

Définition des limites de flexibilité des apports en acides oléique, linoléique et alphalinoléique sur la lipidémie et les paramètres d'athéromatose chez l'homme : intérêt des huiles végétales combinées

Oleic, linoleic, and alphalinoleic acids from vegetable oils: where are the limits for beneficial effects on lipemia and atherothrombotic parameters in humans?

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 9, Numéro 4, 237-43, Juillet - Août 2002, Dossier : Equilibre entre acides gras insaturés : contributions à l'étude de la prévention des maladies cardio-vasculaires

Auteur(s) : Bernadette DELPLANQUE, Brigitte LE ROY, François MENDY , Evelyne FENART, Anissa THAMINY-DEKAR, Farisa SYEDA, Nicole COMBE, Annie RUELLAND , Patrick BOREL, Stéphanie TANGUY, Benjamine VANDEPUTTE, Laboratoire de physiologie de la nutrition, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France.

Author(s) : Bernadette DELPLANQUE, Brigitte LE ROY, François MENDY , Evelyne FENART, Anissa THAMINY-DEKAR, Farisa SYEDA, Nicole COMBE, Annie RUELLAND , Patrick BOREL, Stéphanie TANGUY, Benjamine VANDEPUTTE

Résumé : Les maladies cardiovasculaires représentent le premier problème de santé publique des pays occidentaux. Des études récentes de prévention secondaire ont montré que des régimes maintenant un apport en acide oléique de 10 à 13 % de l'apport énergétique total (AET) pouvaient protéger de l'apparition d'accidents cardio-vasculaires [8], mais augmenter cet apport d'acide oléique à plus de 20 % de l'AET pourrait limiter cet effet bénéfique en induisant une augmentation du LDL-C [12, 34]. Grundy, dans le but de clarifier le ratio nécessaire entre acides gras saturés et insaturés (mono and poly), concluait en 1997 à d'« insuffisamment de données pour recommander l'apport en acide oléique », et proposait pour le moment 15-16 % d'acide oléique à titre de « raisonnable compromis ». L'objectif de notre étude était de définir des rapports entre acides oléique, linoléique et alphalinoléique (OL/LA/ALA ratio) et de valider l'apport oléique après avoir stabilisé le rapport linoléique/alphalinoléique du régime d'hommes normolipidémiques (n = 40). Pour atteindre 11, 13 et 16 % de l'AET sous forme d'acide oléique, nous avons utilisé des huiles de tournesol, de tournesol oléique (HOSO) et de colza pour obtenir des mélanges spécifiques ajustés à l'apport en acides gras proposés au protocole. Chacun de ces trois régimes (comportant 11, 13 et 16 % d'acide oléique) a été suivi pendant 16 semaines et l'épuration postprandiale d'un repas gras (1 000 Kcal, 62,5 % lipides) a été suivie pendant 8 heures à la fin de chaque période de régime. Les résultats indiquent que la stabilité des paramètres d'athérogenèse évalués à jeun et en postprandial est maintenue à un niveau favorable après ces régimes à 11, 13 et 16 % d'apport en acide oléique : il n'y a pas de différences statistiques significatives sur les concentrations à jeun de LDL-C, non-HDL-C, HDL-C, TG, ApoB, ApoA1 ou sur l'amplitude de la réponse postprandiale des TG. Ainsi les rapports ApoB/A1, LDL-C/HDL-C et non-HDL-C/HDL-C sont stabilisés. Ces observations permettent de conclure que la consommation d'acide oléique comprise entre 11 et 16 % d'AET (soit 28 g à 44 g) de la ration alimentaire pourrait correspondre aux limites de flexibilité de ces apports, dans le cadre d'un apport calorique total de l'ordre de 2 000 à 2 500 Kcal et compte tenu des autres éléments entrant dans la composition du régime. Les limites de flexibilité des apports en acides oléique, linoléique et alphalinoléique en

pourcentage d'AET du régime alimentaire pourraient être définies comme suit : 11-16 % (soit 28 g à 44 g) d'acide oléique, 4-6 % (soit 9 g à 13 g) d'acide linoléique, 1 % (soit 1,5 g à 3 g) d'alpha-linoléique (pour 60 % en position sn2). Soit des rapports 18:1/18:2n-6/18:3n-3 de l'ordre de 11-16/4-6/1 en % de l'AET.

Summary : Oleic, linoleic and linolenic acids from vegetable oils: where are the limits for beneficial effects on lipemia and athero-thrombotic parameters in humans? Cardiovascular disease is the number one public health problem in western countries. Recent data showed that diets including 10 to 13% of oleic acid in the total caloric intake could protect from new cardio-vascular events [8], but increasing oleic acid intake to more than 20% of the total caloric intake could limit this beneficial effect by inducing an increase of LDL-C [21, 34]. Grundy, in an attempt to clarify the desirable ratio of saturated versus unsaturated (mono and poly) fatty acids, concluded in 1997 to "insufficient data for recommended oleic intake", and proposed for the moment 15-16% as a "reasonable compromise". The objective of our study was to define the proper ratio between oleic, linoleic and alpha-linolenic (OL/LA/ALA ratio) and to validate dietary levels of oleic acid after stabilisation of the linoleic/alpha-linolenic ratio in the diet of normolipidemic male subjects (n=40). In order to reach 11, 13 and 16% of oleic acid of the total energy (TE) intake, sunflower, high oleic sunflower (HOSO) and rapeseed oils were combined to obtain specific blends adjusted to the FA intake proposed in the protocol. Each of these 3 diets (11, 13, 16% oleic diets) was maintained for 16 weeks and the clearance of a fatty meal (1,000 kcal, 62.5% fat) was tested during 8 h postprandially at the end of each period. The results indicated that the stability of fasting and postprandial plasma atherogenic parameters was maintained to favorable levels. There were no statistical differences of the effects of the 11, 13, 16% oleic acid diets evaluated on fasting LDL-C, Non-HDL-C, HDL-C, TG, ApoB, ApoA1 or postprandial TG incremental area under the curve, so that the ApoB/A1, LDL-C/HDL-C and Non-HDL-C/HDL-C ratio were kept stable. We propose that the following data could represent a dietary fatty acid range of a healthy nutrition for the general population: within a range of total caloric intake of 2,000-2,500 kcal, an oleic acid intake limited to 11 to 16% of TE (28 g/day to 44 g/day), a linoleic acid intake of 4 to 6% of TE (9 g/day to 13 g/day), and an alpha-linolenic acid intake in sn2 position of 1% of TE (1.5 g/day to 3 g/day), the resilience for the OL/LA/ALA ratio could be expressed by: 11-16/4-6/1.

Mots-clés : nutrition, acides gras insaturés : oléique, linoléique, alpha-linoléique, réponse postprandiale, paramètres d'athérombose.

Keywords : nutrition, oleic, linoleic, alpha-linolenic fatty acids, postprandial response, atherothrombosis.

