

Université de Montréal

**Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports  
alimentaires et de la dépense énergétique**

par

Marie-Eve Lavoie

Département de nutrition

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté de Médecine

En vue de l'obtention du grade de Ph.D.

en nutrition

Février 2012

© Marie-Eve Lavoie, 2012

Université de Montréal  
Faculté de Médecine

Cette thèse intitulée :

**Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports  
alimentaires et de la dépense énergétique**

présentée par :

Marie-Eve Lavoie

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Marielle Ledoux	Président-rapporteur
Rémi Rabasa-Lhoret	Directeur de recherche
May Faraj	Codirectrice
Anil Nigam	Membre du jury
Marie-France Hivert	Examineur externe
Éric Thorin	Représentant du doyen

## RÉSUMÉ EN FRANÇAIS

Le risque cardiométabolique (RCM) représente l'ensemble de tous les facteurs de risque pour les maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2, incluant les facteurs de risque traditionnels et ceux émergents. Les évidences indiquent que la résistance à l'insuline, l'inflammation et le stress oxydant jouent un rôle clé dans le RCM, bien que l'acteur initiateur des altérations métaboliques caractéristiques du RCM reste encore à définir. Les femmes post-ménopausées constituent un sous-groupe important de la population puisque le risque de complications cardiométaboliques augmente après la ménopause. Les facteurs de RCM peuvent être modulés par l'alimentation, l'activité physique et la perte de poids. Alors que l'étude de nutriments / aliments spécifiques a permis de mieux comprendre l'implication de l'alimentation dans le RCM, celle de la qualité de l'alimentation est prometteuse. L'activité physique a des effets bénéfiques sur le RCM bien démontrés chez des personnes actives. Cependant, la relation entre la dépense énergétique et le RCM chez des individus sédentaires a été moins investiguée. De même, peu ou pas de données existent quant à une interaction synergique possible entre l'alimentation et l'activité physique sur le RCM. L'objectif de la présente thèse est d'investiguer les relations entre l'alimentation, l'activité physique, le stress oxydant et le RCM chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses, sédentaires et sans autres complications métaboliques. Les résultats montrent que d'une part, chez ces femmes sédentaires, une dépense énergétique active (DÉAP) élevée est associée à un meilleur profil inflammatoire, indépendamment de l'adiposité. D'autre part, il existe une relation synergique entre la qualité alimentaire et la DÉAP associée à un meilleur RCM. Une qualité alimentaire élevée combinée à une DÉAP élevée est associée à un meilleur profil lipidique et lipoprotéique et à une inflammation sub-clinique moindre, indépendamment de l'adiposité. Par ailleurs, dans une étude pilote, seuls des effets indépendants des changements de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur les changements dans les facteurs de RCM ont été observés suite à cette diète hypocalorique de 6 mois, indépendamment du changement de l'adiposité encouru. En effet, au-delà de la réduction de l'adiposité et de l'amélioration du profil lipoprotéique induites par l'intervention, l'amélioration de la qualité alimentaire et de la DÉAP est associée,

indépendamment l'une de l'autre, à une meilleure pression artérielle et un meilleur profil lipidique. Par ailleurs, une modification du système glutathion, un des systèmes antioxydants les plus communs de l'organisme, est associée à un RCM élevé. Une activité élevée de la glutathion peroxydase est associée à une résistance à l'insuline et à une épaisseur plus importante de l'intima-media de la carotide. Ces relations pourraient être médiées par un stress réducteur. En conclusion, l'adoption d'une saine alimentation et la pratique d'activités physiques doivent être encouragées dans les interventions visant à contrer l'obésité et ses complications, même en absence d'un changement d'adiposité. D'autre part, l'activité de la glutathion peroxydase pourrait être un paramètre impliqué dans le développement de désordres cardiométaboliques sub-cliniques et asymptomatiques chez des femmes obèses. D'autres investigations sont requises pour confirmer ces observations et élucider les mécanismes d'action impliqués.

**Mots-clés :** Risque cardiométabolique, Qualité alimentaire, Activité physique, Dépense énergétique, Obésité, Résistance à l'insuline, Inflammation, Glutathion, Femmes post-ménopausées

## RÉSUMÉ EN ANGLAIS

The cardiometabolic risk represents all risk factors for cardiovascular diseases and type 2 diabetes, including the traditional and the emerging risk factors. Accumulating evidences indicate that insulin resistance, inflammation and oxidative stress are key players in the cardiometabolic risk, although the main cause initiating the metabolic alterations associated with the cardiometabolic risk has to be identified. Postmenopausal women are an important sub-group of the general population because the risk of developing cardiometabolic complications increases after menopause. The cardiometabolic risk factors can be modulated by dietary intake, physical activity and weight loss. Despite the fact that the study of specific nutrients or foods provided a better understanding of the implication of nutrition in the cardiometabolic risk, the relationship between diet quality and cardiometabolic risk has been less studied. Beneficial effects of physical activity on the cardiometabolic risk have been demonstrated in physically active individuals. However, the relationship between energy expenditure and the cardiometabolic risk in sedentary individuals has been less investigated. Similarly, it is unknown whether dietary intake interacts with physical activity in order to have greater beneficial effects on the cardiometabolic risk. The objective of this thesis is to determine the relationships between diet quality, physical activity and oxidative stress on the cardiometabolic risk in sedentary postmenopausal overweight and obese women without cardiometabolic complications. The results showed that, in these sedentary women, physical activity energy expenditure is associated with reduced inflammation, independently of adiposity. Moreover, there is a synergistic relationship between quality and physical activity energy expenditure (PAEE) which is associated with a reduced cardiometabolic risk compared to their separate effects. Indeed, high diet quality combined to high PAEE levels is associated with a better lipid and lipoprotein profile and a lower inflammatory status, independently of adiposity. However, in a pilot study, only independent effects of changes in diet quality and PAEE on the changes in cardiometabolic risk factors was observed following a 6-month hypocaloric diet. Indeed, beyond the reduction of adiposity and improvement of the lipoprotein profile induced by this diet, improved diet quality and

increased PAEE are associated with beneficial changes in blood pressure and lipid profile. On the other hand, modification in the glutathione system, which is one of the most common antioxidant systems in the body, is associated with a higher cardiometabolic risk. Greater glutathione peroxidase activity is associated with insulin resistance and greater intima-media thickness of blood vessels. These relationships may be mediated through a reductive stress. In conclusion, a healthy diet and physical activity should be emphasized in interventions aimed to reduce obesity and its related complications, even in absence of change in adiposity. Moreover, glutathione peroxidase activity may be a parameter contributing to the development of sub-clinical but clinically relevant asymptomatic cardiometabolic abnormalities in obese women. Further investigations are needed to confirm these results and to elucidate the underlying mechanisms.

**Keywords:** Cardiometabolic risk, Nutrition, Diet quality, Physical activity, Energy expenditure, Inflammation, Glutathione, Postmenopausal women, Obesity

## TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ EN FRANÇAIS .....	iii
RÉSUMÉ EN ANGLAIS.....	v
TABLE DES MATIÈRES .....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiv
LISTE DES ANNEXES.....	xvi
LISTE DES SIGLES.....	xvii
LISTE DES ABBRÉVIATIONS .....	xviii
REMERCIEMENTS .....	xxiii
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 1 : MISE EN CONTEXTE .....	5
1.1.  Risque cardiometabolique .....	5
1.1.1.  Obésité / adiposité.....	7
1.1.1.1.  L'obésité et le risque cardiometabolique .....	8
1.1.1.2.  L'adiposité et le risque cardiometabolique : l'importance .....	9
de sa répartition, de son emplacement et de sa qualité .....	9
1.1.2.  Résistance à l'insuline.....	11
1.1.2.1.  Méthodes d'évaluation de la résistance à l'insuline .....	13
1.1.2.2.  La résistance à l'insuline et les facteurs de risque .....	16
cardiometabolique.....	16
1.1.3.  Dyslipidémie .....	19
1.1.4.  Inflammation.....	21
1.1.4.1.  Les sources d'inflammation systémique.....	22

1.1.4.2.	L'inflammation systémique et les facteurs de risque cardiométabolique.....	25
1.1.5.	Stress oxydant .....	27
1.1.5.1.	Méthodes de mesure / d'évaluation du stress oxydant .....	29
1.1.5.2.	Les sources du stress oxydant.....	30
1.1.5.3.	Le stress oxydant et la résistance à l'insuline .....	31
1.1.5.4.	Défenses antioxydantes : le rôle du système glutathion .....	32
1.2.	Balance énergétique.....	37
1.2.1.	Apports alimentaires .....	38
1.2.1.1.	Les outils d'évaluation de l'apport alimentaire .....	38
1.2.1.2.	Aspects quantitatifs.....	39
1.2.1.3.	Aspects qualitatifs.....	40
1.2.1.3.1.	Patrons alimentaires et risque cardiométabolique .....	41
1.2.1.3.2.	Scores de qualité alimentaire et risque cardiométabolique.....	42
1.2.1.3.3.	Limites de l'évaluation des apports alimentaires.....	45
1.2.2.	Dépense énergétique .....	47
1.2.2.1.	Aspects quantitatifs.....	47
1.2.2.1.1.	Dépense énergétique totale .....	48
1.2.2.1.2.	Dépense énergétique de repos.....	50
1.2.2.1.3.	Thermogenèse alimentaire.....	52
1.2.2.1.4.	Dépense énergétique liée à l'activité physique.....	53
1.2.2.2.	Aspects qualitatifs.....	55
1.2.3.	Interaction entre l'alimentation et l'activité physique .....	59
1.3.	Le risque cardiométabolique chez la femme .....	62
CHAPITRE 2 : HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS .....		65

2.1.	Hypothèses .....	65
2.2.	Objectifs .....	66
CHAPITRE 3 : MÉTHODOLOGIE .....		67
3.1.	Sujets .....	67
3.2.	Intervention .....	69
3.3.	Stabilisation du poids .....	73
3.4.	Anthropométrie .....	73
3.5.	Composition corporelle .....	73
3.6.	Pression artérielle .....	74
3.7.	Apports alimentaires.....	74
3.8.	Sous- / sur-rapporteurs de l'apport alimentaire calorique .....	77
3.9.	Qualité alimentaire .....	78
3.10.	Dépense énergétique totale .....	80
3.11.	Dépense énergétique de repos.....	81
3.12.	Dépense énergétique liée à l'activité physique.....	82
3.13.	Capacité cardiorespiratoire .....	82
3.14.	Tolérance au glucose et sensibilité à l'insuline .....	83
3.15.	Analyses sanguines .....	84
3.15.1.	Bilan lipidique et des lipoprotéines .....	85
3.15.2.	Glycémie et hormones.....	85
3.15.2.	Marqueurs inflammatoires.....	85
3.15.3.	Métabolisme du glutathion .....	86
3.15.3.1.	Glutathion total .....	86
3.15.3.2.	Activité spécifique des enzymes glutathion peroxydase et glutathion réductase .....	88

3.16.	Mesure de l'épaisseur de l'intima-media de la carotide .....	90
3.17.	Analyses statistiques .....	92
3.17.1.	Manuscrit #1 .....	92
3.17.2.	Manuscrit #2 .....	93
3.17.3.	Manuscrit #3 .....	94
3.17.4.	Manuscrit #4 .....	94
CHAPITRE 4 : RÉSULTATS .....		96
4.1.	Manuscrit #1 intitulé : « Association between physical activity ..... energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight ..... and obese women », Int J Obes, 2010, 34:1387-1395.....	96
4.2.	Manuscrit #2 intitulé : « Synergistic associations of physical activity and ..... diet quality on cardiometabolic risk factors in overweight and ..... obese postmenopausal women », Br J Nutr, juillet 2011, soumis ..... pour publication.....	126
4.3.	Manuscrit #3 intitulé : « Blood glutathione peroxidase activity is ..... associated with higher risk of cardiovascular diseases in obese ..... women », J Diabetes Metab, juillet 2011, soumis pour publication.....	157
4.4.	Manuscrit #4 intitulé : « Improvements in diet quality and physical ..... activity are correlates of better blood lipid profile and blood pressure ..... following a hypocaloric diet beyond changes in adiposity in ..... sedentary overweight and obese postmenopausal women. A ..... MONET-group study », en préparation .....	182
CHAPITRE 5 : DISCUSSION.....		203
5.1.	Les relations indépendantes et synergiques entre qualité alimentaire et ..... DÉAP sur le risque cardiométabolique .....	205
5.1.1.	Association entre la DÉAP et le statut inflammatoire sub-clinique ..... chez des femmes post-ménopausées sédentaires en surpoids ou ..... obèses (manuscrit #1).....	205

5.1.2.	Associations synergiques de la qualité alimentaire et de la DÉAP .....	
	sur les facteurs de risque cardiométabolique chez des femmes .....	
	post-ménopausées sédentaires en surpoids ou obèses (manuscrit #2). ....	207
5.1.3.	Une modification de la qualité alimentaire et de la DÉAP est associée .....	
	aux changements dans les facteurs de risque cardiométabolique au .....	
	cours d'une diète hypocalorique pendant 6 mois (manuscrit #4). ....	211
5.1.4.	La pertinence des résultats dans un contexte clinique .....	214
5.1.4.1.	Activité physique .....	214
5.1.4.2.	Qualité alimentaire.....	215
5.2.	La relation entre le système glutathion et le risque cardiométabolique .....	216
CONCLUSION	.....	220
ANNEXE 1	.....	xxv
ANNEXE 2	.....	xxx
ANNEXE 3	.....	xlvi
ANNEXE 4	.....	lxi
CURRICULUM VITAE	.....	lxvi

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Classification de l'obésité et de l'adiposité centrale.	7
Tableau 2.	Sommaire des principaux indices de sensibilité/résistance à l'insuline.	15
Tableau 3.	Critères utilisés pour le calcul du score C-HEI chez les femmes.	79
Tableau 4.	Récapitulatif des tests utilisés dans les études MONET et CAO pour les bilans d'inclusion et après perte de poids.	91

Manuscrit #1

<i>Table 1.</i>	<i>Anthropometric characteristics of overweight and obese postmenopausal women.</i>	119
<i>Table 2.</i>	<i>Metabolic characteristics of overweight and obese postmenopausal women.</i>	120
<i>Table 3.</i>	<i>Components of energy expenditure, cardiorespiratory fitness and inflammatory marker levels of overweight and obese postmenopausal women.</i>	121
<i>Table 4.</i>	<i>Stepwise regression analyses for the prediction of inflammatory markers by the components of energy expenditure and cardiorespiratory fitness.</i>	122

Manuscrit #2

<i>Table 1.</i>	<i>Anthropometric and metabolic characteristics.</i>	149
<i>Table 2.</i>	<i>Hierarchical regression analysis on the association between inflammatory markers and PAEE, C-HEI and their interaction (PAEE x C-HEI).</i>	151
<i>Table 3.</i>	<i>Components of energy expenditure, cardiorespiratory fitness and inflammatory markers levels.</i>	153

Manuscript #3

<i>Table 1.</i>	<i>Glutathione metabolism of the subjects with either low or high GPx activity.</i>	175
<i>Table 2.</i>	<i>Anthropometric, blood pressure, blood lipid and apolipoprotein profiles, glucose status and inflammatory markers of subjects with either low or high GPx activity.</i>	176

Manuscript #4

<i>Table 1.</i>	<i>Percent changes in anthropometric and metabolic parameters following a hypocaloric diet (n=39).</i>	200
<i>Table 2.</i>	<i>Predictors of percent changes (%change) in blood parameters by %change in C-HEI, PAEE and their interaction (%change PAEE x %change C-HEI).</i>	202

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Risque cardiométabolique : facteurs de risque traditionnels et émergents.	6
Figure 2.	Relations entre la résistance à l'insuline et les autres facteurs de risque cardiométabolique.	12
Figure 3.	Principales cytokines, hormones, molécules d'adhésion ainsi que les acides gras libres sécrétés par le tissu adipeux.	25
Figure 4.	Composantes de la balance entre les molécules anti- et pro-oxydantes.	29
Figure 5.	Système glutathion.	33
Figure 6.	Relations entre la résistance à l'insuline, l'inflammation et le stress oxydant et le risque cardiométabolique.	36
Figure 7.	Composantes de la dépense énergétique totale.	48
Figure 8.	Design de l'étude CAO.	69
Figure 9.	Design de l'étude MONET.	71
Figure 10.	Principe de la mesure du glutathion total (A), de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) en utilisant comme peroxyde initiateur le TB-OOH (t-butylhydroperoxyde) (B) et de l'activité de la glutathion réductase (GSSG-R) (C) par la technique de recyclage enzymatique.	87

Manuscrit #1

<i>Figure 1.</i>	<i>Correlations between inflammatory markers and components of energy expenditure.</i>	124
------------------	--	-----

Manuscrit #2

<i>Figure 1.</i>	<i>Distribution of the Canadian Healthy Eating Index (C-HEI) score in the whole cohort (a) and the percentage of women having the maximum score in each component of the C-HEI (b).</i>	155
------------------	---	-----

*Figure 2. Percentage of the difference between Low PAEE/Low C-HEI group (reference group) and the other three groups for blood lipoprotein profile (a-d) and the inflammatory marker hsCRP (e). 156*

Manuscript #3

*Figure 1. Frequency distribution of total glutathione (A), glutathione peroxidase activity (B) and glutathione reductase activity (C) in the blood from the entire cohort. 179*

*Figure 2. Glycemia (A) and insulinemia (B) during an OGTT in the Low and High GPx activity subjects. 180*

*Figure 3. Carotid intima-media thickness from the left and right artery in Low and High GPx activity subjects. 181*

## LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 :	Autres contributions scientifiques	xxv
Annexe 2 :	Acceptation éthique et formulaire de consentement de l'étude MONET	xxx
Annexe 3 :	Acceptation éthique et formulaire de consentement de l'étude CAO	xlvi
Annexe 4 :	Sommaire des recommandations émises pour les analyses de journaux alimentaires par le logiciel <i>Food Processor SQL</i>	lxi

## LISTE DES SIGLES

CI	<i>confidence interval</i> ou intervalle de confiance
cm	centimètre
HU	unités Hounsfield
j	jour
kg	kilogramme
kcal	kilocalorie
m	mètre
mM	millimolaire
mmol/L	millimoles/litre
rpm	rotation par minute
SD	<i>standard deviation</i>
SEM	<i>standard error to the mean</i>

## LISTE DES ABBRÉVIATIONS

%change	<i>percent change</i> ou pourcentage de changement
6PGL	6-phosphogluconolactonase
AC	apports caloriques
ADA	Association américaine du diabète
ADN	acide désoxyribonucléique
AGL	acides gras libres
AHEI	<i>Alternate HEI</i>
aMED	<i>Alternate Mediterranean Diet Index</i>
AMP	adénosine monophosphate
AMPK	protéine kinase activée par l'AMP
ANOVA	analyse de variance
AP-1	<i>activator protein 1</i>
apoA1	apolipoprotéine A1
apoB	apolipoprotéine B
ATP	adénosine triphosphate
AUC	<i>area under the curve</i> ou aire sous la courbe
BMI	<i>body mass index</i>
BP	<i>blood pressure</i>
BSA	albumine sérique bovine
CAO	Complications Associées à l'Obésité
C-HEI	<i>Canadian Healthy Eating Index</i>
CIMT	<i>carotid intima-media thickness</i> ou épaisseur de l'intima-media de la carotide
CO <sub>2</sub>	gaz carbonique
CRP	protéine C-réactive
CSF-1	<i>colony-stimulating factor-1</i>
CT-scan	<i>computed tomography scan</i>
CVD	<i>cardiovascular diseases</i>
DAG	diacylglycérol

Db2	diabète de type 2
DDS	<i>Dietary Diversity Score</i>
DÉAP	dépense énergétique liée à l'activité physique
DÉR	dépense énergétique de repos
DÉT	dépense énergétique totale
DLW	<i>doubly labelled water</i>
DQI	<i>Diet Quality Index</i>
DQI-I	<i>DQI-International</i>
DQI-R	<i>DQI-Revised</i>
DTNB	acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque)
DXA	<i>dual-energy X-rays</i> ou absorptiométrie biphotonique
EDTA-Na2	acide éthylène diamine tétra acétique disodique
EDTA K2	acide éthylène diamine tétra acétique dipotassique
EI	<i>energy intake</i>
ELISA	essai immunoenzymatique à double détermination d'anticorps
FCÉN	Fichier canadien sur les éléments nutritifs
FFA	<i>free fatty acids</i> ou acides gras libres
FSH	hormone de stimulation folliculaire
G6DP	glucose-6-phosphate déshydrogénase
G6P	glucose-6-phosphate
GAC	Guide alimentaire canadien
GLUT4	<i>glucose transporter 4</i>
GPx	glutathion peroxydase
GSH	glutathion, forme réduite du glutathion
GSSG	glutathion disulfure
GSSG-R	glutathion réductase
<sup>2</sup> H	deutérium
<sup>2</sup> H <sub>2</sub> <sup>18</sup> O	eau doublement marquée
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peroxyde d'hydrogène
HbA <sub>1C</sub>	hémoglobine glycosylée
HDL	lipoprotéines de haute densité

HDL-C	contenu en cholestérol des lipoprotéines de haute densité
HEI	<i>Healthy Eating Index</i>
HLD-Index	<i>Healthy Lifestyle-Diet Index</i>
HGPO	hyperglycémie provoquée par voie orale
HOMA-IR	<i>homeostasis model assessment of insulin resistance</i>
hsCRP	<i>high sensitivity C-reactive protein</i> ou protéin C-réactive de haute sensibilité
ICAM-1	<i>intercellular adhesion molecule-1</i>
IDL	lipoprotéines de densité intermédiaire
IKK- $\beta$	inhibiteur de la kinase kappa B
IL	interleukine
IMC	indice de masse corporelle
IRM	imagerie par résonance magnétique
IRS	<i>insulin receptor substrate</i> ou substrat du récepteur à l'insuline
JNK	kinase c-Jun N-terminal
JUPITER	<i>Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin</i>
LDL	lipoprotéines de faible densité
LDL-C	contenu en cholestérol des lipoprotéines de faible densité
LPL	lipoprotéine lipase
MCP-1	<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>
MCV	maladies cardiovasculaires
MDA	malondialdéhyde
MDI	<i>Mediterranean Diet Index</i>
MDS	<i>Mediterranean Diet Score</i>
MET	équivalent métabolique
M-DQI	<i>Mediterranean Diet Quality Index</i>
MnSOD	superoxyde dismutase manganèse
MONET	<i>Montreal-Ottawa New Emerging Team</i>
NADH	nicotinamide adénine dinucléotide
NADP	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADPH	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
NEAT	<i>non-exercise associated thermogenesis</i>
NF $\kappa$ B	<i>nuclear transcription factor <math>\kappa</math>B</i>
NHANES III	<i>Third National Health and Nutrition Examination Survey</i>
NO	<i>nitric oxide</i> ou oxyde nitrique
$\cdot$ OH	le radical hydroxyl
$^1\text{O}_2$	oxygène singlet
$^{18}\text{O}$	oxygène 18
$\text{O}_2$	oxygène
$\text{O}_2^-$	superoxyde anion
OGTT	<i>oral glucose tolerance test</i>
p38-MAPK	protéine kinase activée par mitogène p38
PAEE	<i>physical activity energy expenditure</i>
PAI-1	<i>plasminogen activator inhibitor-1</i>
PKC	protéine kinase C
PPAR $\gamma$	<i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>
QUICKI	<i>quantitative insulin sensitivity check index</i>
RCM	risque cardiométabolique
REE	<i>resting energy expenditure</i>
RFS	<i>Recommended Foods Score</i>
RI	résistance à l'insuline
RNS	<i>reactive nitrogen species</i> ou espèces réactives à l'azote
ROS	<i>reactive oxygen species</i> ou espèces réactives à l'oxygène
SAT	<i>subcutaneous adipose tissue</i>
SI $_s$ OGTT	<i>simple index assessing insulin sensitivity</i>
SOCS-3	<i>suppressor cytokine signaling-3</i>
SOD	superoxyde dismutase
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
sTNFR1	récepteur 1 soluble du <i>tumor necrosis factor alpha</i>
T2D	<i>type 2 diabetes</i>
TA	thermogenèse alimentaire

TB-OOH	t-butylhydroperoxyde
TEE	<i>total energy expenditure</i>
TEF	<i>thermic effect of food</i>
TG	triglycérides
TNF $\alpha$	<i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i>
TSH	<i>thyroid stimulating hormone</i> ou hormone thyroestimuline
TZD	thiazolidinédiones
UCP	<i>uncoupling protein</i> ou protéine découplante
USDA	<i>US Department of Agriculture</i>
VAT	<i>visceral adipose tissue</i>
VCAM-1	<i>vascular cell adhesion molecule-1</i>
VLDL	lipoprotéines de très faible densité
VO <sub>2</sub> max	capacité cardiorespiratoire maximale
VO <sub>2</sub> pic	capacité cardiorespiratoire au point le plus élevé
WBC	<i>white blood cell count</i> ou globules blancs

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué à faire de cette thèse ce qu'elle est. Je remercie particulièrement mon directeur de recherche, Dr Rémi Rabasa-Lhoret, pour son soutien, sa confiance, ses enseignements, sa passion pour la recherche ainsi que toutes les opportunités qu'il m'a offertes au cours de mon doctorat.

Je remercie ma co-directrice, Dr May Faraj, pour son soutien et ses enseignements qui m'ont permis de réaliser mon doctorat.

J'aimerais remercier Dr Lise Coderre pour les discussions que nous avons échangées qui m'ont permis de voir les choses autrement.

J'aimerais remercier Dr Irene Strychar pour son aide en regard des données alimentaires ainsi que pour les opportunités qu'elle m'a offertes au cours de mon doctorat.

J'aimerais également remercier les collègues de laboratoire et les collaborateurs qui ont nourris ma curiosité scientifique ainsi que les participantes des études MONET et CAO sans qui, cette thèse ne serait pas ce qu'elle est.

Enfin, j'aimerais remercier ma famille pour le soutien et les encouragements reçus au cours de toutes ces années, et particulièrement mon conjoint.

## INTRODUCTION

Le risque cardiométabolique représente tous les facteurs de risque associés au développement de maladies cardiovasculaires et du diabète de type 2, incluant les facteurs de risque traditionnels et émergents [1, 2]. La résistance à l'insuline et l'adiposité viscérale semblent étroitement liés aux anomalies métaboliques conférant un risque cardiométabolique élevé. De plus, la dyslipidémie, l'inflammation sub-clinique et le stress oxydant sont associés à l'obésité et impliqués dans la résistance à l'insuline. Les évidences indiquent que la résistance à l'insuline, l'inflammation et le stress oxydant jouent un rôle important dans le risque cardiométabolique et le développement des maladies cardiovasculaires [3-6] bien que la ou les causes initiant les altérations métaboliques caractéristiques du risque cardiométabolique restent encore à définir.

D'autre part, le stress oxydant peut être étudié soit par la mesure des oxydants comme les radicaux libres et les peroxydes (mesures directes ou indirectes) ou soit par la mesure des défenses antioxydantes. Le système glutathion fait partie des antioxydants les plus communs de l'organisme et permet de métaboliser le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), lequel est généré continuellement par les mitochondries [7, 8]. Ce système a été associé au risque cardiométabolique. Des concentrations circulantes faibles de glutathion ont été rapportés chez des individus obèses et obèses diabétiques de type 2 comparativement à des sujets non obèses en santé [9, 10]. Les évidences suggèrent qu'une altération du système glutathion pourrait contribuer au développement des anomalies métaboliques caractéristiques du risque cardiométabolique.

Les facteurs de risque cardiométabolique peuvent être influencés par les facteurs modifiables du style de vie tels que l'alimentation et l'activité physique. Une alimentation malsaine et l'inactivité physique sont tous deux associés à un risque cardiométabolique élevé [11, 12]. L'étude des nutriments ou des aliments spécifiques a permis de mieux comprendre l'implication de l'alimentation dans le développement des désordres métaboliques associés aux maladies cardiovasculaires et au diabète de type 2. Toutefois, elle ne permet pas de prendre en compte les interactions entre les nutriments

qui peuvent à leur tour influencer le risque cardiométabolique. L'évaluation de l'aspect qualitatif de l'alimentation permet de combler ces lacunes. Une des approches est de calculer un score qui reflète la qualité globale de l'alimentation en fonction des recommandations nutritionnelles gouvernementales. Bien que plusieurs scores de qualité alimentaires existent [13-16], ils ont été peu étudiés en relation avec le risque cardiométabolique.

Par ailleurs, l'activité physique a des effets bénéfiques bien démontrés sur le risque cardiométabolique chez des personnes actives [17-20]. Toutefois, peu de données sont disponibles sur la relation entre la dépense énergétique et le risque cardiométabolique chez des individus sédentaires. Aussi, peu ou pas de données existent quant à une interaction synergique possible entre l'alimentation et l'activité physique sur le risque cardiométabolique.

Les femmes constituent un sous-groupe de la population qui est particulièrement affecté par les maladies cardiovasculaires et le risque de développer ces maladies augmente après la ménopause. Cette hausse du risque est en partie expliquée par les changements hormonaux qui s'opèrent à cette période de la vie tels que la déficience en estrogènes endogènes [21]. La ménopause est associée à un changement de la composition corporelle favorisant l'accumulation de tissu adipeux au niveau de l'abdomen [22, 23], un profil lipidique moins favorable [24] et un métabolisme du glucose altéré [25, 26].

Le **but** de cette présente thèse est de déterminer les relations entre les apports alimentaires et de la dépense énergétique, et les facteurs de risque associés au risque cardiométabolique, incluant l'inflammation sub-clinique ainsi que de déterminer la relation qui existe entre le statut oxydant, tel qu'évalué par le système glutathion, et le risque cardiométabolique (voir CHAPITRE 2 : HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS, p.65). Ces relations ont été investiguées chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses, sédentaires, mais sans autres complications métaboliques.

Le troisième chapitre regroupe l'ensemble des méthodes et analyses statistiques réalisées pour l'obtention des résultats (p.67). Les résultats de cette thèse sont présentés sous forme de manuscrits publiés, soumis pour publication ou en préparation (CHAPITRE 4 : RÉSULTATS, p.96). Le premier manuscrit (p.96) :

ME Lavoie, R Rabasa-Lhoret, E Doucet, D Mignault, L Messier, JP Bastard, M Faraj, *Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women*, Int J Obes (Lond), 2010, 34:1387-1395

investigue, de manière transversale, la relation entre les composantes de la dépense énergétique et le statut inflammatoire. L'objectif de ce manuscrit était de déterminer si la relation bénéfique entre l'activité physique et l'inflammation observée chez les individus actifs est également présente chez des personnes sédentaires.

Le second manuscrit (p.126) :

ME Lavoie, M Faraj, I Strychar, E Doucet, M Brochu, JM Lavoie, R Rabasa-Lhoret, *Synergistic effects of physical activity and diet quality on cardiometabolic risk factors in overweight and obese postmenopausal women*, Br J Nutr, juillet 2011, soumis pour publication

est aussi une étude transversale et examine dans quelle mesure la dépense énergétique liée à l'activité physique et la qualité alimentaire interagissent de manière synergique sur le risque cardiométabolique de manière à avoir des effets bénéfiques plus importants que leurs effets pris séparément.

Le troisième manuscrit (p.157) :

ME Lavoie, R Rabasa-Lhoret, S Ziai, JC Lavoie, *Blood glutathione peroxidase activity in relation with the risk of cardiovascular diseases in obese women*, J Diabetes Metab, juillet 2011, soumis pour publication

est une étude transversale qui a pour objectif de déterminer dans quelle mesure une altération du système glutathion est associée à un risque cardiométabolique élevé. L'étude de femmes post-ménopausées obèses mais sans autres complications métaboliques permet aussi de déterminer si une altération dans ce système antioxydant apparaît tôt dans le développement des anomalies métaboliques associées au risque cardiométabolique.

Le quatrième manuscrit (p.182) :

ME Lavoie, M Faraj, R Rabasa-Lhoret, *Improvements in diet quality and physical activity are correlates of better blood lipid profile and blood pressure following a hypocaloric diet beyond changes in adiposity in sedentary overweight and obese postmenopausal women. A MONET-group study*, août 2011, en préparation

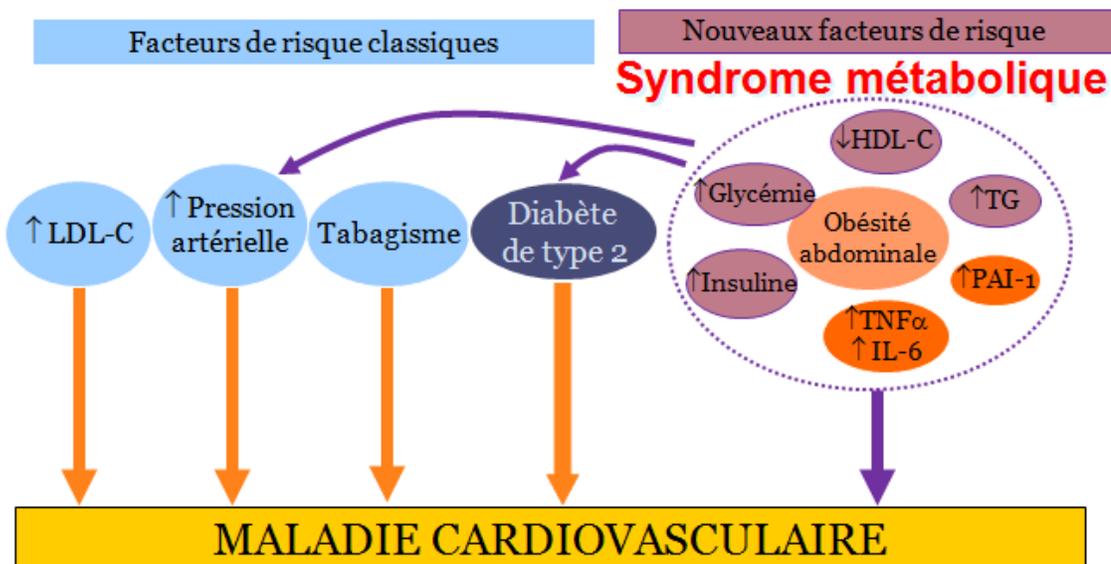
est une étude d'intervention ayant pour objectif de déterminer dans quelle mesure un changement de la qualité alimentaire et de la dépense énergétique liée à l'activité physique est associé aux changements dans les facteurs de risque cardiométabolique, indépendamment d'un changement d'adiposité. Ce manuscrit fait suite au deuxième manuscrit.

À la suite des manuscrits, une discussion générale de la thèse constituera le cinquième chapitre (p.203). Sans reprendre les discussions des quatre articles, on y retrouve une synthèse des résultats avec des conclusions et des perspectives d'avenir. La dernière section, « RÉFÉRENCES », à la page 222 est un recueil des sources documentaires scientifiques ayant servies aux chapitres 1, 3 et 5. La bibliographie du chapitre 4 est présentée séparément avec chacun des manuscrits sous les rubriques « REFERENCES ».

## CHAPITRE 1 : MISE EN CONTEXTE

### 1.1. Risque cardiométabolique

Le risque cardiométabolique (RCM) se définit comme la présence conjointe de plusieurs facteurs de risque métabolique communs prédisposant au développement de maladies cardiovasculaires (MCV) et du diabète de type 2 (Db2). Ce concept a d'abord été décrit au début des années 1920 [27] mais ce n'est qu'en 1988 [28] que le trio résistance à l'insuline, dyslipidémie et hypertension a été reconnu comme une entité clinique, ce qui est maintenant appelé syndrome métabolique. Par la suite, l'obésité abdominale, et plus particulièrement l'adiposité viscérale, a été ajoutée à la composition du syndrome [29]. Bien que plusieurs définitions existent en regard du syndrome métabolique, elles s'entendent toutes sur les composantes fondamentales : obésité abdominale, dysfonction du métabolisme du glucose, dyslipidémie et pression artérielle élevée [30-35]. De nouveaux facteurs de risque de MCV tels que l'inflammation systémique et un état pro-thrombotique ont été suggérés pour être inclus dans ces définitions [36, 37]. D'abord utilisé par l'Association américaine du diabète (ADA) [2] ainsi que par Després & Lemieux [1], le terme « risque cardiométabolique » représente l'ensemble de tous les facteurs de risque pour les MCV et le Db2, tant les facteurs de risque traditionnel (âge, tabagisme, pression artérielle, cholestérol, diabète, sexe, susceptibilité génétique) qu'émergents (obésité viscérale, résistance à l'insuline, dyslipidémie athérogénique, statut pro-inflammatoire et pro-thrombotique) (figure 1).



**Figure 1.** Risque cardiométabolique : facteurs de risque traditionnels et émergents.  
 HDL-C : cholestérol des lipoprotéines de haute densité, IL-6 : interleukine 6, LDL-C : cholestérol des lipoprotéines de faible densité, PAI-1 : *plasminogen activator inhibitor-1*, TG : triglycérides, TNF $\alpha$  : *tumor necrosis factor alpha*

Un objectif important en regard de la santé publique globale est de réduire le RCM. Au début des années 2000, près d'un adulte Américain sur 4 rencontrait les critères du syndrome métabolique [38]. Considérant l'ampleur de la prévalence de l'obésité dans nos populations et au niveau mondial [39], ce désordre métabolique pourrait jouer un rôle important dans la stratification du RCM des individus.

Bien que la pathophysiologie du RCM soit complexe, il semble que la résistance à l'insuline (RI) et l'adiposité viscérale soient étroitement liés aux anomalies métaboliques conférant un RCM élevé. La dyslipidémie, l'inflammation et le stress oxydant sont associés à l'obésité et sont impliqués dans la RI. Les contributions de chacun de ces éléments au RCM seront discutées dans les sections suivantes.

### 1.1.1. Obésité / adiposité

L'obésité est définie par un excès de masse grasse entraînant des inconvénients sur la santé [40]. La masse grasse peut être évaluée précisément à l'aide de différentes techniques telles que la densité corporelle et l'absorptiométrie biphotonique. Néanmoins ces méthodes ne sont pas utilisables en routine. Pour la pratique clinique, comme pour les études épidémiologiques, la méthode de référence est l'indice de masse corporelle (IMC) : poids (kg) / taille (m<sup>2</sup>). L'obésité est définie par une valeur d'IMC supérieure à 30 kg/m<sup>2</sup> (tableau 1).

**Tableau 1.** Classification de l'obésité et de l'adiposité centrale.

<b>Classification de l'obésité</b>	<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>
Poids normal	18,5 à 24,9
Surpoids	25,0 à 29,9
Obésité	
• Modérée (Type I)	30,0 à 34,9
• Sévère (Type II)	35,0 à 39,9
• Morbide (Type III)	≥ 40,0
<b>Classification de l'adiposité centrale</b>	<b>Tour de taille (cm)</b>
Caucasien*	Hommes : ≥ 94
Africains subsaharienne <sup>†</sup> et populations de la Méditerranée orientale et du Moyen-Orient (Arabes) <sup>†</sup>	Femmes : ≥ 80
Asiatiques du sud, Chinois et Japonais	Hommes : ≥ 90
Populations ethniques des Amériques centrale et du sud <sup>†</sup>	Femmes : ≥ 80

Adapté de [34]. IMC : indice de masse corporelle

\* fait référence à tout individu caucasien de descendance européenne ou nord-américaine.

<sup>†</sup> jusqu'à ce que des données plus spécifiques soient disponibles.

Sa prévalence a augmenté de manière alarmante aux cours des dernières décennies. Aux États-Unis, près d'un adulte sur 4 est obèse alors qu'au Canada, c'est un adulte sur cinq [41]. Il est possible que depuis les années 2000 la prévalence et l'incidence se stabilisent [42].

#### 1.1.1.1. *L'obésité et le risque cardiométabolique*

L'obésité est la 5<sup>e</sup> cause de mortalité globale [43] et est associée à un risque élevé de complications tant cardiométaboliques (Db2, coronaropathie, hyperlipidémie, hypertension artérielle, hyperuricémie, etc.), que rhumatologiques (arthrose, etc.), pulmonaires (syndrome apnée du sommeil, etc.) et gynécologiques (syndrome des ovaires poly kystiques, etc.), ainsi que de lithiase vésiculaire, de certains types de cancer (adénocarcinome colique, etc.), de problèmes psychologiques (anxiété, dépression, etc.), etc. Ces complications sont responsables d'une part significative des coûts dans le système de santé : au Canada, environ 4% des dépenses totales en santé étaient attribuables à l'obésité en 2006, ce qui correspond à 6 milliards de dollars en 2006 [44]. Considérant que ceci représente les coûts directs, le coût réel lié à l'obésité et à ses complications est encore plus important. Toutefois, ce ne sont pas tous les individus obèses qui développeront des complications, par exemple certains patients semblent relativement protégés des complications métaboliques (diabète, hyperlipidémie et hypertension) [45]. Certaines études longitudinales [46, 47], mais pas toutes [48], suggèrent que la présence ou l'absence de complications métaboliques ne semble pas affecter le risque de mortalité chez des individus obèses, lequel serait plus élevé que celui de sujets en apparente bonne santé et de poids considéré normal. Toutefois, d'autres études rapportent un risque de mortalité plus faible chez les individus obèses mais par d'autres études. Par ailleurs, tous les individus obèses ne développeront pas les mêmes complications au cours du temps, ni dans le même ordre d'apparition clinique. Comme le mentionnaient Higdon & Frei dans leur éditorial de la revue *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [49], « l'obésité est un état chronique de stress oxydant et d'inflammation, même en absence d'autres facteurs de risque », indiquant que ces mécanismes métaboliques (stress oxydant, inflammation) sont présents et

pourraient contribuer au développement de plusieurs désordres métaboliques associés à l'obésité ainsi qu'aux MCV et au Db2.

*1.1.1.2. L'adiposité et le risque cardiométabolique : l'importance de sa répartition, de son emplacement et de sa qualité*

En plus de la présence d'un excès d'adiposité totale, la répartition de celle-ci est importante en regard du RCM. Il existe deux types d'obésité : androïde (aussi appelée abdominale ou centrale) et gynoïde (aussi appelée glutéo-fémorale). Un excès de masse grasse abdominale est associé à un risque élevé de maladies cardiométaboliques [50]. La mesure du tour de taille corrèle bien avec la masse grasse adipeuse abdominale [51], ce qui en fait la méthode la plus utilisée pour évaluer la présence d'obésité abdominale. Cette mesure fait également partie de la définition du syndrome métabolique [30]. Un tour de taille élevé est associé à la présence d'hypertension, de maladies coronariennes, de Db2 et à un risque augmenté de mortalité [52-55]. De plus en plus de données indiquent que le tour de taille serait un meilleur prédicteur du risque de Db2 et des MCV que l'IMC [56-58], soulignant ainsi l'importance de la répartition de la masse adipeuse dans le RCM. Malgré sa rapidité et sa simplicité d'exécution, la mesure du tour de taille comporte des limites : elle mesure un périmètre et non pas une quantité de masse grasse, et plusieurs sites de mesures existent (ex. point milieu entre la dernière côte flottante et la crête iliaque, au niveau du nombril, juste sous la dernière côte flottante, juste au-dessus de la crête iliaque) lesquels affectent la valeur absolue du tour de taille [59]. Les sites les plus couramment utilisés sont ceux du point milieu entre la dernière côte flottante et la crête iliaque, et au niveau du nombril. De plus, les seuils établis pour le tour de taille associé à un RCM élevé varient selon l'ethnie (tableau 1). Par exemple, les hommes Asiatiques, Chinois et Japonais ont un risque élevé de complications métaboliques à des valeurs inférieures de tour de taille comparativement aux hommes caucasiens. Mentionnons que le choix des seuils de tour de taille est basé sur des évidences faibles qui requièrent de meilleures données afin de solidifier l'association entre ces seuils et le RCM [34].

L'emplacement du tissu adipeux, sous-cutané vs viscéral, joue également un rôle dans la stratification du RCM. Il a été observé que l'excès de tissu adipeux viscéral est un marqueur de risque plus significatif du risque élevé de développer le Db2 [60] et des MCV [61] que l'obésité, qu'elle soit définie par l'IMC ou la masse grasse totale. Un nombre important de travaux ont montré que ce dépôt de tissu adipeux est plus fortement associé à un risque cardiométabolique élevé que le tissu adipeux sous-cutané [62-64]. Certaines études indiquent également que le tissu adipeux viscéral est un meilleur prédicteur du Db2 que le tour de taille [62]. Les dépôts viscéral et sous-cutané du tissu adipeux abdominal sont mesurés par tomographie ou par imagerie de résonance magnétique généralement au niveau des vertèbres lombaires L4-L5, ce qui fait en sorte que ces mesures ne sont cependant pas accessibles dans un contexte clinique.

Certaines hypothèses ont été émises visant à expliquer la relation entre l'obésité abdominale, ou le tissu adipeux viscéral, et le RCM [1, 65] telles que :

- le tissu adipeux sous-cutané a une capacité limitée pour entreposer le surplus d'énergie (i.e. glucose et acides gras) qui, une fois atteinte, résulte en un débordement d'acides gras vers le tissu adipeux viscéral et d'autres sites ectopiques tels que le foie et le muscle squelettique. De ce fait, le tissu adipeux viscéral pourrait être considéré comme un indicateur de l'importance de ce débordement d'acides gras provenant du tissu adipeux sous-cutané;

- le tissu adipeux viscéral produit et sécrète des acides gras libres provenant de la lipolyse des triglycérides, des adipokines inflammatoires et des hormones (angiotensinogène, cortisol, leptine, adiponectine...) qui se rendent directement au foie via la veine porte, où ces molécules peuvent induire une résistance à l'insuline hépatique et contribuer à la synthèse des lipoprotéines et à l'entreposage d'acides gras neutres dans les hépatocytes;

- une prédisposition génétique favorisant l'accumulation de tissu adipeux dans la cavité abdominale, entre les viscères.

Par ailleurs, le tissu viscéral est une source importante de molécules inflammatoires, de cytokines et d'adipokines (i.e. cytokines sécrétées par le tissu

adipeux) locales et systémiques [66, 67]. Ces molécules sont impliquées dans la RI et peuvent altérer la fonction endothéliale et promouvoir l'athérosclérose (voir section 2.1.4 - Inflammation).

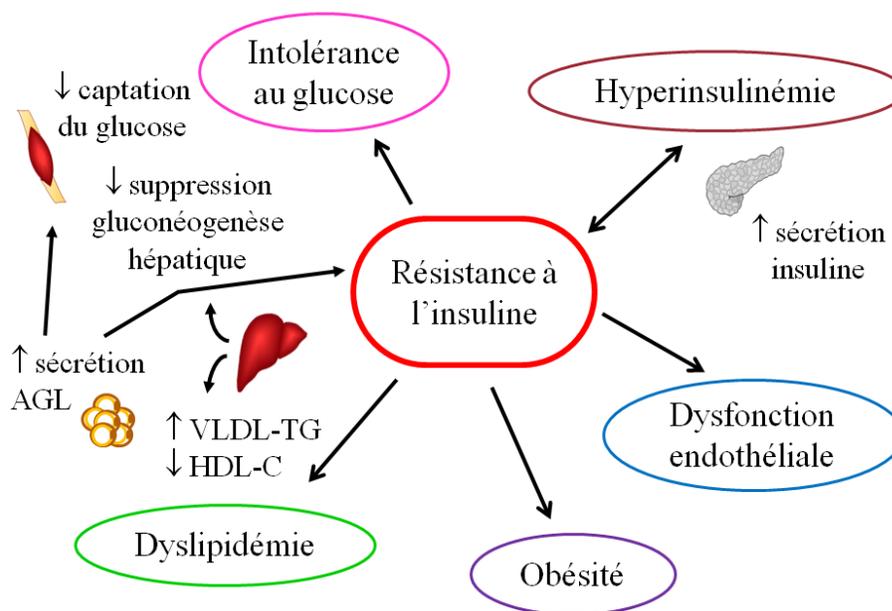
Malgré les complications associées à un excès de tissu adipeux, ce tissu est important pour la santé métabolique. Ceci a été mis en évidence par les individus présentant une lipodystrophie, caractérisée par une atrophie du tissu adipeux, car ceux-ci développent un syndrome métabolique sévère. À l'opposé, une proportion d'individus ayant une obésité sévère, aussi connus comme étant obèses mais métaboliquement en santé, ne développe pas le syndrome métabolique [68, 69]. Ces données soulignent la nécessité d'avoir un tissu adipeux, principalement sous-cutané, capable de prendre de l'expansion de manière à limiter la surcharge de nutriments (acides gras et glucose) dans les autres tissus sensibles à l'insuline (ex. foie, muscles, cœur, pancréas, etc.), les protégeant ainsi des complications métaboliques. De plus, les résultats d'une étude récente indiquent qu'un tissu adipeux sous-cutané de meilleure qualité, caractérisé par des niveaux plus faibles d'inflammation et moins de macrophages infiltrés, est associé à un meilleur RCM (meilleure RI, bilan lipidique favorable, profil d'expression génique pro-athérogène réduit, fonction vasculaire préservée) [70].

*En somme, l'accumulation excessive de masse grasse dysfonctionnelle, et particulièrement de masse grasse viscérale dysfonctionnelle, contribue à un RCM plus important. De plus, la qualité du tissu adipeux joue un rôle dans le RCM.*

### 1.1.2. Résistance à l'insuline

La RI est une composante centrale du syndrome métabolique/RCM et est associée à l'ensemble de ses composantes (dysglycémie, dyslipidémie, hypertension artérielle, etc.) pour lesquelles elle joue possiblement un rôle causal (figure 2) [6]. Elle est un des premiers médiateurs dans le développement du Db2, avec l'adiposité viscérale, et est un facteur de risque indépendant des MCV [71]. La relation entre la RI et la dysglycémie, la dyslipidémie et la santé vasculaire est mise en évidence par les

effets métaboliques des thiazolidinédiones, une famille de médicaments utilisés dans le traitement du Db2. L'administration d'une thiazolidinédione à des patients diabétiques de type 2 améliore les profils lipidiques et lipoprotéiques, la RI et les facteurs de risque vasculaires en améliorant la fonction endothéliale et en inhibant les marqueurs de thrombose et d'inflammation [72].



**Figure 2.** Relations entre la résistance à l'insuline et les autres facteurs de risque cardiométabolique.

AGL : acides gras libres, HDL-C : cholestérol des lipoprotéines de haute densité, VLDL-TG : triglycérides des lipoprotéines de très faible densité

L'insuline est une hormone aux actions biologiques multiples. Cette hormone régule l'homéostasie du glucose en favorisant la captation du glucose par le tissu adipeux et le muscle et en prévenant la production de glucose via l'inhibition de la glycogénolyse et de la gluconéogenèse dans le foie. De plus, elle joue un rôle dans la synthèse et l'entreposage des lipides, la synthèse des protéines, la croissance cellulaire,

et la prolifération et la différenciation cellulaire [73]. Lorsque des concentrations élevées d'insuline sont requises pour maintenir l'action hypoglycémisante de cette hormone dans les tissus insulino-sensibles, soit le foie, le muscle et le tissu adipeux, on parle alors de résistance à l'insuline (RI). Dans le foie, la RI se manifeste par une altération de la synthèse de glycogène, une incapacité à inhiber la production de glucose, et une augmentation de la lipogenèse et de la synthèse de protéines telles que la protéine C-réactive (CRP). Dans le muscle, elle réduit la captation cellulaire du glucose alors que dans le tissu adipeux, elle résulte en une augmentation de l'hydrolyse des triglycérides à partir des adipocytes ce qui cause une augmentation des concentrations plasmatiques d'acides gras libres [74]. Le tissu adipeux viscéral est particulièrement sujet à l'hydrolyse des triglycérides comparativement au tissu adipeux sous-cutané [75].

Pour pallier à cette réduction de l'action de l'insuline et pour maintenir la glycémie à des valeurs normales, il y a une augmentation de la sécrétion d'insuline, menant à l'hyperinsulinémie. Considérant que, dans les tissus insulino-sensibles comme le muscle ou le tissu adipeux, l'insuline régule plus de 700 gènes [76], les effets d'un tel mécanisme d'adaptation sont importants. Il a été proposé que la RI est un mécanisme protégeant les cellules contre les dommages causés par un excès de nutriments (acides gras et glucose) et l'inactivité [77]. Considérant que l'obésité est une condition chronique, la RI mènera à des altérations métaboliques plus importantes telles que la dyslipidémie, la dysfonction endothéliale, le Db2 et les MCV. L'apparition clinique de la RI nécessite l'altération de plusieurs voies métaboliques.

#### *1.1.2.1. Méthodes d'évaluation de la résistance à l'insuline*

La RI peut être évaluée par diverses méthodes [78]. Le clamp hyperinsulinémique-euglycémique [79] est considéré comme la méthode de référence pour la mesure de la sensibilité à l'insuline. Brièvement, lors de ce test d'une durée de 2 ou 3 heures, une infusion intraveineuse d'insuline est réalisée afin d'obtenir des concentrations supra-physiologiques de manière à stimuler l'utilisation périphérique du glucose et à bloquer la production de glucose hépatique. De manière simultanée, une

infusion de glucose est réalisée afin de garder la glycémie aux concentrations initiales à jeun. La glycémie veineuse est mesurée toutes les 10 minutes pour ajuster le débit d'infusion de glucose. Le débit d'infusion de glucose à la fin du test permet de déterminer la sensibilité à l'insuline d'un individu; plus le taux est élevé, plus la sensibilité à l'insuline est importante. Cette méthode évalue la sensibilité à l'insuline du corps entier, plus spécifiquement celle des tissus périphériques autres que le foie, soit les muscles squelettiques et le tissu adipeux. DeFronzo *et al.* [80], les fondateurs du test, rapportaient que le clamp hyperinsulinémique-euglycémique reflète à 60-70% la captation du glucose par le muscle squelettique alors que le tissu adipeux ne représenterait qu'environ 10% de la sensibilité à l'insuline du corps entier [81]. Toutefois, ce test n'est pas réalisable en pratique clinique en raison du matériel, des installations et du personnel requis. Divers indices ont donc été développés à partir des valeurs à jeun de la glycémie et de l'insulinémie, ou celles obtenues lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO), pour évaluer de manière indirecte la sensibilité à l'insuline des individus. Le tableau 2 présente une liste non exhaustive de ceux-ci. Chacun de ces indices corrèle de manière acceptable à la sensibilité à l'insuline mesurée lors du clamp hyperinsulinémique-euglycémique [82]. Certains indices évaluent la sensibilité (ex. index Matsuda, index Stumvoll, QUICKI, Disse,  $SI_{is}$ , OGTT) alors que d'autres estiment la RI (ex. HOMA-IR, index de RI hépatique). L'index HOMA-IR est l'un des plus utilisés. Les index utilisant les valeurs de glycémie et d'insulinémie à jeun évaluent principalement la sensibilité à l'insuline du foie. En effet, suivant une nuit à jeun, la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques est stable de même que la production de glucose par le foie, laquelle est proportionnelle à la sécrétion d'insuline de manière à maintenir la glycémie constante. Toutefois, considérant que dans la plupart des conditions (excepté le diabète) la sensibilité à l'insuline du foie et du muscle squelettique sont proportionnelles l'une à l'autre, l'évaluation de la sensibilité à l'insuline hépatique permet d'approcher celle du corps entier. Pour une mesure directe de la sensibilité hépatique, il faut avoir recours à des isotopes stables qui permettent de mesurer la production hépatique de glucose à jeun puis la capacité de l'insuline à supprimer cette production.

**Tableau 2.** Sommaire des principaux indices de sensibilité/résistance à l'insuline.

Nom de l'index	Formule	Référence
<i>Valeurs à jeun</i>		
	1 / insuline	
	glucose / insuline	
HOMA-IR	$\text{glucose} \times \text{insuline} / 22,5$	[83]
ISI-Matsuda	$10\,000 / \sqrt{[(\text{glucose } t_0 \times \text{insuline } t_0) \times (\text{glucose}_{\text{moyenne}} \text{HGPO} \times \text{insuline}_{\text{moyenne}} \text{HGPO})]}$	[84]
QUICKI	$1 / [\log(\text{glucose}) + \log(\text{insuline})]$	[85]
QUICKI <sub>FFA</sub>	$1 / [\log(\text{glucose}) + \log(\text{insuline}) + \log(\text{AGL})]$	[86]
McAuley index	$\exp[2,63 + 0,28 \ln(\text{insuline}) - 0,31 \ln(\text{triglycérides})]$	[87]
Disse	$12 \times [2,5 \times (\text{HDL} - \text{cholestérol total}) - \text{AGL}] - \text{insuline}$	[88]
<i>Valeurs au cours d'une HGPO</i>		
SI <sub>is</sub> OGTT	$1 / [\log(\Sigma \text{ glycémie } t_{0-30-90-120}) (\text{mmol/L}) + \log(\Sigma \text{ insulinémie } t_{0-30-90-120}) (\mu\text{U/mL})]$	[89]
Index de RI hépatique	$\text{Glycémie}_{0-30} [\text{AUC}] \times \text{Insulinémie}_{0-30} [\text{AUC}]$	[90]

AGL : acides gras libres, AUC : aire sous la courbe (*area under the curve*), HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale,

HOMA-IR: *Homeostasis model assessment of insulin resistance*, ISI-Matsuda : *Insulin sensitivity index*-Matsuda, QUICKI:

*Quantitative insulin sensitivity check index*, *t* : temps (minutes) durant l'HGPO

### 1.1.2.2. La résistance à l'insuline et les facteurs de risque cardiométabolique

La RI est associée à l'obésité et est observée chez pratiquement tous les individus présentant un syndrome métabolique et/ou un Db2. Ferrannini *et al.* rapportent une prévalence de la RI de 26% chez les individus obèses (défini par un IMC > 25 kg/m<sup>2</sup>), laquelle atteint 60% chez les individus ayant un IMC > 35 kg/m<sup>2</sup> [83]. Dans cette étude, la RI était mesurée par le clamp hyperinsulinémique-euglycémique et définie comme le plus faible décile de la sensibilité à l'insuline d'individus non obèses. Par ailleurs, des études animales ont mis en évidence le rôle de l'obésité dans le développement de la RI. En plus de devenir obèses, des animaux nourris à une diète riche en lipides développent une RI d'abord au foie, puis dans le muscle et le tissu adipeux [84, 85]. Des résultats similaires ont également été observés chez l'humain [86]. De manière plus spécifique, la présence d'adiposité viscérale/ectopique est associée à la RI. Les premières données montrant cette relation ont été apportées par l'équipe de JP Després [1, 87]. La relation entre la déposition ectopique d'acides gras, i.e. dans les tissus insulino-sensibles autres que le tissu adipeux tels que le foie, le muscle squelettique et le pancréas, et la RI est également supportée par l'observation de la RI chez des individus présentant une lipodystrophie, caractérisée par une atrophie du tissu adipeux sous-cutané et une accumulation de tissu adipeux viscéral ainsi qu'hépatique [88]. Une étude récente supporte davantage ce concept en montrant qu'une faible quantité de masse grasse au niveau des membres inférieurs, soit du tissu adipeux sous-cutané, est associée à la RI chez des hommes et des femmes en surpoids ou obèses [89].

Plusieurs mécanismes ont été proposés comme étant impliqués dans le développement de la RI, bien qu'aucun d'entre eux ne soit complètement élucidé à ce jour. Des altérations dans le métabolisme des lipides est une des causes possibles. Randle *et al.* [90] ont été les premiers à montrer que les acides gras sont en compétition avec le glucose pour l'oxydation des substrats. L'augmentation d'acides gras intracellulaire induit une réduction de la translocation du transporteur de glucose, GLUT4, à la membrane cellulaire, résultant en une résistance de la captation du glucose induite par l'insuline dans le muscle et le tissu adipeux [91-93]. Tout comme pour le foie

(voir le premier paragraphe en page 13), cette compétition des substrats a pour effet de réduire la synthèse de glycogène musculaire et d'oxydation du glucose [94], ce qui contribue à la dysglycémie observée dans des conditions de RI (ex. obésité, Db2).

D'autre part, l'augmentation du flux d'acides gras aux tissus sensibles à l'insuline autres que le tissu adipeux, tels que le muscle squelettique, le foie et le pancréas, résulte en une accumulation de triglycérides. Dans le foie, cette accumulation de lipides constitue un stimulus important de la production de glucose [95] et contribue à la surproduction de lipoprotéines de très faible densité (VLDL) riches en triglycérides [96], de protéines inflammatoires telles que le *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) et la CRP ainsi que des facteurs de la coagulation [97-99].

Le développement de la RI pourrait également être initié par un stress oxydant. Défini comme une surproduction de molécules pro-oxydantes (ex. espèces réactives à l'oxygène [ROS], espèces réactives à l'azote [RNS], radicaux libres) comparativement aux défenses antioxydantes, le stress oxydant pourrait être le facteur commun unifiant la RI, le Db2 et les MCV [4]. Les études de biologie moléculaire indiquent que le stress oxydant altère les voies de signalisation intracellulaire menant à la RI. L'oxydation du glucose et des acides gras dans le cycle de l'acide citrique (ou cycle de Krebs) génère du nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) mitochondrial et des ROS. Dans un contexte d'obésité, où les apports alimentaires excèdent la dépense énergétique, la production de NADH et de ROS est accrue. Le NADH en excès est transformé en radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène, lequel altère la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques [100] et interfère avec la voie de signalisation intracellulaire de l'insuline [101], contribuant ainsi au développement de la RI. Le rôle du stress oxydant dans le développement de la RI est également supporté par l'observation de niveaux réduits d'antioxydants intracellulaires (*heat shock proteins 72*, *heme oxygenase-1*) dans le muscle de diabétiques de type 2 [102]. Considérant que le NADH et les radicaux libres sont nocifs pour les cellules, une des façons de réduire la génération excessive de NADH est de réduire l'oxydation des lipides. Or, l'accumulation d'acides gras intracellulaires résulte en une réduction de la translocation du récepteur du glucose GLUT4 à la

membrane cellulaire, ayant pour conséquence une résistance à la captation du glucose médiée par l'insuline notamment dans le muscle squelettique et le tissu adipeux [4]. Dans ce contexte de surcharge de nutriments (acides gras et glucose), la RI pourrait être considérée comme un mécanisme de défense contre les dommages causés par le stress oxydant [4].

La RI affecte également les vaisseaux sanguins. Dans des conditions normales, l'insuline favorise le recrutement des capillaires, cause une vasodilatation périphérique et augmente le débit sanguin local [103-105]. Ces actions métaboliques sont médiées principalement par l'augmentation de la disponibilité de l'oxyde nitrique (NO) provenant de l'endothélium, un puissant vasodilatateur. La RI au niveau des vaisseaux sanguins a donc pour effet de réduire la disponibilité du NO, limitant son action vasodilatatrice, ce qui altère la fonction de l'endothélium. Cette diminution du NO endothélial est possiblement une des premières altérations liant la RI à la dysfonction endothéliale [106], laquelle joue un rôle critique dans l'initiation et la progression de l'athérosclérose [107, 108]. La fonction endothéliale peut être évaluée par la dilatation dépendante du flux sanguin brachial et cette mesure est considérée comme un marqueur du risque cardiovasculaire [109, 110]. À son tour, l'endothélium dysfonctionnel contribue à la RI en limitant le passage de l'insuline dans les capillaires vers les tissus cibles, altérant ainsi le métabolisme du glucose et des lipides dans ces tissus [106]. D'autre part, des données indiquent que la RI est associée à l'épaisseur de l'intima-media de la carotide, un autre marqueur hautement associé au risque de développer des MCV. Dans l'essai clinique *Carotid Intima-Media Thickness in Atherosclerosis Using Pioglitazone* mené chez des patients diabétique de type 2, les investigateurs ont rapporté une réduction de l'épaisseur de l'intima-media de la carotide lorsque les patients étaient traités avec la pioglitazone, une thiazolidinédione [111]. Comme il a été mentionné précédemment, les thiazolidinédiones (TZD) ont pour effet d'améliorer la sensibilité à l'insuline. Ainsi, les résultats de cette étude montrent la relation entre la RI et le risque cardiovasculaire en regard de la santé vasculaire. Néanmoins, comme les TZD ont aussi un effet sur les lipides et l'inflammation il est possible que le bénéfice passe par ces médiateurs. Enfin les évidences sur les relations entre la classe des TZD et le risque

cardiovasculaire est controversée. Cependant, cette classe de médication a été récemment retirée du marché en raison d'une série de risques pour la santé incluant une augmentation du risque cardiovasculaire, une possible augmentation du risque de cancer de la vessie et un risque établi de fractures atypiques [112-115].

*En somme, ces données indiquent que la RI est associée à la dysglycémie, la dyslipidémie, le stress oxydant et la dysfonction endothéliale, lesquels contribuent à l'augmentation du RCM.*

### 1.1.3. Dyslipidémie

Des concentrations plasmatiques élevées de cholestérol provenant des lipoprotéines de faible densité (LDL-C) et réduites de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) sont des facteurs de risque classiques des MCV [116, 117]. Or, le RCM élevé associé à l'altération du métabolisme des lipides ne se limite pas à ces deux éléments. Au début des années 1990, le concept de dyslipidémie athérogénique a fait son apparition et fait référence à une forte proportion de particules LDL petites et denses, et des concentrations faibles de HDL-C et élevées de triglycérides [118]. Cette dyslipidémie athérogénique est une caractéristique des individus présentant une obésité, une RI, le syndrome métabolique et le Db2 [119, 120].

Différentes techniques existent pour mesurer les sous-fractions des classes de lipoprotéines (taille, nombre) et la mesure des concentrations plasmatiques d'apolipoprotéine B (apoB) est une des mieux établies. L'apoB est une protéine clé des lipoprotéines athérogéniques : VLDL, lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) et LDL. Chaque lipoprotéine possède une molécule d'apoB. Ainsi, la concentration plasmatique d'apoB reflète le nombre total de lipoprotéines athérogéniques. Chez l'humain, les particules VLDL transportent les triglycérides synthétisés endogènes du foie au plasma, où ils sont lipolysés en IDL par l'action de la lipoprotéine lipase (LPL). Ces derniers sont soit lipolysés par la lipase hépatique pour devenir des LDL ou captés par le foie via le récepteur LDL. L'apoB est essentielle à la liaison des particules LDL

au récepteur LDL [121]. Dans des conditions normales, suivant un jeûne de 12 heures et où les concentrations de triglycérides sont dans les valeurs normales ( $\leq 13$  mmol/L), plus de 90% des molécules d'apoB sont liées aux particules LDL [122, 123]. Ainsi, le ratio LDL-C/apoB permet d'évaluer la taille des particules LDL. Plus le ratio est grand, plus les particules LDL sont grosses.

Par ailleurs, l'apolipoprotéine AI est une des composantes majeures des particules HDL et ses concentrations sont fortement corrélées à celles du HDL-C [121]. Cette apolipoprotéine est importante pour le transport inverse du cholestérol en enlevant le cholestérol en excès des tissus et en l'incorporant aux particules HDL [124].

Nombre d'études ont montré que les particules LDL petites et denses ont des propriétés pro-athérogéniques [125-128]. En effet, elles sont plus susceptibles à l'oxydation, ont une affinité réduite pour le récepteur LDL, se lient davantage à la matrice de la paroi des artères et contribuent à l'altération de la fonction endothéliale en diminuant l'expression et l'activité de l'oxyde nitrique synthase [129]. De par ces caractéristiques, elles sont moins efficacement retirées de la circulation sanguine favorisant ainsi leurs effets pro-athérogéniques. En plus de leur taille, le nombre de particules LDL est également positivement associé au risque cardiovasculaire [128, 130-134]. Selon les évidences disponibles à ce jour, tant la taille que le nombre de lipoprotéines athérogéniques sont importants dans le développement des MCV, chacun d'eux étant fortement associé aux MCV [135]. La balance entre les lipoprotéines anti- et pro-athérogéniques, telle qu'évaluée par le ratio apoA1/apoB [136], est également prédictive des événements cardiovasculaires [136, 137]; le risque de ceux-ci augmentant avec la proportion de lipoprotéines pro-athérogéniques.

La RI est un déterminant important du métabolisme des VLDL dans l'obésité. Elle favorise la synthèse hépatique de cholestérol et des triglycérides ainsi que la sécrétion des VLDL, et altère l'expression et l'activité du récepteur LDL interférant ainsi avec l'élimination normale des LDL de la circulation sanguine [138, 139]. Une surproduction de particules VLDL, une conséquence de la sécrétion hépatique accrue de

ces lipoprotéines, est observée chez des diabétiques de type 2 [140]. D'autre part, l'accumulation de lipides biologiquement actifs (ex. céramides, diacylglycérol [DAG], etc.) peut également induire une RI en augmentant l'activation de deux isoformes de la protéine kinase C ( $\epsilon$  et  $\theta$ ) qui interfèrent avec la voie de signalisation de l'insuline de manière à diminuer son action [141, 142].

*En somme, une altération du métabolisme des lipoprotéines, tant au niveau du contenu en cholestérol que de la taille et du nombre des lipoprotéines, est une composante importante du RCM et est associée à d'autres facteurs de risque cardiométabolique tels que l'obésité et la RI.*

#### 1.1.4. Inflammation

L'inflammation fait partie de la réponse normale de l'hôte à une infection ou une blessure et, comme il a été mentionné précédemment, est caractérisée par la production de molécules inflammatoires telles que des cytokines et des molécules d'adhésion [143]. Comparativement à une population de poids normal, de nombreux patients obèses présentent un statut inflammatoire modéré [144-146], on parle d'inflammation sub-clinique. Un état inflammatoire chronique sub-clinique est également associé à et possiblement en cause dans le développement de la RI, du Db2 et des MCV [3, 5]. Les données provenant d'une étude épidémiologique dont le suivi des sujets allait jusqu'à près de 20 ans ont montré que des concentrations élevées de marqueurs inflammatoires (orosomucoïde, haptoglobine, fibrinogène,  $\alpha_1$ -antitrypsine) chez des individus en surpoids ou obèses, mais pas chez ceux ayant un IMC  $< 25 \text{ kg/m}^2$ , ou résistants à l'insuline selon l'index HOMA-IR, sont associées au développement du Db2 [147]. Ceci illustre bien la relation qui existe entre l'inflammation chronique et l'obésité, la RI et le Db2. La CRP, un marqueur inflammatoire sensible mais non spécifique largement utilisé en pratique clinique et dans la majorité des études portant sur l'inflammation, est également positivement associée à et est un prédicteur indépendant du Db2 et des MCV [148, 149]. Des valeurs sériques de CRP  $\geq 3 \text{ mg/L}$  sont associées à un risque accru de MCV [150]. Ce marqueur inflammatoire est également associé à l'ensemble des facteurs

du RCM soit l'obésité et l'adiposité abdominale (déterminée par un IMC et un tour de taille élevé, respectivement), la RI (par le HOMA-IR), la pression artérielle élevée ainsi qu'une glycémie et une insulinémie élevées à jeun [151, 152]. Par contre, il existe peu d'évidences d'une association entre les marqueurs inflammatoires, le plus étudié étant la CRP, et le bilan lipidique (cholestérol total, LDL-C et triglycérides). Ceci indique que la valeur de CRP contribue à prédire le risque de MCV, indépendamment du risque prédit par un bilan lipidique altéré. En effet, la valeur de CRP a été ajoutée au calcul du risque cardiovasculaire dans le score *Reynolds Risk Score* [153] de manière à améliorer la prédiction du risque de MCV par le score Framingham, lequel n'inclus pas ce facteur de risque. D'autre part, l'ajout de la présence d'une CRP élevée ( $\geq 3$  mg/L) [149, 154, 155] ou d'une IL-6 élevée (valeurs  $\geq 2,21$  pg/mL) [156] au syndrome métabolique permet de mieux prédire le risque d'événements cardiovasculaires chez des adultes non diabétiques en apparente bonne santé. Ces données soulignent l'importance d'un état inflammatoire dans le développement de MCV et de Db2 et donc du RCM.

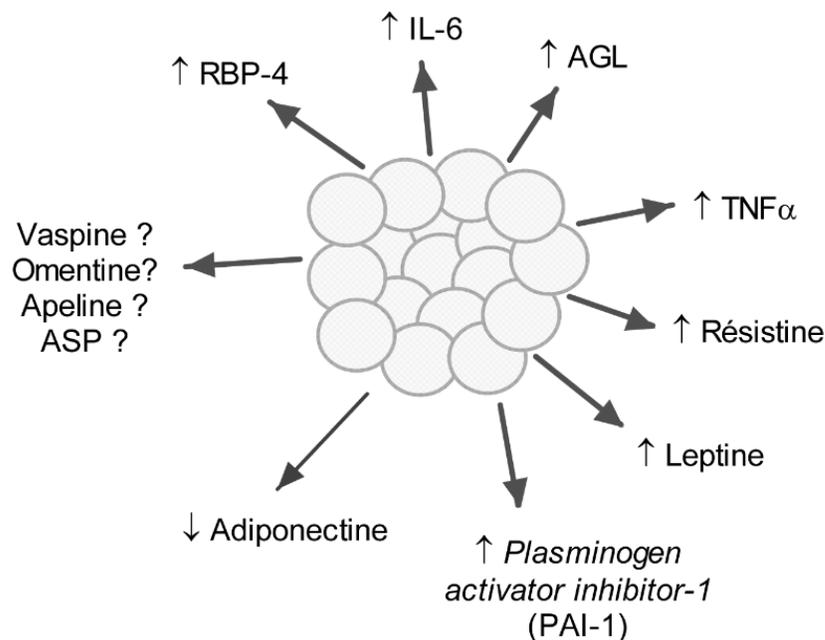
#### *1.1.4.1. Les sources d'inflammation systémique*

L'origine ou les mécanismes impliqués dans l'initiation de la réponse inflammatoire observée dans l'obésité et ses complications métaboliques restent à être élucidées bien que plusieurs hypothèses ont été émises (stress du réticulum endoplasmique, etc.). Il est maintenant reconnu que le tissu adipeux (adipocytes et cellules immunitaires situées dans le stroma) est une des sources d'inflammation. En effet, ce tissu produit et sécrète plusieurs marqueurs de l'inflammation, appelés adipokines, qui incluent des hormones (ex. leptine, résistine, adiponectine, etc.), des cytokines (ex. TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1, IL-8, etc.) et des facteurs pro-thrombotiques (ex. PAI-1, facteur tissulaire, etc.) [157] (figure 3). Par exemple, le tissu adipeux est à l'origine d'environ 30% des concentrations circulantes d'IL-6 [158]. La production de l'ensemble de ces adipokines est augmentée en présence d'obésité, à l'exception de l'adiponectine qui est réduite. Cette hormone se distingue des autres adipokines de par des actions qui favorisent la sensibilité à l'insuline et ses propriétés anti-inflammatoires. Une réduction de la concentration d'adiponectine combinée à une production accrue des autres adipokines

pro-inflammatoires contribuent à la RI et à l'état pro-inflammatoire caractéristique de l'obésité, du Db2 et des MCV. Ces marqueurs inflammatoires ont des actions autocrines et endocrines car ils sont sécrétés dans la circulation sanguine d'où ils peuvent agir sur d'autres tissus comme le foie, le muscle squelettique et les vaisseaux sanguins. L'IL-6, entre autres, est un précurseur de la production et de la sécrétion par le foie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation, incluant la CRP, l'haptoglobine et l'orosomucoïde [159], toutes trois associées au RCM tel que présenté ci-haut. Dans le tissu adipeux, les marqueurs de l'inflammation sont produits et sécrétés par les adipocytes mais aussi par les macrophages qui infiltrent le tissu adipeux. Il a été suggéré que le tissu adipeux en expansion, plus spécifiquement les adipocytes, produisent et sécrètent des facteurs chimiotactiques (ex. *monocyte chemoattractant protein-1* [MCP-1], *colony-stimulating factor-1* [CSF-1], etc.), favorisant le recrutement de monocytes et de macrophages dans le tissu [160]. Ces derniers migrent également dans le tissu adipeux en réponse à l'apoptose des adipocytes [161]. De manière similaire à ce qui se produit dans le développement de l'athérosclérose, les monocytes infiltrés dans le tissu adipeux se différencient en macrophages. Ces macrophages, qu'on qualifie de résidents, contribuent à l'inflammation du tissu adipeux en sécrétant à leur tour des cytokines inflammatoires telles que le TNF $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$  et l'IL-6 [162], lesquelles stimulent la production d'autres marqueurs inflammatoires incluant l'IL-6 et le MCP-1. De plus, ils jouent un rôle important dans la RI notamment en altérant la voie de signalisation de l'insuline et en réduisant le nombre de transporteur de glucose GLUT4 à la membrane cellulaire [163-165]. Les macrophages présents dans le tissu adipeux ont d'abord été considérés comme étant tous pro-inflammatoires mais des données récentes indiquent qu'il existe deux phénotypes de macrophages dans le tissu adipeux : pro-inflammatoire (phénotype M1) et anti-inflammatoire (phénotype M2 ou macrophages activés de manière alternative). Le phénotype des macrophages dans ce tissu semble dépendre de l'environnement local (ex. cytokines), mais cela est actuellement investigué par de nombreux chercheurs [166, 167].

