

CATHERINE GOULET

**EFFET DE L'ACTIVITÉ PHYSIQUE EN
ENDURANCE SUR LES MARQUEURS DE
L'HOMÉOSTASIE DU CHOLESTÉROL CHEZ
L'HUMAIN**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en nutrition
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

DÉPARTEMENT DES SCIENCES DES ALIMENTS ET DE NUTRITION
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

2011

Résumé

Les impacts bénéfiques de l'exercice physique en endurance sur la santé cardiovasculaire semblent indépendants des changements des concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol, qui est pourtant la première cible dans la prévention des maladies cardiovasculaires. L'absence de changement dans les concentrations de LDL-cholestérol ne signifie pas nécessairement qu'il n'y a aucun changement favorable dans l'homéostasie du LDL. Ce mémoire présente les résultats d'une étude dont l'objectif est d'étudier l'impact de l'exercice physique en endurance sur les marqueurs de synthèse endogène et d'absorption intestinale du cholestérol. Les résultats de cette étude démontrent que 20 semaines d'entraînement en endurance diminuent les niveaux plasmatiques du marqueur de synthèse de cholestérol et augmentent réciproquement les niveaux plasmatiques des marqueurs d'absorption de cholestérol chez des hommes et des femmes en santé et sédentaires. Ces changements dans l'homéostasie du cholestérol semblent bénéfiques d'un point de vue cardiovasculaire malgré l'invariabilité des concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol.

Avant-Propos

Ce mémoire est présenté à la Faculté des Études Supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.). Il comprend une introduction générale et une revue de littérature, suivi d'un article scientifique qui présente l'ensemble du projet, et finalement une conclusion générale. Mes tâches dans le projet de maîtrise auquel ce mémoire est rattaché ont été effectuées à l'Institut des Nutraceutiques et Aliments Fonctionnels (INAF) de l'Université Laval. Cela consistait à faire les analyses de laboratoire des échantillons plasmatiques provenant de l'étude HERITAGE (Health, risk factors, exercise training and genetics) sur une période de 6 mois, analyser les résultats à l'aide d'un logiciel statistique et finalement effectuer un transfert de connaissances au moyen d'un congrès, d'un article scientifique, d'un séminaire et de ce mémoire.

Toutes ces démarches ont été possibles grâce à la collaboration et au soutien de plusieurs personnes. Premièrement, il convient de remercier l'équipe HERITAGE qui a accepté de partager ses échantillons ainsi que leur base de données rattachée. Deuxièmement, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Benoît Lamarche, professeur titulaire au Département des sciences des aliments et de nutrition de l'Université Laval. Merci pour sa confiance en ses étudiants et pour m'avoir accueilli dans son équipe de recherche dynamique. Benoît est un passionné de la recherche et il sait bien le transmettre à toute son équipe. Je tiens aussi à remercier le Dr Patrick Couture pour son appui en tant que co-directeur de recherche. Mme Johanne Marin, professionnelle de recherche au laboratoire, mérite également mes remerciements pour son aide, sa patience et ses réponses à mes milliers de questions au début de mes analyses de laboratoire. De même que Pascal Dubé qui a effectué la partie de l'analyse sur chromatographe en laboratoire, merci pour ton expertise.

Plusieurs autres personnes ont contribué indirectement mais indispensablement à l'évolution de ce projet de maîtrise. Amélie Charest et Iris Gigueux, toutes deux professionnelles de recherche, m'ont grandement aidé à répondre à mes petites questions

quotidiennes et à m'encourager bien qu'elles n'étaient pas impliquées directement dans le projet. Je tiens également et surtout à remercier toutes les étudiantes de l'équipe Lamarche et Lemieux réunies dans une petite salle d'étude de l'INAF. La solidarité, l'entraide, la disponibilité, la joie et le rire de ces étudiantes ont grandement contribué à mon cheminement dans ce projet de maîtrise. L'ambiance et l'énergie qui se dégage de cette grande famille sont merveilleuses et une fois qu'on y a goûté on ne veut plus les quitter. Merci beaucoup, beaucoup les filles!

Finalement, mes plus grands remerciements sont attribués à ma famille et à mon conjoint qui m'ont supporté tout au long de mes choix d'études et de carrière. Je remercie singulièrement mon frère et ma soeur qui m'ont fait découvrir le monde de la recherche. Ça m'aura pris deux ans de remise en question dans les divers domaines de la nutrition avant de céder à l'idée de ces deux là: j'ai la recherche dans le sang! Ils avaient raison, la recherche est une passion maintenant confirmée pour moi. Merci!

*Aux frères et soeurs Goulet, tous trois contaminés
par le plaisir de la science à l'INAF*

Table des matières

<i>Résumé</i>	<i>i</i>
<i>Avant-Propos</i>	<i>ii</i>
<i>Table des matières</i>	<i>v</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>vii</i>
<i>Liste des abréviations</i>	<i>viii</i>
<i>Chapitre I Introduction Générale</i>	<i>- 1 -</i>
<i>Chapitre II Problématique</i>	<i>- 3 -</i>
1. Le cholestérol et son métabolisme	- 3 -
1.1 Molécule, rôles et sources alimentaires	- 3 -
1.2 Vue d'ensemble du <i>pool</i> de cholestérol	- 4 -
1.3 Absorption intestinale	- 5 -
1.4 Transport	- 7 -
1.5 Synthèse endogène	- 8 -
1.6 Excrétion	- 9 -
1.7 Clairance du cholestérol	- 10 -
1.8 Méthodes de mesures	- 10 -
1.8.1 Synthèse	- 11 -
1.8.2 Absorption	- 11 -
1.9 Association entre les marqueurs de l'homéostasie du cholestérol et le risque cardiovasculaire	- 13 -
1.10 Facteurs influençant la synthèse et l'absorption de cholestérol	- 14 -
1.10.1 Obésité	- 14 -
1.10.2 Perte de poids	- 15 -
1.10.3 Phytostérols et stanols alimentaires	- 15 -
1.10.4 Médicaments	- 16 -
1.10.5 Génétique	- 17 -
1.10.6 Influence de la race sur l'homéostasie du cholestérol	- 20 -

2. L'activité physique.....	- 22 -
2.1 Impact global sur les maladies cardiovasculaires	- 22 -
2.2 Exercice physique en endurance vs en résistance	- 24 -
2.3 Impact connu de l'activité physique en endurance sur l'homéostasie du cholestérol ..	- 25 -
2.3.1 Effet sur la synthèse de cholestérol.....	- 25 -
2.3.2 Effet sur l'absorption de cholestérol	- 26 -
2.3.3 Effet sur la clairance de cholestérol	- 26 -
3. Objectifs et hypothèses	- 28 -
<i>Chapitre III Article Scientifique</i>	<i>- 29 -</i>
Résumé.....	- 30 -
Abstract.....	- 32 -
Introduction	- 33 -
Methods.....	- 34 -
Subjects.....	- 34 -
Endurance Exercise Training Program	- 35 -
Anthropometric Measures and Body Composition	- 35 -
Plasma Lipids and Plasma Sterols Measurements.....	- 36 -
Statistical analysis	- 36 -
Results.....	- 37 -
Comment.....	- 38 -
References	- 44 -
Table and Figures	- 50 -
Table 1	- 50 -
Figure 1	- 51 -
Figure 2.....	- 52 -
<i>Chapitre IV Conclusion.....</i>	<i>- 53 -</i>
<i>Bibliographie du mémoire.....</i>	<i>- 58 -</i>

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de la structure chimique du cholestérol.....	- 3 -
Figure 2 : Résumé des mécanismes impliqués dans le maintien du <i>pool</i> de cholestérol plasmatique	- 4 -
Figure 3 : Schématisation d'une micelle et ses régions polaires	- 5 -
Figure 4 : Processus complet de passage du cholestérol dans l'entérocyte lors de son absorption dans l'intestin.....	- 6 -
Figure 5 : Transport complet du cholestérol dans le corps.....	- 7 -
Figure 6 : Schéma d'une lipoprotéine	- 7 -
Figure 7 : Voie de synthèse endogène de la molécule de cholestérol.....	- 8 -
Figure 8 : Excrétion du cholestérol via la bile.....	- 9 -
Figure 9 : Schéma de la structure chimique des acides biliaires	- 9 -
Figure 10 : Schéma des structures chimiques du cholestérol, du campestérol, du β -sitostérol et du stigmastérol	- 12 -
Figure 11 : Effets bénéfiques de l'activité physique sur la santé cardiovasculaire	- 23 -

Liste des abréviations

ABCG5/G8 : Transporteur à cassette *G5* ou *G8* liant l'ATP
ACAT : Acyl-Coenzyme A:Cholestérol Acyltransferase
Apo-E : Apolipoprotéine E
C : Cholestérol
CM : Chylomicron
FXR : Récepteur X des farnésoides
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HL : Lipase hépatique
HMG-CoA : 3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl-coenzyme A
IMC : Indice de masse corporelle
IDL : Lipoprotéine de densité intermédiaire
LDL : Lipoprotéine de faible densité
LDL-r : Récepteur des Lipoprotéine de faible densité
LPL : Lipase lipoprotéique
LRP : Protéine apparentée aux récepteurs des LDL
LXR : Récepteur X hépatique
MCV : Maladies cardiovasculaires
MTP : Protéine microsomal de transfert de triglycérides
Muc1 : Mucine 1
NPC1L1 : Transporteur de sterols *Niemann-Pick C1-Like 1*
PCSK9 : Protéine convertase subtilisine/kexine type 9
SR-BI : Récepteur « éboueur » classe B type 1
SREBP : Protéine liant l'élément de réponse aux stérols
TAS : Tissu adipeux sous-cutané
TAV : Tissu adipeux viscéral
TG : Triglycérides
VLDL : Lipoprotéine de très faible densité

Chapitre I

Introduction Générale

Les maladies cardiovasculaires (MCV) demeurent un problème de santé important affectant de plus en plus la population de l'Amérique du Nord. La prévalence des facteurs de risque continue d'augmenter depuis 1996.¹ Neuf personnes sur dix (90 %) au Canada affichent au moins un facteur de risque associé aux MCV.²

Plusieurs facteurs de risque de MCV ont été identifiés il y a quelques années à partir de l'étude de Framingham dont l'âge, le sexe, l'hypertension artérielle, le diabète, le tabagisme, l'obésité et les dyslipidémies³. Plusieurs moyens de prévention primaire et secondaire sont actuellement reconnus pour diminuer le risque de MCV. Les principaux moyens de prévention primaire s'adressent aux personnes qui n'ont encore jamais présenté de signes de MCV et sont les suivants : l'adoption d'une saine alimentation, l'arrêt tabagique, la perte de poids, le contrôle de la tension artérielle, de la glycémie et des lipides, et finalement la pratique d'activité physique régulière. Les moyens de prévention secondaire ont été conçus pour éviter une récurrence ou une aggravation d'incident cardiovasculaire en présence de MCV et ils doivent s'ajouter aux moyens de prévention primaire déjà effectués par la personne. Ils regroupent en fait des traitements médicamenteux ciblant la diminution des facteurs de risque mentionnés ci-haut.³

Dans ce mémoire de maîtrise, nous nous attarderons à la prévention primaire visant les personnes en santé, plus particulièrement à la pratique d'activité physique considérant que parmi les Canadiennes âgées de 12 ans et plus, 52,5 % sont sédentaires.⁴ Comme l'activité physique entraîne fréquemment une perte de poids simultanée qui est également un moyen de prévention, il est alors important d'explorer l'impact de l'activité physique sur les facteurs de risque de MCV indépendamment de la perte de poids.

L'activité physique est reconnue unanimement dans la littérature pour ses effets bénéfiques sur les lipides sanguins et pour la réduction du risque de MCV global. Il est cependant surprenant qu'elle n'ait pas d'impact reconnu sur le cholestérol contenu dans lipoprotéines de faible densité (LDL-C), qui est le facteur de risque de MCV le plus ciblé actuellement dans la prévention. On sait par contre qu'au-delà des concentrations de lipides sanguins d'autres mécanismes sont impliqués dans le métabolisme du cholestérol et pourraient influencer le risque de MCV. On parle ici de la synthèse endogène et de l'absorption intestinale de cholestérol qui régulent conjointement les concentrations plasmatiques de cholestérol.⁵ La question soulevée est donc : l'exercice physique a-t-il des effets sur les mécanismes sous-jacents les concentrations de lipides sanguins, plus précisément la synthèse et l'absorption, sans que ça se traduise par une modification des concentrations de LDL-C? Nous avons ainsi réalisé un projet avec l'étude HERITAGE (Health, risk factors, exercise training and genetics)⁶ réalisée dans les années 1990 et initialement élaborée dans le but d'étudier le rôle du génotype dans la réponse cardiovasculaire, métabolique et hormonale à l'activité physique en aérobie, ainsi que la contribution de l'exercice physique régulier aux changements de plusieurs facteurs de risque de MCV et diabète. Cette étude impliquant une intervention en activité physique d'endurance nous a ainsi permis d'analyser l'impact de l'activité physique sur les changements des marqueurs de la synthèse et de l'absorption de cholestérol.

Ce mémoire de maîtrise est divisé en plusieurs chapitres. Le chapitre II présente une brève revue de littérature expliquant les différents mécanismes de base du métabolisme du cholestérol ainsi que les données récentes disponibles sur l'activité physique en lien avec les MCV, et finalement une présentation des objectifs et hypothèses à la base de ce projet de maîtrise. Le chapitre III présente un article scientifique rédigé en anglais qui sera soumis à la revue scientifique *Archives of Internal Medicine*. Cet article comprend la méthodologie du projet, les résultats ainsi qu'une brève discussion de ces résultats. Le chapitre IV présente une conclusion générale de ce mémoire résumant les résultats de l'étude et leur interprétation de même que l'impact du projet sur l'avancement des connaissances dans ce domaine de recherche.

Chapitre II

Problématique

1. Le cholestérol et son métabolisme

1.1 Molécule, rôles et sources alimentaires

Le cholestérol joue plusieurs rôles primordiaux au bon fonctionnement du corps humain. Il est un composé essentiel des membranes cellulaires contribuant au maintien de leur structure et leur stabilité.⁵ Il est également le précurseur de plusieurs des acides biliaires et également de plusieurs stéroïdes indispensables dont les hormones stéroïdiennes telles que les œstrogènes, les androgènes et la progestérone, les corticostéroïdes, et la vitamine D (cholécalférol).⁷

En présence d'un niveau sanguin élevé de cholestérol, des impacts défavorables pour la santé peuvent survenir reliés aux maladies cardiovasculaires. Plusieurs raisons peuvent expliquer ce désordre, soit un apport alimentaire excessif en cholestérol ou un désordre lipidique primaire ou secondaire. Un niveau élevé de cholestérol sanguin a été identifié comme un facteur de risque d'athérosclérose⁸. Le cholestérol, plus particulièrement l'ester de cholestérol, est en effet un des composés majeurs de la plaque athérogène dans les vaisseaux sanguins.⁸

Le cholestérol est un lipide et fait partie de la famille des stérols. Il est plus spécifiquement un alcool monohydroxique de structure stéroïdienne.⁷ La figure 1 présente le schéma de sa structure chimique (adapté de Ostlund 2004).⁹ La molécule peut se retrouver sous forme libre

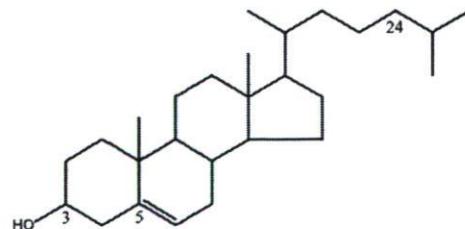


Figure 1: Structure chimique du cholestérol

ou bien sous forme estérifiée lorsque le groupe hydroxyle (-OH) se lie à un acide gras.⁷

Bien que la famille des stérols se trouve autant dans les plantes que chez les animaux, le cholestérol n'est présent que dans les tissus animaux. On le retrouvera entre autres dans les poissons, la volaille mais majoritairement dans les œufs, la viande et les produits laitiers.¹⁰ Le cholestérol représente moins de 1% de l'apport en lipides alimentaires dans une diète typique nord-américaine.⁷

1.2 Vue d'ensemble du *pool* de cholestérol

Avant d'entrer plus en détail dans le métabolisme du cholestérol, il est de mise de présenter une figure qui illustre le système relié au *pool* de cholestérol dans le sang.

