

DISCUSSION

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 9, Numéro 4, 249-52, Juillet - Août 2002, Dossier : Equilibre entre acides gras insaturés : contributions à l'étude de la prévention des maladies cardio-vasculaires

ARTICLE

Les caractéristiques des quatre articles précédents, tous éléments d'une même étude et l'importance des sujets concernés les maladies cardio-vasculaires (MCV) demeurent en France un des premiers sujets de préoccupation de santé publique nous ont incité à les faire suivre des commentaires et des réflexions qu'ils sont amenés à susciter.

Une table ronde, associant Petar Alaupovic, Pierre Fossati¹ (Directeur scientifique de l'étude Fleurbaix Laventie Ville Santé²), Nicole Combe, Bernadette Delplanque et François Mendy, a été ainsi organisée autour de ces sujets et est ici retranscrite. Traitant successivement du rôle de l'apolipoprotéine CIII comme nouveau marqueur d'anomalies métaboliques liées au risque de MCV (1^{re} partie) et des apports en acides gras du point de vue de leur intérêt en prévention (2^e partie), ces débats ouvrent sur les questions aussi essentielles pour l'avenir que celle du rôle qu'il conviendrait de faire jouer au rapport cholestérol HDL/cholestérol non HDL dans le cadre des mesures à associer aux recommandations, que sur le problème que pose la compréhension des mécanismes de régulation et de variation individuelle. Enfin et ce n'est pas le moindre de son intérêt, cette discussion souligne combien il est parfois nécessaire en particulier sur ces questions d'équilibre, de « rééquilibrer » les prises de position nutritionnelles elles-mêmes, soit en les replaçant dans leur contexte (voir le débat sur la consommation d'acide linoléique en France), soit en rappelant les concepts auxquels il convient de les associer (comme le problème de la bio-disponibilité de l'alpha-linoléique).

Les commentaires ci-dessous de Peter Alaupovic et de Bernard Jacotot sur les articles de l'étude, introduisent en quelque sorte cette discussion.

Commentaires

Bernard Jacotot

Faculté de médecine de Créteil

Les relations entre graisses alimentaires et maladies cardiovasculaires ischémiques (liées à l'athérosclérose) ont fait l'objet, depuis le milieu du siècle dernier, de nombreux débats. Qu'il s'agisse de l'aspect quantitatif (part des lipides dans l'énergie totale des aliments) ou de l'aspect qualitatif (proportion des acides gras saturés, mono-insaturés, polyinsaturés de la famille n-6 ou n-3), on est

loin, encore maintenant, d'un consensus pour définir les responsabilités des graisses alimentaires dans la survenue de ces maladies, et donc pour faire des recommandations pour l'alimentation. Les seules études qui permettraient de résoudre les questions ainsi posées, et donc de faire des recommandations raisonnables en termes de santé publique, seraient les études prospectives de prévention. Des études de ce type, effectuées avec des médicaments hypolipémiants, ou antihypertenseurs, ou antiagrégants plaquettaires ont donné les résultats remarquables que l'on sait. Ces études qui comparent simplement un médicament et un placebo sont déjà très complexes. Mais les études de prévention utilisant des modifications diététiques sont pratiquement impossibles à réaliser en prévention primaire, étant donné la difficulté de contrôler l'ensemble des paramètres alimentaires et la nécessité d'un nombre très élevé de sujets suivis pendant de longues périodes. Même en prévention secondaire ou chez des patients à risque cardiovasculaire élevé (diabétiques en particulier), la réalisation d'études de prévention diététique de méthodologie irréprochable est très difficile. Les rares études réalisées à ce titre sont d'interprétation délicate notamment pour ce qui est du rôle des différents lipides alimentaires, et les explications mécanistiques que leurs auteurs en tirent sont largement contestées, même si le bénéfice observé chez les patients sont indiscutables.