ARTICLE

Les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent un grave problème de santé publique dans le monde occidental. On connaît l'importance de la nutrition dans l'apparition de l'athérombose à l'origine de ces maladies cardiovasculaires, maladies qui restent le premier facteur de mortalité dans les pays industrialisés [1-2].

Les lipides alimentaires jouent un rôle important sur les paramètres liés à l'athérosclérose : cholestérolémie (LDL-cholestérol « mauvais cholestérol » et HDL-cholestérol « bon cholestérol »), triglycéridémie (élevée à jeun et retard d'épuration postprandiale), potentiel oxydatif des lipoprotéines, ainsi que sur certains facteurs d'inflammation et d'hémostase.

La qualité des apports nutritionnels influence fortement chacun de ces facteurs, essentiellement par le biais de déplacements d'équilibres entre une large variété d'acides gras, qui peuvent induire ou promouvoir des situations pro/anti-athérogènes et/ou thrombogènes [3]. Ce déplacement d'équilibre peut s'exprimer dans le cadre d'une alimentation normale ou pléthorique.

Les premiers résultats des études nutritionnelles de préventions secondaire et primaire ont montré qu'à consommation égale de cholestérol et de triglycérides, certains acides gras saturés (AGS) sont capables d'induire une augmentation de la cholestérolémie, alors que les acides gras poly-insaturés (AGPI) la réduisent [4]. Les recommandations qui suivirent ont montré que le remplacement des AGS par les AGPI réduit bien le cholestérol total, mais conduit simultanément à la réduction des deux sous-fractions : athérogène (LDL-C) et anti-athérogène (HDL C), ce qui peut limiter l'effet bénéfique lié à la baisse du LDL-C, alors que le remplacement des saturés par les mono-insaturés (AGMI) ne réduit que le LDL-C [5, 6]. Il existe une corrélation positive entre la richesse de l'apport alimentaire en AGMI et l'augmentation du HDL-C, et une corrélation négative entre les AGPI et le LDL-C [7]. Cependant, s'il existe un bénéfice lié à des apports raisonnables en acide oléique (de l'ordre de 10 à 13 % de l'Apport Énergétique Total (AET)) [8], un apport très important d'acide oléique (de plus 20 % de l'AET) pourrait entraîner également l'augmentation du LDL-C ou un défaut de la qualité de ces lipoprotéines, sans qu'il y ait amélioration du bénéfice au niveau du HDL-C [9-12]. De même, depuis la théorie oxydative de Steinberg, on tend aussi à vouloir réduire la consommation des poly-insaturés (grande athérogénicité des LDL oxydées).

Outre les résultats de ces études nutritionnelles rapportées chez l'homme, d'autres arguments vont dans le sens de l'effet néfaste d'un apport trop grand en acide oléique : la consommation importante d'AGMI induit une augmentation des lipides hépatiques chez le singe [13] et chez le hamster [7]. Chez le singe, elle provoque également des lésions d'athérosclérose aussi importantes qu'après consommation de saturés, lésions dont l'évolution est corrélée au pourcentage d'oléate dans les esters de cholestérol des LDL [13-15]. Seul le régime poly-insaturé présente un effet protecteur vis-à-vis des lésions athéromateuses...

Le cholestérol a été considéré pendant de nombreuses années comme le facteur de risque primordial des maladies cardiovasculaires ; or, il est maintenant évident que les triglycérides représentent eux aussi un facteur de risque indépendant de la maladie athéromateuse [16, 17] et de ses conséquences cardiovasculaires. Cependant, la triglycéridémie est un marqueur peu fiable, auquel il faut préférer d'autres dosages plus sophistiqués en relation avec les mécanismes qui gèrent son métabolisme [17].

L'impact des triglycérides s'est révélé être important à deux niveaux :

Il a été montré que des triglycérides élevés à jeun représentent le seul facteur de risque reconnu dans 50 % des infarctus précoces [18].

Plus de 35 % des sujets jeunes présentant un accident ischémique grave avant 45 ans ont un bilan

lipidique tout à fait normal n'ayant pas permis de les identifier [19, 20]. En revanche, dans ces groupes de sujets coronariens, des études ont montré l'importance du retard d'épuration des triglycérides postprandiaux [21-24]. Bien que l'homme passe plus de seize heures par jour en phase postprandiale, des anomalies de triglycérides postprandiaux ne peuvent être prises en compte lors d'un bilan lipidique classique fait à jeun, même si leur rôle en qualité de facteurs pro-athérogènes, et pro-thrombotiques n'est plus mis en doute. L'utilisation de marqueurs nouveaux (distribution plasmatique des apo-CIII) liés à la persistance à jeun des lipoprotéines riches en triglycérides (TGRL) pro-athérogènes est discutée plus haut par P. Alaupovic dans l'article introductif de ce dossier [17].

Pour éviter l'apparition d'hyperlipidémie, d'athérosclérose et de maladies cardiovasculaires qui en découlent, il est donc aussi important de limiter la production de triglycérides et des TGRL et/ou de favoriser leur catabolisme, que de limiter la cholestérolémie. Or, des études *in vitro* et chez l'animal ont également montré que l'acide oléique augmente la production et la sécrétion hépatique des triglycérides associés à l'apo B, sous forme de lipoprotéines de type VLDL riches en triglycérides (TGRL) [25-31]. D'autre part, si l'apport en acide linoléique est trop faible, l'expression minimale du LDL-récepteur pourrait limiter la dégradation post-traductionnelle des apo-B nouvellement sécrétées [32].

De fait, le débat AGMI *versus* AGPI reste toujours d'actualité : depuis 1997, en partant des conclusions de Grundy sur les « *insufficient data for recommended oleic intake* » et qui propose un consensus à 15-16 % d'acide oléique, en passant par les questions de Truswell à propos de l'impact que peuvent avoir les huiles mono-insaturées d'origine différente sur le cholestérol plasmatique, jusqu'au dernier éditorial de l'AOCS en mai 2002 : « *MUFA versus PUFA : Scientist disagree on nutritional importance of these fatty acids* » [33-35].

Objectif de l'étude

Notre objectif, dans le cadre d'études de prévention, et pour faire évoluer le débat opposant depuis plus de 10 ans les partisans des poly-insaturés face aux promoteurs des mono-insaturés, a été de chercher à établir chez l'homme sain, les limites de flexibilité de l'apport en acide oléique, après définition d'apports en acides linoléique et alphalinoléique suffisants pour obtenir ou maintenir un effet favorable sur les facteurs de risque de l'athérombose.

La définition des besoins et des proportions nécessaires en termes d'apports d'acides linoléique et alphalinoléique semble maintenant établie et a fait partie des ANC récemment publiés. Un apport d'AGPI à hauteur de 6 % de l'apport énergétique total (AET) (5 % pour l'acide linoléique et 0,8 % pour l'acide alphalinoléique) avait été proposé chez l'homme à la suite d'un certain nombre d'observations [36], d'études de préventions primaire [37, 38] et secondaire [8] datant des années 1980-1990.