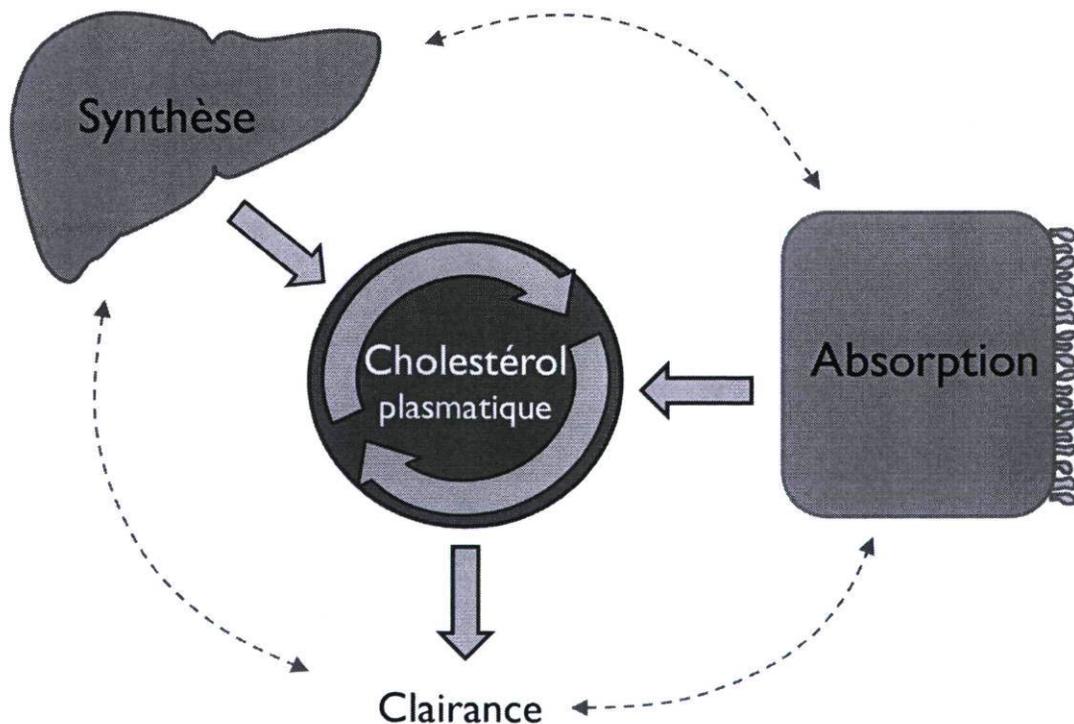


Figure 2 : Résumé des mécanismes impliqués dans le maintien du *pool* de cholestérol plasmatisque

Tout d'abord, le *pool* de cholestérol plasmatique sert à répondre aux besoins en cholestérol des cellules du corps. Il est alimenté par le cholestérol qu'on synthétise dans les cellules (environ 20% dans les cellules du foie)⁷ ainsi que par le cholestérol qu'on ingère et puis qu'on absorbe au niveau intestinal. Qu'est-ce qui peut faire diminuer alors le *pool* de cholestérol plasmatique? La clairance du cholestérol est le terme utilisé pour définir ce phénomène. Cela consiste à la sortie du cholestérol contenu dans le *pool* soit pour entrer dans les cellules, il y a donc échange entre les cellules et le *pool*, ou soit pour retourner au foie (non illustré). Dans le foie, le cholestérol peut alors être réutilisé dans la bile en tant qu'acides biliaires ou en tant que cholestérol libre et être par la suite en partie excrété dans les fèces (discuté en détail dans la section sur l'excrétion).

1.3 Absorption intestinale

Le cholestérol est ingéré à partir de l'alimentation sous deux formes, soit le cholestérol estérifié, soit le cholestérol libre (ou non estérifié). La digestion débute dans l'intestin alors que le cholestérol estérifié se fait hydrolyser par l'enzyme *cholestérol estérase* afin de libérer une molécule de cholestérol libre et des acides gras libres.⁷ Le cholestérol ne peut être absorbé seul puisqu'il est hydrophobe. Il doit se combiner à d'autres composés tels que les phospholipides, les acides gras libres, les 2-monoacylglycérols et les sels biliaires pour former des micelles, un agrégat chargé négativement dont la région polaire est orientée vers l'extérieure (voir figure 3).¹¹

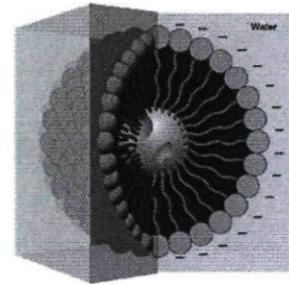


Figure 3: Schématisation d'une micelle et ses régions polaires

Le cholestérol est absorbé au niveau de l'intestin grêle à travers les cellules intestinales nommées entérocytes. La figure 4 illustre bien le processus complet de passage du cholestérol dans l'entérocyte.¹² La micelle contenant le cholestérol libre accède aux microvillosités de l'intestin grêle.⁷ À partir de là, les composés de la micelle diffusent hors

de celle-ci et entrent dans l'entérocyte via un gradient de concentration.⁷ Le cholestérol

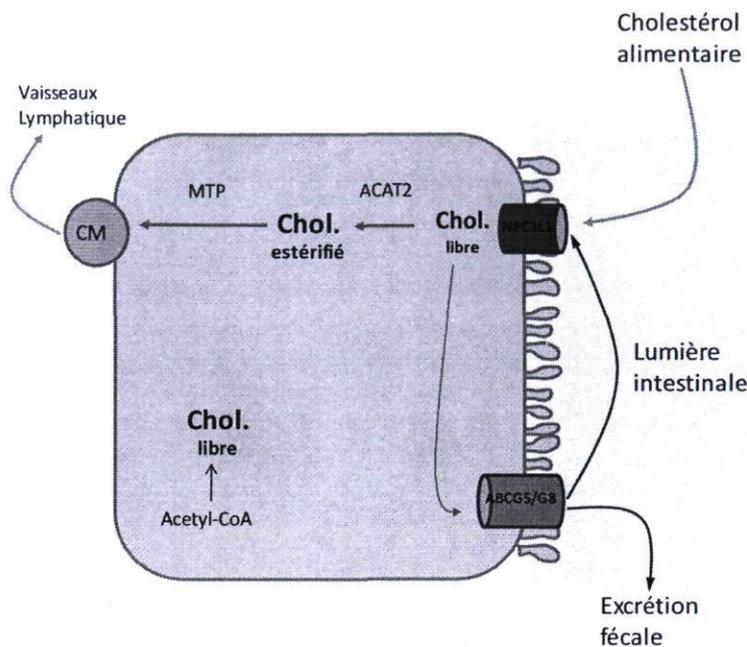


Figure 4 : Processus complet de passage du cholestérol dans l'entérocyte lors de son absorption dans l'intestin

libre pénètre l'entérocyte via un transporteur spécifique situé à la surface des entérocytes, *Niemann Pick C1 Like 1* (NPC1L1).¹³ Une fois dans la cellule, une partie du cholestérol libre retourne dans la lumière intestinale via les transporteurs *ATP Binding Cassette* (ABCG5/G8). Le

cholestérol libre présent dans la cellule, qu'il soit arrivé par les mécanismes d'absorption ou de synthèse de la cellule (voir section 1.5), se fait ensuite estérifier par l'enzyme acyl-CoA : cholestérol acyltransferase-2 (ACAT2) qui le lie avec une molécule d'acide gras libre, ou bien il continue directement sous forme libre jusqu'à l'entrée dans le CM.^{7;13;14} Le cholestérol estérifié, le cholestérol libre, les triacylglycérols et l'apoprotéine B48 sont incorporés dans le CM naissant à l'aide de la protéine de transfert microsomal de triglycérides (MTP).¹⁴ Le cholestérol est ensuite transporté par les CM dans les canaux lymphatiques jusqu'au foie et aux autres tissus utilisant le cholestérol.

1.4 Transport

La figure 5 présente le transport complet du cholestérol dans le corps (adapté de Julien P., 2010).⁸ Les CM sont les premières lipoprotéines transportant le cholestérol suite à son absorption dans l'intestin. À leur sortie des vaisseaux

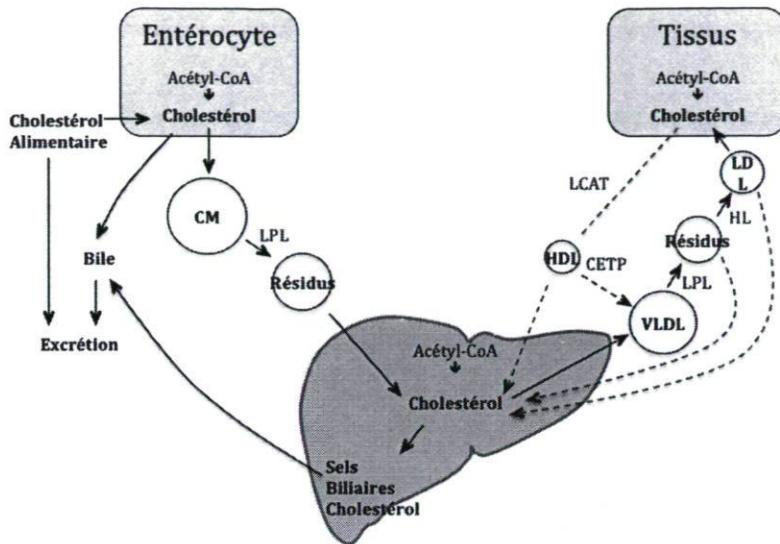


Figure 5 : Transport complet du cholestérol dans le corps

lymphatiques, les CM se font hydrolyser en résidus de CM par la lipase lipoprotéique (LPL), les rendant ainsi solubles et leur permettant de circuler dans le sang avant leur entrée dans le foie via les récepteurs hépatiques, dont le récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDL-r) et le récepteur « scavenger » de classe B (SR-B1).^{7,15} Une fois arrivées au foie, plusieurs autres lipoprotéines prennent le relais du transport du cholestérol. Ces lipoprotéines voyagent dans la circulation sanguine afin de fournir aux tissus le cholestérol et les lipides nécessaires à leurs besoins cellulaires.⁷ Les principales lipoprotéines sont les lipoprotéines de très faible densité (VLDL), de densité intermédiaire (IDL), de faible densité (LDL) et de haute densité (HDL). Chacune d'elles possède des apolipoprotéines (telle que l'apo B-100 dans les LDL illustrée sur la figure 6) jouant différents rôles dans la structure, les liaisons avec des récepteurs, l'activation ou

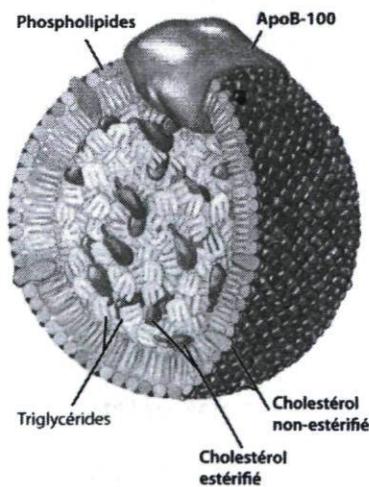


Figure 6 : Schéma d'une lipoprotéine

apolipoprotéines (telle que l'apo B-100 dans les LDL illustrée sur la figure 6) jouant différents rôles dans la structure, les liaisons avec des récepteurs, l'activation ou

l'inhibition d'enzymes, etc (figure 6, adapté de Nelson *et al.* 2006)¹⁶. L'apolipoprotéine-E, présente chez les VLDL, les HDL et les CM, joue un rôle dans la liaison aux récepteurs hépatiques ainsi qu'à la modulation de la cholestérolémie.¹¹ Alors que l'apolipoprotéine B-100 est spécifique aux LDL, VLDL et IDL.

1.5 Synthèse endogène

Le cholestérol exogène compte pour 1/3 des besoins en cholestérol du corps humain.⁷ Les deux autres tiers sont fournis par la synthèse endogène de cholestérol dont une partie est récupérée via la bile.⁷ Presque tous les tissus du corps sont capables de produire leur propre cholestérol à partir de l'acétyl-CoA mais c'est le foie qui obtient le plus grand rôle avec 20% de la production endogène.⁷ Vingt-six étapes sont nécessaires afin de transformer une

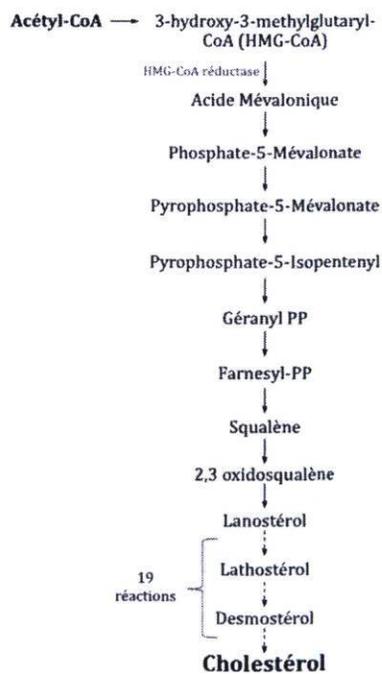


Figure 7 : Voie de synthèse endogène de la molécule de cholestérol

molécule d'acétyl-CoA en molécule de cholestérol. La figure 7 montre le sommaire de cette voie de synthèse. On peut résumer en trois étapes importantes ce processus⁷ : 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA (HMG-CoA) est formé à partir de 3 moles d'acétyl-CoA; l'HMG-CoA est ensuite transformé en squalène via plusieurs réactions dont fait partie l'enzyme limitante de la synthèse de cholestérol (HMG-CoA réductase); et finalement, le cholestérol est formé à partir du squalène suite à une série de réactions où apparaissent le lanostérol, le lathostérol et le desmostérol.¹⁷

Une fois synthétisé, le cholestérol peut alors sortir de la cellule via les lipoprotéines ou alors être utilisé dans la cellule. Dans les tissus extrahépatiques, le cholestérol entre dans les HDL qui le transportent vers le foie, alors que dans les cellules hépatiques le cholestérol entre dans les VLDL qui le transportent vers les autres tissus du corps (figure 5).⁸

1.6 Excrétion

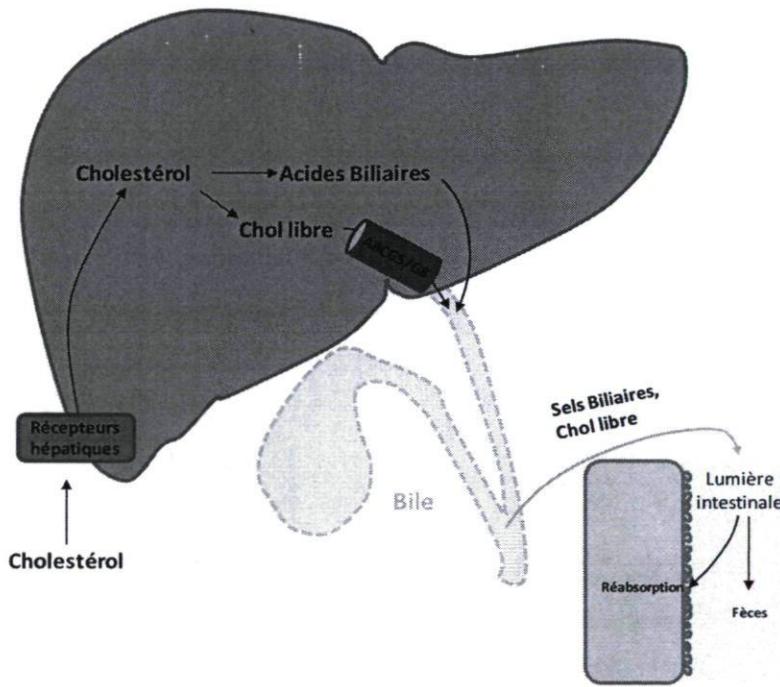


Figure 8 : Excrétion du cholestérol via la bile

soit hydrolysé sous forme libre et directement sécrété dans les canaux biliaires, soit converti en acides biliaires avant d'entrée dans la bile (figure 8). Les transporteurs ABCG5/G8 sont aussi présents dans le foie pour faciliter l'excrétion de stérols libres dans la bile.^{15;19} Pour en arriver à se transformer en acides biliaires, le cholestérol subit une réduction de la longueur de la chaîne du côté hydrocarboné au carbone-17, un ajout d'un groupe d'acide carboxylique

