent l'absorption de certains nutriments au niveau de l'intestin grêle, particulièrement les glucides et le cholestérol alimentaire, en les emprisonnant dans la matrice de fibres, ce qui réduit le contact des nutriments avec la muqueuse intestinale et avec les enzymes digestives (157). Cela contribue à réduire la quantité d'énergie provenant de la diète qui sera absorbée (156, 157, 159). Un apport calorique réduit peut mener à une perte de poids, et celle-ci est reconnue pour augmenter la SI (66, 67).

Troisièmement, les fibres, après avoir traversé l'intestin grêle intactes, sont partiellement fermentées dans le côlon par les bactéries s'y trouvant. Cette fermentation produit des acides gras à chaîne courte, qui servent de source d'énergie pour les cellules intestinales, et réduisent le pH dans le côlon, favorisant la croissance de certaines espèces bactériennes et limitant celle d'espèces nuisibles (153, 160). D'ailleurs, une diète riche en fibres est associée à une plus grande diversité bactérienne qu'une diète pauvre en fibres (161), et des études interventionnelles montrent qu'il est possible de moduler le microbiote par une alimentation plus riche en fibres (160, 161). De plus en plus d'études indiquent que la composition du microbiote pourrait influencer la SI et le développement du DT2 (162-164). Par exemple, l'infusion de microbiote de sujets sains et de poids normal chez des sujets avec syndrome métabolique a permis d'augmenter la diversité du microbiote des sujets avec syndrome métabolique après 6 semaines

et d'augmenter leur SI durant un clamp HIEG (163). La production accrue d'acides gras à chaîne courte par le microbiote sain pourrait expliquer cette amélioration de la SI (162, 164).

Finalement, un apport augmenté en fibres peut être associé à l'amélioration de la SI et de la SIIG par la réduction des lipoprotéines porteuses d'apoB. Comme expliqué plus haut dans ce mémoire, ces lipoprotéines induisent des anomalies au niveau de la fonction du TAB, de la RI et de la sécrétion d'insuline, et une diminution de l'apoB plasmatique pourrait favoriser une amélioration de la SI (150). Certaines fibres solubles – psyllium,  $\beta$ -glucanes et hydroxypropylméthylcellulose – ont démontré pouvoir réduire l'apoB (85, 139-141), et cet effet serait relié à la capacité de ces fibres de réduire l'absorption des lipides et du cholestérol (165).

D'autres nutriments pourraient être des prédictors de l'amélioration des facteurs de risque de DT2; il s'agit du sucre, de l'alcool, et des lipides saturés et trans. Le sucre et les lipides saturés n'ont pas été associés significativement aux changements de SI, SIIG, fonction du TAB et apoB dans notre étude. L'alcool était peu consommé par notre population, puisque l'un des critères d'inclusion était une faible consommation d'alcool. Ainsi, l'apport moyen en alcool représentait environ 2-3% de l'apport calorique de nos participants avant et durant l'intervention, mais l'apport médian était presque nul puisqu'une grande proportion de sujets ne consommait pas d'alcool, donc nous n'avons pas pu associer les changements des facteurs de risque de DT2 à l'apport en alcool. Pour ce qui est des gras trans, les données étaient incomplètes puisqu'elles ne se trouvaient pas sur toutes les étiquettes d'aliments analysées, et donc aucune analyse n'a pu être conduite. Il est possible que même avec des données complètes, aucune association n'ait été trouvée puisque l'apport en gras trans est assez faible en raison des limites imposées par Santé Canada quant à la teneur en gras trans des aliments, alors que dans les études liant ces lipides aux facteurs de risque de DT2, l'apport en gras trans était assez élevé (85).

Notre étude présente plusieurs forces dignes de mention. Il s'agit, à notre connaissance, de la première étude désignant les sujets hyperapoB comme plus susceptibles d'améliorer les facteurs de risque de DT2 que sont la dysfonction du TAB, la RI et l'hyperinsulinémie, ainsi que montrant des associations entre le changement d'apport en fibres après une diète hypocalorique et l'amélioration de la SI et de la SIIG. Ces résultats nous permettent de cibler une population qui bénéficierait probablement plus d'interventions hypocaloriques, ainsi qu'un moyen d'augmenter l'efficacité de cette intervention en modulant la composition de la diète.

Une autre force importante de notre étude est l'utilisation de la méthode de référence pour la mesure de la sécrétion d'insuline et de la SI durant un même test, le clamp Botnia. Ce test en deux étapes permet en effet d'obtenir des mesures de sensibilité et sécrétion d'insuline aussi fiables qu'en effectuant les deux parties du test séparément (TTGIV et clamp HIEG), avec l'avantage de ne nécessiter qu'une journée pour les sujets et l'équipe de recherche (166). Nos méthodes pour la mesure de la fonction du TAB, *in vivo* par la clairance des TG totaux et diététiques marqués au  $^{13}\text{C}$  et *ex vivo* par la capacité de la biopsie de TAB à hydrolyser et stocker un substrat synthétique de chylomicron marqué au  $^3\text{H}$ , permettent de mesurer directement la fonction active du TAB, plutôt que de l'estimer en utilisant d'autres marqueurs (comme par exemple la taille des adipocytes). Les sujets inclus dans notre étude sont très bien caractérisés; ils correspondaient à de nombreux critères d'inclusion et étaient exempts de problèmes de santé pouvant agir comme facteurs confondants pour nos résultats. Nous avons recueilli beaucoup d'informations sur nos sujets (composition corporelle, apports alimentaires, marqueurs inflammatoires, etc.) ce qui nous a permis de découvrir des associations et d'ajuster pour l'effet de certaines caractéristiques. De plus, notre échantillon contenait à la fois des hommes et des femmes, ce qui n'est pas le cas de toutes les études effectuées sur les facteurs de risque de DT2. Cela nous permet de voir si une différence existe entre les sexes dans la réponse à l'intervention, puisque, comme expliqué dans la revue de littérature, certaines différences existent entre les hommes et les femmes au niveau de la SI, de la sécrétion d'insuline, de la fonction du TAB et du taux d'apoB. Ces différences ont pu être remarquées dans notre population : au début de l'étude, les femmes présentaient une SI supérieure à celle des hommes, et leur insulinémie à jeun, leur SIIG et leur ratio de graisse androïde/gynoïde était plus bas que ceux des hommes. Le taux d'apoB était comparable entre les deux sexes, probablement puisque les femmes de notre échantillon étaient ménopausées. Les hommes ont amélioré davantage les anomalies prédisposant au DT2 avec l'intervention de diète hypocalorique. Cependant, dans les deux articles présentés dans ce mémoire, il n'y avait pas de différence significative entre les femmes et les hommes au niveau des associations de l'apoB au début de l'étude et du pourcentage de changement d'apport en fibres après l'étude avec les pourcentages de changement dans les facteurs de risque de DT2.

Si notre étude comporte plusieurs forces, elle a également ses limites. Notre étude a permis de faire ressortir deux prédicteurs de l'amélioration des facteurs de risque de DT2, soit l'apoB plasmatique au début de l'étude et le changement d'apport en fibres après l'intervention, mais ces relations demeurent des associations et d'autres études seraient nécessaire pour valider ces résultats. De plus, les analyses conduites sur le changement d'apport en fibres en lien avec les facteurs de risque de DT2 sont des analyses post-hoc; comparer l'effet d'une augmentation versus une diminution de l'apport en fibres durant la diète hypocalorique sur les facteurs de risque de DT2 n'était pas un des buts visés par l'étude. Les sujets avaient déjà des apports en fibres assez près des recommandations au début de l'étude (22,4 g/jour en moyenne pour les femmes, 25,9 g/jour pour les hommes, recommandations de 25g/jour pour les femmes, 38g/jour hommes, ou 14g/1000cal (148)), et ils recevaient des conseils pour augmenter leur apport. L'absence de différenciation entre les fibres solubles et insolubles dans nos analyses, puisque nous utilisons les informations nutritionnelles présentes dans les tableaux de valeur nutritives des emballages des aliments pour mesurer les apports alimentaires, est aussi une limite, puisque les différents types de fibres peuvent avoir des effets distincts sur la sensibilité à et la sécrétion d'insuline. Une autre limite, commune à la plupart des études en nutrition chez des sujets qui ne consomment pas l'ensemble de leurs repas au centre de recherche, concerne l'évaluation des apports alimentaires, qui peut comporter plusieurs biais et est souvent sous-estimée chez les sujets obèses (167). Nous avons ici évalué les apports alimentaires avant l'intervention et vers la fin de l'intervention par des journaux alimentaires de 3 jours. Les sujets recevaient comme instruction d'inscrire de façon détaillée tous les aliments et boissons consommés durant deux journées de semaine et un jour de fin de semaine représentatifs de leur alimentation habituelle. Cependant, des détails peuvent manquer par oubli de la part des sujets, les quantités peuvent avoir été mal mesurées ou mal estimées, et les trois jours choisis peuvent ne pas représenter fidèlement l'alimentation habituelle des sujets.

## Conclusion

Notre étude prospective observant les effets d'une diète hypocalorique sur les facteurs de risque de DT2 que sont la RI, l'hyperinsulinémie, la dysfonction du TAB, l'hypertriglycéridémie post-prandiale et l'hyperapoB plasmatique nous a permis d'identifier deux prédicteurs de l'amélioration de ces facteurs de risque. Les résultats de l'étude, présentés dans ce mémoire par deux articles, ont mis en évidence le taux d'apoB au début de l'étude et le changement d'apport en fibres alimentaires comme prédicteurs des améliorations de SI, SIIG et fonction du TAB. Le taux d'apoB plasmatique au début de l'étude était associé à des anomalies plus marquées au début de l'étude, mais aussi à des améliorations plus importantes de ces anomalies. Ces associations étaient mises en lumière par la comparaison entre les sujets avec un taux d'apoB bas et ceux avec un taux d'apoB élevé. Le changement d'apport en fibres alimentaires, quant à lui, corrélait positivement avec le changement de SI et négativement avec le changement de SIIG, mais la comparaison des sujets ayant diminué leur apport en fibres à ceux l'ayant augmenté faisait seulement ressortir la plus grande diminution de SIIG avec un apport accru en fibres.

Les grands programmes de prévention du DT2 (*Diabetes Prevention Program, Finnish Diabetes Prevention Study, Da Qing IGT and Diabetes Study* (6-8)) ont ciblé les sujets avec anomalie de la glycémie à jeun ou intolérance au glucose après une HGPO, puisque ces sujets sont à risque élevé de développer le DT2. Les résultats de notre étude permettent d'identifier une autre caractéristique importante des sujets à risque de DT2 et susceptibles d'améliorer considérablement leurs facteurs de risque de DT2, soit un taux d'apoB plasmatique à jeun élevé. Cette découverte pourra permettre de cibler les sujets qui bénéficieraient le plus d'interventions hypocaloriques et ce, par une simple prise de sang. Nos résultats indiquent également une façon de moduler la diète pour maximiser les bénéfices au niveau de la SI et de la SIIG, soit en augmentant l'apport en fibres alimentaires.