Selon le dépôt de tissu adipeux (viscéral, sous-cutané), la production/sécrétion de marqueurs inflammatoires varie. Par unité de poids, le tissu adipeux viscéral produit une

quantité plus importante de certains marqueurs inflammatoires (ex. IL-6, IL-1 $\beta$ ) que le tissu adipeux sous-cutané [66, 67]. Notons également que l'infiltration de monocytes/macrophages est plus importante dans le tissu adipeux viscéral que le sous-cutané [168]. De ce fait, malgré une proportion plus faible de tissu adipeux viscéral comparativement au sous-cutané, une accumulation plus importante de masse grasse viscérale contribue à l'état inflammatoire sub-clinique observé dans l'obésité, le Db2 et les MCV.



**Figure 3.** Principales cytokines, hormones, molécules d'adhésion ainsi que les acides gras libres sécrétés par le tissu adipeux.

AGL : acides gras libres, CSF-1 : *colony-stimulating factor-1*, IL : interleukine, MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein-1*, PAI-1 : *plasminogen activator inhibitor-1*, TNF $\alpha$  : *tumor necrosis factor alpha*

#### 1.1.4.2.L'inflammation systémique et les facteurs de risque cardiométabolique

Bien que l'inflammation soit associée à la RI, une question reste encore non répondue à ce jour, à savoir est-ce que l'inflammation mène au développement de la RI ou est-ce la RI qui induit un stress inflammatoire chronique? Nombre d'études suggèrent que c'est l'inflammation qui contribue à la RI et non l'inverse. Il a été montré chez l'animal que le TNF $\alpha$  induit une RI en interférant avec la voie de signalisation de l'insuline, notamment par une réduction de l'activité tyrosine kinase de son récepteur, et en réduisant l'expression de GLUT4 et du récepteur nucléaire *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ). De plus, cette cytokine réduit l'expression de l'adiponectine, ce qui a pour effet de réduire la sensibilité à l'insuline [169]. Toutefois,

chez l'homme, les données sont plus contradictoires comme l'illustre l'absence d'amélioration de la sensibilité à l'insuline suite à l'administration d'anticorps contre le TNF $\alpha$  chez des individus obèses diabétiques de type 2 [169]. Par ailleurs, l'administration périphérique d'IL-6 induit une hyperglycémie et une résistance à l'insuline aussi bien chez les rongeurs que chez l'homme [169]. Cette cytokine altère la signalisation de l'insuline dans l'adipocyte et l'hépatocyte notamment en sous-régulant le ligand du récepteur à l'insuline (IRS, *insulin receptor substrate*) et en sur-régulant la protéine *suppressor cytokine signaling-3* (SOCS-3) [170]. D'autre part, une résistance à l'action anti-inflammatoire de l'insuline peut résulter en une augmentation des concentrations sanguines de marqueurs pro-inflammatoires, et donc mener en une inflammation sub-clinique chronique [171, 172]. Comme il a été mentionné précédemment (voir section 2.1.2 Résistance à l'insuline), la RI se manifeste au foie par une augmentation de la synthèse de marqueurs inflammatoires tels que la CRP, ce qui suggère que la RI induit une réponse inflammatoire.

L'inflammation joue également un rôle dans la dyslipidémie notamment via l'action lipolytique du TNF $\alpha$  ce qui accroît la sécrétion d'acides gras libres du tissu adipeux et favorise la captation et l'entreposage de ceux-ci par les tissus sensibles à l'insuline autres que le tissu adipeux, phénomène appelé accumulation ectopique des lipides. De plus, des études animales indiquent que le TNF $\alpha$  favorise l'accumulation de lipides via la suppression de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) [173], une enzyme qui augmente l'oxydation des lipides dans les cellules. Comme il a été décrit plus tôt dans la section 2.1.3 Dyslipidémie, l'accumulation d'acides gras dans le foie a pour conséquence une augmentation de la sécrétion des lipoprotéines telles que les VLDL riches en triglycérides, ce qui mène à une dyslipidémie, de même qu'une RI.

Le rôle de l'inflammation dans le développement des maladies vasculaires telles que l'athérosclérose est bien démontré [174]. Bien que la présentation de la pathophysiologie complète de l'athérosclérose et du rôle joué par l'inflammation soit en dehors du contexte de la présente thèse, il est important de mentionner que l'endothélium vasculaire et les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire sont une

source de production de marqueurs inflammatoires tels que des molécules d'adhésion (ex. *intercellular adhesion molecule-1* [ICAM-1], *vascular cell adhesion molecule-1* [VCAM-1], P-sélectine, MCP-1, etc.) et des cytokines (ex. IL-6, IL-8, PAI-1) [175]. Une augmentation de la production/sécrétion de ces molécules permet le recrutement des monocytes et des macrophages à la paroi vasculaire, un des phénomènes impliqués dans l'initiation de l'athérosclérose. D'autre part, plusieurs marqueurs de l'inflammation (ex. TNF $\alpha$ , IL-1, CRP, PAI-1, facteur tissulaire, etc.) peuvent activer les cellules endothéliales ce qui a pour conséquence de réduire la disponibilité du NO et ainsi mener à la dysfonction endothéliale [176]. L'importance de l'inflammation dans le risque de MCV est également mise en évidence par l'étude prospective de grande envergure JUPITER (pour *Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin*) où, chez des sujets présentant des concentrations circulantes élevées de hsCRP mais normales à faibles de LDL-C, l'administration de rosuvastatine a réduit les concentrations de hsCRP (37%), ainsi que celles du LDL-C (50%), de même que le nombre d'événements cardiovasculaires majeurs (44%) et la mortalité totale (20%) [177].

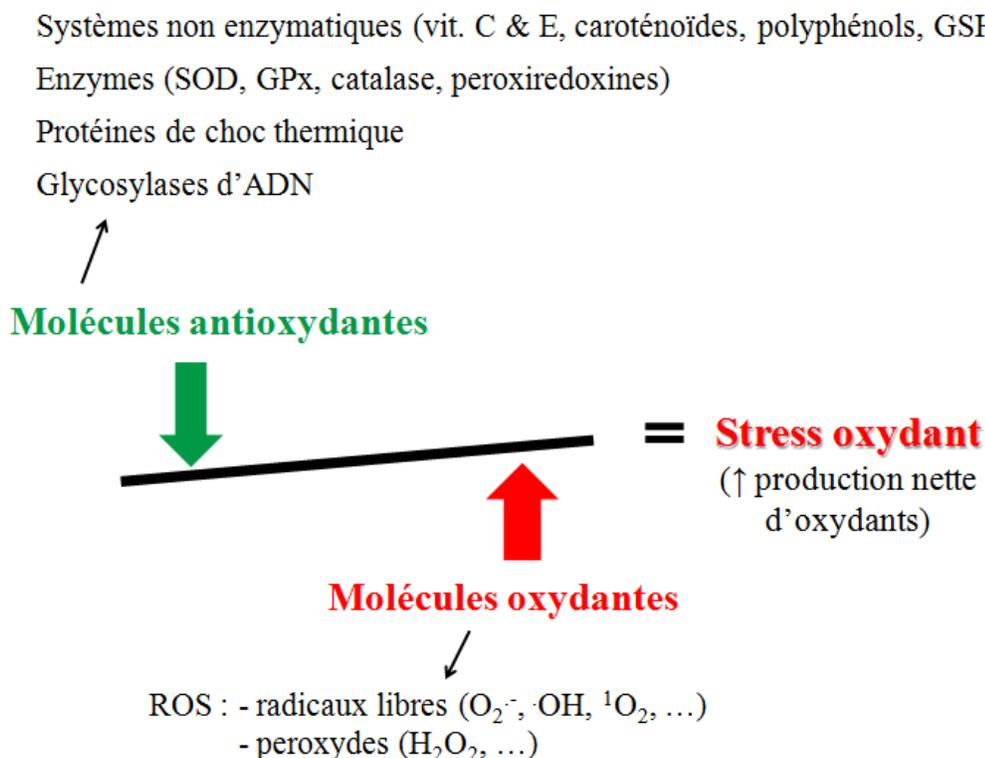
*À la lumière de ces données, l'inflammation joue un rôle important dans le RCM en contribuant à la RI, la dyslipidémie et la dysfonction endothéliale. À la lumière de tout cela, une réduction des taux circulants des marqueurs de l'inflammation et/ou du tissu adipeux (en particulier viscéral) pourrait réduire le risque de développer des maladies métaboliques associées à l'obésité.*

#### 1.1.5. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants, ou ROS, et les molécules antioxydantes en faveur des oxydants. Le terme ROS fait référence à plusieurs types de métabolites réactifs à l'oxygène tels que les radicaux libres et d'autres non-radicalaires tel que le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives possédant un ou plusieurs électrons non paires tels que le superoxyde anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), le radical hydroxyl (·OH) et

l'oxygène singlet  $^1\text{O}_2$  [178]. Ces molécules se lient rapidement aux molécules non-radicalaires à proximité résultant généralement en la formation de nouveaux radicaux. Les ROS sont principalement formés lors de l'oxydation des lipides par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons qui a pour but de produire de l'énergie. Les radicaux libres sont formés suite à l'oxydation des glucides, la glycation non enzymatique des protéines et leur subséquente dégradation. La présence d'une faible concentration de ROS est importante pour le maintien d'un statut redox cellulaire normal, les fonctions tissulaires et les processus de signalisation intracellulaire tels que ceux responsables de l'action de l'insuline [179]. Par contre, une production excessive de ROS endommage les lipides (peroxydation des lipides), les protéines et l'ADN compromettant les fonctions cellulaires [179]. Une concentration anormalement élevée de ROS contribue aussi au développement de la RI [180].

De l'autre côté de la balance, plusieurs processus de défense contre les ROS existent de manière à contrer leurs effets néfastes sur les fonctions cellulaires. La première ligne de défense est leur captation par des systèmes non enzymatiques tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les polyphénols et le glutathion réduit, et plusieurs enzymes dont les plus importantes sont les enzymes superoxyde dismutases (SOD), la glutathion peroxydase, la catalase et les peroxiredoxines. Des concentrations tissulaires normales d'antioxydants suppriment les processus oxydatifs et protègent les tissus. Par contre, lorsque cette première ligne de défense antioxydante n'est plus suffisante, des mécanismes secondaires sont recrutés pour réparer les dommages subits et préparer les tissus contre les futures attaques oxydantes. Ces mécanismes incluent les gènes et les protéines induits par le stress tels que les protéines de choc thermique (*heat shock proteins*) et les enzymes de réparations oxydantes comme les glycosylases d'ADN qui sont activées une fois les dommages subits [181] (figure 4).



**Figure 4.** Composantes de la balance entre les molécules anti- et pro-oxydantes.

GPx : glutathion peroxydase, GSH : glutathion réduit,  $H_2O_2$  : peroxyde d'hydrogène,  $O_2^{\cdot-}$  : superoxyde anion,  $\cdot OH$  : radical hydroxyl,  $^1O_2$  : oxygène singlet, SOD : superoxide dismutases.

#### 1.1.5.1. Méthodes de mesure / d'évaluation du stress oxydant

De par leur courte durée de vie et leur haute réactivité, les ROS sont difficilement mesurables. Des méthodes directes existent mesurant les réactions impliquées en temps réel mais elles sont difficiles et onéreuses [182]. Les techniques indirectes sont plus souvent utilisées et mesurent des biomarqueurs ou des produits finaux des processus médiés par les ROS, donnant ainsi une estimation de l'importance du stress oxydant. Ces biomarqueurs incluent les enzymes superoxyde dismutases, catalase, glutathion réductase, glutathion peroxydase, les concentrations de glutathion et des vitamines

antioxydantes, la peroxydation des lipides, et la concentration en nitrite et de protéines glycosylées de manière non enzymatique. La mesure de la peroxydation des lipides et de l'oxydation des protéines sont les indicateurs les plus courants du dommage oxydatif. Les ROS sont cytotoxiques et peuvent causer des dommages à la membrane cellulaire, à la liaison des récepteurs à la membrane cellulaire, des dysfonctions enzymatiques, et peuvent altérer des cascades de signalisation (ex. insuline, etc.) et activer des processus tels que l'inflammation.

#### *1.1.5.2. Les sources du stress oxydant*

Plusieurs mécanismes contribuent à l'instauration d'un stress oxydant soit en favorisant la production de ROS tels que l'hyperglycémie, des concentrations élevées de lipides tissulaires (adiposité ectopique), l'inflammation chronique, l'infiltration et l'activation excessive des leucocytes, leur production par l'endothélium, la production excessive d'hormones du système rénine-angiotensine, et l'hyperleptinémie, ou soit par des défenses antioxydantes inadéquates [183]. L'obésité est associée à certains ou à l'ensemble de ces mécanismes contribuant au stress oxydant systémique.

En regard des défenses antioxydantes insuffisantes, un apport alimentaire faible en antioxydants, lesquels sont retrouvés notamment dans les fruits, les légumes et les fibres alimentaires, peut affecter l'efficacité de ces défenses et une telle consommation a été rapportée chez des individus obèses vivant au Canada, aux États-Unis, en Europe et en Nouvelle-Zélande [183]. De plus, les concentrations sanguines de vitamines (C, E, caroténoïdes) et de minéraux (zinc, sélénium, magnésium) antioxydants sont plus faibles chez les personnes obèses comparativement aux non-obèses, tant chez les enfants que les adultes [184-187]. Bien que l'obésité perturbe les défenses antioxydantes tissulaires, il est possible que, dans les stades précoces du développement de l'obésité (i.e. chez l'enfant), il y ait une élévation initiale en enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase et la superoxide dismutase pour contrebalancer le stress oxydant [188]. Néanmoins, la chronicité de l'obésité pourrait épuiser les sources d'enzymes antioxydantes dans le temps [189, 190].

Les ROS peuvent induire une réponse inflammatoire en médiant/activant des kinases sensibles au stress (kinase c-Jun N-terminal [JNK], isoformes de la protéine kinase C [PKC], protéine kinase activée par mitogène [p38-MAPK], inhibiteur de la kinase kappa B [IKK- $\beta$ ]), lesquelles activent des facteurs de transcription nucléaires sensibles au redox tels que *activator protein 1* (AP-1) et *nuclear transcription factor  $\kappa$ B* (NF $\kappa$ B). Ces facteurs de transcription sont essentiels pour l'expression de gènes inductibles associés avec les réponses inflammatoires et immunitaires, incluant les cytokines (ex. TNF $\alpha$ , IL-6), les molécules d'adhésion cellulaire (ex. MCP-1), et la synthase NO inductible [191]. À leur tour, ces marqueurs de l'inflammation peuvent induire la production de ROS et ainsi générer une boucle de retour positive [192]. Il est suggéré que le stress oxydant et l'inflammation constituent des mécanismes homéostatiques/compensatoires maintenant la balance physiologique tissulaire. Lorsqu'un des mécanismes surcharge chroniquement l'autre, il y a un déséquilibre entraînant l'altération des processus physiologiques tels qu'un défaut de l'action de l'insuline [192, 193]. Une question reste encore non répondue à ce jour à savoir est-ce l'inflammation qui induit la cascade du stress oxydant ou est-ce le stress oxydant qui induit une réponse inflammatoire?

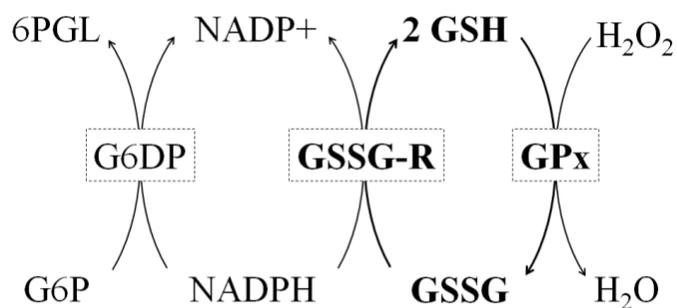
#### *1.1.5.3. Le stress oxydant et la résistance à l'insuline*

Le stress oxydant constitue une des hypothèses pouvant expliquer le développement de la RI. Bien que des concentrations modérées de ROS potentialisent l'action de l'insuline [179], une production accrue de ROS en réponse à un excès de nutriments (acides gras et glucose) peut induire une RI notamment au niveau du muscle squelettique et du tissu adipeux, ainsi qu'une augmentation des concentrations circulantes d'acides gras libres et de glucose (dyslipidémie et hyperglycémie) (section 2.1.2 Résistance à l'insuline). Comme mentionné précédemment dans cette section, une concentration élevée de ROS, tel que le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, interfèrent directement avec la voie de signalisation de l'insuline, réduisant ainsi son action et de ce fait, induit la RI [179].

Considérant le rôle clé de la RI dans le développement de la dyslipidémie, la dysfonction endothéliale et l'inflammation, il est possible que ces désordres métaboliques partagent une même cause : le stress oxydant. Toutefois, il est difficile d'isoler les effets métaboliques de la RI de celle de l'inflammation et du stress oxydant, particulièrement dans les étapes initiales du développement de ces désordres métaboliques et donc de déterminer l'acteur initiateur (stress oxydant, inflammation ou RI) de ces altérations métaboliques.

#### *1.1.5.4. Défenses antioxydantes : le rôle du système glutathion*

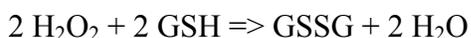
Le glutathion ainsi que ses enzymes peroxydase et réductase (figure 5) font partie des antioxydants les plus communs de l'organisme. Plus particulièrement, la forme réduite du glutathion (GSH) est le régulateur majeur du redox intracellulaire et se trouve en abondance dans les cellules, ses concentrations pouvant atteindre 10 mM [194]. Le glutathion agit comme un capteur direct des radicaux libres, un co-substrat pour l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase, co-facteur de plusieurs autres enzymes, et forme des conjugués dans des réactions d'endo- et de xénobiotiques [195, 196].



**Figure 5.** Système glutathion.

G6P: glucose-6-phosphate; 6PGL: 6-phosphogluconolactonase; G6DP: glucose-6-phosphate déshydrogénase; NADP: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate; NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit; GSH: forme réduite du glutathion; GSSG: forme oxydée du glutathion, GPx: glutathion peroxydase; GSSG-R: glutathion réductase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peroxyde d'hydrogène.

Les enzymes glutathion peroxydase (GPx) et glutathion réductase (GSSG-R) sont retrouvées dans le cytoplasme, les mitochondries et le noyau cellulaire. La GPx métabolise le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau en utilisant le GSH comme un donneur d'hydrogène [7, 8], tel qu'illustré dans la réaction suivante :



où GSSG est la forme oxydée du glutathion aussi appelé glutathion disulfure. Ce dernier est recyclé en GSH par l'enzyme GSSG-R en utilisant le cofacteur NADPH généré par l'enzyme glucose 6-phosphate déshydrogénase (figure 5).

Le système glutathion est associé au RCM. Des niveaux réduits de glutathion dans le plasma et les globules rouges ont été rapportés chez des individus obèses [9, 10] et obèses diabétiques de type 2 comparativement à des sujets non obèses en santé [10].

Comparativement à des individus de poids normal en santé, des concentrations plus faibles de glutathion total sont aussi trouvées chez des individus de poids normal mais étant métaboliquement obèses, un syndrome caractérisé par un IMC normal ( $< 25 \text{ kg/m}^2$ ) mais un pourcentage de masse grasse élevé ( $> 30\%$ ) et un état inflammatoire [9]. De manière similaire, un ratio GSSG/GSH élevé a été rapporté chez des individus obèses présentant le syndrome métabolique comparativement à des obèses sans le syndrome métabolique [197]. Le ratio GSSG/GSH indique une augmentation de l'utilisation du GSH par la GPx en réponse à une production augmentée de ROS (augmentation de l'oxydation du glutathion) et possiblement de manière plus rapide que le recyclage du GSSG par la GSSG-R (réduction du glutathion). Toutes ces données suggèrent que des concentrations moindres de glutathion pourraient être associées à des altérations métaboliques plutôt qu'à l'obésité même.

Des évidences indiquent que le système glutathion joue un rôle dans la RI. Des concentrations réduites de glutathion (foie, rein, pancréas, plasma, globules rouges) et une activité augmentée de la GPx (foie, rein, aorte, pancréas, sang, globules rouges) sont associées au Db2 [198], une condition associée à la RI. En regard de la relation entre la GSSG-R et le Db2, son niveau d'activité varie selon les tissus; elle est augmentée dans le cœur mais réduite dans la rétine et le plasma [198]. De manière plus directe, une activité plus importante de la GPx a été rapportée chez des individus présentant une obésité morbide (IMC variant entre 43 et  $74 \text{ kg/m}^2$ ) et résistants à l'insuline comparativement à ceux non résistants à l'insuline [199]. De plus, chez des souris surexprimant la GPx1, l'isozyme la plus fréquente, celles-ci développent une hyperglycémie et une hyperinsulinémie, présentent des concentrations plasmatiques élevées de leptine et une RI causée par une plus faible phosphorylation d'IRS-1 dans le foie et le muscle [200]. La relation entre l'activité de la GPx et la RI est davantage supportée par un modèle de souris manquant la GPx1, où les animaux montrent une résistance à développer une RI suite à l'ingestion d'une diète riche en lipides, laquelle est reconnue pour induire une RI [201]. En regard du glutathion total, une réduction de ces concentrations, réalisée par l'inhibition de sa synthèse chez l'animal, résulte en une intolérance au glucose mais pas en une altération de la sensibilité à l'insuline au niveau

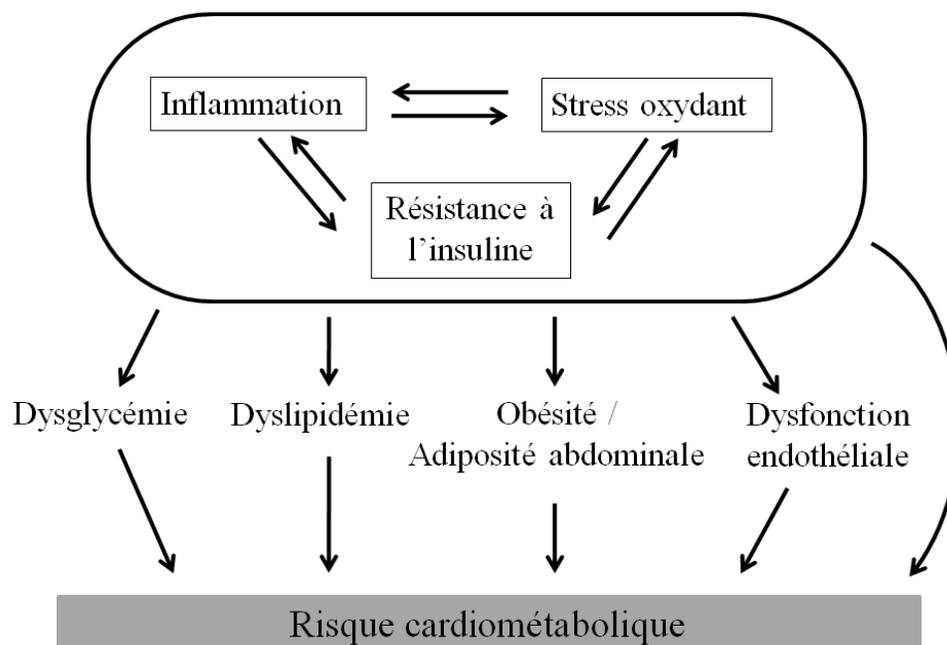
du tissu adipeux et du muscle squelettique [202]. Toutes ces données indiquent qu'une activité élevée de la GPx est associée à et peut induire la RI alors que des concentrations plus faibles de glutathion total semblent plutôt être associée au métabolisme du glucose et à l'insulinémie. La relation entre la GSSG-R et la RI n'est pas claire en raison notamment du faible nombre d'études à ce sujet.

La relation entre le système glutathion et le métabolisme des lipides est moins claire que celle avec la RI. Les données semblent indiquer que des concentrations faibles de glutathion total sont observées chez des personnes ayant une hypercholestérolémie familiale [203] et sont associées à des concentrations élevées de triglycérides chez des individus de poids normal mais métaboliquement obèses [9]. D'autre part, les évidences en regard de la GPx sont contradictoires. Chez l'animal, certaines études rapportent une diminution de l'activité de la GPx chez des animaux nourris avec une diète riche en cholestérol et dont le profil lipidique est altéré (augmentation des triglycérides, du cholestérol total et du LDL-C, et réduction du HDL-C) [204] alors que d'autres n'ont observé aucune association entre l'activité de la GPx et les concentrations plasmatiques de lipides [205]. Chez l'humain, des niveaux élevés de GPx ont été rapportés chez les individus hypertriglycéridémiques [206]. Peu ou pas de données sont disponibles quant à l'importance de la GSSG-R dans le métabolisme lipidique.

Le système glutathion est également associé aux MCV, bien que les évidences soient contradictoires en regard de l'effet protecteur ou délétère d'une activité élevée de GPx. Plusieurs études montrent une association négative entre l'activité de la GPx et les événements cardiovasculaires [207, 208] alors que d'autres rapportent une association positive [209]. Peu ou pas d'association ont été rapportées concernant le glutathion total et la GSSG-R en lien avec le risque cardiovasculaire.

Le stress oxydant constitue donc une composante importante et peut-être même une des causes du RCM en contribuant au développement de la RI, la dyslipidémie et l'inflammation systémique. D'autre part, le système glutathion constitue un mécanisme de défense antioxydante contre la production de peroxydes, lesquels sont générés

continuellement par la mitochondrie. Une altération du système glutathion pourrait contribuer à accentuer les altérations métaboliques caractéristiques du RCM, notamment la RI.



**Figure 6.** Relations entre la résistance à l'insuline, l'inflammation, le stress oxydant et le risque cardiométabolique.

*En somme, comme le résume la figure 6, la RI, l'inflammation et le stress oxydant sont interreliés, chacun pouvant induire les deux autres composantes, et contribuent à la manifestation clinique du RCM notamment par la dyslipidémie et la dysfonction endothéliale. L'obésité, ou plutôt l'adiposité abdominale, joue également un rôle important dans le RCM bien que n'étant pas une composante essentielle au même titre que le sont la RI, l'inflammation et le stress oxydant. Malgré les avancées scientifiques des dernières décennies, la ou les causes initiant les altérations*

*métaboliques caractéristiques du RCM restent encore à définir à ce jour. Toutefois, tout indique qu'un débalancement dans la sensibilité à l'insuline, l'inflammation ou le stress oxydant serait à l'origine du RCM.*

## **1.2. Balance énergétique**

Les facteurs de risque associés au RCM peuvent être influencés par les facteurs modifiables du style de vie tels que l'alimentation, l'activité physique, le tabagisme et la consommation d'alcool. Une alimentation malsaine et une activité physique limitée augmentent tous deux le RCM et sont associés à plusieurs facteurs de risque tels qu'un profil lipidique anormal, l'hypertension, la RI, l'obésité et le Db2. Par exemple, Zhu *et al.* rapportent une association positive entre un faible niveau d'activité physique, une consommation alimentaire élevée de glucides, le tabagisme, et le risque de développer le syndrome métabolique dans la cohorte du *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) [11]. L'inactivité physique et l'obésité abdominale sont tous deux associés à une augmentation du risque de développer une maladie coronarienne [210]. Les résultats d'une étude récente indiquent que la prévalence de mauvaises habitudes alimentaires (ex. « sauter des repas », grignoter la nuit, prendre des collations régulièrement, alterner entre présence et absence de restrictions alimentaires) et d'une mauvaise pratique d'activités physiques (ex. passer beaucoup de temps assis sur le divan, faire tout ou rien, connaissances limitées sur l'entraînement physique) sont élevées chez les individus en surpoids ou obèses [12]. Les auteurs rapportent que la prévalence de ces comportements augmente en fonction de l'IMC. Les prochaines sections présenteront et discuteront de l'importance des apports alimentaires et de la dépense énergétique, d'un point de vue quantitatif et qualitatif, en regard du RCM ou ses composantes, principalement l'obésité ou adiposité abdominale, la RI, la dyslipidémie, l'inflammation et le stress oxydant.

### 1.2.1. Apports alimentaires

L'alimentation peut influencer la santé par diverses façons, tant au niveau des comportements associés à la prise alimentaire que les aliments ingérés eux-mêmes. Parmi les comportements alimentaires, le fait de « sauter des repas », de manger à des heures irrégulières, de manger la nuit et de consommer de grandes portions d'aliments sont associés à un risque augmenté de développer l'obésité ou ses complications [211-213]. En ce qui concerne les aliments consommés, leur teneur en macro- et micronutriments ainsi que la combinaison des aliments constituant un repas sont des déterminants de l'association entre l'alimentation et le RCM ou ses composantes. Les aspects quantitatifs et qualitatifs de l'alimentation seront discutés dans les sections suivantes en lien avec le RCM.

#### *1.2.1.1. Les outils d'évaluation de l'apport alimentaire*

Différents outils existent pour évaluer les apports alimentaires d'un individu ou d'une population tels que les questionnaires de fréquence alimentaire, les rappels de 24 heures et les journaux alimentaires. Chacun de ces outils ont des avantages et des inconvénients. Les questionnaires de fréquence alimentaire sont l'outil le plus utilisé dans les études épidémiologiques pour évaluer l'exposition nutritionnelle à long terme et permet de déterminer les apports alimentaires habituels pour des aliments ou nutriments spécifiques. Cet outil documente les apports alimentaires des individus au cours de la dernière année et est donc susceptible d'être faussé par des biais de mémoire. Les rappels de 24 heures et les journaux alimentaires sont basés sur l'apport alimentaire récent sur une période de temps définie. Un nombre suffisant de rappels de 24 heures ou de journaux alimentaires obtenus au cours d'une année permet d'estimer les apports alimentaires habituels des individus. Contrairement aux questionnaires de fréquence alimentaire, les rappels de 24 heures sont moins sujets à des erreurs de mémoire puisque les individus doivent noter leur consommation alimentaire de la journée précédente mais à l'inverse ils permettent une évaluation ponctuelle possiblement moins représentative de l'alimentation habituelle. De tous les outils disponibles, les journaux alimentaires

sont considérés comme la méthode de référence pour évaluer les apports alimentaires car ils recueillent toutes les informations concernant les aliments et les boissons consommées incluant la description détaillée de l'aliment, la grosseur/le poids de la portion consommée, le type de cuisson (lorsqu'approprié), les aliments composant un repas ainsi que leur quantité respective, les condiments ajoutés, etc... Ces informations sont notées par l'individu aussitôt que possible après l'ingestion de l'aliment/repas et ce, sur une période variant de 3 à 15 jours. Toutefois leur utilisation dans les études épidémiologiques de grande envergure est peu pratique en raison de l'importante charge de travail demandé aux patients (i.e. noter avec précision et le plus détaillé possible la quantité et la nature de tous les aliments et les boissons ingérés pendant une période de temps définie) et aux professionnels devant les analyser. La durée optimale d'analyse se situe entre 7 et 15 jours mais une analyse sur 3 jours représentatifs (2 jours de semaine et un jour de fin de semaine) constitue le compromis le plus souvent utilisé.

#### *1.2.1.2.Aspects quantitatifs*

Les apports énergétiques, tels qu'estimés par des rappels alimentaires, ont légèrement augmenté au cours des dernières décennies pour plusieurs sociétés occidentales telles que les États-Unis, l'Europe et l'Australie [214]. Cette augmentation dans les apports en énergie pourrait en partie s'expliquer par une augmentation de la taille des portions consommées ainsi que la fréquence des repas/collations par jour. Une étude épidémiologique récente indique qu'entre les enquêtes nationales américaines de 1977-1978 et 1994-1998, la taille des portions a contribué pour près de 15 kcal/j/année à l'augmentation des apports en énergie, et de 4 kcal/j/année pour l'apport énergétique provenant des repas/collations [215]. Entre les enquêtes de 1994-1998 et 2003-2006, la contribution de la fréquence des repas/collations aux apports énergétiques a augmenté de manière à atteindre +39 kcal/j/année alors que celle de la taille des portions a décliné avec -1 kcal/j/année pour la même période de temps.

Par ailleurs, dans les pays occidentaux, il y a eu des modifications majeures des apports en macronutriments tels que la proportion et le type des lipides et des glucides.

Plusieurs études transversales retrouvent une association positive entre l'obésité et l'apport en lipides, mais les résultats d'études prospectives sont beaucoup moins homogènes [216]. Même si les apports glucidiques sont en apparence moins suspects, ils pourraient eux aussi contribuer à la constitution de l'obésité. L'augmentation de la consommation des boissons sucrées est également associée à l'obésité en raison d'une augmentation des apports caloriques [217]. Dans un suivi prospectif, le risque de devenir obèse augmente de 37% chez ceux qui consomment quotidiennement au moins une boisson gazeuse [218].

Les études épidémiologiques nutritionnelles ont longtemps mis l'emphase sur les effets d'aliments (ex. poisson, huile d'olive, vin rouge) et de nutriments spécifiques (ex. cholestérol, acides gras polyinsaturés oméga-3, vitamine E, fibres alimentaires) sur le risque cardiovasculaire [219] et plus récemment l'obésité, l'inflammation (ex. TNF $\alpha$ , IL-6, CRP) [220] et le Db2 [221]. Dans la dernière décennie, de nouveaux nutriments ont été associés au RCM tels que la vitamine D et le calcium. Tous deux sont inversement associés à l'obésité [222, 223] et la vitamine D alimentaire est également associée à un risque plus faible de syndrome métabolique, de Db2 et de MCV [222]. Or, les nutriments et les aliments sont consommés en combinaison, plutôt que séparément, et donc les nutriments peuvent interagir entre eux et ces interactions peuvent également avoir un effet sur la santé. Comme le mentionnaient Jacobs Jr *et al.* [224], « les évidences d'un bénéfice pour la santé apparaissent plus forts lorsque les composantes alimentaires sont considérées dans un patron alimentaire synergique plutôt que lorsque pris individuellement (aliments ou nutriments) ».

### *1.2.1.3.Aspects qualitatifs*

Au cours des deux dernières décennies, l'aspect qualitatif de l'alimentation a commencé à être investigué en regard de certains facteurs du RCM. Plusieurs approches ont été utilisées à ce jour incluant les analyses de facteurs permettant l'identification des patrons alimentaires dans une population et le calcul de scores de qualité alimentaire

évaluant principalement l'adhésion d'une population aux recommandations alimentaires. Voici une brève présentation de ces différentes méthodes.

#### 1.2.1.3.1. Patrons alimentaires et risque cardiométabolique

La méthode d'analyse de facteurs est basée sur des analyses statistiques (régressions multiples simultanées) qui associent plusieurs variables dépendantes à un même ensemble de variables prédictrices/exploratoires. Les données alimentaires proviennent généralement de questionnaires de fréquence alimentaire et parfois de journaux alimentaires. De telles analyses ont permis l'identification de certains patrons alimentaires associés à un RCM plus faible et d'autres à un RCM plus élevé. Les patrons associés à un moindre RCM, « patron prudent ou diète prudente », sont globalement caractérisés en tout ou en partie par une consommation élevée en huiles non-hydrogénées, légumes, fruits, légumineuses, produits céréaliers à grains entiers (pain, céréales) et poissons [225-227]. La diète Méditerranéenne est un bon exemple de ce type de patrons alimentaires et est caractérisée par une consommation journalière d'huile d'olive, de fruits et légumes, de produits céréaliers à grains non-raffinés et de produits laitiers, une consommation hebdomadaire de poissons et volailles, de pommes de terre, d'olives, de noix de pain et de légumineuses puis une consommation mensuelle de viandes rouges ainsi qu'une consommation modérée de vin [228-231]. À l'opposé, les patrons alimentaires considérés comme étant néfastes pour la santé, « patron/diète Western (occidental) », sont caractérisés dans l'ensemble par une consommation élevée de viandes rouges et charcuteries, produits céréaliers à grains raffinés, produits dérivés de pommes de terre (frites, croustilles), lipides ajoutés, fromages riches en lipides, gâteaux, sucreries et boissons sucrées [225-227, 232].

Les patrons alimentaires de type « prudent » sont associés à des concentrations plus faibles d'homocystéine [227], lequel est associé à un risque élevé de MCV, et de marqueurs de l'inflammation et de la dysfonction endothéliale (fibrinogène, CRP, E-selectin) [227, 233], et à un risque réduit d'hypertension [227, 233], d'événements cardiovasculaires fatals, mais pas pour les événements non-fatals [226], et de maladies

coronariennes [234]. Ces relations sont supportées davantage par les effets bénéfiques de la diète Méditerranéenne sur le profil inflammatoire sub-clinique, l'obésité abdominale, le syndrome métabolique et ses composantes (métabolisme du glucose, dyslipidémie, hypertension), le risque de Db2 et de MCV [235-239]. L'ensemble de ces associations sont ajustées pour plusieurs facteurs confondant incluant l'activité physique, donc évaluant l'effet indépendant d'une saine alimentation sur le RCM ou ses composantes.

De leur côté, les patrons alimentaires de type occidentaux sont associés à des particules LDL petites et denses [225], à des niveaux élevés de marqueurs de l'inflammation et de la dysfonction endothéliale (CRP, E-selectin, ICAM-1, VCAM-1) [233], au syndrome métabolique et ses composantes (obésité abdominale, hypertriglycémie, hypertension) [227], au risque de Db2 [240] et à la mortalité de toutes causes [232]. Une étude récente a montré une association inverse entre la consommation de fruits et de légumes et la probabilité d'avoir un IMC  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> [241]. Néanmoins, la relation entre les patrons alimentaires de type occidental et l'obésité n'est pas constante parmi les études d'observations, particulièrement chez les femmes [242]. Comme pour les patrons alimentaires de type « prudent », les associations entre l'alimentation de type « occidental » et le RCM ou ses composantes sont ajustées pour plusieurs facteurs confondants incluant l'activité physique, isolant ainsi l'effet de l'alimentation sur le RCM et la mortalité.

#### 1.2.1.3.2. Scores de qualité alimentaire et risque cardiometabolique

Une autre approche pour évaluer la relation entre l'alimentation globale et le RCM est de calculer un score reflétant la qualité globale de l'alimentation en fonction des recommandations nutritionnelles gouvernementales. Ces scores peuvent être basé sur les nutriments consommés, sur les aliments ingérés ou sur une combinaison des deux [243] en utilisant les données alimentaires recueillies par des questionnaires de fréquence ou des rappels de 24 heures. Les plus utilisés dans les études épidémiologiques et d'observations de moindre envergure sont les scores basés sur les aliments ou ceux combinant les aliments et les nutriments ingérés, lesquels ont

initialement été développés pour évaluer la qualité de l'alimentation des Américains. De ceux-ci, certains évaluent l'adhésion aux recommandations alimentaires américaines (*Healthy Eating Index* [HEI] et *Diet Quality Index* [DQI], *Recommended Foods Score* [RFS]) [14, 15, 244], alors que d'autres évaluent plutôt la diversité alimentaire (*Dietary Diversity Score* [DDS]) [245]. Le HEI avait aussi pour but de mesurer des changements mineurs dans la qualité alimentaire des Américains. D'autres scores ont aussi été développés pour évaluer l'adhésion au patron alimentaire de la diète Méditerranéenne (ex. *Mediterranean Diet Score* [MDS], *Mediterranean Diet Index* [MDI], *Alternate Mediterranean Diet Index* [aMED], *Mediterranean Diet Quality Index* [M-DQI]) [246-249]. Les scores HEI et DQI ont subi plusieurs modifications visant à les mettre à jour en fonction des nouvelles recommandations alimentaires ou à ajouter des composantes importantes de l'alimentation telles que la distinction entre les produits céréaliers à grains entiers vs raffinés (ex. HEI-2005, *Alternate HEI* [AHEI], *DQI-Revised* [DQI-R]) [13, 250, 251], ou à les adapter à d'autres populations permettant des comparaisons internationales (ex. *DQI-International* [DQI-I]) [252].

De plus, le HEI est le seul score de qualité alimentaire qui a été adapté pour la population canadienne. La première adaptation fut réalisée par Shatenstein *et al.*, [16]. Récemment, une mise à jour du *Canadian Healthy Eating Index* (HEIC-2009) a été réalisée par Woodruff *et al.* [253] de manière à refléter l'adhésion aux recommandations alimentaires canadiennes de 2007 [254]. Comparativement à l'adaptation réalisée par Shatenstein *et al.* [16], le HEIC-2009 tient compte de l'apport calorique total ( $\leq 1600$  kcal/jour,  $1600-2200$  kcal/jour,  $\geq 2200$  kcal/jour) et des recommandations alimentaires concernant entre autres la teneur en lipides des produits laitiers, et la consommation de produits céréaliers à grains entiers et de substituts de la viande comme le poisson. Ceci constitue une amélioration importante au score de manière à mieux refléter les effets métaboliques différents des aliments d'un même groupe alimentaire tels que le poisson et les viandes rouges qui ont des associations opposés avec le RCM [255-257].

De tous ces scores alimentaires, le HEI, est celui qui est le plus souvent utilisé dans les études épidémiologiques et d'observations de moindre envergure. Ceci étant dit,

une bonne qualité alimentaire est associée à une meilleure santé cardiométabolique indépendamment du score utilisé. Plus spécifiquement, une bonne qualité alimentaire est inversement associée à l'obésité / obésité abdominale (selon le HEI, RFS, DDS), un meilleur métabolisme du glucose tel qu'évalué par la glycémie à jeun et l'hémoglobine glyquée (selon le HEI, RFS, DDS), une meilleure fonction endothéliale (concentrations circulantes plus faibles de E-selectin, ICAM-1, VCAM-1) (selon le HEI, RFS), une meilleure pression artérielle (selon le RFS, DDS) ainsi qu'un risque plus faible de développer une maladie chronique telle qu'un Db2 et une MCV, et un plus faible taux de mortalité chez la femme [244, 246, 251, 258-264]. Une étude récente indique que la qualité alimentaire, évaluée à l'aide du score RFS ou aMED, est associée à des niveaux plus faibles de marqueurs du stress oxydant (malondialdéhyde urinaire (MDA) [marqueur de l'oxydation lipidique], 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine [pour l'altération de l'ADN]) [265]. L'ensemble de ces associations est indépendante du niveau d'activité physique, les analyses statistiques ayant été ajustées pour ce facteur confondant.

Par ailleurs, l'association entre la qualité alimentaire et le profil lipidique est inconsistante. Une association inverse a été rapportée entre la qualité alimentaire évaluée par le HEI et le profil lipidique (cholestérol total, LDL-C, triglycérides, HDL-C) chez des femmes en postpartum [263] alors qu'une absence d'association a été observée chez des femmes post-ménopausées [266]. De manière similaire, la relation entre la qualité alimentaire et le profil inflammatoire n'est pas consistante entre les scores; certains scores sont inversement associés à l'inflammation sub-clinique (RFS, AHEI, aMED) [246, 262] alors que d'autres non (HEI, DQI-R) [246]. Notons que la relation entre la qualité alimentaire évaluée par le score HEI et la CRP est inconsistante car une association négative a été rapportée dans une étude [267] mais pas dans une autre [246]. Ces différences pourraient être expliquées en partie par le fait que, en comparaison avec l'étude rapportant une absence d'association, celle montrant une association négative a été réalisée chez des hommes et des femmes (plutôt que des femmes uniquement) et les données alimentaires provenaient d'un rappel de 24 heures (plutôt que d'un questionnaire de fréquence alimentaire). Il reste que d'autres investigations sont requises afin de déterminer s'il y a ou non une association entre la qualité alimentaire, évaluée

par le HEI, et l'inflammation sub-clinique. De plus, aucune information n'est disponible dans la littérature concernant la relation entre la qualité alimentaire, évaluée par un des scores présentés ci-haut, et la RI chez l'adulte. Toutefois, un nouveau score, le *Healthy Lifestyle-Diet Index* (HLD-Index), a été développé pour évaluer la relation entre une saine alimentation et la résistance à l'insuline chez l'enfant [268].

*À la lumière de ces données, l'alimentation, tant les aspects quantitatifs que qualitatifs, joue un rôle important dans le RCM et ses composantes. Ce rôle est, de manière générale, indépendant de l'activité physique, un facteur confondant souvent pris en considération dans les analyses. L'étude des nutriments a permis de mieux comprendre l'implication de l'alimentation dans le développement des désordres métaboliques, quoique les mécanismes d'action impliqués restent encore à être élucidés. Du point de vue de la qualité de l'alimentation, les données sont prometteuses mais des investigations futures sont nécessaires pour mieux comprendre la relation de cet aspect de l'alimentation avec le RCM.*

#### 1.2.1.3.3. Limites de l'évaluation des apports alimentaires

Une évaluation juste des apports alimentaires est primordiale pour l'établissement de relations entre l'alimentation et le RCM ou avec certains de ces facteurs de risque. Toutefois, plusieurs facteurs interfèrent avec cette évaluation tels que la variation d'une journée à l'autre, le choix de l'outil pour évaluer les apports alimentaires (questionnaire de fréquence alimentaire, rappels de 24 heures, journal alimentaire) [269] et la mauvaise déclaration de la consommation alimentaire, incluant la sous- et la sur-déclaration. Ce phénomène de déclaration erronée est présent dans tous les sous-groupes de la population [270, 271] mais est plus important chez les individus obèses [272-274]. Il y a une tendance suggérant que les femmes sous-rapportent plus souvent leurs apports énergétiques que les hommes mais ceci reste discuté [272].

La sous-déclaration peut représenter près de 30% et près de 40% des apports caloriques estimés chez les hommes et les femmes, respectivement, alors que la sur-

déclaration ne représentent que 4 à 5% des apports caloriques estimés chez les hommes et les femmes [272], ce qui fait de la sous-déclaration la forme la plus fréquente de mauvaise déclaration. La sous-déclaration fait référence à la sous-estimation de la quantité d'aliments consommés ainsi qu'à la sous-consommation des aliments (apports insuffisants). Elle est définie comme étant la différence entre les apports caloriques rapportés et la dépense énergétique totale mesurée en absence d'un changement de poids. Quelques méthodes existent pour identifier la sous-déclaration des apports caloriques. La méthode de Goldberg fut la première suggérée et constitue en la comparaison des apports caloriques estimés, exprimés comme un multiple du métabolisme de repos (apports caloriques / métabolisme de repos), à un niveau d'activité physique, aussi exprimé comme un multiple du métabolisme de repos [275]. Une différence entre les deux multiples inférieure à l'intervalle de confiance à 95% détermine les individus sous-rapporteurs. Toutefois, cette méthode est imprécise en raison de l'estimation de la dépense énergétique de repos (calculée selon la formule de Schofield [276]) et de l'utilisation d'un niveau d'activité physique fixe (1,55 X métabolisme de repos, ce qui correspond à un niveau sédentaire [277]); l'utilisation d'un niveau d'activité approprié pour chaque individu augmente la validité de la méthode [278]. La méthode de Goldberg a été révisée récemment où l'équation de Schofield pour estimer le métabolisme de repos est remplacée par d'autres équations adaptées pour les individus obèses [279]. Finalement, l'utilisation de la méthode de l'eau doublement marquée pour mesurer la dépense énergétique totale (voir section 2.2.2.1.1. Dépense énergétique totale) permet de comparer directement les apports caloriques rapportés à la dépense énergétique totale [280], ce qui augmente la validité de cette méthode. Tout comme pour la méthode de Goldberg, les valeurs inférieures ou supérieures à l'intervalle de confiance à 95% du ratio correspondent à une sous- et une sur-déclaration, respectivement.

Une synthèse de la littérature réalisée par Livingstone & Black [272] montre que la sous-déclaration des apports caloriques influence les apports en macro- et micronutriments. L'énergie provenant des protéines est plus élevée et celle provenant des lipides est plus faible chez les individus sous-rapportant leurs apports caloriques,

alors que l'apport en énergie provenant des glucides est variable et non significatif [272]. De plus, la compilation des résultats de sept études montre que les apports en micronutriments sont également plus faibles chez les sous-rapporteurs [272]. Considérant cela, il est possible de s'attendre à ce que le fait de sous-déclarer ses apports caloriques puisse affecter la qualité globale de l'alimentation. Toutefois, ceci reste à démontrer.

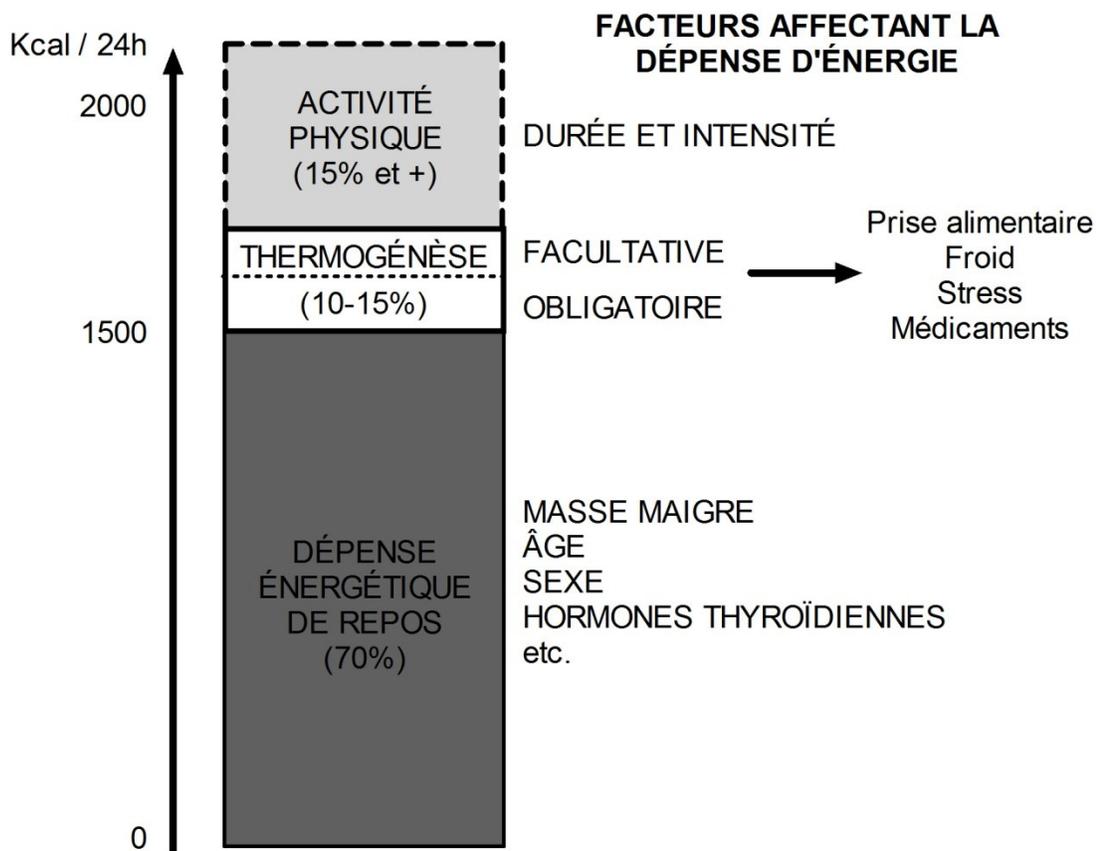
### 1.2.2. Dépense énergétique

La balance énergétique correspond à l'équilibre entre l'énergie ingérée et l'énergie dépensée. Lorsque la balance est positive, c'est-à-dire que les apports alimentaires sont plus importants que la dépense énergétique, il y a prise de poids qui, avec le temps, peut mener au développement de l'obésité. À l'inverse, une balance négative entraîne une perte de poids.

La dépense énergétique peut s'exprimer de manière quantitative, se rapportant à la quantité d'énergie dépensée, et qualitative, laquelle inclut la capacité cardiorespiratoire et les aspects qualitatifs de l'activité physique. Notons que les aspects qualitatifs de la dépense énergétique ont été plus amplement investigués en regard du RCM.

#### *1.2.2.1. Aspects quantitatifs*

La dépense énergétique totale se divise en trois composantes : le métabolisme de base ou dépense énergétique de repos, la thermogénèse et l'activité physique (figure 7).



**Figure 7.** Composantes de la dépense énergétique totale.

#### 1.2.2.1.1. Dépense énergétique totale

La dépense énergétique totale (DÉT) représente la dépense totale d'énergie au cours d'une journée et peut être mesurée grâce à la technique de calorimétrie directe. Brièvement, les individus sont enfermés dans une chambre calorimétrique et on mesure la production de chaleur et les échanges gazeux (oxygène [O<sub>2</sub>] et gaz carbonique [CO<sub>2</sub>]). Néanmoins l'appareillage est très coûteux et la mobilité du sujet est limitée à un espace restreint. La DÉT peut aussi être déterminée grâce à la technique de l'eau doublement marquée. Cette eau est marquée avec des traceurs sur l'oxygène et sur l'hydrogène, d'où le « doublement marquée », et peut être prise oralement ; elle s'équilibre rapidement avec l'eau corporelle. Sur 10-15 jours, la différence d'élimination entre les deux traceurs

permet de mesurer la production de gaz carbonique, à partir de laquelle on peut mesurer la DÉT le plus souvent grâce à des échantillons d'urine. Plusieurs études récentes ont validé l'utilisation d'accéléromètres pour l'estimation de la dépense énergétique. La comparaison avec l'eau doublement marquée donne des résultats prometteurs [281].

Bien que la DÉT a été peu investiguée à ce jour, certains facteurs ont été identifiés comme affectant la DÉT tels que les activités ménagères, celles-ci peuvent contribuer jusqu'à 20% à la DÉT chez l'homme et jusqu'à 33% chez la femme [282]. Dans cette même étude, dont les données proviennent d'une enquête américaine réalisée au début des années 1990, il était rapporté que les activités physiques de loisirs ne contribuaient qu'à environ 5% de la DÉT, ce qui souligne l'importance de la pratique d'activités physiques structurées et d'adopter un style de vie actif pour influencer la DÉT. D'autre part, une étude réalisée aux Pays-Bas montre que la DÉT n'est pas influencée par les changements de saisons, contrairement au niveau d'activités physiques [283]. Dans cette étude, la dépense énergétique liée à l'activité physique (DÉAP) était réduite en hiver comparativement à la saison estivale, une réduction qui était compensée par une augmentation du métabolisme lors du sommeil, résultant en une DÉT inchangée entre ces deux saisons. Le type d'activités physiques n'avait toutefois pas été évalué.

Dans un contexte d'obésité où, de manière simplifiée, les apports en énergie dépassent la dépense en énergie, il est logique de penser qu'une DÉT élevée permet de dépenser le surplus d'énergie ingérée et donc limiter le développement de l'obésité. Néanmoins, la contribution d'une faible dépense énergétique des sujets obèses est controversée. D'une part, la masse tissulaire additionnelle des sujets obèses est responsable d'une dépense énergétique supplémentaire proportionnelle au surpoids, mais une fois ajustée pour le poids corporel, les individus obèses ont une DÉT similaire à ceux de poids normal [284]. D'autre part, une étude récente rapporte que, chez des femmes obèses diabétiques de type 2, la DÉT est un déterminant indépendant du tissu adipeux viscéral [285]. À l'exception de l'adiposité où quelques données sont disponibles, la relation entre la DÉT et le RCM ou ses autres composantes n'a pas été

étudiée. Ce sont plutôt les composantes de la DÉT, soit le métabolisme de repos et l'activité physique, qui ont été plus largement étudiés en lien avec le RCM.

Récemment, Jumpertz *et al.* [286] ont rapporté une association positive entre la DÉT et la mortalité naturelle, c'est-à-dire induite par une maladie et non par une cause externe (ex. accident, suicide). Ces résultats sont intrigants puisque les évidences scientifiques ainsi que recommandations gouvernementales encouragent l'augmentation de l'activité physique, ce qui entraîne une augmentation la dépense d'énergie liée à l'activité physique et donc la DÉT, comme moyen pour contrer le développement de l'obésité. Comme Jumpertz *et al.* mentionnaient dans leur discussion, «une augmentation de la dépense énergétique et du *turnover* de l'adénosine triphosphate (ATP) induit une augmentation de la production de radicaux libres, un mécanisme qui est proposé comme impliqué dans le vieillissement accéléré et l'augmentation de la mortalité ». Ceci est supporté par les évidences montrant qu'une restriction calorique, sans malnutrition, réduit la dépense énergétique de repos et prolonge la vie chez plusieurs espèces animales [287]. Toutefois, l'implication du stress oxydant dans le vieillissement et l'augmentation de la mortalité est discutée [288].

#### 1.2.2.1.2. Dépense énergétique de repos

Le métabolisme de base (ou DÉR pour dépense énergétique de repos) correspond à l'énergie dépensée par un individu éveillé au repos en thermoneutralité, c'est-à-dire la consommation d'énergie pour assurer les fonctions vitales de l'organisme. Il existe une grande variabilité interindividuelle du DÉR expliquée, en partie, par l'âge, le sexe et la composition corporelle ; la masse maigre (masse des organes et des muscles) est le principal déterminant de cette dépense énergétique. La DÉR représente environ 70 % des dépenses quotidiennes de l'organisme. Grâce à la mesure des gaz inspirés et expirés en calorimétrie indirecte, il est possible de mesurer cette composante de même que le type de substrat préférentiellement oxydé : glucides versus lipides grâce au quotient respiratoire. Il est également possible d'estimer le DÉR à l'aide de formules mathématiques prenant en compte le poids corporel, la taille, l'âge et le sexe (selon les

équations); la plus connue est probablement celle d'Harris-Benedict [289] qui est dérivée des données de la calorimétrie indirecte.

En valeur absolue, la DÉR d'un sujet obèse est plus élevée que celle d'un individu de poids normal [290, 291]. Par contre, une fois normalisée pour le poids corporel (kg) ou la masse maigre (kg), certaines études [292] mais pas toutes [293] suggèrent que les sujets obèses pourraient avoir une DÉR réduite.

La DÉR est positivement associée aux concentrations circulantes de CRP et d'IL-6 chez des individus ayant une maladie inflammatoire chronique (maladie pulmonaire obstructive chronique, arthrite rhumatoïde, insuffisance rénale) [294-296]. Par contre, la relation est moins claire dans une population exempte de maladies inflammatoires; une association positive a été rapportée chez des hommes Indiens, mais pas chez les femmes [297], alors qu'une absence d'association a été notée chez des individus obèses non diabétiques [298].

D'autre part, la relation entre la DÉR et les autres composantes du RCM a été moins investiguée et les données sont souvent inconsistantes (RI : [298-301], métabolisme des lipides : [302], stress oxydant : [303, 304]). Dans bien des cas, les populations étudiées diffèrent en âge (enfants, adultes) et au niveau de leur état de santé (individus en apparente bonne santé, obèses, patients avec une maladie chronique) ce qui limite la comparaison entre les études.

*En somme, la DÉR représente une partie importante de la DÉT. Une augmentation de la DÉR semble principalement secondaire au développement de l'obésité.*

### 1.2.2.1.3. Thermogenèse alimentaire

La thermogenèse alimentaire (TA) représente le coût énergétique induit par la consommation des aliments et deux composantes ont été identifiées : obligatoire et facultative. La composante obligatoire est représentée par l'absorption, l'entreposage et la transformation des aliments et est en partie sous le contrôle du système nerveux parasympathique. La composante facultative représente les dépenses énergétiques liées au maintien de la température corporelle et est activée par le système nerveux sympathique. Dans les conditions usuelles de la vie, ces deux types de dépense représentent 10 à 15 % des dépenses quotidiennes de l'organisme et varient peu entre les individus [305]. Cette composante peut se mesurer par la calorimétrie indirecte sur plusieurs heures à la suite d'une prise alimentaire.

Un nombre croissant d'évidences indique que la thermogenèse facultative joue un rôle dans le développement de l'obésité et de ses complications (RI, dysglycémie, dyslipidémie). Elle représente l'activité métabolique du tissu adipeux brun, nommé ainsi en raison de la proportion importante de mitochondries comparativement au tissu adipeux blanc. Ce tissu adipeux est bien connu chez l'animal où son rôle dans le maintien de la température corporelle mais également dans la protection contre l'obésité induite par la diète, la RI et le Db2 a été démontré [306]. Cette protection est médiée par l'action de protéines découplantes (UCP pour *uncoupling protein*) situées au niveau des mitochondries et qui permettent la fuite de protons, ce qui occasionne une perte d'énergie sous forme de chaleur plutôt qu'une production d'énergie en phosphorylant l'adénosine diphosphate en ATP [307]. De plus, il a été montré que, chez la souris, l'effet protecteur du tissu adipeux brun contre l'obésité, la RI et le Db2 résulte en la prévention de l'accumulation ectopique excessive de triglycérides [306], un phénomène qui contribue au développement de la RI et de la dyslipidémie (voir sections 2.1.2.2. La résistance à l'insuline et les facteurs de risque cardiometabolique, et 2.1.3. Dyslipidémie ci-haut). Chez l'humain, une réduction de l'activité du tissu adipeux brun a été associée à l'obésité, indépendamment de la température ambiante et de l'âge [308]. Néanmoins,

le rôle des UCP dans le métabolisme énergétique et l'obésité restent à démontrer chez l'humain.

#### 1.2.2.1.4. Dépense énergétique liée à l'activité physique

La DÉAP constitue la dernière composante de la dépense énergétique et est très variable d'un individu à l'autre. C'est le principal facteur qui permet de moduler la DÉT et fait référence à tous les types d'activités physiques (travail, loisirs, transport) sans aucun discernement. Elle peut être mesurée par des accéléromètres ou encore estimée à partir du rythme cardiaque ou de la DÉT, laquelle est mesurée par calorimétrie directe ou la technique de l'eau doublement marquée tel que décrit ci-haut. L'activité physique peut également être estimée à l'aide de questionnaires spécifiques où les participants auto-rapportent leurs habitudes, une méthode utilisée dans bon nombre d'études épidémiologiques, d'observation et d'intervention. Cette méthode permet de connaître la pratique d'activités physique d'un ou plusieurs types à la fois. Bien que cette méthode soit rapide et moins coûteuse, elle est sujette à une mauvaise classification importante du niveau d'activité physique réel des individus [309]. Mahabir *et al.* [310] ont rapporté que le niveau d'activité physique de loisirs estimé par questionnaires peut sous- ou sur-estimer la DÉAP réelle jusqu'à 60% lorsque comparée à la technique d'eau doublement marquée. Cette très grande variation résulte du fait que, de manière générale, les questionnaires d'activités physiques ne sont pas destinés à évaluer la DÉAP mais plutôt les aspects qualitatifs de l'activité physique tels que les types d'activités réalisées, leur durée et leur intensité.

La DÉAP peut se diviser en deux composantes, la thermogénèse liée aux exercices structurés et la thermogénèse liée aux exercices non structurés (NEAT dans la littérature anglaise pour *non-exercise activity thermogenesis*). La première composante correspond à l'effort physique induit lors de la pratique d'une activité physique structurée ayant pour but de développer ou de maintenir la forme physique tandis que la dernière composante fait référence, comme son nom l'indique, à la dépense énergétique induite par la pratique de toutes activités non structurées [311]. La thermogénèse liée

aux exercices non structurés inclus toutes les activités de la vie quotidienne comme se rendre au travail ou à l'école, pelleter, faire du ménage, jouer de la guitare, danser..., et peut donc être classifiée comme celle associée au travail et celle associée aux loisirs.

L'idée populaire qu'un faible niveau d'activité physique contribue au développement de l'obésité est controversée. Certaines études épidémiologiques montrent un déclin de la DÉAP au cours des dernières décennies [312] alors que d'autres rapportent une augmentation légère mais constante de la DÉAP depuis les années 1980 [313]. Les données provenant d'études d'observations et prospectives vont dans la même direction; alors que certaines études montrent une association inverse entre les niveaux de DÉAP et la masse grasse, et même la masse grasse viscérale, [314, 315], d'autres rapportent une absence d'association [316] ou une association positive [315] entre les niveaux initiaux de DÉAP et le changement de composition corporelle (IMC, masse grasse, masse non grasse) chez des adultes âgés (>70 ans).

Malgré sa relation discutée avec l'obésité/adiposité, la DÉAP a des effets bénéfiques sur les autres composantes du RCM et ce, indépendamment de l'obésité/adiposité. En effet, des niveaux élevés de DÉAP sont associées à des concentrations sériques plus faibles de glucose à jeun et 2 heures après une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) [314, 317, 318] et d'insuline [317, 318] ainsi qu'à une meilleure sensibilité à l'insuline globale (mesurée par le clamp hyperinsulinémique-euglycémique) [314] et spécifique au foie [319]. La DÉAP est également un prédicteur négatif du syndrome métabolique [320, 321] et est associée à un taux réduit de mortalité chez les personnes âgées [322, 323]. Par ailleurs, la relation entre DÉAP et les concentrations plasmatiques de HDL-C est inconsistante, une association positive a été rapportée dans certaines études [314] mais pas dans d'autres [317].

Contrairement à la DÉT, la DÉAP a été associée à une réduction du risque de mortalité [322, 323]. Des études d'observations ont également montré une association inverse entre le niveau d'activités physiques et le risque de mortalité [324-326]. À

l'inverse, les comportements sédentaires (ex. regarder la télévision) sont associés à un risque élevé de la mortalité cardiovasculaire [327]. La relation bénéfique entre la DÉAP et la mortalité pourrait être expliquée en partie par l'effet de l'activité physique sur la production de ROS. Tel que mentionné précédemment, l'augmentation de la dépense énergétique et du *turnover* de l'ATP induit une augmentation de la production de radicaux libres. Alors qu'une augmentation soutenue de cette production de ROS, causée par une dépense énergétique élevée (telle qu'une DÉR élevée) ou un métabolisme plus important en réponse à l'excès de macronutriments, peut induire des dommages métaboliques importants, une augmentation transitoire de la production de radicaux libres telle qu'induite par l'activité physique peut être essentielle pour la mise en place de mécanismes de défenses contre les radicaux libres [328, 329]. L'activité physique est en effet associée à une réduction du stress oxydant, un facteur contribuant à l'augmentation du RCM [330].

*En somme, les aspects quantitatifs de la dépense énergétique ont été relativement peu étudiés en relation avec le RCM. La relation entre une dépense énergétique réduite (totale, de repos ou liée à l'activité physique) et l'obésité est controversée. Néanmoins, des niveaux élevés de DÉAP sont associés favorablement au RCM, indépendamment de l'obésité/adiposité. Les mécanismes impliqués dans ces relations restent à être élucidés. À la lumière de toutes ces données, l'augmentation de la dépense énergétique, particulièrement celle liée à l'activité physique étant la seule composante modifiable, constitue un élément important dans la prévention des désordres métaboliques.*

#### *1.2.2.2. Aspects qualitatifs*

Comme mentionné précédemment, les aspects qualitatifs de la dépense énergétique font référence à la fois à la capacité d'effectuer des exercices, appelée capacité cardiorespiratoire, et à la pratique même d'activités physiques, laquelle peut être mesurée ou estimée à l'aide de questionnaires, et exprimée de différentes manières telles que le nombre d'heure d'activités physiques réalisées par jour ou par semaine, et le type d'activités physiques réalisées. En 1996, la déclaration de consensus sur l'activité

physique et la santé cardiovasculaire du *National Institute of Health (NIH)* définissait l'activité physique comme étant « les mouvements du corps produits par les muscles squelettiques qui requièrent une dépense d'énergie et qui promeuvent des bénéfices sur la santé » [331]. La capacité cardiorespiratoire, définie comme étant l'habileté des systèmes circulatoire, respiratoire et musculaire de fournir l'oxygène pendant un exercice soutenu intense, contribue donc à l'activité physique par la production d'énergie. Longtemps considérée comme une mesure objective de la pratique habituelle d'activités physiques, bien que ceci soit de plus en plus discuté, elle est influencée par le degré d'exercice récent et peut être améliorée par un entraînement physique [332]. Elle peut être mesurée directement par l'analyse des gaz expirés ( $VO_2$  max), la méthode la plus précise, ou estimée à partir de tests d'exercices maximaux ou sous-maximaux en utilisant un tapis roulant ou un ergocycle [333]. La capacité respiratoire peut aussi être exprimée en multiples du métabolisme de repos, ou équivalents métaboliques (METs).

Selon l'Organisation mondiale de la santé, l'inactivité physique est le 4<sup>e</sup> facteur associé à un risque élevé de mortalité [43] en raison de ses effets indésirables sur l'état de santé, ce qui en fait un problème de santé publique important. Plus spécifiquement, la capacité cardiorespiratoire est un prédicteur important de la mortalité de toutes causes ainsi que celle liée aux MCV et il est suggéré qu'elle serait un meilleur prédicteur que le niveau d'activité physique, tel que celui relié aux loisirs, généralement rapporté par les individus [334, 335]. De plus, la proportion de décès de toutes causes attribuables à une faible capacité cardiorespiratoire dépasse celle des facteurs de risque traditionnels des MCV (obésité, être fumeur, hypertension, cholestérol élevé, Db2) [336]. La relation entre la capacité cardiorespiratoire et la mortalité serait indépendante de l'obésité puisque chez des individus obèses, comparativement à ceux ayant une faible capacité cardiorespiratoire, ceux qui ont une capacité cardiorespiratoire plus importante ont un risque de mortalité moindre, lequel est comparable à celui d'individus mince et ayant une faible capacité cardiorespiratoire [337, 338]. Par ailleurs, l'amélioration de la capacité cardiorespiratoire est associée à une réduction du risque de mortalité; pour chaque augmentation d'un MET, le risque de mortalité est réduit d'environ 16% [339].

Toutefois, notons qu'une capacité cardiorespiratoire élevée n'élimine pas complètement l'augmentation du risque de mortalité associée à l'obésité.

Les bienfaits de l'activité physique sur la santé sont maintenant bien connus et affectent l'ensemble des facteurs du RCM. En effet, les individus actifs ont tendance à avoir un IMC plus faible, quoique des individus obèses et actifs existent [337, 338] comme mentionné ci-haut. À l'opposé, il a été montré que la sédentarité (ex. nombre d'heures passées devant la télévision) est associée à l'obésité [340], une relation qui a été confirmée dans une large étude finlandaise prospective démontrant qu'un faible taux d'activité physique de loisirs est le facteur de risque majeur d'une prise pondérale [341]. L'activité physique, et plus particulièrement la capacité cardiorespiratoire, est également associée à une moindre accumulation de tissu adipeux viscéral tant chez les hommes [342, 343] que les femmes [17]. L'effet bénéfique de l'activité physique structurée chronique sur l'adiposité abdominale, ou plus particulièrement le tissu adipeux viscéral, est observé même en absence de perte de poids (< 3%) [344].

L'activité physique réduit le risque de Db2 et les données épidémiologiques suggèrent que cet effet bénéfique de l'activité physique, telle que celle reliée aux loisirs, ou d'une capacité cardiorespiratoire élevée est également vrai chez des individus obèses [345-347]. L'augmentation de la pratique d'activités physiques structurées, même en absence de perte de poids, peut réduire le risque de développer un Db2 de 44% chez des individus intolérants au glucose, comme il a été démontré par le *Diabetes Prevention Program* [18]. Cette réduction du risque de Db2 est expliquée notamment par l'amélioration de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline induite par la pratique régulière d'activités physiques [348]. En regard de la RI, l'effet de l'activité physique pourrait être indépendant de la capacité cardiorespiratoire comme l'a démontré Venables & Jeukendrup dans leur étude d'intervention chez des sujets obèses où, suite à un entraînement physique d'intensité légère de 4 semaines, la sensibilité à l'insuline s'est améliorée malgré une absence de changement de la capacité cardiorespiratoire et de perte de poids [349].

Les individus plus actifs et/ou ayant une capacité cardiorespiratoire élevée ont un meilleur profil lipidique [19, 350, 351] et l'engagement d'un programme d'exercice induit des changements favorables du bilan lipidique (concentrations réduites de triglycérides et augmentées d'HDL-C, augmentation de la taille des particules LDL et VLDL) [352]. Pour la capacité cardiorespiratoire, cette relation est en partie médiée par l'adiposité viscérale [353, 354]. Toutefois, l'effet bénéfique d'être actif et/ou d'avoir une capacité cardiorespiratoire élevée sur le profil lipidique est moins bien établi chez la femme [355].

L'activité physique régulière de loisirs (incluant les activités telles que le sport, les activités structurées, aérobiques / en résistance) est également associée à des concentrations circulantes plus faibles de marqueurs inflammatoires et de la fonction endothéliale (ex. CRP, ICAM-1) et à une pression artérielle plus basse [20, 356, 357].