Compte tenu des réserves rapportées plus haut sur les effets d'une consommation « excessive » d'acide oléique, il restait donc à préciser les besoins mais aussi les limites de cette consommation en intégrant des apports fixés en AGPI respectant les propositions précédentes (5-6 % de AET et rapport n-6/n-3 voisin de 5). Alors que, jusqu'à présent, la plupart des études d'intervention nutritionnelle ont fait varier la balance des AGMI aux dépens ou au profit des AGPI, sans respect de seuils mini ou maxi pour chacune de ces familles, nous avons cette fois fait varier le pourcentage d'acide oléique de

la ration à l'intérieur de certaines limites [8, 33] tout en maintenant un apport fixe d'AGPI.

Nous avons donc testé, à jeun et en postprandial, trois niveaux de consommation d'acide oléique. Ces trois niveaux représentent 11, 13 et 16 % de l'apport énergétique total, et sont susceptibles de correspondre aux limites d'une zone de flexibilité dans des conditions où les acides linoléique et alphalinoléique restent maintenus à des niveaux acceptables voisins respectivement de 5 et 1 % de l'AET.

Protocole

Sélection des sujets

Cette étude a été réalisée sur un groupe de 40 sujets masculins normolipidémiques, vivant en milieu fermé (monastère). La sélection des sujets s'est faite sur la base d'un bilan hépatique normal et du bilan lipidique plasmatique suivant : cholestérol < 220 mg/dl, triglycérides < 120 mg/dl, HDL-C > 35 mg/dl et glycémie < 110 mg/dl. Les sujets sont non obèses (indice de masse corporelle < 27 kg/m²), et ne suivent pas de traitement pouvant influencer sur les paramètres à étudier. Le protocole a été approuvé par le CCCPRB de l'hôpital Henri-Mondor, Créteil, France.

Établissement des régimes et protocole

*** Établissement des mélanges d'huiles nécessaires au développement du protocole**

Le régime naturel des sujets précédant la mise en place du protocole, a été globalement maintenu. Les modifications ont simplement consisté à remplacer l'huile végétale de l'alimentation initiale par des mélanges d'huiles de qualités différentes et en quantités adaptées à l'apport défini au protocole.

Avant le début de la période d'étude, une enquête alimentaire a été réalisée sur 3 jours, afin de caractériser le régime de base (hors consommation d'huile) des sujets impliqués dans le protocole. Ensuite, trois mélanges d'huiles ont été élaborés de façon à pouvoir compléter le régime de base et parvenir aux apports souhaités en acide oléique (11, 13 et 16 % de l'AET), tout en maintenant un rapport stabilisé entre acides linoléique et alphalinoléique.

Les mélanges d'huiles ont été réalisés à partir d'huiles de composition standard (fournies par la Société Lesieur) (*figure 1*) : colza (Lear : riche en alphalinoléique à 60 % en position sn2), tournesol (Sun : riche en linoléique), tournesol oléique (Hoso : riche en oléique).

Trois mélanges d'huiles I, II, III résultant de proportions variées de Lear/Sun/Hoso (*tableau 1a*) ont été réalisés, impliquant des consommations journalières respectives de 15 g, 30 g, 35 g d'huiles (*tableau 1b*), nécessaires à l'obtention de régimes comportant respectivement ces 11, 13 et 16 % de l'AET sous forme d'acide oléique.

À chaque nouvelle période de régime, une enquête nutritionnelle sur 7 jours (cahiers de type semainiers) a été réalisée auprès des volontaires, complétée pour vérification par une analyse chimique de la composition moyenne en protéines, hydrates de carbone, cholestérol et lipides

(quantité et qualité des acides gras) des repas de cette même semaine (*tableau 2 et figure 2*).

*** Protocole nutritionnel**

La période d'étude débute par une période de stabilisation de 4 mois durant laquelle l'ensemble des sujets a été soumis à un régime dit chronique, dont l'apport en acide oléique est maintenu et stabilisé à 13 % d'AET.

À l'issue de cette période de stabilisation, les sujets ont été répartis en deux groupes : le groupe A et le groupe B, après appariement sur la base de leur âge, cholestérol, HDL-C et triglycérides plasmatiques à jeun. À partir des deux groupes ainsi constitués, les sujets ont été soumis à un essai croisé : les sujets du groupe A (sujets a/b) ont reçu d'abord le régime à OL-11 % puis le régime à OL-16 %. Les sujets du groupe B (sujets b/a) ont reçu d'abord le régime OL-16 % puis le régime OL-11 %.

Une épreuve postprandiale a été réalisée à la fin de la période d'imprégnation chronique et après 4 mois de chacun des régimes : il s'agit d'un repas gras (62,5 % de lipides) incluant l'huile consommée pendant les 4 mois du régime chronique précédant. Le repas de la veille et les menus de la semaine qui précèdent l'épreuve postprandiale sont contrôlés pour éviter tout biais susceptible de modifier les résultats de la réponse postprandiale ou chronique.

*** Modalités d'étude et suivi des régimes**

Modalités de l'imprégnation chronique

L'huile à consommer (mélanges I, II ou III correspondant à la consommation chronique du sujet) a été fournie au cours des repas du midi et du soir (lors de l'assaisonnement des crudités du repas de midi et de la salade du repas du soir). L'apport d'huile a représenté des consommations journalières de 15 g, 30 g, 35 g pour aboutir aux régimes comportant respectivement 11, 13 et 16 % de l'AET sous forme d'acide oléique.

À chaque nouvelle période de régime, l'enquête nutritionnelle (*tableau 2*), ainsi que l'analyse de composition des acides gras dans chaque classe de lipides plasmatiques ont permis de valider la compliance des sujets aux régimes.

Modalités du test postprandial

Il s'agit d'un repas standard riche en lipides, dont la valeur nutritionnelle est de 970 kcal, comportant 300 mg de cholestérol, des protides (21 g soit 8,5 % de l'AET), glucides (70 g soit 29 % de l'AET), lipides (67 g soit 62,5 % de l'AET) (*tableau 3 et figure 3*).

La composition de ce repas est la suivante: 50 g d'huile (20 g d'huile + 30 g de mayonnaise), café ou thé avec ou sans édulcorant, pain, camembert, un œuf, laitue, compote, beurre.

Cent mille UI de vitamine A sous forme de rétinyl palmitate (Avibon, Théraplix, Paris) ont été incorporées dans le repas en qualité de traceur du métabolisme des lipides d'origine exogène.

*** Modalités de prélèvements**

Pour l'étude de l'imprégnation chronique

Les prélèvements sanguins, en période d'imprégnation chronique, sont effectués à jeun tous les mois pendant toute la durée de l'étude afin de suivre l'évolution et la stabilisation des paramètres étudiés.

Les échantillons plasmatiques sont immédiatement stockés à 80 °C.

Pour l'étude du test postprandial

Le repas test est pris le matin après 12 heures de jeûne, et consommé en 15 min. Des prélèvements de sang sont effectués à jeun avant le repas, puis 2, 4, 6 et 8 heures après la prise du repas test.