## Bibliographie

1. World Health Organization. Global Report on Diabetes. 2016:88p.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, Seventh Edition. 2015:140p.
3. NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4·4 million participants. *The Lancet*. 2016;387(10027):1513-30.
4. Lee DS, Chiu M, Manuel DG, Tu K, Wang X, Austin PC, et al. Trends in risk factors for cardiovascular disease in Canada: temporal, socio-demographic and geographic factors. *Canadian Medical Association Journal*. 2009;181(3-4):E55-66.
5. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2014;103(2):137-49.
6. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(6):393–403.
7. Pan X-R, Li G-W, Hu Y-H, Wang J-X, Yang W-W, An Z-X, et al. Effects of Diet and Exercise in Preventing NIDDM in People with Impaired Glucose Tolerance. *Diabetes Care*. 1997;20(4):537-44.
8. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(18):1343-50.
9. de Boer IH, Rue TC, Hall YN, Heagerty PJ, Weiss NS, Himmelfarb J. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *Journal of the American Medical Association*. 2011;305(24):2532-9.
10. Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, de Boer IH, Goldstein-Fuchs J, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes Care*. 2014;37(10):2864-83.



11. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-64.
12. Ting DS, Cheung GC, Wong TY. Diabetic retinopathy: global prevalence, major risk factors, screening practices and public health challenges: a review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2016;44(4):260-77.
13. Gregg EW, Sorlie P, Paulose-Ram R, Gu Q, Eberhardt MS, Wolz M, et al. Prevalence of Lower-Extremity Disease in the U.S. Adult Population >40 Years of Age With and Without Diabetes *Diabetes Care*. 2004;27(7):1591-7.
14. Seuring T, Archangelidi O, Suhrcke M. The Economic Costs of Type 2 Diabetes: A Global Systematic Review. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(8):811-31.
15. Cerasi E, Ktorza A. [Anatomical and functional plasticity of pancreatic beta-cells and type 2 diabetes]. *Medecine Sciences (Paris)*. 2007;23(10):885-94.
16. Stumvoll M. Control of glycaemia: from molecules to men. Minkowski Lecture 2003. *Diabetologia*. 2004;47(5):770-81.
17. Polonsky KS, Given BD, Hirsch L, Shapiro ET, Tillil H, Beebe C, et al. Quantitative Study of Insulin Secretion and Clearance in Normal and Obese Subjects. *Journal of Clinical Investigation*. 1988;81:435-41.
18. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(7):1802-12.
19. Retnakaran R, Shen S, Hanley AJ, Vuksan V, Hamilton JK, Zinman B. Hyperbolic relationship between insulin secretion and sensitivity on oral glucose tolerance test. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(8):1901-7.
20. Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Cyr Y, Wassef H, Faraj M. Plasma IL-1Ra: linking hyperapoB to risk factors for type 2 diabetes independent of obesity in humans. *Nutrition & Diabetes*. 2015;5:e180.
21. Stumvoll M, Tataranni PA, Stefan N, Vozarova B, Bogardus C. Glucose Allostasis. *Diabetes*. 2003;52:903-9.
22. Weir GC, Bonner-Weir S. Five Stages of Evolving Beta-Cell Dysfunction During Progression to Diabetes. *Diabetes*. 2004;53:S16-S21.

23. McQuaid SE, Hodson L, Neville MJ, Dennis AL, Cheeseman J, Humphreys SM, et al. Downregulation of adipose tissue fatty acid trafficking in obesity: a driver for ectopic fat deposition? *Diabetes*. 2011;60(1):47-55.
24. Liese AD, Schulz M, Moore CG, Mayer-Davis EJ. Dietary patterns, insulin sensitivity and adiposity in the multi-ethnic Insulin Resistance Atherosclerosis Study population. *British Journal of Nutrition*. 2007;92(06):973.
25. Liese AD, Roach AK, Sparks KC, Marquart L, D'Agostino Jr RB, Mayer-Davis EJ. Whole-grain intake and insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2003;78:965-71.
26. Anderson AL, Harris TB, Tylavsky FA, Perry SE, Houston DK, Lee JS, et al. Dietary patterns, insulin sensitivity and inflammation in older adults. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2012;66(1):18-24.
27. Esmailzadeh A, Kimiagar M, Mehrabi Y, Azadbakht L, Hu FB, Willett WC. Dietary patterns, insulin resistance, and prevalence of the metabolic syndrome in women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2007;85:910-8.
28. Arisawa K, Uemura H, Yamaguchi M, Nakamoto M, Hiyoshi M, Sawachika F, et al. Associations of dietary patterns with metabolic syndrome and insulin resistance: a cross sectional study in a Japanese population. *Journal of Medical Investigation*. 2014;61:333-44.
29. Haas ME, Attie AD, Biddinger SB. The regulation of ApoB metabolism by insulin. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2013;24(8):391-7.
30. Lamantia V, Bissonnette S, Wassef H, Cyr Y, Baass A, Dufour R, et al. ApoB-lipoproteins and dysfunctional white adipose tissue: Relation to risk factors for type 2 diabetes in humans. *Journal of Clinical Lipidology*. 2017;11(1):34-45 e2.
31. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature Review Molecular Cell Biology*. 2008;9(5):367-77.
32. Faraj M, Lu HL, Cianflone K. Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. *Biochemistry and Cell Biology*. 2004;82(1):170-90.
33. Arner P, Bernard S, Salehpour M, Possnert G, Liebl J, Steier P, et al. Dynamics of human adipose lipid turnover in health and metabolic disease. *Nature*. 2011;478(7367):110-3.

34. Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *European Heart Journal*. 2008;29(24):2959-71.
35. Neeland IJ, Turer AT, Ayers CR, Powell-Wiley TM, Vega GL, Farzaneh-Far R, et al. Dysfunctional adiposity and the risk of prediabetes and type 2 diabetes in obese adults. *Journal of the American Medical Association*. 2012;308(11):1150-9.
36. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(3):1023-33.
37. Palmer BF, Clegg DJ. The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;402:113-9.
38. Arner E, Westermark PO, Spalding KL, Britton T, Ryden M, Frisen J, et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes*. 2010;59(1):105-9.
39. Henninger AM, Eliasson B, Jenndahl LE, Hammarstedt A. Adipocyte hypertrophy, inflammation and fibrosis characterize subcutaneous adipose tissue of healthy, non-obese subjects predisposed to type 2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9(8):e105262.
40. Weyer C, Poley JE, Bogardus C, Tataranni PA, Pratley RE. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type 2 diabetes independent of insulin resistance. *Diabetologia*. 2000;43:1498-506.
41. Frikke-Schmidt H, O'Rourke RW, Lumeng CN, Sandoval DA, Seeley RJ. Does bariatric surgery improve adipose tissue function? *Obesity Reviews*. 2016;17(9):795-809.
42. Zamboni M, Rossi AP, Fantin F, Zamboni G, Chirumbolo S, Zoico E, et al. Adipose tissue, diet and aging. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2014;136-137:129-37.
43. Tchernof A, Despres JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiology Reviews*. 2013;93(1):359-404.
44. Bissonnette S, Salem H, Wassef H, Saint-Pierre N, Tardif A, Baass A, et al. Low density lipoprotein delays clearance of triglyceride-rich lipoprotein by human subcutaneous adipose tissue. *Journal of Lipid Research*. 2013;54(5):1466-76.
45. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered Fat Storage and Mobilization in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*. 2002;23(2):201-29.

46. Parillo M, Riccardi G. Diet composition and the risk of type 2 diabetes: epidemiological and clinical evidence. *British Journal of Nutrition*. 2004;92(1):7-19.
47. Sniderman AD, Lamarche B, Tilley J, Seccombe D, Frohlich J. Hypertriglyceridemic HyperapoB in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2002;25(3):579-82.
48. Anagnostis P, Stevenson JC, Crook D, Johnston DG, Godsland IF. Effects of gender, age and menopausal status on serum apolipoprotein concentrations. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016;85(5):733-40.
49. Lim HH, Kim OY. Association of Serum Apolipoprotein B with the Increased Risk of Diabetes in Korean Men. *Clinical Nutrition Research*. 2016;5(3):204-12.
50. Onat A, Can G, Hergenc G, Yazici M, Karabulut A, Albayrak S. Serum apolipoprotein B predicts dyslipidemia, metabolic syndrome and, in women, hypertension and diabetes, independent of markers of central obesity and inflammation. *International Journal of Obesity*. 2007;31(7):1119-25.
51. Salomaa V, Havulinna A, Saarela O, Zeller T, Jousilahti P, Jula A, et al. Thirty-one novel biomarkers as predictors for clinically incident diabetes. *PLoS One*. 2010;5(4):e10100.
52. Ley SH, Harris SB, Connelly PW, Mamakeesick M, Gittelsohn J, Wolever TM, et al. Association of Apolipoprotein B with Incident Type 2 Diabetes in an Aboriginal Canadian Population. *Clinical Chemistry*. 2010;56(4):666-70.
53. Hwang Y-C, Ahn H-Y, Park S-W, Park C-Y. Apolipoprotein B and non-HDL cholesterol are more powerful predictors for incident type 2 diabetes than fasting glucose or glycated hemoglobin in subjects with normal glucose tolerance: a 3.3-year retrospective longitudinal study. *Acta Diabetologica*. 2014;51(6):941-6.
54. Faraj M, Messier L, Bastard JP, Tardif A, Godbout A, Prud'homme D, et al. Apolipoprotein B: a predictor of inflammatory status in postmenopausal overweight and obese women. *Diabetologia*. 2006;49(7):1637-46.
55. Luotola K, Pietila A, Zeller T, Moilanen L, Kahonen M, Nieminen MS, et al. Associations between interleukin-1 (IL-1) gene variations or IL-1 receptor antagonist levels and the development of type 2 diabetes. *Journal of Internal Medicine*. 2011;269(3):322-32.

56. Cnop M, Hannaert JC, Gruppig AY, Pipeleers DG. Low density lipoprotein can cause death of islet beta-cells by its cellular uptake and oxidative modification. *Endocrinology*. 2002;143(9):3449-53.
57. Roehrich ME, Mooser V, Lenain V, Herz J, Nimpf J, Azhar S, et al. Insulin-secreting beta-cell dysfunction induced by human lipoproteins. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(20):18368-75.
58. Rutti S, Ehses JA, Sibler RA, Prazak R, Rohrer L, Georgopoulos S, et al. Low- and high-density lipoproteins modulate function, apoptosis, and proliferation of primary human and murine pancreatic beta-cells. *Endocrinology*. 2009;150(10):4521-30.
59. Pedrini MT, Kranebitter M, Niederwanger A, Kaser S, Engl J, Debbage P, et al. Human triglyceride-rich lipoproteins impair glucose metabolism and insulin signalling in L6 skeletal muscle cells independently of non-esterified fatty acid levels. *Diabetologia*. 2005;48(4):756-66.
60. Masella R, Vari R, D'Archivio M, Santangelo C, Scazzocchio B, Maggiorrella MT, et al. Oxidised LDL modulate adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by affecting the balance between cell proliferation and differentiation. *FEBS Letters*. 2006;580(10):2421-9.
61. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH, Arky RA, et al. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *American Journal of Epidemiology*. 1990;132(3):501-13.
62. Ley SH, Hamdy O, Mohan V, Hu FB. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. *The Lancet*. 2014;383(9933):1999-2007.
63. Ford ES, Williamson DF, Liu S. Weight Change and Diabetes Incidence: Findings from a National Cohort of US Adults. *American Journal of Epidemiology*. 1997;146(3):214-22.
64. Moore LL, Vioni AJ, Wilson PWF, D'Agostino RB, Finkle WD, Ellison CR. Can Sustained Weight Loss in Overweight Individuals Reduce the Risk of Diabetes Mellitus? *Epidemiology*. 2000;11(3):269-73.
65. Ramachandran A, Snehalatha C, Mary S, Mukesh B, Bhaskar AD, Vijay V, et al. The Indian Diabetes Prevention Programme shows that lifestyle modification and metformin prevent type 2 diabetes in Asian Indian subjects with impaired glucose tolerance (IDPP-1). *Diabetologia*. 2006;49(2):289-97.