Bien que moins nombreuses que celles sur les activités physiques de loisirs, les études portant sur la relation entre l'activité physique liée au travail et le RCM n'est pas clair. Alors que certaines études rapportent une absence d'association entre ce type d'activité physique [358], d'autres ont observé une association positive (donc moins bénéfique) avec l'IMC et le tour de taille [359]. De plus, le niveau d'activités physiques liées au travail a été associé à la résistance à l'insuline (HOMA-IR) [359] mais à des concentrations plus élevées de HDL-C [358]. La relation entre le risque d'obésité et les activités physiques liées au travail semble être dépendante du sexe. Selon une étude nationale australienne, les hommes professionnels ou travaillant dans le transport et la production intermédiaire ont un risque plus élevé de présenter une IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> alors que ce risque est réduit pour les femmes professionnelles ou occupant des postes de gestion ou liés aux services [360]. En regard des activités liées au transport, un niveau plus faible (transport moins actif tel que se déplacer en voiture) est associé à un IMC plus élevé [361]. Enfin, le niveau d'activités physiques domestiques (ex. faire le ménage) ne semble pas être associée au risque de MCV, du syndrome métabolique ou à leurs facteurs de risques [362-364].

Il est important de mentionner que pour l'ensemble des études portant sur l'impact de l'activité physique/capacité cardiorespiratoire sur la santé métabolique, les individus considérés comme inactifs/sédentaires constituent le groupe de référence pour montrer les bienfaits d'être actifs ou d'un programme d'activités physiques. De ce fait, peu de données sont disponibles quant à la relation entre la dépense énergétique et le RCM dans ce sous-groupe de la population.

*En somme, la dépense énergétique joue un rôle important dans le RCM. Alors que les composantes quantitatives de la dépense énergétique, à l'exception de la DÉAP, ont été moins investiguées, l'aspect qualitatif l'a été plus largement. Globalement, un niveau élevé d'activité physique est associé à un RCM plus faible en raison d'effets bénéfiques sur l'obésité, le métabolisme du glucose, la RI, le métabolisme des lipides, l'inflammation et la pression artérielle. De plus, ces effets bénéfiques peuvent être obtenus en absence de perte de poids. Toutefois, puisque dans la majorité des études, les individus considérés sédentaires ou inactifs constituent le groupe contrôle pour démontrer les bienfaits de l'activité physique, peu de données sont disponibles sur la relation entre la dépense énergétique et le RCM dans ce sous-groupe de la population.*

### 1.2.3. Interaction entre l'alimentation et l'activité physique

Bien que les sections précédentes aient discuté des effets indépendants de l'alimentation et de l'activité physique sur le RCM, des évidences existent indiquant que leur combinaison pourrait résulter en des effets plus marqués sur le RCM. Ceci est bien illustré par l'étude de Zhu *et al.* où les auteurs ont investigué l'effet indépendant des comportements du style de vie (alimentation [apports en glucides et en lipides], activité physique [de loisirs], tabagisme) et le risque d'avoir un diagnostic de syndrome métabolique dans la cohorte américaine NHANES III [11]. Sans égard à l'IMC, être actif physiquement réduit le risque d'avoir le syndrome métabolique de 31% chez les hommes et de 17% chez les femmes. De manière similaire, Després *et al.* ont récemment montré que le risque de maladies coronariennes associées au syndrome métabolique était plus faible chez les individus actifs (pratique élevée d'activités physiques de loisirs)

[365]. De plus, ceux qui présentaient un syndrome métabolique mais étaient physiquement actifs avaient un risque de maladies coronariennes similaires à ceux qui n'avaient pas le syndrome métabolique mais qui étaient inactifs [365], ce qui souligne l'importance de l'activité physique dans le RCM et ses complications. D'autre part, dans l'étude de Zhu *et al.*, l'ajout de la composante alimentaire, soit une consommation faible à modérée de glucides pour les hommes et une consommation légère à modérée pour les femmes, le risque est réduit davantage (38% chez les hommes et 21% chez les femmes). À noter que l'apport en lipides n'avait pas un effet significatif sur la présence d'un syndrome métabolique lorsque des variables confondantes étaient prises en considération (âge, ethnicité, éducation, revenu annuel, statut ménopausique [femmes uniquement]). Enfin, être actif physiquement, avoir une consommation faible à modérée de glucides (pour les hommes) ou d'alcool légère à modérée et avoir un IMC < 30 ou < 25 kg/m<sup>2</sup> résulte en un risque encore plus faible d'avoir le syndrome métabolique (73% et 87% chez les hommes et 86% et 96% chez les femmes, pour un IMC de < 30 et < 25 kg/m<sup>2</sup> respectivement) [11]. Ces dernières données soulignent le rôle important de l'obésité dans le syndrome métabolique.

Plusieurs études d'intervention ont également déterminé la combinaison d'une alimentation saine et de l'activité physique sur le RCM. Les études du *Diabetes Prevention Program* et du *Finnish Diabetes Prevention Study* en sont un bon exemple où le risque de développer un Db2 est réduit de 58% suite à une modification de l'alimentation, une augmentation de l'activité physique (de loisirs) et une perte de poids [366, 367]. D'autres études d'intervention combinant l'adoption d'une alimentation saine, un style de vie actif et une perte de poids ont montré une amélioration du profil lipidique, de la tolérance au glucose et de l'inflammation sub-clinique [368-373]. Ces données sont davantage supportées par les résultats d'une revue systématique des essais cliniques randomisés visant à déterminer l'effet d'une modification de l'alimentation, de l'activité physique de loisirs ou des deux à la fois sur le RCM chez des individus obèses qui montrent que les changements métaboliques induits par une modification de l'alimentation combinée à l'augmentation de l'activité physique (poids corporel, cholestérol total, LDL-C, triglycérides, glycémie à jeun, pression artérielle systolique)

sont plus importants que lorsque ces deux composantes sont modifiées isolément [374]. Bien que la perte de poids joue un rôle important dans l'amélioration du RCM, un nombre croissant de travaux indiquent que la modification du style de vie peut réduire l'obésité et ses complications en présence d'une faible perte de poids ou même en absence de perte de poids [344].

Récemment, une méta-analyse incluant 16 essais cliniques randomisés sur l'effet de l'adoption d'une diète Méditerranéenne sur la perte de poids a montré que la perte de poids est plus importante lorsque les sujets combinent une restriction calorique et une augmentation de la pratique d'activités physiques de loisirs comparativement à une restriction calorique seule [375]. Toutefois, un nombre important d'études et de méta-analyses indiquent que l'ajout de l'exercice à une restriction calorique n'apporte qu'un effet marginal sur la perte de poids comparativement à l'exercice et la restriction calorique pris séparément [376-378]. Il est important de mentionner que l'utilité de l'activité physique pour le maintien du poids, suivant une réduction du poids ou non, a été rapportée dans nombre d'études [379].

Bien que l'ensemble des travaux suggèrent que la combinaison d'une alimentation saine et la pratique d'activité physique ait un effet plus important sur les facteurs de RCM que l'effet de chacun de ces facteurs pris séparément, à ma connaissance, aucune étude (transversale ou d'intervention) n'a déterminé dans quelle mesure la combinaison de ces deux paramètres du style de vie a un effet plus marqué sur le RCM que celui de l'alimentation et de l'activité physique pris séparément. Lorsque combinés, est-ce que l'alimentation et l'activité physique ont des effets additifs ou synergiques sur le RCM? De plus, aucune étude à ce jour n'a rapporté les effets d'un changement de la qualité globale de l'alimentation sur les facteurs du RCM au cours d'une perte de poids, de même que sa combinaison avec un changement du niveau d'activité physique sur le RCM.

### 1.3. Le risque cardiométabolique chez la femme

Les femmes constituent un sous-groupe de la population qui est particulièrement touché par les MCV. Malgré le fait que les femmes pré-ménopausées sont relativement protégées des MCV comparativement aux hommes du même âge, ces maladies sont jusqu'à deux fois plus mortelles chez les femmes [380]. De plus, les vaisseaux coronariens sont plus petits chez les femmes comparativement aux hommes, ce qui prédispose davantage les femmes au développement de MCV telles que l'athérosclérose [381]. En plus de l'augmentation du risque de MCV attribuable à l'hypertension, ce risque est plus élevé chez les femmes que les hommes. Les femmes hypertendues ont un risque quatre fois plus élevé de MCV que celles sans hypertension; alors que le risque est trois fois plus élevé chez les hommes hypertendus comparativement à ceux normotendus [382]. De manière similaire, les femmes diabétiques de type 2 ont trois fois plus de risque de développer des MCV fatales alors que ce risque est de deux fois plus élevé chez les hommes diabétiques de type 2, comparativement aux individus non diabétiques du même sexe [383].

Bien que les femmes partagent les mêmes facteurs de risque de MCV que les hommes (hypertension, Db2, dyslipidémie, obésité, tabagisme), elles en possèdent d'autres qui sont spécifiques aux femmes (syndrome des ovaires poly kystiques, pré-éclampsie, ménopause, hormonothérapie de remplacement, contraceptifs oraux). La ménopause est particulièrement intéressante car elle constitue une étape obligatoire dans la vie d'une femme. Bien que les mécanismes impliqués ne soient pas complètement élucidés, les bouleversements métaboliques qui s'opèrent au cours de la ménopause, notamment la perte de la fonction ovarienne et la déficience subséquente en estrogènes endogènes [21], contribuent à l'augmentation du RCM après la ménopause. De plus, il a été montré que la prévalence de l'obésité abdominale, la dyslipidémie et l'hypertension augmente après la ménopause [384-386]. La ménopause a également été associée au développement du syndrome métabolique [387].

La ménopause est associée à une redistribution de la masse grasse corporelle en faveur d'une accumulation plus importante au niveau de l'abdomen. Il a été suggéré que ce changement de la distribution de la masse grasse pourrait être modulé par l'activité de la LPL. Comparativement à des femmes en péri-ménopause, les femmes post-ménopausées auraient une activité plus élevée de la LPL au niveau du tissu adipeux abdominal et au niveau fessier, ce qui prédisposerait l'accumulation de masse grasse dans ces régions [22]. De plus, Ferrara *et al.* rapportaient une réduction de la réponse de la lipolyse, contribuant davantage à l'accumulation de masse grasse dans ces régions.

D'autre part, dans une étude du *Diabetes Prevention Program*, le tissu adipeux viscéral ne prédisait pas la survenue du Db2 chez la femme alors qu'il en était un prédicteur chez l'homme [62]. Comme le mentionnaient les auteurs, cette différence entre les femmes et les hommes peut être expliquée par une quantité plus importante de tissu adipeux sous-cutané, et donc moindre de tissu adipeux viscéral, chez les femmes que les hommes et par la possibilité que la plus grande proportion de tissu adipeux sous-cutané puisse avoir « dilué » l'effet délétère du tissu adipeux viscéral.

Avant la ménopause, les femmes présentent un profil lipidique favorable contre les MCV, lequel serait même plus favorable que celui des hommes du même âge. Toutefois, après la ménopause ( $\geq 50$  ans), les femmes tendent à avoir des concentrations élevées de triglycérides et faibles de LDL-C et HDL-C. Ces concentrations élevées de triglycérides et faibles de HDL-C sont des facteurs de risque de MCV qui seraient plus importants chez la femme que chez l'homme [24].

Comparativement à celles en pré-ménopauses, les femmes post-ménopausées présentent des concentrations circulantes plus élevées de glucose et d'insuline à jeun [25, 26, 388]. Toutefois le rôle de la ménopause *per se* dans le développement de la RI est discuté. L'altération du métabolisme du glucose pourrait être induite par l'accumulation de masse grasse abdominale. Par ailleurs, les femmes post-ménopausées semblent avoir une DÉR plus faible ainsi qu'un niveau d'activité physique réduit [292], ce qui contribuerait au gain de poids caractéristique de la ménopause. Cette réduction de

la DÉR pourrait être secondaire à la réduction de la masse maigre observée après la ménopause [23].

Les changements hormonaux qui s'opèrent lors de la ménopause, particulièrement la réduction des niveaux d'estrogènes, pourraient expliquer la relation entre la ménopause et l'augmentation du RCM soit par leurs effets directs sur le risque de développer des MCV ou par leurs effets indirects sur la composition corporelle (redistribution du tissu adipeux sous-cutané au niveau viscéral) [387].

À la lumière de l'ensemble des évidences présentées, et considérant le vieillissement de la population, la proportion de femmes post-ménopausées augmentera au cours des prochaines années, ce qui posera un problème important de santé publique en regard de la gestion (évaluation, traitement) du RCM. Ainsi, une meilleure compréhension de la contribution indépendante de l'alimentation, notamment des aspects qualitatifs, et de la dépense énergétique, notamment les aspects quantitatifs, au RCM et à ses composantes permettra de définir de meilleures stratégies d'intervention visant à réduire ou retarder le développement des complications associées au RCM. Il est important de déterminer s'il existe une interaction synergique entre l'alimentation et l'activité physique sur le RCM afin de mieux orienter les interventions et les messages de santé destinés à la population. De plus, peu de données sont disponibles en regard des signes précurseurs du développement du RCM. L'élément déclencheur des altérations métaboliques caractéristiques du RCM, à savoir si c'est la RI, l'inflammation ou le stress oxydant qui initie le tout, reste encore inconnu à ce jour, bien que certaines hypothèses aient été émises. La détermination de l'impact de l'alimentation et de la dépense énergétique sur ces trois paramètres clés du RCM permettra d'identifier des pistes d'interventions (alimentation, activité physique, pharmacologie), afin ultimement de moduler le RCM.

## CHAPITRE 2 : HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS

### 2.1.Hypothèses

Les hypothèses de la présente thèse sont, chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèse et sédentaires,

- 1- la dépense énergétique liée à l'activité physique (incluant tous les types d'activités physiques) est négativement associé aux marqueurs inflammatoires sub-cliniques systémiques (IL-6, sTNFR1, CRP, globules blancs, haptoglobine, orosomucoïde) de manière indépendante des autres composantes de la dépense énergétique;
- 2- en plus de leurs effets bénéfiques indépendants, une bonne qualité alimentaire et une dépense énergétique liée à l'activité physique (incluant tous les types d'activités physiques) interagissent de manière synergiques résultant en un meilleur profil métabolique;
- 3- une altération du métabolisme du glutathion, un système antioxydant important, est associée à un profil métabolique altéré augmentant le risque cardiométabolique;
- 4- suite à une perte de poids induite par une diète hypocalorique, une amélioration de la qualité alimentaire et une amélioration de la dépense énergétique liée à l'activité physique (incluant tous les types d'activités physiques) sont indépendamment associées à une amélioration du profil métabolique.

## **2.2.Objectifs**

Afin de répondre à ces hypothèses, les objectifs de la présente thèse sont de déterminer, chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses et sédentaires,

- 1- les contributions relatives des composantes qualitatives et quantitatives de la balance énergétique sur le risque cardiométabolique (étude transversale);
- 2- la relation entre le statut antioxydant et le profil métabolique (étude transversale);
- 3- les contributions relatives de la qualité alimentaire et de l'activité physique (incluant tous les types d'activités physiques) sur le profil métabolique au cours d'une perte de poids de 6 mois induite par diète hypocalorique (étude prospective).

## CHAPITRE 3 : MÉTHODOLOGIE

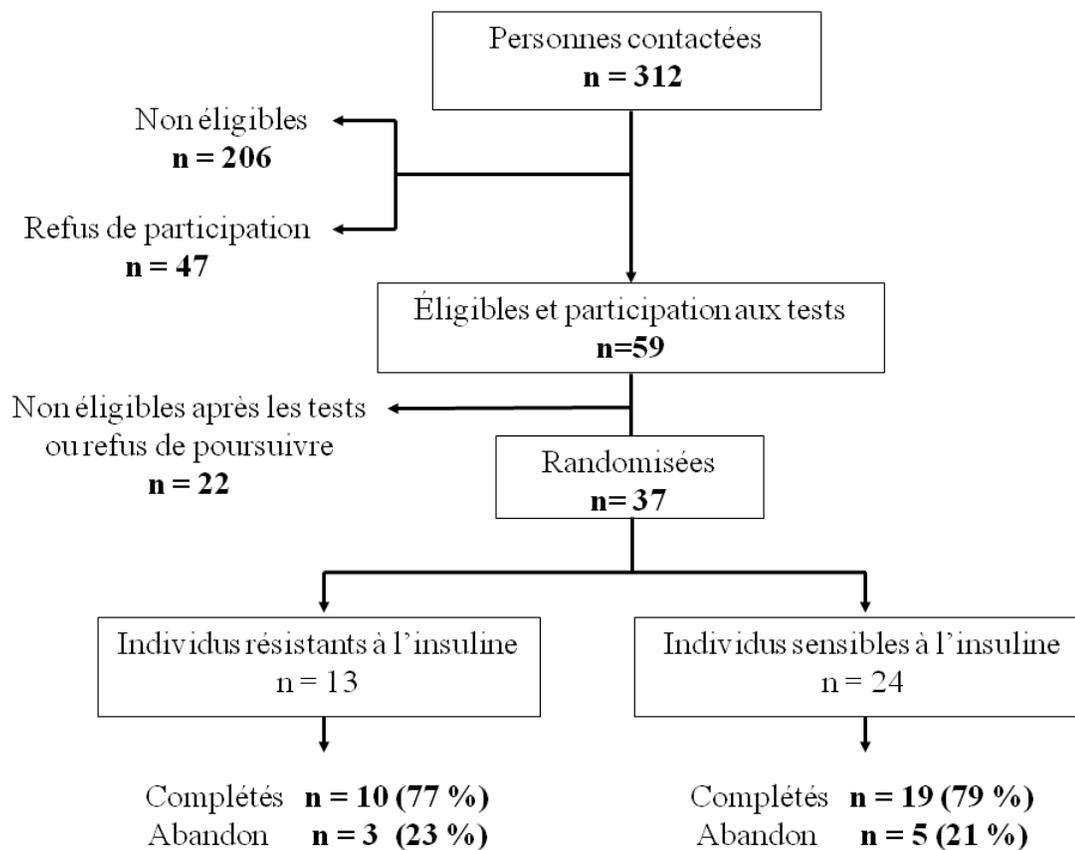
### 3.1.Sujets

L'échantillon étudié provient de deux études d'intervention nutritionnelle hypocalorique réalisées chez des femmes post-ménopausées, non diabétiques, en surpoids ou obèses au sein du laboratoire du Dr Rémi Rabasa-Lhoret entre 2003 et 2007 : l'étude *Montreal-Ottawa New Emerging Team* (MONET) (2003 à 2006; n=137) et l'étude sur les facteurs protégeant des Complications Associées à l'Obésité (CAO) (2005 à 2007; n=59). L'étude MONET avait pour objectif de déterminer l'impact d'un entraînement en résistance lors d'une perte de poids induite par une diète hypocalorique (6 mois) et lors du maintien de la perte de poids (12 mois) sur la composition corporelle, la dépense énergétique et les profils métabolique, hormonal, inflammatoire et psychosocial. L'étude CAO avait pour objectif de déterminer et comparer l'impact d'une perte de poids sur la composition corporelle et les profils métabolique, génétique et psychosocial chez des femmes résistantes et celles sensibles à l'insuline.

Les participantes des deux études ont été recrutées par des annonces publiées dans les journaux de la région de Montréal. Tous les sujets ont lu et signé un formulaire de consentement avant le début des études, lesquelles avaient été préalablement approuvées par le Comité d'éthique de la Recherche de l'Université de Montréal (ci-joint en annexes 2 [étude MONET] et 3 [étude CAO]). Les sujets volontaires ont été inclus dans les deux études s'ils répondaient aux critères d'inclusion suivants : 1) âgées entre 50 et 75 ans (pour l'étude CAO : 55 à 70 ans), 2) IMC  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup> (pour l'étude CAO :  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), 3) confirmation biologique de leur statut post-ménopausique (concentration plasmatique de l'hormone de stimulation folliculaire (FSH)  $\geq 30$  U/litre), 4) sédentaires (< 2 heures par semaine d'activités physiques structurées [pour l'étude CAO : < 3 heures par semaine]), 5) consommation d'alcool faible à modérée (< 2 consommations par jour), et 6) sans hormonothérapie de remplacement depuis au moins 12 mois.

Les critères d'exclusion des deux études étaient : 1) diabète (glucose à jeun > 7,1 mmol/L ou glucose plasmatique à 2 heures > 11,1 mmol/L après une HGPO de 75 g de glucose), 2) maladie thyroïdienne non traitée (vérification de la TSH plasmatique), 3) maladie chronique rénale ou hépatique, 4) asthme nécessitant une médication avec des stéroïdes, 5) maladie cardiovasculaire ou vasculaire périphérique, 6) prise dans les derniers 3 mois de narcoleptiques, stéroïdes ou d'agents antihypertenseurs ou hypolipémiants, 7) dyslipidémie ou hypertension nécessitant une intervention médicale rapide (cholestérol total > 8 mmol/L, triglycérides > 4.5 mmol/L, pression artérielle systolique > 160 mm Hg ou diastolique > 100 mm Hg), 8) histoire d'alcoolisme ou d'abus de drogues, 9) valeurs sanguines anormales (hématocrite < 32 ou > 48 %, créatinine > 130  $\mu$ mol/L), 10) prise de médicaments stimulant la perte de poids, de drogues psychoactives ou d'agonistes adrénergiques par n'importe quelle voie d'administration, 11) variation du poids corporel  $\pm$  2 kg au cours des 3 derniers mois (pour l'étude CAO : moins de  $\pm$  3 kg), 12) histoire connue de maladies inflammatoires de même que de cancer.

De plus, pour l'étude CAO, seulement les femmes présentant une résistance ou une sensibilité à l'insuline, selon des seuils prédéterminés, entreprenaient le programme de perte de poids (figure 8). Pour ce faire, les 59 femmes rencontrant les facteurs d'inclusion et d'exclusion de l'étude ont été soumises à un clamp hyperinsulinémique-euglycémique pour mesurer leur sensibilité à l'insuline, laquelle est déterminée en mesurant le taux de disparition du glucose lors de ce test (ce test est décrit plus loin). Les femmes ayant un taux de disparition du glucose  $\leq 9,5$  ou  $\geq 12,0$  mg glucose/min/kg masse non grasse se sont qualifiées pour l'intervention de perte de poids et composaient les groupes « résistant à l'insuline » (n=13) et « sensible à l'insuline » (n=24), respectivement. Pour les femmes ayant une sensibilité moyenne à l'insuline (n=13), leur participation à l'étude CAO était terminée et elles étaient référées à la clinique de nutrition du département de nutrition de l'Université de Montréal pour une prise en charge volontaire de leur obésité. Neuf participantes ont abandonné l'étude avant le clamp hyperinsulinémique-euglycémique.



**Figure 8.** Design de l'étude CAO.

Pour les manuscrits #1 et #2 présentés dans cette thèse, les sujets provenant des deux études ont été combinés lors des analyses statistiques. Pour le manuscrit #3, seulement les sujets de l'étude MONET ont été inclus et pour le manuscrit #4, seulement ceux de l'étude CAO ont été inclus.

### 3.2.Intervention

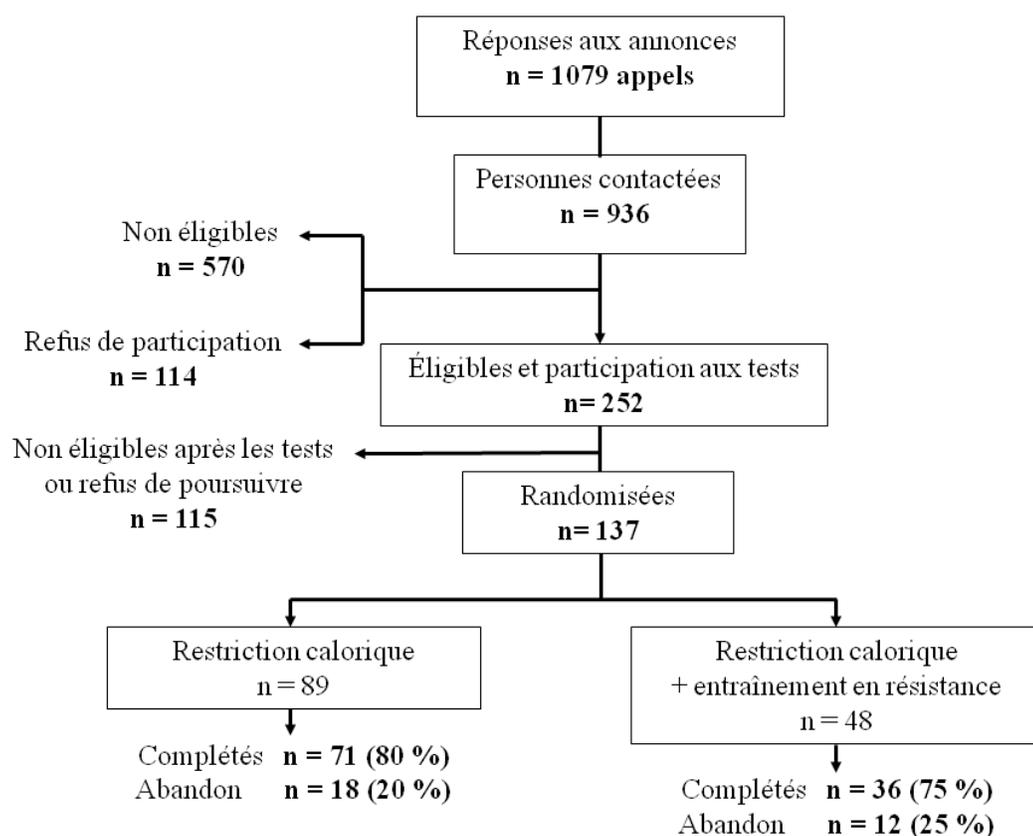
#### Étude MONET

L'intervention avait pour but d'induire une perte de poids de 10% le poids initial sur une période de 6 mois par le biais d'une restriction calorique combinée ou non à un

entraînement en résistance. La répartition des sujets dans chacun des groupes s'est fait au hasard à raison de 2 sujets dans le bras restriction calorique seule (n=89) pour un sujet dans le bras restriction calorique couplée au programme d'entraînement (n=48) (figure 9). L'intervention, tant la restriction calorique que l'entraînement en résistance (pour un des deux groupes), était débutée après la période de stabilisation du poids et une fois tous les tests de phénotypage complétés. Au cours de la période de perte de poids, les dames ont été pesées toutes les deux semaines et la restriction calorique ajustée afin de viser une perte de poids de 10% en 6 mois. Il est à noter que l'étude MONET comportait également une 2<sup>e</sup> phase, soit celle d'évaluer l'ajout d'un entraînement en résistance à des conseils nutritionnels lors d'une phase de maintien de poids de 12 mois suivant une perte de poids de 6 mois induite par restriction calorique seule (pas illustré dans la figure 9). Ainsi, de manière à avoir suffisamment de sujets pour réaliser la 2<sup>e</sup> phase de l'étude, un ratio de 2 pour 1 pour la randomisation des sujets (restriction calorique seule vs restriction calorique couplée à un entraînement en résistance) était nécessaire. Les données de cette 2<sup>e</sup> phase de l'étude MONET dépasse le cadre des analyses présentées dans cette thèse.

La restriction calorique était déterminée de la manière suivante : 500-800 kilocalories ont été retranché du métabolisme de repos (déterminé par calorimétrie indirecte) multiplié par un facteur d'activité physique 1,4, ce qui correspond à un état sédentaire [389]. La restriction ne pouvait être inférieure à 1200 kcal/jour. La composition en macronutriments de l'alimentation était standardisée à 55%, 30% et 15% de l'apport énergétique provenant des glucides, lipides et protéines, respectivement, selon l'*American Heart Association* [390]. Chaque participante rencontrait la nutritionniste responsable de l'étude pour recevoir leur prescription alimentaire. Les participantes bénéficiaient de rencontres individuelles avec la nutritionniste et à tous les deux mois, elles étaient invitées à des rencontres de groupe d'une durée de 1-1,5 heures animées par la nutritionniste. Les thèmes discutés lors de ces rencontres étaient : les groupes alimentaires et leur contenu en calories/nutriments ainsi que la taille des portions, l'auto-évaluation des apports alimentaires et de la distribution des macronutriments, les lipides alimentaires et la taille des portions, les fibres et les moyens

d'atteindre un apport de 25 g/jour, les protéines et leur effet sur la satiété, les desserts (la nécessité et les valeurs caloriques et nutritionnelles), l'identification des signaux physiologiques et émotionnels de la faim, les étapes de préparation à perdre du poids, les régimes à la mode et les produits pour la perte de poids. Il était demandé à toutes les participantes de ne pas modifier leurs pratiques d'activités physiques habituelles pendant la perte de poids.



**Figure 9.** Design de l'étude MONET.

Lors de l'entraînement en résistance, chaque session d'entraînement incluait un échauffement par une marche de faible intensité sur un tapis roulant d'une durée de 10 minutes. Le programme d'entraînement en résistance consistait en quatre phases

progressives et était réalisé 3 jours non consécutifs par semaine. La phase 1, qui servait d'introduction à l'entraînement, était d'une durée de 3 semaines et incluait 15 répétitions/série, 2-3 séries par exercice et 90-120 secondes de repos entre chaque série. La phase 2 avait une durée de 5 semaines et comportait 12 répétitions/série, 2-3 séries par exercice et 90 secondes de repos entre chaque série. La phase 3 était la plus longue avec une durée de 9 semaines, et chaque participante devait accomplir 8-10 répétitions/série, 2-4 séries par exercice et 120-180 secondes de repos entre chaque série. La phase 4, la dernière, était d'une durée de 8 semaines et consistait en 10-12 répétitions/série, 3-4 séries par exercice et 60-90 secondes de repos entre chaque série. Le programme d'entraînement en résistance était composé de 6 exercices : *leg press*, *chest press*, *lateral pull downs*, *shoulder press*, *arm curls* et l'extension des triceps. Ces exercices assurent un programme d'entraînement en résistance du corps entier pour tous les principaux groupes musculaires du corps. Chaque session d'exercice était supervisée individuellement par des entraîneurs personnels qualifiés.

### ÉTUDE CAO

L'intervention avait pour but d'induire une perte de poids de 10% le poids initial sur une période de 6 mois par le biais d'une restriction calorique. Tout comme pour l'étude MONET, 500-800 kilocalories ont été retranché du métabolisme de repos (déterminé par calorimétrie indirecte) multiplié par un facteur d'activité physique 1,4, ce qui correspond à un état sédentaire [389]. La restriction ne pouvait être inférieure à 1200 kcal/jour. La composition en macronutriments de l'alimentation était standardisée à 55%, 30% et 15% de l'apport énergétique provenant des glucides, lipides et protéines, respectivement. Chaque participante rencontrait la nutritionniste responsable de l'étude pour recevoir leur prescription alimentaire. Les participantes bénéficiaient de rencontres individuelles avec la nutritionniste. Il était demandé à toutes les participantes de ne pas modifier leurs pratiques d'activités physiques habituelles pendant la perte de poids. Au cours de la période de perte de poids, les dames ont été pesées toutes les deux semaines et la restriction calorique ajustée afin de viser une perte de poids de 10% en 6 mois.

### **3.3.Stabilisation du poids**

Avant et après le protocole de perte de poids, les sujets ont été soumis à une période de stabilisation du poids (moins de  $\pm 2$  kg) d'une durée d'un mois avant la réalisation des tests décrits ci-après, où le poids corporel était mesuré chaque semaine au laboratoire. Cette approche avait pour but de stabiliser les diverses variables d'intérêt qui auraient pu être affectées par des fluctuations importantes du poids corporel (plus de  $\pm 2$  kg) avant et pendant la période des tests. Cette vérification de la stabilité pondérale a été réalisée pour les deux études, MONET et CAO.

### **3.4.Anthropométrie**

Le poids des sujets a été déterminé au 20 g près par une balance électronique (Balance Industrielles Montréal Inc., Montréal, Canada) et la taille a été mesurée au 0,1 cm près par un stadiomètre mural (Perspective Enterprises, Portage, MI). Les deux mesures ont été effectuées suivant les techniques de référence pendant que les sujets portaient des vêtements légers. L'IMC a été calculé comme suit : poids corporel (kg)/taille<sup>2</sup> (m).

### **3.5.Composition corporelle**

Les distributions totale et régionale de la masse maigre (kg) et de la masse grasse (kg), et le pourcentage de masse grasse corporelle ont été déterminés par absorptiométrie biphotonique (DXA pour *dual-energy X-rays*) à l'aide du système LUNAR Prodigy (logiciel version 6.10.019; General Electric Lunar Corporation, Madison, WI). L'équipement du DXA était calibré sur une base journalière en utilisant une calibration de référence. La précision du scan a été vérifiée par des analyses de test-retest réalisées chez 20 sujets. Le coefficient de corrélation intraclasse et le coefficient de variation pour la masse grasse sont de 0,999 et de 1,1%, respectivement. Les mesures ont été menées au cours de la matinée pendant que les sujets étaient à jeun. Les circonférences de la taille et des hanches ont été mesurées par un ruban à mesurer flexible au 0,5 cm près.

La mesure du tissu adipeux viscéral et sous-cutané a été réalisée par un tomодensitogramme (GE High Speed Advantage CT Scanner; General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI). Les sujets étaient examinés dans la position couchée avec les bras allongés au-dessus de leur tête. La position du scan était établie à la vertèbre L4-L5 en utilisant une image repère du corps. L'aire occupée par le tissu adipeux viscéral été quantifiée suite à la délimitation de la cavité intra-abdominale qui est située à l'intérieur des muscles obliques et abdominaux et des vertèbres postérieures. L'aire occupée par le tissu adipeux sous-cutané a été quantifiée suite à la mise en évidence de la masse grasse qui est située entre la peau et les muscles abdominaux. Le tissu adipeux sous-cutané a ensuite été séparé en deux sections, la partie superficielle et la partie profonde, par la délimitation du fascia à l'intérieur même du tissu adipeux sous-cutané. La quantité de tissu adipeux sous-cutané superficiel et profond a été déterminée par la quantification de chacun des côtés du fascia. Les sections de masse grasse ont été mises en évidence et analysées par ordinateur en utilisant une étendue d'atténuation de -190 à -30 unités Hounsfield (HU). Les aires du muscle squelettique, de la masse grasse et de l'atténuation musculaire ont été calculées par la délimitation des régions d'intérêt et puis l'analyse par ordinateur des surfaces en utilisant une étendue d'atténuation de -190 à -30 HU pour la masse grasse et de 0 à 100 HU pour le muscle squelettique [391].

### **3.6.Pression artérielle**

La pression artérielle au repos a été mesurée en position assise au bras gauche à l'aide d'une machine automatique Dinamap (Welch Allyn Inc., San Diego, CA). Suite à une période de repos de 10 minutes, cinq lectures ont été effectués à une minute d'intervalle et la moyenne des quatre dernières lectures a été utilisée pour déterminer la pression artérielle des participantes.

### **3.7.Apports alimentaires**

Les apports alimentaires (aliments et nutriments) ont été déterminés à l'aide d'un journal alimentaire de trois jours à l'inclusion et après l'intervention, pendant la période

de stabilisation du poids. Les directives à suivre pour noter tous les aliments et boissons consommés étaient inscrites sur le journal alimentaire et enseignées par une nutritionniste. Tous les aliments et boissons consommés devaient être pesés et/ou mesurés lorsque possible et être décrits avec le maximum de précision. Le journal alimentaire devait inclure deux journées de semaines et une journée de fin de semaine, sans obligatoirement être consécutives et au choix de la participante, qui étaient représentatives de leur alimentation habituelle. De plus, il leur était demandé de ne modifier d'aucune manière leur alimentation habituelle pendant cette période. À leur retour, chaque journal alimentaire a été révisé par une nutritionniste avec la participante de manière à compléter l'information manquante.

L'analyse des journaux alimentaires a été réalisée à l'aide du logiciel *Food Processor SQL* (*Food Processor SQL Edition*, version 9.6.2, 2004, ESHA Research, Salem, OR, États-Unis) en utilisant le Fichier canadien sur les éléments nutritifs (FCÉN), version 2001, et la base de données du ministère de l'Agriculture des États-Unis (USDA pour *United States Department of Agriculture*) lorsque les aliments étaient non disponibles dans le Fichier canadien sur les éléments nutritifs. L'entrée des données alimentaires du journal alimentaire dans le logiciel *Food Processor SQL* a été réalisée par une nutritionniste et vérifiée de manière indépendante par une seconde nutritionniste. Lorsqu'il y avait des différences quant à l'aliment choisi dans le logiciel entre les deux nutritionnistes, elles étaient discutées par ces deux nutritionnistes et une modification de l'entrée de données du journal alimentaire était effectuée selon leur décision commune.

L'apport moyen des trois jours pour l'énergie provenant des lipides totaux et saturés, le cholestérol et le sodium a été calculé pour chaque participante et utilisé dans les analyses subséquentes.

#### Mise au point de l'entrée des données alimentaires des journaux alimentaires

En collaboration avec Dr Irene Strychar, le coefficient de variation pour l'entrée des données alimentaires des journaux alimentaires par différents nutritionnistes a été évalué. Pour ce faire, trois nutritionnistes formés (**moi-même**, Jonathan Fontaine, un

étudiant à la maîtrise, et Alain Ishac, assistant de recherche du Dr Irene Strychar) ont entré les données alimentaires d'un même journal alimentaire de trois jours dans le logiciel *Food Processor SQL* (*Food Processor SQL Edition*, version 9.6.2, 2004, ESHA Research, Salem, OR, États-Unis) en utilisant le FCÉN, version 2001, et la base de données du USDA lorsque les aliments étaient non disponibles dans le FCÉN. Les résultats de cette analyse ont montré qu'il y avait jusqu'à plus de 50% de variation entre les analyses réalisées par les trois nutritionnistes en regard de l'énergie totale et des macronutriments (protéines, glucides et lipides). Comme mentionné précédemment, il a donc été conclu qu'afin de réduire au minimum les variations dans l'interprétation et le choix des aliments du journal alimentaire dans le logiciel *Food Processor SQL* entre les nutritionnistes, l'entrée des données alimentaires des journaux alimentaires se ferait par un nutritionniste formé, puis vérifiée de manière indépendante par un second nutritionniste formé. Les différences entre l'entrée des données alimentaires et la vérification seront discutées entre les deux nutritionnistes concernés et la modification de l'entrée des données alimentaires se ferait en fonction de leur décision mutuelle.

Le choix des bases de données résulte d'une analyse réalisée à l'interne au laboratoire par deux étudiantes au doctorat, Anne-Sophie Brazeau et **moi-même**, visant à comparer l'équivalence des données des nutriments pour un même aliment entre les deux bases de données disponibles dans le logiciel (i.e. FCÉN et USDA). Cinq journées provenant de trois journaux alimentaires ont été analysées. Aux aliments proposés par les journaux alimentaires, quelques aliments sélectionnés ont été ajoutés pour permettre une plus grande variété. Au total, 105 aliments représentant les quatre groupes alimentaires du Guide alimentaire canadien (produits céréaliers, légumes et fruits, produits laitiers, viandes et substituts) et le groupe des autres aliments (incluant notamment les matières grasses, les sucreries, les condiments) ont été analysés. Cette analyse comparative a été réalisée avec la version 10.4 du logiciel *Food Processor SQL* avec les bases de données suivantes : la version 2007 du FCÉN et la version *standard reference 21* du USDA. L'analyse des nutriments des 105 aliments a été faite une première fois en utilisant strictement le FCÉN et une seconde fois en utilisant strictement le USDA.

Les analyses statistiques visant à comparer les analyses nutritionnelles provenant des données de chacune des deux bases de données (strictement FCÉN et strictement USDA) avaient pour objectifs de 1) comparer les analyses nutritionnelles par jour pour chacune des cinq journées entrée dans le logiciel *Food Processor SQL*, et de 2) vérifier la concordance des valeurs nutritionnelles obtenues par chacune des bases de données par aliment pour une portion de 100 g. Les valeurs nutritionnelles provenant de la base de données du USDA ont été utilisées comme valeurs de référence lors des comparaisons puisque « la plupart des données du FCÉN, à l'exclusion de celles sur les aliments non commercialisés au Canada, ont été tirées de la compilation exhaustive des données analytiques du USDA » (source : Santé Canada). Finalement, afin d'avoir une norme arbitraire, une différence inférieure ou égale à 5% entre les données nutritionnelles des deux bases de données (FCÉN et USDA) était considérée comme acceptable.

Brièvement, les résultats de ces analyses montrent que l'apport calorique d'une journée entière est estimé de manière similaire entre les deux bases de données. Par contre, lorsque l'analyse nutritionnelle est détaillée par nutriment, il existe des différences importantes entre les deux bases de données sans avoir une tendance systématique pour une sur- ou une sous-estimation des valeurs par le FCÉN comparativement au USDA. Le sommaire des recommandations émises pour les analyses de journaux alimentaires par le logiciel *Food Processor SQL* se trouve en annexe 4.

### **3.8.Sous- / sur-rapporteurs de l'apport alimentaire calorique**

Les sujets ayant sous- ou sur-rapportés leurs apports alimentaires énergétiques ont été identifiés grâce au ratio de l'apport calorique sur la DÉT (AC/DÉT). Dans cette étude, la DÉT a été établie avec précision grâce à la technique de l'eau doublement marquée (voir section 1.10 ci-dessous) chez des patientes en poids stable. Un ratio AC/DÉT inférieur à 0,80 était considéré comme indice de sous-déclaration des apports énergétiques, selon Black AE & Cole TJ [280]. Les sujets ayant un ratio AC/DÉT

supérieur à 1,20 étaient identifiés comme des sur-rapporteurs, selon Karelis AD *et al.* [392]. Ceux dont le ratio AC/DÉT se situait entre 0,80 et 1,20 étaient considérés comme des normo-rapporteurs.

### **3.9. Qualité alimentaire**

Pour chacun des journaux alimentaires, un score de qualité alimentaire a été calculé à partir de la consommation moyenne des trois jours du journal alimentaire. Le score choisi a été précédemment validé dans la population canadienne par Shatenstein *et al.* [16] : le *Canadian Healthy Eating Index* (C-HEI). Ce score inclus 9 composantes (tableau 3) : 4 groupes majeurs d'aliments déterminent le nombre de portions consommées pour ces groupes d'aliments (produits céréaliers, légumes et fruits, produits laitiers, et viandes et substituts, selon le Guide alimentaire canadien (GAC) pour manger sainement, version 1997), 4 composantes déterminent l'apport alimentaire en lipides totaux et saturés, en cholestérol et en sodium, et une composante évalue la diversité des aliments consommés. Pour chacune des composantes, un score de 0 à 10 est alloué, excepté pour la composante « légumes et fruits » dont le score varie entre 0 et 20. La somme des 9 composantes résulte en un score total variant entre 0 et 100, où 100 indique une adhésion parfaite aux recommandations alimentaires et 0 indique une absence totale d'adhésion.

**Tableau 3.** Critères utilisés pour le calcul du score C-HEI chez les femmes.

<b>Composantes du score C-HEI <sup>a</sup></b>	<b>Étendue du score (points)</b>	<b>Critère pour le score minimum</b>	<b>Critère pour le score maximum, selon l'âge</b>
1. Produits céréaliers	0 – 10	0 portion	18-49 ans : 9 portions ≥ 50 ans : 6 portions
2. Légumes et fruits	0 – 20	0 portion	18-49 ans : 7 portions ≥ 50 ans : 5 portions
3. Produits laitiers	0 – 10	0 portion	2 portions
4. Viandes et substituts	0 – 10	0 portion	18-49 ans : 2,5 portions ≥ 50 ans : 2 portions
5. Lipides totaux	0 – 10	≥ 45 % de l'apport énergétique	< 30% de l'apport énergétique
6. Acides gras saturés	0 – 10	≥ 15% de l'apport énergétique	< 10% de l'apport énergétique
7. Cholestérol alimentaire	0 – 10	≥ 450 mg	≤ 300 mg
8. Sodium alimentaire	0 – 10	≥ 4 800 mg	≤ 2 400 mg
9. Diversité alimentaire	0 – 10	< 1 portion de chacun des quatre groupes du GAC pour manger sainement	≥ 1 portion de chacun des quatre groupes du GAC pour manger sainement

Adapté de [16].

<sup>a</sup> Les quatre premières composantes sont basées sur le GAC pour manger sainement; les 9 composantes considèrent l'apport journalier.

### 3.10. Dépense énergétique totale

La dépense énergétique totale (DÉT) a été déterminée par la technique d'eau doublement marquée sur une période de 10 jours. Cette méthode utilise les pertes différentielles des isotopes deutérium ( $^2\text{H}$ ) et oxygène 18 ( $^{18}\text{O}$ ) de l'eau suite à leur incorporation dans la production de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) au cours du temps chez des sujets vivants en société. Suite à l'administration d'une dose d'eau enrichie en  $^2\text{H}$ , le  $^2\text{H}$  est éliminé de l'eau du corps par les urines à un taux exponentiel. Lorsque de l'eau enrichie en  $^{18}\text{O}$  est administrée à un sujet, le  $^{18}\text{O}$  est aussi éliminé par le *turnover* de l'eau du corps via les urines (comme l'isotope  $^2\text{H}$ ) ainsi que par chaque molécule de  $\text{CO}_2$  produite en raison de l'enzyme anhydrase carbonique présente dans le corps qui facilite rapidement l'équilibre de l'échange d'eau et du dioxyde de carbone avec l'acide carbonique et l'oxygène [393, 394]. La différence entre le taux de disparition du  $^2\text{H}$  et de  $^{18}\text{O}$  correspond à la production totale de  $\text{CO}_2$  pendant cette période de temps. Ces taux de disparition sont déterminés à partir d'échantillons urinaires collectés au début et à la fin de la période de mesure. Un quotient respiratoire fixe de 0,88 est utilisé pour établir la consommation d'oxygène et pour obtenir la valeur de la dépense énergétique journalière [395].

Les expériences d'eau doublement marquée ( $^2\text{H}_2^{18}\text{O}$ ) génèrent cinq échantillons d'urine par sujet : un échantillon basal avant l'administration de l'eau  $^2\text{H}_2^{18}\text{O}$ , deux échantillons obtenus une fois que la dose d'eau  $^2\text{H}_2^{18}\text{O}$  a été initialement équilibrée dans le corps (16 à 24 heures plus tard; échantillons post-dose 1 et 2), et deux autres échantillons collectés dix jours plus tard (échantillons post-dose 3 et 4). La collecte des échantillons post-dose 1 et 2 doivent être espacée d'un minimum de 30 minutes à un maximum de 4 heures, de même que pour les échantillons post-dose 3 et 4. Tous les échantillons sont mesurés en triplicata pour l'eau marquée à  $^{18}\text{O}$  et pour l'eau marquée au  $^2\text{H}$ . Un spectromètre de masse Isoprime pour isotopes stables (Isoprime Stable Isotope Ratio Mass Spectrometer) connecté à un module Multiflow-Bio pour Isoprime et un automatisateur d'échantillons Gilson 222XL (GV Instruments, Manchester, UK) ont été utilisés pour les mesures de la DÉT. Les données sont ensuite traitées à l'aide du

logiciel MassLynx 3,6 (Waters Corp, Milford, MA). Des tests de stabilité sont réalisés chaque jour avant le début des analyses, la déviation standard de ces tests est de 0,026% pour le  $^2\text{H}$  et de 0,004% pour l' $^{18}\text{O}$ . Le matériel de référence - *Vienna-Standard Mean Ocean Water* (V-SMOW), *Greenland Ice Sheet Program* (GISP), *Standard Light Antarctic Precipitation* (SLAP), et les contrôles de l'Agence Internationale de l'Énergie Atomique (IAEA-304A and IAEA-304B) – ont été utilisés pour la calibration et la normalisation des données. Les résultats des analyses des ratios d'isotopes sont rapportés comme un delta relatif à un gaz de référence. La DÉT est exprimée en kilocalories/jour (kcal/j).

### **3.11. Dépense énergétique de repos**

La dépense énergétique de repos (DÉR) a été mesurée par calorimétrie indirecte le matin après un jeûne de 12 heures. Il était demandé aux participantes 1) d'être à jeun et de boire uniquement de l'eau 12 heures précédant le test, 2) de ne pas consommer d'alcool, 3) de réduire leur niveau d'activité physique 24 heures précédant le test et 4) d'avoir un niveau minimal d'activité physique le matin du test. Les sujets étaient allés dans une position semi-couchée, sans parler ni dormir et bougeant le moins possible. Les concentrations de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) expiré et d'oxygène ( $\text{O}_2$ ) inspiré par le sujet ont été mesurées à l'aide d'un calorimètre (SensorsMedics Delta Track II (Datex-Ohmeda, Helsinki, Finlande)) et d'un canopi ventilé. Les mesures de la DÉR ont été effectuées pendant 40 minutes : les dix premières minutes consistaient à la période d'acclimatation et les 30 dernières minutes ont été utilisées pour la détermination de la DÉR. La DÉR pour 24 heures a ensuite été déterminée à l'aide de l'équation de Weir [396]. La température de la pièce était maintenue à une température moyenne de 22°C. Les analyseurs de gaz du calorimètre ont été calibrés avant chaque test pour la pression atmosphérique et la concentration de gaz. Dans le laboratoire, le coefficient de corrélation intra-classe (ICC) pour la DÉR déterminé par des analyses de test-retest réalisées chez 19 sujets est de 0,92 ( $p < 0,001$ ). La DÉR est exprimée en kilocalories/jour (kcal/j).

### 3.12. Dépense énergétique liée à l'activité physique

Assumant une dépense énergétique reliée à la thermogénèse alimentaire de 10% [397], la dépense énergétique reliée à l'activité physique (DÉAP) est calculée en soustrayant la DÉR et la thermogénèse alimentaire de la DÉT comme suit [398] :

$$\text{DÉAP (kcal/j)} = \text{DÉT} - (\text{DÉT} * 0,10) - \text{DÉR}$$

### 3.13. Capacité cardiorespiratoire

La capacité cardiorespiratoire des sujets est déterminée par un test de condition physique ( $\text{VO}_2\text{pic}$ ) à l'aide d'un ergocycle de modèle 900 (Ergoline, Bitz, Allemagne) combiné à une station d'exercice cardiopulmonaire Ergocard (logiciel version 6, MediSoft, Dinant, Belgique). La capacité aérobie des sujets a été testée par un test progressif débutant à 25 Watts et augmentant de 25 Watts chaque 2 minutes. Les sujets ont été instruits de conserver une vitesse constante, et le niveau de résistance sur la roue était ajusté afin de préserver de manière constante la puissance requise pour maintenir la vitesse. L' $\text{O}_2$  et le  $\text{CO}_2$  étaient mesurés par un système direct à l'aide d'un masque facial. Le pic du  $\text{VO}_2$  était atteint avec succès lorsque trois des critères suivants étaient satisfaits: ratio d'échange des gaz respiratoires  $> 1,1$ , pouls cardiaque à l'intérieur d'un intervalle de 10 battements/min du pouls maximal prédit ( $220 - \text{âge}$ ), arrêt volontaire de l'exercice par le sujet, et un plateau dans la consommation d'oxygène pour 60 secondes. Puisque le plateau n'a pas été atteint de manière conforme à sa définition (i.e. pendant 60 secondes), le  $\text{VO}_2\text{pic}$  a été utilisé pour l'ensemble des participantes et était défini comme étant la plus haute consommation d'oxygène pour une moyenne de 30 secondes. Dans le laboratoire, le ICC pour le  $\text{VO}_2\text{pic}$  déterminé par des analyses de test-retest réalisées chez 20 sujets est de 0,956 ( $p < 0,001$ ).

### 3.14. Tolérance au glucose et sensibilité à l'insuline

La tolérance au glucose a été déterminée à l'aide d'une HGPO de 75 g de glucides réalisée chez les participantes soumises à un jeûne de 12 hres précédant le test. Des prises de sang ont été effectuées à jeun et à toutes les 30 minutes pour une durée totale de 2 heures.

La sensibilité à l'insuline a été déterminée à l'aide d'indices calculés à partir des valeurs de glycémie et d'insulinémie obtenues lors de l'HGPO :

1) l'index HOMA-IR (*Homeostatis model for the assessment of insulin resistance*) selon la formule de Matthews *et al.* [399] qui utilise les valeurs d'insulinémie et de glycémie à jeun :

$$\frac{\text{Insulinémie } (\mu\text{U/mL}) \times \text{Glycémie (mmol/L)}}{22.5}$$

2) l'index de résistance à l'insuline hépatique selon la formule de Abdul-Ghani *et al.* [400] qui utilise l'aire sous la courbe pour la glycémie et l'insulinémie des 30 premières minutes de l'HGPO :

$$\text{Glycémie}_{0-30} [\text{AUC}] \times \text{Insulinémie}_{0-30} [\text{AUC}]$$

et 3) l'index  $SI_{is}$  OGTT explorant principalement la sensibilité à l'insuline musculaire selon la formule de Bastard *et al.* [401] qui utilise la somme ( $\Sigma$ ) des glycémies obtenues aux temps 0, 30, 90 et 120 de l'HGPO et de même pour l'insulinémie :

1

---


$$\log(\Sigma \text{ glycémie } t_{0-30-90-120}) (\text{mmol/L}) + \log(\Sigma \text{ insulinémie } t_{0-30-90-120}) (\mu\text{U/mL})$$

La sensibilité à l'insuline a aussi été déterminée à l'aide du clamp hyperinsulinémique-euglycémique. Le test débutait vers 7h30 suite à un jeûne de 12

heures selon la procédure décrite par DeFronzo *et al.* [79]. Une veine était cathétérisée pour une infusion de dextrose 20% et d'insuline (Actrapid. Novo-Nordisk, Toronto, Canada). L'autre bras était cathétérisé pour les prises de sang. La glycémie veineuse était mesurée toutes les 10 minutes à l'aide d'un analyseur de glucose (Beckman Instruments, Fullerton, CA) et maintenue au niveau basal grâce à un taux variable d'infusion de dextrose 20%. L'infusion d'insuline était initiée à un taux de 75 mU/m<sup>2</sup>/min pour 180 minutes. Le taux de disparition du glucose était calculé comme la moyenne du taux d'infusion de glucose des 30 dernières minutes du clamp (état stable), ce qui permet d'estimer la sensibilité à l'insuline des participantes. Le taux de disparition du glucose est exprimé en mg/min/kg de masse non grasse.

### **3.15. Analyses sanguines**

Les analyses sanguines décrites ci-après ont été effectuées sur du sérum, du plasma ou du sang complet qui a été collecté alors que les participantes étaient à jeun depuis 12 heures. Le sérum était collecté dans des tubes avec un gel séparateur activateur de coagulation. Suite aux prélèvements sanguins, les tubes étaient conservés à la température ambiante pour 30 minutes ou jusqu'au processus complet de la coagulation sanguine. Ils étaient par la suite centrifugés à 4°C pour 10 min à 4500 rpm (3900 g). Le sérum était aliquoté et conservé au congélateur à -80°C jusqu'au moment des analyses. Le plasma a été collecté dans des tubes contenant de l'acide éthylène diamine tétra acétique dipotassique (EDTA K2). Une fois les prélèvements sanguins effectués, les tubes ont été centrifugés à 4°C pour 10 min à 4500 rpm (3900 g), puis aliquotés et conservés au congélateur à -80°C jusqu'au moment des analyses. De même que pour le plasma, le sang complet a été collecté dans des tubes contenant l'anticoagulant EDTA K2. Sans être centrifugé, le sang total a été aliquoté, surgelé dans l'azote liquide puis conservé au congélateur à -80°C jusqu'au moment des analyses.

### 3.15.1. Bilan lipidique et des lipoprotéines

Les concentrations sériques de cholestérol total et des triglycérides, et le contenu sérique en cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) ont été mesurés à l'aide d'un Cobas Integra 400 (Roche Diagnostic, Montréal, QC, Canada). Le sérum a été analysé le jour de la collecte. Le contenu en cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL-C) a été calculé selon l'équation de Friedewald [402].

Les concentrations sériques des apolipoprotéines A1 (apoA1) et B (apoB) ont été mesurées par immunonéphélométrie à l'aide d'un analyseur *Image* (Beckman-Coulter, Villepinte, France). Puisqu'à des concentrations de triglycérides inférieures ou égales à 13 mmol/L plus de 90% des particules d'apoB sont liées aux particules LDL, la taille des particules LDL a été estimée en calculant le ratio LDL-C/apoB [122, 123].

### 3.15.2. Glycémie et hormones

La glycémie plasmatique a été mesurée en duplicata à l'aide d'un Cobas Integra 400 (Roche Diagnostic, Montréal, QC, Canada).

Les concentrations plasmatiques d'insuline et de leptine ont été mesurées en duplicata par radioimmunoessai en utilisant une trousse commerciale spécifique pour l'humain (Linco, St-Charles, MO, USA).

### 3.15.2. Marqueurs inflammatoires

Les concentrations sériques de la protéine C-réactive de haute sensibilité (hsCRP), l'orosomucoïde et l'haptoglobine ont été déterminées par immunonéphélométrie à l'aide d'un analyseur *Image* (Beckman-Coulter, Villepinte, France). Les concentrations sériques du récepteur 1 soluble du TNF-alpha (sTNFR1) et d'interleukine-6 (IL-6) ont été mesurées en duplicata par la méthode immunoenzymatique à double détermination d'anticorps (ELISA) à l'aide de troupes commerciales standard et de haute sensibilité, respectivement (Quantikine, Minneapolis,

MN, USA). Le nombre de globules blancs sériques a été évalué par un compteur cellulaire automatisé en utilisant un analyseur *A<sup>C</sup>•T 5diff AL* (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA).

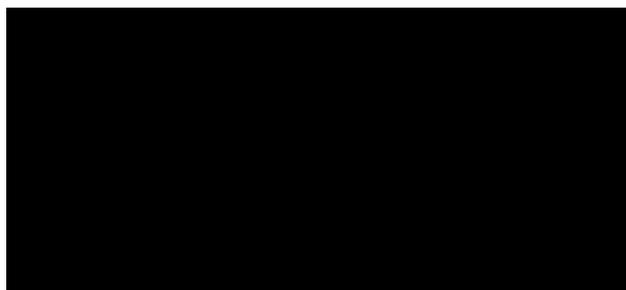
### 3.15.3. Métabolisme du glutathion

#### 3.15.3.1. *Glutathion total*

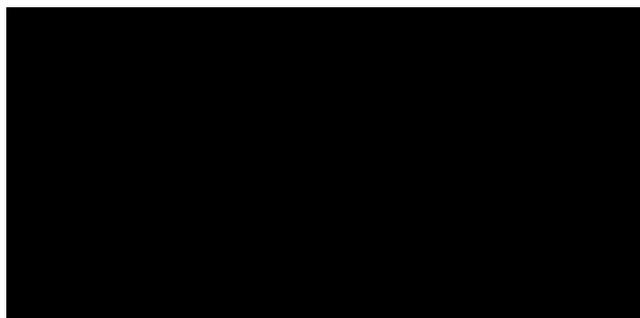
La concentration de glutathion total dans le sang complet (collecté lors de l'HGPO pour l'étude CAO uniquement) a été mesurée par la technique de recyclage enzymatique selon la méthode décrite par Griffith [403, 404]. Le principe de la méthode est le suivant : l'enzyme GSSG-R réduit le GSH en GSSG en présence de NADPH (voir figure 5, section 2.1.5.4 Défenses antioxydantes : le système glutathion). La production de GSSG peut être mesurée indirectement grâce à l'ajout de l'acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB) comme illustré à la figure 10A. Ainsi, le taux de TNB<sup>+</sup> s'accroît dans le temps.

En ajoutant une quantité saturante de DTNB, de NADPH et de GSSG-R, l'étape limitante de la production de TNB<sup>+</sup> est le glutathion présent dans l'échantillon, ici l'échantillon sanguin. La comparaison de la vitesse de formation du TNB<sup>+</sup>, via l'accroissement de son absorbance à 412 nm, à la droite des vitesses obtenues avec des concentrations connues de GSSG (étalon), donne la concentration totale de glutathion (GSH + GSSG) dans l'échantillon.

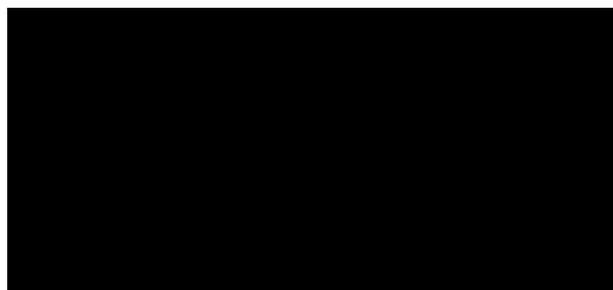
A.



B.



C.



**Figure 10.** Principe de la mesure du glutathion total par la technique de recyclage enzymatique (A), de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) en utilisant comme peroxyde initiateur le TB-OOH (t-butylhydroperoxyde) (B) et de l'activité de la glutathion réductase (GSSG-R) (C).

Les échantillons de sang ont été décongelés sur glace, une solution tampon TESB (Tris-HCL 50 mM, EDTA-Na<sub>2</sub> 0.1 mM, L-sérine 10 mM, Borate-Na 20 mM, pH ajusté à 7.6) a été ajoutée au sang total de manière à obtenir une dilution 1/5, puis les échantillons ont été mélangés à l'aide d'un vortex. Une partie a été utilisée pour la mesure de la teneur en protéines selon la méthode de Bio-Rad décrite un peu plus loin. À l'autre partie, de l'acide sulfosalicylique 10% (poids/volume) a été ajouté dans une dilution 1/2, mélangée au vortex puis centrifugée 5 min à 10 000 rpm de manière à précipiter les protéines. Le surnageant obtenu a ensuite été dilué 1/20 pour la mesure du glutathion total. Le mélange à doser, d'un volume total de 1 mL, était composé de 150 µL d'échantillon + NADPH 0,2 mM + DTNB 0,6 mM (Aldrich, Milwaukee, Wis), et l'ajout de 10 µg de GSSG-R purifiée initiait la réaction. La production de TNB<sup>+</sup> a été mesurée par l'augmentation de l'absorbance lue à 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre pendant 10 min. La pente de l'augmentation de l'absorbance au cours des 4 dernières minutes a été calculée à l'aide d'une courbe standard obtenue pour des concentrations variant entre 0 et 1 µM d'une solution de GSSG 10 µM dans du tampon TESB. La concentration de glutathion total était exprimée en pmoles de GSH/µg de protéines.

Pour la mesure de la teneur en protéines de Bio-Rad, une courbe standard a été réalisée à l'aide d'une solution d'albumine sérique bovine (BSA) de 2 mg/mL mélangée à un colorant Bio-Rad dilué 1/5. Cinquante µL de concentrations variées de BSA (1 à 8 µg/50 µL dosés) ou d'échantillons ont été ajoutés à 1 mL de colorant, mélangés par vortex puis laissés reposer 10 min à la température ambiante. Ensuite, l'absorbance a été lue par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

#### *3.15.3.2. Activité spécifique des enzymes glutathion peroxydase et glutathion réductase*

Le dosage de l'activité de la GPx (figure 10B) repose sur le principe que si la concentration de GSH, TB-OOH, GSSG-R et NADPH sont en quantité saturante, la quantité de GPx est l'étape limitant la consommation de NADPH. Ce même principe est

utilisé pour quantifier l'activité de la GSSG-R de l'échantillon (figure 10C) en utilisant une concentration saturante de GSSG et NADPH; l'étape limitant l'utilisation du NADPH est dans ce cas-ci la quantité de GSSG-R dans l'échantillon. Pour ces deux méthodes la disparition du NADPH est proportionnelle à l'activité de l'enzyme.

L'activité spécifique des enzymes GPx [405] et GSSG-R [404, 406] a été déterminée dans le sang complet (collecté lors de l'HGPO pour l'étude CAO uniquement) par des méthodes de spectrophotométrie. Les échantillons de sang total ont été décongelés sur glace, mélangés à du tampon TE (Tris-HCl 50 mM et EDTA-Na<sub>2</sub> 0,1 mM, pH ajusté à 7,6) dans une dilution 1/3 puis centrifugés 1 min à 10 K g. Le surnageant a été utilisé pour mesurer la teneur en protéine sur une dilution 1/800 par la méthode Bio-Rad. Par la suite, les échantillons ont été préparés (dilution) de manière à obtenir 200 µg de protéines par 100 µL de tampon TE.

Pour évaluer l'activité spécifique de l'enzyme GPx, les échantillons ont été mélangés avec du GSH 1 mM + du *tert*-butylhydroperoxyde (TB-OOH) 1 mM (Aldrich Chemical Co, Milwaukee, Wis) + NADPH 0,1 mM + 5 µg de GSSG-R dans du tampon de réaction (Tris 250 mM et EDTA-Na<sub>2</sub> 0,1 mM, pH ajusté à 7,6), pour un volume total de 1 mL. L'ajout de l'échantillon au mélange de GSH, TBH, NADPH, GSSG-R et tampon de réaction initiait la réaction. La disparition du NADPH était enregistrée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340 nm pendant 8 minutes. La pente de la disparition du NADPH était quantifiée en utilisant le coefficient d'extinction molaire du NADPH de 6,22/mM/cm. L'activité spécifique de la GPx était exprimée en nmole/min/mg de protéines.

Pour évaluer l'activité spécifique de l'enzyme GSSG-R, les échantillons ont été mélangés avec du tampon TE + NADPH 0,1 mM (Boehringer Mannheim, Laval, Québec, Canada) + GSSG 1 mM (Boehringer Mannheim), pour un volume total de 1 mL. L'ajout de l'échantillon au mélange de tampon TE, NADPH et GSSG initiait la réaction. Comme pour l'évaluation de l'activité spécifique de la GPx, la disparition du NADPH était enregistrée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340 nm

pendant 13 minutes. La pente de la disparition du NADPH entre les minutes 5 et 13 était quantifiée en utilisant le coefficient d'extinction molaire du NADPH de 6,22/mM/cm. L'activité spécifique de la GSSG-R était exprimée en nmole/min/mg de protéines.

### **3.16. Mesure de l'épaisseur de l'intima-media de la carotide**

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) a été réalisée à l'aide d'un système IRM du corps entier 1.5-T (Signa CV/i; GE Medical Systems; 40 mT/m; SR150). Une antenne en réseau phasé à 4 éléments (2 éléments sur le côté droit du cou et 2 éléments sur le côté gauche) a été utilisée pour imager la carotide [407]. Après la localisation grâce à une séquence écho à gradient rapide, toutes les images ont été obtenues avec un recouvrement à double-inversion (i.e. sang noir); une séquence rapide d'écho de spin avec une synchronisation ECG pendant la respiration libre. Un total de 25 à 30 images transverses centrées à la bifurcation de la carotide a été obtenu. Les paramètres de l'imagerie étaient les suivants : temps de répétition, intervalles 2 RR; temps d'écho, 12/45 ms (pondéré en densité des protons/pondéré en T2); champ de vue, 12 cm; épaisseur de coupe, 3 mm; absence d'espace intercoupe, acquisition de la matrice, 256x256; antirepliement, nombre de moyennage des signaux, 1/2 (pondéré en densité des protons/pondéré en T2); durée du train d'écho, 32; bande passante du récepteur,  $\pm 64$  kHz; 512 remplissages par des zéros. Une impulsion de suppression de déplacement chimique a été utilisée pour supprimer le signal provenant du gras périvasculaire.

**Tableau 4.** Récapitulatif des tests utilisés dans les études MONET et CAO pour les bilans d'inclusion et après perte de poids.

Type de test	Étude MONET		Étude CAO	
	Inclusion	Post perte de poids	Inclusion	Post perte de poids
HGPO	X		X	
Clamp hyperinsulinémique-euglycémique	X	X	X	X
Absorptiométrie biphotonique	X	X	X	X
Tomographie assistée par ordinateur	X	X	X	X
Pression artérielle	X	X	X	X
Eau doublement marquée	X	X	X	
Calorimétrie indirecte	X	X	X	X
Test de la capacité cardiorespiratoire	X	X	X	X
Journaux alimentaires	X	X	X	X
Imagerie par résonance magnétique			X	X
Mesures sanguines				
- bilan lipidique et lipoprotéiques	X	X	X	X
- inflammation	X	X	X	X
- hormones	X	X	X	X
- système glutathion			X	X

HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale

### 3.17. Analyses statistiques

Les analyses statistiques réalisées sont présentées pour chacun des articles inclus dans la présente thèse. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, version 17.0.1, 2008, Chigaco, IL) et le seuil de signification était situé à  $p < 0,05$ . À noter que le nombre de participantes incluses dans les analyses de chacun des manuscrits varient en raison de la disponibilité des données pour les variables d'intérêt propres à chaque manuscrit; seules les participantes ayant des données complètes sur les variables d'intérêt ont été incluses dans les analyses. De plus, pour chacun des manuscrits, les participantes présentant des concentrations de hsCRP supérieures à 10 mg/L ont été exclues des analyses de manière à investiguer l'association entre les composantes de la dépense énergétique et de la qualité alimentaire sur une inflammation sub-clinique chronique; des concentrations supérieures à 10 mg/L indiquant la présence d'une réponse inflammatoire aigüe [408]. Le nombre de participantes exclues pour cette raison varie d'un manuscrit à l'autre en raison des participantes incluses dans les analyses.

#### 3.17.1. Manuscrit #1

L'objectif principal de ce manuscrit était de déterminer dans quelle mesure la DÉAP est associée aux marqueurs de l'inflammation, indépendamment des autres composantes de la dépense énergétique et de la capacité cardiovasculaire, chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses.

Toutes les données sont présentées comme étant la moyenne (intervalles de confiance à 95% [95% CI]). Huit participantes ont été exclues des analyses statistiques en raison d'une valeur de hsCRP supérieure à 10 mg/L. Les corrélations entre les marqueurs inflammatoires et les composantes de la dépense énergétique et de la capacité cardiorespiratoire ont été évaluées par l'analyse de Pearson. Pour déterminer plus spécifiquement l'association entre les marqueurs inflammatoires et les différents niveaux de DÉAP, les sujets ont été divisés en tertiles de DÉAP. Les différences au niveau des

variables anthropométriques et métaboliques entre les tertiles de DÉAP ont été déterminées grâce au modèle linéaire général univarié avec ou non correction pour la masse grasse totale et les concentrations de leptine.

Les prédicteurs des marqueurs inflammatoires ont été déterminés grâce à l'analyse de régressions linéaires pas à pas avec correction pour la masse grasse totale ou l'IMC (pour l'aspect clinique) et avec ou sans ajout de la leptine comme variable indépendante dans les modèles de régression. Pour tous les modèles de régression présentés, le test d'équivalence des variances était négatif indiquant l'égalité des variances.

### 3.17.2. Manuscrit #2

L'objectif principal de ce manuscrit est de déterminer s'il existe une relation synergique entre la DÉAP et la C-HEI qui est associée à un risque cardiométabolique moindre chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses.

Toutes les données sont présentées comme étant la moyenne  $\pm$  l'erreur standard à la moyenne (SEM). Les associations synergiques de DÉAP et de C-HEI sur les facteurs de risque cardiométaboliques cliniques et biochimiques ont été déterminés grâce à l'analyse de régressions hiérarchiques. Les facteurs de risque cardiométabolique étaient inclus comme variables dépendantes et les variables indépendantes étaient entrées dans les modèles de régression comme suit : un premier bloc (méthode pas à pas) incluait l'IMC, la masse grasse totale et la masse grasse viscérale, et un second bloc (méthode pas à pas) incluait DÉAP, C-HEI et leur interaction (DÉAP x C-HEI), tous trois ajustés à la moyenne. Le premier bloc était inclus de manière à contrôler pour l'effet potentiel de la composition corporelle sur les relations entre DÉAP / C-HEI et les facteurs de risque cardiométabolique.

Lorsque l'interaction DÉAP x C-HEI était un prédicteur des facteurs de risque cardiométabolique, la nature de cette interaction était ensuite déterminée grâce à

l'analyse de variance (ANOVA) corrigée pour la masse grasse totale ou l'IMC (pour l'aspect clinique). Les participantes ont d'abord été divisées en quatre groupes selon leur niveau de DÉAP et de C-HEI en fonction de la médiane de la cohorte (niveaux faibles et/ou élevés de DÉAP et C-HEI; les valeurs limites utilisées : médiane de DÉAP = 958 kcal/jour, médiane de C-HEI = 83,3). Les résultats des ANOVA corrigées pour la masse grasse totale sont présentés dans les tableaux 1 et 2 (*Table 1 et 2*, p. 149-150 et 151-152, respectivement). Les valeurs de HOMA-IR, IL-6 et hsCRP ont été transformées par la fonction logarithmique dans les analyses de régressions hiérarchiques et les ANOVA en raison de leur distribution anormale.

### 3.17.3. Manuscrit #3

L'objectif principal de ce manuscrit est de déterminer la relation entre le système glutathion et le risque cardiométabolique chez des femmes post-ménopausées obèses mais sans évidences d'autres désordres métaboliques.

Toutes les données sont présentées comme étant la moyenne  $\pm$  SEM. La distribution de fréquence a été illustrée pour les concentrations de glutathion total et les activités spécifiques de la GPx et de la GSSG-R. Les paramètres anthropométriques et sanguins ont été comparés grâce au test *t* de Student. Pour la variable hsCRP, onze participantes avaient des concentrations supérieures à 10 mg/L et ont été exclues des analyses pour ce marqueur, résultant en 25 et 23 participantes pour les groupes de Faible et Haute activité spécifique de la GPx, respectivement. L'épaisseur de la paroi vasculaire a été comparée grâce à une ANOVA. En absence de différences significatives, un pouvoir statistique (*1-beta*) supérieur à 80% nous a permis d'affirmer que le paramètre concerné ne varie pas entre les deux groupes.

### 3.17.4. Manuscrit #4

L'objectif principal de ce manuscrit est de déterminer dans quelle mesure une amélioration de la C-HEI et de la DÉAP est associée à un meilleur profil

cardiométabolique après une diète hypocalorique, indépendamment de la perte de poids encourue.

Toutes les données sont présentées comme étant la moyenne  $\pm$  SEM. Les différences entre les paramètres anthropométriques et métaboliques entre les sujets dans chacun des deux groupes d'intervention (restriction calorique seule et restriction calorique combinée à un entraînement en résistance) ainsi qu'entre les sujets sous-déclarant et ceux déclarant adéquatement leurs apports caloriques, avant et après la diète hypocalorique, ont été déterminées par un test de *t* de Student. L'effet de la diète hypocalorique sur les paramètres anthropométriques et métaboliques a été déterminé par un test de *t* de Student pour mesures répétées. Les associations entre le pourcentage de changement de la qualité alimentaire et de la DÉAP, et les paramètres métaboliques ont été investiguées à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson. L'explication de la variation inter-individuelle du pourcentage de changement des paramètres métaboliques (variables dépendantes) par le pourcentage de changement de la qualité alimentaire, de la DÉAP et de leur interaction (pourcentage de changement de la qualité alimentaire x pourcentage de changement de la DÉAP) (variables indépendantes) a été déterminée par l'analyse de régression séquentielle après correction pour le pourcentage de changement de l'IMC de manière à déterminer dans quelle mesure les relations entre variables indépendantes et les variables dépendantes sont indépendantes du changement dans l'IMC. De plus, ces analyses de régression ont été répétées suite à une correction supplémentaire pour le pourcentage de changement dans l'apport calorique de manière à tenir compte de l'effet potentiellement confondant de la restriction calorique sur les changements dans les paramètres anthropométriques et métaboliques.