Les échantillons plasmatiques sont immédiatement stockés à 80 °C.

Paramètres étudiés

L'analyse de la composition en acides gras de chaque classe de lipides plasmatiques a été réalisée en fin de période chronique 11, 13 et 16 %.

La lipidémie plasmatique a été explorée à chaque prélèvement effectué à jeun et en postprandial : cholestérol total (CT), triglycérides (TG), LDL-C (Friedewald), HDL-C et sous fractions (LpAI et LpAI:AI) non-HDL-C (= cholestérol total - HDL-C) pour une estimation globale de la fraction VLDL-C + LDL-C, acides gras non estérifiés (AGNE). Les apolipoprotéines plasmatiques, Apo AI et Apo B, ont été mesurées (selon les recommandations ARCOL), ainsi que les Apo E et Apo CIII (distribution sur les TGRL et HDL). Le phénotype des Apo E a été déterminé.

Des dosages plasmatiques de la glycémie, de l'insuline et de la leptine, ainsi qu'un bilan hépatique ont été réalisés en fin de période chronique et en phase postprandiale.

L'ensemble des résultats obtenus à partir des paramètres étudiés dans ce travail n'a pas été rapporté ici : nous nous sommes limités dans un premier temps à une évaluation classique des paramètres impliqués dans l'athérosclérose : cholestérol et sous-fractions, triglycérides à jeun et en postprandial, et quelques hormones impliquées dans leur métabolisme.

L'analyse statistique a été réalisée par des tests ANOVA et par le test de Student (*t* test). Le seuil de réactivité a été fixé à un $p < 0,05$. L'amplitude de la réponse postprandiale a été estimée par des mesures d'aires sous la courbe (ASC) et d'incrément d'aires sous la courbe (iASC) calculés d'après la formule des trapèzes.

Résultats discussion

Pour cette étude, qui avait pour but d'évaluer l'impact sur les paramètres d'athérombose d'une fourchette d'apport en acide oléique comprise entre 11 et 16 %, en ayant stabilisé à près de 6 % les apports AGPI, nous avons été amenés à préparer des mélanges d'huiles adaptés à l'alimentation basale des sujets.

Ces mélanges d'huiles ont été conçus de telle sorte que leur composition (*tableau 1*) montre des niveaux assez élevés en 18:3n-3 (de 2 à 4 %), une bonne représentation du 18:2n-6 (de 15 à 25 %) et des valeurs d'acide oléique comprises entre 58 et 72 %, obtenues grâce à l'utilisation de tournesol oléique.

Par comparaison avec des huiles de base mono-insaturées ou mixtes classiques, ces mélanges présentent donc l'avantage d'une composition relativement riche en 18:3n-3 et où le 18:2n-6 est plutôt bien représenté.

Au cours de cette étude, chacun des trois mélanges d'huiles préparés (I, II, III) était fourni au cours des repas à des doses respectives de 15 g, 30 g, 35 g/jour, pour obtenir, compte tenu de la qualité du régime basal des sujets, un apport de l'AET en acide oléique tel que proposé : soit 11, 13 et 16 % respectivement. Cette consommation de chacun des mélanges d'huiles en quantités variables correspond à des consommations rencontrées dans la population courante, cependant plus proches de 15 g que de 35 g en moyenne. Ces mélanges d'huiles ont apporté journalièrement des quantités de 18:1 de l'ordre de 10 g, 17 g et 25 g et permis un apport intéressant en 18:2n-6, proche des apports recommandés par les ANC pour au moins deux de ces mélanges (7,6 g et 5,3 g pour les mélanges II et III respectivement) (*tableau 1b*).

Du fait de l'incorporation d'huile de colza dans ces mélanges, les apports en 18:3n-3 par les mélanges d'huiles sont loin d'être négligeables, si l'on se réfère aux consommations habituelles de la population française (voir article de N. Combe dans ce dossier) : 0,6 g apporté par 15 g de mélange I, 0,7 g apporté par 35 g de mélange III, et 1,2 g, soit presque le double, avec 30 g de mélange II. De plus l'huile de colza présente l'avantage d'avoir 60 % du 18:3n-3 en position sn2, d'où une meilleure biodisponibilité.

L'utilisation de ces mélanges d'huiles a également permis de maintenir les apports en acides linoléique et alphalinoléique dans un rapport compris entre 5 et 8.

L'analyse de la composition globale du régime (*tableau 2*) apporte la vérification que l'apport journalier en acide oléique atteint le niveau souhaité : 28 g/j pour le régime OL-11 %, 36 g/j pour le régime OL-13 % et 43 g/j pour le régime OL-16 %, grâce à des consommations graduelles (15 g, 30 g, 35 g) de ces différents mélanges d'huiles.

Si l'on raisonne sur les apports exprimés en grammes par jour, on note que l'apport en 18:1 du régime OL-11 %, correspond aux valeurs de 18:1 apportées dans l'*alpha-mediterranean diet* (28 g) de l'étude de Lyon [8], mais que les apports d'acide oléique sont déjà plus élevés de 50 % avec le régime OL-16 % (43 g/j). L'apport de nos régimes en acide linoléique évolue entre 9 g/j, 11,8 g/j et 13 g/j, ce qui est également relativement proche des apports en 18:2n-6 de l'étude de Lyon (7,7 g/j, soit 3,6 %), et nos apports en alphalinoléique sont du même ordre de grandeur (1,5 g/j) ou au-delà (2,6 g/j) des valeurs rapportées dans cette étude (1,7 g/j, soit 0,8 %). Notre régime OL-11 % est donc relativement comparable dans ses apports d'acides gras majeurs exprimés en grammes/j à ceux du groupe

d'intervention de l'étude de Lyon pilotée par Serge Renaud.

Le rapport 18:1/18:2n-6 des régimes oscille entre 2,8 et 3,6, le plus élevé comme on peut s'y attendre pour le régime OL-16 %, mais le plus faible pour le régime intermédiaire OL-13 % parce qu'il apporte aussi les quantités de 18:2n-6 les plus élevées.

Le rapport 18:2n-6/18:3n-3 varie dans un créneau favorable et recommandé entre 5 et 8, selon les régimes, du même ordre de grandeur que ceux de l'étude de Lyon (ratio de 4,5) [8] et de Holman (ratio de 6,1) [37].

La composition du repas test (*tableau 3*), utilisant 50 g des mélanges d'huiles consommées dans le régime chronique correspondant (pour 67 g de lipides du repas), présente une composition riche en acide oléique. Les différents repas présentent une composition très semblable : la quantité de 18:1 avoisinant 30 g, la quantité de 18:2n-6 évolue entre 10 g et 13,5 g et celle du 18:3n-3 entre 2,2 g et 2,6 g. Le rapport 18:1/18:2n-6 est préservé dans le repas par comparaison au rapport observé dans l'AET journalier, mais le rapport 18:2n-6/18:3n-3 est diminué dans les régimes OL-11 % et OL-16 %, du fait de la richesse en huile du repas qui apporte plus de 18:3n-3.