66. Menshikova EV, Ritov VB, Dube JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FGS, et al. Calorie Restriction-induced Weight Loss and Exercise Have Differential Effects on Skeletal Muscle Mitochondria Despite Similar Effects on Insulin Sensitivity. *Journals of Gerontology series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2017.
67. Magkos F, Fraterrigo G, Yoshino J, Luecking C, Kirbach K, Kelly SC, et al. Effects of Moderate and Subsequent Progressive Weight Loss on Metabolic Function and Adipose Tissue Biology in Humans with Obesity. *Cell Metab*. 2016;23(4):591-601.
68. Andersson DP, Eriksson Hogling D, Thorell A, Toft E, Qvisth V, Naslund E, et al. Changes in subcutaneous fat cell volume and insulin sensitivity after weight loss. *Diabetes Care*. 2014;37(7):1831-6.
69. De Luis DA, Castrillon JLP, Aller R, Izaola O, Bachiller C. Response of osteocalcin and insulin resistance after a hypocaloric diet in obese patients. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015;19:2174-9.
70. Pittas AG, Roberts SB, Das SK, Gilhooly CH, Saltzman E, Golden J, et al. The Effects of the Dietary Glycemic Load on Type 2 Diabetes Risk Factors during Weight Loss. *Obesity* 2006;14(12):2200-9.
71. Petersen KF, Dufour S, Morino K, Yoo PS, Cline GW, Shulman GI. Reversal of muscle insulin resistance by weight reduction in young, lean, insulin-resistant offspring of parents with type 2 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(21):8236-40.
72. Straznicky NE, Grima MT, Sari CI, Lambert EA, Phillips SE, Eikelis N, et al. Reduction in peripheral vascular resistance predicts improvement in insulin clearance following weight loss. *Cardiovascular Diabetology*. 2015;14:113.
73. Castagneto-Gissey L, Mingrone G. Insulin sensitivity and secretion modifications after bariatric surgery. *J Endocrinol Invest*. 2012;35(7):692-8.
74. Abete I, Parra D, Crujeiras AB, Goyenechea E, Martinez JA. Specific insulin sensitivity and leptin responses to a nutritional treatment of obesity via a combination of energy restriction and fatty fish intake. *J Hum Nutr Diet*. 2008;21(6):591-600.
75. Larson-Meyer DE, Heilbronn LK, Redman LM, Newcomer BR, Frisard MI, Anton S, et al. Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, beta-cell

- function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects. *Diabetes Care*. 2006;29(6):1337-44.
76. Myette-Cote E, Doucet E, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, Lavoie JM, Brochu M. Changes in glucose disposal after a caloric restriction-induced weight loss program in obese postmenopausal women: characteristics of positive and negative responders in a Montreal-Ottawa New Emerging Team study. *Menopause*. 2015;22(1):96-103.
  77. Janiszewski PM, Ross R. Effects of weight loss among metabolically healthy obese men and women. *Diabetes Care*. 2010;33(9):1957-9.
  78. Karelis AD, Messier V, Brochu M, Rabasa-Lhoret R. Metabolically healthy but obese women: effect of an energy-restricted diet. *Diabetologia*. 2008;51(9):1752-4.
  79. Miyashita Y, Koide N, Ohtsuka M, Ozaki H, Itoh Y, Oyama T, et al. Beneficial effect of low carbohydrate in low calorie diets on visceral fat reduction in type 2 diabetic patients with obesity. *Diabetes Res Clin Pract*. 2004;65(3):235-41.
  80. Jung SH, Park HS, Kim KS, Choi WH, Ahn CW, Kim BT, et al. Effect of weight loss on some serum cytokines in human obesity: increase in IL-10 after weight loss. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2008;19(6):371-5.
  81. Rossmeislova L, Malisova L, Kracmerova J, Stich V. Adaptation of human adipose tissue to hypocaloric diet. *International Journal of Obesity*. 2013;37(5):640-50.
  82. Faraj M, Jones P, Sniderman AD, Cianflone K. Enhanced dietary fat clearance in postobese women. *Journal of Lipid Research*. 2001;42:571-80.
  83. Lofgren P, Hoffstedt J, Naslund E, Wiren M, Arner P. Prospective and controlled studies of the actions of insulin and catecholamine in fat cells of obese women following weight reduction. *Diabetologia*. 2005;48(11):2334-42.
  84. Bays H, Blonde L, Rosenson R. Adiposopathy: how do diet, exercise and weight loss drug therapies improve metabolic disease in overweight patients? *Expert Reviews on Cardiovascular Therapy*. 2006;4(6):871-95.
  85. Lamantia V, Sniderman A, Faraj M. Nutritional management of hyperapoB. *Nutrition Research Reviews*. 2016;29(2):202-33.
  86. Dash S, Xiao C, Lewis GF. Effects of bariatric surgery on hepatic and intestinal lipoprotein particle metabolism. *Current Opinions in Lipidology*. 2016;27(1):14-8.

87. Ng TW, Watts GF, Barrett PH, Rye KA, Chan DC. Effect of weight loss on LDL and HDL kinetics in the metabolic syndrome: associations with changes in plasma retinol-binding protein-4 and adiponectin levels. *Diabetes Care*. 2007;30(11):2945-50.
88. Richard C, Couture P, Ooi EM, Tremblay AJ, Desroches S, Charest A, et al. Effect of Mediterranean diet with and without weight loss on apolipoprotein B100 metabolism in men with metabolic syndrome. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2014;34(2):433-8.
89. de la Iglesia. R, Lopez-Legarrea. P, Crujeiras. AB, Pardo. M, Casanueva. FF, Zulet. MA, et al. Plasma irisin depletion under energy restriction is associated with improvements in lipid profile in metabolic syndrome patients. *Clinical Endocrinology*. 2014;81(2):306-11.
90. Tian S, Xu Q, Jiang R, Han T, Sun C, Na L. Dietary Protein Consumption and the Risk of Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Nutrients*. 2017;9(9).
91. Boggs DA, Rosenberg L, Ruiz-Narvaez EA, Palmer JR. Coffee, tea, and alcohol intake in relation to risk of type 2 diabetes in African American women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2010;92(4):960-6.
92. Dietitians of Canada. Food Sources of Magnesium. In: Canada Do, editor. [www.dietitians.ca2016](http://www.dietitians.ca2016).
93. Jannasch F, Kroger J, Schulze MB. Dietary Patterns and Type 2 Diabetes: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *Journal of Nutrition*. 2017;147(6):1174-82.
94. Cho SS, Qi L, Fahey GC, Jr., Klurfeld DM. Consumption of cereal fiber, mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2013;98(2):594-619.
95. Liu S, Manson JE, Stampfer MJ, Hu FB, Giovannucci E, Colditz GA, et al. A Prospective Study of Whole-Grain Intake and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in US Women. *American Journal of Public Health*. 2000;90(9):1409-15.
96. de Munter JSL, Hu FB, Spiegelman D, Franz M, van Dam RM. Whole Grain, Bran, and Germ Intake and Risk of Type 2 Diabetes: A Prospective Cohort Study and Systematic Review. *PLoS Medicine*. 2007;4(8):1385-95.



97. Schwingshackl L, Hoffmann G, Lampousi AM, Knuppel S, Iqbal K, Schwedhelm C, et al. Food groups and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European Journal of Epidemiology*. 2017;32(5):363-75.
98. Bhupathiraju SN, Pan A, Malik VS, Manson JE, Willett WC, van Dam RM, et al. Caffeinated and caffeine-free beverages and risk of type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2013;97(1):155-66.
99. Bhupathiraju SN, Pan A, Manson JE, Willett WC, van Dam RM, Hu FB. Changes in coffee intake and subsequent risk of type 2 diabetes: three large cohorts of US men and women. *Diabetologia*. 2014;57(7):1346-54.
100. Gijsbers L, Ding EL, Malik VS, de Goede J, Geleijnse JM, Soedamah-Muthu SS. Consumption of dairy foods and diabetes incidence: a dose-response meta-analysis of observational studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2016;103(4):1111-24.
101. Patel PS, Forouhi NG, Kuijsten A, Schulze MB, van Woudenberg GJ, Ardanaz E, et al. The prospective association between total and type of fish intake and type 2 diabetes in 8 European countries: EPIC-InterAct Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2012;95(6):1445-53.
102. Rylander C, Sandanger TM, Engeset D, Lund E. Consumption of lean fish reduces the risk of type 2 diabetes mellitus: a prospective population based cohort study of Norwegian women. *PLoS One*. 2014;9(2):e89845.
103. Zhou Y, Tian C, Jia C. Association of fish and n-3 fatty acid intake with the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *British Journal of Nutrition*. 2012;108(3):408-17.
104. Wallin A, Giuseppe DD, Orsini N, Patel PS, Forouhi NG, Wolk A. Fish Consumption, Dietary Long-Chain n-3 Fatty Acids, and Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35:918-29.
105. Agrawal S, Millett C, Subramanian SV, Ebrahim S. Frequency of Fish Intake and Diabetes among Adult Indians. *Journal of the American College of Nutrition*. 2014;33(3):215-30.
106. Khan TA, Sievenpiper JL. Controversies about sugars: results from systematic reviews and meta-analyses on obesity, cardiometabolic disease and diabetes. *European Journal of Nutrition*. 2016;55(Suppl 2):25-43.