Le cholestérol est excrété en partie par la desquamation de la peau et sa conversion en hormones stéroïdiennes mais le principal mécanisme d'excrétion du cholestérol demeure sa sécrétion via le système biliaire.¹⁸ Pour ce faire, le cholestérol en circulation destiné à l'excrétion entre dans le foie via les récepteurs hépatiques. Il est alors

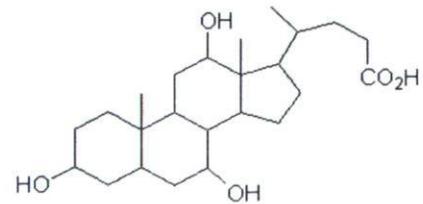


Figure 9 : Structure chimique des acides biliaires

sur la chaîne coupée, puis un ajout de groupes hydroxyles au système cyclique de la molécule (figure 9). Ces réactions ont pour effet d'augmenter la solubilité de la molécule afin de faciliter l'excrétion dans la bile.⁷ Une fois dans la bile, ces acides biliaires sont conjugués à certains acides aminés pour améliorer leur ionisation et ainsi leur habileté à former des micelles une fois dans l'intestin. La majorité de ces acides conjugués sont en fait des sels : les sels biliaires.⁷ Une partie de ces sels biliaires retournent vers le foie pour recyclage lorsqu'ils sont envoyés puis absorbés dans l'intestin.⁷ Cependant, une partie des sels et acides biliaires sont perdus dans les fèces. Le cholestérol total excrété dans les fèces se divise sous deux formes : 25% de sels biliaires et 75% de cholestérol libre.¹³ Il est à noter que la quantité nette de cholestérol éliminée quotidiennement égale la quantité qui est absorbée dans l'intestin.¹³

1.7 Clairance du cholestérol

Il est important de ne pas confondre l'excrétion présentée ci-haut et la clairance de cholestérol. La clairance correspond au retrait du cholestérol de la circulation sanguine et reflète autant le cholestérol entrant dans le foie destiné à l'excrétion qu'au cholestérol entrant dans les tissus afin d'être utilisé par ceux-ci. La clairance du cholestérol est cependant surtout due à l'action du foie, où des récepteurs hépatiques (*receptor related protein* (LRP) et récepteur « *scavenger* » de classe B (SR-B1)) lient les lipoprotéines de transport du cholestérol, retirant l'excès de cholestérol de la circulation sanguine.^{20;21}

1.8 Méthodes de mesures

Il est possible de mesurer ou estimer la synthèse, l'absorption, l'excrétion et la clairance de cholestérol dans le corps humain par des méthodes directes ou indirectes. Les mesures de l'excrétion et de la clairance du cholestérol ne seront que peu abordées dans ce mémoire. On peut résumer rapidement qu'il est possible de mesurer l'excrétion de cholestérol en quantifiant les stérols fécaux et biliaires entre autres par chromatographie en phase gazeuse

de masse suivie d'une spectrométrie.²² Quant à la clairance de cholestérol, on la mesure par des études cinétiques du métabolisme des lipoprotéines.²³

1.8.1 Synthèse

Au niveau de la synthèse, deux méthodes seulement sont utilisées actuellement : l'incorporation du deutérium et la quantification des précurseurs du cholestérol dans le sang. L'incorporation du deutérium, une méthode directe, détermine la synthèse du cholestérol par le rythme d'incorporation du deutérium à partir de l'eau du corps jusqu'au cholestérol libre des globules rouges sur 24 heures.²⁴ Quant à la seconde méthode, elle est indirecte et implique la quantification de précurseurs dans la synthèse du cholestérol tels que le lathostérol, le lanostérol, le desmostérol et le squalène dans le sang. Elle se base sur le fait que ces précurseurs s'infiltrent dans les lipoprotéines du plasma au même rythme que leur formation dans la voie de synthèse du cholestérol. Cette méthode est similaire à celle des phytostérols pour l'absorption (section suivante) en ce sens qu'elle ne peut être utilisée que pour déterminer si la synthèse augmente ou diminue et non pas pour mesurer la quantité précise de cholestérol synthétisé. Il est à noter que le lathostérol semble actuellement le marqueur le plus utilisé dans la littérature. Le lanostérol et le desmostérol ont été reconnus comme marqueurs valides mais ils sont moins utilisés. Quant au squalène, il a été démontré qu'il reflétait la synthèse de cholestérol de façon moins constante que les autres précurseurs.²⁵

1.8.2 Absorption

Dans les 20 dernières années, l'absorption du cholestérol a attiré l'attention de plusieurs chercheurs qui ont trouvé différents moyens de la mesurer. Il existe à l'heure actuelle 3 méthodes reconnues comportant chacune des avantages et des inconvénients : la balance des stérols (méthode directe), le ratio de traceurs radioactifs dans le plasma (méthode directe), et le ratio phytostérol/cholestérol (méthode indirecte).²⁶ Brièvement, la balance des stérols, considérée le standard de référence, consiste à mesurer la différence entre l'apport

alimentaire de cholestérol exogène et son excrétion fécale.^{27;28} Le ratio de traceurs diffère de la méthode précédente du fait qu'il estime la fraction de cholestérol absorbé dans une

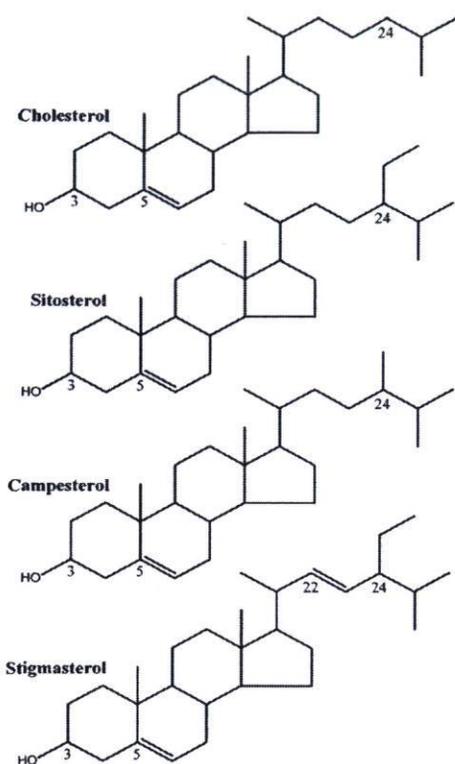


Figure 10 : Structures chimiques du cholestérol, campesterol, β -sitostérol et stigmasterol

période donnée par le ratio des traceurs ingérés oralement (cholestérol exogène) sur les traceurs par intraveineuse (cholestérol endogène.)^{29;30} La dernière méthode, le ratio phytostérol/cholestérol, consiste à mesurer la quantité de campesterol et/ou de β -sitostérol dans le sang. Le campesterol et le β -sitostérol sont des stérols très semblables au cholestérol au niveau de la structure moléculaire (voir figure 10).³¹ Il est d'ailleurs considéré que les phytostérols suivent le même parcours que le cholestérol dans le corps et que leurs niveaux sanguins seraient proportionnels à celui du cholestérol³². Il est cependant impossible de quantifier l'absorption du cholestérol par cette méthode puisqu'elle n'indique que si l'absorption a augmenté ou diminué. Elle est actuellement la méthode la moins coûteuse et la plus rapide, ce qui explique d'ailleurs sa grande utilisation dans les

investigations.³³ Les différences techniques (risque d'exposition aux radiations, temps de mesure, complexité des analyses, coût, degré d'envahissement) et interprétationnelles déterminent le choix de la méthode selon les limites de l'étude.³³

Les marqueurs de synthèse et d'absorption du cholestérol présentés ci-haut (lathostérol, lanostérol, desmostérol, campesterol et β -sitostérol) sont généralement exprimés en ratio de cholestérol total ($\times 10^2$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ de cholestérol total). Considérant que le cholestérol et les stérols non-cholestérol sont transportés dans le plasma par les lipoprotéines, le ratio a pour origine l'hypothèse qu'une personne ayant un nombre de lipoprotéines plus élevé aurait une concentration plasmatique de stérols également plus élevée qu'une personne

avec moins de lipoprotéines même en présence de niveau d'absorption intestinale des stérols similaire.³⁴ L'expression en ratio de cholestérol total permet donc d'ajuster les niveaux de marqueurs pour les variations interindividuelles.

1.9 Association entre les marqueurs de l'homéostasie du cholestérol et le risque cardiovasculaire

Les études ayant analysé l'association entre les marqueurs de l'homéostasie du cholestérol et le risque cardiovasculaire ont montré des résultats essentiellement divergents. Escurriol *et al.* (2010)³⁵ ont montré que des niveaux faibles de campestérol et de β -sitostérol, reflétant une absorption faible de cholestérol, sont associés à un risque de MCV plus élevé. Fassbender *et al.* (2008)³⁶ ont également observé chez des sujets âgés de plus de 65 ans et atteints de MCV des concentrations plasmatiques plus faibles de phytostérols (ajustés et non-ajustés sur un ratio de cholestérol plasmatique) que chez des sujets sans MCV. Pinedo *et al.* (2007)³⁷ n'ont observé aucune différence dans les concentrations plasmatiques de campestérol et de β -sitostérol entre les sujets en santé et ceux présentant une MCV. Cependant, lorsque le β -sitostérol était ajusté sur un ratio de cholestérol total, le ratio était significativement plus faible chez les sujets atteints de MCV. Finalement, Windler *et al.* (2009)³⁸ ont observé des concentrations plasmatiques de phytostérols significativement plus élevées chez des sujets en santé que chez des sujets atteints de MCV. Ces études suggèrent donc qu'une absorption de cholestérol élevée serait protectrice contre les MCV. Quant aux marqueurs de synthèse de cholestérol, aucune association n'a été établie entre ces derniers et les MCV dans ces études.

Des études contradictoires ont cependant observé le contraire. Des concentrations plasmatiques élevées de campestérol et de β -sitostérol ont en effet été associées à l'incidence de MCV et à leur sévérité.³⁹⁻⁴³

Les études de Matthan *et al.* (2009)⁴⁴ et Rajaratnam *et al.* (2000)⁴² ont de plus analysé simultanément les concentrations plasmatiques de lathostérol reflétant la synthèse de cholestérol et ont suggéré qu'une synthèse de cholestérol plus faible était également associée à un risque plus élevé de MCV. Il existe également une autre étude n'ayant observé aucune association entre les marqueurs d'absorption de cholestérol et le risque cardiovasculaire.⁴⁵

Il est à noter que les résultats inconstants entre les études présentées ci-haut pourraient s'expliquer en partie par leurs différences au niveau de la composition de leur cohorte (âge, condition de santé) ainsi que par la façon dont les associations ont été analysées (ratio sur le cholestérol, valeurs brutes, marqueurs utilisés, *odd ratio*). Ces différences limitent donc l'aboutissement d'une conclusion claire sur l'association entre les marqueurs et les MCV.

Les phytostérols plasmatiques et les précurseurs de la synthèse endogène de cholestérol sont malgré tout considérés comme des marqueurs valides de la synthèse et de l'absorption du cholestérol.^{33;46;47} Matthan *et al.* (2003)⁴⁸ ont même suggéré que les concentrations plasmatiques de lathostérol, campestérol, β -sitostérol seraient de meilleurs marqueurs du risque cardiovasculaire que le niveau sanguin de cholestérol.

1.10 Facteurs influençant la synthèse et l'absorption de cholestérol

1.10.1 Obésité

L'obésité est souvent reliée à la dyslipidémie (concentrations élevées de cholestérol total, LDL-C, VLDL-C et TG)⁴⁹ et ceci pourrait être dû à un métabolisme altéré du cholestérol communément retrouvé chez les personnes obèses.⁵⁰ Il a été démontré que la synthèse de cholestérol est plus élevée chez les sujets obèses que chez les sujets de poids normal.⁵¹ Stahlberg *et al.* (1997)⁵² ont également montré que l'expression de l'HMG-CoA réductase, l'enzyme limitante de la synthèse de cholestérol, est augmentée chez les obèses. Miettinen *et Gylling* (2000)⁵⁰ ont démontré que cette augmentation de la synthèse est associée à une

diminution de l'absorption intestinale laissant supposer que l'élévation de la synthèse chez les obèses pourrait réguler à la baisse l'absorption.²⁶

1.10.2 Perte de poids

La perte de poids a été associée à une diminution de la synthèse du cholestérol chez les obèses.⁵³ L'effet de la perte de poids sur l'absorption est cependant moins clair. Une étude de Simonen et al. (2002)⁵⁴ a en effet démontré qu'une perte de poids chez des obèses diabétiques a entraîné une diminution du cholestérol plasmatique, une augmentation de la synthèse et une diminution de l'absorption. Cependant, l'action de l'insuline et du glucose a pu confondre les résultats de cette étude.⁵⁵ Aucune relation de cause à effet n'a pu être établie jusqu'à maintenant mais Santosa et al. (2007)²⁶ ont émis l'hypothèse qu'une synergie existe voulant que les changements dans la synthèse de cholestérol entraînent des changements opposés dans l'absorption. Ils notent cependant qu'il faudrait faire des investigations supplémentaires sur des sujets de poids normaux et en santé.

1.10.3 Phytostérols et stanols alimentaires

Les phytostérols alimentaires sont des stérols que l'on retrouve exclusivement dans les végétaux et entre autres dans l'huile de soya, de pépins de raisins, de maïs et de tournesol.⁷ Les stanols et les phytostérols ont une structure chimique similaire au cholestérol⁵⁶ et, tel que mentionné dans la section 1.7.2, suivent une partie de la trajectoire du cholestérol dans le corps humain notamment via les transporteurs entérocytaires NPC1L1 (entrée) et ABCG5/G8 (sortie), entrant en compétition avec le cholestérol surtout au niveau du transporteur NPC1L1. Cette similitude chimique entraîne également une compétition avec le cholestérol pour l'intégration dans les micelles, repoussant ainsi le cholestérol de plus en plus loin dans l'intestin. Le cholestérol est donc moins absorbé dans les entérocytes et son excrétion dans les fèces est augmentée.⁵⁷ Cependant, une dose de ≥ 400 mg de phytostérols doit être ingérée quotidiennement pour voir ses effets sur l'absorption de cholestérol alors

qu'une diète typique nord-américaine en contient entre 150 et 450 mg.^{58;59} Bien que le cholestérol soit moins absorbé, des études ont démontré qu'il existe un mécanisme compensatoire d'augmentation de la synthèse de cholestérol. Gylling et al. (1997)⁶⁰ ont démontré qu'une diminution de 45% de l'absorption de cholestérol suite à la consommation de suppléments de sitostanol était accompagnée d'une augmentation de 39% de la synthèse. Vanstone et al. (2002)⁵⁷ et Jones et al. (2000)³⁰ ont montré la même relation avec d'autres phytostérols et stanols. Ce phénomène pourrait être causé par l'inhibition des mécanismes inhibiteurs (SREBP) de l'HMG-CoA réductase en absence de cholestérol plasmatique.²⁶

1.10.4 Médicaments

Statines

Les statines sont reconnues pour diminuer les niveaux de cholestérol sanguins en inhibant l'action de l'enzyme HMG-CoA réductase.⁶¹ Ce mécanisme entraîne une augmentation de l'expression des récepteurs LDL au foie et donc une plus grande quantité de LDL-C fixée aux récepteurs et une diminution de 20-30% de la concentration sanguine de LDL-C.^{62;63} Une étude de Smith et al. (2000)⁶¹ a montré une réduction de la synthèse mais pas de l'absorption suite à une thérapie sous statines. Gylling et Miettinen (2002)⁶⁴ ont quant à eux comparé la réponse à un traitement de statines selon les niveaux initiaux d'absorption (petits absorbeurs vs grands absorbeurs). Ils ont observé une plus grande suppression de la synthèse chez les petits absorbeurs ainsi qu'une plus grande augmentation de l'absorption chez les sujets qui avaient diminué davantage leur synthèse. De plus, Miettinen et al. (2000)⁵¹ ont observé dans l'étude des 4S que de plus bas niveaux initiaux d'absorption étaient associés à des niveaux initiaux plus élevés de synthèse. Une fois de plus on peut en déduire que la synthèse de cholestérol répond à l'opposée de l'absorption intestinale même lors d'un traitement aux statines.