La comparaison de l'effet des régimes de 4 mois apportant 11, 13 ou 16 % de l'AET sous forme d'acide oléique sur les paramètres plasmatiques, montre une grande stabilité des paramètres athérogènes (LDL-C, Apo B, non HDL-C, CT et TG) et anti-athérogènes (HDL-C, HDL-PL et Apo AI), ainsi que de la glycémie, l'insulinémie et les AGNE : aucune différence significative n'est observée dans l'effet de ces différents régimes pour les valeurs à jeun des paramètres concernés (*tableau 4*). Des études préalables sur ce même groupe de sujets [12], et d'autres populations de sujets sains [11] avaient pourtant montré leur sensibilité à des régimes présentant des déséquilibres entre AGMI et AGPI [12] : une augmentation faible mais significative du LDL-C avec un apport en 18:1 supérieur à 20 % de l'AET (plus de 60 g de 18:1), par rapport à un régime riche en AGPI qui, lui, présentait des niveaux plus bas de HDL-C. Dans ces études précédentes, nous avons évalué à 4,5 le rapport 18:1/18:2n-6 à ne pas dépasser pour se préserver de l'augmentation du LDL-C. Dans l'étude actuelle, nous sommes en dessous de ce seuil (entre 2,8 et 3,6), et les valeurs de LDL-C ou du NON-HDL-C restent inchangées.

Dans cette étude, nous n'avons pas non plus retrouvé d'augmentations du HDL-C en liaison avec les augmentations de 18:1, cependant le régime OL-16 % présente systématiquement les valeurs les plus élevées (mais NS) des paramètres entrant dans la composition des HDL (Apo AI, LpAI:AI, HDL-C et HDL-PL). Une exploration plus fine reste à faire.

En période postprandiale (PP), après 4 mois de stabilisation du régime chronique, les variations ont été suivies pendant une période de 8 heures suivant chaque repas test. Les profils PP présentés montrent des résultats classiquement rapportés. La réponse postprandiale des triglycérides (*figure 4a*) présente un maximum (augmentation d'environ 100 à 120 %) entre 2 h et 4 h après la prise du repas lipidique, puis revient progressivement à son niveau initial 8 h après la prise du repas.

Les profils postprandiaux des triglycérides sont comparables : l'amplitude de la réponse postprandiale des triglycérides évaluée par le calcul d'aire sous la courbe ou d'incrément d'aire sous la courbe, après l'ingestion des trois repas test, ne montre aucune différence significative : iASC 424 ± 294 , 448 ± 241 , 377 ± 202 mg.h/dl respectivement pour OL-11, OL-13 et OL-16 %. On notera (*figure*

4b) la grande stabilité intra-individuelle de la réponse postprandiale des TG face aux différents régimes, par opposition à la grande variabilité inter-individuelle, pour des sujets, qui, rappelons-le sont considérés comme normolipidémiques et présentent des valeurs de triglycérides à jeun très enviables : inférieures à 100 mg/dl.

Les AGNE (*figure 5*) montrent une augmentation progressive, tout au long de la réponse PP, avec un plateau se situant entre 6 h et 8 h. Ici encore aucune différence significative n'est observée en fonction de l'apport en acide oléique.

Pour un apport de 18:1 compris entre 11 et 16 % de l'AET, associé à des apports de 18:2n-6 (9 à 13 g/j) et un rapport 18:2/18:3 du régime compris entre 5 et 8, la stabilité du profil lipidique est donc maintenue dans notre groupe de 40 sujets normolipidémiques, pendant toute la durée de cette étude.

Les limites de flexibilité des apports en acides oléique, linoléique et alphalinoléique en pourcentage d'AET du régime alimentaire pourraient être définies comme suit :

11-16 % (soit 28 g à 44 g) d'acide oléique, 4-6 % (soit 9 g à 13 g) d'acide linoléique,
1 % (soit 1,5 à 3 g) d'alphalinoléique
(pour 60 % en position *sn2*).

Soit des rapports 18:1/18:2n-6/18:3n-3 de l'ordre de 11-16/4-6/1 en % de l'AET.

CONCLUSION

Dans des conditions où l'apport lipidique total est maintenu inférieur à 35 % de l'AET et avec un apport en cholestérol alimentaire de 400 mg/jour, nous avons observé qu'une imprégnation chronique de 4 mois par des régimes contrôlés apportant 11, 13 ou 16 % d'acide oléique, dans des conditions nutritionnelles bien définies, c'est-à-dire associée à des apports d'acide linoléique maintenus à 4-5 % de l'AET et d'acide alphalinoléique à près de 1 % de l'AET (au moins 0,5 % mais majoritairement en position *sn2*), ne modulent pas différemment les paramètres lipidiques pro- et anti-athérogènes à jeun ou en postprandial chez des sujets normolipidémiques.

Ces observations permettent de conclure que la consommation d'acide oléique comprise entre 11 et 16 % d'AET (soit 28 g à 44 g) de la ration alimentaire, pourrait correspondre aux limites de flexibilité de ces apports, compte tenu des autres éléments entrant dans la composition du régime.

Remerciements

Ce travail a été rendu possible grâce au soutien du CETIOM et de l'ONIDOL.

Remerciements à Catherine Frerou, Isabelle Mestre, Marie-France Blouquit, Daniel Gripois, Céline

Richet et Cécile Petit.

REFERENCES

1. KEYS A, ANDERSON JT, GRANDE F (1965). Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. *Metabolism*, 14 : 776-87.
2. HEGSTED DM, MCGANDY RB, MYERS ML, STARE FJ (1965). Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr*, 17 : 281-95.
3. DELPLANQUE B (2000). Intérêt nutritionnel des huiles de tournesols : tournesol linoléique et tournesol à haute teneur en oléique. *OCL*, 6 : 467-72.
4. KEYS A, MENOTTI A, KARVONEN MJ, *et al.* (1986). The diet and 15 year death rate in the seven country studies. *Epidemiology*, 124 : 903-15.
5. BAUDET MF, ESTEVA O, DELPLANQUE B, WINCHENNE N, JACOTOT B (1980). Effects of three dietary fats on plasma lipids and lipoproteins in fasting and postprandial humans after a short-term diet. *Lipids*, 15 : 216-23.
6. MATTSON FH, GRUNDY SM (1985). Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J Lipid Res*, 26 : 194-202.
7. DELPLANQUE B, LOISON C, LE ROY B, *et al.* (2002). From human to hamster: benefit on plasma and hepatic lipids of high oleic sunflower oil (HOSO) and HOSO-combined vegetable oil (ISIO) compared to olive and sunflower oils consumption. *ISSFAL Montreal May 2002*, WP36 : 71.
8. DE LORGERIL M, RENAUD S, MAMELLE N, *et al.* (1994). Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet*, 343: 1454-9.
9. CARMENA R, ASCASO JF, CAMEJO G, *et al.* (1996). Effect of olive and sunflower oils on low density lipoprotein level, composition, size, oxidation and interaction with arterial proteoglycans. *Atherosclerosis*, 125 : 243-55.
10. ASCASO JF, SERRANO S, MARTINEZ J, CARMENA R (1985). Efecto del aceite de oliva de la dieta sobre las HDL. *Rev Clin Esp*, 180 : 486-8.
11. DELPLANQUE B, RICHARD JL, JACOTOT B (1991). Influence of diet on the plasma levels and distribution of apo AI-containing lipoprotein particles. *Prog Lipid Res*, 30 : 159-70.
12. DELPLANQUE B, JUSSELIN I, LE ROY B, FREROU C, RUELLAND A, FAILLER S (1996). Effect of diets high in monounsaturated oils from different sources compared to high and moderate polyunsaturated diets on normolipemic subjects. 14-17 July, Florence, 66th EAS.
13. RUDEL LL, PARKS JS, HEDRICK CC, THOMAS M, WILLIFORD K (1998). Lipoprotein and cholesterol metabolism in diet-induced coronary artery atherosclerosis in primates. Role of cholesterol and fatty acids. *Progr Lipid Res*, 37 : 353-70.
14. RUDEL LL, CARR TP (1993). Modifications by dietary polyunsaturated fat of lipoproteins and atherosclerosis in primates. In : SERNERI GGN, GENSIN GF, ABBATE R, PRISCO D, eds. *Atherosclerosis*