107. Hu FB, Malik VS. Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: epidemiologic evidence. *Physiology Behavior*. 2010;100(1):47-54.
108. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Despres JP, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2010;33(11):2477-83.
109. O'Connor L, Imamura F, Lentjes MAH, Khaw K-T, Wareham NJ, Forouhi NG. Prospective associations and population impact of sweet beverage intake and type 2 diabetes, and effects of substitutions with alternative beverages. *Diabetologia*. 2015;58:1474-83.
110. Lajous M, Bijon A, Fagherazzi G, Balkau B, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Egg and cholesterol intake and incident type 2 diabetes among French women. *British Journal of Nutrition*. 2015;114(10):1667-73.
111. Tamez M, Virtanen JK, Lajous M. Egg consumption and risk of incident type 2 diabetes: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *British Journal of Nutrition*. 2016;115(12):2212-8.
112. Djousse L, Khawaja OA, Gaziano JM. Egg consumption and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2016;103(2):474-80.
113. Liese AD, Nichols M, Sun X, D'Agostino RB, Jr., Haffner SM. Adherence to the DASH Diet is inversely associated with incidence of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes Care*. 2009;32(8):1434-6.
114. Guenther PM, Casavale KO, Reedy J, Kirkpatrick SI, Hiza HA, Kuczynski KJ, et al. Update of the Healthy Eating Index: HEI-2010. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2013;113(4):569-80.
115. Chiuve SE, Fung TT, Rimm EB, Hu FB, McCullough ML, Wang M, et al. Alternative dietary indices both strongly predict risk of chronic disease. *Journal of Nutrition*. 2012;142(6):1009-18.
116. Tonstad S, Stewart K, Oda K, Batech M, Herring RP, Fraser GE. Vegetarian diets and incidence of diabetes in the Adventist Health Study-2. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2013;23(4):292-9.

117. Satija A, Bhupathiraju SN, Rimm EB, Spiegelman D, Chiuve SE, Borgi L, et al. Plant-Based Dietary Patterns and Incidence of Type 2 Diabetes in US Men and Women: Results from Three Prospective Cohort Studies. *PLoS Medicine*. 2016;13(6):e1002039.
118. Pastorino S, Richards M, Pierce M, Ambrosini GL. A high-fat, high-glycaemic index, low-fibre dietary pattern is prospectively associated with type 2 diabetes in a British birth cohort. *British Journal of Nutrition*. 2016;115(9):1632-42.
119. Maiorino MI, Bellastella G, Giugliano D, Esposito K. Can diet prevent diabetes? *Journal of Diabetes Complications*. 2017;31(1):288-90.
120. Black MH, Watanabe RM, Trigo E, Takayanagi M, Lawrence JM, Buchanan TA, et al. High-fat diet is associated with obesity-mediated insulin resistance and beta-cell dysfunction in Mexican Americans. *Journal of Nutrition*. 2013;143(4):479-85.
121. Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, Bergmann Kv, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*. 2000;342(19):1392-8.
122. Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch JG, Liljeberg-Elmstahl HGM. Consumption of Both Resistant Starch and  $\beta$ -Glucan Improves Postprandial Plasma Glucose and Insulin in Women. *Diabetes Care*. 2006;29(5):976-81.
123. Weickert MO, Roden M, Isken F, Hoffmann D, Nowotny P, Osterhoff M, et al. Effects of supplemented isoenergetic diets differing in cereal fiber and protein content on insulin sensitivity in overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;94(2):459-71.
124. Weickert MO, Möhlig M, Schöfl C, Arafat AM, Otto B, Viehoff H, et al. Cereal Fiber Improves Whole-Body Insulin Sensitivity in Overweight and Obese Women. *Diabetes Care*. 2006;29(4):775-80.
125. Robertson MD, Bickerton AS, Dennis AL, Vidal H, Frayn KN. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005;82:559-67.
126. Robertson MD, Wright JW, Loizon E, Debard C, Vidal H, Shojaee-Moradie F, et al. Insulin-sensitizing effects on muscle and adipose tissue after dietary fiber intake in men and women with metabolic syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(9):3326-32.

127. Pereira MA, Jacobs Jr. DR, Pins JJ, Raatz SK, Gross MD, Slavin JL, et al. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2002;75:848-55.
128. Robertson MD, Currie JM, Morgan LM, Jewell DP, Frayn KN. Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects. *Diabetologia*. 2003;46(5):659-65.
129. Ostman EM, Frid AH, Groop LC, Bjorck IM. A dietary exchange of common bread for tailored bread of low glycaemic index and rich in dietary fibre improved insulin economy in young women with impaired glucose tolerance. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2006;60(3):334-41.
130. Imamura F, Micha R, Wu JH, de Oliveira Otto MC, Otite FO, Abioye AI, et al. Effects of Saturated Fat, Polyunsaturated Fat, Monounsaturated Fat, and Carbohydrate on Glucose-Insulin Homeostasis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Feeding Trials. *PLoS Medicine*. 2016;13(7):e1002087.
131. Abbott KA, Burrows TL, Thota RN, Acharya S, Garg ML. Do omega-3 PUFAs affect insulin resistance in a sex-specific manner? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2016;104(5):1470-84.
132. Joosten MM, Beulens JW, Kersten S, Hendriks HF. Moderate alcohol consumption increases insulin sensitivity and ADIPOQ expression in postmenopausal women: a randomised, crossover trial. *Diabetologia*. 2008;51(8):1375-81.
133. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *Journal of Clinical Investigation*. 2009;119(5):1322-34.
134. Fischer K, Pick JA, Moewes D, Nothlings U. Qualitative aspects of diet affecting visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue: a systematic review of observational and controlled intervention studies. *Nutrition Reviews*. 2015;73(4):191-215.
135. van Dijk SJ, Feskens EJ, Bos MB, Hoelen DW, Heijligenberg R, Bromhaar MG, et al. A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene

- expression profile in adipose tissue of subjects at risk of metabolic syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;90(6):1656-64.
136. Huth PJ, Fulgoni VL, 3rd, Larson BT. A systematic review of high-oleic vegetable oil substitutions for other fats and oils on cardiovascular disease risk factors: implications for novel high-oleic soybean oils. *Advances in Nutrition*. 2015;6(6):674-93.
137. Harland JI, Haffner TA. Systematic review, meta-analysis and regression of randomised controlled trials reporting an association between an intake of circa 25 g soya protein per day and blood cholesterol. *Atherosclerosis*. 2008;200(1):13-27.
138. Lairon D, Arnault N, Bertrais S, Planells R, Clero E, Hercberg S, et al. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005;82:1185-94.
139. Ho HV, Sievenpiper JL, Zurbau A, Blanco Mejia S, Jovanovski E, Au-Yeung F, et al. The effect of oat beta-glucan on LDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol and apoB for CVD risk reduction: a systematic review and meta-analysis of randomised-controlled trials. *British Journal of Nutrition*. 2016;116(8):1369-82.
140. Maki KC, Carson ML, Miller MP, Anderson WH, Turowski M, Reeves MS, et al. Hydroxypropylmethylcellulose lowers cholesterol in statin-treated men and women with primary hypercholesterolemia. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2009;63(8):1001-7.
141. Shrestha S, Volek JS, Udani J, J.Wood R, Greene CM, Aggarwal D, et al. A Combination Therapy Including Psyllium and Plant Sterols Lowers LDL Cholesterol by Modifying Lipoprotein Metabolism in Hypercholesterolemic Individuals. *Journal of Nutrition*. 2006;136:2492-7.
142. Del Gobbo LC, Falk MC, Feldman R, Lewis K, Mozaffarian D. Effects of tree nuts on blood lipids, apolipoproteins, and blood pressure: systematic review, meta-analysis, and dose-response of 61 controlled intervention trials. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015;102(6):1347-56.
143. Valente EA, Sheehy ME, Avila JJ, Gutierrez JA, Delmonico MJ, Lofgren IE. The effect of the addition of resistance training to a dietary education intervention on apolipoproteins and diet quality in overweight and obese older adults. *Clinical Interventions in Aging*. 2011;6:235-41.

144. Wassef H, Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Cyr Y, Chretien M, et al. The apoB-to-PCSK9 ratio: A new index for metabolic risk in humans. *Journal of Clinical Lipidology*. 2015;9(5):664-75.
145. Cyr Y, Wassef H, Bissonnette S, Lamantia V, Davignon J, Faraj M. WAT apoC-I secretion: role in delayed chylomicron clearance in vivo and ex vivo in WAT in obese subjects. *Journal of Lipid Research*. 2016;57(6):1074-85.
146. Wassef H, Salem H, Bissonnette S, Baass A, Dufour R, Davignon J, et al. White adipose tissue apolipoprotein C-I secretion in relation to delayed plasma clearance of dietary fat in humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2012;32(11):2785-93.
147. Bissonnette S, Saint-Pierre N, Lamantia V, Leroux C, Provost V, Cyr Y, et al. High plasma apoB identifies obese subjects who best ameliorate white adipose tissue dysfunction, glucose-induced hyperinsulinemia and insulin resistance after a hypocaloric diet *American Journal of Clinical Nutrition*. 2017:Submitted.
148. Health Canada. Dietary Reference Intakes 2006 [14-12-2017]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy-eating/dietary-reference-intakes/tables/reference-values-macronutrients-dietary-reference-intakes-tables-2005.html>.
149. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*. 2011;121(6):2118-25.
150. Faraj M, Lavoie ME, Messier L, Bastard JP, Prud'homme D. Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in post-menopausal women: A MONET study. *Atherosclerosis*. 2010;211(2):682-8.
151. Slavin JL. Dietary fiber and body weight. *Nutrition*. 2005;21(3):411-8.
152. Lorenzo C, Hanley AJG, Wagenknecht LE, Rewers MJ, Stefanovski D, Goodarzi MO, et al. Relationship of Insulin Sensitivity, Insulin Secretion, and Adiposity With Insulin Clearance in a Multiethnic Population. *Diabetes Care*. 2013;36:101-3.
153. Raninen K, Lappi J, Mykkanen H, Poutanen K. Dietary fiber type reflects physiological functionality: comparison of grain fiber, inulin, and polydextrose. *Nutrition Reviews*. 2011;69(1):9-21.

154. Weickert MO, Pfeiffer AFH. Metabolic Effects of Dietary Fiber Consumption and Prevention of Diabetes. *Journal of Nutrition*. 2008;138:439-42.
155. Rebello CJ, O'Neil CE, Greenway FL. Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety. *Nutrition Reviews*. 2016;74(2):131-47.
156. Lattimer JM, Haub MD. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*. 2010;2(12):1266-89.
157. Dikeman CL, Fahey GC. Viscosity as related to dietary fiber: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2006;46(8):649-63.
158. Samra RA, Anderson GH. Insoluble cereal fiber reduces appetite and short-term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2007;86:972-9.
159. Baer DJ, Rumpler WV, Miles CW, Fahey Jr GC. Dietary Fiber Decreases the Metabolizable Energy Content and Nutrient Digestibility of Mixed Diets Fed to Humans. *Journal of Nutrition*. 1997;127:579-86.
160. Conlon MA, Bird AR. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients*. 2014;7(1):17-44.
161. Simpson HL, Campbell BJ. Review article: dietary fibre-microbiota interactions. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2015;42(2):158-79.
162. Brandsma E, Houben T, Fu J, Shiri-Sverdlov R, Hofker MH. The immunity-diet-microbiota axis in the development of metabolic syndrome. *Current Opinions in Lipidology*. 2015;26(2):73-81.
163. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojarvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. 2012;143(4):913-6 e7.
164. Esteve E, Ricart W, Fernandez-Real JM. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2011;14(5):483-90.
165. Reppas C, Swidan SZ, Tobey SW, Turowski M, Dressman JB. Hydroxypropylmethylcellulose significantly lowers blood cholesterol in mildly

- hypercholesterolemic human subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2009;63(1):71-7.
166. Tripathy D, Wessman Y, Gullström M, Tuomi T, Groop L. Importance of Obtaining Independent Measures of Insulin Secretion and Insulin Sensitivity During the Same Test: Results with the Botnia clamp. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1395-401.
167. Schebendach JE, Porter KJ, Wolper C, Walsh BT, Mayer LE. Accuracy of self-reported energy intake in weight-restored patients with anorexia nervosa compared with obese and normal weight individuals. *Int J Eat Disord*. 2012;45(4):570-4.