## CHAPITRE 4 : RÉSULTATS

### **4.1. Manuscrit #1 intitulé : « Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women », *Int J Obes*, 2010, 34:1387-1395**

Par **Marie-Eve Lavoie**, Rémi Rabasa-Lhoret, Éric Doucet, Diane Mignault, Lyne Messier, Jean-Philippe Bastard et May Faraj

Contribution des co-auteurs:

Marie-Eve Lavoie:	émission de l'hypothèse de recherche, cueillette des données, analyses statistiques, interprétation des résultats, rédaction du manuscrit
Rémi Rabasa-Lhoret :	émission de l'hypothèse de recherche, interprétation des résultats de recherche, révision du manuscrit
Éric Doucet et Lyne Messier :	révision du manuscrit
Diane Mignault et Jean-Philippe Bastard:	cueillette des données, révision du manuscrit
May Faraj :	conseils statistiques, interprétation des résultats, révision du manuscrit

Ce premier manuscrit démontre la relation entre les différentes composantes de la dépense énergétique et l'inflammation sub-clinique dans une population de femmes en surpoids ou obèses post-ménopausées et sédentaires. Ce manuscrit a été publié dans la revue scientifique *International Journal of Obesity* (facteur d'impact 2010 : 5,125, 4<sup>e</sup> rang sur 70 dans la catégorie de la nutrition et de la diététique).

**Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women**

Marie-Eve Lavoie<sup>1,2</sup>, Rémi Rabasa-Lhoret<sup>1,2,3</sup>, Éric Doucet<sup>4</sup>, Diane Mignault<sup>1,2</sup>, Lyne Messier<sup>1</sup>, Jean-Philippe Bastard<sup>5</sup>, May Faraj<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Department of nutrition, Université de Montréal, Pavillon Liliane-de-Stewart, 2405 Chemin de la Côte Ste-Catherine, Montréal, Québec, Canada, H3T 1A8*

<sup>2</sup>*Montreal Institute for clinical Research (IRCM), Montréal, Québec, Canada*

<sup>3</sup>*Montreal Diabetes Research Center (MDRC) of Montreal university hospital Research Center (CR-CHUM), Montréal, Québec, Canada*

<sup>4</sup>*School of Human Kinetics, Faculty of Health Sciences, University of Ottawa, Behavioural and Metabolic Research Unit, Ottawa, Ontario, Canada*

<sup>5</sup>*Biochemistry and Hormonology, Tenon Hospital, Paris, France*

**ABSTRACT**

**Objective:** Chronic sub-clinical inflammation and regular physical activity have opposing relationships to obesity-related metabolic diseases. Yet, the association between chronic inflammation and physical activity has rarely been examined in obese subjects. We examined the association between physical activity energy expenditure (PAEE), total (TEE) and resting (REE) energy expenditure and cardiorespiratory fitness ( $VO_2$ peak) with inflammatory markers in overweight/obese women.

**Design:** Cross-sectional study.

**Methods:** The study included 152 overweight/obese postmenopausal women who were sedentary and free of chronic/inflammatory diseases (mean [95%CI]; age: 57.5 [56.7-58.3] years, BMI: 32.5 [31.8-33.2]  $kg/m^2$ ). The following parameters were measured; TEE (doubly-labeled water), REE (indirect calorimetry), PAEE (as [TEEx0.90]-REE),  $VO_2$ peak (ergocycle) and serum high sensitive C-reactive protein (hsCRP), haptoglobin, soluble tumor necrosis factor alpha receptor 1 (sTNFR1), interleukin-6, orosomucoid and white blood cells.

**Results:** Sedentary women with the highest tertile of PAEE (1276 [1233-1319] kcal/day) had lower concentrations of hsCRP and haptoglobin than those in the lowest tertile (587 [553-621] kcal/day) after adjustment for fat mass ( $p<0.05$ ). Soluble TNFR1 was positively correlated with  $VO_2$ peak, TEE and REE ( $p<0.05$ ), hsCRP and orosomucoid were positively associated with REE ( $p<0.01$ ), while haptoglobin was negatively associated with PAEE ( $p<0.05$ ). In stepwise regression analyses that examined the concomitant associations of components of energy expenditure to inflammatory markers, PAEE remained the only predictor of hsCRP and haptoglobin ( $p<0.05$ ), explaining 14% and 5% of their variation, respectively, while REE was the only predictor of orosomucoid ( $r^2=0.05$ ,  $p=0.02$ ) after adjustment for fat mass. Adding leptin to the regression models results in similar relationships between inflammatory markers and components of energy expenditure.

**Conclusion:** Physical activity energy expenditure (PAEE) is an independent predictor of hsCRP and haptoglobin in sedentary overweight/obese post-menopausal women free of chronic disease. Our data support the role of physical activity in reducing sub-clinical inflammation and risk of metabolic and cardiovascular diseases.

Keywords: Inflammation, hsCRP, Haptoglobin, Interleukin-6, Physical activity energy expenditure, Obesity, Women

## INTRODUCTION

Obesity increases the risk of several metabolic diseases like cardiovascular diseases (CVD), type 2 diabetes (T2D) and hypertension, particularly following menopause in women (1). Moreover, increased fat mass is also associated with systemic sub-clinical inflammation (2) which in turn is associated with the development of T2D (3, 4) and CVD (5, 6) (for review, see (7)). In prospective studies, plasma inflammatory markers like white blood cell (WBC), C-reactive protein (CRP), soluble tumor necrosis factor alpha receptor 1 (sTNFR1), orosomuroid and haptoglobin were shown to be associated with higher risk to develop T2D and CVD in human (5, 8). Despite no solid evidence by randomized controlled trials, human studies support a role of physical activity *per se*, independent of its effect on body composition, in improving metabolic complications and reducing the risk for T2D (9, 10).

Cardiorespiratory fitness is also related to reduce risk of these diseases and, similar to that of physical activity, its effect may be independent of obesity (11). Obese but fit individuals were demonstrated to have a lower T2D, CVD and all-cause mortality than normal-weight individuals with lower fitness level (12, 13). However, the independent contribution of the level of physical activity and cardiorespiratory fitness to the metabolic risk is unclear.

The protective role of physical activity from obesity-associated metabolic complications appears to be related, at least in part, to its effects on sub-clinical inflammation. Active subjects have lower levels of WBC and interleukin-6 (IL-6) than sedentary individuals (14-18). On the other hand, C-reactive protein (CRP), which is the most clinically studied inflammatory marker in relation to T2D and CVD, has been shown to have inconsistent relationship with physical activity (14, 15, 17-20), which is likely related to subjective self-reporting of physical activity habits. Most studies measure physical activity by questionnaires that assess self-reporting of habitual exercise like aerobic exercise, running, swimming, and biking (9, 12-15, 17-20). Moreover, little is known about the relation between physical activity and sTNFR1, orosomuroid or haptoglobin, which are also shown to predict the development of metabolic diseases like T2D and

cardiovascular disease (5, 8, 21). Of note, high cardiorespiratory fitness level is also related to reduce levels of inflammatory markers such as CRP and WBC (22).

Total energy expenditure (TEE) is composed of physical activity energy expenditure (PAEE), resting energy expenditure (REE; accounting for ~ 70% of the total) and thermogenic effect of food (TEF, accounting for ~ 10%) (23). Although evidence suggests a positive association between REE with serum CRP and IL-6, the subjects examined were with chronic obstructive pulmonary disease, rheumatoid arthritis or kidney failure (24-26), and thus, a relation of inflammation to REE independent of the disease state cannot be determined. One study has found a positive association between REE and IL-6 in healthy Asian Indian men, though not women (27). On another hand, the relation between TEE and inflammatory markers has never been examined.

Therefore, the objectives of this study were twofold. First, we sought to examine the association between PAEE, measured with doubly-labelled water, and sTNFR1, IL-6, CRP, orosomucoid, haptoglobin and WBC. Second, we investigated the concomitant association of all components of energy expenditure, TEE, PAEE and REE, as well as cardiovascular fitness with inflammatory markers. This was done in a population of free-living sedentary overweight and obese postmenopausal women (n=152) who were free of any known chronic disease. Our hypothesis was that PAEE is negatively associated with the above mentioned inflammatory markers independent of other components of energy expenditure and cardiovascular fitness.

## **SUBJECTS AND METHODS**

### Subjects

The study population examined in this analysis were pooled from 2 hypocaloric-dietary intervention studies in similar populations of non-diabetic overweight and obese postmenopausal women who were examined by our research team from 2003 - 2007; the Montreal-Ottawa New Emerging Team (MONET) Study (N=137) and the Complication Associated with Obesity (CAO) Study (N=37). Of the 174 subjects recruited in these 2 studies, 152 subjects (80.3% from MONET Study and 19.7% from CAO Study) had a complete set of baseline data for all components of energy expenditure and were thus included in this analysis. Both studies were approved by the Université de Montréal ethics committee and all subjects gave written, informed consent before the study started.

The post-menopausal women were included in the 2 studies if they 1) were overweight or obese with body mass index (BMI)  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup> (28), 2) aged between 46 to 70 years old, 3) had biological confirmation of the menopause status (cessation of menstruation for more than 1 year and plasma follicle-stimulating hormone  $\geq 30$  U/L), 4) were not taking hormone replacement therapy, 5) were non-smokers and 6) were sedentary with < 2 hours per week of structured exercise. On physical examination and biological testing, all participants had no 1) diabetes (fasting glucose > 7.1 mmol/l or 2-hours plasma glucose of > 11.1 mmol/l after a 75g OGTT), 2) uncontrolled thyroid disease, cardiovascular or peripheral vascular disease, 3) use of hormone replacement therapy, oestrogen, narcoleptics, steroids, lipid-lowering and antihypertensive agents, 4) dyslipidemia or hypertension requiring immediate medical intervention (total cholesterol > 8 mmol/l, triglyceride > 4.5 mmol/L, blood pressure >160/100 mm Hg, 5) history of alcohol or drug abuse, 6) abnormal blood laboratory values (creatinine > 135  $\mu$ mol/l), 7) use of drugs or medications to stimulate weight loss, psychoactive drugs and adrenergic agonists by any route, 8) body weight fluctuation in the last 3 months 9) known history of inflammatory disease as well as cancer. One month prior to data collection, weight stability ( $\pm 2$  kg) was verified by monitoring body weight for each subject on a weekly basis.

### Body composition

Standing height was measured to the nearest 0.1 cm with a wall stadiometer (Perspective Enterprises, Portage, MI) following standard techniques while the subjects were in light clothes. Body weight was measured to the nearest 0.1 kg on a calibrated balance (Balance Industrielle Montréal, Montréal, Québec, Canada). Total lean body mass and fat mass and percent of body fat (%FM) were measured by dual-energy X-ray absorptiometry with a LUNAR Prodigy system (software version 6.10.019; General Electric Lunar Corporation, Madison, WI) which was calibrated daily by a standardized calibration procedure. Scanning accuracy was determined in 20 subjects using test-retest analyses. Intraclass correlation coefficient (ICC) and coefficient variation for fat mass are 0.999 and 1.1% respectively. Measurements were conducted in the morning while the subjects were in a fasted condition. BMI was calculated as body weight (kg)/height (m)<sup>2</sup> (28). Visceral and subcutaneous adipose tissue (VAT and SAT) were assessed by computed tomography scan (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI, USA) at the L4-L5 vertebral disc as described previously (29).

### Resting energy expenditure (REE)

REE was measured after a 12-hour fast by indirect calorimetry, as previously described (30). Carbon dioxide and oxygen were measured with a SensorMedics Delta Track II (Datex-Ohmeda, Helsinki, Finland) with a ventilated hood technique. Measurements were performed while the subject was lying in a supine position during 40 min. The first 10 min were considered as an acclimatization period and data from the last 30 min were used for analyses. The calorimeter gas analyzers were calibrated before every measurement for pressure and gas concentrations. In our laboratory, the intraclass correlation coefficient (ICC; 2-factor random effect) for REE determined by using a test-retest condition in 19 different subjects was 0.92 (p<0.001).

### Total energy expenditure (TEE)

Daily energy expenditure was determined from doubly labelled water (DLW) over a 10-d period, as previously described (30). Briefly, the DLW method uses the differential

loss of the  $^2\text{H}$  and  $^{18}\text{O}$  isotopes of water to integrate carbon dioxide production over time in free-living subjects. A fixed respiratory quotient of 0.88 (31) was used to establish oxygen consumption and to obtain a value for daily energy expenditure. The DLW technique generates 5 urine samples per subject: a pre-dose baseline sample, two samples collected 16 to 24 hours after the ingestion of the  $^2\text{H}_2^{18}\text{O}$  dose and equilibration in the body (postdose samples 1 and 2), and two more samples collected 10 days later (postdose samples 3 and 4). There was a minimum of 30 min and a maximum of 4h between postdose samples 1 and 2 and between samples 3 and 4. All samples were measured in triplicate for  $^{18}\text{O}$ -water and for  $^2\text{H}$ -water. An Isoprime Stable Isotope Ratio Mass Spectrometer connected to a Multiflow-Bio module for Isoprime and a Gilson 222XL Autosampler (GV Instruments, Manchester, UK) were used for daily energy expenditure measurements. Data processing was performed with MassLynx 3.6 software (Waters Corp, Milford, MA). Stability tests were performed each day before testing, which yielded a standard deviation of 0.026% for deuterium and 0.004% for  $^{18}\text{O}$ . Known reference materials - Vienna-Standard Mean Ocean Water (V-SMOW), Greenland Ice Sheet Program (GISP), Standard Light Antarctic Precipitation (SLAP), and International Atomic Energy Agency standards (IAEA-304A and IAEA-304B) - were used for calibration and data normalization. Isotope ratio analysis results were reported as delta relative to a reference gas.

#### Physical activity energy expenditure (PAEE)

Physical activity energy expenditure was calculated from the following equation:  $\text{PAEE} = (\text{TEE} \times 0.90) - \text{REE}$  (32), where thermic effect of food was assumed as 10% of TEE (33).

#### Cardiorespiratory fitness ( $\text{VO}_2$ peak)

Subjects performed a graded exercise test on an ergocycle Ergoline 900 (Bitz, Germany) to voluntary exhaustion. During the test, power output was increased by 25 Watts every 2 minutes. Peak  $\text{VO}_2$  (L/min) was considered to be the highest value obtained during the test. Expired gas was analyzed during the exercise protocol using an Ergocard (software version 6, MediSoft, Dinant, Belgium) cardiopulmonary exercise test station. Standard

12-lead electrocardiograms were performed at the end of every 2-minute stage. Three of the following criteria were required for a successful peak  $\text{VO}_2$  test: a respiratory exchange ratio above 1.1; heart rate within 10 bpm of maximal predicted heart rate value ( $220 - \text{age}$ ); volitional cessation of exercise by the subject and a plateau in oxygen consumption for 60 seconds.

### Blood analysis

Fasting plasma cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and glucose were analyzed on the Cobas Integra 400 (Roche Diagnostic, Montreal, QC, Canada). LDL cholesterol was calculated according to the Friedewald equation (34). Fasting insulin levels were determined by radioimmunoassay specific for human insulin (Linco, St-Charles, MO, USA). Apolipoproteins A1 (apoA1) and B (apoB) were assessed by immunonephelometry on an Immage analyzer (Beckman-Coulter, Villepinte, France). As within a triglyceride concentration up to 13 mmol/L, more than 90% of total apoB is bound to LDL particle, the size of LDL particles was estimated by calculating LDL-C/apoB ratio (35, 36).

Serum high sensitive CRP (hsCRP), orosomuroid and haptoglobin were assessed by immunonephelometry on an Immage analyser (Beckman-Coulter, Villepinte, France). Eight women with hsCRP > 10 mg/L were excluded from the analysis in this study because such an elevated hsCRP suggests acute inflammatory response (37). Serum TNFR1 (n=119) and IL-6 were measured using standard and high sensitivity commercial ELISA kits, respectively (Quantikine, Minneapolis, MN, USA). Serum white blood cell count (WBC) was assessed in an automated cell counter using an A<sup>C</sup>•T 5diff AL analyzer (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA). Serum leptin was measured using commercial human radioimmunoassay kits (Linco Research, Saint-Charles, MO, USA).

### Statistical analysis

All data are presented as the mean (95% confidence intervals [95% CI]). Correlations between inflammatory makers and components of energy expenditure and cardiorespiratory fitness were examined using Pearson product-moment analysis. To

further examine the association between inflammatory markers and different levels of PAEE, subjects were divided into tertiles of PAEE. Differences in anthropometric and metabolic variables among tertiles of PAEE were assessed using univariate general linear model with and without adjustment for fat mass and leptin. Predictors of inflammatory markers were analyzed using stepwise forward regression analysis with adjustment for fat mass or BMI (for clinical relevance) and with or without the addition of leptin as an independent variable. For all the regression models presented, the equal variance test passed. All statistical analyses were performed using SPSS version 17.0 software and significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

As shown in **Table 1**, mean age and BMI of our population was 57.5 years and 32.5 kg/m<sup>2</sup>, respectively. Subjects had normal mean glycemia, insulinemia, and LDL and HDL cholesterol at baseline.

### Relationship between PAEE with inflammatory markers

In the whole cohort, soluble TNFR1 was positively associated with TEE, REE and VO<sub>2</sub>peak, as shown in **Figure 1**. High sensitive CRP and orosomuroid were also positively associated with REE and haptoglobin was negatively associated with PAEE. Interleukin-6 and WBC were not associated with any component of energy expenditure or cardiorespiratory fitness ( $p>0.05$ ). Moreover, IL-6 was positively associated with weight ( $r=0.24$ ,  $p=0.003$ ), BMI ( $r=0.28$ ,  $p=0.001$ ), lean body mass ( $r=0.16$ ,  $p=0.49$ ), fat mass ( $r=0.26$ ,  $p=0.002$ ) and SAT ( $r=0.24$ ,  $p=0.004$ ) but not with VAT ( $r=0.15$ ,  $p=0.075$ ). Soluble TNFR1 and hsCRP were positively associated with weight ( $r=0.31$ ,  $p=0.001$  and  $r=0.30$ ,  $p<0.001$  respectively), BMI ( $r=0.36$  and  $0.42$  respectively,  $p<0.001$ ), fat mass ( $r=0.31$ ,  $p=0.001$  and  $r=0.33$ ,  $p<0.001$  respectively), VAT ( $r=0.22$ ,  $p=0.017$  and  $r=0.42$ ,  $p<0.001$  respectively), SAT ( $r=0.32$  and  $0.38$  respectively,  $p<0.001$ ) and lean body mass ( $r=0.23$ ,  $p=0.014$  and  $r=0.19$ ,  $p=0.018$  respectively). Orosomuroid and haptoglobin were positively associated with VAT ( $r=0.23$ ,  $p=0.004$  and  $r=0.21$ ,  $p=0.011$  respectively) while WBC was positively associated with VAT ( $r=0.25$ ,  $p=0.003$ ) and BMI ( $r=0.21$ ,  $p=0.011$ ). No inflammatory marker was associated with age.

To examine the association between inflammatory markers with different levels of PAEE, we divided our cohort of 152 post-menopausal overweight and obese women into tertiles of PAEE (low, intermediate and high). As presented in **Table 1**, there was a significant difference in body weight and fat mass among the PAEE tertiles, reaching significance between the highest versus the lowest tertile of PAEE ( $p<0.05$ ). Of interest however, women with the high level of PAEE had significantly lower serum triglycerides ( $p=0.001$ ) and apoB ( $p=0.001$ ) and higher LDL-C/apoB ratio (estimated LDL particle size) ( $p<0.001$ ) compared to the women with low PAEE (**Table 2**).

Given the differences in body composition among the PAEE tertiles, and the known associations of inflammatory markers with adiposity (2), we examined the differences in components of energy expenditure, cardiorespiratory fitness and inflammatory markers among the PAEE tertiles after adjusting for fat mass. As presented in **Table 3**, there was no difference in REE between the tertiles which resulted in increasing TEE with increasing levels of PAEE ( $p < 0.001$ ). There was no difference in cardiorespiratory fitness ( $VO_2\text{peak}$ ) among the PAEE tertiles ( $p > 0.05$ ) after adjustment for fat mass. However, women with higher levels of PAEE had significantly lower concentrations of hsCRP and haptoglobin than the lowest tertile of PAEE (hsCRP: -21.5%,  $p < 0.05$  and haptoglobin: -20.3%,  $p < 0.01$ ). There was no difference in orosomucoid, IL-6, WBC and sTNFR1 levels among the tertiles. Of note for clinical relevance, adjusting for BMI instead of fat mass resulted in similar relationships between PAEE and inflammatory markers (data not shown). Moreover, further adjustment for leptin revealed similar relationship between PAEE and inflammatory markers (results not shown).

#### Relationship between components of energy expenditure and cardiorespiratory fitness with inflammatory markers

To examine the independent contribution of all components of energy expenditure (TEE, REE, PAEE) and cardiorespiratory fitness ( $VO_2\text{peak}$ ) to the inter-individual variations in the concentrations of inflammatory markers in our population, we analyzed the data by stepwise forward regression analysis (**Table 4**). As adipose tissue depots were strong correlates of the inflammatory markers in our population, particularly for IL-6, sTNFR1 and hsCRP, all regression models were corrected for fat mass. As presented in table 4, even when other components of energy expenditure were considered, PAEE remained the strongest correlate to hsCRP and haptoglobin independent of fat mass (explaining a total of 14% and 5% of the variance, respectively). Resting energy expenditure remained associated with orosomucoid independent of fat mass (explaining a total of 5% of the variance). Correction for fat mass eliminated the association between sTNFR1 and components of energy expenditure. Using this regression model, the only predictor of sTNFR1 as well as IL-6 in our population was fat mass while none of the independent variable included in the model predicted WBC.

Of note, correcting the regression models for BMI instead of fat mass, for clinical relevance, revealed similar relationship between components of energy expenditure and cardiorespiratory fitness with inflammatory markers (data not shown).

In order to determine the possible effect of leptin on the relationship between PAEE and inflammatory markers, leptin was added as an independent variable in the regression models. The relationship between components of energy expenditure and cardiorespiratory fitness with inflammatory markers was similar after the addition of leptin (results not shown).

## DISCUSSION

The novelty of this study is that we investigated in a free-living environment 1) the association between PAEE with inflammatory markers in overweight and obese sedentary but otherwise healthy women, and 2) the concomitant relationships between all components of energy expenditure (TEE, REE and PAEE) and cardiorespiratory fitness with inflammatory markers in this population. We report here that higher PAEE is a predictor of lower concentrations of CRP and haptoglobin while REE is a predictor of orosomucoid, independent of fat mass or BMI and leptin.

Most cross-sectional studies examining the relationship between physical activity and inflammation compared active to sedentary subjects (15, 17, 19). Novel data in our population suggests that even in a sedentary but otherwise healthy obese population, higher PAEE is associated with reduced systemic inflammation (CRP and haptoglobin). The negative association between PAEE with CRP and WBC were previously reported in a cohort of more than 1400 elderly individuals (18) or in active individuals (14, 17). While our study is in agreement with previous ones in regards to the association of PAEE to CRP, differences in sample size, level of physical activity or methods used to assess PAEE may have resulted in different outcomes in regards to WBC. It should be particularly noted here our study employed gold standard techniques of doubly-labeled water combined to indirect calorimetry to assess PAEE. On the other hand, other studies assessed leisure time physical activity by questionnaires, which have been shown to under- or over-estimate PAEE by up to 60% compared to the doubly-labeled water technique (38).

Interleukin-6 is the major cytokine regulating the hepatic production of CRP and haptoglobin (39) and is mainly produced by adipose tissue (40). Several studies have shown that active subjects have lower levels of IL-6 than sedentary individuals (14-16). However, in our sedentary overweight/obese women, there was no evidence of an effect of PAEE on circulating IL-6 levels even after correction for fat mass. It might be possible that IL-6 is less sensitive to change in energy expenditure than other inflammatory markers such as hsCRP.

Physical activity energy expenditure can be divided into two components; structured exercise and non-exercise activity thermogenesis (NEAT) (41). These components were not specifically measured in the present study. However, based on the population examined being overweight and obese post-menopausal women, and the specific recruitment criteria for a sedentary lifestyle (less than 2h per week of structured exercise), one could hypothesize that PAEE differences reported here may mostly reflect difference in NEAT (i.e. occupational and spontaneous physical activity). However, this needs to be verified in further studies.

Physical activity energy expenditure was negatively associated with serum hsCRP and haptoglobin, independent of cardiorespiratory fitness that also was not related to inflammatory markers in our population. Similarly, Krauss et al. (42) have demonstrated that the amount of physical activity, but not its intensity or improvement in cardiovascular fitness, was related to favorable changes in lipoproteins profile in sedentary overweight subjects. The finding of Krauss et al. together with our study suggest that in less fit obese individuals, recurrent doses of low intensity activity may have metabolic benefit, even if this does not translate into improvements in cardiovascular fitness. Moreover, it suggests that the negative association between PAEE and inflammatory markers in our population may be mediated through the negative and positive association of PAEE with the number and size of apoB100-related lipoproteins, respectively (Table 1). This is particularly plausible given our recent publication which demonstrated that the number of apoB100-lipoproteins was the primary predictor of inflammatory markers in overweight and obese post-menopausal women, superior to all lipid levels and independent of adiposity (28). Moreover, it is well accepted that larger LDL particles are less pro-inflammatory than smaller denser LDL particles (43, 44).

Energy expenditure may be associated with leptin (45, 46) which is associated with inflammatory markers (47, 48). Considering that, we investigated the possible effect of leptin on the relationship between energy expenditure and inflammatory markers. In our population of sedentary overweight/obese women, leptin was not a predictor of

inflammatory markers. Thus, the observed relationship between PAEE and inflammatory markers was independent of leptin, and fat mass. Our results are in line with others showing no association between leptin and the acute phase proteins including orosomucoid and CRP after correction for BMI and sex (47).

To our knowledge, this study is also the first to examine the association between components of energy expenditure with sub-clinical chronic inflammation in a disease-free population. Positive associations between increased REE and other inflammatory markers, such as CRP, IL-6 and TNF $\alpha$ , have been reported in chronically sick patients (24, 25, 49). In our population free of any known chronic or inflammatory diseases, yet a positive association was noted between REE and orosomucoid, whose concentration was normal for a population with this age range (50). This positive association persisted despite correction for BMI or fat mass, but its physiological significance is unclear from the present analysis.

Of note, certain limitations should be considered in this study. The cross-sectional design of this study does not allow a cause-effect relationship but association analysis only. Moreover, as previously discussed, the sample size of our study was relatively small when compared to other observational studies, which included up to 5000 subjects (14, 15, 17, 18). However, it should be also underlined that the strength of our study lies in the use of gold standard and objective techniques to assess TEE, REE and PAEE. This is particularly true when considering the cost and technical demand of the use of doubly labeled water technique in a population of 152 women. Moreover, our population included well-characterized post-menopausal women who were despite their adiposity status free of any inflammatory or chronic disease.

In conclusion, PAEE is the component of energy expenditure that is most associated with reduced hsCRP and haptoglobin independent of adiposity in sedentary overweight and obese postmenopausal women. Our results suggest that physical activity, even in individuals with low cardiovascular fitness, may reduce sub-clinical chronic inflammation.

**ACKNOWLEDGMENT**

We acknowledge the help of Annie Tardif for technical assistance in the measurement of inflammatory markers. We also thank Beckman-Coulter, France for the kind gift of antibodies. Finally, we thank Dr. Fellahi for her participation on inflammatory markers analysis. This study was supported by grants from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) New Emerging Team in Obesity (University of Montreal and University of Ottawa, MONET project) and from Genome Canada-Quebec (CAO, Complications Associated with Obesity project). Marie-Eve Lavoie is supported by a scholarship from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). Dr. Rabasa-Lhoret is supported the Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ) and hold the chair for clinical research J-A de Sève at IRCM (Montreal Institute for Clinical Research). Éric Doucet is a recipient of a CIHR/Merck-Frosst New Investigator Award, a Canadian Foundation for Innovation New Opportunities Award and an Early Research Award (Ontario). May Faraj is a recipient of the CIHR New Investigator Award.

All authors declare no conflict of interest.

**REFERENCES**

1. Dennis KE. Postmenopausal women and the health consequences of obesity. *JOGNN* 2007; **36**: 511-519.
2. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; **92**: 347-355.
3. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, *et al.* Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes - The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes* 2003; **52**: 1799-1805.
4. Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, Gaw A, Ford I, Lowe GD, *et al.* C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes* 2002; **51**: 1596-1600.
5. Engström G, Hedblad B, Stavenow L, Jonsson S, Lind P, Janzon L, *et al.* Incidence of obesity-associated cardiovascular disease is related to inflammation-sensitive plasma proteins: a population-based cohort study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; **24**: 1498-1502.
6. Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Curr Probl Cardiol* 2004; **29**: 439-493.
7. Duncan BB, Schmidt MI. Chronic activation of the innate immune system may underlie the metabolic syndrome. *Rev Paul Med* 2001; **119**: 122-127.
8. Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, *et al.* Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *The Lancet* 1999; **353**: 1649-1652.
9. Hamman RF, Wing RR, Edelstein SL, Lachin JM, Bray GA, Delahanty L, *et al.* Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care* 2006; **29**: 2102-2107.
10. Ekelund U, Franks PW, Sharp S, Brage S, Wareham NJ. Increase in physical activity energy expenditure is associated with reduced metabolic risk independent of change in fatness and fitness. *Diabetes Care* 2007; **30**: 2101-2106.

11. Gill JMR, Malkova D. Physical activity, fitness and cardiovascular disease risk in adults: interactions with insulin resistance and obesity. *Clin Sci* 2006; **110**: 409-425.
12. Weinstein AR, Sesso HD. Joint effects of physical activity and body weight on diabetes and cardiovascular disease. *Exerc Sport Sci Rev* 2006; **34**: 10-15.
13. LaMonte MJ, Blair SN. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and adiposity: contributions to disease risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; **9**: 540-546.
14. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Kavouras S, Stefanadis C. The associations between activity, inflammation, and coagulation markers, in people with metabolic syndrome: the ATTICA study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; **12**: 151-158.
15. Elosua R, Bartali B, Ordovas JM, Corsi AM, Lauretani F, Ferrucci L, *et al.* Association between physical activity, physical performance, and inflammatory biomarkers in an elderly population: the InCHIANTI study. *J Gerontol Med Sci* 2005; **60A**: 760-767.
16. McFarlin BK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, Stewart LK, *et al.* Physical activity status, but not age, influences inflammatory biomarkers and toll-like receptor 4. *J Gerontol Med Sci* 2006; **61A**: 388-393.
17. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Kavouras S, Stefanadis C. The associations between leisure-time physical activity and inflammatory and coagulation markers related to cardiovascular disease: the ATTICA study. *Prev Med* 2005; **40**: 432-437.
18. Geffken DF, Cushman M, Burke GL, Polak JF, Sakkinen PA, Tracy RP. Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population. *Am J Epidemiol* 2001; **153**: 242-250.
19. Platat C, Wagner A, Klumpp T, Schweitzer B, Simon C. Relationships of physical activity with metabolic syndrome features and low-grade inflammation in adolescents. *Diabetologia* 2006; **49**: 2078-2085.
20. Verdaet D, Dendale P, De Bacquer D, Delanghe J, Block P, De Backer G. Association between leisure time physical activity and markers of chronic

- inflammation related to coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2004; **176**: 303-310.
21. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, *et al.* Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health, Aging and Body Composition [Health ABC] Study). *Am J Cardiol* 2003; **92**: 522-528.
  22. Kullo IJ, Khaleghi M, Hensrud DD. Markers of inflammation are inversely associated with  $VO_{2max}$  in asymptomatic men. *J Appl Physiol* 2007; **102**: 1374-1379.
  23. Ravussin E, Bogardus C. A brief overview of human energy metabolism and its relationship to essential obesity. *Am J Clin Nutr* 1992; **55**: 242S-245S.
  24. Utaka S, Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Andreoni S, Cuppari L. Inflammation is associated with increased energy expenditure in patients with chronic kidney disease. *Am J Clin Nutr* 2005; **82**: 801-805.
  25. Arshad A, Rashid R, Benjamin K. The effect of disease activity on fat-free mass and resting energy expenditure in patients with rheumatoid arthritis versus noninflammatory arthropathies/soft tissue rheumatism. *Mod Rheumatol* 2007; **17**: 470-475.
  26. Nguyen LT, Bedu M, Caillaud D, Beaufrère B, Beaujon G, Vasson M, *et al.* Increased resting energy expenditure is related to plasma TNF- $\alpha$  concentration in stable COPD patients. *Clin Nutr* 1999; **18**: 269-274.
  27. Rush EC, Plank LD, Yajnik CS. Interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$  and insulin relationships to body composition, metabolism and resting energy expenditure in a migrant Asian Indian population. *Clin Endocrinol* 2007; **66**: 684-690.
  28. Faraj M, Messier L, Bastard J-P, 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**: 1637-1646.
  29. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, St-Pierre DH, Brochu M, Prud'homme D, *et al.* The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 4145-4150.

30. St-Onge M, Mignault D, Allison DB, Rabasa-Lhoret R. Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults. *Am J Clin Nutr* 2007; **85**: 742-749.
31. Goran MI, Poehlman ET. Total energy expenditure and energy requirements in healthy elderly persons. *Metabolism* 1992; **41**: 744-753.
32. Black AE, Coward WA, Cole TJ, Prentice AM. Human energy expenditure in affluent societies: an analysis of 574 doubly-labelled water measurements. *Eur J Clin Nutr* 1996; **50**: 72-92.
33. Reed GW, Hill JO. Measuring the thermic effect of food. *Am J Clin Nutr* 1996; **63**: 164-169.
34. Schectman G, Patsches M, Sasse EA. Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations. *Clin Chem* 1996; **42**: 732-737.
35. Sniderman A, Vu H, Cianflone K. Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels. *Atherosclerosis* 1991; **89**: 109-116.
36. Sacks FM. The apolipoprotein story *Atherosclerosis* 2006; **7**: 23-27.
37. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* 2004; **44**: 6-11.
38. Mahabir S, Baer DJ, Giffen C, Clevidence BA, Campbell WS, Taylor PR, *et al*. Comparison of energy expenditure estimates from 4 physical activity questionnaires with doubly labeled water estimates in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2006; **84**: 230-236.
39. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990; **265**: 621-636.
40. Bruun JM LA, Madan AK, Pedersen SB, Schiott KM, Fain JN, Richelsen B. Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; **286**: E8-E13.
41. Levine JA. Nonexercise activity thermogenesis - liberating the life-force. *J Intern Med* 2007; **262**: 273-287.

42. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, *et al.* Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 2002; **347**: 1483-1492.
43. Rizzo M, Berneis K, Corrado E, Novo S. The significance of low-density-lipoproteins size in vascular diseases. *Int Angiol* 2006; **25**: 4-9.
44. Hansson GK, Robertson A-KL, Söderberg-Naucler C. Inflammation and atherosclerosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2006; **1**: 297-329.
45. Franks PW, Farooqi IS, Luan J, Wong M-Y, Halsall I, O'Rahilly S, *et al.* Does Physical Activity Energy Expenditure Explain the Between-Individual Variation in Plasma Leptin Concentrations after Adjusting for Differences in Body Composition? *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 3258-3263.
46. Woolf K, Reese CE, Mason MP, Beaird LC, Tudor-Locke C, Vaughan LA. Physical activity is associated with risk factors for chronic disease across adult women's life cycle. *J Am Diet Assoc* 2008; **108**: 948-959.
47. van Dielen FMH, van't Veer C, Schols AM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JWM. Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals. *Int J Obes* 2001; **25**: 1759-1766.
48. Shamsuzzaman ASM, Winnicki M, Wolk R, Svatikova A, Phillips BG, Davidson DE, *et al.* Independent association between plasma leptin and C-reactive protein in healthy humans. *Circulation* 2004; **109**: 2181-2185.
49. Scott HR, McMillan DC, Watson WS, Milroy R, McArdle CS. Longitudinal study of resting energy expenditure, body cell mass and the inflammatory response in male patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001; **32**: 307-312.
50. Richie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O, Ledue TB, Craig WY. Reference distributions for the positive acute phase serum proteins, alpha1-acid glycoprotein (orosomuroid), alpha1-antitrypsin, and haptoglobin: a practical, simple, and clinically relevant approach in a large cohort. *J Clin Lab Analysis* 2000; **14**: 284-292.

**Table 1.** Anthropometric characteristics of overweight and obese postmenopausal women

Characteristics	PAEE (kcal/day)			
	Total (n=152)	Low (<730) (n=51)	Intermediate (730-1100) (n=50)	High (>1100) (n=51)
<b>Anthropometric parameters</b>				
Age (years)	57.5 (56.7-58.3)	58.5 (57.1-59.9)	57.0 (55.7-58.3)	57.0 (55.7-58.3)
Weight (kg)	84.4 (82.2-86.6)	<b>80.8</b> (77.3-84.3)	86.1 (82.2-89.9)	<b>86.4</b> (82.2-90.6) <sup>a</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	32.5 (31.8-33.2)	31.5 (30.4-32.7)	32.8 (31.7-33.9)	33.1 (31.8-34.4)
Fat mass (kg)	39.3 (37.8-40.8)	<b>37.0</b> (34.6-39.3)	40.3 (38.1-42.8)	<b>40.5</b> (37.6-43.4) <sup>a</sup>
Lean body mass (kg)	42.7 (41.7-43.6)	41.4 (39.9-42.9)	43.1 (41.3-45.0)	43.5 (41.7-45.2)
VAT (cm <sup>2</sup> ) (n=151) <sup>1</sup>	188 (179-197)	186 (170-202)	194 (177-211)	184 (171-198)
SAT (cm <sup>2</sup> ) (n=151) <sup>1</sup>	476 (476-494)	449 (419-478)	490 (459-522)	490 (456-523)

Mean (95% CI). For significant difference <sup>a</sup> between high vs low PAEE. (N.B. <sup>1</sup> n=50 in high PAEE)

**Table 2.** Metabolic characteristics of overweight and obese postmenopausal women

Characteristics	PAEE (kcal/day)			
	Total (n=152)	Low (<730) (n=51)	Intermediate (730-1100) (n=50)	High (>1100) (n=51)
Metabolic parameters				
Fasting glycemia (mmol/L) (n=151) <sup>1</sup>	5.21 (5.13-5.30)	5.23 (5.09-5.38)	5.19 (5.03-5.35)	5.22 (5.07-5.36)
Fasting insulin (μU/mL) (n=149) <sup>2</sup>	15.1 (14.1-16.2)	14.7 (13.0-16.4)	16.2 (14.0-18.4)	14.5 (12.9-16.1)
Total cholesterol (mmol/L)	5.32 (5.18-5.46)	5.43 (5.19-5.66)	5.30 (5.04-5.56)	5.24 (4.99-5.50)
HDL-C (mmol/L)	1.45 (1.40-1.50)	1.39 (1.32-1.46)	1.46 (1.36-1.56)	1.50 (1.40-1.60)
LDL-C (mmol/L)	3.13 (3.01-3.26)	3.18 (2.99-3.38)	3.10 (2.87-3.32)	3.12 (2.90-3.34)
Triglycerides (mmol/L)	1.60 (1.48-1.72)	<b>1.83</b> (1.60-2.06)	1.62 (1.41-1.84)	<b>1.35</b> (1.18-1.52) <sup>a</sup>
apoB (g/L)	1.00 (0.96-1.03)	<b>1.07</b> (1.00-1.13)	<b>1.01</b> (0.95-1.08)	<b>0.91</b> (0.85-0.97) <sup>a,b</sup>
apoA1 (g/L)	1.43 (1.40-1.46)	1.42 (1.37-1.47)	1.44 (1.38-1.49)	1.44 (1.36-1.51)
LDL-C / apoB	3.18 (3.09-3.27)	3.01 (2.91-3.11)	<b>3.08</b> (2.91-3.26)	<b>3.45</b> (3.29-3.62) <sup>a,b</sup>
Leptin (ng/mL)	22.8 (21.4-24.3)	21.5 (19.2-23.8)	24.6 (21.9-27.2)	22.5 (19.8-25.2)

Mean (95% CI). For significant difference <sup>a</sup> between high vs low PAEE, <sup>b</sup> between high vs intermediate PAEE. (N.B. <sup>1</sup> n=50 in low PAEE, <sup>2</sup> n=50 in low and high PAEE and n=49 in intermediate PAEE)

**Table 3.** Components of energy expenditure, cardiorespiratory fitness and inflammatory markers levels of overweight and obese postmenopausal women

Characteristics	PAEE (kcal/day)			
	Total (n=152)	Low (<730) (n=51)	Intermediate (730-1100) (n=50)	High (>1100) (n=51)
<b>Energy expenditure</b>				
TEE (kcal/d)	2506 (2442-2569)	<b>2112</b> (2053-2171)	<b>2511</b> (2444-2579) <sup>c</sup>	<b>2894</b> (2824-2964) <sup>a,b</sup>
REE (kcal/d)	1326 (1297-1355)	1314 (1264-1364)	1336 (1282-1390)	1328 (1279-1378)
PAEE (kcal/d)	929 (880-979)	<b>587</b> (553-621)	<b>924</b> (896-953) <sup>c</sup>	<b>1276</b> (1233-1319) <sup>a,b</sup>
VO <sub>2</sub> peak (L/min)	1.48 (1.44-1.53)	1.42 (1.35-1.48)	1.49 (1.40-1.57)	1.55 (1.47-1.63)
<b>Inflammatory markers</b>				
IL-6 (pg/mL) (n=147) <sup>1</sup>	1.43 (0.35-7.23)	1.39 (0.40-4.96)	1.48 (0.52-4.56)	1.42 (0.35-7.23)
sTNFR1 (pg/mL) (n=119) <sup>2</sup>	941 (906-976)	903 (853-953)	947 (871-1022)	977 (921-1034)
hsCRP (mg/L)	2.98 (2.65-3.31)	<b>3.15</b> (2.56-3.74)	3.22 (2.61-3.83)	<b>2.59</b> (2.05-3.14) <sup>a</sup>
Orosomucoid (g/L)	0.84 (0.82-0.87)	0.87 (0.81-0.92)	0.84 (0.79-0.89)	0.82 (0.78-0.87)
Haptoglobin (g/L)	1.29 (1.22-1.36)	<b>1.41</b> (1.27-1.54)	1.29 (1.15-1.42)	<b>1.17</b> (1.06-1.28) <sup>a</sup>
WBC (x10 <sup>9</sup> /L) (n=149) <sup>3</sup>	5.80 (5.59-6.02)	5.89 (5.50-6.28)	5.74 (5.40-6.09)	5.77 (5.38-6.16)

Mean (95% CI). For significant difference <sup>a</sup> between high vs low PAEE, <sup>b</sup> between high vs intermediate PAEE and <sup>c</sup> between intermediate vs low PAEE after adjustment for fat mass. (N.B. <sup>1</sup> n=49 in each tertile, <sup>2</sup> n=41 in low and high PAEE and n=37 in intermediate PAEE and <sup>3</sup> n=49 in intermediate and high PAEE)

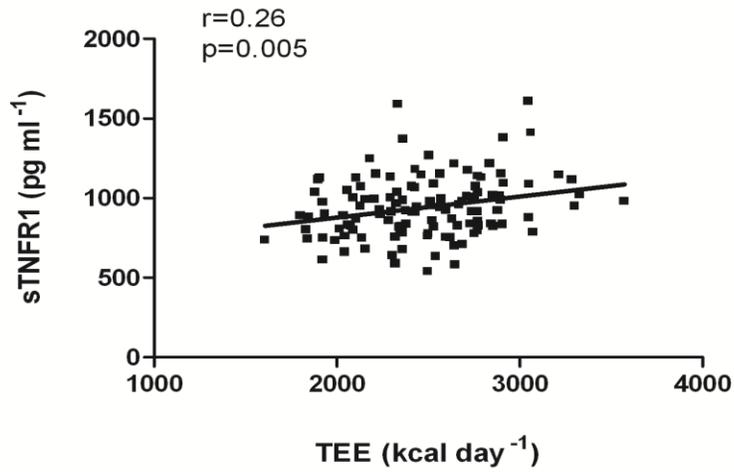
**Table 4.** Stepwise forward regression analyses for the prediction of inflammatory markers by the components of energy expenditure and cardio-respiratory fitness.

<b>Dependent variable</b>	<b>Step</b>	<b>Independent variables</b>	<b>Constant</b>	<b>Coefficients</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p-value</b>
IL-6			0.47			
		Fat mass		0.02		0.002
sTNFR1			680.42			
		Fat mass		6.81		<0.001
hsCRP			0.79			
	1.	PAEE		-0.00	0.14	0.04
Orosomuroid			0.55			
	1.	Fat mass		-0.00		0.91
		REE		0.00	0.05	0.02
Haptoglobin			1.29			
	1.	Fat mass		0.01		0.12
		PAEE		-0.00	0.04	0.02
WBC			5.16			
		Fat mass		0.02		0.17

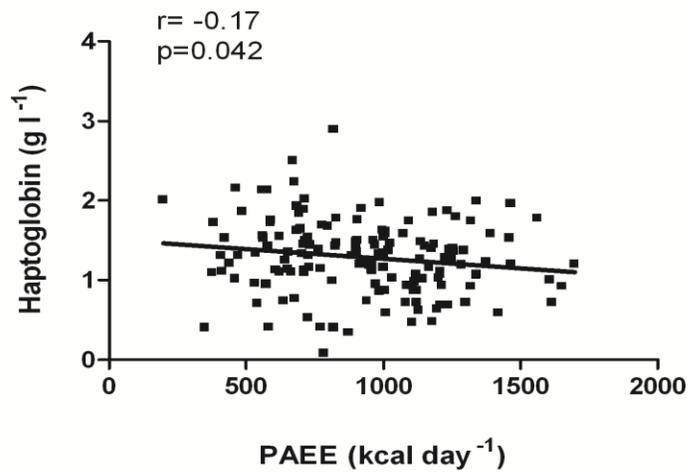
Independent variables included in each model were TEE, REE, PAEE and VO<sub>2</sub>peak with adjustment for fat mass.

**Figure 1.** Correlations between inflammatory markers and components of energy expenditure. a) TEE correlated with sTNFR1 ( $r=0.26$ ,  $p=0.005$ ), b) REE correlated with sTNFR1 ( $r=0.27$ ,  $p=0.003$ ), hsCRP ( $r=0.27$ ,  $p=0.001$ ), orosomucoid ( $r=0.23$ ,  $p=0.005$ ), c) PAEE correlated with haptoglobin ( $r= -0.17$ ,  $p=0.04$ ) and d)  $VO_2$ peak correlated with sTNFR1 ( $r=0.18$ ,  $p=0.045$ ).

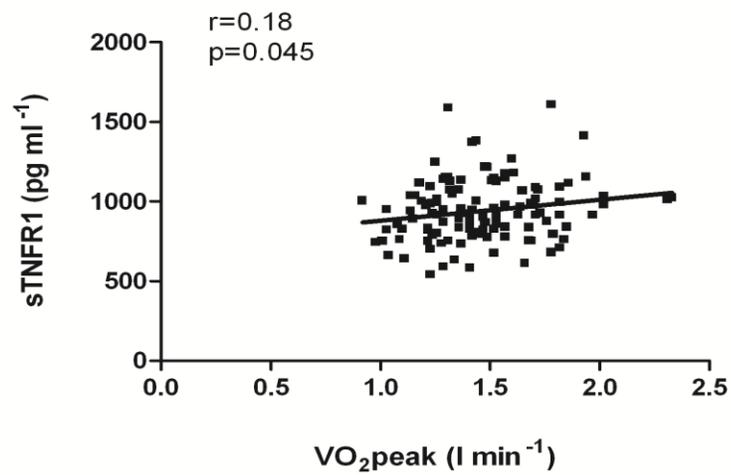
a.



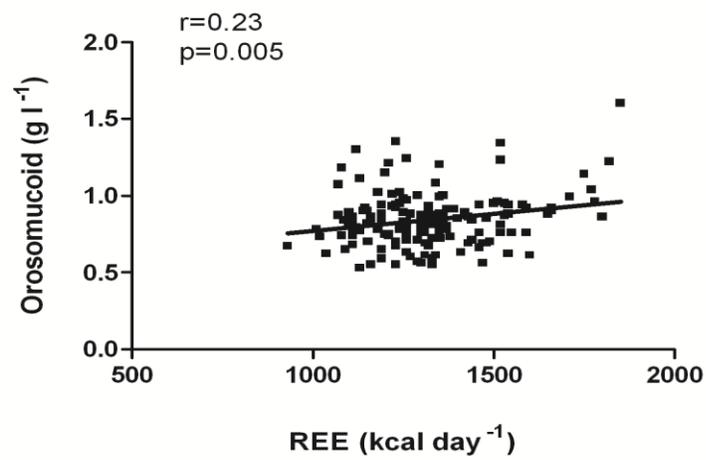
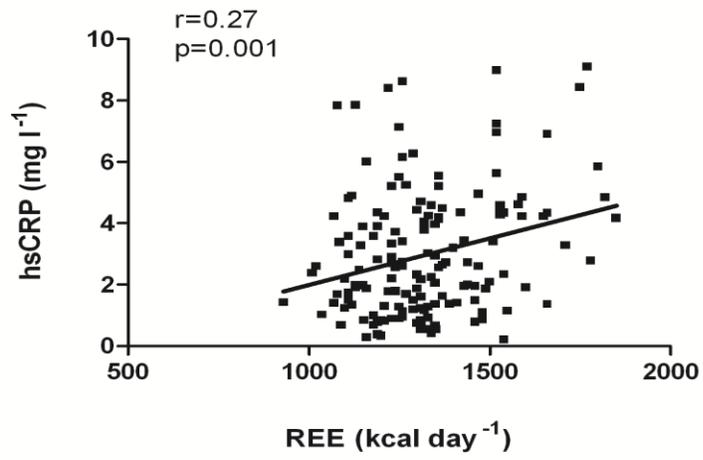
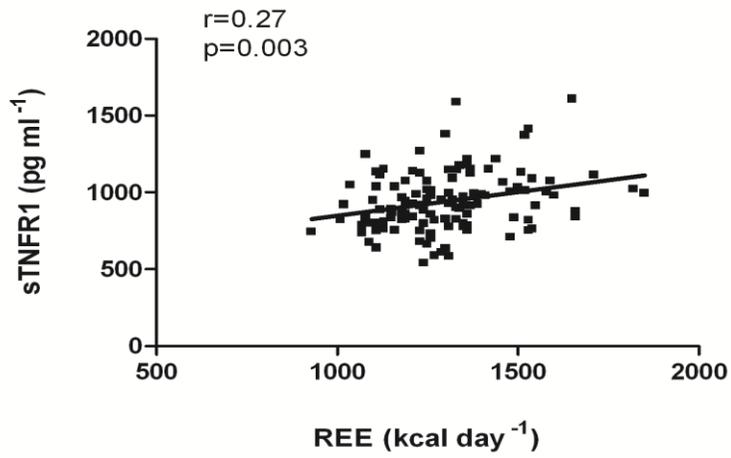
c.



d.



b.



**4.2. Manuscrit #2 intitulé : « Synergistic associations of physical activity and diet quality on cardiometabolic risk factors in overweight and obese postmenopausal women », Br J Nutr, juillet 2011, soumis pour publication**

Par **Marie-Eve Lavoie**, May Faraj, Irene Strychar, Éric Doucet, Martin Brochu, Jean-Marc Lavoie et Rémi Rabasa-Lhoret

Contribution des co-auteurs :

Marie-Eve Lavoie : émission de l'hypothèse de recherche, cueillette des données, analyses des données alimentaires et calcul du score de qualité alimentaire, analyses statistiques, interprétation des résultats, rédaction du manuscrit

May Faraj : interprétation des résultats, révision du manuscrit

Irene Strychar, Éric Doucet,

Martin Brochu et

Jean-Marc Lavoie : révision du manuscrit

Rémi Rabasa-Lhoret : interprétation des résultats de recherche, révision du manuscrit

Ce deuxième article met en évidence la relation synergique entre la qualité alimentaire et la dépense énergétique liée à l'activité physique d'une part et les profils lipidique, lipoprotéique et inflammatoire sub-clinique d'autre part. Les résultats indiquent une association synergique bénéfique de ces deux composantes sur le profil métabolique de femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses sans évidence de complications métaboliques associées à l'obésité. Ce manuscrit a été soumis pour publication à la revue scientifique *British Journal of Nutrition* (facteur d'impact 2010 : 3,072, 19<sup>e</sup> rang sur 70 dans la catégorie de la nutrition et de la diététique) en juillet 2011.

**Synergistic associations of physical activity and diet quality on cardiometabolic risk factors in overweight and obese postmenopausal women.**

Marie-Eve Lavoie<sup>1,2</sup>, May Faraj<sup>1,2,3</sup>, Irene Strychar<sup>1,3,4</sup>, Éric Doucet<sup>5</sup>, Martin Brochu<sup>6,7</sup>, Jean-Marc Lavoie<sup>8</sup>, Rémi Rabasa-Lhoret<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1A8

<sup>2</sup> Montreal Institute for Clinical Research [IRCM], Montreal, Quebec, Canada

<sup>3</sup> Montreal Diabetes Research Center [MDRC], Montreal, Quebec, Canada

<sup>4</sup> Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal [CRCHUM], Montreal, Quebec, Canada

<sup>5</sup> School of Human Kinetics, Faculty of Health Sciences, University of Ottawa, Behavioural and Metabolic Research Unit, Ottawa, Ontario, Canada

<sup>6</sup> Faculté d'éducation physique et sportive, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada

<sup>7</sup> Centre de santé et de services sociaux - Institut universitaire de gériatrie de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada

<sup>8</sup> Département de kinésiologie, Université de Montréal, Québec, Canada

Running title: Metabolic risks, exercise and diet quality

**ABSTRACT**

A healthy diet and physical activity are associated with a lower cardiometabolic risks. Little is known on whether they interact to improve the cardiometabolic profile. The purpose of the study was to determine the synergistic association of diet quality and physical activity energy expenditure (PAEE) and on cardiometabolic risk factors. This *a posteriori* analysis of two cross-sectional studies that was conducted on 124 sedentary non diabetic postmenopausal women with a BMI  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup>. Diet quality (assessed by the Canadian Healthy Eating Index (C-HEI) from a 3-day food record), PAEE (doubly-labelled water), body composition (DXA, CT-scan), blood lipid and lipoprotein profile (total, HDL and LDL cholesterol [HDL-C and LDL-C], non HDL-C, total cholesterol/HDL-C, triglycerides, apoA1, apoB, apoA1/apoB, LDL-C/apoB), glucose disposal, insulin sensitivity (HOMA-IR and hyperinsulinemic-euglycemic clamp) and inflammatory markers (high sensitivity C-reactive protein [hsCRP], haptoglobin, orosomucoid, interleukin-6, white blood cell) were measured. Hierarchical regressions and fat mass-adjusted ANOVA determined the interaction between PAEE and C-HEI. In the hierarchical regressions, the interaction PAEE $\times$ C-HEI was a correlate of more favourable values of HDL-C, apoB, apoA1/apoB and LDL-C/apoB ratios, and hsCRP while only PAEE was a correlate of haptoglobin. Compared to those in the Low PAEE/Low C-HEI group, women in the High PAEE/High C-HEI group had 10% higher HDL-C, 10% lower apoB, 15% larger LDL particles and 20% lower hsCRP concentrations ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** PAEE and C-HEI have a synergistic association on cardiometabolic profile. These results support the integration of both diet quality and physical activity in the management of obesity and cardiometabolic risk profile.

## INTRODUCTION

Obesity has reached pandemic proportions and is associated with increased risk of several diseases, including type 2 diabetes (T2D), cardiovascular diseases (CVD) and some cancers <sup>(1)</sup>. Interventions intended to prevent or delay the development of these chronic diseases include lifestyle modifications focused on improving dietary habits, physical activity and weight management. Healthy diets include high consumption of dietary fibers and polyunsaturated fatty acids, moderate alcohol consumption, and low intake of red meat and sugar-sweetened beverages <sup>(2,3)</sup>. These diets are associated with a healthier plasma lipoprotein profile, glucose and inflammatory markers, as well as lower incidence of the metabolic syndrome, T2D and CVD, independently of adiposity and physical activity <sup>(4-8)</sup>. While the latter studies focused on specific aspects of the diet, others investigated the relation between the overall diet quality, which is a reflection of the global effect of dietary factors, and the cardiometabolic risk factors <sup>(9, 10)</sup>. The Healthy Eating Index (HEI) is a widely used diet quality index that evaluates the adherence of individuals to the US dietary intake recommendations <sup>(11)</sup>. A higher HEI is associated with lower BMI, C-reactive protein (CRP), glucose and glycated haemoglobin (HbA<sub>1C</sub>), as well as with a better endothelial function <sup>(9, 12, 13)</sup>. Similarly, and independent of adiposity and energy intake, high levels of physical activity are associated with a better plasma lipoprotein profile <sup>(14)</sup> and a lower sub-clinical inflammation <sup>(15)</sup>, metabolic syndrome, T2D risk <sup>(16, 17)</sup> and mortality <sup>(18)</sup>.

We have recently shown that higher levels of physical activity energy expenditure (PAEE) are associated with a better inflammatory profile (reduced serum concentration of CRP and haptoglobin) in overweight and obese sedentary postmenopausal women <sup>(15)</sup>. As previously stated by Joosten *et al.* <sup>(19)</sup>, healthy lifestyle behaviours (diet, physical activity, weight loss) “are often intercorrelated and may be most effective when present in combination”. To our knowledge there has been no report examining the effect of the combination of overall diet quality, such as determined by the C-HEI, and physical activity on cardiometabolic risk factors in comparison to their effects taken separately. Therefore, the objective of the present study was to investigate whether PAEE and C-HEI have synergistic associations on a large panel of clinical and biochemical

cardiometabolic risk factors in overweight and obese sedentary women. We hypothesized that higher PAEE combined with a better C-HEI would have a synergistic beneficial association on the cardiometabolic risk factors than high PAEE or better C-HEI alone.

## **SUBJECTS AND METHODS**

### Subjects

The cohort examined in this cross-sectional *a posteriori* analysis was pooled from two hypocaloric-dietary intervention studies in similar populations. The 2 studies included non-diabetic overweight and obese postmenopausal women who were examined by our research team from 2003 to 2007: the Montreal-Ottawa New Emerging Team (MONET) Study (n=137) <sup>(20)</sup> and the Complication Associated with Obesity (CAO) Study (n=37) <sup>(15)</sup>. Subjects from both studies were recruited by newspaper advertisements. Both studies were approved by the University of Montreal ethics committee and all subjects gave written, informed consent before the study started.

As previously described <sup>(15, 20)</sup>, postmenopausal women were included in the 2 studies if they: 1) had biological confirmation of the menopause status and without hormone replacement therapy, 2) had a body mass index (BMI)  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup> ( $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> for the CAO study), 3) aged between 46 to 70 years old, 4) were non-smokers, 5) were sedentary (< 3h of structured exercise per week for the CAO study and < 2h for the MONET study) and 6) were not taking medications known to interfere with metabolism except stable hypothyroidism replacement therapy. All participants were free of chronic or inflammatory diseases and no history of alcohol or drug abuse.

Of the 174 subjects recruited in the 2 studies, 124 subjects (88 from MONET study and 36 from CAO study) had a complete set of baseline data for all components of energy expenditure, dietary intake and cardiometabolic risk factors and were thus included in the present analysis.

### Body composition and body fat distribution

Body weight was measured to the nearest 0.1 kg on a calibrated balance (Balance Industrielle Montréal, Montréal, Québec, Canada) and subject's height was obtained with a standard stadiometer (Perspective Enterprises, Portage, Michigan, USA). Then, BMI was calculated as body weight (kg)/height (m)<sup>2</sup> <sup>(21)</sup>. Measurements of total lean body mass and fat mass was done by dual X-ray absorptiometry while visceral and

subcutaneous adipose tissue (VAT and SAT) were measured by abdominal CT-scan, as previously described <sup>(15, 20)</sup>.

#### Energy expenditure and cardiorespiratory fitness

Total energy expenditure was assessed by doubly labelled water and resting energy expenditure was determined by indirect calorimetry, as previously described (22). PAEE was calculated from the following equation: PAEE = (total energy expenditure x 0.90) – resting energy expenditure <sup>(23)</sup>, where thermic effect of food was assumed as 10% of total energy expenditure <sup>(24)</sup>.

Cardiorespiratory fitness (VO<sub>2</sub> peak) was assessed by a graded exercise test on an ergocycle Ergoline 900 (Bitz, Germany), as previously described <sup>(15)</sup>. Briefly, the highest value obtained during the test was considered as the peak VO<sub>2</sub> (L/min). That value was then divided by the body weight to give the relative VO<sub>2</sub> peak (L/min/kg). Expired gas was analyzed during the exercise protocol using an Ergocard (software version 6; MediSoft, Dinant, Belgium) cardiopulmonary exercise test station. A successful VO<sub>2</sub> peak was obtained when three of the following criteria were reached: respiratory exchange ratio above 1.1; heart rate within 10 bpm. of the maximal predicted heart rate value (220-age); volitional cessation of exercise by the subject; plateau in oxygen consumption for 60 s.

#### Diet quality

Food and nutrient intakes were assessed with a 3-day food record at baseline, during a weight stabilization period, as previously described <sup>(25)</sup>. Briefly, subjects were instructed by a registered dietitian on how to record food intake, including condiments and beverages, over two weekdays and one weekend day while maintaining their usual habits. Analyses were conducted with the Food Processor SQL program (Food Processor SQL Edition, version 9.6.2, 2004, ESHA Research, Salem, OR, USA), using the 2001 Canadian Nutrient Data File and the US Department of Agriculture (USDA) database (when foods were not available in the Canadian Nutrient Data File). Mean intake of

three days for energy from total and saturated fat, cholesterol and sodium intake were calculated for each subject.

Each record was further analyzed to establish a score of diet quality. The index used in this study was one that has been previously adapted for the Canadian population by Shatenstein et al. <sup>(26)</sup>: the Canadian Healthy Eating Index (C-HEI). It has a maximum score of 100 based on 9 components: 4 major food groups assess the food guide servings (grain products, vegetables and fruits, milk products, and meat and alternatives, according to the 1997 Canada's Food Guide for Healthy Eating), 3 components assess total fat, saturated fat and cholesterol intake, 1 component assesses sodium intake and 1 component assesses the variety of food consumed. Each component is scored from 0 to 10, except for vegetables and fruits that scored from 0 to 20, all components are summed to yield a score between 0 and 100. A score of 100 indicates that the dietary guidelines for the 9 components have been fully met and a score of 0 indicates a complete lack of adherence.

#### Identification of energy intake underreporting subjects

The ratio of reported energy intake to total energy expenditure (EI/TEE) was used to identify subjects who under- or over-reported their energy intake. The cut-point of  $EI/TEE < 0.80$  was used to identify subjects who underreported their energy intake, as previously described by Black and Cole <sup>(27)</sup>. Subjects with a ratio of  $EI/TEE > 1.20$  were identified as overreporters, as previously reported <sup>(28)</sup>, and those with a ratio between 0.80 and 1.20 were considered as normo-reporters.

#### Blood analyses

Venous blood samples were collected at baseline before a 75 g oral glucose tolerance test (OGTT) and every 30 min for 2 hours thereafter. Measurements of glucose and fasting plasma total cholesterol, HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides, insulin and apolipoprotein A1 (apoA1) and B (apoB) were described elsewhere (21). LDL-cholesterol (LDL-C) was calculated according to the Friedewald equation <sup>(29)</sup>. Non HDL-C and total cholesterol/HDL-C were also calculated. The size of LDL particles

was estimated as LDL-C/apoB ratio <sup>(30)</sup>. Serum high sensitive CRP (hsCRP), orosomucoid, haptoglobin, IL-6 and white blood cell count (WBC) were assessed, as previously described <sup>(15, 21)</sup>. Four women with hsCRP > 10 mg/L were excluded from the analysis in this study as such an elevated hsCRP suggests an acute inflammatory state <sup>(31)</sup>.

#### Insulin sensitivity

Insulin sensitivity was estimated using the fasting homeostasis model assessment (HOMA-IR) according to the formula of Matthews et al. <sup>(32)</sup>. Insulin sensitivity was also measured by measuring the glucose disposal rate during a hyperinsulinemic euglycemic clamp, as described previously <sup>(33)</sup>. Glucose disposal rates during the clamp were expressed as mg/min/kg fat-free mass.

#### Blood pressure

Sitting BP was determined after subjects had rested quietly for 10 min, using a Dinamap automatic machine (Welch Allyn, San Diego, CA, USA).

#### Statistical analysis

All data are presented as mean  $\pm$  SEM. The synergistic associations of PAEE and C-HEI on clinical and biochemical cardiometabolic risk factors were determined by a hierarchical regression. The cardiometabolic risk factors were entered as dependent variable and the independent variables were entered in the models as follow: the first bloc (stepwise) included BMI, total fat mass and VAT as independent variables to control for the potential effect of body composition on the relationships between PAEE/C-HEI and cardiometabolic risk factors, and the second bloc (stepwise) included PAEE, C-HEI and their interaction (PAEE x C-HEI) all means adjusted. When the interaction PAEE x C-HEI was a predictor of cardiometabolic risk factors, the magnitude of this interaction was then determined by an analysis of variance (ANOVA) adjusted for total fat mass or BMI (for clinical relevance), except for the anthropometric parameters. To do so, subjects were separated into four groups according to their PAEE level and diet quality score based on the median of the whole cohort (high and/or low

levels of PAEE and C-HEI; cut off used: median of PAEE = 958 kcal/d, median of C-HEI = 83.3). Results from the ANOVA adjusted for fat mass are presented in Tables 1 and 2. HOMA-IR, IL-6 and high sensitive CRP were log-transformed both in the hierarchical regression and the ANOVA analyses because they were not normally distributed. All statistical analysis was performed using Statistical Package for the Social Sciences software (SPSS, version 17.0.1, 2008, Chigaco, IL) and significance was set at  $P < 0.05$  two-sided.

## RESULTS

As shown in **Table 1**, women included in the present analysis had a mean age of  $57 \pm 0.4$  years and a mean BMI of  $33.0 \pm 0.4$  kg/m<sup>2</sup>. They were considered as relatively healthy based on values for glycemia, blood lipids and blood pressure. The mean HEI-C score for the whole cohort was  $83.2 \pm 0.8$  with two-third of the women having a diet quality classified as “good” (C-HEI score > 80) and none having a “poor” diet (Fig. 1a). Because of the large number of subjects (> 69 %) meeting the recommended intake for 4 out of 9 components of the C-HEI index (Fig. 1b), we used only the total C-HEI score in further analyses. The mean PAEE of the whole cohort was  $950 \pm 27$  kcal/d (Table 1) with a wide range of values (197-1697 kcal/d).

Considering the importance of underreporting energy intake in overweight and obese individuals<sup>(28)</sup>, the impact of underreporting on the C-HEI score was determined. In our cohort, 73 women were characterized as underreporters, 44 were normo-reporters and 7 were overreporters. The mean $\pm$ SEM of C-HEI score of the underreporters ( $83.8 \pm 1.1$ ) and the overreporters ( $76.0 \pm 4.4$ ) were not different from the one of the normo-reporters ( $83.3 \pm 1.2$ ) (under- vs normo-reporters:  $P = 0.76$ ; over- vs normo-reporters:  $P = 0.10$ ) and were thus combined in the further analyses.

The synergistic association of PAEE and C-HEI on the cardiometabolic risk factors was first determined by a hierarchical regression. As shown in Table 2, based on our model, the interaction PAEE x C-HEI and VAT explained 13% of the variance observed in HDL-C ( $P < 0.005$ ) while PAEE x C-HEI, BMI and VAT explained 24% of the variance in LoghsCRP ( $P < 0.05$ ). Furthermore, the interaction PAEE x C-HEI was the only correlate of apoB ( $P < 0.01$ ), LDL-C/apoB ( $P < 0.01$ ) and apoA1/apoB ( $P < 0.01$ ) levels. PAEE independently predicted the inter-individual variance in haptoglobin ( $P < 0.05$ ) while C-HEI was not associated with any of the cardiometabolic risk factors. Total fat mass was an independent correlate of total cholesterol, resting diastolic blood pressure and orosomucoid ( $P < 0.05$ ). BMI independently explained 10% of the variance in IL-6 ( $P < 0.001$ ) while VAT was an independent correlate of total cholesterol/HDL-C ( $P < 0.05$ ), resting systolic blood pressure ( $P < 0.05$ ), fasting insulin ( $P < 0.001$ ), LogHOMA-

IR ( $P < 0.001$ ), glucose disposal rate ( $P < 0.01$ ) and white blood cells ( $P < 0.01$ ). Both VAT and BMI were independent correlates of fasting glycemia ( $P < 0.05$ ). LDL-C and non HDL-C were not associated with any of the independent variables included in the model.

In order to further determine the magnitude of the synergistic association between PAEE and C-HEI on the cardiometabolic risk factors, subjects were divided into four groups according to their PAEE levels and C-HEI score. Results of the ANOVAs showed no difference among the four groups for age, body weight, BMI, total lean body mass and fat mass, visceral and subcutaneous fat mass and systolic and diastolic blood pressure (Table 1).

ANOVAs adjusted for total fat mass showed no difference among groups for total cholesterol, LDL-C, triglycerides, non HDL-C, total cholesterol/HDL-C, apoA1, fasting glycemia and insulinemia as well as insulin sensitivity were similar among the groups (Table 1).

Women in the High PAEE/High C-HEI group had lower levels of apoB than those in the Low PAEE/Low C-HEI group ( $P < 0.05$ ). Women in the High PAEE/High C-HEI group also had higher apoA1/apoB ( $P < 0.05$ ) and LDL-C/apoB ratios than the three other groups ( $P < 0.01$ ) (Fig. 2). They also had higher levels of HDL-C than women in the Low PAEE/High C-HEI and High PAEE/Low C-HEI groups ( $P < 0.05$ ) and lower hsCRP than those in the High PAEE/Low C-HEI group ( $P < 0.05$ ).

Women in the two High PAEE groups had higher levels of TEE ( $P < 0.05$ ) while no difference was observed for REE among groups (Table 3). The cardiorespiratory capacity ( $VO_2$  peak) of the High PAEE/High C-HEI group was higher than the one of women in the Low PAEE/Low C-HEI group when the analysis was adjusted for BMI ( $P = 0.045$ ), but did not reach statistical significance when adjusted for fat mass ( $P = 0.06$ ) (Table 3).

Women in the High PAEE/High C-HEI groups had lower concentrations of hsCRP than those in the High PAEE/Low C-HEI group ( $P < 0.05$ ) (Table 3). No significant difference was observed with individuals of the two other groups. Compared to those in the Low PAEE/Low C-HEI group, women in the two High PAEE groups had lower concentrations of haptoglobin ( $P < 0.05$ ). Finally, no difference in IL-6, orosomucoid and WBC levels was observed.

## DISCUSSION

Our main results showed that the combination of higher diet quality and PAEE have a modest but significant synergistic association with blood lipoprotein profile (HDL-C, apoB, apoA1/apoB, LDL-C/apoB) and sub-clinical inflammation (hsCRP) in women even after adjustments for adiposity.

Accumulating evidence from interventional studies indicates that the adoption of a healthy diet and an active lifestyle, as well as weight loss can improve blood lipoprotein profile, glucose tolerance and sub-clinical inflammation, which reduce the risk for T2D<sup>(34-37)</sup>. For example, in the *Diabetes Prevention Program*, subjects with impaired glucose tolerance reduced their risk for T2D either by losing body weight, while keeping their sedentary lifestyle, or by improving physical activity, without any significant weight loss<sup>(17)</sup>. A few studies have investigated the separate effect of these lifestyle behaviours in comparison to their combination on the risks for T2D<sup>(17, 36, 38)</sup>. No significant effect of dietary modifications alone on T2D incidence was reported in two of them<sup>(17, 36)</sup>. Despite the cross-sectional design of our study, our results suggest that improving both diet quality and physical activity is associated with lower cardiometabolic risk factors (i.e. better blood lipoprotein profile and lower CRP) more than either factor alone, independently of the level of adiposity. This suggests that a reduction in incidence of obesity-related cardiometabolic complications in an obese but otherwise relatively healthy population may be possible with improvement in diet quality and physical activity, independently of adiposity. Further investigations using high risk individuals for T2D and coronary heart diseases are required to validate this hypothesis.

Kraus et al.<sup>(14)</sup> reported that physical activity was associated with favourable changes in the lipoprotein profile in sedentary overweight individuals. However, no association was reported between diet quality (assessed by the original HEI), and total cholesterol, HDL-C and LDL-C<sup>(13, 39, 40)</sup>. To our knowledge, there is no study that investigated the association between diet quality and the number or size of atherogenic lipoproteins. We have previously reported that postmenopausal overweight and obese sedentary women with higher levels of PAEE have lower concentrations of inflammatory markers as well

as a healthier lipoprotein and blood lipid profiles (lower levels of triglycerides and apoB, larger LDL size) <sup>(15)</sup>. Here we further report that women in the High PAEE/High C-HEI group had higher concentrations of HDL-C and apoA1/apoB ratio, lower concentrations of atherogenic particles (apoB), and larger LDL size (estimated by LDL-C/apoB) compared to women in the Low PAEE/Low C-HEI group. Thus combining a higher diet quality to a higher PAEE seems to have a greater association with these lipoprotein parameters than a higher PAEE alone. Larger LDL particles are less atherogenic than smaller denser ones <sup>(41)</sup>, and HDL-C is inversely and independently related to the risk of coronary heart disease and mortality <sup>(42, 43)</sup>. Moreover, the ratio apoA1/apoB reflects the balance between anti- and pro-atherogenic particles <sup>(44)</sup> and is predictive of cardiovascular events <sup>(45, 46)</sup>. Our study is the first to show a favourable synergistic association of diet quality and PAEE on blood lipids and lipoprotein profile in obese subjects. Of note, the lack of difference in triglycerides, total cholesterol and LDL-C levels between our groups may be secondary to selection bias, as our study included relatively healthy obese postmenopausal women (total cholesterol < 7.8 mmol/L, triglycerides < 4.5 mmol/L) whereas there was no cut-points for HDL-C, apoB or apoA1. Thus limited variations within the normal range of cholesterol and triglyceride levels may have limited group differences.