inflammation and thrombosis. Scientific Press, Florence, Italy, 201-11.

15. RUDEL LL, PARKS JS, SAWYER JK (1995). Compared with dietary monounsaturated and saturated fat, polyunsaturated fat protects African Green Monkeys from coronary artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb*, 15 : 2101-20.

16. ZILVERSMIT DB (1979). Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*, 60 : 473-85.

17. ALAUPOVIC P (2002). On the atherogenicity of triglyceride-rich lipoproteins and a novel marker for the assessment of their atherogenic potentials. *Dossier OCL* 9 : 220-6.

18. BAVENHOLM P, MALMBERG K, EFENDIC S, WIMAN B, DE FAIRE U, HAMSTEN A (1993). Hyperinsulinemia, hypertriglyceridaemia and impaired fibrinolytic function: concordant abnormalities associated with myocardial infarction at young age. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 3 : 28-37.

19. GENEST JR J, MCNAMARA JR, ORDOVAS JM, *et al.* (1992). Lipoprotein cholesterol, apoprotein AI and B and lipoprotein (a) abnormalities in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 19 : 792-802.

20. PHILLIPS N, WATERS D, HAVEL RJ (1993). Plasma lipoproteins and progression of coronary artery disease evaluated by angiography and clinical events. *Circulation*, 88 : 2762-70.

21. DELPLANQUE B, LE ROY B, BAISET JM, *et al.* (1996). Abnormal CIII distribution causes delayed postprandial lipid response in normolipemic subjects with premature coronary heart disease. 14-17 July, Florence, 66th EAS.

22. GROOT PHE, VAN STIPHOUT WAHJ, KRAUSS XH, *et al.* (1991). Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and with out coronary artery disease. *Arterioscler Thromb*, 11 : 653-62.

23. KARPE F, STEINER G, UFFELMAN K, OLIVECRONA T, HAMSTEN A (1994). Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 106 : 83-97.

24. AALTO-SETÄLÄ K, FISHER EA, CHEN X, *et al.* (1992). Mechanism of hypertriglyceridemia in human apolipoprotein (Apo) CIII transgenic mice. Diminished very low density lipoprotein fractional catabolic rate associated with increased Apo CIII and reduced Apo E on the particles. *J Clin Invest*, 90 : 1889-900.

25. DASHTI N, WOLFBAUER G (1987). Secretion of lipids, apoproteins and lipoproteins by human hepatoma cell line Hep G2: effects of oleic acid and insulin. *J Lipid Res*, 28 : 423-36.

26. BYRNE CD, BRINDLE NP, WANG TW, HALES CN (1991). Interaction of non-esterified fatty acid and insulin in control of triacylglycerol secretion by Hep G2 cells. *Biochem J*, 280 : 99-104.

27. EDELSTEIN C, DAVIDSON NO, SCANU AM (1994). Oleate stimulates the formation of triglyceride-rich particles containing Apo B100-Apo(a) in long-term primary cultures of human hepatocytes. *Chem Phys Lipids*, 67/68 : 135-43.

28. KOHOUT M, KOUHOUTOVA B, HEIMBERG M (1971). The regulation of hepatic triglyceride

metabolism by free fatty acids. *Biol Chem*, 246 : 5067-74.

29. SALAM WH, WILCOX HG, HEIMBERG M (1988). Effects of oleic acid on the biosynthesis of lipoprotein apoproteins and distribution into the very low density lipoprotein by the isolated perfused rat liver. *Biochem J*, 251 : 809-16.

30. LEGRAND P, HERMIER D (1992). Hepatic delta 9 desaturation and plasma VLDL level in genetically lean and fat chickens. *Int J Obesity*, 16 : 289-94.

31. LEGRAND P, LEMARCHAL P (1992). Stearyl-CoA desaturase activity and triglyceride secretion in isolated and cultured hepatocytes from genetically lean and fat chickens. *Comp Biochem Physiol*, 102B : 371-5.

32. TWISK J, GILLIA-DANIEL DL, TEBON A, WANG L, BARRETT PH, ATTIE AD (2000). The role of the LDL receptor in apolipoprotein B secretion. *J Clin Invest*, 105 : 521-32.

33. GRUNDY SM (1985). What is the desirable ratio of saturated, polyunsaturated, and monounsaturated fatty acids in the diet? *Am J Clin Nutr*, 66 (Suppl. 4) : 988S-90.

34. TRUSWELL AS, CHOUDHURY N (1998). Monoun-saturated oils do not all have the same effect on plasma cholesterol. *Eur J Clin Nutr*, 52 : 312-5.

35. BARBARA JEWETT (2002). MUFA versus PUFA: scientist disagree on nutritional importance of these fatty acids. *Inform*, 13 : 376-8.

36. HOLMAN RT, JOHNSON SB, HATCH TF (1982). Case of human alpha-linolenic deficiency involving neurological abnormalities. *Am J Clin Nutr*, 35 : 617-23.

37. LASSERRE M, MENDY F, SPIELMANN D, JACOTOT B (1985). Effects of different dietary intake of essential fatty acids on C20:3 omega 6 and C20:4 omega 6 serum levels in human adults. *Lipids*, 20 : 227-33.

38. BABIN F, SARDA P, RIEU D, DESCOMBS B, MENDY F, CRASTES DE PAULET A (1993). Incidence of alphanolenate dietary supplementation on plasma alpha tocopherol in premature newborns fatty acid and lipids from cell biology to human disease: ISSFAL. *Lugano*, 63.