Ezetimibe

L'ezetimibe est un hypocholestérolémiant qui agit en interférant avec le transport intestinal du cholestérol via l'inhibition de NPC1L1.^{11;65} Dix milligrammes de ce médicament peuvent diminuer le cholestérol total sanguin jusqu'à 15% et le LDL-C jusqu'à 20%.⁶⁵ Sudhop et al. (2002)⁶⁶ ont même démontré que l'ezetimibe pouvait diminuer jusqu'à 50% l'absorption de cholestérol accompagné encore une fois d'une augmentation de la synthèse. Il est à noter cependant que même si la synthèse augmente et l'absorption diminue, le cholestérol sanguin s'améliore avec l'ezetimibe.

Inhibiteur de lipases

Orlistat (Xenical) est l'un des principaux agents bloqueurs de l'absorption intestinale des lipides. Il agit en inhibant la lipase gastro-intestinale.⁶⁷ Muls et al. (2001)⁶⁸ ont observé, suite à une thérapie à l'Orlistat, un blocage de 30% de l'absorption intestinale de lipides ainsi qu'une diminution de 10% du LDL-C indépendamment du poids. De plus, une hypothèse a été émise par Zavoral et al. (1998)⁶⁹ voulant que l'inhibition de l'activité de la lipase gastro-intestinale pourrait diminuer la solubilité du cholestérol par une réduction de la quantité d'acides gras et de monoglycérides dans l'intestin, et/ou pourrait amener une séquestration du cholestérol dans les gouttelettes de lipides plus denses dans l'intestin.⁶⁹

1.10.5 Génétique

Plusieurs facteurs génétiques peuvent affecter les mécanismes régulateurs du cholestérol faisant en sorte qu'une personne n'aura pas la même réponse à une intervention telle une diète riche en cholestérol.

Apo E

L'apolipoprotéine E (apo-E) joue un rôle majeur dans le transport et le métabolisme des lipides. Au niveau génétique, trois isoformes de l'apo E existent: E2, E3 et E4.⁷ Les

personnes qui présentent la forme E4 ont plus de risque de développer une maladie cardiovasculaire apparemment due à une élévation de la concentration plasmatique de LDL-C et ce, indépendamment du ratio de consommation de gras polyinsaturés/saturés.⁷ De plus, les porteurs de la forme E2 semblent avoir une absorption intestinale de cholestérol plus basse ainsi qu'une synthèse de cholestérol et d'acides biliaires plus élevée que les transporteurs E3 et E4.^{70;71} Certaines études n'ont cependant rapporté aucune influence du phénotype de l'apo-E lorsque la diète était faible en gras laissant supposer que l'effet du polymorphisme de l'apo-E n'est apparent qu'avec une diète riche en gras.²⁶

ABCG5/G8

Suite à la découverte du rôle d'une mutation des transporteurs ABCG5/G8 dans la sitostérolémie entraînant une absorption intestinale de phytostérols et de cholestérol plus élevée ainsi qu'une excrétion biliaire diminuée,¹⁹ plusieurs études ont investigué l'effet de variantes des gènes exprimant ABCG5/G8 sur le métabolisme du cholestérol.²⁶ Deux variantes d'ABCG8, D19H et T400K, ont été associées à une concentration de phytostérols sanguins plus basse laissant supposer que l'absorption intestinale de cholestérol était plus basse.⁷² Jakulj et al. (2010)⁷³ ont par la suite montré une association entre l'allèle 19H d'ABCG8 et de faibles niveaux de marqueurs d'absorption du cholestérol ainsi que des niveaux élevés de synthèse, mais sans impact sur le profil lipidique. Un récepteur, le *liver-X-receptor* (LXR), a également été identifié comme ayant un impact sur l'expression d'ABCG5/G8 autant dans le foie que les entérocytes.¹⁹ En présence d'une diète riche en cholestérol, le LXR augmenterait l'expression d'ABCG5/G8, entraînant ainsi une augmentation de la sécrétion biliaire de stérols et une diminution de l'absorption intestinale.¹⁹

NPC1L1

Une étude récente de Cohen et al. (2006)⁷⁴ a identifié plusieurs mutations dans NPC1L1 qui étaient communes chez les sujets avec une faible absorption de cholestérol. Ils ont également associé des variantes du gène avec un LDL-C diminué de 10%. De plus, Davis et

al. (2004)⁷⁵ ont observé une augmentation de l'expression d'HMG-CoA chez des souris déficientes en NPC1L1. Ces données montrent que NPC1L1 peut avoir un rôle indirect sur le contrôle de la synthèse de cholestérol via la régulation de l'absorption.²⁶

SREBP, ACAT2, FXR, Muc1, SR-BI

Plusieurs études ont investigué certains gènes chez la souris exprimant différentes protéines reliées au métabolisme du cholestérol. Un survol rapide sera effectué seulement ici considérant que ces études ne sont effectuées que chez les souris. Shimano et al. (1997)⁷⁶ ont observé chez des souris déficientes du gène *sterol regulatory element binding protein* (SREBP-1) que les niveaux d'expression d'HMG-CoA synthase et réductase ainsi que de squalène synthase étaient plus élevés. Conséquemment, la synthèse était 3 fois plus élevée et la quantité de cholestérol au foie était 50% plus élevée. Buhman et al. (2000)⁷⁷ ont démontré que la capacité d'absorption du cholestérol chez des souris déficientes en Acyl-Coenzyme A:Cholestérol Acyltransferase-2 (ACAT2) était réduite avec une diète riche en cholestérol mais pas avec une diète normale. Lambert et al. (2003)⁷⁸ ont prouvé que les souris déficientes en *farnesoid X receptor* (FXR), un récepteur hormonal qui régule entre autres l'absorption et la circulation entéro-hépatique de cholestérol, avaient une absorption de cholestérol plus élevée que des souris non déficientes en FXR. Récemment, il a été démontré par Wang et al. (2004)²⁴ que la perturbation d'un des gènes qui régule la sécrétion intestinale de mucine, *mucin gene* (Muc1), entraînait la réduction de 50% de l'absorption intestinale chez la souris. Finalement, le *scavenger receptor class B type 1* (SR-BI), une autre protéine régulatrice sécrétée dans le foie et l'intestin a été identifiée.⁷⁹ Alors que la protéine exprimée dans le foie joue un rôle dans le contrôle du métabolisme des HDL, celle exprimée dans l'entérocyte faciliterait l'absorption du cholestérol.⁷⁹ Il a été démontré avec des souris dont le gène de SR-BI avait été altéré que l'excrétion de cholestérol biliaire était affectée mais pas les acides biliaires ni les phospholipides. De plus, le cholestérol total et non-estérifié étaient légèrement augmentés dans le foie alors que la synthèse demeurait inchangée. L'absorption intestinale de cholestérol avait augmenté tandis que l'excrétion fécale diminuait.⁷⁹ Cependant, des évidences montrent que SR-BI n'aurait pas d'impact

direct sur l'absorption et ce pourrait être les autres mécanismes liés à la diminution de l'excrétion biliaire ou fécale qui entraîneraient cet effet sur l'absorption.⁷⁹

Bref, tous ces facteurs génétiques auraient un impact potentiel sur la régulation du cholestérol mais d'autres investigations sont nécessaires. De plus, il est à noter que ces résultats chez les souris restent à nuancer puisque des études chez l'humain sont nécessaires afin de contre-vérifier si ces variations génétiques ont un impact sur la réponse au cholestérol alimentaire de la même manière chez l'humain.²⁶

1.10.6 Influence de la race sur l'homéostasie du cholestérol

La littérature ayant observé des différences raciales est nombreuse au niveau du profil lipidique et de l'anthropométrie mais plutôt rare au niveau de la synthèse et de l'absorption de cholestérol. De plus, la majorité de ces études ont émis leur conclusion en comparant des groupes à un temps donné mais rarement en comparant la réponse de chaque groupe à une intervention. Dans cette section, l'accent sera mis sur les différences observées dans la littérature entre les Caucasiens et les Afro-Américains étant donné qu'ils représentent les deux races impliquées dans les investigations de ce projet de maîtrise.

Tout d'abord, avant de s'attarder sur les différences raciales au niveau de l'homéostasie du cholestérol, il est important de survoler toutes les autres différences raciales qui pourraient influencer de près ou de loin la synthèse et l'absorption du cholestérol. Després *et al.* (2000)⁸⁰ ont observé chez les obèses, indépendamment du sexe, que les Afro-Américains avaient des valeurs plus faibles de tissu adipeux viscéral (TAV), d'apolipoprotéine-B, et de lipase hépatique (HL), ainsi que des valeurs plus élevées de HDL-C et de lipoprotéine lipase (LPL) comparativement aux Caucasiens. L'étude de Kanaley *et al.* (2003)⁸¹ confirme en comparant des femmes postménopausées que les noires ont un TAV plus faible et un tissu adipeux sous-cutané (TAS) plus élevé que les blanches. Finalement, certaines études ont démontré que, malgré une prévalence d'hyperglycémie, d'hypertension et d'obésité

plus élevée, les noirs avaient une prévalence plus faible d'hypertriglycéridémie et des concentrations d'HDL-C plus faibles.^{82;83} De plus, les Asiatiques avaient également des concentrations de triglycérides plus élevés et de HDL-C plus faibles que les blancs malgré un IMC plus faible.⁸⁴ Johnson *et al.* (2004)⁸³ a donc émis l'hypothèse qu'une telle disparité entre les races au niveau du profil lipidique et lipoprotéique ne pouvait pas être due uniquement aux différences environnementales ou nutritionnelles. D'autres facteurs encore inconnus doivent entrer en jeu.

Si on regarde maintenant les différences raciales directement liées à la synthèse et l'absorption de cholestérol, quelques études ont trouvé des variances génétiques entre les Afro-Américains et les Caucasiens au niveau de l'enzyme limitante de la synthèse de cholestérol ainsi qu'au niveau des transporteurs intestinaux responsables de l'absorption. Chen *et al.* (2009)⁸⁵ a en effet démontré que l'haplotype H2a du gène de l'HMG-CoA réductase plus présent chez les Afro-Américains était associé au meilleur profil des TG de cette race. Cette étude n'a pas analysé l'effet de cet haplotype d'HMG-CoA réductase sur la synthèse et l'absorption de cholestérol. Cependant, HMG-CoA réductase étant l'enzyme limitante de la synthèse de cholestérol, on peut supposer que cette différence de génotype entre les Caucasiens et les Afro-Américains pourrait entraîner également des différences au niveau de la synthèse elle-même entre les deux races. Pandit *et al.* (2006)⁸⁶ ont également trouvé des différences génétiques raciales mais cette fois-ci auprès du transporteur inverse de cholestérol : ABCG8. Ils ont observé sur le locus STSL du gène d'ABCG8 un variant unique aux Afro-Américains et 3 autres uniques aux Caucasiens. Ils n'ont toutefois pas poussé leur investigation jusqu'au rôle et à l'impact de ces variations sur le métabolisme et l'homéostasie du cholestérol.

En conclusion de cette première section du chapitre II, il apparaît évident que le métabolisme du cholestérol est complexe et implique plusieurs mécanismes inter reliés dont la synthèse, l'absorption, la clairance et l'excrétion du cholestérol. Tous ces mécanismes ont fait l'objet de plusieurs études afin d'explorer les facteurs qui les influencent tel que le poids, les phytostérols alimentaires, les médicaments, la génétique et la race. Certains de

ces facteurs ont besoin d'investigations supplémentaires avant de pouvoir conclure quant à leurs impacts précis sur les mécanismes d'homéostasie du cholestérol. L'analyse de ces impacts est de plus influencée par les méthodes utilisées (directes ou indirectes) pour mesurer les mécanismes de l'homéostasie du cholestérol, complexifiant davantage les réflexions face au métabolisme du cholestérol.

2. L'activité physique

2.1 Impact global sur les maladies cardiovasculaires

Dans les dernières décennies, plusieurs études épidémiologiques prospectives ont démontré une diminution de l'incidence des événements coronariens chez les sujets physiquement actifs et en forme physique.^{87:88} Des études plus récentes ont fourni des données similaires en utilisant des mesures de la capacité à l'exercice telle que la performance au tapis roulant.⁸⁹ De plus, l'exercice physique a été reconnu pour avoir des effets bénéfiques également sur les facteurs de risque d'athérosclérose, la fonction myocardique, la capacité vasodilatatrice et la taille des artères coronaires, le tonus vasculaire, et la vulnérabilité à la fibrillation ventriculaire.⁹⁰ Plus spécifiquement au niveau des facteurs de risque d'athérosclérose, l'activité physique aide à prévenir et traiter l'hypertension, la résistance à l'insuline, l'intolérance au glucose, l'hypertriglycémie, les faibles concentrations de HDL-C, et l'obésité (voir figure 11). De plus, en combinant l'exercice à la perte de poids, il est possible de diminuer les concentrations de LDL-C.⁹¹



Figure 11 : Effets bénéfiques de l'activité physique sur la santé cardiovasculaire

Une méta-analyse de 52 essais portant sur l'exercice physique en endurance pendant plus de 12 semaines, incluant 4700 sujets, a démontré une augmentation moyenne du HDL-C de 4.6%, une diminution moyenne des triglycérides et du LDL-C de 3.7% et 5.0% respectivement.⁹² L'étude HERITAGE (HEalth RIsk factors, exercise Training, And Genetics), l'une des études les plus grandes et les plus contrôlées en exercice physique chez des sujets normolipidémiques, a observé suite à un programme d'exercice de 20 semaines une augmentation significative du HDL-C de 3.6%, autant chez les hommes que les femmes, ainsi qu'une diminution non-significative du LDL-C de 0.8% et 3.8%, respectivement chez les hommes et les femmes.^{93:94}

De plus, des différences raciales au niveau du profil lipidique ont été observées entre les Caucasiens et les Afro-Américains suite à des interventions en activité physique. Bergeron *et al.* (2001)⁹⁵ ont en effet observé une diminution du cholestérol total, des TG, des niveaux d'apolipoprotéine-B, ainsi que d'une diminution du HDL-C chez les hommes caucasiens suite à un programme d'exercice de 20 semaines (étude HERITAGE). Les hommes afro-américains n'ont quant à eux augmenté uniquement leurs niveaux d'HDL₂-C. Cette meilleure amélioration du profil lipidique chez les Caucasiens a également été associée à une augmentation de l'activité de la LPL. Aucune association n'a cependant été faite chez les Afro-Américains bien que l'activité de la LPL ait augmenté dans les deux groupes ethniques, de même que l'activité de la HL. Il a été suggéré dans cette étude que le profil lipidique généralement meilleur des Afro-Américains avant le programme ait pu minimiser davantage l'amélioration de la concentration des lipoprotéines à l'exercice.