Obesity-associated sub-clinical inflammation is associated with several cardiometabolic diseases including T2D and CVD <sup>(47, 48)</sup>. The original HEI has been inversely associated with CRP <sup>(12)</sup> after adjustment for potential confounding factors like physical activities. We previously showed that a high level of PAEE is associated with lower concentrations of hsCRP and haptoglobin in overweight/obese postmenopausal women <sup>(15)</sup>. In the present analysis, only the women with a combination of high PAEE and C-HEI had lower hsCRP and not those with high PAEE but low C-HEI. Thus the effect of PAEE on CRP is dependent on the concomitant presence of a high diet quality, which was not evaluated in our previous publication <sup>(15)</sup>. On the other hand, haptoglobin levels do not seem to be affected by the diet quality as PAEE remains its sole correlate in our study. Of note, PAEE levels measured in the present study includes both structured and non-exercise activities <sup>(49)</sup>. However, as the women included in this study were sedentary

with less than 2-3 hours of structured exercises per week, PAEE levels presented here represent mainly non-exercise activities (i.e. occupational and spontaneous physical activities).

While original HEI has been inversely associated with obesity in the *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III)<sup>(50, 51)</sup>, we found no differences in body composition or degree of adiposity between groups using the C-HEI. However, NHANES III included large populations of both sex ranging from normal body weight to obesity, while only overweight and obese postmenopausal women were included in the present analysis. Moreover, our study included women without obesity-associated chronic disease and with higher diet quality than those included in NHANES III<sup>(50, 51)</sup>. About two third of the women had a “good” diet quality score (mean score of 83.5) compared to those (mean score of 63) in NHANES III. Other studies reported lower mean HEI score (varying between 61 and 77) than the one observed in our cohort; the higher score was reported in women from the Nurses’ Health Study<sup>(9, 12, 26, 39)</sup>. It should be noted however that the women included in our analysis were recruited to participate to a weight loss study. Thus a selection bias of more motivated and health-conscious cohort may have increased the diet quality of our study.

Despite the beneficial effect of physical activity on blood pressure and insulin sensitivity<sup>(52)</sup>, we found no association between PAEE, C-HEI or their interaction with these parameters in our cohort. One study have reported a negative association between diet quality, as assessed by HEI, and blood pressure in men but not in women<sup>(53)</sup> while no study reported any association with insulin resistance. This absence of association could be secondary to a selection bias, as our study excluded women with high blood pressure (systolic blood pressure  $\leq$  160 mm Hg or diastolic blood pressure  $\leq$  100 mm Hg) and those with diabetes. This limited the variation in blood pressure and insulin resistance index might have reduced group differences in these parameters. Nevertheless, this further supports the needs to investigate the effects of PAEE and C-HEI on the cardiometabolic risk factors in populations with a more disturbed profile such as hypertensive or T2D patients.

In conclusion, our results indicate that both a good quality of food intake and greater physical activity levels are associated with a healthier cardiometabolic profile in postmenopausal sedentary overweight/obese women than either behaviour considered separately. Since the diet quality is based on the *Canadian dietary guidelines*, promotion of these guidelines together with the adaption of a higher physical activity levels, including the non-exercise related daily activity, should be underlined in the management of obesity and its associated cardiometabolic risk factors.

## **ACKNOWLEDGMENT**

We acknowledge the help of A Tardif for technical assistance in the measurement of inflammatory markers and Dr. J-P Bastard and Dr. S Fellahi for their participation on inflammatory markers analysis. We also thank L Messier (RD) and J Levasseur (RN) for the coordination of the two studies (MONET and CAO, respectively). This work was supported by the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) New Emerging Team in Obesity (University of Montreal and University of Ottawa, MONET project) and from Genome Canada-Quebec (CAO, Complications Associated with Obesity project) (to RRL), Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ) (doctoral scholarship to MEL), CIHR New Investigator Award (MF), CIHR/Merck-Frosst New Investigator Award (ED), Canadian Foundation for Innovation New Opportunities Award and an Early Research Award (Ontario) (ED), Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ) and chair for clinical research J-A de Sève at IRCM (Montreal Institute for Clinical Research) (RRL), gift of antibodies from Beckman-Coulter, France. The authors declare no conflicts of interest. The author's responsibilities were as follow: MEL and IS contributed to the analyses of the food records by the Food Processor SQL program; MEL contributed to the data collection, calculated the C-HEI score and performed statistical analyses; MEL, MF and RRL interpreted data; MEL wrote the first draft of the manuscript; and all authors contributed to the writing of the manuscript and approved the final version of the manuscript.

**REFERENCES**

1. Pi-Sunyer X (2003) The medical risks of obesity. *Postgrad Med* **121**, 21-33.
2. Du H & Feskens E (2010) Dietary determinants of obesity. *Acta Cardiol* **65**, 377-386.
3. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, *et al.* (2006) Summary of American Heart Association Diet and Lifestyle Recommendations revision 2006. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **26**, 2186-2191.
4. Pai JK, Hankinson SE, Thadhani R, *et al.* (2006) Moderate alcohol consumption and lower levels of inflammatory markers in US men and women. *Atherosclerosis* **186**, 113-120.
5. Liese AD, Weis KE, Schulz M, *et al.* (2009) Food intake patterns associated with incident type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* **32**, 263-268.
6. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, *et al.* (2004) Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr* **79**, 606-612.
7. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, *et al.* (2010). Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* **33**, 2477-2483.
8. Mozaffarian D, Kumanyika SK, Lemaitre RN, *et al.* (2003) Cereal, fruit, and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals. *JAMA* **289**, 1659-1666.
9. Fung TT, McCullough ML, Newby PK, *et al.* (2005) Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr* **82**, 163-173.
10. Wolongevicz DM, Zhu L, Pencina MJ, *et al.* (2010) Diet quality and obesity in women: the Framingham Nutrition Studies. *Br J Nutr* **103**, 1223-1229.
11. Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, *et al.* (1995) The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc* **95**, 1103-1108.
12. Ford ES, Mokdad AH & Liu S (2005) Healthy Eating Index and C-reactive protein concentration: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-1994. *Eur J Clin Nutr* **59**, 278-283.

13. Kant AK & Graubard BI (2005) A comparison of three dietary pattern indexes for predicting biomarkers of diet and disease. *J Am Coll Nutr* **24**, 294-303.
14. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, *et al.* (2002) Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med* **347**, 1483-1492.
15. Lavoie ME, Rabasa-Lhoret R, Doucet E, *et al.* (2010) Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women. *Int J Obes (Lond)* **34**, 1387-1395.
16. Karelis AD, Lavoie ME, Messier V, *et al.* (2008) Relationship between the metabolic syndrome and physical activity energy expenditure: a MONET study. *Appl Physiol Nutr Metab* **33**, 309-314.
17. Hamman RF, Wing RR, Edelstein SL, *et al.* (2006) Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care* **29**, 2102-2107.
18. Manini TM, Everhart JE, Patel KV, *et al.* (2006) Daily activity energy expenditure and mortality among older adults. *JAMA* **296**, 171-179.
19. Joosten MM, Grobbee DE, van der AD, *et al.* (2010) Combined effect of alcohol consumption and lifestyle behaviors on risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* **91**, 1777-1783.
20. Brochu M, Malita MF, Messier V, *et al.* (2009) Resistance training does not contribute to improving the metabolic profile after a 6-month weight loss program in overweight and obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* **94**, 3226-3233.
21. Faraj M, Messier L, Bastard JP, *et al.* (2006) Apolipoprotein B: a predictor of inflammatory status in postmenopausal overweight and obese women. *Diabetologia* **49**, 1637-1646.
22. St-Onge M, Mignault D, Allison DB, *et al.* (2007) Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults. *Am J Clin Nutr* **85**, 742-749.
23. Black AE, Coward WA, Cole TJ, *et al.* (1996) Human energy expenditure in affluent societies: an analysis of 574 doubly-labelled water measurements. *Eur J Clin Nutr* **50**, 72-92.

24. Reed GW & Hill JO (1996) Measuring the thermic effect of food. *Am J Clin Nutr* **63**, 164-169.
25. Strychar I, Lavoie ME, Messier L, *et al.* (2009) Anthropometric, metabolic, psychosocial, and dietary characteristics of overweight/obese postmenopausal women with a history of weight cycling: a MONET (Montreal Ottawa New Emerging Team) study. *J Am Diet Assoc* **109**, 718-724.
26. Shatenstein B, Nadon S, Godin C, *et al.* (2005) Diet quality of Montreal-area adults needs improvement: estimates from a self-administered food frequency questionnaire furnishing a dietary indicator score. *J Am Diet Assoc* **105**, 1251-1260.
27. Black AE & Cole TJ (2000) Within- and between-subject variation in energy expenditure measured by the doubly-labelled water technique: implications for validating reported dietary energy intake. *Eur J Clin Nutr* **54**, 386-394.
28. Karelis AD, Lavoie ME, Fontaine J, *et al.* (2010) Anthropometric, metabolic, dietary and psychosocial profiles of underreporters of energy intake: a doubly labeled water study among overweight/obese postmenopausal women--a Montreal Ottawa New Emerging Team study. *Eur J Clin Nutr* **64**, 68-74.
29. Schectman G, Patsches M & Sasse EA (1996) Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations. *Clin Chem* **42**, 732-737.
30. Sniderman A, Vu H & Cianflone K (1991) Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels. *Atherosclerosis* **89**, 109-116.
31. Jialal I, Devaraj S & Venugopal SK (2004) C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* **44**, 6-11.
32. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, *et al.* (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412-419.
33. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, *et al.* (2005) The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab* **90**, 4145-4150.

34. Goodpaster BH, Delany JP, Otto AD, *et al.* (2010) Effects of diet and physical activity interventions on weight loss and cardiometabolic risk factors in severely obese adults: a randomized trial. *JAMA* **304**, 1795-1802.
35. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, *et al.* (2002) Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* **346**, 393-403.
36. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, *et al.* (2001) Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* **344**, 1343-1350.
37. Belalcazar LM, Reboussin DM, Haffner SM, *et al.* (2010) A 1-year lifestyle intervention for weight loss in individuals with type 2 diabetes reduces high C-reactive protein levels and identifies metabolic predictors of change: from the Look AHEAD (Action for Health in Diabetes) study. *Diabetes Care* **33**, 2297-2303.
38. Laaksonen DE, Lindstrom J, Lakka TA, *et al.* (2005) Physical activity in the prevention of type 2 diabetes: the Finnish diabetes prevention study. *Diabetes* **54**, 158-165.
39. Weinstein SJ, Vogt TM & Gerrior SA (2004) Healthy Eating Index scores are associated with blood nutrient concentrations in the third National Health And Nutrition Examination Survey. *J Am Diet Assoc* **104**, 576-584.
40. Hann CS, Rock CL, King I, *et al.* (2001) Validation of the Healthy Eating Index with use of plasma biomarkers in a clinical sample of women. *Am J Clin Nutr* **74**, 479-486.
41. Rizzo M, Berneis K, Corrado E, *et al.* (2006) The significance of low-density-lipoproteins size in vascular diseases. *Int Angiol* **25**, 4-9.
42. Cooney MT, Dudina A, De Bacquer D, *et al.* (2009) HDL cholesterol protects against cardiovascular disease in both genders, at all ages and at all levels of risk. *Atherosclerosis* **206**, 611-616.
43. Muntner P, Lee F & Astor BC (2011) Association of High-Density Lipoprotein Cholesterol With Coronary Heart Disease Risk Across Categories of Low-

- Density Lipoprotein Cholesterol: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am J Med Sci* **341**, 173-180.
44. Walldius G & Jungner I (2004) Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med* **255**, 188-205.
  45. Walldius G, Jungner I, Aastveit AH, *et al.* (2004) The apoB/apoA-I ratio is better than the cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. *Clin Chem Lab Med* **42**, 1355-1363.
  46. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, *et al.* (2004) Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* **364**, 937-952.
  47. Pickup JC (2004) Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* **27**, 813-823.
  48. Duncan BB & Schmidt MI (2001) Chronic activation of the innate immune system may underlie the metabolic syndrome. *Sao Paulo Med J* **119**, 122-127.
  49. Levine JA (2007) Nonexercise activity thermogenesis--liberating the life-force. *J Intern Med* **262**, 273-287.
  50. Guo X, Warden BA, Paeratakul S, *et al.* (2004) Healthy Eating Index and obesity. *Eur J Clin Nutr* **58**, 1580-1586.
  51. Tande DL, Magel R & Strand BN (2010) Healthy Eating Index and abdominal obesity. *Public Health Nutr* **13**, 208-214.
  52. Bassuk SS & Manson JE (2005) Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol* **99**, 1193-1204.
  53. Drewnowski A, Fiddler EC, Dauchet L, *et al.* (2009) Diet quality measures and cardiovascular risk factors in France: applying the Healthy Eating Index to the SU.VI.MAX study. *J Am Coll Nutr* **28**, 22-29.

Table 1. Anthropometric and metabolic characteristics.

Characteristics	Total (n=124)		Low PAEE (n=33)		Low PAEE High C-HEI (n=29)		High PAEE Low C-HEI (n=29)		High PAEE High C-HEI (n=33)	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
PAEE (kcal/d)	950	27	698	30	707	30	1170	35 <sup>a</sup>	1223	29 <sup>a</sup>
C-HEI	83.2	0.8	76.8	1.0	90.3	0.7 <sup>a</sup>	74.3	1.3	91.0	0.8 <sup>a</sup>
Age (years)	57.7	0.4	58.0	0.8	58.7	0.9	56.6	0.9	56.6	0.8
Anthropometric parameters										
Body weight (kg)	86.7	1.3	86.5	2.8	83.0	2.6	91.5	2.9	86.0	2.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.0	0.4	32.5	0.8	31.8	0.7	35.1	0.9	32.8	0.7
Total fat mass (kg)	40.2	0.9	40.5	1.7	37.2	1.6	43.7	1.8	39.7	1.8
Total lean body mass (kg)	43.4	0.6	42.6	1.2	42.7	1.3	44.8	1.4	43.5	0.9
VAT (cm <sup>2</sup> )	190	5	189	8	180	9	200	11	189	9
SAT (cm <sup>2</sup> )	484	11	486	21	439	20	530	22	482	23
Systolic BP (mm Hg)	123	1	124	2	123	3	122	3	122	2
Diastolic BP (mm Hg)	77	1	78	1	76	2	77	2	77	1
Blood lipids and lipoproteins										
Total cholesterol (mmol/L)	5.35	0.07	5.39	0.13	5.28	0.17	5.16	0.15	5.53	0.14
HDL-C (mmol/L)	1.45	0.03	1.43	0.05	1.39	0.06	1.38	0.05	1.58	0.07 <sup>b,c</sup>
LDL-C (mmol/L)	3.15	0.06	3.17	0.12	3.08	0.13	3.05	0.12	3.28	0.13
Triglycerides (mmol/L)	1.64	0.07	1.66	0.14	1.85	0.18	1.60	0.14	1.47	0.11

Total cholesterol/HDL-C (mmol/L)	3.83	0.08	3.88	0.15	3.90	0.15	3.84	0.14	3.71	0.18
Non HDL-C (mmol/L)	3.90	0.07	3.95	0.13	3.89	0.15	3.78	0.13	3.96	0.15
apoB (g/L)	0.99	0.02	1.04	0.04	1.01	0.04	0.99	0.03	0.94	0.04 <sup>a</sup>
apoA1 (g/L)	1.44	0.02	1.45	0.03	1.40	0.04	1.41	0.04	1.51	0.02
LDL-C/apoB	3.20	0.05	3.07	0.08	3.05	0.07	3.11	0.11	3.53	0.11 <sup>a,b,c</sup>
apoA1/apoB	1.52	0.04	1.45	0.06	1.45	0.07	1.46	0.06	1.70	0.10 <sup>a,b,c</sup>
Glucose homeostasis										
Fasting glycemia (mmol/L)	5.24	0.05	5.35	0.1	5.28	0.09	5.07	0.09	5.26	0.10
Fasting insulin ( $\mu$ U/mL)	15.7	0.6	15.6	1.0	15.5	1.3	16.8	2.0	15.0	0.9
Glucose disposal rate (mg/kg/min)	11.5	0.3	11.6	0.6	10.7	0.6	11.6	0.08	12.2	0.6
HOMA-IR	3.7	0.2	3.8	0.3	3.7	0.4	3.8	0.5	3.5	0.6

apoA1: apolipoprotein A1, apoB: apolipoprotein B, BMI: body mass index, BP: blood pressure, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, C-HEI: Canadian Healthy Eating Index, HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance, LDL-C: low density lipoprotein cholesterol, PAEE: physical activity energy expenditure, SAT: subcutaneous adipose tissue, VAT: visceral adipose tissue, glucose disposal rate calculated from the hyperinsulinemic euglycemic clamp.

<sup>a</sup> significantly different from the Low PAEE/Low C-HEI group, <sup>b</sup> significantly different from the Low PAEE/High C-HEI group, <sup>c</sup> significantly different from the High PAEE/Low C-HEI group

**Table 2.** Hierarchical regression analysis on the association between inflammatory markers and PAEE, C-HEI and their interaction (PAEE x C-HEI).

Dependent variable	Step	Independent variable	Constant	Coefficient	Total R <sup>2</sup>	P value
Total cholesterol			6.12			
	1.	Total fat mass		-0.02	0.05	0.011
HDL-C			1.82			
	1.	VAT		-0.00		0.001
	2.	PAEE x C-HEI		0.00	0.13	0.034
Total cholesterol/HDL-C			3.20			
	1.	VAT		0.00	0.04	0.028
apoB			0.99			
	1.	PAEE x C-HEI		-0.00	0.07	0.004
LDL-C/apoB			3.21			
	1.	PAEE x C-HEI		0.00	0.10	<0.001
apoA1			1.62			
	1.	VAT		-0.00	0.05	0.017
apoA1/apoB			1.52			
	1.	PAEE x C-HEI		0.00	0.07	0.003
Systolic BP			111.57			
	1.	VAT		0.06	0.05	0.031
Diastolic BP			70.52			
	1.	Total fat mass		0.16	0.04	0.031

Fasting glycaemia		5.33		
1.	VAT	0.00		<0.001
2.	BMI	-0.03	0.11	0.035
Fasting insulinemia		2.78		
1.	VAT	0.07	0.24	<0.001
LogHOMA-IR		0.19		
1.	VAT	0.00	0.23	<0.001
Glucose disposal rate		14.80		
1.	VAT	-0.02	0.06	0.007
LogIL-6				
1.	BMI	-0.62	0.18	<0.001
LoghsCRP				
1.	BMI	-4.06		<0.001
2.	VAT	0.00		0.059
3.	PAEE x C-HEI	-0.00	0.24	0.041
Orosomuroid		0.07		
1.	Total fat mass	0.00	0.04	0.025
Haptoglobin		1.33		
1..	PAEE	0.00	0.05	0.010
WBC		4.47		
1.	VAT	0.07	0.07	0.002

Independent variables included in the model: Bloc 1 (stepwise): BMI, total fat mass, VAT, Bloc 2 (stepwise): PAEE (mean adjusted), C-HEI (mean adjusted), PAEE x C-HEI (mean adjusted).

**Table 3.** Components of energy expenditure, cardiorespiratory fitness and inflammatory markers levels.

Characteristics	Total (n=124)		Low PAEE Low C-HEI (n=33)		Low PAEE High C-HEI (n=29)		High PAEE Low C-HEI (n=29)		High PAEE High C-HEI (n=33)	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
VO <sub>2</sub> peak (mL/min/kg)	17.1	0.3	16.1	0.7	17.6	0.8	17.0	0.05	17.8	0.5
Energy expenditure										
TEE (kcal/d)	2550	37	2260	50	2252	60	2840	65 <sup>a</sup>	2846	41 <sup>a</sup>
REE (kcal/d)	1345	18	1336	39	1320	38	1387	42	1339	29
Inflammatory markers										
IL-6 (pg/mL)	1.46	0.09	1.60	0.20	1.29	0.12	1.48	0.12	1.45	0.24
hsCRP (mg/L) <sup>†</sup>	2.95	0.19	3.18	0.40	2.70	0.39	3.37	0.31	2.53	0.39 <sup>b</sup>
Orosomucoid (g/L)	0.85	0.02	0.86	0.04	0.87	0.04	0.87	0.03	0.81	0.03
Haptoglobin (g/L)	1.33	0.04	1.50	0.10	1.36	0.09	1.27	0.08 <sup>a</sup>	1.18	0.07 <sup>a</sup>
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	5.86	0.13	5.72	0.23	5.84	0.27	6.18	0.24	5.73	0.28

hsCRP: high sensitivity C-reactive protein, IL-6: interleukin-6, REE: resting energy expenditure, TEE: total energy expenditure, VO<sub>2</sub> peak: cardiorespiratory fitness, WBC: white blood cell count

<sup>a</sup> significantly different from the Low PAEE/Low C-HEI group, <sup>b</sup> significantly different from the High PAEE/Low C-HEI group

<sup>†</sup> n=120 in the whole cohort, n=32 in Low PAEE/Low C-HEI group, n=29 in Low PAEE/High C-HEI and High PAEE/Low C-HEI groups, n=30 in High PAEE/High C-HEI group

**Figure. 1.** Distribution of the Canadian Healthy Eating Index (C-HEI) score in the whole cohort (a) and the percentage of women having the maximum score in each component of the C-HEI (b).

**Figure. 2.** Percentage of the difference between Low PAEE/Low C-HEI group (reference group) and the other three groups for blood lipoprotein profile (a-d) and the inflammatory marker hsCRP (e). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

Figure 1

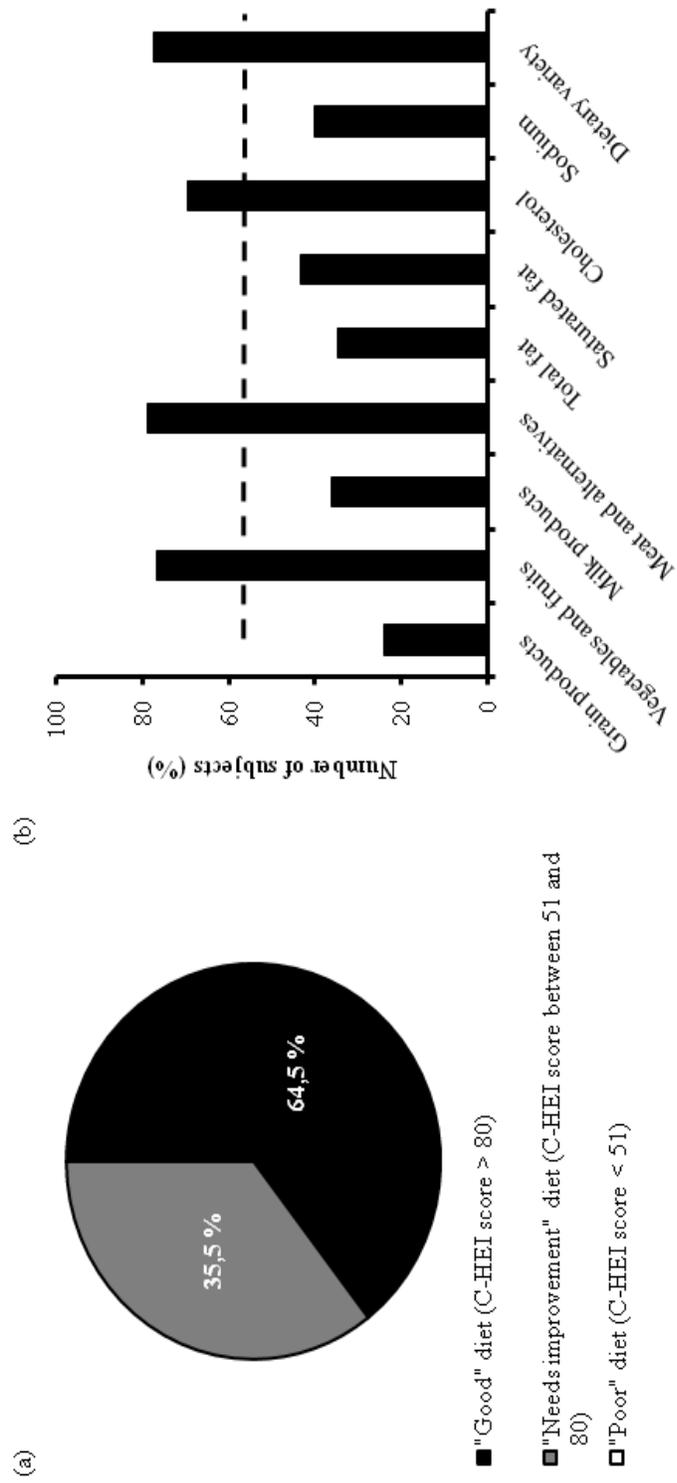
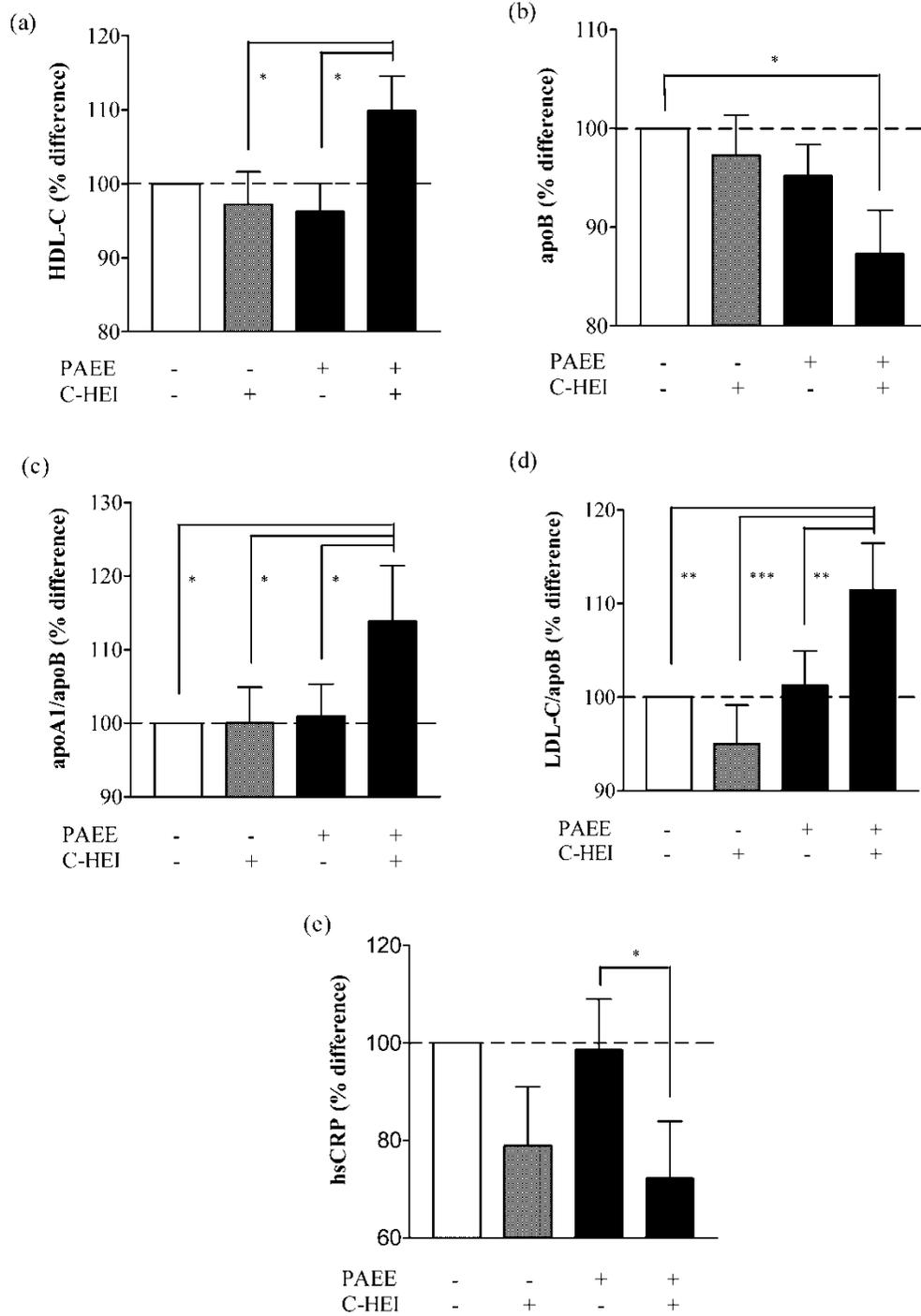


Figure 2



**4.3. Manuscrit #3 intitulé : « Blood glutathione peroxidase activity is associated with higher risk of cardiovascular diseases in obese women », J Diabetes Metab, juillet 2011, soumis pour publication**

Par **Marie-Eve Lavoie**, Rémi Rabasa-Lhoret, Sophie Ziai et Jean-Claude Lavoie

Contribution des co-auteurs :

- Marie-Eve Lavoie : émission de l'hypothèse de recherche, cueillette des données, réalisation des dosages sanguins pour les variables principales (activités enzymatiques de la GPx et de la GSSG-R, mesure du glutathion total), analyses statistiques, interprétation des résultats, rédaction du manuscrit
- Rémi Rabasa-Lhoret : interprétation des résultats, révision du manuscrit
- Sophie Ziai : révision du manuscrit
- Jean-Claude Lavoie : émission de l'hypothèse de recherche, analyses statistiques, interprétation des résultats, révision du manuscrit

Ce manuscrit démontre la relation qui existe entre le système glutathion et le RCM. Les femmes obèses ayant une activité élevée de la GPx ont un RCM altéré, mis en évidence par une RI affectant de manière prédominante le foie, des métabolismes glucidique et lipidique altérés et une épaisseur de la paroi des vaisseaux sanguins plus importantes comparativement à celles qui ont une activité plus faible de la GPx. Ces anomalies métaboliques pourraient être expliquées par la présence d'un stress réducteur. Ce manuscrit a été soumis pour publication à la revue scientifique *Journal of Diabetes and Metabolism* (facteur d'impact : inconnu pour l'instant; valeur de l'index Copernicus (2011) : 6,07) en juillet 2011.

**Blood glutathione peroxidase activity in relation with the risk of cardiovascular diseases in obese women**

Marie-Eve Lavoie, MSc<sup>1,2</sup>, Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD<sup>1,2,3</sup>, Sophie Ziai, BSc<sup>1,2</sup>, Jean-Claude Lavoie, PhD<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Nutrition, Université de Montréal, Montreal, QC, CANADA

<sup>2</sup> Montreal Institute of Clinical Research (IRCM), Montreal, QC, CANADA

<sup>3</sup> Montreal Diabetes Research Center (MDRC) of Montreal University Hospital Research Center (CRCHUM), Montreal, QC, CANADA

<sup>4</sup> Research Center, CHU Sainte-Justine, Montreal, QC, CANADA

Running title: Glutathione peroxidase and cardiovascular diseases

**ABSTRACT**

**Objective:** Oxidative stress plays a role in obesity-related diseases. We hypothesize that abnormalities of the glutathione system are associated with the initial phase leading to development of cardiometabolic abnormalities such as cardiovascular diseases and type 2 diabetes in apparently healthy obese women. By measuring different glutathione parameters, we expect to find a dichotomy that can discriminate between obese women who have such sub-clinical abnormalities.

**Subjects:** This is a cross-sectional analysis in 59 postmenopausal obese women. Total blood glutathione, glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase activity, blood lipids, apolipoprotein B-100 (apoB), fasting and area under the curve (AUC) for glycemia and insulinemia during an oral glucose tolerance test, insulin sensitivity measurement and indices, serum inflammatory markers and carotid intima-media thickness (CIMT, by magnetic resonance imaging) were measured.

**Results:** Blood GPx activity had a bimodal distribution. Subjects were then divided into two groups according to their GPx activity (cut-off: 2.0 nmol/min/mg protein). Age and BMI were similar between the groups. Women with higher GPx activity had 13% more apoB ( $P=0.02$ ), 10% higher glycemia AUC ( $P=0.04$ ), hepatic insulin resistance (28% and 25% higher HOMA and liver insulin resistance index values,  $P<0.04$ ) and increased CIMT by 8-13% ( $P=0.013$ ) without evidence of inflammation, changes in blood lipids, and fasting glycemia and insulinemia.

**Conclusion:** Results suggest that a modification in the glutathione system is associated with insulin resistance and increased intima-media thickness, both of which are associated with cardiovascular disease risk. Blood GPx activity may be a parameter contributing in the identification of sub-clinical but clinically relevant asymptomatic cardiometabolic abnormalities in obese women.

**Keywords** Glutathione peroxidase, Inflammation, Obesity, Carotid intima-media thickness, Insulin resistance

## INTRODUCTION

Obesity is associated with an increase risk for cardiometabolic diseases such as atherosclerosis and type 2 diabetes (1). The “common soil” hypothesis postulates that type 2 diabetes and cardiovascular diseases share common basis. Insulin resistance, for which oxidative stress is an early event and a potential underlying biochemical mechanism, is one of the most important aspects of this theory (2). However, it is still unclear if oxidative stress is the cause or a consequence of these diseases. Furthermore, identifying obese subjects prone to develop cardiometabolic complications is challenging since a proportion of obese subjects appear to be at lower risk (3).

Oxidative stress results of an imbalance between the production and degradation of reactive oxygen species such as hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). By modifying redox status of sensitive thiols,  $H_2O_2$  modulates the biological function of several proteins including those involved in metabolic pathways (4). Its intracellular concentration is regulated by its production mainly by the manganese superoxide dismutase (MnSOD) (5) and its reduction by glutathione peroxidase (GPx) in which reaction glutathione (GSH) is oxidized in a disulfide form (GSSG). A modification in GPx levels affects directly the intracellular level of peroxides; a slow-down of its activity allows higher intracellular concentration of peroxides whereas a stimulation of GPx activity leads to lower  $H_2O_2$  concentration. On the other hand, in order to maintain the redox environment of the cell (6), the GSSG formed during the reduction of peroxides by GPx is recycled in GSH by glutathione reductase (GSSG-R) or is actively exported (7, 8). In a situation where the activity of GPx exceeds that of the GSSG-R, the GSSG is exported and the overall result is a loss in total glutathione level.

Because of its high reactivity with GPx and thiols (9), it is extremely difficult to detect, *in vivo*, a physiological modification in  $H_2O_2$  concentration. However, the activity of GPx and GSSG-R as well as the level of total glutathione are accessible especially in erythrocytes, cells without nuclear capacity to restore homeostasis. Therefore, a modification in the blood glutathione system can be an early biomarker of chronic

oxidative stress that can be an early step in the development of cardiometabolic complications.

The objectives of the study were to establish frequency distribution of glutathione and glutathione enzymes, and to compare a large panel of clinical, biochemical cardiometabolic risk factors and early markers of atherosclerosis between obese subjects classified according to their variation in blood level of glutathione and/or activity of GPx and GSSG-R. A novelty of the study resides in the notion that a disturbed oxidative/reductive state could play a role in the initiation of cardiometabolic diseases such as atherosclerosis and type 2 diabetes. We hypothesized that, in a risky population such as obese subjects, a variance in the glutathione system can serve as an early marker of metabolic perturbations leading to cardiometabolic diseases.

## **METHODS**

*Subjects* The study subjects examined were enrolled between 2006 and 2007 in the Complications Associated with Obesity (CAO) Study (n=59). The goal of the CAO project is to investigate different factors involved in the occurrence of obesity associated cardiometabolic complications. This study was conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki as revised in 2000 and was approved by the *Université de Montréal* Ethics Committee. All subjects gave written informed consent. The baseline data of all subjects were used in the present analysis.

The inclusion/exclusion criteria of the CAO study were reported elsewhere (10). Briefly, post-menopausal women were included in the study if they 1) were obese with BMI between 30 to 40 kg/m<sup>2</sup>, 2) aged between 55 to 70 years old, 3) had biological confirmation of the menopause status without taking hormone replacement therapy, 4) were non diabetic and 5) non smokers, and 6) were not taking medications known to interfere with metabolism except stable hypothyroidism replacement therapy. All participants were free of chronic or inflammatory diseases and no history of alcohol or drug abuse.

*Body composition* Standing height was measured to the nearest 0.1 cm with a wall stadiometer (Perspective Enterprises, Portage, MI) following standard techniques. Body weight was measured to the nearest 0.1 kg on a calibrated balance (Balance Industrielle Montréal, Montréal, Québec, Canada). Body composition was measured by dual-energy X-ray absorptiometry with a LUNAR Prodigy system (software version 6.10.019; General Electric Lunar Corporation, Madison, WI). Measurements were conducted in the morning while the subjects were in a fasted condition. BMI was calculated as body weight (kg)/height (m)<sup>2</sup> (11).

*Blood analysis* Venous blood samples were collected at baseline of a 75 g oral glucose tolerance test (OGTT) and every 30 min for 2 hours. Glucose and fasting plasma cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were analyzed on the Cobas Integra 400 (Roche Diagnostic, Montreal, QC, Canada). LDL-cholesterol was calculated according

to the Friedewald equation (12). Insulin levels were determined in duplicate by radioimmunoassay specific for human insulin (Linco, St-Charles, MO, USA). Apolipoprotein B-100 (apoB) was assessed by immunonephelometry on an Image Analyzer (Beckman-Coulter, Villepinte, France).

Serum high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), orosomucoid and haptoglobin were assessed by immunonephelometry on an Image Analyzer (Beckman-Coulter, Villepinte, France). Eleven women with hsCRP > 10 mg/L were excluded from the analysis in this study because such an elevated hsCRP suggests an acute inflammatory response (13). Serum IL-6 was measured in duplicates using a commercial highly sensitive ELISA kit (Quantikine, Minneapolis, MN, USA).

*Insulin sensitivity* Insulin sensitivity was evaluated by three indices calculated from the OGTT values: 1) the fasting HOMA according to the formula of Matthews et al. (14), 2) the liver insulin resistance index according to the formula of Abdul-Ghani et al. (15) and 3) the  $SI_{i_s}$ OGTT index mainly exploring muscle insulin sensitivity according to the formula of Bastard et al. (16). Insulin sensitivity was also assessed by measuring the glucose disposal rate from the hyperinsulinemic euglycemic clamp as previously described (17).

*Glutathione systems* Total glutathione was measured in whole blood by using a recycling enzymatic assay as previously described (18, 19). Glutathione peroxidase (20) and glutathione reductase (19, 21) activities were determined by spectrophotometric methods.

*Carotid intima-media thickness* Magnetic resonance imaging (MRI) was performed on a 1.5-T whole-body MRI system (Signa CV/i; GE Medical Systems; 40 mT/m; SR150). A 4-element (2 elements on the right side of the neck and 2 elements on the left side) phased-array coil was used for carotid imaging (22). After localization with a fast-gradient-echo sequence, all images were obtained with a double-inversion recovery (i.e. black-blood), fast spin-echo sequence with ECG-gating during free breathing. A total of

25 to 30 transverse images centered at the carotid bifurcation were taken. Imaging parameters were as follows: repetition time, 2 RR intervals; echo time, 12/45 ms (proton density-weighted/T2-weighted); field of view, 12 cm; slice thickness, 3 mm; no interslice gap; acquisition matrix, 256x256; no phase wrap; number of signals averaged, 1/2 (proton density-weighted/T2-weighted); echo train-length, 32; receiver bandwidth,  $\pm 64$  kHz; 512 zero filling. A chemical shift suppression pulse was used to suppress the signal from perivascular fat.

*Statistical analysis* Frequency distribution was drawn for total blood glutathione and specific activity of GSSG-R and GPx. Based on the bimodal distribution of the GPx activity (Figure 1), subjects were divided in two groups according to the cut-off of 2.0 nmol/min/mg of protein. Anthropometric and blood parameters were compared by using Student *t*-test. For hsCRP, the eleven women with values  $> 10$  mg/L were excluded from the analysis of this marker, remaining 25 and 23 subjects in the Low and High GPx activity groups respectively. The vessel wall thickness was compared by using an ANOVA. A difference with an alpha error ( $P$ )  $< 0.05$  was considered as significant. In absence of significant differences, a statistical power (1-beta)  $> 80\%$  enabled us to affirm that this parameter does not vary between the two groups. All data are presented as the mean  $\pm$  SEM.

## RESULTS

The first objective was to verify the frequency distribution of glutathione or glutathione enzymes. Figure 1 shows that only GPx activity had a bimodal distribution. Therefore, the subjects were separated in two groups according to the cut-off of 2.0 nmol/min/mg of protein: low ( $1.43 \pm 0.04$ ) and high GPx activity ( $2.59 \pm 0.07$ ) ( $P < 0.001$ ). Total glutathione in blood was lower in the high GPx activity group by 20% ( $P < 0.001$ ) (Table 1), suggesting a greater consumption of peroxides. No difference was found in GSSG-R activity between groups but the statistical power was low ( $1-\beta = 19\%$ ).

Table 2 indicates that age, body weight, BMI, systolic and diastolic blood pressure and serum inflammatory markers were comparable ( $1-\beta \geq 89\%$ ) between groups. No differences were identified for fasting and 2-hours glucose after the OGTT but the power was low ( $1-\beta \leq 20\%$ ) (Table 2 and figure 2). In contrast, area under the curve (AUC) for glycemia during the OGTT was greater in high GPx by 10% ( $P = 0.04$ ) (Figure 2).

Insulin resistance can affect different tissues in various ways that can be evaluated by various methods (23) (Table 2). No differences were observed for glucose disposal measured during the hyperinsulinemic-euglycemic clamp ( $1-\beta = 84\%$ ), fasting insulin ( $1-\beta = 85\%$ ) and peripheral mainly muscle insulin sensitivity as assessed by the  $SI_{is}$ OGTT index with however a low statistical power ( $1-\beta \leq 66\%$ ). Despite no significant difference in fasting plasma glucose and insulin, subjects in the high GPx group presented a 28% higher HOMA value ( $P = 0.04$ ) and 25% higher liver insulin resistance index value ( $P = 0.03$ ).

Triglycerides and HDL-cholesterol ( $1-\beta \geq 92\%$ ) as well as LDL-cholesterol ( $1-\beta \leq 44\%$ ) values were comparable in both groups (Table 2). However, apoB was more abundant by 13% in high GPx group ( $P < 0.02$ ).

Figure 3 shows that the thickness of the intima-media for both left and right carotid arteries was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in the high GPx group (right vessel wall =  $0.28 \pm 0.01$  vs  $0.24 \pm 0.01$  cm<sup>2</sup>, left vessel wall =  $0.26 \pm 0.01$  vs  $0.24 \pm 0.01$  cm<sup>2</sup>).

## DISCUSSION

In this cohort of subjects at high risk of cardiometabolic complications, based on their BMI and age (obese postmenopausal women) but without established cardiometabolic complications, we examined if a variance in the glutathione system could be an early biomarker for cardiometabolic abnormalities. Our results show that high GPx activity is associated with numerous potentially clinically relevant cardiometabolic abnormalities.

The fact that total glutathione is lower in higher GPx group suggests that GPx is active to metabolize peroxides ( $H_2O_2$ ) and hence the glutathione is consumed. In this group, the higher ratio of GPx to GSSG-R supports the fact that generation of GSSG following the GPx activity was higher than the recycling activity of GSSG-R. Considering that an excess of GSSG is toxic to the cells, GSSG in excess is actively exported in order to maintain the redox potential of the cells; explaining the low glutathione level observed in the high GPx group. Our results are in line with those of Surapaneni & Venkataramana who reported elevated GPx activity and lower concentrations of total glutathione along with increased lipid peroxidation, an indication of increased production of reactive oxygen species, in osteoarthritis patients (24). As suggested by the authors, the increased activity of the antioxidant enzyme GPx “*may be a compensatory regulation in response to increased oxidative stress*” (24).

The women in the high GPx group had also a greater insulin resistance, as shown by the HOMA value. Similar results have been reported in severely obese individuals. Those with higher insulin resistance, as estimated by the HOMA, had a greater GPx activity compared to those with a lower insulin resistance (25). In patients with chronic hepatitis C, Oliviera *et al.* (26) reported that those with higher insulin resistance, also assessed by the HOMA index, had a greater GPx activity and a lower total blood glutathione concentration compared to those with lower insulin resistance. Furthermore, in our study, the insulin resistance predominantly affected the liver as shown by the HOMA (a fasting index primarily exploring liver insulin resistance) as well as by a liver insulin resistance index (table 2). This translated into a higher glycemia AUC during an OGTT, probably because of lower hepatic glucose suppression, a well-known early consequence

of hepatic insulin resistance (27-29). In animal models of insulin resistance induced by diet, liver is the first organ to show resistance to insulin action, followed by the adipose tissue and the muscles (27-29). Despite the fact that the increased values in HOMA and glycemia AUC during an OGTT in the high GPx group might seem modest, considering that, by design, all the subjects were obese but without established cardiometabolic complications, these modifications appear to be early in the development of cardiometabolic diseases such as cardiovascular diseases and type 2 diabetes. In the general population, the insulin resistance estimated by the HOMA index is a predictor of future symptomatic cardiovascular diseases independently of the classic and several nontraditional risk factors (30). Taken all together, these results indicate that women with greater GPx activity present an altered glucose tolerance and insulin sensitivity that, in addition to their obesity status, contribute to their increased risk of cardiometabolic diseases.

The increased apoB100-related lipoprotein level in the high GPx group, which reflects the number of LDL particles, is also in line with hepatic insulin resistance (31) and is a well established causal factor in the development of atherosclerosis (32). Indeed these patients demonstrate significant structural atherosclerosis damage demonstrated by the increased thickness of the blood vessels assessed by MRI (figure 3). All these cardiometabolic risk factors and early atherosclerosis abnormalities are consistent with the reported positive association between high levels of blood GPx activity and cardiovascular events in humans (33). The absence of difference in blood lipid profile between the two groups may certainly be a consequence of the inclusion criteria of the study that recruited only women who did not take any medication, thus excluding those with an altered blood lipid profile. Nevertheless, our results suggested that even in absence of an impaired classic blood lipid profile, a greater GPx activity may help to identify women with an increased risk of future cardiovascular diseases as evidenced by greater apoB concentrations.

The absence of inflammation, which is induced by oxidative stress (34), may seem counter-intuitive when considering that greater GPx activity might be a compensatory

response to the enhance peroxide production, which supports the idea of oxidative stress. However, the greater activity of the antioxidant enzyme GPx may rather result in a “reductive” stress by compensating the higher production of peroxides. While the oxidative stress is the imbalance between the production and the degradation of the reactive oxygen species in favor of an overproduction, a “reductive” stress is the result of a greater antioxidant response (GPx activity) to the production of peroxides, thus in favor of higher rate of degradation. This concept has recently been supported by a study of Zhang *et al.*, in which they found that a “reductive” stress may play an important role in the development of cardiomyopathy (35). They induced a reductive stress in mice by overexpressing an antioxidant protein, Hsp27, and found that these mice developed a cardiomyopathy. The levels of reactive oxygen species in the heart of these mice were reduced and the GPx tissue expression and activity were increased (35). Furthermore, in mice, feeding a high-fat diet, Matsuzawa-Nagata *et al.* (36) found that the increased reactive oxygen species production induced by the diet appears before increases in TNF-alpha and free fatty acid concentrations. Moreover, this increase of reactive oxygen species was found in liver but not in adipose tissue, which could be a result of the increase in GPx expression and activity in that tissue (36). It is known that increased production of reactive oxygen species leads to insulin resistance (37). Our results support these findings as we found evidence of insulin resistance in the liver only. Taken all together, the liver appears to be a central organ and hepatic dysfunction results in gluco-lipidic abnormalities in which increased postprandial glucose excursion and high apoB might be early events already associated with structural atherosclerosis changes. The progression of the metabolic changes will lead to a dysregulation of lipid metabolism, oxidative stress and inflammation, the well-known sequence of events. Considering the transversal design of the study, our results suggest that a “reductive” stress may be one of, if not the first, event starting the metabolic changes leading to cardiometabolic complications. Further studies are needed to detail this sequence. The association between blood GPx activity and liver and vascular changes involved in cardiometabolic complications suggests that modification in activity of GPx is systemic. Because the promoter region of GPx gene has sites for methylation (38, 39), an epigenetic modification of this gene remains an attractive hypothesis.

Our findings derived from a homogenous sample of well-characterized post-menopausal women who were, despite their numerous risk factors, free of any known inflammatory or chronic disease. However, we must be careful before extrapolating our results to all obese individuals. Nevertheless, our results suggest that a reductive stress, which is defined here as a lower intracellular concentration of  $H_2O_2$  than normal homeostasis, can be an early event inducing modifications in metabolism. Thus, measurement of blood GPx activity may identify obese but otherwise healthy individuals with higher cardiometabolic risk and help to detect the progression of pathologies associated with insulin resistance. This notion should be reinforced by a prospective a study.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

We acknowledge the help of A. Tardif, Dr. J-P Bastard and Dr. S Fellahi with their assistance in measuring the inflammatory markers for which Beckman-Coulter, France kindly donated antibodies and analysis, J. Levasseur (RN) for the coordination of the study and Dr. J-C Tardif's laboratory for the measurement of the endothelial function and the carotid artery intima-media thickness. This study was supported by grants from Genome Canada-Quebec [CAO, Complications Associated with Obesity Project from the DGDG grant: Diabetes genes Discovery Group to R.R.L.]; the Fonds de la Recherche en Santé du Québec [scholarship to M.E.L. and S.Z.] and the Canadian Institutes of Health Research [scholarship to S.Z.].

**CONFLICT OF INTEREST.**

The authors declare no conflict of interest.

**REFERENCES**

1. Zalesin KC, Franklin BA, Miller WM, Peterson ED, McCullough PA. Impact of obesity on cardiovascular disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008; **37**: 663-684, ix.
2. Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease. The "common soil" hypothesis. *Diabetes* 1995; **44**: 369-374.
3. Primeau V, Coderre L, Karelis AD, Brochu M, Lavoie ME, Messier V, *et al.* Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. *Int J Obes (Lond)* 2010.
4. Paulsen CE, Carroll KS. Orchestrating redox signaling networks through regulatory cysteine switches. *ACS Chem Biol* 2010; **5**: 47-62.
5. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in cells and thereby their biological state. *Free Radic Biol Med* 2006; **41**: 1338-1350.
6. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med* 2001; **30**: 1191-1212.
7. Lauterburg BH, Adams JD, Mitchell JR. Hepatic glutathione homeostasis in the rat: efflux accounts for glutathione turnover. *Hepatology* 1984; **4**: 586-590.
8. Srivastava SK, Beutler E. The transport of oxidized glutathione from the erythrocytes of various species in the presence of chromate. *Biochem J* 1969; **114**: 833-837.
9. Winterbourn CC, Hampton MB. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radic Biol Med* 2008; **45**: 549-561.
10. Lavoie ME, Rabasa-Lhoret R, Doucet E, Mignault D, Messier L, Bastard JP, *et al.* Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women. *Int J Obes (Lond)* 2010; **34**: 1387-1395.
11. 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**: 1637-1646.

12. Schectman G, Patsches M, Sasse EA. Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations. *Clin Chem* 1996; **42**: 732-737.
13. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* 2004; **44**: 6-11.
14. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; **28**: 412-419.
15. Abdul-Ghani MA, Matsuda M, Balas B, DeFronzo RA. Muscle and liver insulin resistance indexes derived from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 2007; **30**: 89-94.
16. Bastard JP, Vandernotte JM, Faraj M, Karelis AD, Messier L, Malita FM, *et al.* Relationship between the hyperinsulinemic-euglycaemic clamp and a new simple index assessing insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *Diabetes Metab* 2007; **33**: 261-268.
17. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, St-Pierre DH, Brochu M, Prud'homme D, *et al.* The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 4145-4150.
18. Griffith OW. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* 1980; **106**: 207-212.
19. Lavoie JC, Chessex P. Gender and maturation affect glutathione status in human neonatal tissues. *Free Radic Biol Med* 1997; **23**: 648-657.
20. Chessex P, Lavoie JC, Laborie S, Vallee J. Survival of guinea pig pups in hyperoxia is improved by enhanced nutritional substrate availability for glutathione production. *Pediatr Res* 1999; **46**: 305-310.
21. Becker K, Wilkinson AR. Flavin adenine dinucleotide levels in erythrocytes of very low birthweight infants under vitamin supplementation. *Biol Neonate* 1993; **63**: 80-85.
22. Corti R, Fayad ZA, Fuster V, Worthley SG, Helft G, Chesebro J, *et al.* Effects of lipid-lowering by simvastatin on human atherosclerotic lesions: a longitudinal

- study by high-resolution, noninvasive magnetic resonance imaging. *Circulation* 2001; **104**: 249-252.
23. Rabasa-Lhoret R, Laville M. [How to measure insulin sensitivity in clinical practice?]. *Diabetes Metab* 2001; **27**: 201-208.
  24. Surapaneni KM, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J Med Sci* 2007; **61**: 9-14.
  25. Tinahones FJ, Murri-Pierri M, Garrido-Sanchez L, Garcia-Almeida JM, Garcia-Serrano S, Garcia-Arnes J, *et al.* Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)* 2009; **17**: 240-246.
  26. Oliveira AC, Parise ER, Catarino RM, Lanzoni V, Leite-Mor MM, Simon KA, *et al.* Insulin resistance and not steatosis is associated with modifications in oxidative stress markers in chronic hepatitis C, non-3 genotype. *Free Radic Res* 2009; **43**: 1187-1194.
  27. Brons C, Jensen CB, Storgaard H, Hiscock NJ, White A, Appel JS, *et al.* Impact of short-term high-fat feeding on glucose and insulin metabolism in young healthy men. *J Physiol* 2009; **587**: 2387-2397.
  28. Kraegen EW, Clark PW, Jenkins AB, Daley EA, Chisholm DJ, Storlien LH. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes* 1991; **40**: 1397-1403.
  29. Wang J, Obici S, Morgan K, Barzilai N, Feng Z, Rossetti L. Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance. *Diabetes* 2001; **50**: 2786-2791.
  30. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Meigs JB, *et al.* Insulin resistance as estimated by homeostasis model assessment predicts incident symptomatic cardiovascular disease in caucasian subjects from the general population: the Bruneck study. *Diabetes Care* 2007; **30**: 318-324.
  31. 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**: 682-688.

32. Superko HR, Gadesam RR. Is it LDL particle size or number that correlates with risk for cardiovascular disease? *Curr Atheroscler Rep* 2008; **10**: 377-385.
33. Garcia-Pinilla JM, Galvez J, Cabrera-Bueno F, Jimenez-Navarro M, Gomez-Doblas JJ, Galisteo M, *et al.* Baseline glutathione peroxidase activity affects prognosis after acute coronary syndromes. *Tex Heart Inst J* 2008; **35**: 262-267.
34. Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radic Biol Med* 2010; **48**: 1121-1132.
35. Zhang X, Min X, Li C, Benjamin IJ, Qian B, Ding Z, *et al.* Involvement of reductive stress in the cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of heat shock protein 27. *Hypertension* 2010; **55**: 1412-1417.
36. Matsuzawa-Nagata N, Takamura T, Ando H, Nakamura S, Kurita S, Misu H, *et al.* Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism* 2008; **57**: 1071-1077.
37. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; **24**: 816-823.
38. Lee OJ, Schneider-Stock R, McChesney PA, Kuester D, Roessner A, Vieth M, *et al.* Hypermethylation and loss of expression of glutathione peroxidase-3 in Barrett's tumorigenesis. *Neoplasia* 2005; **7**: 854-861.
39. Peng DF, Razvi M, Chen H, Washington K, Roessner A, Schneider-Stock R, *et al.* DNA hypermethylation regulates the expression of members of the Mu-class glutathione S-transferases and glutathione peroxidases in Barrett's adenocarcinoma. *Gut* 2009; **58**: 5-15.

**Table 1.** Glutathione metabolism of the subjects with either low or high GPx activity.

<b>Characteristics</b>	<b>Low GPx activity (n=34)</b>	<b>High GPx activity (n=25)</b>	<b><i>P</i> value</b>	<b><i>Beta</i> value</b>	<b><i>1 - Beta</i> (%)</b>
Total blood glutathione (pmol/ $\mu$ g protein) <sup>1</sup>	<b>50 <math>\pm</math> 3</b>	<b>40 <math>\pm</math> 2</b>	<b>&lt;0.001</b>		
GPx (nmol/min/mg protein)	<b>1.43 <math>\pm</math> 0.04</b>	<b>2.59 <math>\pm</math> 0.07</b>	<b>&lt;0.001</b>		
GSSG-R (pmol/min/mg protein)	124 $\pm$ 5	141 $\pm$ 10	0.11	0.813	19
GPx/GSSG-R	<b>12 <math>\pm</math> 1</b>	<b>21 <math>\pm</math> 2</b>	<b>&lt;0.001</b>		

Mean  $\pm$  SEM

GPx: glutathione peroxidase (specific activity), GSSG-R: glutathione reductase (specific activity)

<sup>1</sup> whole cohort: n=49, Low GPx activity: n=30, High GPx activity: n=19

**Table 2.** Anthropometric, blood pressure, blood lipid profile and glucose status of subjects with either low or high GPx activity.

Characteristics	Low GPx activity (n=34)	High GPx activity (n=25)	<i>P</i> value	<i>Beta</i> value	<i>1 - Beta</i> (%)
Age (years)	56 ± 1	56 ± 1	0.92	0.032	<b>97</b>
Body weight (kg)	91 ± 2	91 ± 3	1.00	0.025	<b>97</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	34.5 ± 0.5	34.6 ± 0.6	0.85	0.033	<b>97</b>
Systolic BP (mm Hg)	125 ± 3	126 ± 3	0.73	0.041	<b>96</b>
Diastolic BP (mm Hg)	79 ± 3	79 ± 1	0.96	0.025	<b>97</b>
Blood lipids and apolipoproteins					
Cholesterol (mmol/L)	5.21 ± 0.15	5.57 ± 0.18	0.13	0.661	34
LDL-C (mmol/L) <sup>1</sup>	3.09 ± 0.14	3.41 ± 0.17	0.15	0.557	44
HDL-C (mmol/L)	1.52 ± 0.05	1.48 ± 0.06	0.67	0.078	<b>92</b>
Triglycerides (mmol/L) <sup>1</sup>	1.30 ± 0.09	1.32 ± 0.09	0.33	0.035	<b>96</b>
apoB (g/L)	<b>0.89 ± 0.04</b>	<b>1.02 ± 0.03</b>	<b>0.02</b>		
LDL-C/apoB	3.48 ± 0.11	3.42 ± 0.11	0.69	0.056	<b>94</b>
Glucose status					
Fasting glycemia (mmol/L)	5.4 ± 0.1	5.7 ± 0.1	0.13	0.800	20
Fasting insulinemia (μU/mL) <sup>2</sup>	16.1 ± 1.2	17.7 ± 1.6	0.41	0.146	<b>85</b>
HOMA-IR	<b>3.48 ± 0.29</b>	<b>4.83 ± 0.60</b>	<b>0.04</b>		
Liver insulin resistance index (x10 <sup>4</sup> )	<b>29.3 ± 2.4</b>	<b>39.0 ± 4.0</b>	<b>0.03</b>		
SI <sub>is</sub> OGTT	0.263 ± 0.003	0.257 ± 0.004	0.18	0.338	66
Glucose disposal (mg/kg/min)	12.5 ± 0.7	11.6 ± 0.9	0.38	0.161	<b>84</b>
Serum inflammatory markers					
IL-6 (pg/mL)	1.7 ± 0.2	1.6 ± 0.7	0.65	0.036	<b>94</b>
hsCRP (mg/L) <sup>4</sup>	4.4 ± 0.5	4.4 ± 0.6	0.94	0.030	<b>97</b>
Orosomuroid (g/L)	0.87 ± 0.02	0.87 ± 0.04	0.93	0.025	<b>97</b>
Haptoglobin (g/L)	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.46	0.109	<b>89</b>
Mean ± SEM					

BMI: body mass index, LDL-C: low density lipoprotein cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, apoB: apolipoprotein B, BP: blood pressure, OGTT: oral glucose tolerance test, AUC: area under the curve, HOMA-IR: homeostasis model for insulin resistance, glucose disposal rate calculated from the hyperinsulinemic euglycemic clamp, IL-6: interleukin 6, hsCRP: high sensitivity C-reactive protein

<sup>1</sup> whole cohort: n=58, Low GPx activity: n=34, High GPx activity: n=24

<sup>2</sup> whole cohort: n=57, Low GPx activity: n=32, High GPx activity: n=25

<sup>3</sup> whole cohort: n=51, Low GPx activity: n=29, High GPx activity: n=22

<sup>4</sup> range values for hsCRP: 0.20 à 9.67 mg/L; whole cohort: n=48, Low GPx activity: n=25, High GPx activity: n=23

**Figure 1.** Frequency distribution of total glutathione (A), glutathione peroxidase activity (B) and glutathione reductase activity (C) in blood from the entire cohort. Values are presented as mean  $\pm$  SEM. Only glutathione peroxidase activity presented a bimodal distribution. The dash line represents the cut-off used to separate low GPx from high GPx.

**Figure 2.** Glycemia (A) and insulinemia (B) during an OGTT in Low and High GPx activity subjects. Values are presented as mean  $\pm$  SEM. AUC: Area under the curve.

**Figure 3.** Carotid intima-media thickness from left and right artery in Low and High GPx activity subjects. Values are presented as mean  $\pm$  SEM. \* Significantly different between groups for both left and right carotids ( $P=0.013$ ).

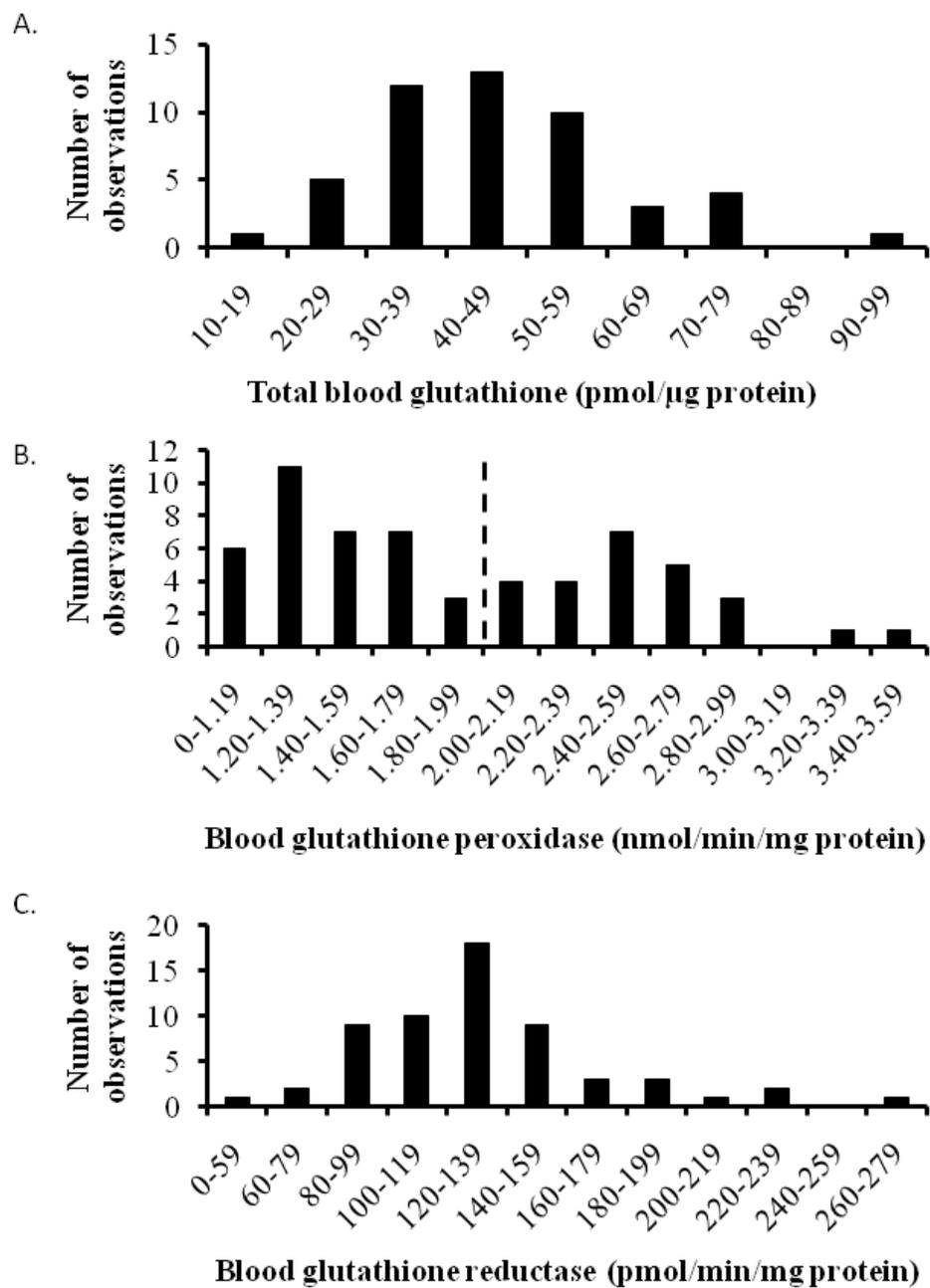


Figure 1.

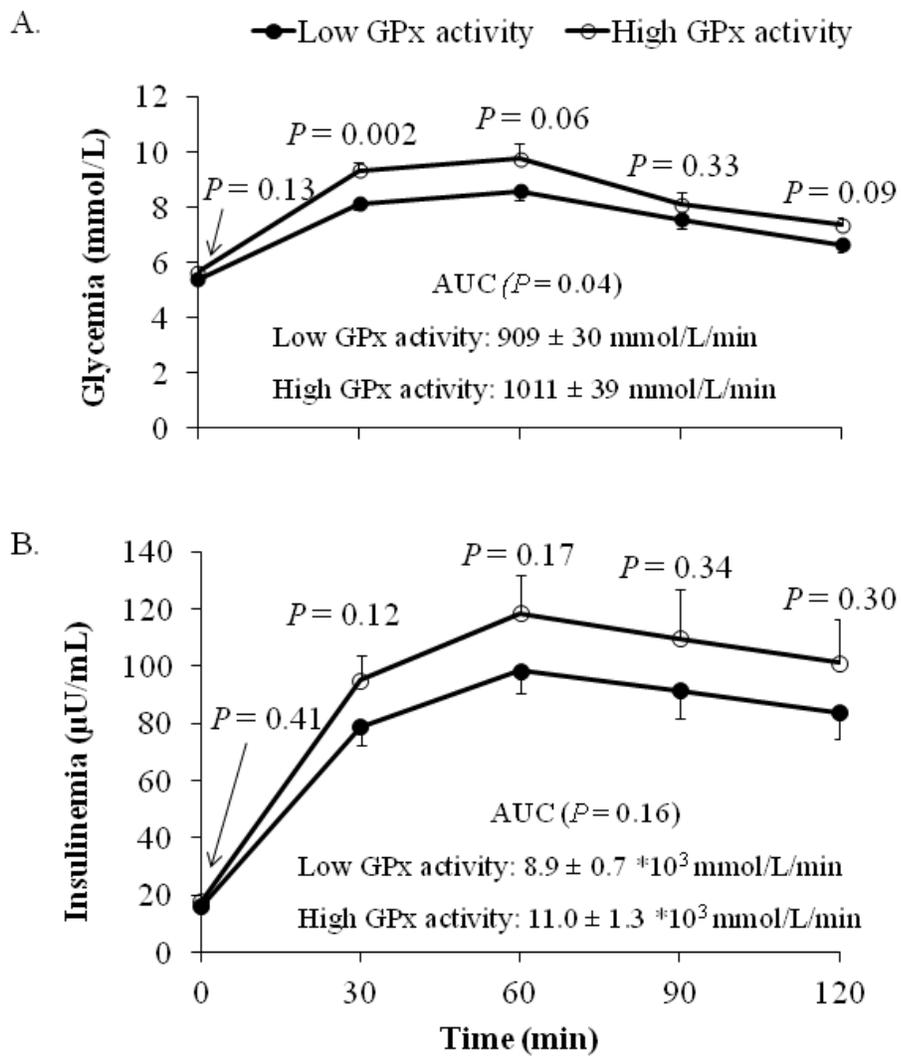


Figure 2.

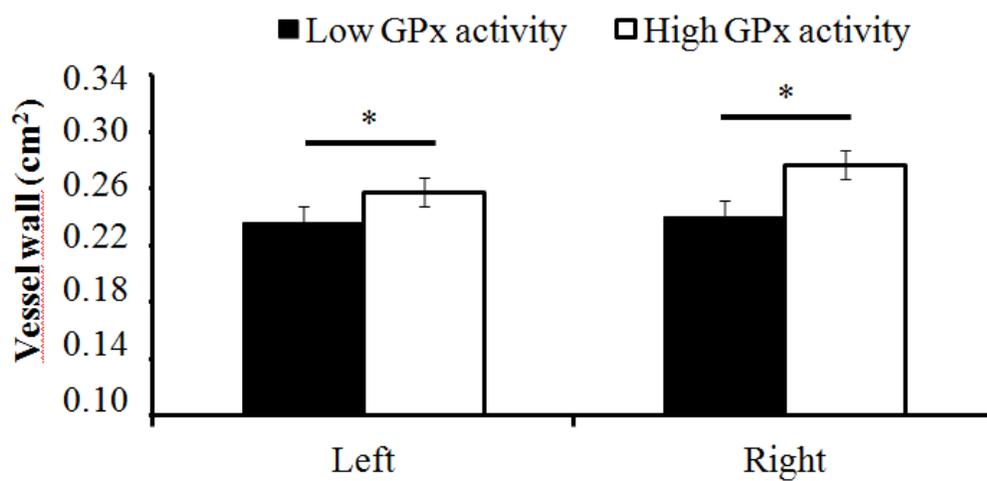


Figure 3.

**4.4. Manuscrit #4 intitulé : « Improvements in diet quality and physical activity are correlates of better blood lipid profile and blood pressure following a hypocaloric diet beyond changes in adiposity in sedentary overweight and obese postmenopausal women. A MONET-group study », en préparation**

Par **Marie-Eve Lavoie**, May Faraj et Rémi Rabasa-Lhoret

Contribution des co-auteurs :

Marie-Eve Lavoie : émission de l'hypothèse de recherche, cueillette des données, analyses des données alimentaires et calcul du score de qualité alimentaire, analyses statistiques, interprétation des résultats, rédaction du manuscrit

May Faraj et Rémi Rabasa-Lhoret : émission de l'hypothèse de recherche, interprétation des résultats, révision du manuscrit

Ce manuscrit montre que l'amélioration de la qualité alimentaire et l'augmentation de la DÉAP suite à une diète hypocalorique de 6 mois corrèle avec l'amélioration du bilan lipidique et de la pression artérielle, au-delà des effets d'un changement de l'adiposité sur ces variables. Toutefois, un effet synergique entre l'amélioration de la qualité alimentaire et l'augmentation de la DÉAP sur les facteurs de risque associés au RCM n'a pas pu être démontré. Ce manuscrit est actuellement en préparation et une soumission pour publication est prévue à la revue scientifique *Journal of the American Dietetic Association* (facteur d'impact 2011 : 3,244, 17<sup>e</sup> rang sur 70 dans la catégorie de la nutrition et de la diététique) en octobre 2011.

**Improvements in diet quality and physical activity are correlates of better blood lipid profile and blood pressure following a hypocaloric diet beyond changes in adiposity in sedentary overweight and obese postmenopausal women. A MONET-group study**

Marie-Eve Lavoie<sup>1,2</sup>, May Faraj<sup>1-3</sup>, Rémi Rabasa-Lhoret<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>Department of nutrition, Université de Montréal, Pavillon Liliane-de-Stewart, 2405 Chemin de la Côte Ste-Catherine, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1A8

<sup>2</sup>Montreal Institute for Clinical Research (IRCM), Montreal, Quebec, Canada

<sup>3</sup>Montreal Diabetes Research Center (MDRC), Montreal, Quebec, Canada

**ABSTRACT**

Adoption of a healthy diet, increased physical activity and weight loss are recommended in overweight/obese individuals to improve their health. This pilot study was aimed to explore the combined effects of changes in diet quality and physical activity during a hypocaloric diet on cardiometabolic profile beyond changes in adiposity. This is a *post-hoc* analysis performed in 39 overweight/obese postmenopausal women recruited for a 6-month hypocaloric diet study. Body weight, BMI, total fat mass and lean body mass, diet quality (Canadian Healthy Eating Index [C-HEI]), physical activity energy expenditure (PAEE; by doubly labelled water), blood lipids, apolipoprotein B (apoB), blood pressure, fasting glycemia and insulinemia, insulin sensitivity (hyperinsulinemic-euglycemic clamp) and inflammatory markers were measured before and after the intervention. The hypocaloric diet induced a  $7.5 \pm 1.0\%$  weight loss ( $P < 0.001$ ) along with a decrease in apoB concentrations ( $-14.5 \pm 2.3\%$ ,  $P < 0.001$ ) and an increase in LDL-C/apoB ( $20.0 \pm 3.5\%$ ,  $P < 0.001$ ). In stepwise regression analyses adjusted for %change BMI, %change PAEE was a negative correlate of %change triglycerides ( $r^2 = 0.21$ ,  $P = 0.016$ ) and a positive correlate of %change LDL-C ( $r^2 = 0.18$ ,  $P = 0.009$ ). Both %change C-HEI and %change PAEE were independent negative correlates of %change systolic blood pressure ( $r^2 = 0.28$ ,  $P = 0.001$ ) while only %change C-HEI was associated %change diastolic blood pressure ( $r^2 = 0.16$ ,  $P = 0.022$ ). In conclusion, improvements in diet quality and PAEE during a hypocaloric diet are associated with a better blood lipid profile and blood pressure beyond changes in BMI in overweight/obese women. This further strengthens the importance of improving diet and physical activity in the management of obesity even without weight changes.

Keywords: Diet quality, Physical activity, Obesity, Weight loss, Women

## INTRODUCTION

The prevalence of obesity has increased at alarming rate in the past decades and it is associated with increased risk of cardiometabolic diseases such as type 2 diabetes (T2D) and cardiovascular diseases. A recent study showed a high prevalence of unhealthy lifestyle patterns in overweight and obese individuals (1). Having a healthy diet, being physically active and losing weight are the first line interventions recommended for these individuals (2). Interventional studies aiming at a weight loss through caloric restriction and increased physical activity showed improvements in cardiometabolic risk factors including blood lipid profile, glucose tolerance, insulin sensitivity, inflammation, as well as reduced risk for metabolic syndrome, T2D and cardiovascular diseases (3-6). *Post-hoc* analyses of studies on T2D prevention suggest that the beneficial effects on the cardiometabolic risk of these interventions are mainly related to weight reduction (7). Nonetheless, the long-term results of weight loss are disappointing with patients regaining most of the weight initially lost. Numbers of randomized controlled trials showed improvement in body composition, blood lipid profile, glucose metabolism, blood pressure by physical activity training and diet without weight loss (8, 9). However, no study investigated the effect of improvement in diet quality, evaluated by a diet quality score such as the Healthy Eating Index (10), during a weight loss period on the metabolic profile.

In a cross sectional study, we have previously showed that there is a beneficial synergistic association between diet quality and the energy expended in physical activity (PAEE) on blood lipid and lipoprotein profiles and on sub-clinical inflammatory marker hsCRP in postmenopausal women with overweight or obesity (unpublished data). The objective of the present study was to explore whether changes in diet quality and PAEE, independently of changes in adiposity, can explain changes in the metabolic profile following a 6-month hypocaloric diet in overweight or obese postmenopausal women.