**Annexes : Formulaires de consentement pour étude principale et sous-étude**

## Formulaire de Consentement

**Titre: Cibler l'hyperapoB pour réduire le risque de diabète de type 2 chez les sujets obèses; mécanisme d'action – Étude Principale**

**Commanditaires:** Fonds de recherche des IRSC accordé au D<sup>r</sup> May Faraj

**Investigateur principal :** May Faraj, Dt.P., Ph.D.

**Collaborateurs:** Médecin: Rémi Rabasa-Lhoret, M.D., Ph.D.  
Robert Dufour, M.D., M.Sc.  
Pierre Larochelle, M.D., Ph. D., FRCPC, FACP, FAHA  
Assistante de recherche: Annie Tardif, B.Sc.  
Nutritionniste : Sonia Fortin, Dt.P.

Vous êtes invité(e) à prendre part à une étude de recherche à l'Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM). Avant de participer à cette recherche, veuillez prendre le temps de lire et de comprendre les renseignements qui suivent. Le présent document peut contenir des termes que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugez utiles aux chercheurs et à leurs assistants.

### Introduction et objectifs de l'étude

L'obésité est une maladie chronique qui affecte environ 15% de la population canadienne et qui touche particulièrement les femmes après la ménopause. Néanmoins, l'obésité n'est pas une maladie homogène : certains patients présentent des complications (diabète de type 2, élévation des lipides dans le sang, etc.) alors que d'autres n'en présentent pas. Pour les lipides, il est bien établi que l'élévation du mauvais cholestérol (LDL-cholestérol) augmente le risque de maladie cardiaque. Néanmoins, il est possible qu'un marqueur de l'élévation du nombre de particules LDL (apo B100), qui augmente le risque de maladie cardiaque, peut aussi augmenter d'autres complications de l'obésité comme le diabète de type 2. Nous voulons étudier certaines implications d'une élévation de l'apoB100 (hyperapoB) chez des sujets ayant un LDL-cholestérol à un niveau ne justifiant pas d'intervention médicale.

Nous pensons que l'hyperapoB100 est relié à la résistance à l'insuline (l'hormone qui facilite l'utilisation de glucose), l'inflammation (marqueur du risque de maladies cardiaques et de diabète) et l'inefficacité d'entreposage des matières grasses dans le tissu adipeux (gras). L'altération de ces mécanismes pourrait jouer un rôle dans le risque de développer le diabète de type 2. Donc, **l'objectif de cette étude principale est d'étudier et de comparer la résistance à l'insuline et l'inflammation chez des sujets obèses ou ayant un surplus de poids et ayant un taux élevé ou normal d'apoB.**

De plus, nous voulons étudier la composition corporelle (ex : quantité de gras dans le corps) et la dépense énergétique avant et après la perte de poids. Vous pourriez être invité à faire un test complémentaire qui fera l'objet d'un consentement distinct. Environ 96 personnes participeront à cette étude sur une période de 2 ans.

## Nature du protocole

Votre participation à cette étude devrait durer environ 33 semaines. L'étude est divisée en 6 parties décrites ci-dessous en détail:

- A. Dépistage
- B. Stabilisation du poids corporel (4 semaines)
- C. Composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline (6 heures)
- D. Perte de poids (24 semaines)
- E. Stabilisation du poids corporel post-intervention (4 semaines)
- F. Composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline post-intervention (6 heures)

### A. Dépistage

Votre participation à cette première étape de l'étude consiste en une visite à l'unité métabolique de l'Institut de recherches cliniques de Montréal où l'étude sera effectuée. Vous serez à jeun depuis au moins 20h la veille (eau permise).

Au cours de cette visite d'environ 1 heure, vous lirez et signerez le formulaire de consentement. Nous mesurerons votre grandeur, votre poids, votre tension artérielle et nous ferons des prélèvements sanguins (24 mL ~ 1 1/2 c à table). Ces tests permettront de déterminer si vous êtes en mesure de participer à l'étape suivante de l'étude selon les critères d'exclusion et d'inclusion présentés à la fin de ce formulaire. Si vous n'êtes pas éligible, nous vous remettrons une copie de votre bilan biologique et organiserons un suivi médical si des anomalies le justifiant étaient dépistées.

### B. Stabilisation du poids corporel (4 semaines)

Le but de la stabilisation est de maintenir votre poids le plus stable possible en conservant vos habitudes alimentaires. Un poids stable est indispensable pour interpréter les examens décrits à la section C. Vous serez pesé(e) à trois reprises avec une semaine d'intervalle entre chaque visite. À l'occasion d'une de ces visites, votre histoire médicale ainsi qu'un examen physique complet seront faits par le D<sup>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret, D<sup>r</sup> Robert Dufour ou D<sup>r</sup> Pierre Larochelle, les médecins impliqués dans l'étude. Ensuite, vous rencontrerez la diététiste de l'étude qui vous expliquera comment remplir un journal alimentaire de 3 jours, que vous remettrez à votre prochaine visite. Les visites de pesée prennent 10 minutes, par contre pour la visite médicale, il faut compter 90 à 120 minutes.

De plus, si vous suivez un traitement contre l'hypertension qui sera cessé pour le temps de l'étude par le médecin avant votre inclusion, votre pression artérielle sera prise à chaque visite de la stabilisation du poids. Si vous suivez un traitement contre l'hyperlipidémie qui sera cessé par le médecin pour le temps de l'étude, une prise de sang supplémentaire (5 mL = 1 cuillère à thé) sera faite lors de la dernière visite de stabilisation du poids (visite 4). Les résultats serviront à réévaluer votre éligibilité à continuer dans l'étude selon les critères d'inclusion/exclusion mentionnés plus bas.

### C. Composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline (6 heures)

Pour ce jour, vous devez être à jeun depuis 20h la veille. Au cours de cette visite d'environ 6 heures, vous passerez d'abord un scan grâce au dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) afin de déterminer votre *composition corporelle* (densité osseuse, quantité de muscle et de gras). Vous devrez demeurer couché(e) sur une table d'examen, vêtu(e) d'une jaquette d'hôpital, tandis qu'un rayon X à faible densité balayera votre corps pendant 10 minutes. Ensuite, nous mesurerons à nouveau votre grandeur, votre poids, votre tension artérielle et la circonférence de votre taille et de vos hanches.

Après le DEXA, nous mesurerons votre dépense énergétique au repos par votre respiration par la calorimétrie indirecte. Vous vous coucherez dans un lit et un casque de plexiglas, alimenté en air frais, sera placé sur votre tête. Vous resterez allongé(e) dans un état calme pour 15 minutes.

Ensuite, nous déterminerons votre sécrétion et sensibilité à l'insuline par le test nommé clamp Botnia. Ce test mesure la façon dont l'insuline agit dans votre corps. Pour ce test, vous devez avoir suivi des consignes nutritionnelles et d'activité physique dans les 3 jours précédents. La journée du test, on vous installera deux cathéters flexibles en téflon : le premier sera inséré dans une veine du dos de la main et le deuxième dans une veine de l'avant bras opposé. Pour faciliter les prises de sang, le bras servant aux prélèvements est placé soit dans une boîte ventilant de l'air chaud ou dans une couverture chauffante. Un des cathéters servira à prélever les échantillons sanguins et l'autre, à infuser le dextrose (sucre) et l'insuline. Des échantillons sanguins sont prélevés avant de débiter les infusions. Après 10 minutes, une injection de dextrose vous est donnée par un cathéter en 2 minutes. Des échantillons sanguins sont prélevés aux 2 minutes pour les 10 premières minutes suivantes. Par la suite, des échantillons sanguins seront prélevés toutes les 10 minutes jusqu'à 60 minutes après l'injection du dextrose. Ensuite, nous débutons simultanément l'infusion d'insuline et de dextrose pour éviter une diminution du sucre dans votre sang. Nous mesurerons, aux 10 minutes, votre taux de sucre pour s'assurer qu'il est stable et ce, pendant 3 heures. Pendant le test, vous devrez demeurer couché(e) mais, si vous le désirez, vous pourrez boire de l'eau. Dans les minutes qui suivent la fin du test, votre corps reprendra ses fonctions habituelles et vos taux d'insuline et de glucose reviendront à la normale. Nous nous assurerons de ce retour à la normale en vérifiant votre taux de sucre et en vous servant un repas avant votre départ.

Au total, une quantité d'environ 262 ml de sang (un peu plus d'une tasse) sera prélevée. Nous évaluerons dans vos échantillons sanguins les niveaux de plusieurs marqueurs impliqués dans l'obésité.

#### **D. Perte de poids (24 semaines)**

Cette période s'échelonne sur 24 semaines où vous aurez à venir à l'IRCM 6 fois (1 fois par 4 semaines). Au cours de ces rencontres, on vous pèsera et vous rencontrerez une diététiste afin de vous enseigner un programme nutritionnel adapté à vos besoins et à vos habitudes alimentaires. À la troisième visite, la diététiste réévaluera vos besoins énergétiques par une nouvelle mesure de la dépense énergétique par calorimétrie indirecte. Ces 24 semaines serviront à perdre de 5 - 10 % de votre masse corporelle. Un contact téléphonique sera fait les semaines où vous ne viendrez pas à l'IRCM. La diète sera une diète équilibrée comportant tous les groupes d'aliments et conforme aux recommandations de Santé Canada. À la dernière visite reliée à la perte de poids, on vous demandera de nous remettre un deuxième journal alimentaire de 3 jours référant à la période de perte de poids. Vous serez ensuite conseillé(e), par la diététiste, sur la façon de maintenir votre poids stable pour les 4 prochaines semaines. (N.B. si vous étiez sous traitement pour l'hypertension avant votre inclusion dans l'étude, votre pression artérielle sera prise à chaque visite de la période de perte de poids pour s'assurer que vous demeurez éligible à demeurer dans l'étude selon les critères d'inclusion/exclusion mentionnés plus bas.)

#### **E. Stabilisation du poids corporel post-intervention (4 semaines)**

Le but de cette période est de stabiliser votre poids en acquérant des habitudes alimentaires saines pour le maintien de votre perte de poids. Un poids stable après la perte de poids est indispensable pour interpréter les examens décrits à la section F. Vous serez pesé(e) à trois reprises avec une semaine d'intervalle entre chaque visite.

#### **F. Composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline post-intervention (6 heures)**

Durant ces 6 heures, toutes les mesures de composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline mentionnées dans la section C seront répétées.