2.2 Exercice physique en endurance vs en résistance

L'exercice physique se différencie en deux types d'entraînement : l'entraînement en endurance, visant une amélioration physique principalement pulmonaire et cardiovasculaire, et l'entraînement en résistance, visant principalement une amélioration musculaire. Ces deux types d'activité ont des résultats différents sur la santé physique et il est important de connaître le type utilisé par une étude avant de l'analyser.

L'exercice physique en endurance a été reconnu comme étant efficace dans l'amélioration du profil lipidique et la réduction du risque de MCV.⁹⁶ L'exercice physique en résistance a cependant été moins étudié par rapport aux MCV. En effet, la littérature à ce sujet est peu nombreuse, probablement dû au fait que les effets de l'exercice en endurance spécifiquement sur le risque de MCV doivent dépasser ceux de l'exercice en résistance. La revue de littérature de Braith *et al* (2006)⁹⁷ a pourtant démontré de multiples bénéfices reliés aux MCV avec un entraînement en résistance. Cependant, quand on y regarde plus attentivement, les bénéfices encourus étaient au niveau de la réduction de l'obésité et de

l'hyperglycémie et ce, dépendamment de la perte de poids. Aucune amélioration importante n'a été observée au niveau de la dyslipidémie. On comprend alors pourquoi la majorité des études ont utilisé l'exercice physique en endurance afin de tenter d'améliorer le risque cardiovasculaire.

2.3 Impact connu de l'activité physique en endurance sur l'homéostasie du cholestérol

2.3.1 Effet sur la synthèse de cholestérol

Peu d'études ont regardé l'effet de l'activité physique sur la synthèse endogène de cholestérol. Varady *et al.* (2007)⁹⁸ ont effectué une étude avec 74 sujets âgés de 40 à 70 ans, hypercholestérolémiques et sédentaires répartis aléatoirement dans 4 groupes : témoin, diète avec phytostérols, exercice, et combinaison de la diète avec phytostérols et de l'exercice. Le groupe d'exercice devait suivre un programme d'entraînement sur vélo ou sur escalier stationnaire de 8 semaines supervisé. La synthèse du cholestérol a été mesurée grâce à une technique d'incorporation au deutérium (méthode directe). Une augmentation non significative de la synthèse de 57% a été observée dans le groupe d'exercice (n=18) relativement au groupe témoin (n=20).

Récemment, Wilund *et al.* (2009)⁹⁹ ont étudié l'impact de l'activité physique en endurance sur l'homéostasie du cholestérol mais sur une période plus longue. Leurs sujets étaient composés de 65 hommes et femmes de 50 à 70 ans, sédentaires et avec présence de dyslipidémie ou hypertension. Ils devaient suivre un programme d'entraînement de 6 mois, 3x à 4x/semaine, sur tapis roulant, vélo stationnaire ou escalier stationnaire. Les mesures de synthèse du cholestérol ont été faites à partir des concentrations plasmatiques de lathostérol (méthode indirecte). Aucun changement à l'exercice n'a été observé au niveau de la synthèse dans cette étude.

Aucune étude n'a jusqu'à maintenant comparé l'effet de l'exercice physique sur la synthèse endogène de cholestérol entre les Caucasiens et les Afro-Américains, ni entre d'autres groupes ethniques.

2.3.2 Effet sur l'absorption de cholestérol

Ainsi que pour la synthèse, aucune étude n'a comparé l'effet de l'exercice physique sur l'absorption du cholestérol entre les Caucasiens et les Afro-Américains, ni entre d'autres races. L'étude de Varady et al. (2007)⁹⁸, présentée dans la section ci-haut, n'a observé aucun changement significatif au niveau de l'absorption dans le groupe d'exercice. L'absorption avait été mesurée par une technique de traceurs radioactifs (méthode directe). L'étude de Wilund *et al.* (2009)⁹⁹ également présentée ci-haut a observé une augmentation de 13% et 11% des concentrations plasmatiques de campestérol et de phytostérols totaux (campestérol + β -sitostérol) respectivement.

2.3.3 Effet sur la clairance de cholestérol

Il a été démontré dans la littérature que l'exercice physique en endurance semblait augmenter la clairance de cholestérol dans le sang. La clairance de cholestérol se faisant majoritairement via la dégradation des LDL dans le sang, les études ci-après discutent de l'effet de l'exercice physique sur la variance de la clairance du LDL. L'étude de Vinagre *et al.* (2007)¹⁰⁰ a démontré que des cyclistes amateurs, en santé et suivant un programme d'entraînement avaient une clairance de *particules similaires au LDL* (nanoémulsion d'ester de cholestérol) plus élevée que des hommes sédentaires et en santé. Ficker *et al.* (2010)¹⁰¹ a corroboré ces résultats en observant une augmentation de 36% du taux de clairance de particules similaires au LDL (nanoémulsion d'ester de cholestérol) suite à un programme d'entraînement en endurance de 4 mois, autant chez des sujets hypercholestérolémiques que normolipidémiques. De plus, Stolinski *et al.* (2008)¹⁰² a également obtenu des résultats allant dans le même sens, observant une augmentation non-

significative du taux de catabolisme fractionnel du LDL chez des sujets diabétiques de type 2 suite à un programme d'exercice en endurance supervisé de 6 mois.

Aucune étude n'a comparé l'effet de l'activité physique sur la clairance du cholestérol entre les hommes et les femmes, ni entre les Afro-Américains et les Caucasiens.

En conclusion de cette deuxième section du chapitre II, l'activité physique est reconnue unanimement pour ses effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire au niveau du profil lipidique et du surpoids, en particulier dans le cas de l'activité physique en endurance. Les études ayant analysé l'impact de l'activité physique en endurance sur la synthèse et l'absorption du cholestérol sont non seulement peu nombreuses mais également divergentes. On peut résumer la situation en mentionnant que l'étude qui a comparé deux groupes et utilisé des méthodes de mesure directes a observé une augmentation de la synthèse et aucun changement au niveau de l'absorption, alors que l'étude qui a plutôt analysé la réponse à l'intervention et utilisé des méthodes de mesure indirectes a observé le contraire, c'est-à-dire une augmentation de l'absorption et aucun changement de la synthèse de cholestérol. Il est donc très difficile de conclure sur l'impact de l'activité physique en endurance sur la synthèse et l'absorption de cholestérol étant donné leurs différences dans les méthodes de mesure et de comparaison utilisées. Quant à l'impact de l'activité physique en endurance sur la clairance, les études sont plus consistantes et suggèrent une augmentation de la clairance de cholestérol dans le sang à l'exercice.

3. Objectifs et hypothèses

Suite aux informations présentées dans la revue de littérature ci-haut, il a été possible d'établir les objectifs et hypothèses de ce projet de maîtrise. L'objectif général de cette étude est d'étudier l'impact de l'exercice physique sur l'homéostasie du cholestérol. De façon plus spécifique, ce projet permet d'étudier:

- L'impact de l'exercice physique en endurance sur les marqueurs du taux de synthèse hépatique du cholestérol chez l'homme et chez la femme;
- L'impact de l'exercice physique en endurance sur les marqueurs du taux d'absorption intestinale du cholestérol chez l'homme et chez la femme;
- De vérifier si le sexe et la race influencent l'impact de l'exercice physique sur ces marqueurs de l'homéostasie du cholestérol;

Les hypothèses de recherche à la base de ce projet sont que :

- L'exercice physique en endurance est associé à une diminution des concentrations plasmatiques de lathostérol, reflétant une diminution de la synthèse hépatique de cholestérol.
- L'exercice physique en endurance est associé à une augmentation des concentrations plasmatiques de campestérol et de β -sitostérol, reflétant une absorption accrue de cholestérol par l'intestin.
- Ces réponses à l'exercice physique en endurance sont les mêmes chez l'homme et chez la femme ainsi que chez les Caucasiens et les Afro-Américains.

Chapitre III

Article Scientifique

Effet de l'exercice physique en endurance sur les marqueurs de l'homéostasie du cholestérol chez l'humain

Catherine Goulet, Patrick Couture, Tuomo Rankinen, Claude Bouchard, Benoît Lamarche

Affiliations institutionnelles:

Centre de Recherche en Lipidologie, Centre de recherche du CHUQ, Quebec, Canada

Human Genomics Laboratory, Pennington Biomedical Research Center, LA, USA

University Medical School, MI, USA

Institut des Nutraceutiques et Aliments Fonctionnels, Université Laval, Quebec, Canada

Cet article sera soumis à la revue scientifique *Archives of Internal Medicine* au cours de l'été 2011.

Résumé

L'impact bénéfique de l'exercice physique en endurance sur la santé cardiovasculaire semble apparemment indépendant des changements des concentrations plasmatiques de LDL-C, qui est pourtant une cible principale dans la prévention des MCV. L'invariabilité des niveaux plasmatiques de LDL-C suite à l'entraînement ne signifie pas nécessairement qu'il n'y a aucun changement favorable dans l'homéostasie du LDL. Il a été suggéré que les concentrations de lathostérol, campestérol et β -sitostérol, des marqueurs valides de l'homéostasie du cholestérol, pourrait prédire le risque de MCV indépendamment de la variation des niveaux plasmatiques de cholestérol. 648 sujets de l'étude HERITAGE (Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics), 54.6% de femmes et 31.8% d'Afro-Américains, ont participé à un programme d'exercice standardisé de 20 semaines. Les concentrations plasmatiques de lathostérol (marqueur de la synthèse endogène de cholestérol), de campestérol et de β -sitostérol (marqueurs de l'absorption intestinale de cholestérol), ont été analysées à partir d'échantillons de sang prélevés avant et après le programme d'entraînement. Les concentrations de lathostérol ont significativement diminué de 2.5% après le programme ($p=0.002$ après ajustements pour le sexe, la race, les valeurs initiales du marqueur et les changements de tour de taille). Les concentrations de campestérol n'ont pas varié significativement après le programme d'entraînement ($p=0.20$) alors que les niveaux de β -sitostérol ont augmenté de 1.6% ($p=0.01$). La somme des concentrations plasmatiques de campestérol et de β -sitostérol ont également montré une forte tendance à l'augmentation après le programme ($p=0.0557$). La diminution dans les concentrations de lathostérol avec l'exercice a été plus prononcée chez les sujets Afro-Américains que chez les Caucasiens même après avoir ajusté pour l'âge, le sexe, les niveaux initiaux de marqueurs et les changements de tour de taille. Les résultats de cette étude suggère que 20 semaines d'entraînement en endurance diminue le marqueur de synthèse de cholestérol et augmente réciproquement les marqueurs de l'absorption intestinale de cholestérol chez des hommes et des femmes en santé et sédentaires. La réponse de la synthèse de cholestérol à l'exercice a été influencée par la race, les Afro-Américains présentant une plus grande diminution que les Caucasiens. Ces changements dans l'homéostasie du cholestérol semblent bénéfiques d'un point de vue de la santé cardiovasculaire malgré l'invariabilité des concentrations plasmatiques de LDL-C.

Effect of endurance exercise training on surrogate markers of cholesterol homeostasis in the HERITAGE family study

Catherine Goulet, Patrick Couture, Tuomo Rankinen, Claude Bouchard, Benoît Lamarche

Institutional affiliations:

Lipid Research Center, CHUQ Research Center, Quebec, Canada

Human Genomics Laboratory, Pennington Biomedical Research Center, LA, USA
University Medical School, MI, USA

Institute of Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Quebec, Canada

Corresponding author:

Benoît Lamarche

Institute of Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University

2440, boul. Hochelaga

Québec (QC) Canada G1V 0A6

Phone: (418) 656-2131 ext.4355

Fax: (418) 656-5877

Email address: Benoit.Lamarche@inaf.ulaval.ca

Abstract

Background: The beneficial impact of endurance exercise training on cardiovascular outcomes is apparently independent of changes in plasma LDL-C concentrations, the primary target for CVD prevention. The absence of any change in plasma LDL-C levels following training may not necessarily indicate a lack of favourable change in LDL homeostasis. It has been suggested that plasma lathosterol, campesterol and β -sitosterol concentrations, validated cholesterol homeostasis markers, may predict CVD risk independent of variations in plasma cholesterol levels.

Methods: 648 subjects of the Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study, 54.6% female, 31.8% Afro-Americans, participated to a standardized 20 wk endurance exercise training program. Plasma concentrations of lathosterol (endogenous cholesterol synthesis), campesterol and β -sitosterol (intestinal cholesterol absorption), were analysed from blood sample pre and post training program.

Results: Lathosterol concentrations were significantly decreased by 2.5% after the training program ($p=0.002$ after adjustment for sex, race, baseline values and change in waist girth). Campesterol concentrations did not change significantly after the training program ($p=0.20$) while β -sitosterol levels increased by 1.6% ($p=0.01$). The sum of plasma campesterol and β -sitosterol concentrations also tended to increase after training ($p=0.0557$). The reduction in lathosterol concentration with exercise was more pronounced in subjects of Afro-American origin than in Caucasian even after adjustments for age, sex baseline values and waist circumference changes.

Conclusions: Results of our study suggest that 20 weeks of endurance exercise training decreases cholesterol synthesis markers and reciprocally increases markers of intestinal cholesterol absorption, in healthy and sedentary men and women. Cholesterol synthesis response to exercise was influenced by race, Afro-Americans showing a greater reduction with exercise than Caucasian subjects. These changes in cholesterol homeostasis are thought to be beneficial from a cardiovascular standpoint, despite the lack of change in plasma LDL-C concentrations.

Introduction

Endurance exercise training has proved to be effective at modifying several risk factors for cardiovascular disease (CVD) and thus reduce the risk of disease outcomes.⁹⁶ Specifically, endurance exercise training has been shown to improve plasma HDL-C and triglycerides concentrations, and to reduce blood pressure, insulin-resistance and glucose intolerance.⁹⁰ It must be stressed that the beneficial impact of endurance exercise training on cardiovascular outcomes is apparently independent of changes in plasma LDL-C concentrations, the primary target for CVD prevention.¹⁰³ However, the absence of any change in plasma LDL-C levels following training may not necessarily indicate a lack of favourable change in LDL homeostasis.

Plasma LDL-C concentrations are finely regulated through several feedback mechanisms, including endogenous cholesterol synthesis and intestinal cholesterol absorption.^{104;105} Campesterol and β -sitosterol are two of the main dietary plant sterols whose plasma concentrations have been recognized as valid surrogate markers of intestinal cholesterol absorption.³³ Studies have suggested that low plasma concentrations of both campesterol and β -sitosterol, which reflect reduced intestinal cholesterol absorption, are associated with a higher risk of CVD³⁵ while others have shown the opposite.⁴⁴ Endogenous cholesterol synthesis is another key pathway contributing to whole body cholesterol homeostasis. Endogenous cholesterol synthesis can be estimated by measuring plasma concentration of lathosterol, an intermediate molecule in the cholesterol synthesis pathway.^{46;47} Matthan *et al.* have suggested that plasma campesterol, β -sitosterol and lathosterol concentrations may predict CVD risk independent of variations in plasma cholesterol levels.⁴⁸ Several studies have also shown that perturbed cholesterol homeostasis characterized by elevated endogenous cholesterol synthesis and/or reduced intestinal cholesterol absorption has been associated with hyperlipidemia, obesity and type 2 diabetes.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸

Very few studies have investigated the effect of endurance exercise training on surrogates or direct measures of cholesterol absorption and synthesis. Recently, Wilund *et al.* have shown that a 6-month endurance exercise training program led to significant increase in plasma levels of campesterol and total plant sterols (campesterol + β -sitosterol) as well as in the ratio of campesterol to lathosterol, while having no effect on lathosterol.⁹⁹ Although well designed, the study was based on a relatively homogeneous population and its sample size was relatively limited with only 65 subjects.