## **SUBJECTS AND METHODS**

**Subjects:** This pilot study is a cross-sectional post-hoc analysis of the MONET (Montreal-Ottawa New Emerging Team) Study that included 137 postmenopausal women initially enrolled for a hypocaloric-dietary intervention study combined or not with a resistance training (11). The detailed inclusion and exclusion criteria are reported elsewhere. Briefly, subjects were included if they 1) had a BMI  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup>, 2) aged between 46 and 70 years, 3) had biological confirmation of the menopause status without taking hormone replacement therapy, 4) were sedentary (<2 hours of structured exercise per week), 5) non diabetic, 6) were non-smokers, and 7) were not taking medications known to interfere with metabolism except stable hypothyroidism replacement therapy. All participants were free of chronic or inflammatory diseases and had no history of alcohol or drug abuse. The study was approved by the University of Montreal ethics committee and all subjects gave written, informed consent before the study started. From the 137 women initially included in the MONET Study, 40 had dietary data available both at baseline and after the hypocaloric-dietary intervention. One more subject was excluded based on missing data for inflammatory markers. A total of 39 postmenopausal women had a complete set of dietary records, components of energy expenditure, and the metabolic parameter profile at baseline and after the intervention (6 months) and were thus included in this exploratory study. Twenty-four subjects were in the hypocaloric diet group and fifteen were in the hypocaloric diet plus resistance training program group.

**Anthropometry:** Measurements of height, body weight, and total fat mass and lean body mass were described elsewhere (11). BMI was calculated as body weight (kg)/height (m)<sup>2</sup>.

**Energy expenditure:** As previously described (12), total energy expenditure (TEE) was assessed by doubly labelled water, resting energy expenditure (REE) by indirect calorimetry and physical activity energy expenditure (PAEE) was calculated as (TEE x 0.90) – REE, assuming a thermic effect of food of 10% of TEE.

**Diet quality:** Food and nutrient intakes were assessed with a 3-day food record at baseline and after the intervention, as previously described (13). Analyses were conducted with the Food Processor SQL program (Food Processor SQL Edition, version 9.6.2, 2004, ESHA Research, Salem, OR, USA), using the 2001 Canadian Nutrient Data File and the US Department of Agriculture (USDA) database. Mean intake of the three days for energy from total and saturated fat, cholesterol and sodium intake were calculated for each subject. Each record was further analyzed to establish a score of diet quality using the Healthy Eating Index previously adapted for the Canadian population (hereafter C-HEI) (14). A maximum score of 100 indicates that the dietary guidelines for that component have been fully met and a minimum score of 0 indicates a complete lack of adherence.

**Identification of underreporters for energy intake:** Underreporters for energy intake were identified by a ratio of reported energy intake to TEE (EI/TEE)  $< 0.80$ , as described by Black and Cole (15). Subjects with a ratio of EI/TEE  $> 1.20$  were identified as overreporters, as previously reported (16), and those with a ratio between 0.80 and 1.20 were considered as normoreporters.

**Blood pressure:** Sitting BP was determined after subjects had rested quietly for 10 min, using a Dinamap automatic machine (Welch Allyn, San Diego, CA, USA).

**Blood parameters:** Measurements of plasma glucose and fasting plasma cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, insulin and apolipoprotein B (apoB) were described elsewhere (17). LDL-cholesterol was calculated according to the Friedewald equation (18). The size of LDL particles was estimated by calculating LDL-C/apoB ratio (19). Serum interleukin 6 (IL-6), high sensitive CRP (hsCRP), orosomucoid and haptoglobin were assessed as previously described (17, 20).

**Insulin sensitivity:** Insulin sensitivity was assessed by measuring the glucose disposal rate during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp, as described elsewhere (11). Glucose disposal rates during the clamp were expressed as mg/min/kg fat-free mass.

**Statistical analyses:** All data are presented as mean  $\pm$  SEM. Differences in anthropometric and metabolic parameters between subjects in the two intervention groups as well as between underreporters for energy intake and normoreporters before and after the hypocaloric diet were determined by a Student t-test. Differences in anthropometric and metabolic parameters before and after the hypocaloric diet were assessed by a paired Student t-test. Correlations between percent change (%change) in C-HEI and in PAEE, and the metabolic parameters were examined using Pearson product-moment analysis. Correlates of %change in metabolic parameters using %change C-HEI, %change PAEE and their interaction (%change C-HEI x %change PAEE) as independent variables were determined using stepwise regression analysis with adjustment for %change BMI to determine whether the relationships between the independent variables and these parameters are independent of changes in BMI. Further adjustment of the regression models for %change EI were also realized to account for the potential confounding effect of the energy restriction. All statistical analyses were performed using SPSS version 17.0.1 software and significance was set at  $P < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The mean age and BMI of the participants were  $58.5 \pm 0.8$  years and  $33.0 \pm 0.8$  kg/m<sup>2</sup>, respectively, at their inclusion in the MONET study. Subjects had normal mean glycemia ( $5.1 \pm 0.1$  mmol/L), insulinemia ( $15.7 \pm 1.1$   $\mu$ U/mL), blood pressure (systolic:  $120 \pm 2$  mm Hg, diastolic:  $75 \pm 1$  mm Hg), LDL and HDL cholesterol (LDL-C:  $3.31 \pm 0.11$  mmol/L, HDL-C:  $1.44 \pm 0.06$  mmol/L), triglycerides ( $1.82 \pm 0.12$  mmol/L) but slightly elevated total cholesterol ( $5.57 \pm 0.13$  mmol/L), and low levels of inflammatory markers (IL-6:  $1.27 \pm 0.14$  pg/mL, hsCP:  $3.40 \pm 0.39$  mg/L, orosomuroid:  $0.90 \pm 0.04$  g/L, haptoglobin:  $1.44 \pm 0.10$  g/L) at baseline. There was no difference in any parameters at baseline and after the hypocaloric diet between subjects in the two intervention groups as well as between underreporters (53.8% at baseline and 61.5% post intervention) and normoreporters (41.0% at baseline and 38.5% post intervention) (data not shown), and thus all subjects were combined in the following analyses.

### *Effect of a the hypocaloric diet on anthropometric and metabolic parameters*

The hypocaloric diet resulted in a  $7.5 \pm 1.0$  percent weight loss ( $P < 0.001$ ) with a significant reduction of total fat mass and a non-significant trend of reduced total lean body mass ( $P = 0.054$ ), as well as improvement in blood lipoprotein profile (apoB, LDL-C/apoB,  $P < 0.001$ ) while no change in the traditional blood lipid parameters, and reduced concentrations of fasting insulin and markers of inflammation (**Table 1**). The insulin sensitivity tended to be improved after the hypocaloric diet ( $P = 0.07$ ). Along with the reduction in BMI, REE decreased ( $P < 0.001$ ) while no change in PAEE and TEE was observed. The absence of change in the traditional blood lipid parameters in our study is in line with results of a recent meta-analysis showing no change in total cholesterol, LDL-C, HDL-C and triglycerides in older individuals with comorbidities (T2D, hypertension, coronary heart disease, osteoarthritis) despite a modest weight loss of 3.0 kg (21). Moreover, in the main paper of the MONET study reporting the effects of resistance training during a weight loss induced by caloric restriction, no change in total, HDL and LDL cholesterol levels, both in the caloric restriction alone or combined with the resistance training. The absence of changes in these parameters observed in a subgroup of the MONET study' subjects is thus in line with the results of the whole cohort

(11). For the triglycerides, the wide interindividual variability of changes observed (from -60 to 117%), as well as the small sample size of our study, may have limited the detection of significant improvements after the hypocaloric diet. Nevertheless, other studies have shown a reduction in blood lipid concentration induced by a weight loss (5, 22, 23). It should be noted that subjects included in the present study were free of comorbidities and their mean blood lipid levels were in the normal range, with the exception of total cholesterol. Thus, considering the results of previous studies, a greater weight loss is probably required to improve the blood lipid profile in these apparently healthy overweight and obese women.

Following the hypocaloric diet, there was a significant improvement in C-HEI score ( $P=0.03$ ) (Table 1) which could be explained by favourable changes in the score of 3 components of dietary intake: total fat (baseline vs post-intervention:  $8.01\pm 0.36$  vs  $8.98\pm 0.31$ ,  $P<0.05$ ), saturated fat ( $7.82\pm 0.47$  vs  $9.01\pm 0.34$ ,  $P<0.05$ ) and dietary sodium ( $7.32\pm 0.43$  vs  $8.87\pm 0.31$ ,  $P<0.05$ ), indicating a reduction in the dietary intake. The score in the grain products and meat & alternatives components decreased after the intervention (grain products:  $7.66\pm 0.38$  vs  $6.85\pm 0.33$ ,  $P<0.05$ ; meat & alternatives:  $9.82\pm 0.09$  vs  $9.34\pm 0.34$ ,  $P<0.05$ ), indicating a decrease in the dietary intake, while no change was observed in the other components. These results could reflect the nutritional advices given to the participants by the registered dietitian supervising the intervention, although the intervention was designed to improve the quality of the diet. Indeed, in addition to reducing calories, the registered dietitian also focused on the specific nutritional aspects of the diet such as reduction of total fat, increase in dietary fiber and protein intakes in order to increase satiety. Unlike our results, a previous report has shown that, in 75 postmenopausal women, following a nutrition education intervention, beneficial changes in some components of the HEI occur (dairy products and total fat) although this wasn't reflected in the total HEI score (24). In fact, they observed a reduction in the overall score (about 4% in the intervention group and 10% in the control group). Like us, the authors also reported a slight decrease in the grain products sub-score (0.5 to 1 pt). The discrepancy between our results and those of that study may be due to the different nutritional intervention. Their intervention was aiming "to increase

nutritional knowledge and self-efficacy of the subjects to adopt and maintain healthy dietary choices” while ours was aimed to reduce calorie intake while keeping a healthy diet. Further studies are required to determine the effect of dietary interventions on overall diet quality.

Furthermore, our study included women with a high diet quality at baseline (mean C-HEI score was 84.7). Other studies reported lower mean HEI score (varying between 61 and 77) than the one observed in our cohort; the higher score was reported in women from the Nurses’ Health Study (14, 24-27). It should be noted however that the women included in our analysis were recruited to participate to a weight loss study. Thus a selection bias of more motivated and health-conscious cohort may have increased the diet quality of our study as well as potentially their interests to improve even more the quality of their diet following the nutritional advices given.

Interestingly, as depicted in table 1, following the hypocaloric diet, there was a wide variation range in changes of all parameters, although not always significant, which allowed us to explore whether changes in diet quality and in PAEE are associated with changes in metabolic parameters beyond changes in adiposity.

#### ***Relationship between %change in diet quality and PAEE with metabolic parameters***

Percent change C-HEI was negatively associated with %change in systolic and diastolic blood pressure ( $r = -0.33$  and  $r = -0.32$  respectively,  $P < 0.05$ ) while %change in PAEE positively correlated with %change in LDL-C ( $r = 0.42$ ,  $P < 0.01$ ) and negatively with %change in triglycerides ( $r = -0.37$ ,  $P < 0.05$ ). Percent change in BMI was also positively associated with %change in fasting insulin ( $r = 0.58$ ,  $P < 0.001$ ) and hsCRP ( $r = 0.51$ ,  $P < 0.01$ ), which was not surprising considering the known relationships between BMI with insulin and hsCRP.

To examine the independent contribution of %change in C-HEI and in PAEE to the interindividual variations in the metabolic parameters, the data were analysed by stepwise regression analyses, after adjustment for %change BMI (**Table 2**).

Independently of %change BMI, %change in C-HEI and in PAEE were negative correlates of %change in systolic blood pressure ( $P<0.05$ ) while only %change in C-HEI was a negative correlate of %change in diastolic blood pressure ( $P=0.03$ ). These results might seem surprising considering that all subjects were normotensive at the inclusion and there were only small changes in blood pressure following the hypocaloric diet. Nevertheless, the beneficial effect of diet quality on blood pressure might be explained by the decreased in dietary sodium intake, as showed by the increased score for this component, following the intervention. This is in line with the DASH diet recognized to reduce blood pressure (28). Physical activity is also known to reduce blood pressure in pre-hypertensive and hypertensive patients (29, 30). Furthermore, a recent study demonstrated that the combination of diet and exercise, along with weight loss, has a greater effect on blood pressure than their effect taken separately in obese hypertensive patients (31). Taken together, this suggests that reduction in sodium intake and engaging in physical activities could be beneficial in regard to their blood pressure even in normotensive individuals.

Also presented in table 2, %change in PAEE was a negative correlate of %change in triglycerides but a positive correlate of %change in LDL-C. This surprising positive association between %change in PAEE and %change in LDL-C might suggest bigger LDL particles considering that the apoB concentrations decreased after the intervention, which indicate a reduced number in apoB-containing lipoproteins (mainly LDL) (19). Moreover, there was an increase in the LDL-C/apoB after the intervention, indicating larger LDL particles. However, in the regression analyses, %change in PAEE did not reach significance as an independent correlate of %change in LDL-C/apoB (positive relationship,  $P=0.08$ ) (data not shown). This results need to be confirmed in larger studies. Number of studies has shown improvement in blood lipid profile induced by a weight loss (22, 23). Physical activity also improved blood lipid profile, exerting its effects mainly on HDL-C and triglycerides levels (32). Taken together, our results indicate that increase in PAEE results in a better blood lipid profile, beyond the beneficial effects of changes in adiposity and even in individuals with normal blood lipids values.

Percent change in C-HEI and in PAEE were not correlates of the other blood lipid and lipoproteins (total cholesterol, HDL-C, apoB, apoA1), fasting glycemia and insulin, insulin sensitivity and inflammatory markers. Moreover, there was no interaction between percent change in C-HEI and PAEE on any anthropometric and metabolic parameters. Further adjustment for %change in energy intake revealed similar relationships, indicating that restriction in energy intake had no significant effect on the relationships observed between %change C-HEI and %change PAEE on blood pressure and triglycerides, with the exception of %change in LDL-C where the interaction %change PAEE x %change C-HEI became the independent correlates (positive relationship, total  $R^2=0.24$ ,  $P=0.007$ ). However, the relative small sample size of this study did not allow us to investigate further this interaction between %change PAEE and %change C-HEI (data not shown). Thus, this interaction between changes in diet quality and PAEE and changes in LDL-C during a hypocaloric diet should be investigated in larger studies.

Although changes in diet quality was associated in favourable changes in metabolic parameters in our study, improving diet quality might be difficult to achieve for a large number of individuals in the general population according to the cost associated to a healthy diet. A recent report has showed that eating healthier foods could cost about 10% more in US (33). Furthermore, the overall diet quality of the cohort studied was quite good before the hypocaloric diet, which might limit the impact of the improvement of the diet quality on cardiometabolic changes. Thus a selection bias of more motivated and health-conscious cohort may have increased the diet quality of our study. Nevertheless, nutritional advices could help to improve some components of the diet such as lipid, cholesterol and sodium intake, as observed in our study, even if the overall diet quality is not significantly improved.

Recently, diet diversity was linked to the development of obesity (34) probably through excess consumption in certain foods when they are eaten occasionally, which is in contradiction to the national dietary guidelines. Subjects eating the same foods

repeatedly may lose interest in these foods, a phenomenon known as habituation, which will reduced their consumption of these foods, regardless of BMI (34). This phenomenon is of particular interest for individuals with food addiction. In our study, the diversity of the diet account for only one tenth of the whole score and the mean score of this component was high with low variation between subjects, thus limiting its impact on total energy intake. It would be of interest to investigate this aspect of the diet in relation to the metabolic changes after a hypocaloric diet in a further study.

## **CONCLUSION**

Improvements in diet quality and physical activity energy expenditure are correlated with beneficial changes metabolic parameters after a hypocaloric diet, beyond changes in BMI. These results reinforced the importance of the dietary and physical activity interventions for the management of obesity even without significant weight changes.

**ACKNOWLEDGEMENT**

We acknowledge the help of Annie Tardif for technical assistance in the measurement of inflammatory markers. We also thank Beckman-Coulter, France for the kind gift of antibodies. Finally, we thank Dr. Fellahi for her participation on inflammatory markers analysis. This study was supported by grants from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) New Emerging Team in Obesity (University of Montreal and University of Ottawa, MONET project) and from Genome Canada-Quebec (CAO, Complications Associated with Obesity project). Marie-Eve Lavoie is supported by a scholarship from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). Dr. Rabasa-Lhoret is supported the Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ) and hold the chair for clinical research J-A de Sève at IRCM (Montreal Institute for Clinical Research). May Faraj is a recipient of the CIHR New Investigator Award.

**CONFLICT OF INTERESTS**

None to declare.

**REFERENCES**

1. Kushner RF, Choi SW. Prevalence of unhealthy lifestyle patterns among overweight and obese adults. *Obesity (Silver Spring)* 2010; **18**: 1160-1167.
2. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res* 1998; **6 Suppl 2**: 51S-209S.
3. Goodpaster BH, Delany JP, Otto AD, Kuller L, Vockley J, South-Paul JE, *et al.* Effects of diet and physical activity interventions on weight loss and cardiometabolic risk factors in severely obese adults: a randomized trial. *JAMA* 2010; **304**: 1795-1802.
4. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, *et al.* Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; **346**: 393-403.
5. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, *et al.* Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; **344**: 1343-1350.
6. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, *et al.* Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 2003; **289**: 1799-1804.
7. Hamman RF, Wing RR, Edelstein SL, Lachin JM, Bray GA, Delahanty L, *et al.* Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care* 2006; **29**: 2102-2107.
8. Ross R, Bradshaw AJ. The future of obesity reduction: beyond weight loss. *Nat Rev Endocrinol* 2009; **5**: 319-325.
9. Gaesser GA, Angadi SS, Sawyer BJ. Exercise and diet, independent of weight loss, improve cardiometabolic risk profile in overweight and obese individuals. *Phys Sportsmed* 2011; **39**: 87-97.
10. Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, Fleming K. The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc* 1995; **95**: 1103-1108.

11. Brochu M, Malita MF, Messier V, Doucet E, Strychar I, Lavoie JM, *et al.* Resistance training does not contribute to improving the metabolic profile after a 6-month weight loss program in overweight and obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94**: 3226-3233.
12. St-Onge M, Mignault D, Allison DB, Rabasa-Lhoret R. Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults. *Am J Clin Nutr* 2007; **85**: 742-749.
13. Strychar I, Lavoie ME, Messier L, Karelis AD, Doucet E, Prud'homme D, *et al.* Anthropometric, metabolic, psychosocial, and dietary characteristics of overweight/obese postmenopausal women with a history of weight cycling: a MONET (Montreal Ottawa New Emerging Team) study. *J Am Diet Assoc* 2009; **109**: 718-724.
14. Shatenstein B, Nadon S, Godin C, Ferland G. Diet quality of Montreal-area adults needs improvement: estimates from a self-administered food frequency questionnaire furnishing a dietary indicator score. *J Am Diet Assoc* 2005; **105**: 1251-1260.
15. Black AE, Cole TJ. Within- and between-subject variation in energy expenditure measured by the doubly-labelled water technique: implications for validating reported dietary energy intake. *Eur J Clin Nutr* 2000; **54**: 386-394.
16. Karelis AD, Lavoie ME, Fontaine J, Messier V, Strychar I, Rabasa-Lhoret R, *et al.* Anthropometric, metabolic, dietary and psychosocial profiles of underreporters of energy intake: a doubly labeled water study among overweight/obese postmenopausal women--a Montreal Ottawa New Emerging Team study. *Eur J Clin Nutr* 2010; **64**: 68-74.
17. 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**: 1637-1646.
18. Schectman G, Patsches M, Sasse EA. Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations. *Clin Chem* 1996; **42**: 732-737.

19. Sniderman A, Vu H, Cianflone K. Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels. *Atherosclerosis* 1991; **89**: 109-116.
20. Lavoie ME, Rabasa-Lhoret R, Doucet E, Mignault D, Messier L, Bastard JP, *et al.* Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women. *Int J Obes (Lond)* 2010; **34**: 1387-1395.
21. Witham MD, Avenell A. Interventions to achieve long-term weight loss in obese older people: a systematic review and meta-analysis. *Age Ageing* 2010; **39**: 176-184.
22. Anderson JW, Konz EC. Obesity and disease management: effects of weight loss on comorbid conditions. *Obes Res* 2001; **9 Suppl 4**: 326S-334S.
23. Krebs JD, Evans S, Cooney L, Mishra GD, Fruhbeck G, Finer N, *et al.* Changes in risk factors for cardiovascular disease with body fat loss in obese women. *Diabetes Obes Metab* 2002; **4**: 379-387.
24. Manios Y, Moschonis G, Katsaroli I, Grammatikaki E, Tanagra S. Changes in diet quality score, macro- and micronutrients intake following a nutrition education intervention in postmenopausal women. *J Hum Nutr Diet* 2007; **20**: 126-131.
25. Fung TT, McCullough ML, Newby PK, *et al.* (2005) Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr* **82**, 163-173.
26. Ford ES, Mokdad AH & Liu S (2005) Healthy Eating Index and C-reactive protein concentration: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-1994. *Eur J Clin Nutr* **59**, 278-283.
27. Weinstein SJ, Vogt TM & Gerrior SA (2004) Healthy Eating Index scores are associated with blood nutrient concentrations in the third National Health And Nutrition Examination Survey. *J Am Diet Assoc* **104**, 576-584.
28. Vollmer WM, Sacks FM, Ard J, Appel LJ, Bray GA, Simons-Morton DG, *et al.* Effects of diet and sodium intake on blood pressure: subgroup analysis of the DASH-sodium trial. *Ann Intern Med* 2001; **135**: 1019-1028.

29. Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. *Sports Med* 2000; **30**: 193-206.
30. von Kanel R. Accumulation of 30 min of moderately intense physical activity is a clinically meaningful treatment to reduce systolic blood pressure in prehypertension. *J Hum Hypertens* 2008; **22**: 444-446.
31. Masuo K, Rakugi H, Ogihara T, Lambert GW. Different mechanisms in weight loss-induced blood pressure reduction between a calorie-restricted diet and exercise. *Hypertens Res* 2011.
32. Bassuk SS, Manson JE. Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol* 2005; **99**: 1193-1204.
33. Monsivais P, Aggarwal A, Drewnowski A. Following federal guidelines to increase nutrient consumption may lead to higher food costs for consumers. *Health Aff (Millwood)* 2011; **30**: 1471-1477.
34. Epstein LH, Carr KA, Cavanaugh MD, Paluch RA, Bouton ME. Long-term habituation to food in obese and nonobese women. *Am J Clin Nutr* 2011; **94**: 371-376.

**Table 1.** Percent changes in anthropometric and metabolic parameters following a hypocaloric diet (n-39).

<b>Parameters</b>	<b>Percent changes</b>	<b>Range</b>	<b>P value</b>
C-HEI score	5.3 ± 2.3	-28.98 to 44.13	0.03
<b>Anthropometry</b>			
Body weight (kg)	-7.5 ± 1.0	-20.93 to 8.30	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-7.5 ± 0.8	-18.07 to 5.34	<0.001
Total fat mass (kg)	-14.8 ± 1.5	-31.27 to 6.91	<0.001
Total lean body mass (kg)	-1.5 ± 0.8	-20.23 to 8.81	0.054
<b>Resting blood pressure</b>			
Systolic (mm Hg)	0.1 ± 1.7	-21.48 to 29.36	0.95
Diastolic (mm Hg)	-1.8 ± 1.5	-27.85 to 18.31	0.26
<b>Blood parameters</b>			
Total cholesterol (mmol/L)	-0.9 ± 2.0	-21.72 to 51.81	0.66
HDL-C (mmol/L)	0.1 ± 2.4	-44.92 to 31.58	0.98
LDL-C (mmol/L)	1.2 ± 2.8	-26.56 to 52.31	0.66
Triglycerides (mmol/L)	-4.6 ± 6.1	-59.66 to 116.84	0.45
apoB (g/L)	-14.5 ± 2.3	-40.29 to 8.70	<0.001
LDL-C/apoB	20.0 ± 3.5	-12.85 to 68.67	<0.001
Fasting glycemia (mmol/L)	-1.4 ± 1.2	-14.37 to 11.35	0.26
Fasting insulin (μU/mL)	-11.4 ± 3.2	-37.75 to 39.02	0.001
Glucose disposal rate (mg/min/kg)	10.0 ± 4.7	-43.04 ± 102.11	0.07
Interleukin 6 (pg/mL)	12.8 ± 9.4	-49.33 to 237.93	0.18
hsCRP (mg/L)	-16.5 ± 7.4	-81.96 to 87.37	0.03
Orosomucoid (g/L)	-7.7 ± 2.0	-32.52 to 18-31	0.001
Haptoglobin (g/L)	-15.0 ± 3.8	-62.81 to 27.91	<0.001
<b>Energy expenditure (EE)</b>			
Total EE (kcal/d)	-2.4 ± 2.4	-36.18 to 28.18	0.31
Resting EE (kcal/d)	-6.2 ± 1.2	-26.85 to 9.32	<0.001
PAEE (kcal/d)	-8.7 ± 6.4	-64.03 to 90.55	0.18

Data are presented as mean  $\pm$  SEM. *P* value represent significant changes between baseline and post hypocaloric diet data.

apoB: apolipoprotein B, BMI: body mass index, C-HEI: Canadian Healthy Eating Index, Glucose disposal rate measured during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, hsCRP: high sensitivity C-reactive protein, LDL-C: low density lipoprotein cholesterol, PAEE: physical activity energy expenditure.

Table 2. Predictors of percent changes (%change) in blood parameters by %change in C-HEI, PAEE and their interaction (%change PAEE x %change C-HEI).

<b>Dependent variables</b>	<b>Step</b>	<b>Independent variables</b>	<b>Constant</b>	<b>Coefficient</b>	<b>Total r<sup>2</sup></b>	<b>P value</b>
%change systolic blood pressure		%change BMI	6.54	0.55		0.10
	1.	%change C-HEI		-0.29		0.01
	2.	%change PAEE		-0.09	0.28	0.03
%change diastolic blood pressure		%change BMI	3.57	0.54		0.08
	1.	%change C-HEI		-0.24	0.17	0.02
%change LDL-C		%change BMI	1.42	0.24		0.67
	1.	%change PAEE		0.18	0.18	0.009
%change triglycerides		%change BMI	13.93	2.05		0.09
	1.	%change PAEE		-0.36	0.21	0.02
%change insulin		%change BMI	5.10	2.21	0.34	<0.001
%change hsCRP		%change BMI	17.89	4.65	0.26	0.001

Independent variables included in the model: %change BMI (entered) and %change PAEE, %change C-HEI, %change PAEE x %change C-HEI (stepwise).

## CHAPITRE 5 : DISCUSSION

Les résultats présentés dans cette thèse confirment la relation qui existe entre les apports alimentaires, particulièrement la qualité alimentaire et la dépense énergétique, notamment celle de l'activité physique, avec le profil métabolique incluant l'inflammation sub-clinique chez des femmes post-ménopausées inactives en surpoids ou obèses. De plus, le système glutathion a été associé au profil métabolique dans ce sous-groupe de la population. En effet, une activité élevée de la GPx était associée avec un profil métabolique altéré. Par contre, aucune relation n'a été observée entre les apports alimentaires et la dépense énergétique, et le système glutathion.

L'originalité de ces travaux réside dans un premier temps au niveau de la population étudiée, soit les femmes post-ménopausées inactives en surpoids ou obèses. De manière générale, les individus sédentaires constituent le groupe de référence permettant de déterminer les bienfaits de l'activité physique sur la santé et donc peu de données sont disponibles quant aux bienfaits de l'activité physique dans ce sous-groupe de la population. De plus, ces femmes inactives n'étaient soumises à aucune contrainte pouvant limiter leur niveau d'activités physiques et donc les relations observées reflètent celles qui existent dans la vie quotidienne. Deuxièmement, considérant que la pratique d'activités physiques coexiste avec la consommation alimentaire, laquelle est généralement constituée de trois repas par jour, l'étude d'une relation synergique entre l'alimentation et l'activité physique en regard du RCM a permis d'explorer un aspect important jusqu'ici sous-investigué de l'alimentation et de l'activité physique. De plus, l'étude de la qualité alimentaire plutôt que de certains nutriments ou aliments a permis d'évaluer l'influence globale de l'alimentation sur le RCM puisque l'alimentation est une combinaison d'aliments et de nutriments qui interagissent entre eux et dont cette interaction peut aussi influencer le RCM. Enfin, l'étude du système glutathion en regard du RCM comme un biomarqueur de RCM dans une population obèse sans symptômes cliniques de maladies métaboliques (ex. MCV, Db2) ajoute à la nouveauté et l'originalité des travaux présentés dans cette thèse. En effet, cette étude permet d'apporter des pistes en regard de l'événement déclencheur de la cascade de réponses

métaboliques menant au développement des MCV. Néanmoins, il est important de souligner que l'ensemble des résultats ne peut pas être extrapolé dans d'autres populations présentant des complications métaboliques telles que le Db2 et des MCV, ou encore chez les hommes. Ceci étant dit, les femmes post-ménopausées constituent un sous-groupe de la population important puisque le risque de complications cardiométaboliques augmente après la ménopause. Ainsi, une meilleure compréhension des relations entre la qualité alimentaire, la dépense énergétique, ainsi que le système glutathion, et le RCM chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses permettra de mieux cibler les interventions requises afin réduire leur risque de développer ces désordres métaboliques. Il est également important de souligner que beaucoup d'analyses statistiques ont été réalisées, sans correction, et donc il n'est pas exclu que certaines des trouvailles pourraient être simplement dues au hasard.

Les résultats de la présente thèse ont été présentés sous forme de manuscrits dont certains sont publiés pour publication, soumis pour publication ou en préparation, tel que précisé pour chacun des manuscrits au chapitre 4. Bien que les résultats présentent un tout, la discussion sera divisée en deux sections. La première portera sur les relations indépendantes et synergiques de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur le RCM et discutera des résultats des manuscrits #1, #2 et #4 ainsi que de leur pertinence d'un point de vue clinique. La deuxième section portera sur la relation entre le système glutathion et le RCM et discutera ainsi des résultats du manuscrit #3. Le tout se terminera par une conclusion.

## **5.1. Les relations indépendantes et synergiques entre qualité alimentaire et DÉAP sur le risque cardiometabolique**

### 5.1.1. Association entre la DÉAP et le statut inflammatoire sub-clinique chez des femmes post-ménopausées sédentaires en surpoids ou obèses (manuscrit #1).

Les bienfaits de l'activité physique sur la santé sont multiples. Comparativement aux individus sédentaires, ceux actifs ont une accumulation moindre de tissu adipeux viscéral [17, 342, 343], un bilan lipidique favorable [19, 350, 351], une meilleure tolérance au glucose et sensibilité à l'insuline [348, 349], un statut inflammatoire plus faible, une meilleure fonction endothéliale et une pression artérielle plus faible [20, 356, 357], et un moindre risque de développer un Db2 [18, 348]. Toutefois, les aspects quantitatifs de la dépense énergétique (totale, de repos ou liée à l'activité physique) ont été peu étudiés en regard du RCM. La relation entre la DÉR et l'inflammation a été étudiée principalement chez des individus atteints de maladies inflammatoires chroniques (maladies pulmonaire obstructive chronique, arthrite rhumatoïde, insuffisance rénale) [294-296] et aucune donnée n'est disponible en regard de la DÉT et l'inflammation. De plus, la relation entre dépense énergétique et le RCM chez les individus considérés sédentaires n'a été que peu étudiée puisqu'ils constituent généralement les groupes contrôles dans les études portant sur les bienfaits de l'activité physique.

Les résultats du manuscrit #1 montrent que chez des femmes inactives en surpoids ou obèses, une DÉAP élevée est un prédicteur d'une inflammation sub-clinique plus faible (hsCRP et haptoglobine), indépendamment de l'adiposité [409]. Ceci démontre que même chez des individus considérés inactives (moins de 2-3 heures d'activités structurées par semaine), les effets bénéfiques de l'activité physique sur le statut inflammatoire sub-clinique sont présents. Considérant ce critère de recrutement des sujets, la DÉAP des femmes incluses dans ce manuscrit pourrait représenter principalement la thermogénèse liée aux exercices non structurés qui inclut toutes les

activités de la vie quotidienne liées au travail (ex. se rendre au travail, monter les escaliers...) et aux loisirs (ex. danser, faire du vélo pour le plaisir...) [311]. Ainsi, une DÉAP élevée pourrait représenter un mode de vie actif, ce qui est en accord avec une des recommandations gouvernementales pour contrer la progression de l'obésité et de ses complications.

D'autre part, la DÉAP était le seul prédicteur de la hsCRP et de l'haptoglobine parmi les composantes de la dépense énergétique (DÉR et DÉT), indiquant que, chez des individus en apparence bonne santé, la quantité d'énergie liée à la pratique d'activités physiques est plus importante en regard du statut inflammatoire que celle liée au métabolisme de repos (DÉR) ou totale (DÉT). Contrairement à nombres d'études [410], la capacité cardiorespiratoire n'était pas un prédicteur du statut inflammatoire dans cette cohorte de femmes post-ménopausées inactives. Cette discordance entre nos résultats et ceux rapportés peut s'expliquer par le fait que dans notre étude, seulement des femmes inactives étaient incluses alors que des individus avec une capacité cardiorespiratoire plus importante étaient inclus dans les autres études. Toutefois, nos résultats sont similaires à celles d'une étude réalisée par Kraus *et al.* [352], indiquant que la quantité d'activités physiques, et non pas l'intensité de celles-ci ou l'amélioration de la capacité cardiorespiratoire, est associée à une amélioration du profil lipoprotéique (augmentation des concentrations de HDL-C et de la taille des particules LDL, réduction du nombre de particules LDL et des concentrations de triglycérides) chez des individus sédentaires en surpoids. Les résultats de l'étude de Kraus *et al.* combinés à ceux du manuscrit #1 suggèrent que la pratique régulière d'activités physiques de faible intensité pourrait avoir des effets bénéfiques sur le profil métabolique chez des individus inactifs et ce, même si cette pratique d'activités ne se traduit pas par une amélioration de la capacité cardiorespiratoire de ces individus.

D'autre part, les résultats de l'étude de Kraus *et al.* [352] suggèrent que la relation inverse entre la DÉAP et les marqueurs inflammatoires observée dans le manuscrit #1 pourrait être médiée par l'effet bénéfique de l'activité physique sur le bilan lipidique. En effet, les femmes qui avaient une DÉAP plus élevées présentaient moins de

lipoprotéines reliées à l'apoB (VLDL, IDL et principalement LDL), tel qu'évalué par la concentration d'apoB, et des particules LDL plus grosses, tel qu'évalué par le ratio LDL-C/apoB (*Table 1* du manuscrit #1, p. 115). De plus, un article publié par le laboratoire du Dr Rabasa-Lhoret a montré que le nombre de lipoprotéines contenant de l'apoB était le premier prédicteur de marqueurs inflammatoires chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses, surpassant les niveaux lipidiques sanguins, une relation qui était indépendante de l'adiposité [411]. Sachant que les grosses lipoprotéines sont moins pro-inflammatoires que les plus petites [412, 413], le rôle joué par les lipides sanguins dans la relation entre la DÉAP et le statut inflammatoire semble important.

Bien que les résultats du manuscrit #1 montrent une association bénéfique entre la DÉAP et le statut inflammatoire sub-clinique chez des femmes inactives en surpoids ou obèses, l'effet de l'augmentation de la DÉAP sur les changements dans les profils inflammatoire, lipidique et lipoprotéique, reste à démontrer dans ce sous-groupe de la population au cours d'une étude d'intervention.

#### 5.1.2. Associations synergiques de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur les facteurs de risque cardiométabolique chez des femmes post-ménopausées sédentaires en surpoids ou obèses (manuscrit #2).

Le manuscrit #2 fait suite au précédent puisqu'il détermine la relation synergique entre la DÉAP et la qualité alimentaire sur le profil métabolique chez des femmes post-ménopausées inactives en surpoids et obèses, soit la même population que celle étudiée dans le manuscrit précédent. Considérant que l'activité physique et l'alimentation sont deux comportements qui se côtoient continuellement, l'idée qu'ils puissent interagir de manière à avoir des effets bénéfiques plus importants sur les profils métabolique et inflammatoire méritait d'être investiguée. Les effets indépendants de l'activité physique et de l'alimentation sur les facteurs de RCM ont été étudiés dans nombres d'études [19, 219-221, 343, 348, 357]. La qualité alimentaire a été moins largement étudiée en fonction du RCM, particulièrement lorsqu'évaluée par des scores de qualité [246, 260, 262, 263]. Dans le premier manuscrit de cette thèse, nous avons démontré une relation

bénéfique de la DÉAP sur le statut inflammatoire sub-clinique chez ces femmes en surpoids ou obèses et inactives [409]. Ainsi, le manuscrit #2 avait pour objectif de déterminer dans quelle mesure la qualité alimentaire et la DÉAP interagissent ensemble de manière à avoir des effets bénéfiques plus importants sur le RCM que leurs effets individuels pris séparément. Confirmant les hypothèses, les résultats du manuscrit #2 ont en effet démontré qu'il existe une association synergique bénéfique entre la qualité alimentaire et la DÉAP en regard des profils lipidiques et lipoprotéiques (HDL-C, nombre et taille des particules contenant l'apoB, ratio apoA1/apoB) et de l'inflammation (hsCRP), indépendamment de l'adiposité, chez des femmes post-ménopausées inactives en surpoids ou obèses. À ma connaissance, le manuscrit #2 est la première étude à montrer qu'il existe une telle association synergique entre la DÉAP et la qualité alimentaire sur le RCM. Nombre d'études d'intervention combinant une alimentation saine et la pratique d'activités physiques, ainsi qu'une perte de poids, ont montré une amélioration du profil lipidique, de la tolérance au glucose, de l'inflammation sub-clinique, ce qui contribue à réduire le risque de Db2 et, plus largement, le RCM [366-368]. Toutefois, il est difficile sinon impossible de déterminer quelle(s) composante(s) de l'intervention est (sont) responsable(s) des bénéfices métaboliques obtenus. Bien que les résultats du manuscrit #2 suggèrent qu'une amélioration de la qualité alimentaire combinée à une augmentation de l'activité physique pourrait résulter en une amélioration plus importante du RCM comparativement à leurs effets pris isolément, ceci reste à démontrer.

D'autre part, alors qu'une DÉAP élevée était associée à un meilleur profil lipidique et lipoprotéique dans le manuscrit #1 [409], les résultats du manuscrit #2 indiquent qu'une DÉAP élevée combinée à une qualité alimentaire élevée est associée à un profil lipidique encore plus favorable caractérisé par des concentrations plus élevées de HDL-C et du ratio apoA1/apoB, des concentrations plus faibles de particules athérogéniques (apoB) et des particules LDL plus grosses tel qu'évalué par le ratio LDL-C/apoB. Ces résultats suggèrent que la combinaison d'une alimentation saine et la pratique d'activités physiques est requise pour bénéficier d'effets plus importants sur le profil lipidique et lipoprotéique, comparativement aux bénéfices associés à l'activité

physique uniquement. Par ailleurs, à ce jour, la relation entre la qualité alimentaire et le profil lipidique est inconsistante [263, 266]. Les résultats du manuscrit #2 indiquent que seule la combinaison d'une qualité alimentaire élevée et d'une DÉAP élevée est associée à un meilleur profil lipidique et lipoprotéique, et non pas leur effet pris séparément. En somme, puisque des concentrations élevées de HDL-C et du ratio apoA1/apoB, des concentrations plus faibles de particules contenant l'apoB et des particules LDL plus grosses sont associées à un RCM moindre [116, 117, 136, 413], combiner une saine alimentation à la pratique d'activités physiques pourrait contribuer à réduire de manière plus importante le RCM chez des individus en surpoids ou obèses, indépendamment de leur adiposité. Ceci est en accord avec les recommandations de santé publique pour l'adoption d'une alimentation saine et la pratique régulière d'activités physiques afin de prévenir et traiter l'obésité [376]. Considérant les difficultés rencontrées pour un certain nombre d'individus à modifier plusieurs aspects du mode vie en même temps (ex. alimentation saine, pratique d'activités physiques, perte de poids), les résultats des manuscrits #1 et #2 indiquent qu'un changement de la qualité de l'alimentation et de la pratique d'activités physiques peut procurer des bénéfices substantiels sur le RCM, indépendamment de l'effet de l'adiposité sur ce dernier. Malgré le contexte transversal de ces deux manuscrits, l'implication de ces résultats est importante puisqu'une perte de poids et surtout le maintien de cette perte de poids est difficile à atteindre. De futures études d'interventions sont requises afin de valider cette hypothèse.

Une association synergique entre la DÉAP et la qualité alimentaire était aussi associée à des concentrations plus faibles de hsCRP. Dans le manuscrit #1, une association inverse entre la DÉAP et les concentrations de hsCRP a été mise en évidence chez les femmes inactives en surpoids ou obèses [409]. Les résultats du manuscrit #2 montrent qu'en fait, la relation bénéfique entre la DÉAP et les concentrations de hsCRP ne sont pas indépendantes de l'effet de la qualité alimentaire sur ce marqueur de l'inflammation, mais plutôt que la DÉAP et la qualité alimentaire interagissent de manière à avoir un effet encore plus important sur les concentrations de hsCRP. Une association inverse entre la qualité alimentaire telle qu'évaluée par le score HEI a déjà été rapportée [267]. Par contre, aucune étude n'avait à ce jour rapportée une association

synergique entre l'activité physique et la qualité alimentaire sur ce marqueur de l'inflammation. Les résultats du manuscrit #2 apportent donc une dimension nouvelle à la relation qui existe entre un style de vie sain, soit une bonne qualité alimentaire et la pratique d'activité physique, et le statut inflammatoire sub-clinique. Toutefois, une telle association synergique ne semble pas affecter tous les marqueurs de l'inflammation comme c'est le cas pour l'haptoglobine. En effet, les concentrations sériques de ce marqueur inflammatoire n'étaient pas influencées par la qualité alimentaire, alors qu'elles l'étaient par la DÉAP comme cela avait été aussi démontrée dans le manuscrit #1 [409].

Autre fait intéressant, le fait de sous-déclarer ses apports énergétiques n'a pas influencé le score total de la qualité alimentaire chez les femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses. Ceci est une observation d'intérêt puisque d'une part, le fait de sous-déclarer ses apports en énergie est plus fréquent chez les individus en surpoids ou obèses [272-274] et possiblement plus fréquent chez les femmes [272], et d'autre part près de 60 % des femmes en surpoids ou obèses incluses dans l'étude étaient caractérisées comme sous-déclarant leurs apports énergétiques. Une autre étude a rapporté que la proportion de calories provenant des macronutriments ne diffèrent pas entre les individus sous-déclarant leurs apports caloriques et ceux qui rapportent adéquatement leurs apports énergétiques [414]. Par contre, une plus grande consommation de légumes, fruits, poissons et viandes, et une consommation moindre de lipides étaient observés chez les sous-déclarants. Dans le manuscrit #2, la comparaison de la consommation des aliments (légumes, fruits, produits céréaliers, produits laitiers, viandes et substituts) n'a pas été réalisée. Puisque le score de qualité alimentaire était similaire entre les sous-déclarants et ceux rapportant adéquatement leurs apports énergétiques était similaire, ceci suggère que leur consommation de ces aliments diffère peu entre ces deux groupes d'individus. Cette hypothèse reste à vérifier dans des études subséquentes. Par ailleurs, l'absence de différence au niveau du score total de la qualité alimentaire entre ces femmes et celles qui rapportent adéquatement leurs apports en énergie suggère que l'évaluation de la qualité alimentaire plutôt que de la quantité même en énergie (kcal/jour) ou en nutriments pourrait être un moyen de contourner le problème liée à la

sous-déclaration des apports énergétiques lorsque le portrait global de l'alimentation d'un individu est mis en relation avec le RCM. Il est à noter que dans la cohorte de femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses étudiée dans le manuscrit #2, le score C-HEI moyen de celles qui étaient dans les groupes C-HEI faible était relativement élevé, ce qui peut limiter l'importance de la qualité alimentaire dans la stratification du RCM dans ce sous-groupe de la population. D'autre part, alors que les caractéristiques physiques et psychosociales des femmes sous-déclarant leurs apports énergétiques ont été investiguées [392, 415-417], à ma connaissance aucune étude n'avait évalué la qualité alimentaire de ces femmes. Bien que ce ne fût pas l'objectif principal du manuscrit #2, la comparaison de la qualité alimentaire des femmes sous-déclarant avec celles rapportant adéquatement leurs apports énergétiques ajoutent un élément important à la caractérisation de ces individus.

5.1.3. Une modification de la qualité alimentaire et de la DÉAP est associée aux changements dans les facteurs de risque cardiométabolique au cours d'une diète hypocalorique pendant 6 mois (manuscrit #4).

Le quatrième manuscrit présenté dans cette thèse avait pour but de répondre à une question soulevée par les résultats du deuxième manuscrit et correspondant au 3<sup>e</sup> objectif de cette thèse soit dans quelle mesure une amélioration de la qualité alimentaire et de la DÉAP lors d'une diète hypocalorique peut expliquer l'amélioration du RCM, indépendamment de la perte de poids encourue. Les résultats obtenus n'ont pu mettre en évidence un effet synergique entre l'amélioration de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur les changements du profil cardiométabolique suite à une diète hypocalorique pendant 6 mois, à l'exception du pourcentage de changement des concentrations de LDL-C qui était expliqué à 24% après correction pour le pourcentage de changement de l'IMC et de l'apport énergétique (section « Results and discussion » du manuscrit #4, p. 189). Cependant, en raison de la relative petite taille de l'échantillon étudié (n=39), la caractérisation de cette interaction entre l'amélioration de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur le changement en LDL-C n'a pas pu être réalisée.

Néanmoins, des relations indépendantes entre le changement de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur le profil cardiométabolique ont été mises en évidence. L'amélioration de la qualité alimentaire était un prédicteur d'une réduction de la pression artérielle, indépendamment du changement d'adiposité, chez des femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses et inactives sans hypertension. Une réduction de la pression artérielle par une perte de poids a été rapportée chez des individus hypertendus [418, 419]. Nos résultats indiquent que la qualité alimentaire affecte la pression artérielle par un mécanisme différent de celui de la perte de poids. La réduction significative de la consommation de sodium suite à la diète hypocalorique constitue une des explications possibles; l'effet délétère de ce nutriment sur la pression artérielle étant bien connu [420]. D'autres nutriments peuvent également affecter la pression artérielle tels que le potassium, le calcium, le magnésium, les protéines et certains acides aminés, les fibres ainsi que l'alcool [420]. En effet, une approche alimentaire bien connue pour réduire la pression artérielle, la diète DASH pour *Dietary Approaches to Stop Hypertension*, offre un apport alimentaire élevé en ces nutriments [421]. Considérant que la population étudiée dans le manuscrit #4 était exempte d'hypertension, la réduction de la consommation en sodium, possiblement combinée à d'autres modifications moins marquées de l'alimentation favorisant notamment la consommation de ces nutriments (ex. augmentation de la consommation de fruits et de légumes), peut résulter en une amélioration de la pression artérielle, indépendamment de la perte de poids, et ce, même chez des individus sans hypertension. De plus, malgré le fait que l'intervention nutritionnelle n'était pas spécifiquement désignée pour induire une réduction de la prise de sodium, les conseils généraux basés sur une alimentation saine entraînent donc une réduction appropriée de la consommation en sodium, bénéfique même pour une population non hypertendue. D'autre part, l'augmentation de la DÉAP était également un prédicteur de la réduction de la pression systolique indépendamment du changement de l'IMC, ce qui est en accord avec les résultats d'autres études [422, 423].

L'augmentation de la DÉAP au cours d'une diète hypocalorique était un prédicteur de l'augmentation des concentrations en LDL-C et de la réduction des concentrations en triglycérides, cette dernière confirmant les résultats d'autres études

[424, 425]. À première vue, la relation entre la DÉAP et le LDL-C, peut sembler contre-intuitive car nombre d'études ont montré une association inverse entre l'activité physique et les concentrations en LDL-C [426, 427]. Une augmentation de la concentration en LDL-C peut s'expliquer de deux façons : soit le nombre de particules LDL a augmenté, soit c'est leur taille qui a augmenté. Il y avait une tendance bien que non significative ( $P=0,08$ ) de l'augmentation de la DÉAP comme un prédicteur de l'augmentation de la taille des particules LDL (voir la section « Results and discussion » du manuscrit #4 en p. 189). Des particules LDL de grande taille sont reconnues pour être moins athérogéniques et moins pro-inflammatoires que les particules plus petites et plus denses [412, 413]. Toutefois, considérant les limites de la puissance statistique du manuscrit #4, ceci mériterait d'être confirmé dans de futures études de plus grande envergure.

Il est important de souligner que, bien que l'utilisation du score de qualité alimentaire C-HEI ait été un choix judicieux lors de la collecte des données pour le manuscrit #2, son utilisation en date d'aujourd'hui peut être discutée. Il existe d'autres scores de qualité alimentaire qui évaluent différents aspects de l'alimentation. Récemment, une mise à jour du *Canadian Healthy Eating Index*, le HEIC-2009, a été réalisée par Woodruff *et al.* [253], et tient compte de l'apport calorique total ainsi que des recommandations alimentaires concernant entre autres la teneur en lipides des produits laitiers, et la consommation de produits céréaliers à grains entiers et de substituts de la viande comme le poisson. La sélection de certains aliments considérés comme composantes d'une alimentation saine (ex. poissons vs viandes rouges, produits céréaliers à grains entiers vs raffinés) permet de prendre en considération les effets spécifiques de ces aliments sur le RCM [255-257]. Ainsi, l'utilisation de ce score plutôt que du C-HEI donnerait probablement des associations plus précises entre la qualité alimentaire et le RCM.

Enfin, il est important de noter que le manuscrit #4 était une étude pilote en raison notamment du nombre limité de sujets. En effet, seulement 40 des 137 femmes incluses dans l'étude MONET avaient des données complètes pour les apports

alimentaires avant et après la diète hypocalorique. À ce nombre, une femme a été exclue en raison de données manquantes pour les marqueurs inflammatoires, résultant en un total de 39 femmes ayant des données complètes pour les apports alimentaires, la dépense énergétique et le profil métabolique avant et après la diète hypocalorique. De plus, il n'était pas possible d'inclure les femmes de l'étude CAO car aucune donnée sur la dépense énergétique n'a été mesurée après la perte de poids induite par restriction calorique. Ceci a certainement limité la puissance statistique des analyses réalisées. De plus, le score utilisé pour calculer la qualité alimentaire n'est pas le plus sensible pour détecter des changements dans la qualité des choix alimentaires d'un individu (ex. produits céréaliers à grains entiers vs raffinés ou type de viande [rouge, volaille, poisson]), comme discuté dans le paragraphe précédent. Enfin, l'utilisation de la DÉAP au lieu du type d'activités physiques réalisées par les individus pourrait masquer des effets bénéfiques d'un changement dans une catégorie d'activités physiques sur le profil cardiométabolique. Cependant, dans une cohorte d'individus peu actifs, il est possible que la quantité d'un type particulier d'activités physiques (ex. de transport, de loisirs...) ne soit pas suffisamment importante pour en discerner les bienfaits sur le profil cardiométabolique dans un contexte de perte de poids. L'utilisation du DÉAP peut en partie pallier cette difficulté puisqu'elle combine tous les types d'activités physiques, peu importe la durée de chacune d'elles. Néanmoins, une modification des différents types d'activités physiques sur le RCM mériterait d'être investiguée dans de futures études de plus grande envergure.

#### 5.1.4. La pertinence des résultats dans un contexte clinique

##### *5.1.4.1. Activité physique*

Alors que les bénéfices de l'activité physique sur la santé sont bien connus, la pratique régulière d'activités physiques est une chose difficile à maintenir. Quelques études ont montré que la quantité plutôt que l'intensité des activités physiques réalisées est importante tant pour l'amélioration du profil lipoprotéique [352] comme mentionné précédemment mais également pour la composition corporelle. Chez des individus

sédentaires en surpoids soumis à un programme d'exercices d'une durée de 8 mois, Slentz *et al.* ont montré que la quantité, et non pas l'intensité, d'activités physiques réalisées étaient associée à une perte de poids et de masse grasse totale, laquelle était plus importante avec une quantité plus élevée d'activités physiques [428]. Même chez ceux qui étaient dans le groupe d'une faible quantité d'exercices pendant le programme ont perdu du poids et de la masse grasse comparativement aux sujets dans le groupe contrôle. Ces résultats, combinés avec ceux du manuscrit #1, indiquent qu'une faible augmentation dans la quantité d'activités physiques réalisées est suffisante pour induire des changements favorables dans la composition corporelle et le profil métabolique chez des individus inactifs.

L'augmentation de la pratique d'activités physiques peut être effectuée au niveau des activités de la vie quotidienne. Par exemple, considérant que les femmes post-ménopausées en surpoids ou obèses et inactives étudiées dans les manuscrits #1, #2 et #3 pratiquaient moins de 2-3 heures d'activités structurées par semaine, leur DÉAP représente probablement les activités de la vie quotidienne telles que se rendre au travail, monter les escaliers, marcher pour le plaisir, faire du ménage, etc., une composante de la DÉAP appelée thermogenèse liée aux activités non structurées [311]. Les résultats du manuscrit #4 supportent le fait que l'augmentation de la DÉAP en absence d'un programme d'exercices structurés est associée à une amélioration du bilan lipidique, notamment sur les concentrations circulantes en triglycérides, et de la pression artérielle systolique, indépendamment du changement de poids lors d'une diète hypocalorique. À la lumière de ces résultats, l'adoption d'un style de vie actif, sans obligatoirement réaliser des activités structurées, devrait être encouragée particulièrement chez les individus inactifs en surpoids ou obèses de manière à améliorer leur RCM.

#### 5.1.4.2. *Qualité alimentaire*

Les relations entre une meilleure qualité alimentaire sur le RCM supportent les recommandations d'adopter une alimentation santé afin de contrer l'obésité et ses complications. Toutefois, certaines études confirment l'idée répandue qu'une

alimentation saine coûte plus cher [429, 430]. Monsivais *et al.* ont récemment montré que la consommation d'aliments santé peut coûter environ 10% plus cher aux États-Unis [431]. Il est donc possible que pour une proportion de la population, l'adoption d'une alimentation santé ne soit pas toujours accessible d'un point de vue financier.

D'autre part, le calcul du score de qualité alimentaire est généralement complexe et requiert une analyse approfondie des apports en certains micronutriments ce qui rend son utilisation difficile sinon impossible pour la pratique clinique. Néanmoins, le score C-HEI utilisé dans les manuscrits #2 et #4 de cette présente thèse, est composé des quatre groupes alimentaires du *Guide alimentaire canadien pour manger sainement* (légumes et fruits, produits céréaliers, produits laitiers, et viandes et substituts), de l'apport alimentaire en lipides totaux et saturés, en cholestérol et en sodium, ainsi que d'une composante de diversité alimentaire [16]. Il est donc possible pour une nutritionniste d'évaluer dans quelle mesure l'alimentation d'un individu se compare au Guide alimentaire canadien pour manger sainement. Bien que ceci ne donne qu'un aperçu de la qualité de l'alimentation, cette approche est rapide et accessible en pratique clinique. Ceci étant dit, le développement d'outils évaluant rapidement la qualité de l'alimentation des individus en pratique clinique permettrait de mettre au service de la population les bénéfices d'une bonne qualité alimentaire sur le RCM.

## **5.2.La relation entre le système glutathion et le risque cardiométabolique**

Les résultats des manuscrits #1, #2 et #4 indiquent que la qualité alimentaire et l'activité physique peuvent jouer un rôle clé dans le RCM chez des femmes en surpoids ou obèses mais sans symptômes cliniques de complications de l'obésité. Ainsi, une modulation du style de vie de ces individus peut contribuer significativement à réduire leur risque de développer une MCV ou le Db2. Toutefois, il est difficile d'identifier avec certitude et de manière précoce les personnes qui sont à risque élevé de développer une MCV. Les évidences à ce jour indiquent que le développement de la RI, le stress oxydant et l'inflammation sont des joueurs clés dans le développement des MCV [3-6]. Toutefois, l'acteur initiateur de la cascade de réponses métaboliques résultant en des

désordres métaboliques caractéristiques des MCV reste encore à être identifié. Certaines évidences suggèrent que le stress oxydant pourrait être à l'origine de la RI et induire une réponse inflammatoire [4]. Le système glutathion fait partie des antioxydants les plus communs de l'organisme et métabolise le  $H_2O_2$ , lequel est généré continuellement par les mitochondries [7, 8]. Le système glutathion a été associé au RCM. Des concentrations circulantes réduites de glutathion ont été rapportées chez des individus obèses et obèses diabétiques de type 2 comparativement à des sujets non obèses en santé [9, 10]. Dans ce contexte, l'étude de la relation entre le système glutathion et le profil métabolique chez des femmes post-ménopausées obèses sans symptôme clinique de MCV ou de Db2 permet d'identifier des altérations métaboliques résultant d'un stress oxydant pouvant mener au développement des MCV et du Db2.

Les résultats du manuscrit #3 montrent que les femmes obèses ayant une activité élevée de la GPx ont une RI affectant de manière prédominante le foie, une tolérance altérée au glucose, un nombre plus élevé de lipoprotéines contenant l'apoB (VLDL, IDL et principalement LDL) et une augmentation de l'épaisseur de l'intima-media de la carotide, comparativement à celles qui ont une activité plus faible de la GPx (table 2 et figures 2 et 3). Une réduction de la sensibilité à l'insuline au foie peut résulter en une altération de la suppression de la production hépatique de glucose [84-86], contribuant ainsi à l'augmentation de la glycémie lors d'une charge en glucose (HGPO) observée chez les femmes ayant une activité élevée de la GPx. La RI hépatique peut également résulter en une plus grande production de lipoprotéines contenant l'apoB [411], ce qui peut expliquer les concentrations plus élevées d'apoB chez les femmes ayant une activité élevée de GPx. De plus, l'épaisseur de la paroi des vaisseaux sanguins des femmes qui avaient une activité élevée de la GPx était aussi plus élevée, indiquant des dommages structurels d'athérosclérose. Toutes ces altérations métaboliques (RI, tolérance altérée au glucose, concentrations élevées d'apoB, augmentation de l'épaisseur de la paroi des vaisseaux) sont associée à une augmentation du risque de développer une MCV [135, 432]. Globalement, ces résultats indiquent qu'une activité élevée de la GPx est associée à un RCM élevé prédisposant les individus atteints au développement d'une MCV. Ces observations sont en accord avec ceux d'une étude récente montrant une

association positive entre l'activité de la GPx sanguine et la survenue d'événements cardiovasculaires chez l'humain [209]. À ma connaissance, le manuscrit #3 est la première étude à montrer l'ensemble de ces désordres métaboliques chez les mêmes individus asymptomatiques.

Par ailleurs, les résultats de ce manuscrit suggèrent la présence d'un stress réducteur, et non pas d'un stress oxydant, chez les femmes ayant une activité de GPx élevée comme pouvant être un des facteurs contribuant au développement des désordres métaboliques cités ci-haut. Alors qu'un stress oxydant est défini comme une production plus importante de peroxydes comparativement aux défenses antioxydantes, un stress réducteur est le résultat d'une réponse antioxydante plus importante que la production de peroxydes. Certaines observations supportent cette idée. D'abord, l'activité élevée de la GPx associée à des concentrations plus faibles de glutathion (*Table 1*) indique la présence d'une production accrue de peroxydes. Ceci a également été rapporté par d'autres équipes de recherche [433]. Comme il a été mentionné par Surapaneni & Venkataramana dans leur étude [433], l'activité élevée de la GPx pourrait être un mécanisme compensatoire en réponse à la production plus importante de peroxydes. De plus, l'absence d'inflammation chez les femmes ayant une activité élevée en GPx supporte l'idée d'un stress réducteur puisque qu'une réponse inflammatoire est induite par un stress oxydant [434]. Le concept d'un stress réducteur impliqué dans le développement des MCV a récemment été supporté par une étude chez l'animal où la surexpression d'une protéine antioxydante, la Hsp27, a mené au développement d'une cardiomyopathie [435]. Les auteurs ont rapporté des niveaux réduits de ROS et une activité élevée de GPx dans le cœur de ses animaux.

Ainsi, à la lumière de ces travaux, nos résultats suggèrent qu'un stress réducteur pourrait-être l'acteur déclencheur menant au développement d'une résistance à l'insuline, et d'une altération des métabolismes du glucose et des lipides ainsi que de la structure de la paroi des vaisseaux sanguins, le tout contribuant à accroître le RCM. De plus, la mesure de l'activité de la GPx pourrait être un biomarqueur permettant d'identifier les individus prédisposés à développer des MCV. Néanmoins, de futures

investigations sont requises pour confirmer ces résultats chez l'humain et élucider les mécanismes d'actions impliqués.

## CONCLUSION

Le RCM représente l'ensemble de tous les facteurs de risque pour les MCV et le Db2, incluant les facteurs de risque traditionnels (âge, tabagisme, pression artérielle, cholestérol, diabète, sexe, susceptibilité génétique) et ceux émergents (obésité viscérale, RI, dyslipidémie athérogénique, statut pro-inflammatoire et pro-thrombotique). Les évidences indiquent que la RI, l'inflammation et le stress oxydant jouent un rôle important dans le RCM et le développement des MCV [3-6] bien que la ou les causes initiant les altérations métaboliques caractéristiques du RCM restent encore à définir. Les facteurs de RCM peuvent être influencés par les facteurs modifiables du style de vie tels que l'alimentation et l'activité physique. Une alimentation malsaine et l'inactivité physique sont tous deux associés à un RCM élevé [11, 12]. Alors que l'étude des nutriments ou des aliments spécifiques a permis de mieux comprendre l'implication de l'alimentation dans le développement des désordres métaboliques associés aux MCV et au Db2, celle de la qualité alimentaire reste prometteuse à ce jour. Par ailleurs, l'activité physique a des effets bénéfiques bien démontrés sur le RCM chez des personnes actives. Toutefois, peu de données sont disponibles sur la relation entre la dépense énergétique et le RCM chez des individus sédentaires. Aussi, peu ou pas de données existent quant à une interaction synergique possible entre l'alimentation et l'activité physique sur le RCM.

Les résultats de la présente thèse ont montré que, la relation bénéfique entre l'activité physique et l'inflammation est également présente chez des individus en surpoids ou obèses et inactifs. Une DÉAP élevée était associée à des concentrations plus faibles de marqueurs de l'inflammation (hsCRP, haptoglobine), indépendamment de l'adiposité. Dans ce sous-groupe de la population, la capacité cardiorespiratoire n'était pas associée au statut inflammatoire. D'autre part, la qualité alimentaire et la DÉAP interagissent de manière synergique résultant en des bénéfices plus marqués sur le RCM comparativement à leurs effets pris séparément. En effet, la combinaison d'une qualité alimentaire élevée et d'une DÉAP élevée est associée à un meilleur profil lipidique et lipoprotéique et un meilleur statut inflammatoire, indépendamment de l'adiposité, chez

des femmes post-ménopausées inactives en surpoids ou obèses. Par contre, suite à une diète hypocalorique d'une durée de 6 mois, un effet synergique entre le changement de la qualité alimentaire et de la DÉAP sur les changements du profil métabolique n'a pas pu être mis en évidence. Néanmoins, des effets indépendants de la modification de la qualité alimentaire et de la DÉAP ont été démontrés sur le profil métabolique. L'amélioration de la qualité alimentaire, ainsi que de la DÉAP, était associée à une réduction de la pression artérielle, indépendamment du changement de l'IMC. L'augmentation de la DÉAP était également associée à une amélioration du profil lipidique, indépendamment du changement de l'IMC, bien que la relation entre l'amélioration de la DÉAP et l'augmentation des concentrations de LDL-C nécessite des investigations futures.

Par ailleurs, une modification du système glutathion est associée à une RI et une épaisseur plus importante de la paroi des vaisseaux sanguins, lesquels sont associés à un risque élevée de MCV. Les résultats suggèrent que la relation entre l'activité de la GPx et le RCM altéré est médiée par un stress réducteur. L'activité de la GPx sanguine pourrait être un paramètre contribuant à l'identification de désordres cardiométaboliques sub-cliniques et asymptomatiques mais cliniquement importants chez des femmes obèses. D'autres investigations sont requises pour confirmer ces observations et élucider les mécanismes d'actions impliqués.

## RÉFÉRENCES

1. Despres, J.P. and I. Lemieux, *Abdominal obesity and metabolic syndrome*. Nature, 2006. **444**(7121): p. 881-7.
2. Eckel, R.H., et al., *Preventing cardiovascular disease and diabetes: a call to action from the American Diabetes Association and the American Heart Association*. Circulation, 2006. **113**(25): p. 2943-6.
3. Bassuk, S.S., N. Rifai, and P.M. Ridker, *High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance*. Curr Probl Cardiol, 2004. **29**(8): p. 439-93.
4. Ceriello, A. and E. Motz, *Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004. **24**(5): p. 816-23.
5. Hu, F.B. and M.J. Stampfer, *Is type 2 diabetes mellitus a vascular condition?* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. **23**(10): p. 1715-6.
6. Reaven, G., *All obese individuals are not created equal: insulin resistance is the major determinant of cardiovascular disease in overweight/obese individuals*. Diab Vasc Dis Res, 2005. **2**(3): p. 105-12.
7. Santini, S.A., et al., *Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM*. Diabetes, 1997. **46**(11): p. 1853-8.
8. Sies, H., *Damage to plasmid DNA by singlet oxygen and its protection*. Mutat Res, 1993. **299**(3-4): p. 183-91.
9. Di Renzo, L., et al., *Oxidative stress in normal-weight obese syndrome*. Obesity (Silver Spring), 2010. **18**(11): p. 2125-30.
10. Kocic, R., et al., *Susceptibility to oxidative stress, insulin resistance, and insulin secretory response in the development of diabetes from obesity*. Vojnosanit Pregl, 2007. **64**(6): p. 391-7.
11. Zhu, S., et al., *Lifestyle behaviors associated with lower risk of having the metabolic syndrome*. Metabolism, 2004. **53**(11): p. 1503-11.

12. Kushner, R.F. and S.W. Choi, *Prevalence of unhealthy lifestyle patterns among overweight and obese adults*. Obesity (Silver Spring), 2010. **18**(6): p. 1160-7.
13. Haines, P.S., A.M. Siega-Riz, and B.M. Popkin, *The Diet Quality Index revised: a measurement instrument for populations*. J Am Diet Assoc, 1999. **99**(6): p. 697-704.
14. Kennedy, E.T., et al., *The Healthy Eating Index: design and applications*. J Am Diet Assoc, 1995. **95**(10): p. 1103-8.
15. Patterson, R.E., P.S. Haines, and B.M. Popkin, *Diet quality index: capturing a multidimensional behavior*. J Am Diet Assoc, 1994. **94**(1): p. 57-64.
16. Shatenstein, B., et al., *Diet quality of Montreal-area adults needs improvement: estimates from a self-administered food frequency questionnaire furnishing a dietary indicator score*. J Am Diet Assoc, 2005. **105**(8): p. 1251-60.
17. Brock, D.W., et al., *Differences emerge in visceral adipose tissue accumulation after selection for innate cardiovascular fitness*. Int J Obes (Lond), 2011. **35**(2): p. 309-12.
18. Hamman, R.F., et al., *Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes*. Diabetes Care, 2006. **29**(9): p. 2102-7.
19. Hunter, G.R., et al., *Fat distribution, aerobic fitness, blood lipids, and insulin sensitivity in African-American and European-American women*. Obesity (Silver Spring), 2010. **18**(2): p. 274-81.
20. Panagiotakos, D.B., et al., *Physical activity and markers of inflammation and thrombosis related to coronary heart disease*. Prev Cardiol, 2004. **7**(4): p. 190-4.
21. Atsma, F., et al., *Postmenopausal status and early menopause as independent risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis*. Menopause, 2006. **13**(2): p. 265-79.
22. Ferrara, C.M., et al., *Differences in adipose tissue metabolism between postmenopausal and perimenopausal women*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(9): p. 4166-70.
23. Messier, V., et al., *Menopause and sarcopenia: A potential role for sex hormones*. Maturitas, 2011. **68**(4): p. 331-6.

24. Pilote, L., et al., *A comprehensive view of sex-specific issues related to cardiovascular disease*. CMAJ, 2007. **176**(6): p. S1-44.
25. Dallongeville, J., et al., *Multiple coronary heart disease risk factors are associated with menopause and influenced by substitutive hormonal therapy in a cohort of French women*. Atherosclerosis, 1995. **118**(1): p. 123-33.
26. Lynch, N.A., et al., *Reductions in visceral fat during weight loss and walking are associated with improvements in VO(2 max)*. J Appl Physiol, 2001. **90**(1): p. 99-104.
27. Kylin, E., *Studien uber das Hypertonie-Hyperglyka "mie-Hyperurika" miesyndrome*. Zentralblatt Fuer Innere Med, 1923. **44**: p. 105-127.
28. Reaven, G.M., *Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease*. Diabetes, 1988. **37**(12): p. 1595-607.
29. Kaplan, N.M., *The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension*. Arch Intern Med, 1989. **149**(7): p. 1514-20.
30. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults, *Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)*. JAMA, 2001. **285**(19): p. 2486-97.
31. Grundy, S.M., et al., *Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition*. Circulation, 2004. **109**(3): p. 433-8.
32. Balkau, B. and M.A. Charles, *Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)*. Diabet Med, 1999. **16**(5): p. 442-3.
33. Einhorn, D., et al., *American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome*. Endocr Pract, 2003. **9**(3): p. 237-52.
34. Alberti, K.G., P. Zimmet, and J. Shaw, *Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation*. Diabet Med, 2006. **23**(5): p. 469-80.

35. World Health Organization, *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO Consultation*, 2009: Geneva, Switzerland.
36. Alberti, K.G., P. Zimmet, and J. Shaw, *The metabolic syndrome--a new worldwide definition*. *Lancet*, 2005. **366**(9491): p. 1059-62.
37. Kahn, R., et al., *The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes*. *Diabetes Care*, 2005. **28**(9): p. 2289-304.
38. Ford, E.S., W.H. Giles, and W.H. Dietz, *Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey*. *JAMA*, 2002. **287**(3): p. 356-9.
39. Finucane, M.M., et al., *National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants*. *Lancet*, 2011. **377**(9765): p. 557-67.
40. Organisation Mondiale de la Santé, *Obésité : prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale*, in *Série de Rapports techniques 2003*, Organisation Mondiale de la Santé: Genève.
41. Shields M, M. Carroll, and Ogden CL, *Prévalence de l'obésité chez les adultes au Canada et aux États-Unis*, in *NCHS data brief, no.562011*, National Center for Health Statistics: Hyattsville, MD.
42. Yanovski, S.Z. and J.A. Yanovski, *Obesity prevalence in the United States--up, down, or sideways?* *N Engl J Med*, 2011. **364**(11): p. 987-9.
43. World Health Organization, *Global Health Risk: Mortality and Burden of Disease Attributable to Selected Major Risks*, 2009: Geneva, Switzerland.
44. Anis, A.H., et al., *Obesity and overweight in Canada: an updated cost-of-illness study*. *Obes Rev*, 2010. **11**(1): p. 31-40.
45. Primeau, V., et al., *Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy*. *Int J Obes (Lond)*, 2010.
46. Kuk, J.L. and C.I. Ardern, *Are metabolically normal but obese individuals at lower risk for all-cause mortality?* *Diabetes Care*, 2009. **32**(12): p. 2297-9.

47. Arnlov, J., et al., *Impact of body mass index and the metabolic syndrome on the risk of cardiovascular disease and death in middle-aged men*. *Circulation*, 2010. **121**(2): p. 230-6.
48. Calori, G., et al., *Prevalence, metabolic features, and prognosis of metabolically healthy obese Italian individuals: the Cremona Study*. *Diabetes Care*, 2011. **34**(1): p. 210-5.
49. Higdon, J.V. and B. Frei, *Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD?* *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. **23**(3): p. 365-7.
50. Kissebah, A.H., et al., *Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1982. **54**(2): p. 254-60.
51. Poulriot, M.C., et al., *Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women*. *Am J Cardiol*, 1994. **73**(7): p. 460-8.
52. Bigaard, J., et al., *Waist circumference and body composition in relation to all-cause mortality in middle-aged men and women*. *Int J Obes (Lond)*, 2005. **29**(7): p. 778-84.
53. Bigaard, J., et al., *Body fat and fat-free mass and all-cause mortality*. *Obes Res*, 2004. **12**(7): p. 1042-9.
54. Hoefle, G., et al., *Impact of total and central obesity on vascular mortality in patients undergoing coronary angiography*. *Int J Obes (Lond)*, 2005. **29**(7): p. 785-91.
55. Poirier, P., et al., *Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism*. *Circulation*, 2006. **113**(6): p. 898-918.
56. Schulze, M.B., et al., *Comparison of anthropometric characteristics in predicting the incidence of type 2 diabetes in the EPIC-Potsdam study*. *Diabetes Care*, 2006. **29**(8): p. 1921-3.

57. Schneider, H.J., et al., *The predictive value of different measures of obesity for incident cardiovascular events and mortality*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(4): p. 1777-85.
58. Gelber, R.P., et al., *Measures of obesity and cardiovascular risk among men and women*. J Am Coll Cardiol, 2008. **52**(8): p. 605-15.
59. Wang, J., et al., *Comparisons of waist circumferences measured at 4 sites*. Am J Clin Nutr, 2003. **77**(2): p. 379-84.
60. Boyko, E.J., et al., *Visceral adiposity and risk of type 2 diabetes: a prospective study among Japanese Americans*. Diabetes Care, 2000. **23**(4): p. 465-71.
61. Fujimoto, W.Y., et al., *Visceral adiposity and incident coronary heart disease in Japanese-American men. The 10-year follow-up results of the Seattle Japanese-American Community Diabetes Study*. Diabetes Care, 1999. **22**(11): p. 1808-12.
62. Bray, G.A., et al., *Relation of central adiposity and body mass index to the development of diabetes in the Diabetes Prevention Program*. Am J Clin Nutr, 2008. **87**(5): p. 1212-8.
63. Fox, C.S., et al., *Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study*. Circulation, 2007. **116**(1): p. 39-48.
64. Liu, J., et al., *Impact of abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue on cardiometabolic risk factors: the Jackson Heart Study*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(12): p. 5419-26.
65. Klein, S., et al., *Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from shaping America's health: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, the Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association*. Diabetes Care, 2007. **30**(6): p. 1647-52.
66. Bouloumie, A., et al., *Role of macrophage tissue infiltration in metabolic diseases*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2005. **8**(4): p. 347-54.
67. Fain, J.N., et al., *Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans*. Endocrinology, 2004. **145**(5): p. 2273-82.