## Résumé des visites au cours de l'étude

Visite	Calendrier	Description de la visite à l'IRCM	Durée
<b>A. Dépistage</b>			
1	Temps 0	Examen médical. Formulaire de consentement. Prise de sang (24 mL) et mesure de poids, taille, tension artérielle <b>Pour vérifier votre éligibilité</b>	1h00
<b>B. Stabilisation de poids (4 semaines)</b>			
2	1 sem	Pesée (tension artérielle)* Examen médical et rencontre nutritionnelle	90 min
3	2 sem	Pesée (tension artérielle)* Remise du journal alimentaire 3 jours de départ rempli par le patient	10 min
4	3 sem	Pesée Tension artérielle et/ou prise de sang (5 mL) – <b>Pour réévaluer votre éligibilité*</b>	10 min
<b>C. Composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline</b>			
5	4 sem	Pesée (tension artérielle)* Composition corporelle (DEXA scan, tour de taille et des hanches) Dépense énergétique (calorimétrie indirecte) Sécrétion et sensibilité à l'insuline (Botnia clamp) (262 mL)	6 heures
<b>D. Perte de poids (24 semaines)</b>			
6	5 sem	Pesée (tension artérielle)* Intervention nutritionnelle pour perte de poids	1 heure
7	9 sem	Pesée (tension artérielle)* Suivi diététique	30 min
8	13 sem	Pesée (tension artérielle)* Dépense énergétique (calorimétrie indirecte) Réajustement de l'intervention nutritionnelle	1 heure
9	17 sem	Pesée (tension artérielle)* Suivi diététique	30 min
10	21 sem	Pesée (tension artérielle)* Suivi diététique	30 min
11	25 sem	Pesée (tension artérielle)* Suivi diététique	30 min
12	29 sem	Pesée (tension artérielle)* Remise du journal alimentaire 3 jours après perte de poids rempli par le patient Intervention nutritionnelle pour le maintien du poids	1 heure
<b>E. Stabilisation du poids corporel post-intervention (4 semaines)</b>			
13	30 sem	Pesée	10 min
14	31 sem	Pesée	10 min
15	32 sem	Pesée	10 min
<b>F. Composition corporelle, dépense énergétique, et sécrétion/sensibilité à l'insuline post-intervention</b>			
16	33 sem	Pesée Composition corporelle (DEXA scan, tour de taille et des hanches) Dépense énergétique (calorimétrie indirecte) Sécrétion et sensibilité à l'insuline (Botnia clamp) (262 mL)	6 heures

\*Seulement pour les sujets qui étaient sous un traitement qui a été cessé pour le temps de l'étude par le médecin avant l'inclusion

## Risques et inconvénients

Votre participation à l'étude comporte quelques risques.

### Risques

#### *DEXA-scan*

Le risque de ces tests se situe au niveau de l'exposition aux rayons X. Cette exposition est faible et se chiffre à 0,03 millirem pour le DEXA, ce qui est inférieur à l'exposition ambiante naturelle pour une journée. Le médecin de l'étude s'assurera que votre temps total d'exposition aux radiations pour l'année en cours ne dépasse pas le maximum permis.

#### *Calorimétrie*

Les inconvénients de ce test sont associés au casque de plexiglas qui constitue un espace restreint. Il est également important de demeurer totalement inactif pendant toute la durée des mesures (15 minutes). Le débit d'air frais circulant sous le casque est 3 à 5 fois supérieur à vos besoins, et le casque peut être retiré à tout moment puisqu'il est seulement déposé sur vous.

#### *Clamp*

L'insertion de cathéter pour les prélèvements pourrait causer un léger inconfort. Des ecchymoses (bleus) ou plus rarement des étourdissements (malaise vagal) peuvent survenir. Durant le test, vous pourriez ressentir un inconfort au niveau des cathéters, mais la mobilisation est souvent suffisante pour l'éliminer. Il n'y a pas de risque d'allergie avec l'insuline que nous infusions, car il s'agit de la même hormone que celle que notre corps produit. Au cours des clamps, si la glycémie devenait trop basse (hypoglycémie), vous pourriez présenter les symptômes suivants : fatigue, vision embrouillée, palpitations, faim, nervosité, transpiration, tremblements et céphalées. Si l'hypoglycémie n'était pas corrigée, il pourrait en résulter une confusion, même une perte de conscience. Si une hypoglycémie survenait, du glucose vous serait infusé immédiatement afin de rétablir votre taux de sucre. Un tel incident est peu probable puisque votre glycémie est mesurée à toutes les 5- 10 minutes. Dans les heures qui suivent ce test environ 10% des sujets peuvent ressentir de la fatigue. Afin de minimiser ce risque nous vous donnons un repas et nous surveillons votre taux de sucre avant votre départ. Au cours des années 2003-2009 nous avons réalisé plus de 200 clamps, aucun sujet n'a présenté d'hypoglycémie au cours du clamp. Par contre environ 10% des sujets ont mentionné de la fatigue pendant quelques heures à la suite de cette procédure.

#### *Intervention nutritionnelle*

Il est possible que vous ressentiez des changements d'humeur pendant la perte de poids. Des études ont démontré autant de changements positifs (bien-être) que négatifs (dépression et diminution de l'estime de soi) pendant des périodes de perte de poids.

### Risques socioéconomiques

Le bilan initial du projet comporte le dépistage de maladies telles que le diabète de type 2, l'hypertension artérielle ou l'excès de cholestérol dont la découverte précoce permet une prise en charge adaptée. Néanmoins, la déclaration de ces maladies est dans certains cas obligatoire (ex : diabète de type 2 pour la Société d'Assurance Automobile du Québec) et dans d'autres cas pourrait modifier vos conditions d'assurabilité (ex : coûts d'une assurance voyage).

### Bénéfices

En participant au test du dépistage du diabète (glycémie à jeun), vous serez informé(e) de votre niveau de tolérance au glucose et de votre bilan biologique. Il est fort probable que la découverte d'un diabète le plus tôt possible soit utile pour votre santé. En cas de découverte d'un diabète ou de valeurs biologiques anormales justifiant une prise en charge médicale rapide, nous organiserons, si vous acceptez, la prise en charge médicale requise, en collaboration avec votre médecin traitant ou le

spécialiste approprié, et vous ne pourrez pas participer à la suite de l'étude. Si vous le désirez, une copie des résultats d'examens pourra vous être remise et/ou transmise à votre médecin traitant.

De plus, la participation à cette étude vous offre la possibilité d'obtenir d'autres informations sur plusieurs paramètres de votre santé: votre dépense énergétique, votre composition corporelle, votre oxydation de matière grasses, des éléments de votre santé cardiovasculaire. Vous aurez l'opportunité de participer à un programme de perte de poids supervisé par une équipe médicale. Nous vous remettrons un document synthétisant les principaux résultats qui présentent un intérêt pour votre santé (taux de sucre, graisses dans le sang, pression artérielle, nombre de calories dépensées au repos, etc.). Nous espérons aussi que les résultats obtenus nous permettront de faire avancer l'état de nos connaissances dans le domaine de l'obésité et éventuellement d'en faire profiter la société.

### Critères d'inclusion

- Avoir un indice de masse corporelle (IMC)  $> 27 \text{ kg/m}^2$
- Être âgé(e) entre 45 et 74 ans
- Pour les femmes, avoir un statut de ménopause confirmé (FSH  $\geq 30 \text{ U/l}$ )
- Être non-fumeur
- Être sédentaire (faire  $< 2$  heures d'exercice physique encadré (ex; club de sport) par semaine)
- Boire  $< 2$  consommations d'alcool /jour
- Avoir un taux sanguin (sérum) de l'apoB  $\geq 1.2 \text{ g/L}$  pour être inclus dans le groupe hyperapoB (48 sujets) ou de l'apoB  $< 1.2 \text{ g/L}$  pour être inclus dans le groupe normoapoB (48 sujets). Les taux de l'apoB vont être vérifiés pendant les visites de dépistage et le clamp.

### Critères d'exclusion

- Être à risque élevé de maladie cardiovasculaire ( $\geq 20\%$  calculé selon le Framingham Risk Score)
- Être diabétique de type 1 ou 2 ou avoir une glycémie à jeun  $> 7.0 \text{ mmol/L}$
- Pour les sujets sans traitement contre l'hypertension, avoir une pression systolique  $> 160 \text{ mmHg}$  ou une pression diastolique  $> 100 \text{ mmHg}$
- Pour les sujets sous traitement contre l'hypertension, avoir une pression systolique  $> 140 \text{ mmHg}$  ou une pression diastolique  $> 90 \text{ mmHg}$
- Souffrir ou avoir souffert d'évènement cardiovasculaire (ACV, attaque ischémique transitoire, infarctus du myocarde, angine, insuffisance cardiaque...)
- Souffrir ou avoir souffert de :
  - maladies inflammatoires chroniques (lupus, arthrite rhumatoïde...)
  - cancer au cours des 3 dernières années
- Souffrir d'une maladie thyroïdienne non traitée
- Être claustrophobe
- Être anémique - Hb  $< 120 \text{ g/L}$
- Créatinine  $> 100 \mu\text{mol/L}$
- Souffrir d'une dysfonction hépatique – AST/ALT  $> 3$  fois la limite supérieure de la normale
- Anomalies de la coagulation sanguine

- Suivre présentement<sup>1</sup>:
  - Remplacement hormonal (sauf les hormones thyroïdiennes à dose stable)
  - Corticostéroïdes systémiques
  - Antipsychotique – médication psycho-active
  - Anticoagulothérapie
  - Perte de poids
  - Agonistes adrénergiques
- Abus d'alcool ou de drogues connus
- Dépasser le total de radiation admissible annuellement (avoir été soumis à des examens de scan et/ou tomographie dans la dernière année ou prévoir l'être) selon le jugement du médecin impliqué dans l'étude.
- Manque de temps pour participer à l'étude (33 semaines)
- Toutes autres conditions médicales ou psychologiques selon jugement de l'investigateur

De plus, si vous étiez sous une médication contre l'hypertension et qu'elle a été arrêtée pour la période de l'étude, vous ne pourrez demeurer dans l'étude si votre pression systolique > 160 mmHg ou diastolique > 100 au cours d'une des visites de l'étude. Si vous étiez sous une médication contre l'hyperlipidémie et qu'elle a été arrêtée pour la période de l'étude, vous ne pourrez demeurer dans l'étude si les LDL-cholestérol > 5 mmol/L à la visite 4. Dans ces 2 cas, l'un des médecins de l'étude vous réintroduira la médication et vous ne pourrez pas participer à l'étude.

### Clause de responsabilité

Si, par la suite de votre participation à cette étude, il survenait un incident attribuable aux interventions médicales requises, il n'y a pas d'autre type de compensation prévu que ce qui est normalement couvert par votre assurance-maladie. Le D<sup>r</sup> Rabasa-Lhoret, le D<sup>r</sup> Robert Dufour et le D<sup>r</sup> Pierre Larochelle disposent des assurances requises à la fois pour leur pratique médicale, leurs activités et procédures de recherche. Cependant, en signant le présent formulaire vous ne renoncez à aucun des droits garantis par la loi, ni libérez les chercheurs de leurs responsabilités légales et professionnelles.