Dans ces conditions, force est de se replier sur des études expérimentales, et d'évaluer chaque paramètre alimentaire (dans la mesure où cela est possible), sur des marqueurs de la maladie, en particulier les marqueurs biologiques. D'énormes progrès ont été faits depuis trois à quatre décennies sur l'identification de marqueurs de l'athérosclérose : lipides sanguins, lipoprotéines, apolipoprotéines ont ainsi été largement explorés.

Le dossier qu'*OCL* propose dans ce numéro se compose de deux parties :

- * Une analyse de nouveaux marqueurs d'athérosclérose que constituent les particules lipoprotéiques et plus particulièrement la famille des lipoprotéines contenant l'apoC-III.
- * Une approche renouvelée des relations entre les acides gras de l'alimentation et le risque de maladies cardiovasculaires ischémiques.

Les particules de lipoprotéines, marqueurs de l'athérosclérose

On sait, depuis les travaux de Petar Alaupovic, complétés par ceux de l'équipe de Jean-Charles Fruchart, que les lipoprotéines se distinguent, selon leur contenu en apolipoprotéines (apos), en particules athérogènes (celles qui contiennent l'apoB), et en particules protectrices (contenant l'apoA1). Les particules de lipoprotéines contenant uniquement l'apoB, les LpB (qu'on peut assimiler aux classiques LDL), dont l'augmentation dans le plasma est responsable des hypercholestérolémies, sont bien sûr reconnues depuis longtemps comme les principaux marqueurs de cardiopathies ischémiques. La confirmation de leur rôle causal dans l'athérosclérose a d'ailleurs été apportée par les résultats des nombreuses études de prévention utilisant des statines (médicaments qui réduisent fortement le taux sanguin de LDL en facilitant leur élimination via les récepteurs hépatiques de LDL). Mais les LpB (ou LDL) n'expliquent pas tout. On sait maintenant que certaines hypertriglycéridémies ont une responsabilité dans la survenue des maladies par athérosclérose, au moins aussi importante que celle des hypercholestérolémies. C'est tout le mérite des travaux de P. Alaupovic (confirmés par

plusieurs autres équipes), d'avoir montré le rôle athérogène de certaines de classes de lipoprotéines riches en triglycérides et surtout les particules lipoprotéiques contenant l'apoC-III. L'augmentation de ces particules est responsable d'hypertriglycéridémies en général modérées. Leur rôle dans les maladies par athérosclérose a été longtemps sous-estimé (pour des raisons qui sont bien expliquées dans l'article de P. Alaupovic), mais est maintenant établi.

Les lipoprotéines riches en triglycérides sont très hétérogènes. Parmi elles, les particules contenant l'apoB et l'apoC-III (LpB:C-III), constituent des marqueurs très puissants d'athérogenèse. Chez les sujets avec hypertriglycéridémie, l'augmentation plasmatique des LpB:C-III témoigne d'un défaut de dégradation des lipoprotéines riches en triglycérides (chylomicrons, VLDL).

Le dosage des particules LpB:C-III est complexe et ne peut être pratiqué en routine. Cependant, le défaut de lipolyse peut également être évalué simplement par le rapport C-III des VLDL + LDL/C-III des HDL. B. Delplanque a bien montré, dans de nombreuses situations expérimentales, et notamment en post-prandial, l'intérêt de cette mesure pour évaluer le rôle des défauts de lipolyse des lipoprotéines riches en triglycérides dans la pathogénie de l'athérosclérose.

Acides gras de l'alimentation et maladies par athérosclérose :

La composition en acides gras de l'alimentation a-t-elle une influence sur le risque de cardiopathie ischémique ? C'est là un débat ancien qui n'est pas encore résolu.