68. Succurro, E., et al., *Insulin secretion in metabolically obese, but normal weight, and in metabolically healthy but obese individuals*. Obesity (Silver Spring), 2008. **16**(8): p. 1881-6.
69. Reitman, M.L., et al., *Lipoatrophy revisited*. Trends Endocrinol Metab, 2000. **11**(10): p. 410-6.
70. Farb, M.G., et al., *Reduced adipose tissue inflammation represents an intermediate cardiometabolic phenotype in obesity*. J Am Coll Cardiol, 2011. **58**(3): p. 232-7.
71. Despres, J.P., et al., *Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease*. N Engl J Med, 1996. **334**(15): p. 952-7.
72. Fonseca, V., et al., *Nontraditional risk factors for cardiovascular disease in diabetes*. Endocr Rev, 2004. **25**(1): p. 153-75.
73. Muniyappa, R., et al., *Cardiovascular actions of insulin*. Endocr Rev, 2007. **28**(5): p. 463-91.
74. Petersen, K.F. and G.I. Shulman, *Etiology of insulin resistance*. Am J Med, 2006. **119**(5 Suppl 1): p. S10-6.
75. van Harmelen, V., et al., *Increased lipolysis and decreased leptin production by human omental as compared with subcutaneous preadipocytes*. Diabetes, 2002. **51**(7): p. 2029-36.
76. Rome, S., et al., *Microarray profiling of human skeletal muscle reveals that insulin regulates approximately 800 genes during a hyperinsulinemic clamp*. J Biol Chem, 2003. **278**(20): p. 18063-8.
77. Nolan, C.J., P. Damm, and M. Prentki, *Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management*. Lancet, 2011. **378**(9786): p. 169-81.
78. Rabasa-Lhoret, R. and M. Laville, *[How to measure insulin sensitivity in clinical practice?]*. Diabetes Metab, 2001. **27**(2 Pt 2): p. 201-8.
79. DeFronzo, R.A., J.D. Tobin, and R. Andres, *Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance*. Am J Physiol, 1979. **237**(3): p. E214-23.

80. DeFronzo, R.A., R.C. Bonadonna, and E. Ferrannini, *Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview*. Diabetes Care, 1992. **15**(3): p. 318-68.
81. Smith, U., *Impaired ('diabetic') insulin signaling and action occur in fat cells long before glucose intolerance--is insulin resistance initiated in the adipose tissue?* Int J Obes Relat Metab Disord, 2002. **26**(7): p. 897-904.
82. Muniyappa, R., et al., *Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008. **294**(1): p. E15-26.
83. Ferrannini, E., et al., *Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)*. J Clin Invest, 1997. **100**(5): p. 1166-73.
84. Kraegen, E.W., et al., *Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats*. Diabetes, 1991. **40**(11): p. 1397-403.
85. Wang, J., et al., *Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance*. Diabetes, 2001. **50**(12): p. 2786-91.
86. Brons, C., et al., *Impact of short-term high-fat feeding on glucose and insulin metabolism in young healthy men*. J Physiol, 2009. **587**(Pt 10): p. 2387-97.
87. Despres, J.P., et al., *Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008. **28**(6): p. 1039-49.
88. Waki, H. and P. Tontonoz, *Endocrine functions of adipose tissue*. Annu Rev Pathol, 2007. **2**: p. 31-56.
89. Shay, C.M., et al., *Lower Extremity Fat Mass Is Associated With Insulin Resistance in Overweight and Obese Individuals: The CARDIA Study*. Obesity (Silver Spring), 2011.
90. Randle, P.J., et al., *The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus*. Lancet, 1963. **1**(7285): p. 785-9.
91. Tretter, L. and V. Adam-Vizi, *Inhibition of Krebs cycle enzymes by hydrogen peroxide: A key role of [alpha]-ketoglutarate dehydrogenase in limiting NADH production under oxidative stress*. J Neurosci, 2000. **20**(24): p. 8972-9.

92. Rudich, A., et al., *Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes*. *Diabetes*, 1998. **47**(10): p. 1562-9.
93. Talior, I., et al., *Increased glucose uptake promotes oxidative stress and PKC-delta activation in adipocytes of obese, insulin-resistant mice*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003. **285**(2): p. E295-302.
94. Shulman, G.I., *Cellular mechanisms of insulin resistance*. *J Clin Invest*, 2000. **106**(2): p. 171-6.
95. Ferrannini, E., et al., *Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man*. *J Clin Invest*, 1983. **72**(5): p. 1737-47.
96. Westerbacka, J., et al., *Women and men have similar amounts of liver and intra-abdominal fat, despite more subcutaneous fat in women: implications for sex differences in markers of cardiovascular risk*. *Diabetologia*, 2004. **47**(8): p. 1360-9.
97. Yki-Jarvinen, H., et al., *Regulation of plasma PAI-1 concentrations in HAART-associated lipodystrophy during rosiglitazone therapy*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. **23**(4): p. 688-94.
98. Kerner, A., et al., *Association between elevated liver enzymes and C-reactive protein: possible hepatic contribution to systemic inflammation in the metabolic syndrome*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. **25**(1): p. 193-7.
99. Cigolini, M., et al., *Liver steatosis and its relation to plasma haemostatic factors in apparently healthy men--role of the metabolic syndrome*. *Thromb Haemost*, 1996. **76**(1): p. 69-73.
100. Maechler, P., L. Jornot, and C.B. Wollheim, *Hydrogen peroxide alters mitochondrial activation and insulin secretion in pancreatic beta cells*. *J Biol Chem*, 1999. **274**(39): p. 27905-13.
101. Hansen, L.L., et al., *Insulin signaling is inhibited by micromolar concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Evidence for a role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in tumor necrosis factor alpha-mediated insulin resistance*. *J Biol Chem*, 1999. **274**(35): p. 25078-84.
102. Bruce, C.R., et al., *Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin*

- resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism.* Diabetes, 2003. **52**(9): p. 2338-45.
103. Baron, A.D., *Hemodynamic actions of insulin.* Am J Physiol, 1994. **267**(2 Pt 1): p. E187-202.
  104. Liang, C., et al., *Insulin infusion in conscious dogs. Effects on systemic and coronary hemodynamics, regional blood flows, and plasma catecholamines.* J Clin Invest, 1982. **69**(6): p. 1321-36.
  105. Vincent, M.A., et al., *Microvascular recruitment is an early insulin effect that regulates skeletal muscle glucose uptake in vivo.* Diabetes, 2004. **53**(6): p. 1418-23.
  106. Cersosimo, E. and R.A. DeFronzo, *Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases.* Diabetes Metab Res Rev, 2006. **22**(6): p. 423-36.
  107. Al-Qaisi, M., et al., *Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk.* Vasc Health Risk Manag, 2008. **4**(3): p. 647-52.
  108. Bakker, W., et al., *Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity.* Cell Tissue Res, 2009. **335**(1): p. 165-89.
  109. Corretti, M.C., et al., *Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force.* J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(2): p. 257-65.
  110. Vita, J.A. and J.F. Keaney, Jr., *Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk?* Circulation, 2002. **106**(6): p. 640-2.
  111. Mazzone, T., et al., *Effect of pioglitazone compared with glimepiride on carotid intima-media thickness in type 2 diabetes: a randomized trial.* JAMA, 2006. **296**(21): p. 2572-81.
  112. Dormandy, J., et al., *Safety and tolerability of pioglitazone in high-risk patients with type 2 diabetes: an overview of data from PROactive.* Drug Saf, 2009. **32**(3): p. 187-202.
  113. Lago, R.M., P.P. Singh, and R.W. Nesto, *Congestive heart failure and cardiovascular death in patients with prediabetes and type 2 diabetes given*

- thiazolidinediones: a meta-analysis of randomised clinical trials*. Lancet, 2007. **370**(9593): p. 1129-36.
114. Lipscombe, L.L., et al., *Thiazolidinediones and cardiovascular outcomes in older patients with diabetes*. JAMA, 2007. **298**(22): p. 2634-43.
  115. Riche, D.M. and S.T. King, *Bone loss and fracture risk associated with thiazolidinedione therapy*. Pharmacotherapy, 2010. **30**(7): p. 716-27.
  116. Cooney, M.T., et al., *HDL cholesterol protects against cardiovascular disease in both genders, at all ages and at all levels of risk*. Atherosclerosis, 2009. **206**(2): p. 611-6.
  117. Muntner, P., F. Lee, and B.C. Astor, *Association of high-density lipoprotein cholesterol with coronary heart disease risk across categories of low-density lipoprotein cholesterol: the atherosclerosis risk in communities study*. Am J Med Sci, 2011. **341**(3): p. 173-80.
  118. Austin, M.A., et al., *Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk*. Circulation, 1990. **82**(2): p. 495-506.
  119. Reaven, G.M., et al., *Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense low density lipoprotein particles*. J Clin Invest, 1993. **92**(1): p. 141-6.
  120. Kathiresan, S., et al., *Increased small low-density lipoprotein particle number: a prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study*. Circulation, 2006. **113**(1): p. 20-9.
  121. Chan, D.C. and G.F. Watts, *Dyslipidaemia in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: pathogenesis, priorities, pharmacotherapies*. Expert Opin Pharmacother, 2011. **12**(1): p. 13-30.
  122. Sacks, F.M., *The apolipoprotein story*. Atheroscler Suppl, 2006. **7**(4): p. 23-7.
  123. Sniderman, A., H. Vu, and K. Cianflone, *Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels*. Atherosclerosis, 1991. **89**(2-3): p. 109-16.
  124. von Eckardstein, A., J.R. Nofer, and G. Assmann, *High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001. **21**(1): p. 13-27.

125. Lamarche, B., et al., *Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study*. *Circulation*, 1997. **95**(1): p. 69-75.
126. St-Pierre, A.C., et al., *Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease*. *Circulation*, 2001. **104**(19): p. 2295-9.
127. Berneis, K.K. and R.M. Krauss, *Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity*. *J Lipid Res*, 2002. **43**(9): p. 1363-79.
128. Rosenson, R.S., J.D. Otvos, and D.S. Freedman, *Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial*. *Am J Cardiol*, 2002. **90**(2): p. 89-94.
129. Tribble, D.L., et al., *Enhanced oxidative susceptibility and reduced antioxidant content of metabolic precursors of small, dense low-density lipoproteins*. *Am J Med*, 2001. **110**(2): p. 103-10.
130. Blake, G.J., et al., *Low-density lipoprotein particle concentration and size as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy as predictors of cardiovascular disease in women*. *Circulation*, 2002. **106**(15): p. 1930-7.
131. Otvos, J.D., et al., *Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein particle subclasses predict coronary events and are favorably changed by gemfibrozil therapy in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial*. *Circulation*, 2006. **113**(12): p. 1556-63.
132. Mora, S., et al., *LDL particle subclasses, LDL particle size, and carotid atherosclerosis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*. *Atherosclerosis*, 2007. **192**(1): p. 211-7.
133. Kuller, L., et al., *Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lipoproteins and risk of coronary heart disease in the cardiovascular health study*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. **22**(7): p. 1175-80.
134. Mackey, R.H., et al., *Lipoprotein subclasses and coronary artery calcium in postmenopausal women from the healthy women study*. *Am J Cardiol*, 2002. **90**(8A): p. 71i-76i.

135. Superko, H.R. and R.R. Gadesam, *Is it LDL particle size or number that correlates with risk for cardiovascular disease?* Curr Atheroscler Rep, 2008. **10**(5): p. 377-85.
136. Walldius, G., et al., *The apoB/apoA-I ratio is better than the cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk.* Clin Chem Lab Med, 2004. **42**(12): p. 1355-63.
137. Yusuf, S., et al., *Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study.* Lancet, 2004. **364**(9438): p. 937-52.
138. Ginsberg, H.N. and L.S. Huang, *The insulin resistance syndrome: impact on lipoprotein metabolism and atherothrombosis.* J Cardiovasc Risk, 2000. **7**(5): p. 325-31.
139. Taskinen, M.R., *Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice.* Diabetologia, 2003. **46**(6): p. 733-49.
140. Adiels, M., et al., *Overproduction of VLDL1 driven by hyperglycemia is a dominant feature of diabetic dyslipidemia.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(8): p. 1697-703.
141. Kim, J.K., et al., *PKC-theta knockout mice are protected from fat-induced insulin resistance.* J Clin Invest, 2004. **114**(6): p. 823-7.
142. Yu, C., et al., *Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle.* J Biol Chem, 2002. **277**(52): p. 50230-6.
143. Calder, P.C., *n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases.* Am J Clin Nutr, 2006. **83**(6 Suppl): p. 1505S-1519S.
144. Yudkin, J.S., et al., *C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue?* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999. **19**(4): p. 972-8.

145. Mohamed-Ali, V., et al., *Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(12): p. 4196-200.
146. Lundgren, C.H., et al., *Elaboration of type-1 plasminogen activator inhibitor from adipocytes. A potential pathogenetic link between obesity and cardiovascular disease*. Circulation, 1996. **93**(1): p. 106-10.
147. Engstrom, G., et al., *Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with future weight gain*. Diabetes, 2003. **52**(8): p. 2097-101.
148. Devaraj, S., et al., *Role of C-reactive protein in contributing to increased cardiovascular risk in metabolic syndrome*. Curr Atheroscler Rep, 2010. **12**(2): p. 110-8.
149. Ridker, P.M., et al., *C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women*. N Engl J Med, 2000. **342**(12): p. 836-43.
150. Ridker, P.M., et al., *Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men*. N Engl J Med, 1997. **336**(14): p. 973-9.
151. Festa, A., et al., *Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS)*. Circulation, 2000. **102**(1): p. 42-7.
152. Yudkin, J.S., et al., *Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study*. Metabolism, 2004. **53**(7): p. 852-7.
153. Ridker, P.M., et al., *Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score*. JAMA, 2007. **297**(6): p. 611-9.
154. Ridker, P.M., *Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention*. Circulation, 2003. **107**(3): p. 363-9.
155. Sattar, N., et al., *Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study*. Circulation, 2003. **108**(4): p. 414-9.

156. Suzuki, T., et al., *Metabolic syndrome, inflammation, and incident heart failure in the elderly: the cardiovascular health study*. *Circ Heart Fail*, 2008. **1**(4): p. 242-8.
157. Coppack, S.W., *Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue*. *Proc Nutr Soc*, 2001. **60**(3): p. 349-56.
158. Mohamed-Ali, V., et al., *Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo*. *Am J Physiol*, 1999. **277**(6 Pt 1): p. E971-5.
159. Castell, J.V., et al., *Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes*. *FEBS Lett*, 1989. **242**(2): p. 237-9.
160. Hotamisligil, G.S., *Inflammation and metabolic disorders*. *Nature*, 2006. **444**(7121): p. 860-7.
161. Cinti, S., et al., *Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans*. *J Lipid Res*, 2005. **46**(11): p. 2347-55.
162. Lehrke, M., et al., *An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans*. *PLoS Med*, 2004. **1**(2): p. e45.
163. Lumeng, C.N., S.M. Deyoung, and A.R. Saltiel, *Macrophages block insulin action in adipocytes by altering expression of signaling and glucose transport proteins*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007. **292**(1): p. E166-74.
164. Permana, P.A., C. Menge, and P.D. Reaven, *Macrophage-secreted factors induce adipocyte inflammation and insulin resistance*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. **341**(2): p. 507-14.
165. Suganami, T., J. Nishida, and Y. Ogawa, *A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. **25**(10): p. 2062-8.
166. Morris, D.L., K. Singer, and C.N. Lumeng, *Adipose tissue macrophages: phenotypic plasticity and diversity in lean and obese states*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2011. **14**(4): p. 341-6.
167. Zeyda, M. and T.M. Stulnig, *Adipose tissue macrophages*. *Immunol Lett*, 2007. **112**(2): p. 61-7.

168. Harman-Boehm, I., et al., *Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations: effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(6): p. 2240-7.
169. Zou, C. and J. Shao, *Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance*. J Nutr Biochem, 2008. **19**(5): p. 277-86.
170. Rieusset, J., et al., *Suppressor of cytokine signaling 3 expression and insulin resistance in skeletal muscle of obese and type 2 diabetic patients*. Diabetes, 2004. **53**(9): p. 2232-41.
171. Esposito, K. and D. Giugliano, *The metabolic syndrome and inflammation: association or causation?* Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2004. **14**(5): p. 228-32.
172. Dandona, P., et al., *Insulin suppresses endotoxin-induced oxidative, nitrosative, and inflammatory stress in humans*. Diabetes Care, 2010. **33**(11): p. 2416-23.
173. Steinberg, G.R., *Inflammation in obesity is the common link between defects in fatty acid metabolism and insulin resistance*. Cell Cycle, 2007. **6**(8): p. 888-94.
174. Tedgui, A. and Z. Mallat, *Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways*. Physiol Rev, 2006. **86**(2): p. 515-81.
175. Packard, R.R. and P. Libby, *Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction*. Clin Chem, 2008. **54**(1): p. 24-38.
176. Huang, A.L. and J.A. Vita, *Effects of systemic inflammation on endothelium-dependent vasodilation*. Trends Cardiovasc Med, 2006. **16**(1): p. 15-20.
177. Fonseca, F.A. and M.C. Izar, *Primary prevention of vascular events in patients with high levels of C-reactive protein: the JUPITER study*. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2009. **7**(9): p. 1041-56.
178. Wiseman, H. and B. Halliwell, *Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer*. Biochem J, 1996. **313** ( Pt 1): p. 17-29.
179. Yu, B.P., *Cellular defenses against damage from reactive oxygen species*. Physiol Rev, 1994. **74**(1): p. 139-62.

180. Bloch-Damti, A. and N. Bashan, *Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress*. *Antioxid Redox Signal*, 2005. **7**(11-12): p. 1553-67.
181. Wei, Y.H., et al., *Oxidative damage and mutation to mitochondrial DNA and age-dependent decline of mitochondrial respiratory function*. *Ann N Y Acad Sci*, 1998. **854**: p. 155-70.
182. Halliwell, B. and M. Whiteman, *Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?* *Br J Pharmacol*, 2004. **142**(2): p. 231-55.
183. Vincent, H.K., K.E. Innes, and K.R. Vincent, *Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity*. *Diabetes Obes Metab*, 2007. **9**(6): p. 813-39.
184. Reitman, A., et al., *Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity*. *Isr Med Assoc J*, 2002. **4**(8): p. 590-3.
185. Canoy, D., et al., *Plasma ascorbic acid concentrations and fat distribution in 19,068 British men and women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Norfolk cohort study*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **82**(6): p. 1203-9.
186. Ohrvall, M., S. Tengblad, and B. Vessby, *Lower tocopherol serum levels in subjects with abdominal adiposity*. *J Intern Med*, 1993. **234**(1): p. 53-60.
187. Moor de Burgos, A., M. Wartanowicz, and S. Ziemiński, *Blood vitamin and lipid levels in overweight and obese women*. *Eur J Clin Nutr*, 1992. **46**(11): p. 803-8.
188. Erdeve, O., et al., *Antioxidant superoxide dismutase activity in obese children*. *Biol Trace Elem Res*, 2004. **98**(3): p. 219-28.
189. Olusi, S.O., *Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans*. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002. **26**(9): p. 1159-64.
190. Vincent, H.K., et al., *Mechanism for obesity-induced increase in myocardial lipid peroxidation*. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2001. **25**(3): p. 378-88.

191. Lavrovsky, Y., et al., *Role of redox-regulated transcription factors in inflammation, aging and age-related diseases*. Exp Gerontol, 2000. **35**(5): p. 521-32.
192. Lamb, R.E. and B.J. Goldstein, *Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function*. Int J Clin Pract, 2008. **62**(7): p. 1087-95.
193. Tuncman, G., et al., *Functional in vivo interactions between JNK1 and JNK2 isoforms in obesity and insulin resistance*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(28): p. 10741-6.
194. Meister, A. and M.E. Anderson, *Glutathione*. Annu Rev Biochem, 1983. **52**: p. 711-60.
195. Josephy, P.D., *Molecular Toxicology*. 1997, New York: Oxford University Press.
196. Gregus, Z., et al., *Lipoic acid impairs glycine conjugation of benzoic acid and renal excretion of benzoylglycine*. Drug Metab Dispos, 1996. **24**(6): p. 682-8.
197. Skalicky, J., et al., *Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome*. Clin Chem Lab Med, 2008. **46**(4): p. 499-505.
198. Maritim, A.C., R.A. Sanders, and J.B. Watkins, 3rd, *Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review*. J Biochem Mol Toxicol, 2003. **17**(1): p. 24-38.
199. Tinahones, F.J., et al., *Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance*. Obesity (Silver Spring), 2009. **17**(2): p. 240-6.
200. McClung, J.P., et al., *Development of insulin resistance and obesity in mice overexpressing cellular glutathione peroxidase*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(24): p. 8852-7.
201. Loh, K., et al., *Reactive oxygen species enhance insulin sensitivity*. Cell Metab, 2009. **10**(4): p. 260-72.
202. Khamaisi, M., et al., *Effect of inhibition of glutathione synthesis on insulin action: in vivo and in vitro studies using buthionine sulfoximine*. Biochem J, 2000. **349**(Pt 2): p. 579-86.
203. Real, J.T., et al., *Increased oxidative stress levels and normal antioxidant enzyme activity in circulating mononuclear cells from patients of familial hypercholesterolemia*. Metabolism, 2010. **59**(2): p. 293-8.

204. Sabitha, P., D.M. Vasudevan, and P. Kamath, *Effect of high fat diet without cholesterol supplementation on oxidative stress and lipid peroxidation in New Zealand white rabbits*. J Atheroscler Thromb, 2010. **17**(2): p. 213-8.
205. Lee, S.H., et al., *Millet consumption decreased serum concentration of triglyceride and C-reactive protein but not oxidative status in hyperlipidemic rats*. Nutr Res, 2010. **30**(4): p. 290-6.
206. Pizent, A., et al., *Antioxidants, trace elements and metabolic syndrome in elderly subjects*. J Nutr Health Aging, 2010. **14**(10): p. 866-71.
207. Blankenberg, S., et al., *Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease*. N Engl J Med, 2003. **349**(17): p. 1605-13.
208. Leung, F.P., et al., *Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (Part 1)*. Sports Med, 2008. **38**(12): p. 1009-24.
209. Garcia-Pinilla, J.M., et al., *Baseline glutathione peroxidase activity affects prognosis after acute coronary syndromes*. Tex Heart Inst J, 2008. **35**(3): p. 262-7.
210. Arsenault, B.J., et al., *Physical inactivity, abdominal obesity and risk of coronary heart disease in apparently healthy men and women*. Int J Obes (Lond), 2010. **34**(2): p. 340-7.
211. Wing, R.R. and S. Phelan, *Long-term weight loss maintenance*. Am J Clin Nutr, 2005. **82**(1 Suppl): p. 222S-225S.
212. Morse, S.A., et al., *Isn't this just bedtime snacking? The potential adverse effects of night-eating symptoms on treatment adherence and outcomes in patients with diabetes*. Diabetes Care, 2006. **29**(8): p. 1800-4.
213. Ledikwe, J.H., J.A. Ello-Martin, and B.J. Rolls, *Portion sizes and the obesity epidemic*. J Nutr, 2005. **135**(4): p. 905-9.
214. Stubbs, C.O. and A.J. Lee, *The obesity epidemic: both energy intake and physical activity contribute*. Med J Aust, 2004. **181**(9): p. 489-91.
215. Duffey, K.J. and B.M. Popkin, *Energy density, portion size, and eating occasions: contributions to increased energy intake in the United States, 1977-2006*. PLoS Med, 2011. **8**(6): p. e1001050.

216. Shikany, J.M., et al., *Is dietary fat "fattening"? A comprehensive research synthesis*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2010. **50**(8): p. 699-715.
217. Nielsen, S.J. and B.M. Popkin, *Patterns and trends in food portion sizes, 1977-1998*. JAMA, 2003. **289**(4): p. 450-3.
218. Dhingra, R., et al., *Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community*. Circulation, 2007. **116**(5): p. 480-8.
219. Davis, N., S. Katz, and J. Wylie-Rosett, *The effect of diet on endothelial function*. Cardiol Rev, 2007. **15**(2): p. 62-6.
220. Galland, L., *Diet and inflammation*. Nutr Clin Pract, 2010. **25**(6): p. 634-40.
221. Psaltopoulou, T., I. Ilias, and M. Alevizaki, *The role of diet and lifestyle in primary, secondary, and tertiary diabetes prevention: a review of meta-analyses*. Rev Diabet Stud, 2010. **7**(1): p. 26-35.
222. Baz-Hecht, M. and A.B. Goldfine, *The impact of vitamin D deficiency on diabetes and cardiovascular risk*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2010. **17**(2): p. 113-9.
223. Zemel, M.B., *Proposed role of calcium and dairy food components in weight management and metabolic health*. Phys Sportsmed, 2009. **37**(2): p. 29-39.
224. Jacobs, D.R., Jr., M.D. Gross, and L.C. Tapsell, *Food synergy: an operational concept for understanding nutrition*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(5): p. 1543S-1548S.
225. Bouchard-Mercier, A., et al., *Associations between Dietary Patterns and LDL Peak Particle Diameter: A Cross-Sectional Study*. J Am Coll Nutr, 2010. **29**(6): p. 630-7.
226. Drogan, D., et al., *A food pattern predicting prospective weight change is associated with risk of fatal but not with nonfatal cardiovascular disease*. J Nutr, 2007. **137**(8): p. 1961-7.
227. Heidemann, C., et al., *Dietary patterns are associated with cardiometabolic risk factors in a representative study population of German adults*. Br J Nutr, 2011: p. 1-10.

228. Keys, A., et al., *The diet and 15-year death rate in the seven countries study*. Am J Epidemiol, 1986. **124**(6): p. 903-15.
229. Willett, W.C., et al., *Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating*. Am J Clin Nutr, 1995. **61**(6 Suppl): p. 1402S-1406S.
230. Trichopoulou, A., *Mediterranean diet: the past and the present*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2001. **11**(4 Suppl): p. 1-4.
231. Trichopoulou, A. and E. Vasilopoulou, *Mediterranean diet and longevity*. Br J Nutr, 2000. **84 Suppl 2**: p. S205-9.
232. Heroux, M., et al., *Dietary patterns and the risk of mortality: impact of cardiorespiratory fitness*. Int J Epidemiol, 2010. **39**(1): p. 197-209.
233. Lopez-Garcia, E., et al., *Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction*. Am J Clin Nutr, 2004. **80**(4): p. 1029-35.
234. Fung, T.T., et al., *Dietary patterns and the risk of coronary heart disease in women*. Arch Intern Med, 2001. **161**(15): p. 1857-62.
235. Giugliano, D. and K. Esposito, *Mediterranean diet and metabolic diseases*. Curr Opin Lipidol, 2008. **19**(1): p. 63-8.
236. Kastorini, C.M., et al., *Mediterranean diet and coronary heart disease: is obesity a link? - A systematic review*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2010. **20**(7): p. 536-51.
237. Kastorini, C.M. and D.B. Panagiotakos, *The role of the mediterranean diet on the development of the metabolic syndrome*. Front Biosci (Elite Ed), 2010. **2**: p. 1320-33.
238. Champagne, C.M., *The usefulness of a Mediterranean-based diet in individuals with type 2 diabetes*. Curr Diab Rep, 2009. **9**(5): p. 389-95.
239. Elisha, B., et al., *From French to Mediterranean Diet: Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acids Ratio*. World Rev Nutr Diet, 2011. **102**: p. 81-91.
240. Fung, T.T., et al., *Dietary patterns, meat intake, and the risk of type 2 diabetes in women*. Arch Intern Med, 2004. **164**(20): p. 2235-40.
241. Hausman, D.B., et al., *Body mass index is associated with dietary patterns and health conditions in georgia centenarians*. J Aging Res, 2011. **2011**: p. 138015.

242. Togo, P., et al., *Food intake patterns and body mass index in observational studies*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2001. **25**(12): p. 1741-51.
243. Kant, A.K., *Indexes of overall diet quality: a review*. J Am Diet Assoc, 1996. **96**(8): p. 785-91.
244. Kant, A.K., et al., *A prospective study of diet quality and mortality in women*. JAMA, 2000. **283**(16): p. 2109-15.
245. Kant, A.K., et al., *Dietary diversity and subsequent mortality in the First National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study*. Am J Clin Nutr, 1993. **57**(3): p. 434-40.
246. Fung, T.T., et al., *Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction*. Am J Clin Nutr, 2005. **82**(1): p. 163-73.
247. Sanchez-Villegas, A., et al., *Determinants of the adherence to an "a priori" defined Mediterranean dietary pattern*. Eur J Nutr, 2002. **41**(6): p. 249-57.
248. Gerber, M.J., et al., *Profiles of a healthful diet and its relationship to biomarkers in a population sample from Mediterranean southern France*. J Am Diet Assoc, 2000. **100**(10): p. 1164-71.
249. Trichopoulou, A., et al., *Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population*. N Engl J Med, 2003. **348**(26): p. 2599-608.
250. Guenther, P.M., J. Reedy, and S.M. Krebs-Smith, *Development of the Healthy Eating Index-2005*. J Am Diet Assoc, 2008. **108**(11): p. 1896-901.
251. McCullough, M.L., et al., *Diet quality and major chronic disease risk in men and women: moving toward improved dietary guidance*. Am J Clin Nutr, 2002. **76**(6): p. 1261-71.
252. Kim, S., et al., *The Diet Quality Index-International (DQI-I) provides an effective tool for cross-national comparison of diet quality as illustrated by China and the United States*. J Nutr, 2003. **133**(11): p. 3476-84.
253. Woodruff, S.J. and R.M. Hanning, *Development and implications of a revised Canadian Healthy Eating Index (HEIC-2009)*. Public Health Nutr, 2010. **13**(6): p. 820-5.

254. Santé Canada, *Bien manger avec le Guide alimentaire canadien*, 2007, Cat. No. H164-38/1-2007E: <http://www.hs-sc.qc.ca/fn.an/food-guide-aliment/index-eng.php>.
255. Aune, D., G. Ursin, and M.B. Veierod, *Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies*. *Diabetologia*, 2009. **52**(11): p. 2277-87.
256. Kimokoti, R.W. and L.S. Brown, *Dietary management of the metabolic syndrome*. *Clin Pharmacol Ther*, 2011. **90**(1): p. 184-7.
257. Salas-Salvado, J., et al., *The role of diet in the prevention of type 2 diabetes*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2011.
258. Pitsavos, C., et al., *Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **82**(3): p. 694-9.
259. Chrysohoou, C., et al., *Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study*. *J Am Coll Cardiol*, 2004. **44**(1): p. 152-8.
260. Panagiotakos, D.B., C. Pitsavos, and C. Stefanadis, *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2006. **16**(8): p. 559-68.
261. Guo, X., et al., *Healthy Eating Index and obesity*. *Eur J Clin Nutr*, 2004. **58**(12): p. 1580-6.
262. Kant, A.K. and B.I. Graubard, *A comparison of three dietary pattern indexes for predicting biomarkers of diet and disease*. *J Am Coll Nutr*, 2005. **24**(4): p. 294-303.
263. Shah, B.S., et al., *Diet quality as measured by the healthy eating index and the association with lipid profile in low-income women in early postpartum*. *J Am Diet Assoc*, 2010. **110**(2): p. 274-9.
264. Tande, D.L., R. Magel, and B.N. Strand, *Healthy Eating Index and abdominal obesity*. *Public Health Nutr*, 2010. **13**(2): p. 208-14.
265. Kim, J.Y., et al., *Diet quality scores and oxidative stress in Korean adults*. *Eur J Clin Nutr*, 2011.

266. Tardivo, A.P., et al., *Associations between healthy eating patterns and indicators of metabolic risk in postmenopausal women*. Nutr J, 2010. **9**: p. 64.
267. Ford, E.S., A.H. Mokdad, and S. Liu, *Healthy Eating Index and C-reactive protein concentration: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-1994*. Eur J Clin Nutr, 2005. **59**(2): p. 278-83.
268. Manios, Y., et al., *Development of a lifestyle-diet quality index for primary schoolchildren and its relation to insulin resistance: the Healthy Lifestyle-Diet Index*. Eur J Clin Nutr, 2010. **64**(12): p. 1399-406.
269. Asbeck, I., et al., *Severe underreporting of energy intake in normal weight subjects: use of an appropriate standard and relation to restrained eating*. Public Health Nutr, 2002. **5**(5): p. 683-90.
270. Garriguet, D., *Under-reporting of energy intake in the Canadian Community Health Survey*. Health Rep, 2008. **19**(4): p. 37-45.
271. Singh, R., et al., *Comparison of self-reported, measured, metabolizable energy intake with total energy expenditure in overweight teens*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(6): p. 1744-50.
272. Livingstone, M.B. and A.E. Black, *Markers of the validity of reported energy intake*. J Nutr, 2003. **133 Suppl 3**: p. 895S-920S.
273. Ferrari, P., et al., *Evaluation of under- and overreporting of energy intake in the 24-hour diet recalls in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)*. Public Health Nutr, 2002. **5**(6B): p. 1329-45.
274. Winkvist, A., V. Persson, and T.N. Hartini, *Underreporting of energy intake is less common among pregnant women in Indonesia*. Public Health Nutr, 2002. **5**(4): p. 523-9.
275. Goldberg, G.R., et al., *Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording*. Eur J Clin Nutr, 1991. **45**(12): p. 569-81.
276. Schofield, W.N., *Predicting basal metabolic rate, new standards and review of previous work*. Hum Nutr Clin Nutr, 1985. **39 Suppl 1**: p. 5-41.

277. FAO/WHO/UNU, *Energy and Protein Requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation*, in *Technical Report Series 7241985*, World Health Organization: Geneva, Switzerland.
278. Black, A.E., *The sensitivity and specificity of the Goldberg cut-off for EI:BMR for identifying diet reports of poor validity*. *Eur J Clin Nutr*, 2000. **54**(5): p. 395-404.
279. Mendez, M.A., et al., *Alternative methods of accounting for underreporting and overreporting when measuring dietary intake-obesity relations*. *Am J Epidemiol*, 2011. **173**(4): p. 448-58.
280. Black, A.E. and T.J. Cole, *Within- and between-subject variation in energy expenditure measured by the doubly-labelled water technique: implications for validating reported dietary energy intake*. *Eur J Clin Nutr*, 2000. **54**(5): p. 386-94.
281. St-Onge, M., et al., *Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults*. *Am J Clin Nutr*, 2007. **85**(3): p. 742-9.
282. Dong, L., G. Block, and S. Mandel, *Activities Contributing to Total Energy Expenditure in the United States: Results from the NHAPS Study*. *Int J Behav Nutr Phys Act*, 2004. **1**(1): p. 4.
283. Plasqui, G. and K.R. Westerterp, *Seasonal variation in total energy expenditure and physical activity in Dutch young adults*. *Obes Res*, 2004. **12**(4): p. 688-94.
284. Prentice, A.M., et al., *Energy expenditure in overweight and obese adults in affluent societies: an analysis of 319 doubly-labelled water measurements*. *Eur J Clin Nutr*, 1996. **50**(2): p. 93-7.
285. Koo, B.K., et al., *The effects of total energy expenditure from all levels of physical activity vs. physical activity energy expenditure from moderate-to-vigorous activity on visceral fat and insulin sensitivity in obese Type 2 diabetic women*. *Diabet Med*, 2010. **27**(9): p. 1088-92.
286. Jumpertz, R., et al., *Higher energy expenditure in humans predicts natural mortality*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. **96**(6): p. E972-6.
287. Fontana, L., *Calorie restriction and cardiometabolic health*. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2008. **15**(1): p. 3-9.

288. Ristow, M. and K. Zarse, *How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis)*. *Exp Gerontol*, 2010. **45**(6): p. 410-8.
289. Harris, J.A. and F.G. Benedict, *A biometric study of basal metabolism in man*, 1919, The Carnegie Institute of Washington: Washington, DC.
290. James, W.P., et al., *Elevated metabolic rates in obesity*. *Lancet*, 1978. **1**(8074): p. 1122-5.
291. Ravussin, E., et al., *Twenty-four-hour energy expenditure and resting metabolic rate in obese, moderately obese, and control subjects*. *Am J Clin Nutr*, 1982. **35**(3): p. 566-73.
292. Ravussin, E., et al., *Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain*. *N Engl J Med*, 1988. **318**(8): p. 467-72.
293. Weinsier, R.L., et al., *Metabolic predictors of obesity. Contribution of resting energy expenditure, thermic effect of food, and fuel utilization to four-year weight gain of post-obese and never-obese women*. *J Clin Invest*, 1995. **95**(3): p. 980-5.
294. Arshad, A., R. Rashid, and K. Benjamin, *The effect of disease activity on fat-free mass and resting energy expenditure in patients with rheumatoid arthritis versus noninflammatory arthropathies/soft tissue rheumatism*. *Mod Rheumatol*, 2007. **17**(6): p. 470-5.
295. Nguyen, L.T., et al., *Increased resting energy expenditure is related to plasma TNF-alpha concentration in stable COPD patients*. *Clin Nutr*, 1999. **18**(5): p. 269-74.
296. Utaka, S., et al., *Inflammation is associated with increased energy expenditure in patients with chronic kidney disease*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **82**(4): p. 801-5.
297. Rush, E.C., L.D. Plank, and C.S. Yajnik, *Interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and insulin relationships to body composition, metabolism and resting energy expenditure in a migrant Asian Indian population*. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2007. **66**(5): p. 684-90.
298. de Luis, D.A., et al., *Resting energy expenditure, cardiovascular risk factors and insulin resistance in obese patients*. *Ann Nutr Metab*, 2005. **49**(6): p. 381-5.

299. Georgopoulos, N.A., et al., *Basal metabolic rate is decreased in women with polycystic ovary syndrome and biochemical hyperandrogenemia and is associated with insulin resistance*. *Fertil Steril*, 2009. **92**(1): p. 250-5.
300. Hosking, J., et al., *Changes in resting energy expenditure and their relationship to insulin resistance and weight gain: a longitudinal study in pre-pubertal children (EarlyBird 17)*. *Clin Nutr*, 2010. **29**(4): p. 448-52.
301. De Luis, D.A., R. Aller, and O. Izaola, *Resting energy expenditure and insulin resistance in obese patients, differences in women and men*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2006. **10**(6): p. 285-9.
302. Njelekela, M., et al., *Prevalence of obesity and dyslipidemia in middle-aged men and women in Tanzania, Africa: relationship with resting energy expenditure and dietary factors*. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2002. **48**(5): p. 352-8.
303. Frisard, M.I., et al., *Aging, resting metabolic rate, and oxidative damage: results from the Louisiana Healthy Aging Study*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2007. **62**(7): p. 752-9.
304. Akohoue, S.A., et al., *Energy expenditure, inflammation, and oxidative stress in steady-state adolescents with sickle cell anemia*. *Pediatr Res*, 2007. **61**(2): p. 233-8.
305. Tataranni, P.A., et al., *Thermic effect of food in humans: methods and results from use of a respiratory chamber*. *Am J Clin Nutr*, 1995. **61**(5): p. 1013-9.
306. Enerback, S., *Brown adipose tissue in humans*. *Int J Obes (Lond)*, 2010. **34 Suppl 1**: p. S43-6.
307. Crowley, V. and A.J. Vidal-Puig, *Mitochondrial uncoupling proteins (UCPs) and obesity*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2001. **11**(1): p. 70-5.
308. Ouellet, V., et al., *Outdoor temperature, age, sex, body mass index, and diabetic status determine the prevalence, mass, and glucose-uptake activity of 18F-FDG-detected BAT in humans*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. **96**(1): p. 192-9.
309. Walsh, M.C., et al., *Comparison of self-reported with objectively assessed energy expenditure in black and white women before and after weight loss*. *Am J Clin Nutr*, 2004. **79**(6): p. 1013-9.

310. Mahabir, S., et al., *Comparison of energy expenditure estimates from 4 physical activity questionnaires with doubly labeled water estimates in postmenopausal women*. Am J Clin Nutr, 2006. **84**(1): p. 230-6.
311. Levine, J.A., *Nonexercise activity thermogenesis--liberating the life-force*. J Intern Med, 2007. **262**(3): p. 273-87.
312. Church, T.S., et al., *Trends over 5 Decades in U.S. Occupation-Related Physical Activity and Their Associations with Obesity*. PLoS One, 2011. **6**(5): p. e19657.
313. Westerterp, K.R. and J.R. Speakman, *Physical activity energy expenditure has not declined since the 1980s and matches energy expenditures of wild mammals*. Int J Obes (Lond), 2008. **32**(8): p. 1256-63.
314. Major, G.C., et al., *Energy expenditure from physical activity and the metabolic risk profile at menopause*. Med Sci Sports Exerc, 2005. **37**(2): p. 204-12.
315. Ekelund, U., et al., *Physical activity energy expenditure predicts changes in body composition in middle-aged healthy whites: effect modification by age*. Am J Clin Nutr, 2005. **81**(5): p. 964-9.
316. Manini, T.M., et al., *Activity energy expenditure and change in body composition in late life*. Am J Clin Nutr, 2009. **90**(5): p. 1336-42.
317. Ekelund, U., et al., *Increase in physical activity energy expenditure is associated with reduced metabolic risk independent of change in fatness and fitness*. Diabetes Care, 2007. **30**(8): p. 2101-6.
318. Assah, F.K., et al., *Free-living physical activity energy expenditure is strongly related to glucose intolerance in Cameroonian adults independently of obesity*. Diabetes Care, 2009. **32**(2): p. 367-9.
319. Holt, H.B., et al., *Differential effects of fatness, fitness and physical activity energy expenditure on whole-body, liver and fat insulin sensitivity*. Diabetologia, 2007. **50**(8): p. 1698-706.
320. Ekelund, U., et al., *Physical activity energy expenditure predicts progression toward the metabolic syndrome independently of aerobic fitness in middle-aged healthy Caucasians: the Medical Research Council Ely Study*. Diabetes Care, 2005. **28**(5): p. 1195-200.

321. Karelis, A.D., et al., *Relationship between the metabolic syndrome and physical activity energy expenditure: a MONET study*. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2008. **33**(2): p. 309-14.
322. Manini, T.M., et al., *Daily activity energy expenditure and mortality among older adults*. *JAMA*, 2006. **296**(2): p. 171-9.
323. Singer, R.B., *Mortality in older adults in relation to daily activity energy expenditure*. *J Insur Med*, 2008. **40**(1): p. 38-43.
324. Kushi, L.H., et al., *Physical activity and mortality in postmenopausal women*. *JAMA*, 1997. **277**(16): p. 1287-92.
325. Bijnen, F.C., et al., *Physical activity and 10-year mortality from cardiovascular diseases and all causes: The Zutphen Elderly Study*. *Arch Intern Med*, 1998. **158**(14): p. 1499-505.
326. Stessman, J., et al., *The effects of physical activity on mortality in the Jerusalem 70-Year-Olds Longitudinal Study*. *J Am Geriatr Soc*, 2000. **48**(5): p. 499-504.
327. Wijndaele, K., et al., *Television viewing time independently predicts all-cause and cardiovascular mortality: the EPIC Norfolk study*. *Int J Epidemiol*, 2011. **40**(1): p. 150-9.
328. Hey-Mogensen, M., et al., *Effect of physical training on mitochondrial respiration and reactive oxygen species release in skeletal muscle in patients with obesity and type 2 diabetes*. *Diabetologia*, 2010. **53**(9): p. 1976-85.
329. Ristow, M., et al., *Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009. **106**(21): p. 8665-70.
330. Goto, S., et al., *Regular exercise: an effective means to reduce oxidative stress in old rats*. *Ann N Y Acad Sci*, 2004. **1019**: p. 471-4.
331. *Physical activity and cardiovascular health. NIH Consensus Development Panel on Physical Activity and Cardiovascular Health*. *JAMA*, 1996. **276**(3): p. 241-6.
332. Skinner, J.S., et al., *Age, sex, race, initial fitness, and response to training: the HERITAGE Family Study*. *J Appl Physiol*, 2001. **90**(5): p. 1770-6.
333. American College of Sports Medicine, *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. 2009, Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.

334. Lee, D.C., et al., *Comparisons of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness as predictors of all-cause mortality in men and women*. Br J Sports Med, 2011. **45**(6): p. 504-10.
335. Blair, S.N. and T.S. Church, *The fitness, obesity, and health equation: is physical activity the common denominator?* JAMA, 2004. **292**(10): p. 1232-4.
336. Blair, S.N., *Physical inactivity: the biggest public health problem of the 21st century*. Br J Sports Med, 2009. **43**(1): p. 1-2.
337. Lee, C.D., S.N. Blair, and A.S. Jackson, *Cardiorespiratory fitness, body composition, and all-cause and cardiovascular disease mortality in men*. Am J Clin Nutr, 1999. **69**(3): p. 373-80.
338. Sui, X., et al., *Cardiorespiratory fitness and adiposity as mortality predictors in older adults*. JAMA, 2007. **298**(21): p. 2507-16.
339. Blair, S.N., et al., *Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men*. JAMA, 1995. **273**(14): p. 1093-8.
340. Dietz, W.H., Jr. and S.L. Gortmaker, *Do we fatten our children at the television set? Obesity and television viewing in children and adolescents*. Pediatrics, 1985. **75**(5): p. 807-12.
341. Rissanen, A.M., et al., *Determinants of weight gain and overweight in adult Finns*. Eur J Clin Nutr, 1991. **45**(9): p. 419-30.
342. Hamer, M. and G. O'Donovan, *Cardiorespiratory fitness and metabolic risk factors in obesity*. Curr Opin Lipidol, 2010. **21**(1): p. 1-7.
343. O'Donovan, G., et al., *Fat distribution in men of different waist girth, fitness level and exercise habit*. Int J Obes (Lond), 2009. **33**(12): p. 1356-62.
344. Ross, R. and A.J. Bradshaw, *The future of obesity reduction: beyond weight loss*. Nat Rev Endocrinol, 2009. **5**(6): p. 319-25.
345. Weinstein, A.R., et al., *Relationship of physical activity vs body mass index with type 2 diabetes in women*. JAMA, 2004. **292**(10): p. 1188-94.
346. Sui, X., et al., *A prospective study of cardiorespiratory fitness and risk of type 2 diabetes in women*. Diabetes Care, 2008. **31**(3): p. 550-5.

347. Lee, D.C., et al., *Associations of cardiorespiratory fitness and obesity with risks of impaired fasting glucose and type 2 diabetes in men*. *Diabetes Care*, 2009. **32**(2): p. 257-62.
348. Colberg, S.R., et al., *Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement*. *Diabetes Care*, 2010. **33**(12): p. e147-67.
349. Venables, M.C. and A.E. Jeukendrup, *Endurance training and obesity: effect on substrate metabolism and insulin sensitivity*. *Med Sci Sports Exerc*, 2008. **40**(3): p. 495-502.
350. Lee, D.C., et al., *Mortality trends in the general population: the importance of cardiorespiratory fitness*. *J Psychopharmacol*, 2010. **24**(4 Suppl): p. 27-35.
351. Lee, S., et al., *Cardiorespiratory fitness attenuates metabolic risk independent of abdominal subcutaneous and visceral fat in men*. *Diabetes Care*, 2005. **28**(4): p. 895-901.
352. Kraus, W.E., et al., *Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins*. *N Engl J Med*, 2002. **347**(19): p. 1483-92.
353. Christou, D.D., et al., *Fatness is a better predictor of cardiovascular disease risk factor profile than aerobic fitness in healthy men*. *Circulation*, 2005. **111**(15): p. 1904-14.
354. Arsenault, B.J., et al., *Visceral adipose tissue accumulation, cardiorespiratory fitness, and features of the metabolic syndrome*. *Arch Intern Med*, 2007. **167**(14): p. 1518-25.
355. Jekal, Y., et al., *Association between Obesity and Physical Fitness, and Hemoglobin A1c Level and Metabolic Syndrome in Korean Adults*. *Korean Diabetes J*, 2010. **34**(3): p. 182-90.
356. Hamer, M., *The relative influences of fitness and fatness on inflammatory factors*. *Prev Med*, 2007. **44**(1): p. 3-11.
357. Bassuk, S.S. and J.E. Manson, *Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease*. *J Appl Physiol*, 2005. **99**(3): p. 1193-204.

358. Sofi, F., et al., *Leisure time but not occupational physical activity significantly affects cardiovascular risk factors in an adult population*. Eur J Clin Invest, 2007. **37**(12): p. 947-53.
359. Larsson, C.A., et al., *Leisure time and occupational physical activity in relation to obesity and insulin resistance: a population-based study from the Skaraborg Project in Sweden*. Metabolism, 2011.
360. Allman-Farinelli, M.A., et al., *Occupational risk of overweight and obesity: an analysis of the Australian Health Survey*. J Occup Med Toxicol, 2010. **5**: p. 14.
361. Sugiyama, T., et al., *Habitual active transport moderates the association of TV viewing time with body mass index*. J Phys Act Health, 2010. **7**(1): p. 11-6.
362. Sisson, S.B., et al., *Leisure time sedentary behavior, occupational/domestic physical activity, and metabolic syndrome in U.S. men and women*. Metab Syndr Relat Disord, 2009. **7**(6): p. 529-36.
363. Stamatakis, E., M. Hamer, and D.A. Lawlor, *Physical activity, mortality, and cardiovascular disease: is domestic physical activity beneficial? The Scottish Health Survey -- 1995, 1998, and 2003*. Am J Epidemiol, 2009. **169**(10): p. 1191-200.
364. Stamatakis, E., M. Hillsdon, and P. Primatesta, *Domestic physical activity in relationship to multiple CVD risk factors*. Am J Prev Med, 2007. **32**(4): p. 320-327.
365. Broekhuizen, L.N., et al., *Physical activity, metabolic syndrome, and coronary risk: the EPIC-Norfolk prospective population study*. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2011. **18**(2): p. 209-17.
366. Knowler, W.C., et al., *Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin*. N Engl J Med, 2002. **346**(6): p. 393-403.
367. Tuomilehto, J., et al., *Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance*. N Engl J Med, 2001. **344**(18): p. 1343-50.
368. Goodpaster, B.H., et al., *Effects of diet and physical activity interventions on weight loss and cardiometabolic risk factors in severely obese adults: a randomized trial*. JAMA, 2010. **304**(16): p. 1795-802.

369. Wing, R.R., *Long-term effects of a lifestyle intervention on weight and cardiovascular risk factors in individuals with type 2 diabetes mellitus: four-year results of the Look AHEAD trial*. Arch Intern Med, 2010. **170**(17): p. 1566-75.
370. Hofso, D., et al., *Obesity-related cardiovascular risk factors after weight loss: a clinical trial comparing gastric bypass surgery and intensive lifestyle intervention*. Eur J Endocrinol, 2010. **163**(5): p. 735-45.
371. Dunn, A.L., et al., *Reduction in cardiovascular disease risk factors: 6-month results from Project Active*. Prev Med, 1997. **26**(6): p. 883-92.
372. Esposito, K., et al., *Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial*. JAMA, 2003. **289**(14): p. 1799-804.
373. Lang, H.F., et al., *Weight loss increased serum adiponectin but decreased lipid levels in obese subjects whose body mass index was lower than 30 kg/m<sup>2</sup>*. Nutr Res, 2011. **31**(5): p. 378-86.
374. Dombrowski, S.U., A. Avenell, and F.F. Sniehoff, *Behavioural interventions for obese adults with additional risk factors for morbidity: systematic review of effects on behaviour, weight and disease risk factors*. Obes Facts, 2010. **3**(6): p. 377-96.
375. Esposito, K., et al., *Mediterranean diet and weight loss: meta-analysis of randomized controlled trials*. Metab Syndr Relat Disord, 2011. **9**(1): p. 1-12.
376. Lau, D.C., et al., *2006 Canadian clinical practice guidelines on the management and prevention of obesity in adults and children [summary]*. CMAJ, 2007. **176**(8): p. S1-13.
377. Wu, T., et al., *Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis*. Obes Rev, 2009. **10**(3): p. 313-23.
378. Brochu, M., et al., *Resistance training does not contribute to improving the metabolic profile after a 6-month weight loss program in overweight and obese postmenopausal women*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(9): p. 3226-33.
379. Jakicic, J.M., *The effect of physical activity on body weight*. Obesity (Silver Spring), 2009. **17 Suppl 3**: p. S34-8.

380. Banks, A.D., *Women and heart disease: missed opportunities*. J Midwifery Womens Health, 2008. **53**(5): p. 430-9.
381. Tan, Y.Y., G.C. Gast, and Y.T. van der Schouw, *Gender differences in risk factors for coronary heart disease*. Maturitas, 2010. **65**(2): p. 149-60.
382. Kannel, W.B. and T. Gordon, *Evaluation of cardiovascular risk in the elderly: the Framingham study*. Bull N Y Acad Med, 1978. **54**(6): p. 573-91.
383. Rich-Edwards, J.W., et al., *The primary prevention of coronary heart disease in women*. N Engl J Med, 1995. **332**(26): p. 1758-66.
384. Garavalia, L.S., et al., *Does health status differ between men and women in early recovery after myocardial infarction?* J Womens Health (Larchmt), 2007. **16**(1): p. 93-101.
385. Vaccarino, V., et al., *Sex differences in health status after coronary artery bypass surgery*. Circulation, 2003. **108**(21): p. 2642-7.
386. Vaccarino, V., L.F. Berkman, and H.M. Krumholz, *Long-term outcome of myocardial infarction in women and men: a population perspective*. Am J Epidemiol, 2000. **152**(10): p. 965-73.
387. Carr, M.C., *The emergence of the metabolic syndrome with menopause*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(6): p. 2404-11.
388. Razay, G., K.W. Heaton, and C.H. Bolton, *Coronary heart disease risk factors in relation to the menopause*. Q J Med, 1992. **85**(307-308): p. 889-96.
389. Tremblay, A., et al., *Thermogenesis and weight loss in obese individuals: a primary association with organochlorine pollution*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2004. **28**(7): p. 936-9.
390. Krauss, R.M., et al., *Dietary guidelines for healthy American adults. A statement for health professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association*. Circulation, 1996. **94**(7): p. 1795-800.
391. Simoneau, J.A., et al., *Skeletal muscle glycolytic and oxidative enzyme capacities are determinants of insulin sensitivity and muscle composition in obese women*. FASEB J, 1995. **9**(2): p. 273-8.
392. Karelis, A.D., et al., *Anthropometric, metabolic, dietary and psychosocial profiles of underreporters of energy intake: a doubly labeled water study among*

- overweight/obese postmenopausal women--a Montreal Ottawa New Emerging Team study.* Eur J Clin Nutr, 2010. **64**(1): p. 68-74.
393. Speakman, J.R., K.S. Nair, and M.I. Goran, *Revised equations for calculating CO<sub>2</sub> production from doubly labeled water in humans.* Am J Physiol, 1993. **264**(6 Pt 1): p. E912-7.
394. Racette, S.B., et al., *Relative dilution spaces of 2H- and 18O-labeled water in humans.* Am J Physiol, 1994. **267**(4 Pt 1): p. E585-90.
395. Goran, M.I. and E.T. Poehlman, *Total energy expenditure and energy requirements in healthy elderly persons.* Metabolism, 1992. **41**(7): p. 744-53.
396. Weir, J.B., *New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism.* J Physiol, 1949. **109**(1-2): p. 1-9.
397. Reed, G.W. and J.O. Hill, *Measuring the thermic effect of food.* Am J Clin Nutr, 1996. **63**(2): p. 164-9.
398. Black, A.E., et al., *Human energy expenditure in affluent societies: an analysis of 574 doubly-labelled water measurements.* Eur J Clin Nutr, 1996. **50**(2): p. 72-92.
399. Matthews, D.R., et al., *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.* Diabetologia, 1985. **28**(7): p. 412-9.
400. Abdul-Ghani, M.A., et al., *Muscle and liver insulin resistance indexes derived from the oral glucose tolerance test.* Diabetes Care, 2007. **30**(1): p. 89-94.
401. Bastard, J.P., et al., *Relationship between the hyperinsulinemic-euglycaemic clamp and a new simple index assessing insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women.* Diabetes Metab, 2007. **33**(4): p. 261-8.
402. Schectman, G., M. Patsches, and E.A. Sasse, *Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations.* Clin Chem, 1996. **42**(5): p. 732-7.
403. Griffith, O.W., *Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine.* Anal Biochem, 1980. **106**(1): p. 207-12.
404. Lavoie, J.C. and P. Chessex, *Gender and maturation affect glutathione status in human neonatal tissues.* Free Radic Biol Med, 1997. **23**(4): p. 648-57.

405. Chessex, P., et al., *Survival of guinea pig pups in hyperoxia is improved by enhanced nutritional substrate availability for glutathione production*. *Pediatr Res*, 1999. **46**(3): p. 305-10.
406. Becker, K. and A.R. Wilkinson, *Flavin adenine dinucleotide levels in erythrocytes of very low birthweight infants under vitamin supplementation*. *Biol Neonate*, 1993. **63**(2): p. 80-5.
407. Corti, R., et al., *Effects of lipid-lowering by simvastatin on human atherosclerotic lesions: a longitudinal study by high-resolution, noninvasive magnetic resonance imaging*. *Circulation*, 2001. **104**(3): p. 249-52.
408. Jialal, I., S. Devaraj, and S.K. Venugopal, *C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis?* *Hypertension*, 2004. **44**(1): p. 6-11.
409. Lavoie, M.E., et al., *Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women*. *Int J Obes (Lond)*, 2010. **34**(9): p. 1387-95.
410. Lavie, C.J., et al., *Impact of physical activity, cardiorespiratory fitness, and exercise training on markers of inflammation*. *J Cardiopulm Rehabil Prev*, 2011. **31**(3): p. 137-45.
411. Faraj, M., et al., *Apolipoprotein B: a predictor of inflammatory status in postmenopausal overweight and obese women*. *Diabetologia*, 2006. **49**(7): p. 1637-46.
412. Hansson, G.K., A.K. Robertson, and C. Soderberg-Naucler, *Inflammation and atherosclerosis*. *Annu Rev Pathol*, 2006. **1**: p. 297-329.
413. Rizzo, M., et al., *The significance of low-density-lipoproteins size in vascular diseases*. *Int Angiol*, 2006. **25**(1): p. 4-9.
414. Hirvonen, T., et al., *Increasing prevalence of underreporting does not necessarily distort dietary surveys*. *Eur J Clin Nutr*, 1997. **51**(5): p. 297-301.
415. Abbot, J.M., et al., *Psychosocial and behavioral profile and predictors of self-reported energy underreporting in obese middle-aged women*. *J Am Diet Assoc*, 2008. **108**(1): p. 114-9.
416. Lanctot, J.Q., et al., *Prevalence and characteristics of energy underreporting in African-American girls*. *Obesity (Silver Spring)*, 2008. **16**(6): p. 1407-12.

417. Amirkalali, B., et al., *Under- and overreporting of energy in a group of candidates for CABG surgery and its association with some anthropometric and sociodemographic factors, Tehran, Iran*. *Vasc Health Risk Manag*, 2008. **4**(5): p. 1115-20.
418. Horvath, K., et al., *Long-term effects of weight-reducing interventions in hypertensive patients: systematic review and meta-analysis*. *Arch Intern Med*, 2008. **168**(6): p. 571-80.
419. Sjostrom, L., et al., *Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery*. *N Engl J Med*, 2004. **351**(26): p. 2683-93.
420. Savica, V., G. Bellinghieri, and J.D. Kopple, *The effect of nutrition on blood pressure*. *Annu Rev Nutr*, 2010. **30**: p. 365-401.
421. Appel, L.J., et al., *A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group*. *N Engl J Med*, 1997. **336**(16): p. 1117-24.
422. Hagberg, J.M., J.J. Park, and M.D. Brown, *The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update*. *Sports Med*, 2000. **30**(3): p. 193-206.
423. von Kanel, R., *Accumulation of 30 min of moderately intense physical activity is a clinically meaningful treatment to reduce systolic blood pressure in prehypertension*. *J Hum Hypertens*, 2008. **22**(7): p. 444-6.
424. Shaw, K., et al., *Exercise for overweight or obesity*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(4): p. CD003817.
425. Miller, M., et al., *Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association*. *Circulation*, 2011. **123**(20): p. 2292-333.
426. Halverstadt, A., et al., *Endurance exercise training raises high-density lipoprotein cholesterol and lowers small low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein independent of body fat phenotypes in older men and women*. *Metabolism*, 2007. **56**(4): p. 444-50.
427. Martins, R.A., et al., *Effects of aerobic and strength-based training on metabolic health indicators in older adults*. *Lipids Health Dis*, 2010. **9**: p. 76.

428. Slentz, C.A., et al., *Effects of the amount of exercise on body weight, body composition, and measures of central obesity: STRRIDE--a randomized controlled study*. Arch Intern Med, 2004. **164**(1): p. 31-9.
429. Bernstein, A.M., et al., *Relation of food cost to healthfulness of diet among US women*. Am J Clin Nutr, 2010. **92**(5): p. 1197-203.
430. Drewnowski, A., *The cost of US foods as related to their nutritive value*. Am J Clin Nutr, 2010. **92**(5): p. 1181-8.
431. Monsivais, P., A. Aggarwal, and A. Drewnowski, *Following federal guidelines to increase nutrient consumption may lead to higher food costs for consumers*. Health Aff (Millwood), 2011. **30**(8): p. 1471-7.
432. Bonora, E., et al., *Insulin resistance as estimated by homeostasis model assessment predicts incident symptomatic cardiovascular disease in caucasian subjects from the general population: the Bruneck study*. Diabetes Care, 2007. **30**(2): p. 318-24.
433. Surapaneni, K.M. and G. Venkataramana, *Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis*. Indian J Med Sci, 2007. **61**(1): p. 9-14.
434. Gill, R., A. Tsung, and T. Billiar, *Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors*. Free Radic Biol Med, 2010. **48**(9): p. 1121-32.
435. Zhang, X., et al., *Involvement of reductive stress in the cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of heat shock protein 27*. Hypertension, 2010. **55**(6): p. 1412-7.

# **ANNEXES**

## ANNEXE 1

**Autres contributions scientifiques**

En plus d'avoir participé activement à la collecte des données reliées à mon doctorat, analysé les données alimentaires (journaux alimentaires) et mis au point la méthode d'analyses pour ces données, d'avoir fait les analyses statistiques, interprété les résultats et rédigé les manuscrits, j'ai aussi eu l'opportunité de réviser un chapitre de livre portant sur les obésités et le diabète de type 2 pour l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale publiée en France et qui est disponible par Internet ([www.em-consulte.com](http://www.em-consulte.com)). La révision de ce chapitre de livre a été réalisée en collaboration avec une autre étudiante au doctorat du laboratoire, Bélinda Elisha, et a été complétée en mai 2011. J'ai également eu l'opportunité de participer à l'écriture et la révision d'autres manuscrits écrits par des collègues du laboratoire ou des collaborateurs. À ce jour, je suis 2<sup>e</sup> auteur pour 5 manuscrits, et 3<sup>e</sup> pour 4 manuscrits et co-auteurs de 6 autres manuscrits. Voici une liste des manuscrits dont je suis co-auteurs par ordre de date de publication ou soumission pour publication. Par la suite, il y aura une liste des résumés scientifiques de congrès qui ont été publiés et dont je suis co-auteur aussi classé par ordre de publication.

*Publications scientifiques :*

Bastard JP, **Lavoie ME**, Messier V, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, *Evaluation of the product of fasting triglycerides and glucose (TyG index) in non-diabetic post-menopausal women: A MONET group study*, Eur J Endocrinol, août 2011, soumis pour publication

Doyon CY, Brochu M, Messier V, **Lavoie ME**, Faraj M, Doucet E, Rabasa-Lhoret R, Dionne I, *Association between abdominal fat (DXA) and its subcomponents (CT scan)*

*before and after weight loss in obese postmenopausal women: a MONET study*, J Obes, 2011, publié en ligne le 16 mars 2011

Primeau V, Coderre L, Karelis AD, Brochu M, **Lavoie ME**, Messier V, Sladek R, Rabasa-Lhoret R, *Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy*, Int J Obes (Lond), 2011, publié en ligne le 26 octobre 2010

Chessex P, Watson C, Kaczala GW, Rouleau T, **Lavoie ME**, Friel J, Lavoie JC. *Determinants of oxidant stress in extremely low birth weight premature infants*, Free Radic Biol Med, 2010, 49(9):1380-1386

Faraj M, **Lavoie ME**, Messier L, Bastard JP, Prud'Homme D. *Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in postmenopausal women: A MONET Study*. Atherosclerosis, 2010, 211(2):682-688.

Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, **Lavoie ME**, Mill J, Pérusse L, Vohl MC, *Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction*, Am J Clin Nutr, 2010, 91(2):309-20

Karelis AD, **Lavoie ME**, Fontaine J, Messier V, Strychar I, Rabasa-Lhoret R, Doucet E, *Anthropometric, Metabolic, Dietary and Psychosocial Profiles of Underreporting of Energy Intake using the doubly labeled water technique in Overweight/Obese Postmenopausal Women: A MONET Study*, Eur J Clin Nutr, 2010, 64(1):68-74

Antuna-Puente B, Disse E, **Lavoie ME**, Rabasa-Lhoret R, Laville M, Bastard J-P, *Evaluation of SIisOGTT index in a healthy population with normal glucose tolerance*, *Diabetes Metab*, 2009, 35(3):236-7

Antuna-Puente B, Disse E, Faraj M, **Lavoie ME**, Laville M, Rabasa-Lhoret R, Bastard J-P, *Evaluation of insulin sensitivity with a new lipid-based index in non-diabetic postmenopausal overweight and obese women before and after a weight loss intervention*, *Eur J Endocrinol*, 2009, 161(1):51-6

St-Pierre DH, Rabasa-Lhoret R, **Lavoie ME**, Karelis AD, Strychar I, Doucet E, Coderre L, *Fiber Intake Predicts Ghrelin Levels in Overweight and Obese Postmenopausal Women*, *Eur J Endocrinol*, 2009, 161(1):65-72

Strychar I, **Lavoie ME**, Messier L, Karelis AD, Doucet E, Prud'homme D, Fontaine J, Rabasa-Lhoret R, *Anthropometric, metabolic, psychosocial, and dietary characteristics of overweight/obese postmenopausal women with a history of weight cycling: a MONET (Montreal Ottawa New Emerging Team) Study*, *J Am Diet Assoc*, 2009, 109:718-24

Messier V, Karelis AD, **Lavoie ME**, Brochu M, Faraj M, Strychar I, Rabasa-Lhoret R, *Metabolic profile and quality of life in class I sarcopenic overweight and obese postmenopausal women: a MONET study*, *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009, 34:18-24

Brochu M, Mathieu M-E, **Lavoie ME**, Doucet E, Rabasa-Lhoret R, Karelis AD, Garrel D, *Contribution of the lean body mass to insulin resistance in postmenopausal women with visceral obesity. A MONET study*, *Obesity*, 2008, 16:1085-93

Karelis AD, **Lavoie ME**, Messier V, Mignault D, Garrel D, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, *Relationship between the metabolic syndrome and physical activity energy expenditure : a MONET Study*, Appl Physiol Nut Metab, 2008, 33:309-14

St-Pierre DH, Bastard J-P, Coderre L, Brochu M, Karelis AD, **Lavoie ME**, Malita F, Fontaine J, Mignault D, Cianflone K, Imbeault P, Doucet E, Rabasa-Lhoret R, *Association of acylated ghrelin profiles with chronic inflammatory markers in overweight and obese postmenopausal women: a MONET study*, Eur J Endocrinol, 2007, 157:419-26

**Lavoie ME**, Karelis A, Faraj M, Messier L, Mignault D, Levasseur J, Viens M, Rabasa-Lhoret R, *Des obèses insulino-sensibles : qui, comment et pourquoi?*, Med Clin Endocrinol Diab, Décembre 2006, 33-37

Publications d'abrégés scientifiques :

**Lavoie M-E**, Faraj M, Messier L, Bastard J-P, Tardif A, Strychar I, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, *Serum inflammatory markers are predicted by dietary intake in postmenopausal obese women; a MONET Study*, 2007, Diab Vasc Dis Res, 4(Suppl 1):S202

Karelis AD, **Lavoie M-E**, Mignault D, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, *Relationship between the metabolic syndrome and physical activity energy expenditure in overweight and obese postmenopausal women: a doubly labelled water study*, 2007, Diab Vasc Dis Res, 4(Suppl 1):S76

Faraj M, **Lavoie M-E**, Messier L, Bastard J-P, Fellahi S, Tardif A, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, *The change in serum apoB predicts the change in insulin sensitivity in non-diabetic postmenopausal obese women; a MONET Study*, 2007, *Diab Vasc Dis Res*, 4(Suppl 1):S33

Faraj M, **Lavoie M-E**, Messier L, Bastard JP, S Fellahi, Prud'homme D and Rabasa-Lhoret R 2007. Changes in serum inflammatory markers after diet-induced weight loss are predicted by changes in apolipoprotein B independent of fat loss in post-menopausal obese women, 2007, *Ann Nutr Metab*, 51(Suppl 1):80.

Messier V, Faraj M, **Lavoie ME**, Messier L, Tousignant B, Carrier P, Coderre L, Prud'homme D & Rabasa-Lhoret R. Impact of resistance training on weight regain: A MONET study. 2007, *Ann Nutr Metab*, 51(Suppl 1):355.

**Lavoie M-E**, Faraj M, Messier L, Mignault D, Tardif A, Bastard J-P, Rabasa-Lhoret R, *Inflammatory markers are negatively associated with energy expenditure and physical activity index in postmenopausal overweight or obese women; a MONET Study*, 2006, *Obesity*, 14(9):A42

ANNEXE 2

**Acceptation éthique et formulaire de consentement de l'étude MONET**

**APPROBATION DU COMITÉ D'ÉTHIQUE DE LA RECHERCHE DE LA  
FACULTÉ DE MÉDECINE (CERFM)**

Le Comité d'éthique a étudié le sous-projet intitulé :

- Comparaison des profils d'expression génique avant et après une perte de poids et après un regain de poids

Réalisé dans le cadre du projet :

- Metabolic and genetic predictors of body weight relapse in obese, postmenopausal women

présenté par : **Dr Rémi Rabasa-Lhoret et col.**

et considère que la recherche proposée sur des humains est conforme à l'éthique.

---

Dr Vincent Castellucci, Président

Date d'étude : **11 avril 2003**

Date d'approbation : **13 juin 2003**

Numéro de référence : **CERFM 39 (02) 4 #44 (s-p#2)**

**N.B.** Veuillez utiliser le numéro de référence dans toute correspondance avec le Comité d'éthique relativement à ce projet.

*Le Comité comprend que le chercheur se conformera à l'article 19 de la Loi sur les services de santé et services sociaux.*

*Le chercheur doit solliciter le CERFM pour toutes modifications ultérieures au protocole ou au formulaire de consentement.*

## FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

**Titre du projet de recherche :** FACTEURS MÉTABOLIQUES ET GÉNÉTIQUES PRÉDISANT LE REGAIN DE POIDS CHEZ LES FEMMES POST-MÉNOPAUSÉES ET OBÈSES

**Investigateurs principaux :** Dominique Garrel, MD. Ph.D., Martin Brochu, Ph.D., Rémi Rabasa-Lhoret MD. Ph.D., et collaborateurs du Département de nutrition et de kinésiologie de la faculté de médecine de l'Université de Montréal.

### 1. OBJECTIFS

Déterminer si un déséquilibre énergétique étant relié à une dépense énergétique trop faible ou à un apport énergétique trop élevé ou à une combinaison des deux, et la sensibilité à l'insuline contribuent à l'obésité chez les femmes. Un deuxième objectif sera de déterminer si la présence ou l'absence du gène de l'obésité influence la capacité à perdre du poids et à maintenir cette perte. Un troisième objectif sera de vérifier si l'entraînement musculaire associé à la consultation nutritionnelle peut maintenir l'amélioration du maintien et/ou de la perte de poids chez ce groupe de femmes. Un quatrième objectif sera de mesurer les niveaux de certaines hormones sécrétées par les tissus adipeux, le tractus gastro-intestinal, l'hypothalamus et l'hypophyse (ghrelin, acylation stimulating protein (ASP), leptin, adiponectin, resistin, PYY<sub>3-36</sub>, NPY, orexin A et B, IGF-I et GH).

### 2. HISTORIQUE

L'obésité est un désordre chronique qui affecte entre autres les femmes plus âgées. Jusqu'à présent, il n'est pas clair si l'apport alimentaire excessif et/ou un faible taux de dépense énergétique contribuent au taux élevé d'obésité chez les femmes plus âgées. Certains facteurs hormonaux dérivés du tractus gastro-intestinal ainsi que des tissus adipeux semblent également jouer un rôle prépondérant quant au contrôle de l'appétit et à la dépense énergétique au quotidien. Une mutation génétique a récemment été découverte qui pourrait jouer un rôle important dans l'accumulation excessive de gras. Nous sommes intéressés à déterminer si les individus possédant cette mutation démontrent un taux de dépense énergétique plus bas que les individus ne possédant pas la mutation. Nous sommes également intéressés à déterminer si ces individus démontrent une sensibilité plus faible à l'insuline, une capacité de dégradation et d'utilisation des graisses moins efficace comparées aux individus ne possédant pas la mutation. Cette étude contribuera à déterminer les conséquences de cette mutation, ainsi que des niveaux hormonaux sur la régulation de la sensibilité à l'insuline, de la dépense énergétique ainsi que l'utilisation des graisses sur le développement de l'obésité chez les femmes. Nous aimerions démontrer que l'entraînement musculaire aura un effet sur l'augmentation de la masse maigre, du métabolisme basal, de la force musculaire ce qui représente une adaptation métabolique directe et indirecte qui pourrait maintenir la perte de poids et éviter le regain de poids. .

### 3. NATURE DU PROTOCOLE

L'étude est divisée en six parties :

- A. Recrutement
- B. Stabilisation du poids corporel (4 semaines) / série de tests / assignation au hasard dans un groupe d'intervention
- C. Restriction calorique (26 semaines) / fin de l'étude du groupe exercice
- D. Stabilisation du poids corporel (4 semaines) / série de tests / assignation au hasard du groupe sans exercice → 2 groupes avec et sans exercice.
- E. Suivi (52 semaines)
- F. Stabilisation du poids corporel (4 semaines) / série de tests

#### A. Recrutement

Lors de la période de recrutement, vous serez soumis à certains examens pour déterminer si vous êtes en mesure de participer à l'étude (voir critères d'exclusion et description des tests). Une fois ces tests complétés, vous pourrez débiter l'étape suivante si votre profil correspond à celui requis pour l'étude.

#### B. Stabilisation du poids corporel (4 semaines) et série de tests

Cette période consiste à maintenir votre poids le plus stable possible avant les tests qui serviront à déterminer votre condition physique. Elle est nécessaire pour s'assurer que les tests sont représentatifs d'un état stable et que vous n'êtes pas encore en phase de changement. Ensuite, vous subirez une batterie de tests décrits plus loin nécessitant 7 visites au laboratoire, et une visite en milieu hospitalier. Avant de passer à l'étape suivante, vous serez assigné au hasard, soit au groupe avec exercice ou sans exercice.