Illustrations

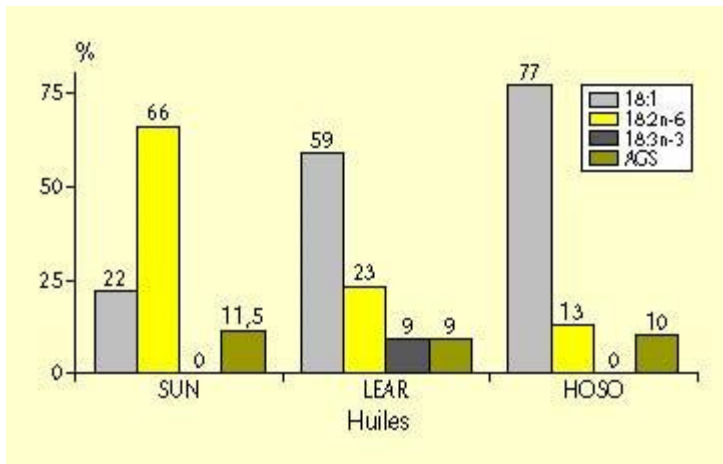


Figure 1. Composition en acides gras des huiles végétales de base : tournesol (Sun), colza (Lear) et tournesol oléique (Hoso).

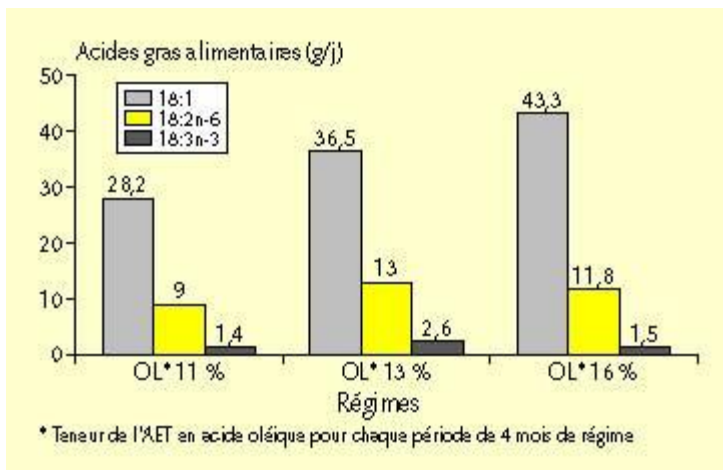


Figure 2. Composition en acides gras insaturés majeurs des différents régimes chroniques (4 mois).

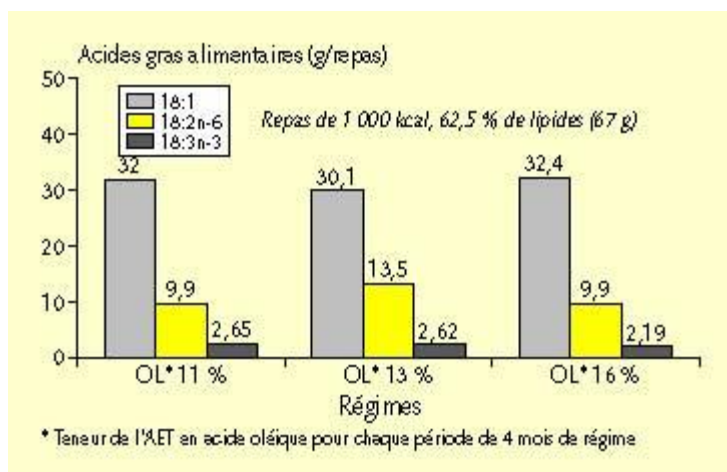


Figure 3. Composition en acides gras insaturés majeurs des repas tests absorbés en fin de régime chronique (67 g de lipides).

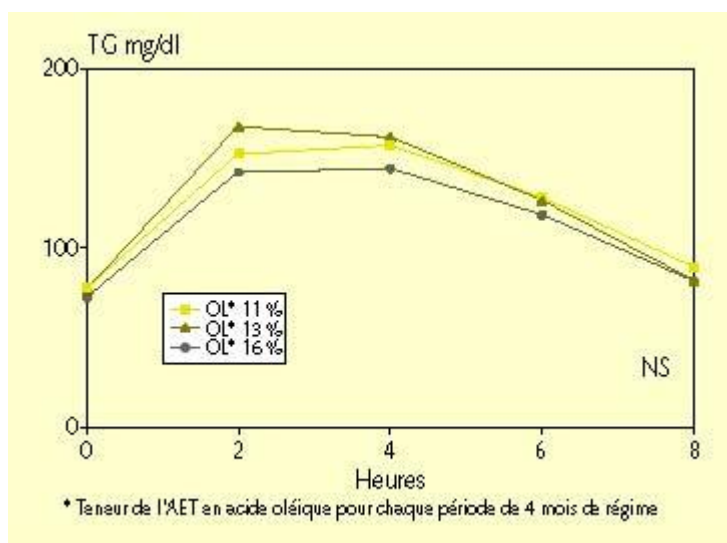


Figure 4a. Réponse de la triglycéridémie postprandiale à différents niveaux d'apport en acide oléique après stabilisation du rapport 18:2n-6/18:3n-3 du régime chronique chez l'homme normolipidémique.

NS : aucune différence significative entre les 3 régimes.

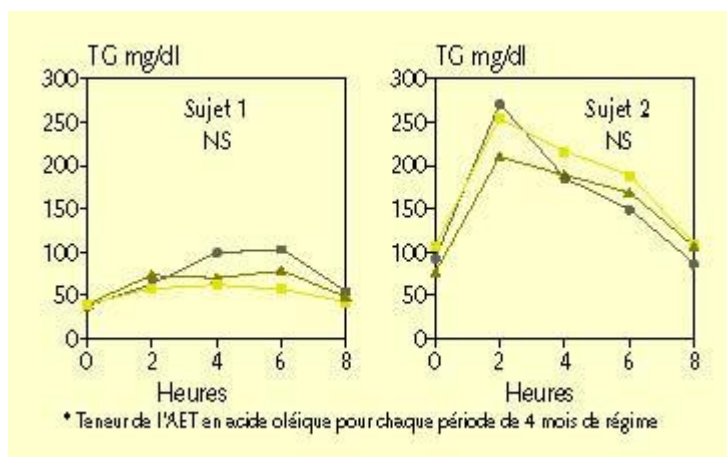


Figure 4b. Variations interindividuelles et stabilité intra-individuelle de la triglycéridémie postprandiale en réponse à des apports chroniques d'acide oléique : 11, 13 et 16 % de l'AET.

NS : aucune différence significative entre les 3 régimes.