The general objective of this study was to investigate the effects of a 20 week endurance exercise training program on surrogate markers of endogenous cholesterol synthesis and intestinal cholesterol absorption in a large sample of 648 subjects of the Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study. The study also allowed us to investigate for the first time how gender and race modified the cholesterol homeostasis response to endurance exercise training.

Methods

Subjects

The Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study has been described in detail previously.⁶ HERITAGE was originally designed to investigate the genetics of cardiovascular, metabolic and hormonal response to endurance aerobic exercise and the contribution of regular exercise to changes in risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabete. The HERITAGE study was carried out by a consortium of 4 universities in the United States and Canada¹⁰⁹ and was approved by Institutional Review Boards of each participating center. Briefly, subjects were recruited from Caucasian and Afro-American families among which both parents and three or more biological adult offsprings

agreed to participate. Subjects were healthy and sedentary and met a number of predetermined inclusion and exclusion criteria.⁶ Informed consent was obtained from each subject.

Endurance Exercise Training Program

Participants trained under supervision on a cycle ergometer (Universal aerobiccycle) for 60 sessions over a 20-week period as detailed previously.¹⁰⁹ Participants could not exercise more than once a day or more than 4 times per week. As well, they could not get ahead by >2 sessions or fall behind by >2 sessions. Participants who knew that they might miss a few sessions were encouraged to train 4 times per week for 2 weeks to build up a reserve. Program adherence was monitored several times per week. To determine each person's training intensity, heart rate (HR), power output (PO), and oxygen intake (VO₂) obtained during the 3 baseline cycle ergometer tests were plotted to determine the average HR and power output associated with 55%, 65%, 70%, and 75% of his/her maximum VO₂ (VO₂max) before training. These HR and PO values were then used throughout the training program. The first 2 weeks sessions began at an HR associated with 55% VO₂max for 30 min. Either duration or intensity was then increased each 2 wk until the 14th wk of training, where participants exercised at the HR associated with 75% VO₂max for 50 min. This was then maintained for the last 6 wk.

Anthropometric Measures and Body Composition

Pre and post training program measures of body weight, standing height, and waist circumferences were taken according to standardized procedures.⁶ Body mass index was calculated from weight and height. Percent body fat was calculated from body density measurements by the hydrostatic weighing technique.¹¹⁰ Gender and race specific equations were used to determine the relative body fat as described elsewhere.¹¹¹⁻¹¹⁴ Fat mass was obtained by multiplying body weight by percent body fat. All these measurements are highly reproducible, with no difference between clinical centers and no drift over time.¹¹⁰

Plasma Lipids and Plasma Sterols Measurements

Twelve hour fasting blood samples were collected twice before and after (24 and 72 hours post training) the 20-week exercise program. Samples were obtained in the follicular phase of the menstrual cycle in pre-menopausal women.⁶ Assessments of the lipid profile by ultracentrifugation were performed according to standardized protocols.^{115;116} Plasma lipid concentrations were analyzed using the average of the two measurements pre and post training. Plasma sterols were measured on one sample pre and one sample post training (24 hours after the last training period) by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) as described elsewhere,^{48;117} using an Agilent chromatograph carrying a Restek RTX-5 capillary column. Plasma lathosterol, campesterol and β -sitosterol concentrations are normalized as a ratio to total plasma cholesterol levels, considering the non-cholesterol sterols are transported in plasma by lipoproteins,⁴⁸ and are presented as such. Similar results were obtained when non-cholesterol sterols were not expressed as a ratio to plasma cholesterol concentrations (not shown).

Statistical analysis

All data were analyzed using SAS v.9.3 (SAS Institute Inc., Cary NC). Non-cholesterol sterols and triglycerides data were logarithmically transformed before analysis to normalize their distribution. Mixed models for repeated measures in SAS were used to characterize changes over time in outcome variables with time (post vs. pre training) as main effect and subject ID as random effect. Exercise training*race and exercise training*gender interactions were included and considered a priori in all analyses and were further investigated when statistically significant. Spearman correlation analysis was used to investigate relationships between changes in non-cholesterol sterols and in anthropometric and lipid variables with training. Data are reported as means \pm SD unless stated otherwise. Differences were considered significant at $P \leq 0.05$.

Results

Subjects' characteristics before and after the 20-wk training program are shown in Table 1. Approximately a third of the participants (31.8%) were of Afro-American origin, 54.6% were women and 13.6% of the women were post-menopausal. As shown in Table 1, the 20-wk exercise training program significantly reduced body weight, BMI, waist circumference and fat mass (all $p < 0.001$). $VO_2\text{max}$ increased in average by 16.5% ($p < 0.001$). The effect of the 20-wk training program on blood lipids has also been reported previously⁹⁴. Total plasma cholesterol concentrations showed a non significant 0.8% increase ($p = 0.06$) when adjusted for age, sex, race, baseline values and changes in waist girth following the training program, largely due to the significant 3.9% increase in plasma HDL-C concentrations ($p < 0.001$). There was however no change in plasma LDL-cholesterol levels with training ($p = 0.51$).

Plasma lathosterol concentrations were significantly decreased by 2.5% after the training program ($p = 0.002$ after adjustment for sex, race, baseline values and change in waist girth). Plasma campesterol concentrations did not change significantly after the training program ($p = 0.20$) while β -sitosterol levels increased by 1.6% ($p = 0.01$). The sum of plasma campesterol and β -sitosterol concentrations also tended to increase after training ($p = 0.0557$). Finally, campesterol, β -sitosterol and total plant sterols when normalized to plasma lathosterol levels all increased significantly in response to exercise training by 1.4%, 4.0%, and 2.8%, respectively (all p values < 0.001).

Significant positive correlations between lathosterol change and changes in weight ($r = 0.19$, $p < 0.001$), waist circumference ($r = 0.15$, $p < 0.001$) and fat mass ($r = 0.14$, $p < 0.001$) were found. Changes in surrogate markers of absorptions showed no such associations. Change in plasma lathosterol concentrations with training positively correlated with concurrent variations in plasma campesterol ($r = 0.14$, $p < 0.001$), β -sitosterol ($r = 0.18$, $p < 0.001$), and total plant sterol concentration ($r = 0.16$, $p < 0.001$).

As shown in Figure 1, race was a significant determinant of the response of lathosterol to endurance exercise training ($p=0.04$). The reduction in plasma lathosterol concentration with exercise was more pronounced in subjects of Afro-American origin than in Caucasian even after adjustments for age, sex baseline values and waist circumference changes. No race*exercise training interaction were observed for markers of intestinal cholesterol absorption ($p>0.05$, not shown).

As shown in Figure 2, baseline plasma non-cholesterol sterols concentrations predicted their respective response endurance exercise training. In general, subjects with lower estimates of endogenous synthesis (lathosterol) and intestinal absorption (campesterol, β -sitosterol, the sum of the two) at baseline showed increases in these surrogate markers of cholesterol homeostasis after training and inversely, those with high values at baseline showed reductions.

Comment

The aim of this study was to investigate the effects of endurance exercise training on cholesterol synthesis and absorption in a heterogeneous and large sample of men and women from the HERITAGE Family Study. To the best of our knowledge, this is the first study of this magnitude on this topic that also documents how sex and ethnicity modulate the impact of long-term exercise training on surrogate markers of cholesterol homeostasis.

Our data suggest that sustained endurance exercise training leads to a significant reduction in endogenous cholesterol synthesis as evidenced by decreased plasma levels of lathosterol, independent of age, sex, race, baseline levels and changes in waist circumference. The 2.5% reduction in estimated cholesterol synthesis with endurance exercise is comparable in magnitude to data from Wilund *et al.* who observed a non significant 2.6% reduction in plasma lathosterol concentrations with endurance exercise.⁹⁹ Their much smaller sample

size (n=65 vs. 648 in the present study) explains the difference in significance between the two studies. Our data also suggest that endurance training leads to small but significant increases in intestinal cholesterol absorption as emphasized by significant elevations in plasma β -sitosterol (+1.6%) and in the sum of plasma β -sitosterol and campesterol concentrations (+1.2%). These changes are also consistent with those observed by Wilund *et al.* (+10%) although smaller in magnitude.⁹⁹ Varady *et al.* observed no change in cholesterol absorption or synthesis after exercise training in subjects with mild hypercholesterolemia.⁹⁸ The shorter program of exercise implemented in their study (8 weeks), the smaller number of subjects and the difference in methods used to assess cholesterol absorption and synthesis (single stable isotope) should be considered when comparing our study with that from Varady *et al.* Our study finally indicated that the ratios of plasma campesterol, β -sitosterol and total plant sterols to plasma lathosterol concentration increased with endurance exercise, suggesting that the increase in estimated cholesterol absorption remained significant even when normalized to changes in estimated endogenous cholesterol synthesis.

Hong *et al.* have shown that weight loss in itself, independent of race and presence of metabolic syndrome, leads to many improvements in CVD risk factors including blood pressure as well plasma glucose and lipids.¹¹⁸ Varady *et al.* observed a negative correlation between the change in body weight and the change in endogenous cholesterol synthesis with training and phytosterol supplementation, while Wilund *et al.* showed no correlation with synthesis change but an inverse correlation between absorption change and weight change with training.^{98,99} In the present study, the magnitude of the reduction in estimated endogenous cholesterol synthesis with endurance exercise training correlated with concurrent changes in weight, waist circumference and fat mass. However, data also indicated that the effect of endurance exercise training on reducing endogenous cholesterol synthesis was independent of weight loss. Finally, the increase in estimated cholesterol absorption seen after endurance exercise training did not correlate with changes in anthropometric measurements. This suggests that endurance exercise training may have effects on cholesterol homeostasis independent of its impact on body weight and fat. Again,

the much larger sample size used in the present study vs. previous ones allowed us to have much more statistical power to document such inter-relationship between exercise induced change in cholesterol homeostasis and change in body weight.

Afro-American subjects showed greater exercise-induced reductions in estimated endogenous cholesterol synthesis than Caucasian men and women, despite having lower baseline values. Considering that reduction in cholesterol synthesis is generally compensated by an opposite increase in cholesterol absorption,²⁶ we expected that race would also modulate the response in cholesterol absorption to exercise training, but this was not the case. To our knowledge, no other study has investigated how ethnicity may modulate the cholesterol homeostasis response to endurance exercise training. Bosner *et al.* have shown that cholesterol absorption was higher in Afro-American subjects than any other racial group, independent of several co-variables such as plasma leptin level, percent body fat, dietary fiber and cholesterol intake, and apoE genotype²⁹ but physical activity and exercise were not considered in their model. Chen *et al.* evaluated the contribution of genetic variation in the rate limiting enzyme in endogenous cholesterol synthesis, HMG-CoA reductase (HMGCR), to lipids and lipoprotein subfraction in a large sample of subjects from different ethnicities.⁸⁵ HMGCR gene variation was associated with multiple lipid/lipoprotein traits and the impact of the genetic variance differed greatly among ethnicities. The study did not analyze the effect of HMGCR gene polymorphisms on cholesterol absorption nor synthesis. However, because of the important role of HMG-CoA reductase in cholesterol homeostasis, it is possible that such genotype differences between Afro-Americans and Caucasians may have modulated their response of cholesterol synthesis to endurance exercise training. This apparent race-dependent effect of exercise training on cholesterol synthesis was not paralleled by differences in exercise-training induced changes in plasma cholesterol concentration. Because changes in intestinal cholesterol absorption were similar in both ethnic groups, other compensatory mechanisms must be implicated. Stolinski *et al.* have shown that 6 month of supervised aerobic exercise led to a trend towards an increase in LDL clearance in type 2 diabetic patients.¹⁰² Surrogates of LDL clearance were not measured in the present study and potential ethnic

specific effects on LDL clearance have not yet been investigated to our knowledge. It is possible endurance exercise training has different effects on the clearance rate of cholesterol in Afro-American and Caucasian subjects and this needs further investigation in the future.

The present study suggests that baseline status may influence the sensitivity of the cholesterol homeostasis response to endurance exercise training. Rideout *et al.* demonstrated that there are responders and non-responders to a dietary phytosterols treatment targeting LDL reductions,¹¹⁹ with responders having a lower basal cholesterol synthesis than non-responders. Maeda *et al.* showed that responders and non-responders to the cholesterol absorption pharmacological inhibitor ezetimibe had different Newman Pick Cell 1L1 genotypes that influenced cholesterol absorption profile.¹²⁰ The extent to which genotypic variations in genes involved in intracellular enterocyte cholesterol flux influence the response to exercise training will have to be investigated in future studies.

Whether the changes seen in HERITAGE regarding the effect of endurance exercise training on cholesterol homeostasis are beneficial from a cardiovascular health perspective needs to be discussed. First, exercise is unanimously recognized to have beneficial effects on several cardiovascular blood lipid risk factors and to reduce the risk of CVD⁹⁶ but has generally been shown to have little if no effect on plasma LDL-C.⁹⁰ In our study, the change in synthesis and absorption did not correlate with LDL-C change but still, endurance exercise being associated with several other cardiometabolic benefits as reduction of hypertension, insulin-resistance and glucose intolerance,⁹⁰ it can be suggested that the change in cholesterol homeostasis we observed may play a part in these benefits. Simonen *et al.* have shown in obese diabetic subjects that weight loss was associated with an increase in surrogate markers of cholesterol absorption but with no change in LDL-C.¹⁰⁷ These results suggest that even if plasma LDL-C concentrations do not change, mechanisms underlying cholesterol homeostasis may be at play. Metabolic syndrome, insulin resistance, type 2 diabetes, obesity and cardiovascular disease have also been associated with an increased endogenous cholesterol synthesis and reduced intestinal

cholesterol absorption in multiple studies.^{44;50;55;106-108;121-124} This again supports the notion that exercise may have additional cardiovascular benefits by being associated with reduced endogenous cholesterol synthesis and increased intestinal cholesterol absorption. There are, however, contradicting studies suggesting reduced cholesterol synthesis and increased cholesterol absorption in type 1 diabetes,¹²⁵ increased cholesterol absorption in patients subjects with CVD,³⁹ and a higher risk of CVD in subjects with a low cholesterol synthesis and high cholesterol absorption.⁴³ This raises the question as to whether comparing the cholesterol homeostasis profile of different groups of patients/subjects is similar in terms of cardiovascular health implications to inducing changes in cholesterol homeostasis in these patients. In that regard, there are undisputable data indicating that therapeutic modalities such as statins that are associated with reduced cholesterol synthesis and increased cholesterol absorption lead to very significant cardiovascular benefits.

This study has strength and limitations that need to be emphasized. First, HERITAGE did not include a control group. Thus, the small but significant changes in surrogate markers of cholesterol homeostasis seen with exercise training over 20 weeks may be attributed, at least in part, to the effect of time per se. There was also no control over the dietary factors in the present study. Changes of at least 460mg/d of dietary phytosterol have been suggested to influence surrogate markers of cholesterol homeostasis.^{59;98} However, studies have shown that a typical North American diet usually contains between 78 to 500mg/d,⁵⁹ leaving little possibilities that within subject dietary changes may have been large enough to affect these outcomes in the present study. It is also recognized that although validated, plasma lathosterol and plant sterols concentrations are indirect markers of synthesis and absorption and whether similar results would have been generated using direct measures in this large sample is unknown. On the other hand HERITAGE is one of the largest controlled study of exercise training ever done. The inclusion of men and women from various ethnic also represent a key aspect of the present analyses.

In summary, results of our study suggest that 20 weeks of endurance exercise training decreases cholesterol synthesis marker and reciprocally increases markers of intestinal

cholesterol absorption, in healthy and sedentary men and women. These changes are independent of weight loss with exercise. Cholesterol synthesis response to exercise was influenced by race, Afro- Americans showing a greater reduction with exercise than Caucasian subjects. These changes in cholesterol homeostasis are thought to be beneficial from a cardiovascular standpoint, despite the lack of change in plasma LDL-C concentrations, but this hypothesis needs further investigation.