### Confidentialité

Les sujets participants à cette étude seront identifiés par un code numérique spécifique. En aucun moment votre nom ne sera divulgué. Lors de présentations de résultats à des réunions scientifiques ou lors de publications, vous serez identifié(e) uniquement par votre code numérique. Le décodage ne pourra être fait que par le chercheur principal ou par une personne déléguée par ce dernier. Cependant, il est possible qu'un délégué du Comité d'éthique de l'Institut de recherches cliniques de Montréal consulte votre dossier de recherche incluant les données médicales, de même que votre formulaire de consentement, afin de s'assurer que l'étude est faite selon le protocole et qu'elle respecte les règles d'éthique. Avec votre consentement, nous pourrions transmettre les résultats des tests à votre médecin traitant.

Les échantillons de votre sang seront conservés à l'Institut de recherches cliniques de Montréal, sous la responsabilité de Drs May Faraj et Rémi Rabasa-Lhoret pour la durée d'analyse et de publication complète du projet de recherche (10 ans après la fin du projet). En aucun cas, ces échantillons ne peuvent être vendus à qui que ce soit (ex. industrie, chercheur).

<sup>1</sup> Le médecin établira si les médicaments que vous prenez peuvent interférer avec l'étude. Il vous sera demandé de faire imprimer par votre pharmacien votre liste de médicaments et de l'amener avec vous pour la visite médicale. Ne pas oublier de mentionner les produits naturels que vous prenez car ils peuvent aussi interférer avec l'étude.



Selon les normes en vigueur, les données doivent être conservées pour une durée de 10 ans pour fin de vérification. En cas de l'arrêt de l'étude, les échantillons seront détruits et les données déjà collectées conservées pour fin de vérification ultérieure (10 ans).

### **Liberté de participation et de retrait de l'étude**

Votre participation à cette étude est tout à fait volontaire. Vous êtes donc libre d'accepter ou de refuser d'y participer et vous pouvez vous retirer de l'étude en tout temps, sur simple avis verbal, sans que cela n'affecte les traitements auxquels vous avez droit, ni ne nuise aux relations avec votre médecin. La chercheuse s'engage à vous faire connaître tout nouveau développement qui pourrait influencer votre décision de participer à l'étude. En cas de retrait, toutes les données vous concernant rassemblées au cours de cette étude pourront être utilisées et ce afin de garantir l'intégrité de l'étude. Vous pourrez également demander la destruction de vos échantillons.

### **Indemnité**

Vos frais de déplacement par transport en commun et de stationnement vous seront remboursés. Les tests effectués seront gratuits pour tous les participants.

### **Possibilités de commercialisation**

L'analyse de votre échantillon sanguin pourrait contribuer à la création de produits commerciaux, par exemple des médicaments contre l'obésité ou le diabète. Par contre, même si par le biais de votre participation à cette étude vous contribuez à l'élaboration d'un produit, vous ne pourrez en retirer aucun bénéfice monétaire ou financier.

### **Personnes-ressources**

Vous pouvez obtenir plus de renseignements concernant l'étude ou sur votre participation en communiquant avec :

- La D<sup>re</sup> May Faraj au (514) 987-5655.
- Le Dr Rémi Rabasa-Lhoret au (514) 987-5666 Le Dr Robert Dufour au (514) 987-5758 ou le Dr Pierre Larochelle au (514) 987-5549  
Vous pouvez obtenir de l'aide médicale 24 heures/24 en téléphonant au service de messages aux médecins du CHUM au (514) 890-8100. Le service des messages peut joindre le D<sup>r</sup> Rabasa-Lhoret en tout temps. Le Dr Rabasa-Lhoret est aussi joignable par courriel : remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca
- La coordonnatrice de l'étude: Annie Tardif au (514) 987-5500 poste # 3322 ou par courriel annie.tardif@ircm.qc.ca
- La diététiste de l'étude : Sonia Fortin au (514) 987-5500 poste # 5770
- La D<sup>re</sup> Madeleine Roy, membre du Comité d'éthique, au (514) 987-5636 s'il a des questions en tant que sujet de recherche.

### Consentement

Je déclare avoir pris connaissance du présent formulaire de consentement. Je reconnais que la nature et le déroulement du projet de recherche m'ont été expliqués, qu'on a répondu à toutes mes questions et qu'on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision. Je comprends en quoi consiste ma participation à cette étude et j'accepte volontairement et librement d'y participer. En signant le présent formulaire, je ne renonce à aucun de mes droits légaux ni ne libère le chercheur, le médecin, l'hôpital ou le commanditaire de leur responsabilité civile et professionnelle.

Nom du participant	
Signature du participant	
Date	

**Je consens à ce que les résultats de cette recherche, qui sont pertinents à mon suivi médical, soient transmis à mon médecin traitant.**

Oui :

Non :

### Déclaration du chercheur

J'ai expliqué la nature, le but, les procédures, les avantages et les risques de la présente étude. J'ai répondu à toutes les questions qui m'ont été posées. Je crois que le sujet comprend pleinement mes explications et que son consentement a été donné librement.

Nom du chercheur	D <sup>re</sup> May Faraj ou D <sup>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret ou D <sup>r</sup> Robert Dufour ou Dr Pierre Laroche
Signature du chercheur	
Date	

### Distribution du formulaire de consentement

- Remettre une copie originale au patient.
- Garder une copie originale au dossier de la clinique de l'IRCM.
- Garder une copie originale aux dossiers de la chercheuse.

## Formulaire de Consentement

**Titre: Cibler l'hyperapob100 pour réduire le risque de diabète de type 2 chez les sujets obèses; mécanisme d'action – Sous Étude**

**Commanditaires:** Fonds de recherche des IRSC accordé au D<sup>r</sup> May Faraj

**Investigateur principal :** May Faraj, Dt.P., Ph.D.

**Collaborateurs:** Médecin: Rémi Rabasa-Lhoret, M.D., Ph.D.  
Robert Dufour, M.D., M.Sc.  
Pierre Larochelle, M.D., Ph. D., FRCPC, FACP, FAHA  
Assistante de recherche: Annie Tardif, B.Sc.

Vous êtes invité(e) à prendre part à une étude de recherche à l'Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM). Avant de participer à ce projet complémentaire à l'étude principale, veuillez prendre le temps de lire et de comprendre les renseignements qui suivent. Le présent document peut contenir des termes que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugez utiles aux chercheurs et à leurs assistants.

### Introduction et objectifs de l'étude

L'obésité n'est pas une maladie homogène : certains patients présentent des complications (diabète de type 2, élévation des lipides, etc.) alors que d'autres n'en présentent pas. Pour les lipides, il est bien établi que l'élévation du mauvais cholestérol (LDL-cholestérol) augmente le risque de maladie cardiaque. Néanmoins, il est possible qu'un marqueur de l'élévation du nombre de LDL (apo B) qui augmente le risque de maladie cardiaque peut aussi augmenter d'autres complications de l'obésité comme le diabète de type 2. Nous voulons étudier certaines implications d'une élévation de l'apoB chez des sujets ayant un LDL-cholestérol à un niveau ne justifiant pas d'intervention médicale.

Vous participez déjà à l'étude principale intitulée « Cibler l'hyperapob100 pour réduire le risque de diabète de type 2 chez les sujets obèses; mécanisme d'action – Étude Principale ». L'objectif principal de cette étude principale est d'étudier et de comparer la résistance à l'insuline et l'inflammation chez des sujets obèses ou ayant un surplus de poids et ayant un taux élevé ou normal d'apoB. Les objectifs additionnels de cette sous-étude sont de mesurer l'inefficacité d'entreposage des matières grasses dans le tissu adipeux (gras) chez des sous-groupes de la population étudiée dans l'étude principale.

### Nature du protocole

Votre participation à cette sous-étude ajoute deux visites supplémentaires à l'IRCM (visite #6 et #18 dans le sommaire plus bas). Environ 32 sujets seront invités à participer à cette sous-étude. Si vous êtes éligible et que vous acceptez de participer, nous déterminerons votre utilisation et votre entreposage de la matière grasse d'un repas riche en lipides et marqué avec un isotope stable (un repas enrichi en <sup>13</sup>C).

Pour ce test, vous devez être à jeun depuis 20h la veille (eau permise). Pour ce faire, on installera un cathéter flexible en téflon qui sera inséré dans une veine de l'avant bras. Pour faciliter les prises de sang, le bras servant aux prélèvements est placé dans une couverture chauffante. Nous débutons le test par une biopsie du tissu adipeux. Pour ce faire, le médecin en charge désinfectera d'abord votre peau et pratiquera une anesthésie locale sur un côté de votre hanche. Une fois l'anesthésie obtenue, le médecin prélèvera 4-5 grammes de graisse par aspiration à l'aide d'une aiguille et d'une seringue. Après 45 min, nous mesurerons votre dépense énergétique au repos pendant 15 minutes par la calorimétrie indirecte. Ensuite, nous prendrons un échantillon de l'air que vous expirez (en soufflant dans un sac) et un prélèvement sanguin.

Par la suite, vous aurez 10 minutes pour prendre le repas enrichi en  $^{13}\text{C}$  sous forme de croissant, fromage, bacon, brownies et café. À partir de ce moment et pendant les 6 heures suivantes, nous répéterons les collectes de votre sang et de votre air expiré ainsi que la mesure de votre dépense énergétique aux temps 1, 2, 4 et 6 heures. Finalement, une deuxième biopsie du tissu adipeux sera effectuée au temps 4 heures sur l'autre hanche.

Une quantité d'environ 250 ml de sang (une tasse) sera prélevée (en plus du 262 ml de sang prélevé la semaine avant). Aussi, une quantité d'environ 8-10 grammes du tissu adipeux sera prélevée pour cette partie de l'étude. Pendant le test, vous devrez demeurer couché, mais si vous le désirez, vous pourrez boire de l'eau. Nous vous offrons une collation avant de quitter notre unité.

Les échantillons de sang, d'air expiré et du tissu adipeux nous permettront de déterminer le contenu en  $^{13}\text{C}$  de votre corps (niveau basal et après le repas enrichi en  $^{13}\text{C}$ ). Nous évaluerons aussi dans vos échantillons sanguins les niveaux de plusieurs marqueurs impliqués dans l'obésité. Finalement, la biopsie de tissu adipeux sera utilisée pour étudier l'expression génétique (ARN) et l'inflammation de votre tissu.