Envisageons simplement l'apport en acide oléique. Depuis les travaux d'Ansel Keys et l'étude Seven Countries, et les très nombreuses études expérimentales faites ensuite chez l'homme, l'augmentation de l'apport alimentaire en cet acide gras est considéré comme favorable pour la prévention des maladies par athérosclérose. Mais jusqu'à quelle limite ? Un travail récent, relatant les résultats d'une étude faite chez des primates non humains, montre qu'un apport très élevé d'acide oléique (24 % de l'énergie totale des aliments), favorise le développement de l'athérosclérose...

Ce point important est abordé dans l'article de B. Delplanque *et al.* Lorsqu'on fait varier l'apport en acide oléique de 11 à 16 % de l'énergie totale des aliments (avec un apport en lipides totaux entre 30 et 35 %, un apport en acide linoléique entre 3,6 et 4,5 %, et un apport en acide alphalinoléique entre 0,55 et 0,91 %), il n'y a pas de modification des marqueurs lipidiques d'athérogénicité (y compris en post-prandial).

Sachant que les acides gras mono-insaturés sont nettement moins sensibles à la peroxydation lipidique que les acides gras polyinsaturés, on comprend qu'ils doivent constituer une part prédominante des acides gras alimentaires, comme cela apparaît dans les recommandations officielles.

Pour les auteurs de l'étude de prévention secondaire « Lyon Heart Diet Study », la réduction importante des récives d'infarctus et de la mortalité observée dans le groupe intervention est attribuable à un apport relativement élevé en acide alphalinoléique (0,8 % de l'énergie totale), et un

rapport acide linoléique/acide alphalinoléique assez faible (4,4). Deux autres études de prévention vont dans le même sens, l'étude DART et l'étude GISSI, dans lesquelles les modifications diététiques comportaient un accroissement des acides gras en n-3 (en fait des dérivés supérieurs EPA et DHA).

Il faut cependant tenir compte aussi dans l'interprétation de ces études, des apports en micronutriments, notamment en antioxydants (présents dans les légumes, fruits, fruits oléagineux, huile d'olive, vin), apports qui sont très différents lorsqu'on compare des régimes de type méditerranéen et des régimes de type « Western Diet » ou même « Prudent Diet ». Le rôle de ces micronutriments dans la prévention de l'athérosclérose est probablement aussi important, sinon plus que celui des acides gras.

Dans le même esprit, l'utilisation d'un marqueur de consommation chez l'homme de l'acide alphalinoléique, par dosage de cet acide gras dans les esters de cholestérol plasmatique (article de Nicole Combe *et al.*), constitue une voie intéressante pour les futures études épidémiologiques.

En conclusion, sans vouloir résoudre l'ensemble des problèmes de la relation acides gras alimentaires et cardiopathies ischémiques par athérosclérose, ce dossier ouvre des perspectives nouvelles et permet d'envisager des études ultérieures évaluant l'impact des acides gras du régime sur les marqueurs nouveaux d'athérogénicité, tels que les particules contenant l'apoC-III.

Petar Alaupovic

Abnormal apo-CIII distribution and reduced cholesterol efflux capacity of plasma, in normolipidemic subjects with premature coronary heart disease

The purpose of this study was to determine the distribution of apolipoprotein (apo) C-III between high-density lipoproteins (HDL) and TG-rich lipoproteins, and the capacity of plasma to stimulate cholesterol efflux in normolipidemic subjects with and without coronary artery disease (CAD). This study has been based conceptually on the growing evidence that some intact or partially delipidized TG-rich lipoproteins are an independent risk factor for atherosclerosis and that apoC-III is not only a characteristic marker of these lipoproteins but also a regulator of their metabolism. It has been shown, for example, that bimodal distribution of apoC-III between HDL (apoA-containing lipoproteins) and TG-rich lipoproteins (apoB-containing lipoproteins) reflects processes responsible for the degradation of the latter lipoproteins. Under normal catabolic conditions, the greatest proportion of plasma apoC-III is bound to HDL. However, any impairments in catabolic processes will delay the clearance of TG-rich lipoproteins and result in their enrichment with apoC-III; the lower the ratio of apoC-III between the TG-rich lipoproteins and HDL the greater the degradation of TG-rich lipoproteins and *vice versa*.