References

- 1 . Halverstadt A, Phares DA, Wilund KR, Goldberg AP, Hagberg JM. 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):444-450.
- 2 . Thompson PD. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(8):1319-1321.
- 3 . Despres JP, Lamarche B. Low-intensity endurance exercise training, plasma lipoproteins and the risk of coronary heart disease. *J Intern Med*. 1994;236(1):7-22.
- 4 . Gylling H, Strandberg T, Tilvis R, Miettinen TA. Regulation of serum cholesterol level in middle-aged and elderly men. Relation of cholesterol absorption and synthesis to lipoprotein metabolism. *Arterioscler Thromb*. 1994;14(5):694-700.
- 5 . Miettinen TA, Kesaniemi YA. Cholesterol absorption: regulation of cholesterol synthesis and elimination and within-population variations of serum cholesterol levels. *Am J Clin Nutr*. 1989;49(4):629-635.
- 6 . Matthan NR, Lichtenstein AH. Approaches to measuring cholesterol absorption in humans. *Atherosclerosis*. 2004;174(2):197-205.
- 7 . Escuriol V, Cofan M, Moreno-Iribas C et al. Phytosterol plasma concentrations and coronary heart disease in the prospective Spanish EPIC cohort. *J Lipid Res*. 2010;51(3):618-624.

- 8 . Matthan NR, Pencina M, LaRocque JM et al. Alterations in cholesterol absorption/synthesis markers characterize Framingham offspring study participants with CHD. *J Lipid Res.* 2009;50(9):1927-1935.
- 9 . Kempen HJ, Glatz JF, Gevers Leuven JA, van der Voort HA, Katan MB. Serum lathosterol concentration is an indicator of whole-body cholesterol synthesis in humans. *J Lipid Res.* 1988;29(9):1149-1155.
- 10 . Pfohl M, Schreiber I, Liebich HM, Haring HU, Hoffmeister HM. Upregulation of cholesterol synthesis after acute myocardial infarction--is cholesterol a positive acute phase reactant? *Atherosclerosis.* 1999;142(2):389-393.
- 11 . Matthan NR, Giovanni A, Schaefer EJ, Brown BG, Lichtenstein AH. Impact of simvastatin, niacin, and/or antioxidants on cholesterol metabolism in CAD patients with low HDL. *J Lipid Res.* 2003;44(4):800-806.
- 12 . Chan DC, Watts GF, Barrett PH, O'Neill FH, Thompson GR. Plasma markers of cholesterol homeostasis and apolipoprotein B-100 kinetics in the metabolic syndrome. *Obes Res.* 2003;11(4):591-596.
- 13 . Simonen P, Gylling H, Howard AN, Miettinen TA. Introducing a new component of the metabolic syndrome: low cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(1):82-88.
- 14 . Sutherland WH, Scott RS, Lintott CJ, Robertson MC, Stapely SA, Cox C. Plasma non-cholesterol sterols in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Horm Metab Res.* 1992;24(4):172-175.

- 15 . Wilund KR, Feeney LA, Tomayko EJ, Weiss EP, Hagberg JM. Effects of endurance exercise training on markers of cholesterol absorption and synthesis. *Physiol Res.* 2009;58(4):545-552.
- 16 . Bouchard C, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Gagnon J. The HERITAGE family study. Aims, design, and measurement protocol. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27(5):721-729.
- 17 . Skinner JS, Wilmore KM, Krasnoff JB et al. Adaptation to a standardized training program and changes in fitness in a large, heterogeneous population: the HERITAGE Family Study. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(1):157-161.
- 18 . Wilmore JH, Stanforth PR, Domenick MA et al. Reproducibility of anthropometric and body composition measurements: the HERITAGE Family Study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997;21(4):297-303.
- 19 . Lohman TG. Applicability of body composition techniques and constants for children and youths. *Exerc Sport Sci Rev.* 1986;14:325-357.
- 20 . Ortiz O, Russell M, Daley TL et al. Differences in skeletal muscle and bone mineral mass between black and white females and their relevance to estimates of body composition. *Am J Clin Nutr.* 1992;55(1):8-13.
- 21 . Schutte JE, Townsend EJ, Hugg J, Shoup RF, Malina RM, Blomqvist CG. Density of lean body mass is greater in blacks than in whites. *J Appl Physiol.* 1984;56(6):1647-1649.
- 22 . Siri WE. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. 1961. *Nutrition.* 1993;9(5):480-491.

- 23 . BURSTEIN M, SAMAILLE J. [On a rapid determination of the cholesterol bound to the serum alpha- and beta-lipoproteins]. *Clin Chim Acta*. 1960;5:609.
- 24 . HAVEL RJ, EDER HA, BRAGDON JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest*. 1955;34(9):1345-1353.
- 25 . Ntanios FY, Jones PJ. Effects of variable dietary sitostanol concentrations on plasma lipid profile and phytosterol metabolism in hamsters. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1390(3):237-244.
- 26 . Leon AS, Rice T, Mandel S et al. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. *Metabolism*. 2000;49(4):513-520.
- 27 . Varady KA, Houweling AH, Jones PJ. Effect of plant sterols and exercise training on cholesterol absorption and synthesis in previously sedentary hypercholesterolemic subjects. *Transl Res*. 2007;149(1):22-30.
- 28 . Hong K, Li Z, Wang HJ, Elashoff R, Heber D. Analysis of weight loss outcomes using VLCD in black and white overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29(4):436-442.
- 29 . Santosa S, Varady KA, AbuMweis S, Jones PJ. Physiological and therapeutic factors affecting cholesterol metabolism: does a reciprocal relationship between cholesterol absorption and synthesis really exist? *Life Sci*. 2007;80(6):505-514.

- 30 . Bosner MS, Lange LG, Stenson WF, Ostlund RE, Jr. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J Lipid Res.* 1999;40(2):302-308.
- 31 . Chen YC, Chen YD, Li X et al. The HMG-CoA reductase gene and lipid and lipoprotein levels: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Lipids.* 2009;44(8):733-743.
- 32 . Stolinski M, Alam S, Jackson NC et al. Effect of 6-month supervised exercise on low-density lipoprotein apolipoprotein B kinetics in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008;57(11):1608-1614.
- 33 . Rideout TC, Harding SV, Mackay D, Abumweis SS, Jones PJ. High basal fractional cholesterol synthesis is associated with nonresponse of plasma LDL cholesterol to plant sterol therapy. *Am J Clin Nutr.* 2010;92(1):41-46.
- 34 . Maeda T, Honda A, Ishikawa T et al. A SNP of NPC1L1 affects cholesterol absorption in Japanese. *J Atheroscler Thromb.* 2010;17(4):356-360.
- 35 . Miettinen TA, Gylling H, Raitakari OT, Hallikainen M, Viikari J. Adolescent cholesterol metabolism predicts coronary risk factors at middle age: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Transl Res.* 2008;151(5):260-266.
- 36 . Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. *Atherosclerosis.* 2000;153(1):241-248.
- 37 . Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol synthesis and absorption in coronary patients with lipid triad and isolated high LDL cholesterol in a 4S subgroup. *Atherosclerosis.* 2003;168(2):343-349.

- 38 . Noto D, Cefalu AB, Barraco G et al. Plasma non-cholesterol sterols: a useful diagnostic tool in pediatric hypercholesterolemia. *Pediatr Res.* 2010;67(2):200-204.
- 39 . Pihlajamaki J, Gylling H, Miettinen TA, Laakso M. Insulin resistance is associated with increased cholesterol synthesis and decreased cholesterol absorption in normoglycemic men. *J Lipid Res.* 2004;45(3):507-512.
- 40 . Smahelova A, Hyspler R, Haas T, Ticha A, Blaha V, Zadak Z. Effect of atorvastatin on non-cholesterol sterols in patients with type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Pharmacol Res.* 2005;51(1):31-36.
- 41 . Miettinen TA, Gylling H, Tuominen J, Simonen P, Koivisto V. Low synthesis and high absorption of cholesterol characterize type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27(1):53-58.
- 42 . Assmann G, Cullen P, Erbey J, Ramey DR, Kannenberg F, Schulte H. Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case-control analysis of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006;16(1):13-21.
- 43 . Silbernagel G, Fauler G, Renner W et al. The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *J Lipid Res.* 2009;50(2):334-341.
- 44 . Racette SB, Lin X, Lefevre M et al. Dose effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism: a controlled feeding study. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(1):32-38.

Table and Figures

Table 1: Subjects characteristics at baseline and effects of the 20-week endurance exercise training program on plasma cholesterol and surrogate markers of cholesterol homeostasis

	Pre		Post		% Δ	P1	P2
	Mean	SD	Mean	SD			
No of subject	648		-		-	-	-
Black (%)	31.8		-		-	-	-
Women (%)	54.6		-		-	-	-
Post-menopausal women (%)	13.6		-		-	-	-
Age (y)	35.3	± 13.8	-		-	-	-
Body weight (kg)	75.8	± 17.1	75.5	± 17.0	-0.4%	<0.001	0.01
Body mass index (kg/m ²)	26.3	± 5.2	26.2	± 5.2	-0.5%	<0.001	0.004
Waist circumference (cm)	90.2	± 14.9	89.2	± 14.7	-1.1%	<0.001	<0.001
Body fat mass (kg)	21.4	± 11.2	20.9	± 11.1	-3.6%	<0.001	<0.001
VO2 max (l/min)	2.4	± 0.7	2.7	± 0.8	16.5%	<0.001	<0.001
Total cholesterol (mmol/L)	4.42	± 0.93	4.46	± 0.93	0.8%	0.03	0.06
LDL-C (mmol/L)	2.95	± 0.79	2.95	± 0.79	0.3%	0.53	0.51
HDL-C (mmol/L)	1.06	± 0.28	1.10	± 0.29	3.9%	<0.001	<0.001
Triglycerides (mmol/L)	1.26	± 0.75	1.23	± 0.76	-2.3%	0.02	<0.001
Lathosterol/cholesterol (μmol/mmol x 10 ²)	160.7	± 75.7	156.7	± 74.5	-2.5%	0.03	0.002
Campesterol/cholesterol (μmol/mmol x 10 ²)	127.9	± 58.1	128.8	± 56.9	0.7%	0.19	0.20
β-Sitosterol/cholesterol (μmol/mmol x 10 ²)	145.0	± 65.0	147.3	± 63.1	1.6%	0.04	0.01
Campesterol/cholesterol + β-Sitosterol/cholesterol (μmol/mmol x 10 ²)	272.8	± 116.8	276.0	± 114.4	1.2%	0.08	0.056
Campesterol/Lathosterol (μmol)	1.10	± 1.06	1.12	± 1.01	1.4%	0.007	<0.001
Sitosterol/Lathosterol (μmol)	1.27	± 1.06	1.32	± 1.18	4.0%	<0.001	<0.001
Total plant sterols/Lathosterol (μmol)	2.37	± 1.98	2.44	± 2.08	2.8%	0.003	<0.001

P1: Unadjusted Post vs. Pre training P value;

P2: Post vs. pre training P value adjusted for age, sex, race, baseline values and changes in waist circumference (except for variables related to anthropometry).

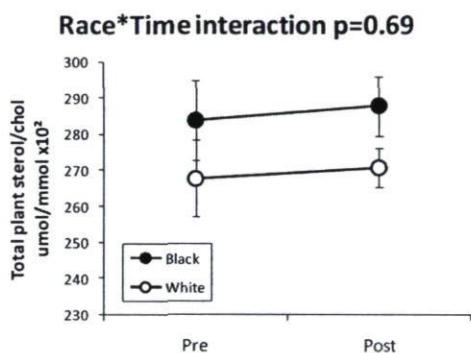
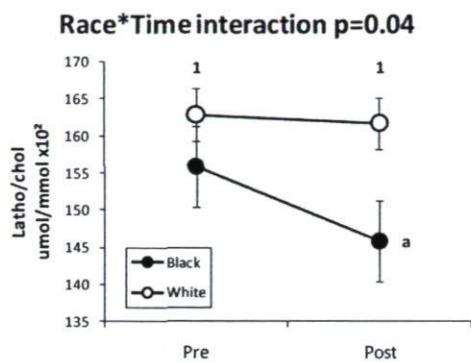


Figure 1. Race*time interaction for lathosterol/cholesterol ratio and total plant sterols/cholesterol ratio. 1: Different from blacks at each time point, $p < 0.05$. **a:** Significant post vs pre difference, $p < 0.01$. Pre and post training marker's values are presented in each race group. Error bars represent standard error of mean.

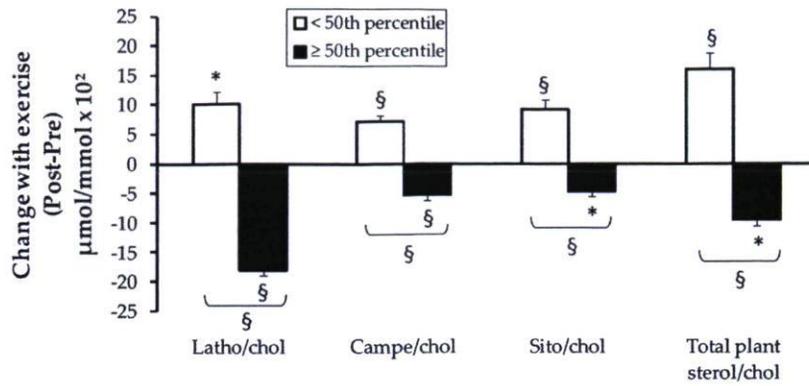


Figure 2. Mean cholesterol homeostasis markers change stratified by low or high baseline values. Groups are divided from the 50th percentile of each corresponding marker's baseline values. Post vs. pre training P value are adjusted for age, sex, race, and baseline values. All groups are significantly different within markers, p<0.001. Statistically significant at * :p<0.05 ; § :p<0.001. Error bars represent standard error of mean.

Chapitre IV

Conclusion

La présente étude avait pour objectif d'étudier l'impact de l'exercice physique sur l'homéostasie du cholestérol. Les échantillons plasmatiques de 648 sujets de l'étude HERITAGE, en santé et sédentaires, ayant suivi un programme d'entraînement de 20 semaines, ont été analysés afin de mesurer les marqueurs de synthèse et d'absorption du cholestérol. Les hypothèses de recherche à la base de ce projet étaient que : 1) l'exercice physique en endurance est associé à une diminution réciproque des concentrations plasmatiques de lathostérol, reflétant une diminution de la synthèse hépatique de cholestérol; 2) l'exercice physique en endurance est associé à une augmentation des concentrations plasmatiques de campestérol et de β -sitostérol, reflétant une absorption accrue de cholestérol par l'intestin; 3) ces réponses à l'exercice physique en endurance sont les mêmes chez l'homme et chez la femme ainsi que chez les Caucasiens et les Afro-Américains.

Les résultats obtenus permettent de confirmer l'hypothèse numéro un. En effet, l'exercice physique en endurance a entraîné une diminution de la synthèse endogène de cholestérol, estimé par la diminution significative des concentrations plasmatiques de lathostérol.

L'hypothèse numéro deux a également été confirmée. L'exercice physique en endurance a entraîné une augmentation de l'absorption intestinale de cholestérol, reflété par l'augmentation significative des concentrations plasmatiques de β -sitostérol ainsi que par la forte tendance à la hausse des concentrations plasmatiques de phytostérols totaux.

Il est important de noter ici que l'augmentation de l'absorption observée est demeurée significative même lorsque les changements d'absorption étaient normalisés sur les changements de synthèse, tel qu'exprimé par l'augmentation des ratios de campestérol, de

β -sitostérol et de phytostérols totaux plasmatiques sur le lathostérol plasmatique. Ceci suggère que les changements de synthèse ne compensent pas nécessairement proportionnellement ceux d'absorption malgré la tendance observée dans la littérature d'une réponse opposée entre ces deux mécanismes (voir section 1.9 du chapitre II).