#### C. Restriction calorique (26 semaines)

Il s'agit de la partie de l'intervention dont l'objectif principal est de vous faire perdre du poids, soit environ 10 % de votre masse grasse initiale. Votre alimentation sera contrôlée et la quantité d'énergie que vous allez consommer par jour sera limitée en fonction de votre métabolisme qui aura été évalué. Il s'en suivra une restriction énergétique d'environ 500 à 800 kcals par jour. Vous serez accompagnée par une nutritionniste pour tout ce qui concerne votre alimentation, en suivi individuel et en groupe.

#### D. Stabilisation du poids corporel (4 semaines) et série de tests

Le groupe exercice termine l'étude. Le groupe sans exercice sera divisé en 2 groupes : avec exercice et sans exercice.

#### E. Suivi (52 semaines)

Lors de la phase de suivi, vous devrez compléter une fois par mois un rappel alimentaire de trois jours ainsi que porter un petit appareil (TriTrac) de la dimension d'un téléavertisseur, qui mesurera votre niveau d'activité pendant la journée. Vous serez également pesée, et vous pourrez, au besoin, rencontrer la nutritionniste pour toutes questions lors de cette rencontre. Les professionnels de l'équipe de recherche demeurent à votre entière disposition pendant cette période.

#### F. Dernière stabilisation du poids corporel (4 semaines) et série de tests.

Les tableaux 1.1 et 1.2 et 1.3 résument la chronologie des événements.

#### Tableau 1.1 L'APPROCHE EXPÉRIMENTALE

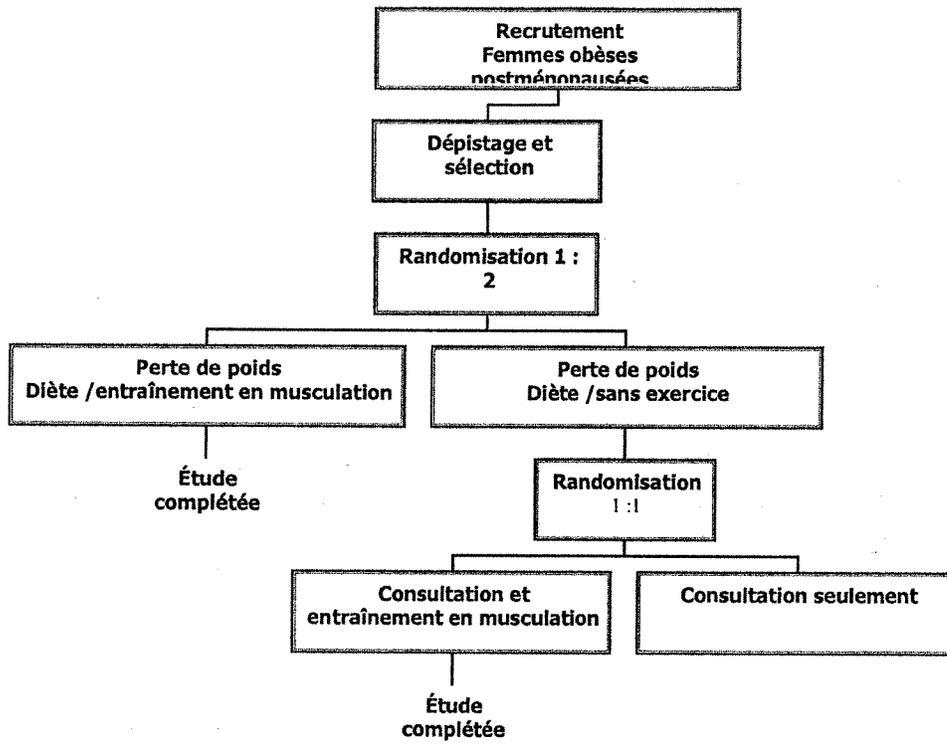


Tableau 1.2 : PLANIFICATION BI-ANNUELLE DU PROTOCOLE

DEVIS EXPERIMENTAL						
STABILISATION DU POIDS CORPOREL 4 SEMAINES	SÉQUENCE DE 7 VISITES	RESTRICTION CALORIQUE (+ en 2 groupes) 26 SEMAINES	STABILISATION DU POIDS CORPOREL 4 SEMAINES	SÉQUENCE DE 7 VISITES (+ en 2 groupes)	SUIVI 52 SEMAINES	STABILISATION DU POIDS CORPOREL 4 SEMAINES

Tableau 1.3 : HORAIRE DE LA SÉQUENCE DES 7 VISITES EN LABORATOIRE

	Jour 1	Jour 2	Jour 4	Jour 5	Jour 6
<b>-DÉPISTAGE</b>	<b>test</b>	<b>test</b>	<b>test</b>	<b>test</b>	<b>Test</b>
<i>Laboratoire</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Hôpital St-Luc</i>
prise de sang	calorimétrie		collecte	échantillon	
examen médical	clamp euglycémique		échantillon	d'urine # 3 & 4	
électrocardiogramme	prélèvements sanguins		d'urine # 1 &	composition	Tomographie
	diète 3 jours		2	corporelle :	en
	prise de l'eau doublement			DXA VO <sub>2</sub> max	Soirée
	marquée			mesures	
				anthropo.	Questionnaires
<u>Durée 5 heures</u>	<u>Durée 6 heures</u>		<u>Durée 1hre</u>	<u>Durée 1 hre</u>	<u>Durée 1hre</u>

Veillez prendre note que cette expérience demandera un dévouement en temps important de la part de tous les volontaires.

#### **4. CRITÈRES D'EXCLUSION**

- Souffrir de :
  - o claustrophobie
  - o diabète ou d'une mauvaise tolérance au glucose (glucose plasmatique à jeun > 7,4 mm/L)
  - o maladie thyroïdienne non traitée
  - o maladie hépatique ou rénale (foie ou rein)
  - o anorexie nerveuse
  - o asthme nécessitant un traitement oral aux stéroïdes
  - o hyperlipidémie justifiant un traitement (cholestérol total > 8 mmol/L; triglycérides > 4 mmol/L)
  - o maladies cardiovasculaires ou maladies vasculaires périphériques
  - o pression artérielle > 160/100 ou HTA non traitée
- Suivre présentement ou au courant des trois derniers mois :
  - o un traitement à l'œstrogène
  - o une thérapie de remplacement d'hormone
  - o un traitement aux narcoleptique
  - o un traitement chronique aux stéroïdes
  - o un traitement avec des agents atténuant les lipides
- Avoir des antécédents d'abus de drogues ou d'alcool
- Avoir des valeurs de laboratoire anormales (hématocrites < 32 ou > 48, glucose à jeun > 7,4 mm/L, créatine > 2.0)
- Utilisation de médicament ou drogues pour la perte de poids, de médicaments ou drogues psychoactifs, et des agonistes adrénergiques peu importe la voie
- Être fumeur

#### **5. DESCRIPTION DES TESTS POUR LE DÉPISTAGE**

##### **PRISE DE SANG ET DÉPISTAGE DU GÈNE DE L'OBÉSITÉ**

Un petit échantillon de sang (environ ½ cuillerée à thé) sera prélevé pour premièrement mesurer le profil lipidique complet (cholestérol, triglycérides) de votre sang, et deuxièmement pour effectuer un test de dépistage du gène d'obésité. Ce test ne sera effectué qu'une seule fois au début de l'étude.

##### ***BÉNÉFICES***

Vous serez informé si vous avez des valeurs de lipides dans la sang trop élevés ainsi que si vous êtes porteur du gène susceptible de causer l'obésité

##### ***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Des ecchymoses ou une décoloration de la zone de prélèvement sanguin sont les seuls inconvénients reliés à ce test

##### **TEST DE TOLÉRANCE AU GLUCOSE**

Ce test est utilisé pour diagnostiquer le diabète. Un petit échantillon de sang sera prélevé (½ cuillerée à thé). Par la suite, on vous demandera de boire une boisson sucrée (glucose) à saveur d'orange. À chaque demi heure pendant deux heures, un petit échantillon de sang sera prélevé pour un total de 3 cuillerées à thé.

***BÉNÉFICES***

Vous serez informé de votre niveau de tolérance au glucose en relation avec le diabète.

***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Les seuls risques impliqués lors de ce test inclus des ecchymoses ou une décoloration de la zone de prélèvement sanguin.

**EXAMEN PHYSIQUE ET ELECTROCARDIOGRAMME (ECG)**

L'examen physique ainsi que l'historique médical et d'obésité seront effectués par le médecin participant dans cette étude, lors de votre première visite à l'unité métabolique. Aucun risque et inconvénient ne sont associés à cet examen.

Vous serez informé de votre état de santé en détail.

L'électrocardiogramme va mesurer l'activité de votre cœur et nous serons en mesure de détecter toutes anomalies de votre cœur. Des électrodes seront installées à différents points sur votre thorax, et des mesures seront enregistrées. Un médecin sera présent durant le test.

***BÉNÉFICES***

Vous serez informé de votre état de santé en détail.

***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Il n'y a pas de risque associé à cet examen médical

**6. DESCRIPTION DES TESTS**

**MESURES HORMONALES ET BILAN SANGUIN**

Les hormones du tissu adipeux, du tractus gastro-intestinal de l'hypothalamus et de l'hypophyse sécrètent des hormones (ghrelin, acylation stimulating protein, leptin, adiponectin, resistin, NPY, orexin, IGF-I et GH) seront dosées à partir de l'échantillon de sang prélevé lors du clamp. Le dosage est effectué par radioimmunoessai (RIA), une méthode éprouvée pour la quantification des niveaux d'hormones plasmatiques. Avec les mêmes prélèvements il nous sera possible d'établir votre profil lipidique (cholestérol, triglycérides, HDL, LDL).

***BÉNÉFICES***

Si vous le désirez vous serez informé des niveaux d'hormones, ainsi que votre bilan lipidique susceptibles d'influencer la santé métabolique.

***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Aucun risque n'est associé à cette procédure.

**MESURE DE LA CAPACITÉ AÉROBIE (V0<sup>2</sup>max)**

Le V0<sup>2</sup>max sert à mesurer l'habileté de votre corps à consommer de l'oxygène pendant un exercice. Lorsque combiné avec un moniteur de fréquences cardiaques, nous pouvons également utiliser ce test comme un indicateur de votre forme cardiovasculaire. Ce test sera exécuté sur un ergo cycle (vélo stationnaire) maintenu à une vitesse constante. Le

niveau de difficulté de l'exercice sera augmenté à chaque deux minutes. Le test sera arrêté lorsque vous serez fatigué. Votre consommation d'oxygène sera mesurée à chaque palier d'effort en mesurant votre souffle dans un appareil buccal en caoutchouc. Votre tension artérielle sera également mesurée. Ce test prendra environ une heure à compléter (approximativement 10-15 minutes d'exercice).

#### ***BÉNÉFICES***

Vous obtiendrez une évaluation précise de votre capacité aérobie à l'aide d'une mesure directe. La capacité aérobie est un des déterminants important de la santé.

#### ***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Les risques associés à ce test sont; essoufflement, souffle court, fatigue, inconfort musculaire local. Un rythme cardiaque irrégulier ou même des complications cardiaques peuvent survenir lors d'efforts intenses.

Comme mesure préventive, vous serez suivi à l'aide d'un électrocardiogramme pour mesurer l'activité de votre cœur et le test sera arrêté si des anomalies se produisent. Un médecin sera présent durant le test et l'équipement médical nécessaire aux urgences cardiaques sera disponible. Le personnel de recherche est certifié en réanimation cardio-respiratoire. Malgré l'intensité associée à ce test, les risques de troubles cardiaques sont improbables. Les arrêts cardiaques sont extrêmement rares (< 1 décès en 10000 tests) chez les individus sans antécédents de maladies cardiaques.

#### **MESURES ANTHROPOMÉTRIQUES**

Il s'agit de mesures des dimensions de votre corps. Des circonférences, largeurs et longueurs seront mesurées ainsi que des plis cutanés dans le but de déterminer votre composition corporelle. Ces mesures seront ensuite comparées avec les valeurs obtenues sur le DXA.

#### ***BÉNÉFICES***

Vous aurez une estimation de votre composition corporelle avec des mesures accessibles et pouvant être reproduites de façon peu dispendieuse.

#### ***RISQUES***

Il n'y a pas de risque associé à ces mesures. Les seuls inconvénients sont les marques au crayon (lavable à l'eau) pour identifier les repaires anatomiques.

#### **MÉTABOLISME DE REPOS**

Même au repos, votre corps dépense de l'énergie (calorie). Ce test nous permet de mesurer la quantité de calorie que vous brûlez au repos. Cette mesure est effectuée de bonne heure le matin. Lorsque vous arriverez, vous vous coucherez dans un lit et un capuchon en plexiglas, alimenté en air frais, sera placé sur votre tête. L'air expiré sera analysé par échantillons et les pourcentages d'oxygène et de dioxyde de carbone seront déterminés. En mesurant le rythme d'expiration, nous déterminerons la quantité d'oxygène que vous consommez et l'appareil calculera le nombre de calories dépensées. Ce test nécessite votre présence en position allongée et calme dans un lit pour approximativement 40 minutes.

#### ***BÉNÉFICES***

Vous obtiendrez une mesure précise de votre dépense énergétique au repos.

#### ***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Il n'y a aucun risque associé à ce procédé. Les seuls inconvénients sont associés aux personnes souffrant de claustrophobie, le capuchon étant un espace restreint, ainsi que

l'importance de demeurer totalelement inactif pendant toute la durée des mesures soit 40 minutes.

## **COMPOSITION CORPORELLE ET TOMOGRAPHIE**

### **DXA**

Ce test déterminera la quantité de muscle et de graisse dans votre corps. Votre poids et grandeur seront mesurés. Ensuite, nous utiliserons une méthode nommée « dual photon x-ray » densitométrie (DXA) pour mesurer votre densité osseuse, pourcentage de graisse et de masse maigre. Vous devrez demeurer couché sur la table d'examen, habillé normalement, alors qu'un rayon x à faible densité balayera votre corps pendant 10 minutes.

### **TOMOGRAPHIE**

La tomographie permet de déterminer combien de graisse se situe au niveau de l'abdomen et des cuisses. Pendant ce test, vous serez également allongé mais avec les bras étendus vers le haut au-dessus de la tête. Des mesures de deux secondes sur une surface de 5mm seront effectuées au niveau de l'abdomen, du nombril ainsi qu'à mi-cuisse par un appareil à rayon X. Le tout prend environ 15 minutes.

### **BÉNÉFICES**

Vous obtiendrez une mesure précise de votre composition corporelle déterminée à l'aide de matériel de haute technologie ainsi qu'une évaluation non médicale de votre densité osseuse. La composition corporelle est un autre déterminant important de votre santé.

### **RISQUES ET INCONVÉNIENTS**

Le seul risque se situe au niveau de l'exposition aux rayon X qui se chiffre à 0.03 millirem pour le DEXA, ce qui est moins que l'exposition ambiante naturelle pour une journée, et de 1.12 Rem pour la tomographie qui représente moins que le dosage maximum permis de 5 Rem par année. Veuillez considérer que cette exposition aux radiations est nécessaire pour les objectifs de l'étude et n'est pas requise pour des soins médicaux.

## **QUESTIONNAIRES**

Vous devrez également répondre à des questionnaires alimentaires, psychologiques et sociodémographiques le tout prenant environ une à deux heures. Ces tests sont réalisés avec papier et crayon ou lors d'un entretien. Les questions posées chercheront à évaluer ; votre consommation d'aliments, des qualités tels que la mémoire, l'appréciation de la vie, la satisfaction, la dépression ainsi que votre humeur.

## **« CLAMP » HYPERINSULINÉMIQUE-EUGLYCÉMIQUE**

À votre arrivé nous prendrons votre poids et votre taille, vous irez à la toilette, puis vous serez installé dans un lit et un cathéter intraveineux (tube de plastique) sera placé dans une veine de votre bras. Un second cathéter, pour les prélèvements sanguins, sera placé dans une veine du dos de votre main qui elle, sera ensuite placée dans une boîte chauffante pour la garder au chaud. On vous demandera par la suite de ne pas consommer de la nourriture ni aucune boisson quelconque autre que de l'eau jusqu'à la fin du test. Une demi-heure plus tard, nous débuterons les prélèvements sanguins puis nous commencerons à vous donner un liquide par l'intermédiaire du cathéter dans votre bras. Ce liquide est constitué de sucre marqué avec un isotope stable non radioactif. L'infusion du sucre marqué se poursuivra durant toute la durée du test. Une heure plus

tard, nous débiterons l'infusion d'insuline. L'insuline est une hormone naturelle produite par votre organisme. Son action principale consiste à diminuer le niveau sanguin de sucre. Pour éviter une diminution du sucre, nous vous procurerons une quantité de sucre dissoute dans l'eau par l'intermédiaire du cathéter. Cette solution (sucre + eau) est utilisée couramment dans les hôpitaux lorsque l'alimentation est fournie par les veines. Pour les trois heures suivantes, de petits échantillons de sang (approximativement ½ cuillerées à thé) seront prélevés à chaque 5 minutes pour mesurer votre niveau sanguin de sucre afin de pouvoir ajuster la quantité de sucre administrée. Un total de 12 cuillerées à thé sera prélevé. Pendant la durée du test, vous pourrez visionner un film de votre choix. Après le test, un repas vous sera servi.

#### ***BÉNÉFICES***

Ce test nous aidera à déterminer votre prédisposition au diabète ainsi que votre capacité à utiliser le sucre.

#### ***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Les prises de sang et l'infusion de liquide requièrent l'installation d'un tube dans une veine. Quelques inconforts mineurs peuvent être anticipés pendant la pose des tubes. Des ecchymoses, de l'inflammation et le blocage de la veine (thrombose) peuvent survenir lorsque les tubes sont installés. Il existe un faible risque d'infection. Le risque le plus important associé à l'infusion d'insuline (« clamp ») est l'hypoglycémie (taux de sucre bas). Un faible taux de sucre dans le sang peut générer de l'anxiété, augmenter votre rythme cardiaque et vous faire transpirer. Les conséquences potentielles sérieuses de l'hypoglycémie sont la perte de connaissance et convulsions. Un professionnel entraîné pour faire face à ces situations supervisera le test et les mesures fréquentes de votre taux de sucre minimiseront ces risques.

#### ***EAU DOUBLEMENT MARQUÉE***

La méthode de l'eau doublement marquée est une technique relativement nouvelle pour estimer le nombre total de calories dépensées sur une base journalière, et ce pendant 10 jours. Cette méthode nous permet d'examiner votre dépense énergétique avant et après le programme de perte de poids. Nous vous demanderons de prendre un verre d'eau « lourde », marquée par deux substances naturelles, le deutérium (<sup>2</sup>Hydrogène) et le <sup>18</sup>oxygène. Ces substances ne sont pas radioactives. En mesurant le rythme d'élimination de ces substances dans des échantillons d'urine périodiques, il nous est possible de mesurer la dépense énergétique totale.

#### ***BÉNÉFICES***

Vous serez informé du nombre précis de calories que vous utilisez quotidiennement

#### ***RISQUES ET INCONVÉNIENTS***

Il n'y a pas de danger associé à la consommation de cette eau.

#### ***ACCÉLÉROMÈTRE « RT3 TRI-AXIAL » :***

Le « RT3 Tri-axial » est un accéléromètre de la taille d'un téléavertisseur que vous porterez à votre taille pendant trois jours, sur une base mensuelle, et ce pour la période de perte de poids et les 52 semaines d'observation. Cet appareil mesure les mouvements que vous effectuez dans les trois dimensions. Il permet de déterminer la quantité d'énergie (kcal) dépensée par vos mouvements sur la durée d'utilisation de l'appareil, soit 5 jours dans le cas de cette étude.

#### ***BÉNÉFICE***

Les résultats du « RT3 Tri-axial » vous permet de connaître la quantité d'énergie que vous dépenser selon votre activité journalière.

#### *RISQUES ET INCONVÉNIENTS*

Aucun inconvénient n'est associé au « RT3 Tri-axial ». Bien qu'il ne soit pas lourd (70 grammes avec batterie), il peut être inconfortable de le porter avec soi à tout moment pour une période donnée. Il ne peut toutefois pas causer de douleur et ne peut être utilisé dans l'eau.

#### **INTERVENTION NUTRITIONNELLE**

Durant la période de perte de poids, un programme nutritionnel vous sera enseigné, adapté à vos habitudes alimentaires en fonction d'un journal alimentaire de trois jours. Une nutritionniste certifiée dispensera des cours sur des habitudes alimentaires saines lors de classes (pour approximativement 1 ½ heure par séance) qui seront tenue tout au long de la période de six mois associée au programme de perte de poids. Ces cours sont facultatifs.

#### *RISQUES ET INCONVÉNIENTS*

Le programme de perte de poids sera supervisé par un médecin, les classes seront dispensées par une nutritionniste certifiée, et les risques associés au programme de perte de poids sont minimes. Néanmoins, une incidence accrue de calculs vésiculaires lors de perte de poids rapide est présente. Cependant, ce phénomène se retrouve surtout en présence de régimes à très faible teneur en calories (<800 kcal/jour) ce qui n'est pas le cas dans notre programme. Il y a des chances de changement d'humeur pendant la perte de poids. Des études ont démontré autant des changements positifs (impression de bien-être) que négatifs (dépression et diminution de l'estime de soi) pendant des périodes de perte de poids.

#### *BÉNÉFICES*

Vous aurez l'occasion de développer des habitudes alimentaires saines, et d'améliorer votre composition corporelle avec les bénéfices qui y sont associés.

#### **EXERCICE / ENTRAÎNEMENT MUSCULAIRE**

Vous serez assignée aléatoirement (au hasard) à l'un des deux groupes expérimentaux; soit "restriction calorique seul" ou "restriction calorique + entraînement musculaire en force". Les participantes qui auront été sélectionnées pour participer au groupe "entraînement musculaire en force" s'entraîneront 3 jours non consécutifs par semaine dans une salle de musculation (ex: lundi, mercredi et vendredi) sous la supervision d'un spécialiste en conditionnement physique, tel que décrit antérieurement (Poehlman et al. 2000).

L'intensité de l'entraînement sera entre 70% et 80%, soit environ 10 répétitions par exercice. Chaque séance d'entraînement comprendra une période d'échauffement d'intensité légère sur bicyclette (5 minutes), suivie par une période d'étirements statiques de 10 minutes ciblant les principaux groupes musculaires qui seront mobilisées pendant la séance d'entraînement. Toutes les séances d'entraînement seront comptabilisées afin de suivre votre progression et pour réajuster la prescription d'exercice au besoin.

Les charges d'entraînement seront établies et réajustées au besoin pour que le nombre de répétitions de chacune des trois séries de chaque exercice ne dépasse pas 10. Une période de repos de 60 à 90 secondes sera accordée entre chaque série. Selon notre expérience

avec ce type de programme d'exercice, nous devrions avoir un taux d'abandon d'approximativement 15% à 20% à la fin de l'étude (Poehlman et al 2000).

Les charges seront par la suite progressivement augmentées lors des semaines 2 et 3 afin d'atteindre 70% à 80% du 1-RM (charge maximale déplacée une seule fois), et ce pour le reste de l'étude. Cette stratégie est utilisée afin de permettre une meilleure adaptation des participantes à l'entraînement et afin d'éviter les blessures pouvant être causées par un entraînement trop intensif en phase d'initiation.

#### **BÉNÉFICES**

L'entraînement en musculation permet d'augmenter la force et la masse musculaire en plus d'améliorer la capacité fonctionnelle des participants.

#### **RISQUES ET INCONVÉNIENTS**

Certaines douleurs musculaires et articulaires peuvent survenir suite à un entraînement en musculation. Cependant, ces douleurs sont passagères et les périodes de repos prévues sont suffisantes pour assurer une récupération adéquate. Des blessures musculaires et articulaires plus importantes peuvent également survenir suite à une mauvaise utilisation des équipements. Cependant, sous la supervision de personnel compétent ces risques sont considérablement réduits.

#### **ÉVALUATION ET SUIVI DES PATIENTS (12 mois)**

Nous proposons de faire un suivi post-intervention des participants suite au programme de recherche. Deux buts sont visés. Le premier but vise à offrir une continuité dans les services en permettant aux participants d'avoir le support nécessaire pour maintenir les acquis tandis que le second vise à suivre les variations du poids corporel suite au programme de perte de poids. Afin de réaliser ces objectifs, les participants seront aléatoirement divisés en deux groupes. Le premier groupe bénéficiant d'un suivi nutritionnel mensuel et le second groupe suivant un programme d'entraînement en musculation selon les modalités précédemment décrites

#### **RISQUES ET INCONVÉNIENTS DE L'ÉTUDE**

Vous serez supervisé par le personnel médical pendant toute la durée du protocole de recherche. Les tests vous seront expliqués en détails par le personnel en place avant chaque aspect de l'étude. Le programme de perte de poids sera supervisé par un médecin, les classes seront dispensées par une nutritionniste-diététiste certifiée. Les risques associés au programme de perte de poids sont minimes. Néanmoins, l'incidence de calculs vésiculaires lors de perte de poids rapide est accrue. Cependant, ce phénomène se retrouve surtout en présence de régimes à très faible teneur en calories (<800 kcal/jour) ce qui n'est pas le cas dans notre programme. Il y a des chances de changement d'humeur pendant la perte de poids. Des études ont démontré autant des changements positifs (impression de bien-être) que négatifs (dépression et diminution de l'estime de soi) pendant des périodes de perte de poids.

#### **BÉNÉFICES DE L'ÉTUDE**

La participation à cette étude vous offre la possibilité de subir un examen physique, d'obtenir de l'information sur votre tension artérielle et bilan sanguin, de passer un test aérobie maximal, ainsi que de recevoir des informations nutritionnelles et médicales reliées à l'étude. Vous aurez également l'opportunité de participer à un programme de perte de poids supervisé par une équipe médicale.

## PERSONNES RESSOURCES

Dominique Garrel, md, cspq  
Professeur titulaire  
Directeur du Département de nutrition  
(514) 343-6401  
dominique.garrel@umontreal.ca  
Pavillon Lilianne-de-Stewart  
2405 Chemin de la Côte Ste Catherine  
Montréal QC H3T 1A8

Rémi Rabasa-Lhoret, md endocrinologue, Ph. D.  
Responsable de l'Unité Métabolique  
Université de Montréal  
Département de Nutrition  
Faculté de Médecine  
Pavillon Lilianne-de-Stewart  
2405 Chemin de la Côte Ste Catherine  
Montréal QC H3T 1A8  
Local 2250  
Téléphone : 514-343-7161

Personne ressource pour les questions concernant l'éthique :

Dr Vincent Castellucci  
Président du Comité d'éthique de la recherche  
Faculté de médecine  
Université de Montréal  
Tél. : (514)343-6300

### CONFIDENTIALITÉ

Toutes les données recueillies dans cette étude seront codées par numéros d'identification qui vous seront assignés et qui seront seulement connus par les responsables du projet. Votre nom ne sera pas divulgué avec aucun résultat. Les résultats des analyses de sang ainsi que des mesures physiques (grandeur, poids, tension artérielle) obtenus dans cette étude seront partagés avec vous et transmis à votre médecin traitant suite à votre consentement écrit.

### COÛTS ET COMPENSATION

Vous devrez défrayer les coûts reliés à votre transport au laboratoire et à l'institut. Le stationnement à l'institut et au laboratoire est gratuit pour tous les participants tout comme le seront tous les tests effectués. Aucune compensation financière ne sera versée au participant.

### ARRÊT DU PROJET

SI DES INFORMATIONS NOUVELLES RELIÉES À CETTE ÉTUDES OU CES COMPOSANTES VENAIENT À COMPROMETTRE D'UNE FAÇON OU D'UNE AUTRE LA SÉCURITÉ ET LA SANTÉ DES PARTICIPANTS OU NE RESPECTERAIT PAS LES RÈGLES D'ÉTHIQUE, CETTE ÉTUDE SERAIT ARRÊTÉE IMMÉDIATEMENT.

**LIBERTÉ DE CONSENTEMENT**

JE RECONNAIS QUE MA PARTICIPATION À CE PROJET EST TOUT À FAIT VOLONTAIRE ET QUE JE SUIS LIBRE D'Y PARTICIPER. JE CERTIFIE QU'ON ME L'A EXPLIQUÉ VERBALEMENT, QU'ON A RÉPONDU À TOUTES MES QUESTIONS, QU'ON M'A REMIS DES NOTES EXPLICATIVES COMPLÉMENTAIRES ET QU'ON M'A LAISSÉ LE TEMPS VOULU POUR PRENDRE UNE DÉCISION.

ET

JE RECONNAIS ÊTRE LIBRE DE ME RETIRER EN TOUT TEMPS SANS QUE CELA NUISE AUX RELATIONS AVEC MON MÉDECIN ET LES AUTRES INTERVENANTS ET SANS PRÉJUDICE D'AUCUNE SORTE. DE PLUS, JE COMPRENDS QUE LES DONNÉES ET LES ÉCHANTILLONS ACCUMULÉS ANTÉRIEUREMENT SERONT UTILISÉS MÊME EN CAS DE RETRAIT

\_\_\_\_\_  
PARTICIPANT

\_\_\_\_\_  
TÉMOIN

\_\_\_\_\_  
SIGNATURE

\_\_\_\_\_  
SIGNATURE

JE CERTIFIE AVOIR EXPLIQUÉ AU SIGNATAIRE LES TERMES DU PRÉSENT FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ET LUI AVOIR CLAIREMENT INDIQUÉ QU'IL RESTE À TOUT MOMENT LIBRE DE METTRE UN TERME À SA PARTICIPATION AU PRÉSENT PROJET.

\_\_\_\_\_  
CHERCHEUR

\_\_\_\_\_  
DATE

~~\_\_\_\_\_  
SIGNATURE~~

TOUTES LES INFORMATIONS SERONT CONSERVÉES EN LIEU SÉCURITAIRE À L'UNITÉ MÉTABOLIQUE DU DÉPARTEMENT DE NUTRITION DE L'UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

J'AUTORISE LA TRANSMISSION DES INFORMATIONS CONTENUES DANS MON DOSSIER À MON MÉDECIN DÉSIGNÉ

\_\_\_\_\_  
PARTICIPANT

\_\_\_\_\_  
TÉMOIN

\_\_\_\_\_  
SIGNATURE

\_\_\_\_\_  
SIGNATURE

\_\_\_\_\_  
DATE

## SOUS-ÉTUDE

### FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

**Titre du projet de recherche :** COMPARAISON DES PROFILS D'EXPRESSION GÉNÉRIQUE AVANT ET APRÈS UNE PERTE DE POIDS ET APRÈS UN REGAIN DE POIDS.

**Investigateurs principaux :** Rémi Rabasa-Lhoret MD. Ph.D., de l'Université de Montréal, Marie-Claude Vohl Ph.D, Louis Pérusse Ph.D., de l'Université Laval, et collaborateurs du Département de nutrition et de kinésiologie de la faculté de médecine de l'Université de Montréal.

Subventionné par les Instituts de recherche en santé du Canada.

#### 1. Invitation à participer

Vous êtes invité à participer au projet de recherche mentionné ci-dessus dirigé par, Marie-Claude Vohl Ph.D., Louis Pérusse Ph.D., Dr Rémi Rabasa-Lhoret MD. Ph.D., celui-ci se déroulera dans le laboratoire de l'Unité métabolique de l'Université de Montréal et les laboratoires de l'Université Laval des chercheurs mentionnés.

#### 2. Objectifs du projet de recherche

L'objectif de ce projet est de comparer à l'aide de techniques de la biologie moléculaire, le profil d'expression des gènes du tissu adipeux (graisse) abdominal sous-cutané. Les gènes fournissent les caractères héréditaires qui dirigent les activités des cellules. L'objectif est d'identifier les gènes qui pourraient être associés au développement de l'obésité et ses complications métaboliques chez les femmes obèses postménopausées.

#### 3. Historique

Le développement de maladies complexes comme l'obésité et le diabète de type 2, est en partie régulé par des facteurs environnementaux et génétiques. Jusqu'à maintenant, plusieurs facteurs ont été étudiés en regard du risque de développer ces maladies. Parmi ceux-ci, on retrouve entre autres les habitudes de vie, le degré d'exercice physique et l'alimentation. Par contre, peu de gènes ont été associés au développement de ces affections communes dans les pays industrialisés. Il reste donc à identifier plusieurs facteurs génétiques pouvant influencer le risque de ces maladies, ainsi que le profil génique des sujets qui répondent et ceux qui ne répondent pas à la perte de poids ou encore ceux qui s'expose à la reprise de poids après un régime ou suite à la cessation du protocole d'intervention. La quantité de graisse se trouvant dans la région abdominale compte parmi les facteurs qui ont une influence possible sur le risque de maladies du cœur. De plus, certaines mutations génétiques sont associées à la distribution du tissu adipeux et aux complications métaboliques reliées à l'obésité. Grâce à ce projet, il sera donc possible de comparer le profil d'expression génique du tissu adipeux abdominal sous-cutané des femmes postménopausées au début et à la fin d'un programme de perte de poids ainsi qu'un an après la fin du programme. Pour ce faire, nous étudierons le tissu abdominal sous-cutané en prenant un échantillon, à l'aide d'une ponction au niveau de l'abdomen (tissu sous-cutané), réalisée à l'unité métabolique de l'université de Montréal. Aussi, les cellules blanches de votre sang seront prélevées, à partir d'une prise de sang faite lors de votre visite au laboratoire Médiclub. À partir de cet échantillon sanguin, l'ADN qui constitue votre code génétique, sera extrait.

## SOUS-ÉTUDE

### 4. Protocole expérimental

Le recrutement se fera sur une base volontaire. La première biopsie adipeuse sera effectuée avant la perte de poids, la deuxième après le 6 mois de perte de poids et la troisième après la période de suivi de 12 mois. Ces trois biopsies se dérouleront à l'unité métabolique de l'université de Montréal. Le médecin en charge de cette technique vous expliquera en détail l'examen qui consistera premièrement : désinfection de la peau pour prévenir l'infection, puis anesthésie locale pour éviter la douleur, suivit du prélèvement au niveau de la graisse abdominale sous-cutanée. Ce dernier est réalisé à l'aide d'une aiguille qui sert à aspirer la graisse dans une seringue. Une ou deux piqûres seront réalisées afin d'obtenir 4 à 5 grammes de tissu adipeux. Cette procédure s'appelle une biopsie et est réalisée à 10 centimètre environ du nombril. L'expérience du Dr Rabasa-Lhoret repose sur plus de 200 biopsies du même type. Plusieurs mesures seront effectuées à l'aide de cet échantillon du tissu adipeux, en particulier nous mesurerons le niveau de fonctionnement des différents gènes.

### 5. Risques et inconforts

Les risques encourus lors de la biopsie sont entre autre un léger inconfort au début de la procédure lors de l'anesthésie locale (piqûre). La biopsie en elle même est indolore mais s'accompagne :

- a. D'un risque minime d'infection de la peau, qui pourrait nécessiter la prise d'antibiotiques.
- b. D'un risque minime de petit hématome. Celui ci survient quand un petit capillaire (vaisseau sanguin de très petite taille) est blessé lors de l'aspiration. Il disparaît spontanément en quelques jours.
- c. Enfin il existe un risque d'allergie au produit anesthésique. Cette allergie est très rare et généralement déjà connue des sujets car nous utilisons le même anesthésique que celui employé lors des soins dentaires.

### 6. Bénéfices

La participation à cette étude vous donnera accès à certaines informations à propos de votre risque de maladies cardiovasculaires et de votre bilan de santé. En participant vous nous aidez à mieux comprendre et traiter des maladies fréquentes comme l'obésité et le diabète.

### 7. Bénéfices

La participation à cette étude vous donnera accès à certaines informations à propos de votre risque de maladies cardiovasculaires et de votre bilan de santé.

### 8. Confidentialité

Vous ne serez pas identifié par votre nom ou tout autre élément permettant votre identification lors de la publication et la présentation des résultats de l'étude à la communauté scientifique. L'information sur les données cliniques ou génétiques demeurera confidentielle et ne vous sera pas transmise, ni même à une tierce personne.

### 9. Liberté de se retirer de l'étude

Si pour quelque raison que ce soit, vous désirez vous retirer de l'étude à quelque étape que ce soit, vous en êtes entièrement libre et ne subirez aucun préjudice. Après la biopsie, si vous décidez que vos tissus graisseux ou votre ADN ne doivent pas être utilisés à des fins de recherche, vous n'aurez qu'à contacter le responsable de l'étude, et le sang prélevé ainsi que les tissus et toutes les informations qui leur sont reliées, seront alors détruits.

## SOUS-ÉTUDE

### DÉCLARATION DE CONSENTEMENT

*Titre du projet :*

COMPARAISON DES PROFILS D'EXPRESSION GÉNÉRIQUE AVANT ET APRÈS UNE PERTE DE POIDS ET APRÈS UN REGAIN DE POIDS.

J'ai pris connaissance de la description de ce projet de recherche. Il m'a été expliqué à mon entière satisfaction. Advenant le fait que j'aie des questions à poser concernant mes droits en tant que sujet de recherche, je peux m'adresser au médecin de l'équipe de recherche soit le docteur Rémi Rabasa-Lhoret, à l'Hôtel-Dieu de Montréal au numéro suivant : 514-890-8000 poste ou poste 14086.

Je comprends pleinement les procédures impliquées dans ce projet de recherche, incluant les risques potentiels, les inconforts et les bénéfices que ma participation peut me faire encourir. Je reconnais que ma participation est entièrement volontaire et je suis consciente du fait que je peux me retirer de l'étude ou refuser d'y participer en tout temps, sans causer de préjudice aux soins de santé à recevoir.

Je comprends que les résultats de cette étude seront éventuellement publiés et présentés à la communauté scientifique, mais que la confidentialité concernant mon identité et ma participation à l'étude sera respectée.

Je consens à participer à cette étude et je comprends que je recevrai une copie de ce formulaire dûment signé.

\_\_\_\_\_  
Signature du Sujet

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Signature d'un témoin

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
~~Signature du Chercheur~~

\_\_\_\_\_  
Date

~~Dr Rémi Rabasa-Lhoret, MD. Ph.D.~~

~~Directeur Unité Métabolique~~

~~Université de Montréal~~

~~Téléphone : (514) 343-7161~~

\_\_\_\_\_  
Signature du médecin

\_\_\_\_\_  
Date

~~Dr Rémi Rabasa-Lhoret, MD. Ph.D.~~

~~Hôtel-Dieu de Montréal~~

~~Téléphone : (514) 890-8000 Postes : 14086.~~

ANNEXE 3

**Acceptation éthique et formulaire de consentement de l'étude CAO**

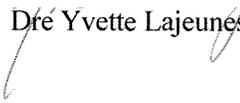
**APPROBATION DU COMITÉ D'ÉTHIQUE DE LA RECHERCHE DE LA  
FACULTÉ DE MÉDECINE (CERFM)**

Le Comité d'éthique a étudié le projet intitulé :

**Étude sur les facteurs protégeant des complications associées à l'obésité**

présenté par : Dr Rémi Rabasa-Lhoret

et considère que la recherche proposée sur des humains est conforme à l'éthique.

  
Dré Yvette Lajeunesse, présidente intérimaire

Date d'étude : 17 juin 2005

Date d'approbation : Modifié et approuvé le 26 janvier 2006

Numéro de référence : CERFM-67(05)4#169

**N.B.** Veuillez utiliser le numéro de référence dans toute correspondance avec le Comité d'éthique relativement à ce projet.

*Le Comité comprend que le chercheur se conformera à l'article 19 de la Loi sur les services de santé et services sociaux.*

*Le chercheur doit solliciter le CERFM pour toutes modifications ultérieures au protocole ou au formulaire de consentement.*

## Formulaire de consentement

**Titre:** Étude sur les facteurs protégeant des complications associées à l'obésité (CAO) - Étude principale

**Commanditaire:** Génome Québec et fonds de démarrage de la fondation du CHUM accordé au D<sup>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret pour la section réalisée à l'institut de cardiologie.

**Investigateur principal :** Rémi Rabasa-Lhoret M.D., Ph.D.

**Collaborateurs :** Dr Dominique Garrel M.D.  
Centre Génétique Innovation – Université McGill  
Assistants de recherche : Stéphanie Potvin Dtp., MSc.  
et Jennifer Levasseur Inf BSc.

Étudiants : Marie-Ève Lavoie (candidate au doctorat),  
Jonathan Fontaine (candidat à la maîtrise)  
May Faraj et Anthony Karelis (post-doctorants)

---

Vous êtes invitée à prendre part volontairement à une étude de recherche. Avant de participer à ce projet, 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 un désordre chronique qui affecte environ 20% de la population et en particulier les femmes plus âgées. Malgré une quantité importante de masse grasse certains individus ne développent pas les problèmes généralement associés à l'obésité (hypertension, hypercholestérolémie, diabète et maladies du cœur). On les désigne comme des obèses métaboliquement en santé (MHO). L'objectif principal de cette recherche est d'étudier les facteurs qui confèrent cette protection à certains individus obèses. Pour ce faire, nous étudierons les gènes potentiellement protecteurs et les mettrons en lien avec votre profil hormonal, composition corporelle, dépense énergétique, condition physique, condition des artères, habitudes de vie, le statut psychosocial et l'historique de votre prise de poids. Pour un sous-groupe de participantes, nous voulons étudier les effets d'une perte de poids sur ces facteurs. Vous avez déjà passé le test dépistage (la première partie) et l'on sait que vous n'êtes pas diabétique et que vous répondez à tous les critères. Vous êtes donc invitée à prendre part à la suite de cette étude.

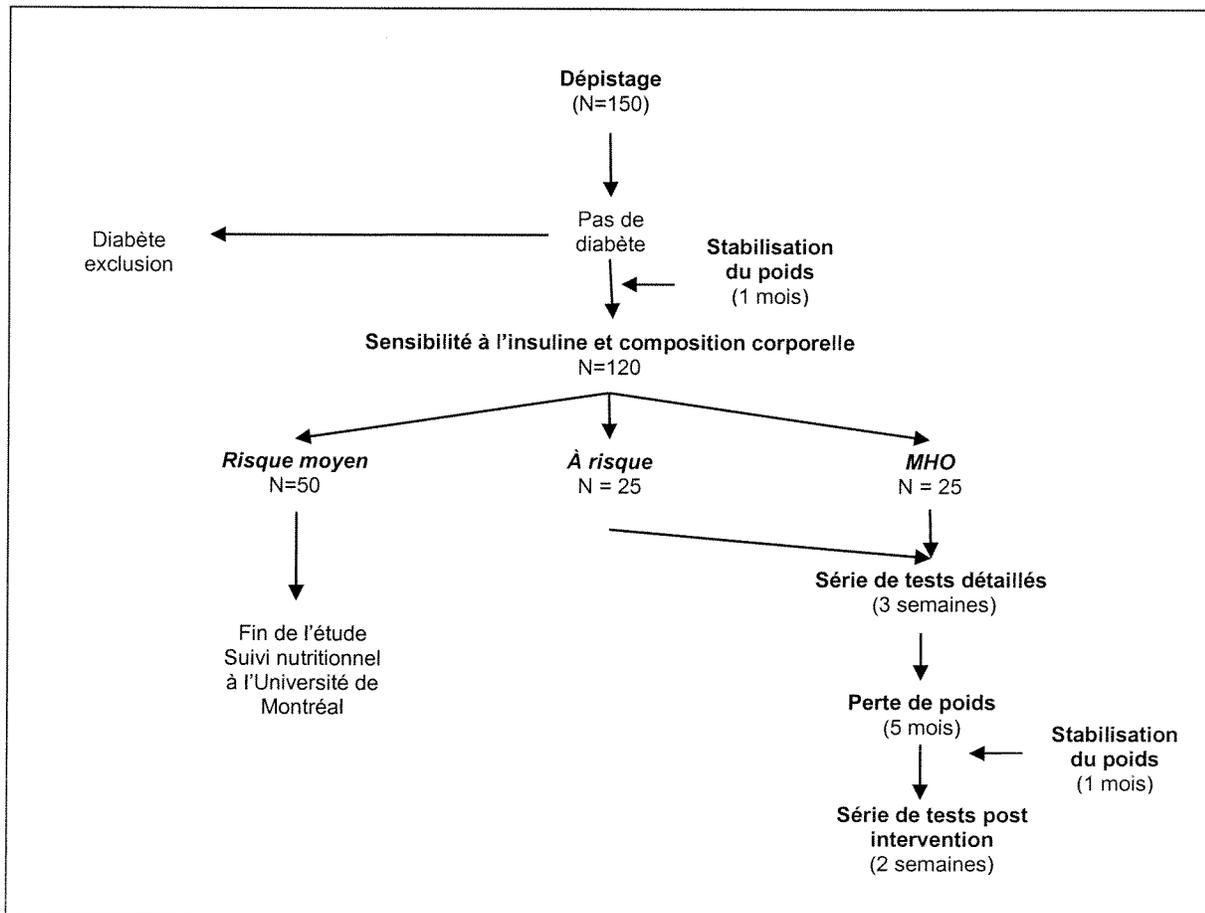
## Nature du protocole

Votre participation à cette étude devrait durer, selon votre classification au test du clamp<sup>1</sup>, 4 semaines ou 8 mois. 120 patientes participeront aux 4 premières semaines et environ cinquante poursuivront jusqu'au 8<sup>ème</sup> mois. Pour les patientes qui ne se qualifieront pas pour l'ensemble du protocole un suivi nutritionnel sera offert sans frais.

L'étude est divisée en sept parties reprises en détail à la suite:

- A. Dépistage (fait précédemment)
- B. Stabilisation du poids corporel (4 semaines)
- C. Sensibilité à l'insuline et composition corporelle ce **test est déterminant** :
  - **Poursuite ou fin de l'étude**
- D. Série de tests détaillés (3 semaines)
- E. Perte de poids et stabilisation (6 mois)
- F. Série de tests post-intervention (2 semaines)

## Design du protocole



<sup>1</sup> Ref : Page 3 Section C. Sensibilité à l'insuline et composition corporelle

## **B. Stabilisation du poids corporel**

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 la majorité des examens faits aux sections C et D. Cette période se divise en trois visites, à une semaine d'intervalle, où l'on vous pèsera. À la première visite, une histoire médicale et de l'obésité ainsi qu'un examen physique complet seront faits par un des médecins impliqués dans l'étude. Aux visites 2 et 3 vous remplirez des questionnaires concernant votre alimentation, votre activité physique, votre état psychologique.

## **C. Sensibilité à l'insuline et composition corporelle**

Cette partie de l'étude est déterminante, après cette visite nous serons en mesure de vous indiquer si vous vous qualifiez pour des tests plus détaillés. En fait, nos critères sont basés sur votre sensibilité à l'insuline, c'est à dire l'efficacité de votre organisme à utiliser l'insuline pour disposer du sucre dans votre sang. Dans cette étude, nous voulons comparer les femmes qui présentent une bonne sensibilité à l'insuline à celles qui sont plus résistante à l'insuline.

Celles dont l'organisme à une efficacité moyenne à utiliser l'insuline terminent l'étude après cette journée mais se voient offrir un suivi nutritionnel à la clinique de nutrition de l'Université de Montréal sans frais. Ce suivi comporte une évaluation nutritionnelle individuelle, deux cours de groupes sur les principes d'une saine alimentation et une rencontre individuelle avec une diététiste pour l'intégration de ces principes à vos habitudes alimentaires.

Au cours de cette visite d'environ 5 heures, vous passerez d'abord un scanner nommé *dual energy X-ray (DEXA)* afin de déterminer votre composition corporelle (densité osseuse, quantité de muscle et de gras). Vous devrez demeurer couchée sur une table d'examen, vêtue normalement, tandis qu'un rayon X à faible densité balayera votre corps pendant 10 minutes. Ensuite, nous déterminerons votre sensibilité à l'insuline par le test nommé *clamp hyperinsulinémique-euglycémique* (taux d'insuline élevé mais un taux de sucre dans le sang normal). Ce test mesure la façon dont l'insuline agit dans votre corps. Sur de grands groupes de sujets nous savons qu'une action réduite est associée à une augmentation du risque de diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires (infarctus, accident cérébro-vasculaire, etc.). Pour ce test vous devez être à jeun depuis 20h la veille et avoir suivi des consignes nutritionnelles et d'activité physique dans les 3 jours précédents. Après le DEXA, on 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 soit dans une couverture chauffante. Un des cathéters servira à prélever les échantillons sanguins et l'autre, à infuser le dextrose (sucre) et l'insuline. Pour les premières quarante minutes nous prendrons des prélèvements sanguins aux 20 minutes. Ensuite, nous débutons simultanément l'infusion d'insuline et de dextrose pour éviter une diminution du sucre dans votre sang. À partir de ce moment, nous dosons aux 10 minutes, pendant 3 heures, votre taux de sucre pour s'assurer qu'il est stable. Au total une quantité d'environ 196 ml de sang (un peu plus d'une demi-tasse) sera prélevée. Pendant le test, vous devrez demeurer couchée, mais si vous le désirez, vous pourrez boire de l'eau. Dans les minutes qui suivent la fin du test, votre organisme reprend ses

fonctions habituelles et vos taux d'insuline et de glucose reviennent à la normale. Nous nous assurons de ce retour à la normale en vérifiant votre taux de sucre et en vous servant un repas avant votre départ.

Les 25 patients dont l'organisme dispose du sucre le plus rapidement et les 25 dont l'organisme dispose du sucre le moins rapidement au cours du clamp se qualifient pour les étapes suivantes.

#### **D. Série de tests détaillés**

Cette partie de l'étude nous permettra d'évaluer précisément votre composition corporelle, votre dépense énergétique, votre condition physique, votre alimentation et l'état de vos artères. Elle se déroule sur une période d'environ 3 semaines. Si vous vous qualifiez pour la suite, une rencontre aura lieu environ une semaine après le clamp. Cette visite, où vous devez être à jeun, débutera par une calorimétrie (mesure dépense énergétique de repos par votre respiration). Dès votre arrivée, vous vous coucherez dans un lit et un casque de plexiglas, alimenté en air frais, sera placé sur votre tête. Vous resterez allongée dans un état calme pour 40 minutes. Ensuite, pour étudier vos gènes (ADN) du tissu adipeux nous ferons une biopsie. Pour ce faire, le médecin en charge de cette technique désinfectera d'abord votre peau et pratiquera une anesthésie locale sur votre abdomen. Une fois l'anesthésie effective, le médecin prélèvera à l'aide d'une aiguille et d'une seringue 4 à 5 grammes de graisse par aspiration. Deux piqûres à environ 10 centimètres du nombril seront nécessaires pour réaliser la biopsie. Après la biopsie nous vous servirons une collation. Vers 11h00, vous débuterez le test de l'eau doublement marquée pour estimer votre dépense calorique quotidienne (dépense de repos + dépense reliée à la digestion + dépense reliée à l'activité physique). Vous devrez fournir un échantillon d'urine et nous vous demanderons de boire un verre d'eau marquée par deux substances naturelles, le deutérium (2 hydrogènes) et le 18 oxygènes. Ces substances ne sont pas radioactives. Le lendemain, sur l'heure du dîner, vous viendrez à l'université pour fournir un échantillon d'urine et nous vous remettrons un journal alimentaire de trois jours à remplir.

Dix jours plus tard, vous reviendrez à l'université pour fournir le dernier échantillon d'urine pour le test de l'eau doublement marquée. À cette visite vous passerez aussi un test qui sert à mesurer l'habileté de votre corps à consommer de l'oxygène pendant un exercice qui est un reflet de votre forme cardiovasculaire (VO<sub>2</sub>max). Vous serez sur un vélo stationnaire ou vous devrez maintenir une vitesse constante (environ 10-15 minutes). À tous les deux minutes le niveau de difficulté sera augmenté jusqu'à ce que vous soyez fatiguée. Durant le test, vous respirerez dans un appareil buccal en caoutchouc afin de mesurer votre consommation d'oxygène, votre tension artérielle et l'activité de votre cœur.

Durant cette partie d'étude, vous aurez à passer une tomographie (scanner) à l'hôpital St-Luc afin de déterminer combien de graisse se situe au niveau de l'abdomen ainsi que sa répartition (directement sous la peau comparativement à la graisse située au contour des viscères) et des cuisses. Pendant ce test, vous serez allongée avec les bras étendus au-dessus de votre tête pour environ 15 minutes. Des mesures seront prises au niveau de l'abdomen, du nombril et des cuisses par un appareil à rayon X.

#### **D. Série de tests détaillés (suite)**

Vous aurez aussi une visite à *l'Institut de Cardiologie de Montréal* ou vous passerez des tests pour évaluer la santé de vos artères. Cette portion de l'étude se faisant dans une autre institution, elle nécessite un formulaire de consentement indépendant comportant tous les détails. Cette section de l'étude nécessite 1 visite d'une durée de 4 heures pour réaliser les tests suivants : prise de sang (25 ml), échographie brachiale et une résonance magnétique.

#### **E. Perte de poids et stabilisation**

Cette période s'échelonne sur 6 mois où vous aurez à venir à l'université toutes les 2 semaines pour les 5 premiers mois puis toutes les semaines durant le dernier mois. Au cours de ces rencontres, on vous pèsera et vous rencontrerez une diététiste certifiée afin de vous enseigner un programme nutritionnel adapté à vos besoins et à vos habitudes alimentaires. Les 5 premiers mois servent à perdre au moins 10 % de votre masse corporelle et le dernier mois permettra de stabiliser votre poids en acquérant des habitudes alimentaires saines pour le maintien de votre perte de poids. Un contact téléphonique sera fait les semaines où vous ne viendrez pas à l'université. La diète est une diète équilibrée comportant tous les groupes d'aliments et conforme aux recommandations de Santé Canada.

#### **F. Série de test post-intervention**

Le but de cette partie est d'évaluer les effets de la perte de poids. Pour ce faire, vous passerez certains tests et questionnaires décrits aux sections B et C. En résumé, au cours d'une visite d'environ 5 heures, où vous devez être à jeun, vous repasserez d'abord le *DEXA-scan* afin de déterminer les changements dans votre composition corporelle et ensuite, nous réévaluerons votre sensibilité à l'insuline par le *clamp hyperinsulinémique-euglycémique*. Une autre visite de 3 heures où vous devez être à jeun servira à mesurer à nouveau votre dépense énergétique de repos par la *calorimétrie* et de voir les changements au niveau du tissu adipeux avec une autre *biopsie*. Vous aurez aussi à repasser une tomographie à l'hôpital St-Luc et à retourner à l'Institut de Cardiologie de Montréal pour réévaluer vos artères (prise de sang et échographie brachiale).

## Résumé des visites au cours de l'étude

Visite	Calendrier	Description de la visite	Durée
<b>DÉPISTAGE (DÉJÀ RÉALISÉ)</b>			
1	Temps 0	Formulaire de consentement. Prise de sang, poids, taille, tension artérielle, tour de taille. Questionnaires. <b>Les résultats ont montré que vous n'étiez pas diabétique</b>	2h30
<b>STABILISATION</b>			
2	1 sem	Formulaire de consentement. Examen médical et histoire de poids.	1h30
3	2 sem	Poids. Questionnaires. Journal alimentaire.	30 min
4	3 sem	Poids. Questionnaires.	30 min
<b>SENSIBILITÉ À L'INSULINE ET COMPOSITION CORPORELLE</b>			
5	4 sem	Dexa-scan. Clamp. <b>Test de classification, détermine la suite</b>	5h00
<b>SÉRIE DE TESTS DÉTAILLÉS (POUR LES PATIENTS QUI SE QUALIFIENT)</b>			
6	5 sem	Eau doublement marquée jour 0, calorimétrie indirecte et biopsie du tissu adipeux. Poids.	3h00
7	5 sem+1j	Eau doublement marquée jour 1, remise du journal alimentaire à remplir. Poids.	1h00
8	7 sem	Eau doublement marquée jour 10, VO2max. Poids.	2h00
CT-scan	em 4 et 8	CT-Scan ( <b>Hôpital St-Luc</b> )	2h00
Cardio	Entre sem 4-8	Prise de sang. Échographie brachiale et résonance magnétique. ( <b>Institut de cardiologie de Montréal</b> )	3h00
<b>INTERVENTION POUR LA PERTE DE POIDS</b>			
9	9sem	Évaluation et intervention nutritionnelle	45 min
10	11 sem	Intervention nutritionnelle (mois 0,5)	45 min
11	13 sem	Intervention nutritionnelle (mois 1)	45 min
12	15 sem	Intervention nutritionnelle (mois 1,5)	45 min
13	17 sem	Intervention nutritionnelle (mois 2)	45 min
14	19 sem	Pesée et intervention si nécessaire (mois 2,5)	10 min
15	21 sem	Intervention nutritionnelle (mois 3)	45 min
16	23 sem	Pesée et intervention si nécessaire (mois 3,5)	10 min
17	25 sem	Intervention nutritionnelle (mois 4)	45 min
18	27 sem	Pesée et intervention si nécessaire (mois 4,5)	10 min
19	29 sem	Fin perte de poids et début stabilisation (mois 5)	45 min
20	30 sem	Stabilisation du poids sous supervision	15 min
21	31 sem	Stabilisation du poids sous supervision	15 min
22	32 sem	Stabilisation du poids sous supervision	15 min
<b>SÉRIE DE TESTS POST-INTERVENTION</b>			
23	33 sem	Dexa-scan. Clamp. Poids, taille, tension artérielle, tour de taille.	5h00
24	34 sem	Calorimétrie indirecte et biopsie du tissu adipeux. Questionnaires.	3h00
CT-scan	33-35 sem	CT-Scan ( <b>Hôpital St-Luc</b> )	2h00
Cardio	33-35 sem	Prise de sang. Échographie brachiale. ( <b>Institut de cardiologie de Montréal</b> )	1h00

## Risques et inconvénients

Votre participation à l'étude comporte quelques risques

### *Clamp*

Pour ce test de mesure de la sensibilité à l'insuline, 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 organisme 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 10 minutes et que l'objectif du test est de maintenir votre taux de sucre à une valeur normale. 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 2003-2004 nous avons réalisé plus de 100 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.

### *DEXA-scan et tomographie*

Le seul risque de ces tests se situe au niveau de l'exposition aux rayons X. Cette exposition se chiffre à 0,03 millirem pour le DEXA, ce qui est inférieur à l'exposition ambiante naturelle pour une journée et de 1,12 millirem pour la tomographie qui représente moins que le dosage maximum permis de 5 millirem par année. Le médecin de l'étude s'assurera que votre total d'exposition aux radiations pour l'année en cours ne dépasse pas le maximum permis.

### *Calorimétrie*

Les inconvénients de ce test sont associés aux personnes souffrant de claustrophobie, le casque de plexiglas étant un espace restreint, ainsi que l'importance de demeurer totalement inactif pendant toute la durée des mesures soit 40 minutes. Le débit d'air frais circulant sous le casque est 3 à 5 fois supérieur aux besoins et le casque peut être ôté à tout moment puisqu'il est seulement posé sur vous.

### *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 50% 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 en 5 à 10 jours. Le risque d'hématome nécessitant un acte médical complémentaire est minime.
- Perte de souplesse de la peau au site de la biopsie. Cette complication survient chez moins de 10% des sujets et disparaît en 1 à 2 mois

- Infection de la peau (risque minime), qui pourrait nécessiter la prise d'antibiotique.
- Allergie au produit anesthésique (même utilisé pour les soins dentaires). Nous vérifierons avec vous le risque d'allergie avant la procédure.

Au cours des années 2003-2004 nous avons réalisé plus de 50 biopsies, environ 30% des sujets ont présenté un hématome.

#### *VO2max*

Les risques associés à ce test sont l'essoufflement, le souffle court, fatigue, inconfort musculaire local. Un rythme cardiaque irrégulier ou même des complications cardiaques peuvent survenir lors d'efforts intenses. Comme mesure préventive, vous serez suivi à l'aide d'un électrocardiogramme pour mesurer l'activité de votre cœur et le test sera arrêté si des anomalies surviennent. Le personnel de recherche est certifié en réanimation cardiorespiratoire et l'équipement médical d'urgence est disponible. Malgré l'intensité associée à ce test, les risques de troubles cardiaques sont improbables. Les arrêts cardiaques sont extrêmement rares (<1 en 10 000 tests) chez les individus sans antécédents de maladies cardiaques.

#### *Intervention nutritionnelle*

Une incidence accrue de calculs vésiculaires lors de perte de poids rapide est présente. Cependant, ce phénomène se retrouve surtout lors de régimes à très faible teneur calorique (<800kcal/jour) ce qui n'est pas le cas dans cette étude. 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**

Un des risques associés au projet de recherche est lié à la divulgation des résultats ou de votre participation à des tiers. Le simple fait de participer à des projets de recherche en génétique pourrait dans certains cas modifier vos conditions d'assurabilité (assurance-vie, invalidité ou santé) ou d'obtenir certains emplois, de même que celles de votre famille. De plus, vous n'êtes tenu d'informer votre assureur de votre participation à cette étude que s'il vous en fait la demande.

Puisque le projet de recherche concerne la génétique des personnes obèses, il se peut que la diffusion des résultats généraux vous associe à ces gènes même si vous en êtes pas porteur, et que l'on vous identifie comme une personne à risque par le fait que vous êtes membre de ce groupe.

Enfin 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 d'en d'autres cas pourrait modifier vos conditions d'assurabilité.

## **Bénéfices**

La participation à cette étude vous offre la possibilité d'obtenir de l'information sur plusieurs paramètres de votre santé : votre bilan biologique, votre condition physique, votre dépense énergétique, votre composition corporelle, 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 remettons 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.

## **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 la Régie d'assurance-maladie du Québec. Cependant, en signant le présent formulaire vous ne renoncez à aucun des droits garantis par la loi.

## **Critères d'exclusion**

Vous avez consenti et vous avez rencontré les critères d'éligibilité de la première partie de l'étude (dépistage). Les résultats de laboratoire obtenus, permettront de déterminer votre éligibilité pour la suite.

- Valeurs biologiques anormales: glycémie à jeun >7.0 mmol/L, pression artérielle >160/100 mmHg, cholestérol total >7.8 mmol/L, triglycérides >4.5 mmol/L, AST ou ALT > 3 fois la limite supérieure, Hb < 100 g/L, créatinine > 135 umol/L

Ces valeurs nécessitent une prise en charge médicale à court terme que nous organiserons en collaboration avec votre médecin traitant. Ces valeurs ne sont pas compatibles avec la réalisation de l'étude.

## **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 identifiées 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 du comité d'éthique de la recherche de la faculté de médecine de l'Université 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 pourront transmettre les résultats des tests à votre médecin traitant.

Les échantillons obtenus seront détruits à la fin du projet, après analyse et publication des résultats. Selon les normes en vigueur, les données doivent être conservées pour une durée de 25 ans pour fin de vérification. En cas de l'arrêt de l'étude les échantillons seront détruits et les données conservées pour fin de vérification ultérieure (25 ans).

#### **CLAUSE de GÉNÉTIQUE**

Nous protégerons la confidentialité des échantillons en leur assignant un code spécifique. Votre échantillon d'ADN ne sera pas identifié mais un code permettra de vous lier à l'échantillon. Le décodage ne peut cependant être fait que par le chercheur principal et par une seule personne désignée par ce dernier.

Des échantillons de votre ADN seront conservés à l'Université de Montréal, sous la responsabilité de Dr Rémi Rabasa-Lhoret et au centre de Génétique Innovation de l'Université McGill sous la responsabilité de Génome Québec pour la durée du projet de recherche (3,5 ans). À la fin du projet de recherche, si vous acceptez, votre échantillon sera rendu anonyme et pourra servir à d'autres recherches sur l'obésité, le syndrome métabolique et ses complications (diabète et maladies cardiovasculaires). Chaque nouveau projet impliquant ces échantillons devra recevoir l'aval du Comité d'éthique à la recherche. Ces recherches pourraient impliquer l'envoi des échantillons à d'autres chercheurs, même à l'extérieur de nos institutions. Cependant, il sera impossible de vous identifier. En aucun cas, ces échantillons ne peuvent être vendus à qui que ce soit (ex. industrie, chercheur)

#### **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 affecte les traitements auxquels vous avez droit ni ne nuise aux relations avec votre médecin. Vous pouvez demander la destruction de vos échantillons jusqu'à l'étape d'anonymisation. Le chercheur s'engage à vous faire savoir tout nouveau développement qui pourrait influencer votre décision de participer à l'étude.

#### **Indemnité**

Aucune compensation financière n'est prévue pour le protocole. Vous devrez défrayer les coûts reliés à votre transport jusqu'au laboratoire. Le stationnement est gratuit pour toutes les participantes tout comme le seront les tests effectués.

#### **Possibilités de commercialisation**

L'analyse de votre échantillon d'ADN pourrait contribuer à la création de produits commerciaux, par exemple des médicaments contre l'obésité. 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 :

- Le D<sup>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret au (514) 890-8000 poste 14086. 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.
- Les coordonnatrices de l'étude :
  - o Stéphanie Potvin : (514) 343-6111 ext. 1-1736 ou 890-8000 ext. 12906
  - o Jennifer Levasseur : (514) 343-6111 ext. 1-1736

Vous pouvez communiquer avec le bureau de l'ombudsman de l'Université de Montréal pour obtenir des renseignements éthiques ou faire part d'un incident ou formuler des plaintes ou des commentaires au (514) 343-2100.

## 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	

**Après ce projet de recherche, je désire que mes échantillons soient :**

Anonymisés :   
Initiales du patient : \_\_\_\_\_

Détruits :   
Initiales du patient : \_\_\_\_\_

## 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>r</sup> Rémi Rabasa-Lhoret ou _____
Signature du chercheur	
Date	

## Distribution du formulaire de consentement

- Remettre une copie originale au patient.
- Garder une copie originale aux dossiers du chercheur.

## ANNEXE 4

**Sommaire des recommandations émises pour les analyses de journaux alimentaires par le logiciel *Food Processor SQL***Poids des portions

*RECOMMANDATION (1): Demander au sujet de préciser les marques des produits céréaliers consommés pour qu'on puisse récupérer le poids de la portion via l'emballage.*

*RECOMMANDATION (2): Proposer des moyens aux sujets pour qu'ils estiment les grosseurs des fruits avec davantage de précision. Nous proposons de leur remettre une règle avec des ronds de diverses grosseurs pour estimer le diamètre des fruits consommés.*

Calories totales

*RECOMMANDATION (3) : Créer un tableau pour la sélection des fromages et des yogourts afin de standardiser le choix lorsque le % de matières grasses n'est pas disponible.*

*RECOMMANDATION (4) : Standardiser les choix des coupes des viandes lorsqu'elles ne sont pas précisés par le sujet.*

*RECOMMANDATION (5): Standardiser le fruit à choisir quand plusieurs choix similaires sont disponibles.*

*RECOMMANDATION (6) : Faire attention à la différence entre la mayonnaise et la sauce type mayonnaise lorsque nous sélectionnons une mayonnaise dans les bases de données.*

### Glucides

*RECOMMANDATION (7): Utiliser le USDA pour l'analyse des fromages.*

*RECOMMANDATION (8) : La sélection de pains du USDA semble plus représentative des aliments inscrits dans les journaux alimentaires que ceux du CNF (ex. whole wheat vs mixed grain, respectivement). Ainsi l'analyse des fibres alimentaires totales en est probablement plus précise. Nous recommandons de sélectionner les pains au moyen du USDA.*

*RECOMMANDATION (9) : Standardiser la grosseur des fruits.*

*RECOMMANDATION (10) : On ne peut pas analyser les apports en fibres solubles et ce, peu importe la base de données utilisée.*

*RECOMMANDATION (11) : On ne peut pas analyser les apports en fibres insolubles et ce, peu importe la base de données utilisée.*

*RECOMMANDATION (12) : On ne peut pas analyser les apports en sucrose et ce, peu importe la base de données utilisée.*

*RECOMMANDATION (13): La catégorie « Other Carbs » pourrait être utilisée avec le USDA mais pas avec le CNF.*

*RECOMMANDATION (14) : Malgré que nous ayons constaté quelques erreurs au niveau du calcul des glucides nets, les valeurs obtenues dans ces catégories peuvent être utilisées dans les 2 bases de données.*

*RECOMMANDATION (15) : On ne peut pas analyser les apports en amidon et ce, peu importe la base de données utilisée.*

### Lipides

*RECOMMANDATIONS (16): Ne pas utiliser les données d'acides gras TRANS peu importe la base de données choisie.*

*RECOMMANDATION (17) : Nous ne pouvons pas utiliser les données obtenues pour l'acide arachidique (20:0) dans nos analyses de journaux alimentaires.*

*RECOMMANDATION (18) : Nous ne pouvons pas utiliser les données obtenues pour l'acide homolinoléique (20:3) dans nos analyses de journaux alimentaires.*

*RECOMMANDATION (19) : Nous ne pouvons pas utiliser les données obtenues pour l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22:5) dans nos analyses de journaux alimentaires.*

*RECOMMANDATION (20): Il est impossible d'utiliser le total d'oméga-3 avec le CNF. Par contre, toutes les valeurs sont présentes dans le USDA. À l'exception de l'acide linoléique (18:3), nous considérons qu'il y a trop de données manquantes pour utiliser les différents acides gras oméga-3 dans une analyse de journaux alimentaires.*

*RECOMMANDATION (21) : Il est impossible d'utiliser le total d'oméga-6 avec le CNF. Par contre, toutes les valeurs sont présentes dans le USDA. Néanmoins, nous considérons qu'il y a trop de données manquantes pour utiliser les valeurs de l'acide arachidonique (20:4) dans une analyse de journaux alimentaires.*

## Vitamines

*RECOMMANDATION (22) : Ne pas utiliser les valeurs de folates (DFE) dans une analyse basé sur le CNF en raison d'un % de données absentes trop élevé. Toutefois, une analyse pourrait être faite avec le USDA.*

*RECOMMANDATION (23) : Utiliser les valeurs de vitamine A exprimées en RAE lorsque le CNF est utilisé pour l'analyse des journaux alimentaires, il y a trop de données manquantes pour utiliser les valeurs exprimées en UI. Toutefois, les 2 valeurs, soit en RAE ou UI, peuvent être utilisées lorsque l'analyse est faite au moyen de l'USDA.*

*RECOMMANDATIONS (24, 25, 26, 27) : Nous pouvons utiliser les données de vitamine B1, B6, B12 et C dans les 2 bases de données en raison du faible pourcentage de données manquantes.*

*RECOMMANDATION (28) : Ne pas utiliser les valeurs obtenues pour la vitamine D dans nos analyses de journaux alimentaires et ce, peu importe la base de données sélectionnée et l'unité de mesure.*

*RECOMMANDATION (29) : Lorsque les journaux alimentaires sont analysés avec le CNF, ne pas utiliser les données exprimées en UI. Pour celles exprimées en alpha-tocophérol, l'utilisation est laissée à la discrétion de la personne désirant les inclure dans ses analyses. Lorsque la base de données USDA est utilisée, les valeurs de vitamine E peuvent être utilisées peu importe leur unité. Somme toute, pour standardiser les analyses, nous recommandons l'utilisation du USDA.*

## Minéraux

*RECOMMANDATIONS (30, 31, 32, 33, 35, 36) : Nous pouvons utiliser les valeurs de calcium, fer, phosphore, potassium, sodium et zinc obtenues par les 2 bases de données en raison du faible pourcentage de données manquantes.*

*RECOMMANDATION (34) : Nous pouvons utiliser les valeurs de sélénium dans les 2 bases de données en raison du faible pourcentage de données manquantes. Par contre, étant donné que ce nutriment peut affecter le système immunitaire/inflammation, les différences observées entre les 2 bases de données pour les 5 jours analysés peuvent être considérées comme importantes (toutes les journées ayant plus de  $\pm 6\%$  de différences, variant entre -10,1 et 17,5%), il est donc important de se restreindre à une seule base de données.*

***\*\* En résumé pour les vitamines et minéraux, les 2 bases de données peuvent généralement être utilisées. Toutefois, il est important de respecter la base choisie si l'on veut observer des effets de traitement.***

## Caféine / Alcool / Indice et charge glycémiques

*RECOMMANDATION (37): Les 2 bases de données peuvent être utilisées pour l'analyse des apports en caféine.*

*RECOMMANDATION (38) : Les 2 bases de données peuvent être utilisées pour l'analyse des apports en alcool.*

*RECOMMANDATION (39) : Ne pas utiliser les données obtenues pour l'analyse des indices glycémiques ou de la charge glycémique et ce, peu importe la base de données.*

## CURRICULUM VITAE

Formation académique :

2003 à 2005 : M.Sc. en nutrition

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Titre du mémoire : « *Expression de la protéine Gas6 chez le rat Sprague-Dawley : effet de l'apport alimentaire en vitamine K à différents âges* »

Directeur : Dr Guylaine Ferland

1999 à 2002 : B.Sc. en nutrition

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Expériences d'enseignement

Automne 2006,

2007, 2009,

2010 : Monitrice de laboratoire dans le cadre du cours NUT3013

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Avril 2006 : Enseignement d'un cours (3h) dans le cadre du cours NUT3039

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Supervision d'étudiants :**Premier cycle**

été 2010 : Stagiaire d'été, Geneviève Filteau, au sein du laboratoire du Dr Rémi

Rabasa-Lhoret dans le cadre d'un stage COPSE

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Titre du projet : « *Évaluation de la validité et de la reproductibilité d'un questionnaire alimentaire adapté à la population québécoise* »

Automne 2007 : Deux étudiantes inscrites au cours NUT3033 – Initiation de la recherche

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Titres des mini-mémoires réalisées :

Projet 1 : « *Impact de la perte de masse maigre suite à un programme de perte de poids sur la qualité de vie chez les femmes post-ménopausées en surpoids* »

Projet 2 : « *Impact d'un programme de perte de poids avec ou sans entraînement en résistance sur la densité osseuse chez des femmes obèses ou en surpoids* »

### **Deuxième cycle**

Mai 2007 : Étudiante au M.Sc.-recherche, Niloofar Shirkhodaie, au sein du laboratoire du Dr Rémi Rabasa-Lhoret

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Titre du mémoire : « *Evaluation of diet quality using Healthy Eating Index and cardiometabolic abnormalities in obese postmenopausal women* »

### Rayonnement :

#### **Conférencière invitée**

Février 2011 : Conférencière invitée lors d'une Formation intitulée Diabète 2.0, offerte à des médecins omnipraticiens du Québec

Titre de la conférence : « *Hyperinsulinisme, syndrome métabolique, dyslipidémie, diabète, maladies cardiovasculaires : physiologie commune?* »

Formation organisée par Altitude Solution (entreprise de gestion d'événements [conférence, symposium...] pour professionnels de la santé et industries pharmaceutiques)