In a previous work, the postprandial response to a test meal (60% fat) was 30% greater and the duration of response was increased by 30% in CAD subjects compared to controls. The clearance delay was positively correlated with apoC-III content of TG-rich lipoproteins.

Results of this study have shown that in the fasting state there was no difference between subjects with or without CAD regarding the plasma lipid profile and apoA-I, apoB and apoC-III levels. However, in subjects with CAD, the apoC-III content of TG-rich lipoproteins was twice as high as in controls ($p < 0.001$). Moreover, the CAD subjects had higher levels of non-HDL-cholesterol ($p < 0,05$).

Subjects with CAD had also a significantly reduced capacity to stimulate cholesterol efflux ($p < 0.001$) than controls. The efflux capacity was correlated positively with lipoprotein A-I (Lp-A-I) and HDL-cholesterol ($p < 0.001$), and negatively with apoC-III content of TG-rich lipoproteins ($p < 0.001$).

Taken together, these results have suggested that fasting apoC-III distribution between HDL and TG-rich lipoproteins may reflect the extent of postprandial clearance of TG and that it could be related to the efflux of cellular cholesterol.

Comments. Results of this study show that the distribution of apoC-III between apoA-containing (HDL) and apoB-containing (VLDL+LDL) lipoproteins in the fasting state may reflect and predict the extent of postprandial clearance of TG or TG-rich lipoproteins and affect the plasma capacity to stimulate the reflux of peripheral cholesterol. This has been evidenced clearly by a comparison between normotriglyceridemic subjects with and without documented CAD. Although there was no difference between these two normotriglyceridemic groups in the levels of apoC-III in whole plasma or in apoA-containing lipoproteins, the CAD subjects had 2-fold higher level of apoC-III bound to apoB-containing lipoproteins than subjects with no CAD. In addition, CAD subjects had a reduced plasma capacity to efflux peripheral cholesterol. Thus, these findings provide additional evidence for the atherogenic capacity of TG-rich lipoproteins and reinforce the clinical usefulness of measuring apoC-III ratio or apoC-III bound to apo-B-containing lipoproteins as a potential marker of CAD in subjects with normal plasma lipid profile.

Since these findings have been based on a relative small number of normolipidemic CAD patients, it is essential that these encouraging results be confirmed in larger patient populations. Another area of future studies seems to be the exploration of relationship TG-rich lipoproteins and processes responsible for the efflux of peripheral cholesterol. In this respect it would be very useful to study various dietary and pharmacologic interventions that may affect the abnormal apoC-III distribution and, indirectly, the cholesterol efflux capacity.

Postprandial triglyceride response, insulinemia, leptinemia and apoC-III distribution in normolipidemic human subjects

Fasting hypertriglyceridemia and delayed postprandial clearance of TG-rich lipoproteins, even in the presence of normal fasting TG levels, are recognized as independent risk factors for atherosclerosis. Together with increased levels of insulin, leptin, glucose and apoB, decreased levels of HDL-cholesterol, hypertension and abdominal obesity, they are considered as components of the "metabolic syndrome" frequently associated with increased risk of coronary artery disease. It has also been established that apoC-III as a characteristic protein component of TG-rich lipoproteins plays an important role in their intra-vascular metabolism. The bimodal distribution of apoC-III between HDL (apoA-containing lipoproteins) and VLDL+LDL (apoB-containing lipoproteins) has been used as a valuable means for assessing the processes responsible for the degradation of TG-rich lipoproteins; an increased apoC-III ratio between apoB-containing and apoA-containing lipoproteins indicates that an increased part of plasma apoC-III is bound to both TG-rich and cholesterol-rich apoB-containing lipoproteins, a clearly proatherogenic phenomenon; in contrast, a decreased apoC-III ratio indicates a normal degradation of TG-rich lipoproteins.