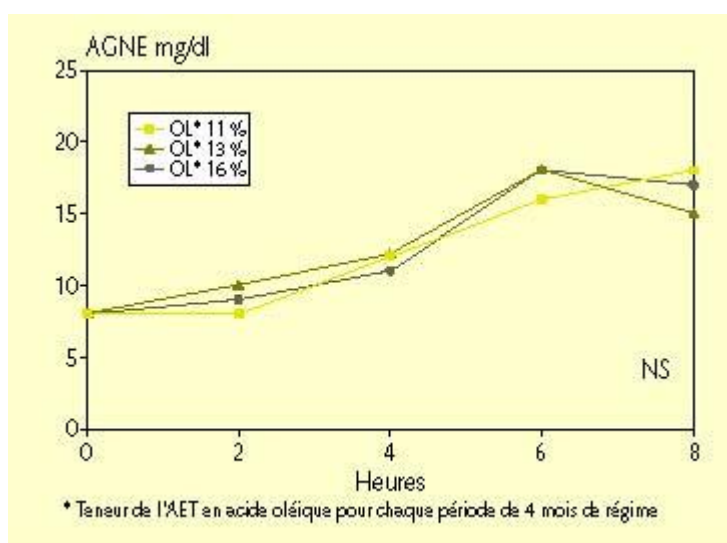


Figure 5. Variations postprandiales des acides gras non estérifiés (AGNE) à différents niveaux d'apport en acide oléique après stabilisation du rapport 18:2n-6/18:3n-3 du régime chronique chez l'homme normolipidémique.

NS : aucune différence significative entre les 3 régimes.

Tableau 1a. Composition en acides gras des huiles de mélange.

Acides gras (%)	Mélange I	Mélange II	Mélange III
18:1	68	58	72
18:2n-6	17	25,5	15
18:3n-3	4	4	2

Tableau 1b. Consommation journalière des huiles de mélange : apports nécessaires à l'obtention de régimes à teneur en acide oléique voulue.

	Mélange I	Mélange II	Mélange III
Consommation journalière d'huile	15 g	30 g	35 g
Apport en acides gras (g)			
18:1	10	17,5	25,2
18:2n-6	2,5	7,6	5,3
18:3n-3	0,6	1,2	0,7
Teneur escomptée en acide oléique des régimes correspondants			
% de l'AET en acide oléique (% OL)	OL-11 %	OL-13 %	OL-16 %

Tableau 2. Composition des régimes chroniques (4 mois).

Régimes*	OL-11 %	OL-13 %	OL-16 %
Cholestérol (mg/j)	400	400	400
Apport calorique total (Kcal)	2 262	2 573	2 442
Hydrates de carbone (% AET)	52	53	49
Protéines (% AET)	18	14	17
Lipides g/j (% AET)	74 g (30 %)	96 g (34 %)	94 g (35 %)
AGS	29 g (11,5 %)	27 g (9,6 %)	31 g (11,3 %)
18:1	28,2 g (11 %)	36,5 g (13 %)	43,3 g (16 %)
18:2n-6	9 g (3,6 %)	13 g (4,5 %)	11,8 g (4,4 %)
18:3n-3	1,4 g (0,55 %)	2,6 g (0,91 %)	1,5 g (0,55 %)
18:1/18:2	3,1	2,8	3,6
18:2n-6/18:3n-3	6,4	5,0	7,9
M/P : 18:1/(18:2 + 18:3)	2,71	2,33	3,26
(M + P)/S	1,01	1,09	1,49
P/S	0,36	0,58	0,42

* Teneur de l'AET en acide oléique pour chaque période de 4 mois de régime.

M/P : mono-insaturés/ poly-insaturés.

(M + P)/S : (mono-insaturés + poly-insaturés) saturés.

P/S : poly-insaturés/saturés.

Tableau 3. Composition des repas tests.

Régimes*	OL-11 %	OL-13 %	OL-16 %
Cholestérol (mg/j)	300	300	300
Apport calorique total (kcal)	970	970	970
Hydrates de carbone (% AET)	29	29	29
Protéines (% AET)	8,5	8,5	8,5
Lipides g (% AET)	67 g (62,5 %)	67 g (62,5 %)	67 g (62,5 %)
AGS	22,5 g (21 %)	20,8 g (19,4 %)	22,5 g (21,5 %)
18:1	32 g (29,8 %)	30,1 g (28 %)	32,4 g (30 %)
18:2n-6	9,9 g (9,2 %)	13,5 g (12,6 %)	9,9 g (9,2 %)
18:3n-3	2,65 g (2,5 %)	2,62 g (2,44 %)	2,19 g (2 %)
18:1/18:2	3,24	2,22	3,26
18:2n-6/18:3n-3	3,7	5,16	4,6
M/P: 18:1/(18:2 + 18:3)	2,55	1,86	2,67
M + P/S	1,98	2,22	2,07
P/S	0,56	0,77	0,54

* Teneur de l'AET en acide oléique pour chaque période de 4 mois de régime.

M/P : mono-insaturés/ poly-insaturés.

(M + P)/S : (mono-insaturés + poly-insaturés) saturés.

P/S : poly-insaturés/saturés.

Tableau 4. Comparaison de l'effet des régimes à 11, 13 et 16 % d'acide oléique sur les paramètres plasmatiques à jeun des sujets (n = 40).

Régimes*	OL-11 %	OL-13 %	OL-16 %	
Paramètres athérogènes				
Cholestérol (mg/dl)	184 ± 35	182 ± 33	187 ± 37	NS
Triglycérides (mg/dl)	77 ± 29	76 ± 37	72 ± 25	NS
Non HDL-C (mg/dl)	136 ± 31	135 ± 31	136 ± 32	NS
LDL-C (mg/dl)	120 ± 28	120 ± 27	122 ± 30	NS
Apo B (mg/dl)	85 ± 20	85 ± 19	86 ± 21	NS
Non HDL-C/HDL-C	3,01 ± 1,07	3,07 ± 1,16	2,83 ± 0,97	NS
LDL-C/HDL-C	2,65 ± 0,91	2,72 ± 1,00	2,52 ± 0,85	NS
Apo B/Apo A1	0,61 ± 0,16	0,61 ± 0,15	0,58 ± 0,14	NS
Paramètres anti-athérogènes				
HDL-C (mg/dl)	48 ± 12	47 ± 11	51 ± 12	NS
HDL-PL (mg/dl)	88 ± 18	86 ± 16	91 ± 19	NS
Apo A1 (mg/dl)	143 ± 26	144 ± 24	151 ± 24	NS
Lp-A1 (mg/dl)	53 ± 16	54 ± 11	55 ± 16	NS
Lp-A1:A11 (mg/dl)	89 ± 15	89 ± 17	93 ± 15	NS
Apo A11 (mg/dl)	27 ± 4	25 ± 5	27 ± 5	0,05†
HDL-C/LDL-C	0,42 ± 0,14	0,41 ± 0,13	0,43 ± 0,12	NS
Apo A1/Apo B	1,75 ± 0,42	1,74 ± 0,37	1,82 ± 0,40	NS
Autres paramètres plasmatiques				
Glycémie (mg/dl)	88 ± 9	90 ± 9	89 ± 10	NS
Insulinémie (μU/l)**	5,2 ± 2,1	5,5 ± 2,0	5,4 ± 2,0	NS
AGNE (mg/dl)	8 ± 5	8 ± 3	8 ± 5	NS

NS : aucune différence significative entre les 3 régimes.

* Teneur de l'AET en acide oléique pour chaque période de 4 mois de régime.

** Kit Pharmacia.