## Résumé des visites au cours de l'étude

**Les visites additionnelles mentionnées dans ce consentement sont les visites # 6 and # 18**

Visite	Calendrier	Description de la visite à l'IRCM	Durée
<b>A. Dépistage</b>			
1	Temps 0	Examen médical. Formulaire de consentement. Prise de sang (24 mL) et mesure de poids, taille, tension artérielle <b>Pour vérifier votre éligibilité</b>	1h00
<b>B. Stabilisation de poids (4 semaines)</b>			
2	1 sem	Pesée (tension artérielle)* Examen médical et rencontre nutritionnelle	90 min
3	2 sem	Pesée (tension artérielle)* Remise du journal alimentaire 3 jours de départ rempli par le patient	10 min
4	3 sem	Pesée Tension artérielle et/ou prise de sang (5 mL) – <b>Pour réévaluer votre éligibilité*</b>	10 min
<b>C. Composition corporelle, dépense énergétique au repos et sécrétion et sensibilité à l'insuline</b>			
5	4 sem	Pesée, (tension artérielle)* Composition corporelle (DEXA scan, tour de taille et des hanches) Dépense énergétique (calorimétrie indirecte) Sécrétion et sensibilité à l'insuline (Botnia clamp) (262 mL)	6 heures

<b>D. Entreposage et oxydation d'un repas riche en lipides et biopsies de tissu adipeux</b>			
6	4 sem	Consommation d'un repas enrichi en $^{13}\text{C}$ , prise de sang (250 mL) et d'expiration, dépense énergétique, biopsies du tissu adipeux.	7h30
<b>E. Perte de poids (24 semaines)</b>			
7	5 sem	Pesée, (tension artérielle)* Intervention nutritionnelle pour perte de poids	1 heure
8	9 sem	Pesée, (tension artérielle)* suivi diététique	30 min
9	13 sem	Pesée, (tension artérielle)* Dépense énergétique (calorimétrie indirecte) Réajustement de l'intervention nutritionnelle	1 heure
10	17 sem	Pesée, (tension artérielle)* suivi diététique	30 min
11	21 sem	Pesée, (tension artérielle)* suivi diététique	30 min
12	25 sem	Pesée, (tension artérielle)* suivi diététique	30 min
13	29 sem	Pesée, (tension artérielle)* Remise du journal alimentaire 3 jours après perte de poids rempli par le patient Intervention nutritionnelle pour le maintien du poids	1 heure
<b>F. Stabilisation du poids corporel post-intervention (4 semaines)</b>			
14	30 sem	Pesée	10 min
15	31 sem	Pesée	10 min
16	32 sem	Pesée	10 min
<b>G. Composition corporelle, dépense énergétique et sécrétion et sensibilité à l'insuline post-intervention</b>			
17	33 sem	Pesée Composition corporelle (DEXA scan, tour de taille et des hanches) Dépense énergétique (calorimétrie indirecte) Sécrétion et sensibilité à l'insuline (Botnia clamp) (262 mL)	6 heures
<b>H. Entreposage et oxydation d'un repas riche en lipides et biopsies de tissu adipeux</b>			
18	34 sem	Consommation d'un repas enrichi en $^{13}\text{C}$ , prise de sang (250 mL) et d'expiration, dépense énergétique, biopsies du tissu adipeux.	7h30

\*Seulement pour les sujets qui étaient sous un traitement qui a été cessé pour le temps de l'étude par le médecin avant l'inclusion

## Risques et inconvénients

Votre participation à l'étude comporte quelques risques.

## Risques

### Biopsie

Lors de la biopsie vous pourrez ressentir un léger inconfort au début de la procédure, lors de l'anesthésie locale (piqûre). Les risques encourus lors de la biopsie sont :

- Hématome (bleu) si un capillaire est blessé lors de l'aspiration. Environ 60% des sujets vont présenter cette complication. La taille de l'hématome est très variable, allant d'un centimètre à

près de 10 cm. Cet hématome disparaît généralement en moins de 2 semaines. Le risque d'hématome nécessitant un acte médical complémentaire est minime.

- Infection de la peau (risque minime), qui pourrait nécessiter la prise d'antibiotique.
- Perte de souplesse de la peau au site de la biopsie. Cette complication survient chez moins de 20% des sujets et disparaît en 1 à 2 mois.
- Allergie au produit anesthésique (le même utilisé pour les soins dentaires). Nous vérifierons avec vous le risque d'allergie avant la procédure.

Au cours des années 2003-2009 le D<sup>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret a réalisé plus de 250 biopsies et environ 60% des sujets ont présenté un hématome. Deux sujets ont dû être revus en raison de la taille de leur hématome et dans ces deux cas, une simple surveillance a permis de s'assurer de la guérison de l'hématome. Aucune autre complication n'a été observée.

### Repas enrichi en <sup>13</sup>C

Votre participation à ce test comporte peu de risque. La consommation d'un repas riche en lipides peut occasionner des nausées ou des maux d'estomac temporaires. La consommation de l'isotope stable ne comporte aucun risque. Un isotope stable n'est pas radioactif, il s'agit d'une variante naturelle d'un atome. Cette technique est la méthode étalon (de référence) pour étudier le métabolisme des nutriments chez l'humain. L'insertion de cathéter pour les prélèvements pourrait causer un léger inconfort. Des ecchymoses (bleus) ou plus rarement des étourdissements (malaise vagal) peuvent survenir.

### Risques socioéconomiques

Un des risques associés au projet de recherche est lié à la divulgation des résultats ou de votre participation à des tiers et en particulier à des assureurs. En effet, les résultats vous concernant obtenus dans cette étude pourraient permettre de vous identifier comme une personne étant plus à risque de développer des maladies cardiovasculaire ou le diabète. Cela pourrait modifier vos conditions d'assurabilité (assurance-vie, invalidité ou santé) ou d'obtenir certains emplois.

### **Bénéfices**

Nous espérons aussi que les résultats obtenus nous permettront de faire avancer l'état de nos connaissances dans le domaine de l'obésité et éventuellement d'en faire profiter la société, mais vous ne retirerez pas de bénéfice immédiat de votre participation à cette étude.

### **Critères d'exclusion**

Vous avez consenti et vous avez rencontré tous les critères d'éligibilité de l'étude principale. Un critère d'exclusion supplémentaire s'ajoute pour participer à cette sous-étude : vous ne devez pas avoir subi l'ablation de la vésicule biliaire (cholécystectomie). L'absence de vésicule biliaire peut affecter l'absorption des gras alimentaires.

### **Clause de responsabilité**

Si, par la suite de votre participation à cette étude, il survenait un incident attribuable aux interventions médicales requises, il n'y a pas d'autre type de compensation prévu que ce qui est normalement couvert par votre assurance-maladie. Le D<sup>r</sup> Rabasa-Lhoret, le D<sup>r</sup> Robert Dufour et le D<sup>r</sup> Pierre Larochelle disposent des assurances requises à la fois pour la pratique médicale, les activités et les procédures de recherche. Cependant, en signant le présent formulaire vous ne renoncez à aucun des droits garantis par la loi.

### **Confidentialité**

Les sujets participant à cette étude seront identifiés par un code numérique spécifique. En aucun moment votre nom ne sera divulgué. Lors de présentations de résultats à des réunions scientifiques ou lors de publications, vous serez identifié(e) uniquement par votre code numérique. Le décodage ne pourra être fait que par le chercheur principal ou par une personne déléguée par ce dernier.

Cependant, il est possible qu'un délégué du Comité d'éthique de l'Institut de recherches cliniques de Montréal consulte votre dossier de recherche incluant les données médicales, de même que votre formulaire de consentement, afin de s'assurer que l'étude est faite selon le protocole et qu'elle respecte les règles d'éthique. Avec votre consentement, nous pourrions transmettre les résultats des tests à votre médecin traitant.

Les échantillons de votre sang et d'ARN seront conservés à l'Institut de recherches cliniques de Montréal, sous la responsabilité de Drs May Faraj et Rémi Rabasa-Lhoret pour la durée d'analyse et de publication complète du projet de recherche (10 ans après la fin du projet). En aucun cas, ces échantillons ne peuvent être vendus à qui que ce soit (ex. industrie, chercheur)

Selon les normes en vigueur, les données doivent être conservées pour une durée de 10 ans pour fin de vérification. En cas de l'arrêt de l'étude, les échantillons seront détruits et les données déjà collectées conservées pour fin de vérification ultérieure (10 ans).

### **Liberté de participation et de retrait de l'étude**

Votre participation à cette étude est tout à fait volontaire. Vous êtes donc libre d'accepter ou de refuser d'y participer et vous pouvez vous retirer de l'étude en tout temps, sur simple avis verbal, sans que cela n'affecte les traitements auxquels vous avez droit, ni ne nuise aux relations avec votre médecin. La chercheuse s'engage à vous faire connaître tout nouveau développement qui pourrait influencer votre décision de participer à l'étude. Vous pourrez également refuser de participer à cette sous-étude tout en continuant de participer à l'étude principale.

### **Indemnité**

Vos frais de déplacement par transport en commun et de stationnement vous seront remboursés. Les tests effectués seront gratuits pour tous les participants.

### **Possibilités de commercialisation**

L'analyse de votre échantillon pourrait contribuer à la création de produits commerciaux, par exemple des médicaments contre l'obésité ou le diabète. Par contre, même si par le biais de votre participation à cette étude vous contribuez à l'élaboration d'un produit, vous ne pourrez en retirer aucun bénéfice monétaire ou financier.

### **Personnes-ressources**

Vous pouvez obtenir plus de renseignements concernant l'étude ou sur votre participation en communiquant avec :

- La D<sup>re</sup> May Faraj au (514) 987-5655.
  - Le <sup>Dr</sup> Rémi Rabasa-Lhoret au (514) 987-5666, Le <sup>Dr</sup> Robert Dufour au (514) 987-5758 ou le Dr Pierre Larochelle au (514) 987-5549
- Vous pouvez obtenir de l'aide médicale 24 heures/24 en téléphonant au service de messages aux médecins du CHUM au (514) 890-8100. Le service des messages peut joindre le D<sup>r</sup> Rabasa-Lhoret en tout temps. Le Dr Rabasa-Lhoret est aussi joignable par courriel : [remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca](mailto:remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca)
- La coordonnatrice de l'étude: Annie Tardif au (514) 987-5500 poste # 3322 ou par courriel [annie.tardif@ircm.qc.ca](mailto:annie.tardif@ircm.qc.ca)
  - La D<sup>re</sup> Madeleine Roy, membre du Comité d'éthique, au (514) 987-5636 s'il a des questions en tant que sujet de recherche.

### Consentement

Je déclare avoir pris connaissance du présent formulaire de consentement. Je reconnais que la nature et le déroulement du projet de recherche m'ont été expliqués, qu'on a répondu à toutes mes questions et qu'on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision. Je comprends en quoi consiste ma participation à cette étude et j'accepte volontairement et librement d'y participer. En signant le présent formulaire, je ne renonce à aucun de mes droits légaux ni ne libère le chercheur, le médecin, l'hôpital ou le commanditaire de leur responsabilité civile et professionnelle.

Nom du participant	
Signature du participant	
Date	

**Je consens à ce que les résultats de cette recherche, qui sont pertinents à mon suivi médical, soient transmis à mon médecin traitant.**

Oui :

Non :

### Déclaration du chercheur

J'ai expliqué la nature, le but, les procédures, les avantages et les risques de la présente étude. J'ai répondu à toutes les questions qui m'ont été posées. Je crois que le sujet comprend pleinement mes explications et que son consentement a été donné librement.

Nom du chercheur	D <sup>re</sup> May Faraj ou D <sup>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret ou D <sup>r</sup> Robert Dufour ou Dr Pierre Larochelle
Signature du chercheur	
Date	

### Distribution du formulaire de consentement

- Remettre une copie originale au patient.
- Garder une copie originale au dossier de la clinique de l'IRCM.
- Garder une copie originale aux dossiers de la chercheuse.