The purpose of this study was to establish in normolipidemic, non-obese male subjects the relationship between plasma TG, apoC-III, insulin and leptin and postprandial response to a 1,000

kcal, 62% fat test meal. Results of this study have shown that, in the fasting phase, there is a strong positive correlation between leptin and body mass index ($r=0.71$, $p<0.001$) despite rather low values of body mass index and low levels of plasma leptin. It has been confirmed that in the fasting state, leptin correlated significantly with levels of insulin ($r=0.60$, $p<0.001$) and TG ($r=0.43$, $p<0.02$), and it has been demonstrated for the first time that leptin also correlated significantly with the apoC-III contents of TG-rich lipoproteins ($r=0.45$, $p<0.01$). There was also a positive and significant correlation between insulin and BMI ($r=0.59$, $p<0.001$), apoC-III content of TG-rich lipoproteins ($r=0.40$, $p<0.05$) and TG ($r=0.34$, $p<0.05$). In postprandial state, both the plasma TG and apoC-III content of TG-rich lipoproteins increased concomitantly at 2 and 4 hour intervals and returned to the preprandial values between 6 and 8 hours; both variables measured 6 to 8 hours after the test meal correlated significantly with preprandial levels of leptin and insulin. The delayed, potentially pro-atherogenic, postprandial response expressed by persistently higher levels of TG and apoC-III content of TG-rich lipoproteins 6 to 8 hours after a test meal correlated positively with higher fasting levels of insulin and leptin and higher fasting values of apoC-III-ratio. The multiple regression analysis showed that the level of fasting apoC-III content of TG-rich lipoproteins is the best correlate of the delayed clearance of post-prandial TG.

Comments: Results of this study in normolipidemic, non-obese men, show strong correlations between plasma TG, leptin, insulin, apoC-III content of TG-rich lipoproteins and apoC-III-ratio, increased levels of which are characteristic components of the "metabolic syndrome". Of special interest is the correlation between leptin levels and fasting concentrations of apoC-III content of TG-rich lipoproteins in view of the finding that the levels of this latter variable may be considered as a marker, if not predictor, of the degree of clearance and utilization of postprandial TG. The significance of fasting apoC-III content of TG-rich lipoproteins goes beyond its effect on the clearance of postprandial TG, because it has been shown previously that increased levels of apoC-III-enriched TG-rich lipoproteins are significantly associated with coronary artery disease even in normotriglyceridemic subjects (see the paper 1 of this series) and with recurrent coronary events in patients with previous myocardial infarction (Sacks *et al.*, *Circulation* 2000; 102: 1886-1892).

It would be of great interest to extend findings of this study to the exploration of interactions between insulin, leptin, apoB, apoC-III and TG in the "metabolic syndrome" and other dyslipoproteinemic states, which are characterized by abnormalities in the metabolism of TG-rich lipoproteins.

Oleic, linoleic and linolenic acids from vegetable oils: what are the limits for beneficial effects of these fatty acids on lipemia and atherothrombosis in humans?

The purpose of this study was to validate the optimal dietary level of oleic acid after stabilization of the linoleic/alpha linolenic acid ratio in a diet (2,400 kcal) consumed by normolipidemic men. The rationale for this study was the uncertainty as to what percentage composition of oleic acid in the total caloric intake has the optimal effect on plasma lipid profile and the possible atherothrombotic events. The published reports have indicated that 10 to 13% of oleic acid in the total caloric intake may have a cardioprotective effect, whereas an increase to more than 20% of oleic acid could limit this beneficial effect by increasing the levels of LDL-cholesterol.

To test the optimal percentage concentration of oleic acid, 40 healthy, normolipidemic and non-obese men were maintained for 4 months on each of three diets differing in percentages of oleic acid

(11, 13 and 16% of the total caloric intake), but constant percentages of linoleic acid (5%) and alpha-linolenic acid (1%). After the 4 month period, the postprandial clearance of a fatty meal (1,000 kcal, 60% fat) was tested at the end of each dietary period. The results showed no difference between these three dietary regimens in the levels of plasma lipids, apolipoproteins A-I, A-II and B, glucose, insulin and non-esterified fatty acids, suggesting that the use of 11-16% of oleic acid of total caloric intake is within an optimal and safe range of this fatty acid. There was no difference between three different dietary regimens in the postprandial patterns of lipids and apolipoproteins after a standardized fatty meal.

Comments: Results of this study have established an optimal proportion of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids beneficial in maintaining normal lipid levels of atherogenic apoB-containing lipoproteins and non-atherogenic apoA-containing lipoproteins. Specifically, it is recommended that, within a range of total caloric intake of 2,000-2,500 kcal, oleic acid intake be limited to 11 to 16%, linoleic acid to 4 to 6%, and that of alpha-linolenic acid to 1% of the total caloric intake.

Alpha-linolenic acid composition of plasma cholesterol esters: a marker of alpha-linolenic acid intake in humans

Epidemiologic studies have shown that subjects whose alpha-linolenic acid content of plasma cholesterol esters is low (0.3% of total fatty acids) are at greater risk of coronary artery disease and stroke than subjects whose alpha-linolenic acid content of cholesterol esters is within the normal range (0.4-0.9%). Thus, the concentration of alpha-linolenic acid in plasma cholesterol esters may be a potentially reliable marker for assessing the risk of coronary artery disease and stroke. It has also been shown previously that the ratio of monounsaturated to polyunsaturated fatty acids plays a significant role regarding the effect of dietary fatty acids on coronary artery disease. In another study, present authors have established that a proportion of 11-16% of oleic acid, 4-6% of linoleic acid and 1% of alpha-linolenic acid of total caloric intake represents an optimal cardioprotective ratio of monounsaturated to polyunsaturated fatty acids.

The purpose of the present study was to determine the effect of three different diets characterized by 11, 13 and 16% of oleic acid of total caloric intake and a stable linoleic/alpha-linolenic ratio of 5 to 7.9% on the fatty acid composition of plasma cholesterol esters. A group of 30 normolipidemic non-obese and non-diabetic men consumed each of these three diets for 4 months separated by wash out intervals. After each dietary period, plasma cholesterol esters were separated by thin-layer chromatography and the fatty acid composition was determined by gas chromatography. Results of these analyses have shown that the alpha-linolenic contents in cholesterol esters on each of these three diets are similar, accounting for 0.7, 0.68 and 0.63% of total fatty acids, respectively.

Comments: Results of this and a previous study (paper 3 of this series) have provided a valuable insight into the complex and, sometimes, controversial issue regarding the percentage ratio of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids of the total caloric intake considered to have the optimal cardioprotective effect on human subjects. One of the major contributions of these studies has been the finding that 11-16% of oleic acid and 5-8% of linoleic and 1% of all alpha-linolenic acids represent the optimal proportions of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in maintaining a non-atherogenic plasma lipid and lipoprotein profile. Another potential valuable finding of the present study relates to the fatty acid composition of

plasma cholesterol esters, specifically to the alpha-linolenic acid-containing cholesterol esters, the concentration of which may be utilized not only as a marker of the consumption of this important dietary fatty acid but also as a means of assessing the risk of coronary artery disease and stroke. It remains to be determined to what extent these findings in normolipidemic, asymptomatic subjects equally apply to subjects with various dyslipoproteinemias.

P. Alaupovic

1 Voir pour une bibliographie sommaire « Bases nutritionnelles de l'alimentation lipidique normale en 2000 » et « Facteurs nutritionnels et diététiques des dyslipoprotéïnémies et de l'athérombose » sur le site de l'ArcoI (www.arcoI.asso.fr).

2 Voir pour la présentation des phases I et II de cette étude OCL (1999) 6,2 : 130-2.