Ces changements observés soulèvent la question à savoir si une réduction de la synthèse et une augmentation de l'absorption de cholestérol sont bénéfiques d'un point de vue cardiovasculaire malgré une invariabilité du LDL-C, une cible pourtant prioritaire dans la prévention des MCV. Considérons premièrement que l'exercice physique en endurance est reconnu unanimement pour ses bénéfices sur la santé cardiovasculaire (voir section 2.1 du chapitre II) et que les travaux ci-présents ont montré que l'exercice physique en endurance a également comme impact de diminuer la synthèse et d'augmenter l'absorption de cholestérol. D'autre part, le traitement de facteurs de risque des MCV, tels que le diabète et l'obésité, entraîne un rétablissement de l'homéostasie du cholestérol marqué par une diminution des niveaux de synthèse et une augmentation des niveaux d'absorption de cholestérol,^{54;107} reflet de ce qu'on a observé dans la présente étude. De plus, des traitements pharmacologiques tels que les statines, discutées dans la section 1.9.4 du chapitre II, visant l'amélioration du risque cardiovasculaire sont également associés à une diminution de la synthèse et une augmentation de l'absorption du cholestérol.¹²⁶ En résumé, l'activité physique en endurance, le traitement de facteurs de risque des MCV et les statines sont tous bénéfiques d'un point de vue cardiovasculaire et sont tous reliés à une diminution de la synthèse et une augmentation de l'absorption de cholestérol. On peut donc suggérer que les changements dans l'homéostasie du cholestérol observé dans ce projet de maîtrise sont bénéfiques d'un point de vue de la santé cardiovasculaire malgré l'invariabilité du LDL-C.

Quant à l'hypothèse numéro trois, il n'est possible de la confirmer que partiellement. En effet, la réponse à l'exercice physique en endurance des marqueurs de synthèse et d'absorption a été la même chez l'homme et la femme mais pas chez les Caucasiens et les Afro-Américains. Les Afro-Américains n'ont pas répondu de la même façon que les

Caucasiens au niveau de la synthèse. Ils ont montré une plus grande diminution de la synthèse malgré des niveaux initiaux de synthèse déjà plus faibles que les Caucasiens.

Afin de mieux corroborer nos résultats avec les deux seules autres études ayant analysé l'effet de l'exercice physique en endurance sur la synthèse et l'absorption de cholestérol, il est primordial d'isoler nos résultats obtenus avec les Afro-Américains de ceux obtenus avec les Caucasiens. En effet, les deux autres études ayant été réalisées avec des sujets caucasiens uniquement, il serait plus pertinent de les comparer avec nos résultats de sujets caucasiens. Rappelons que Varady *et al.* (2007)⁹⁸ n'ont observé aucun changement ni dans la synthèse, ni dans l'absorption de cholestérol, et que Wilund *et al.* (2009)⁹⁹ n'ont observé qu'une augmentation de l'absorption avec l'exercice. Dans notre étude, les Caucasiens isolés n'ont montré aucun changement de la synthèse ni de l'absorption, tel qu'illustré dans la figure 1 de l'article présenté dans le chapitre III. Ces résultats soutiennent donc ceux de Varady *et al.* (2007) et ceux de Wilund *et al.* (2009) au niveau de la synthèse.

Outre l'analyse de la synthèse endogène et de l'absorption intestinale, un autre mécanisme présenté dans le chapitre II est impliqué dans l'homéostasie du cholestérol et aurait permis de mieux cerner tout l'impact de l'exercice physique en endurance sur cette homéostasie. La mesure de la clairance du cholestérol complèterait en effet la compréhension de la réponse des marqueurs de synthèse et d'absorption de cholestérol observée dans cette présente étude. Considérant que nous avons observé une différence raciale au niveau des changements de la synthèse qui n'a été répétée ni au niveau des changements d'absorption ni au niveau des changements des concentrations de cholestérol plasmatique, on peut supposer que les autres mécanismes impliqués pourraient inclure la clairance de cholestérol. Dans la littérature, la clairance des LDL semble augmenter avec l'exercice physique.^{101;102} Il serait donc intéressant de mesurer cette clairance de LDL au cours d'investigations futures et d'analyser la relation entre celle-ci et les marqueurs de synthèse et d'absorption de cholestérol. On pourra peut-être alors avancer que la différence observée entre les Afro-Américains et les Caucasiens s'explique par une clairance différente. De plus, l'augmentation de la clairance de LDL pourrait être due à une augmentation du

nombre ou de l'activité des récepteurs LDL.¹⁰⁰ Cela nous amènerait également à évaluer l'expression du gène *proprotein convertase subtilisin/kexin type 9* (PCSK9), une enzyme reconnue pour favoriser la dégradation des récepteurs LDL.^{127;128}

Toujours dans le thème des différences raciales, le tissu adipeux viscéral (TAV) est de plus en plus une cible dans la prévention des MCV et est reconnu pour varier selon la race, les Afro-Américains ayant une plus faible quantité de TAV que les Caucasiens (voir chapitre II). Étant donné cette disparité raciale présente autant au niveau du TAV que de l'homéostasie du cholestérol, il serait pertinent, d'autant plus que cette variable est disponible dans les données d'HERITAGE, d'étudier la relation pré-entraînement entre les niveaux de synthèse et d'absorption de cholestérol et les niveaux de TAV. Hypothétiquement, il sera peut-être possible d'observer des associations entre ces variables toutes reliées au risque de MCV, telle qu'un TAV élevé relié à une synthèse plus élevée. Par la suite, il serait également de mise d'analyser la relation entre les niveaux initiaux de TAV et la réponse des niveaux de synthèse et d'absorption de cholestérol à l'exercice, à savoir si un TAV plus élevé serait associé à une diminution plus grande de la synthèse et une augmentation plus grande de l'absorption.

L'étude HERITAGE a été conçue, rappelons-le, dans le but d'étudier le rôle du génotype dans la réponse cardiovasculaire, métabolique et hormonale à l'exercice aérobique, ainsi que la contribution de l'exercice régulier sur plusieurs facteurs de risque des MVC et du diabète. Les données disponibles dans cette étude sont donc plus que nombreuses et ouvrent la porte à plusieurs autres analyses. Dans la discussion de l'article présenté ci-haut, il est mentionné que la différence raciale observée dans la présente étude pourrait être reliée à des variances génétiques, notamment au niveau de l'enzyme limitante de la synthèse (HMG-CoA réductase). Il serait donc intéressant et possible d'investiguer davantage cette relation grâce aux données génétiques et aux échantillons sanguins disponibles d'HERITAGE. On pourrait ainsi explorer les différences génétiques raciales de plusieurs variables en lien avec la réponse de la synthèse et l'absorption. L'apoE, ABCG5/G8, NPC1L1, SREBP, ACAT2, FXR, Muc1, et SR-BI sont quelques facteurs reconnus pour

leur variance génétique pouvant affecter les mécanismes régulateurs du cholestérol, tel que discuté dans la section 1.9.5 du chapitre II, et seraient des cibles intéressantes d'investigations.

D'autres analyses reliées à la génétique qui pourraient être effectuées seraient de comparer les niveaux initiaux de synthèse endogène et d'absorption intestinale de cholestérol selon l'appartenance familiale des sujets ainsi que la ressemblance dans la réponse familiale des marqueurs d'homéostasie du cholestérol à l'exercice. En effet, si des différences raciales ont été observées dans cette cohorte au niveau des changements de la synthèse, peut-être existe-t-il également des différences ou des ressemblances familiales.

Enfin, des interactions de base ont été analysées dans cette étude (race*exercice et sexe*exercice) mais plusieurs autres interactions pourraient également être explorées. Étant nutritionniste de profession, il m'apparaît primordial d'explorer l'influence de la diète sur la réponse des marqueurs à l'exercice physique en endurance. Des journaux alimentaires ayant été faits dans l'étude HERITAGE, il serait possible d'évaluer par exemple si la consommation en gras saturés, une cible dans la prévention des MCV, ou encore si la surcharge calorique reliée à l'obésité affectent la synthèse et l'absorption de cholestérol.

En résumé, les conclusions qui peuvent être tirées de la présente étude sont les suivantes :

- 20 semaines d'exercice physique en endurance diminuent la synthèse et augmentent réciproquement l'absorption de cholestérol chez des sujets en santé et sédentaires
- Ces changements sont indépendants du sexe et de la perte de poids avec l'exercice
- La réponse de la synthèse de cholestérol est influencée par la race
- Ces changements semblent bénéfiques au niveau cardiovasculaire malgré l'invariabilité du LDL-C
- Les données disponibles dans l'étude HERITAGE ouvrent la porte vers de nombreuses investigations futures.

Bibliographie du mémoire

1. Lloyd-Jones D., Adams R.J., Brown T.M. *et al.* Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 121[7] e46-e215. **2010**.
2. Agence canadienne de la santé publique. Enquête sur la santé dans les collectivités canadiennes. **2007**.
3. D'Agostino R.B., Sr., Vasan R.S., Pencina M.J. *et al.* General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 117[6] 743-753. **2008**.
4. Suivi des maladies du coeur et des accidents vasculaires cérébraux au Canada. <http://www.fmcoeur.qc.ca/site/c.kpIQKVOxFoG/b.3669917/k.9F47/Statistiques.htm>. **2009**.
5. Maxfield F.R. and van Meer G. Cholesterol, the central lipid of mammalian cells. *Curr.Opin.Cell Biol.* 22[4] 422-429. **2010**.
6. Bouchard C., Leon A.S., Rao D.C. *et al.* The HERITAGE family study. Aims, design, and measurement protocol. *Med.Sci.Sports Exerc.* 27[5] 721-729. **1995**.
7. Gropper S.S., Smith J.L., and Groff J.L. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. 4th. Wadsworth, Thomson Learning, United States of America. **2005**.
8. Julien P. and Lamarche B. *Lipidologie I*. Centre de Recherche du CHUL, Québec. **2010**.
9. Ostlund R.E., Jr. Phytosterols and cholesterol metabolism. *Curr.Opin.Lipidol.* 15[1] 37-41. **2004**.
10. Whitney E. and Rolfes S.R. *Understanding Nutrition*. 4th. Wadsworth, Thomson Learning, United States of America. **2005**.
11. Tchernof A. *Biochimie de la Nutrition (NUT-7014)*. Université Laval, Département de Nutrition, Québec. **2010**.
12. Ikonen E. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat.Rev.Mol.Cell Biol.* 9[2] 125-138. **2008**.
13. Cohen D.E. Balancing cholesterol synthesis and absorption in the gastrointestinal tract. *J.Clin.Lipidol.* 2[2] S1-S3. **2008**.

14. Turley S.D. and Dietschy J.M. Sterol absorption by the small intestine. *Curr.Opin.Lipidol.* 14[3] 233-240. **2003**.
15. Calpe-Berdiel L., Escola-Gil J.C., and Blanco-Vaca F. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis.* 203[1] 18-31. **2009**.
16. Nelson D. and Cox m. *Lehninger's Principles of Biochemistry.* 4th. WH Freeman, New York. **2006**.
17. Megha, Bakht O., and London E. Cholesterol precursors stabilize ordinary and ceramide-rich ordered lipid domains (lipid rafts) to different degrees. Implications for the Bloch hypothesis and sterol biosynthesis disorders. *J.Biol.Chem.* 281[31] 21903-21913. **2006**.
18. Russell D.W. Cholesterol biosynthesis and metabolism. *Cardiovasc.Drugs Ther.* 6[2] 103-110. **1992**.
19. Kidambi S. and Patel S.B. Cholesterol and non-cholesterol sterol transporters: ABCG5, ABCG8 and NPC1L1: a review. *Xenobiotica.* 38[7-8] 1119-1139. **2008**.
20. Dietschy J.M. Theoretical considerations of what regulates low-density-lipoprotein and high-density-lipoprotein cholesterol. *Am.J.Clin.Nutr.* 65[5 Suppl] 1581S-1589S. **1997**.
21. Krieger M. Charting the fate of the "good cholesterol": identification and characterization of the high-density lipoprotein receptor SR-BI. *Annu.Rev.Biochem.* 68 523-558. **1999**.
22. Keller S. and Jahreis G. Determination of underivatized sterols and bile acid trimethyl silyl ether methyl esters by gas chromatography-mass spectrometry-single ion monitoring in faeces. *J.Chromatogr.B Analyt.Technol.Biomed.Life Sci.* 813[1-2] 199-207. **2004**.
23. Couto R.D., Dallan L.A., Lisboa L.A. *et al.* Deposition of free cholesterol in the blood vessels of patients with coronary artery disease: a possible novel mechanism for atherogenesis. *Lipids.* 42[5] 411-418. **2007**.
24. Wang Y., Jones P.J., Ausman L.M. *et al.* Soy protein reduces triglyceride levels and triglyceride fatty acid fractional synthesis rate in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis.* 173[2] 269-275. **2004**.
25. Miettinen T.A., Tilvis R.S., and Kesaniemi Y.A. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am.J.Epidemiol.* 131[1] 20-31. **1990**.

26. Santosa S., Varady K.A., AbuMweis S. *et al.* Physiological and therapeutic factors affecting cholesterol metabolism: does a reciprocal relationship between cholesterol absorption and synthesis really exist? *Life Sci.* 80[6] 505-514. **2007.**
27. Grundy S.M. and Ahrens E.H., Jr. Measurements of cholesterol turnover, synthesis, and absorption in man, carried out by isotope kinetic and sterol balance methods. *J.Lipid Res.* 10[1] 91-107. **1969.**
28. Wilson J.D. and Lindsey C.A., Jr. Studies on the influence of dietary cholesterol on cholesterol metabolism in the isotopic steady state in man. *J.Clin.Invest.* 44[11] 1805-1814. **1965.**
29. Bosner M.S., Lange L.G., Stenson W.F. *et al.* Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J.Lipid Res.* 40[2] 302-308. **1999.**
30. Jones P.J., Raeini-Sarjaz M., Ntanios F.Y. *et al.* Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J.Lipid Res.* 41[5] 697-705. **2000.**
31. Ostlund R.E., Jr. Phytosterols in human nutrition. *Annu.Rev.Nutr.* 22 533-549. **2002.**
32. Tilvis R.S. and Miettinen T.A. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *Am.J.Clin.Nutr.* 43[1] 92-97. **1986.**
33. Matthan N.R. and Lichtenstein A.H. Approaches to measuring cholesterol absorption in humans. *Atherosclerosis.* 174[2] 197-205. **2004.**
34. Chan Y.M., Varady K.A., Lin Y. *et al.* Plasma concentrations of plant sterols: physiology and relationship with coronary heart disease. *Nutr.Rev.* 64[9] 385-402. **2006.**
35. Escuriol V., Cofan M., Moreno-Iribas C. *et al.* Phytosterol plasma concentrations and coronary heart disease in the prospective Spanish EPIC cohort. *J.Lipid Res.* 51[3] 618-624. **2010.**
36. Fassbender K., Lutjohann D., Dik M.G. *et al.* Moderately elevated plant sterol levels are associated with reduced cardiovascular risk--the LASA study. *Atherosclerosis.* 196[1] 283-288. **2008.**
37. Pinedo S., Vissers M.N., von Bergmann K. *et al.* Plasma levels of plant sterols and the risk of coronary artery disease: the prospective EPIC-Norfolk Population Study. *J.Lipid Res.* 48[1] 139-144. **2007.**

38. Windler E., Zyriax B.C., Kuipers F. *et al.* Association of plasma phytosterol concentrations with incident coronary heart disease Data from the CORA study, a case-control study of coronary artery disease in women. *Atherosclerosis*. 203[1] 284-290. **2009**.
39. Assmann G., Cullen P., Erbey J. *et al.* Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case-control analysis of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Nutr.Metab Cardiovasc.Dis.* 16[1] 13-21. **2006**.
40. Glueck C.J., Speirs J., Tracy T. *et al.* Relationships of serum plant sterols (phytosterols) and cholesterol in 595 hypercholesterolemic subjects, and familial aggregation of phytosterols, cholesterol, and premature coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives. *Metabolism*. 40[8] 842-848. **1991**.
41. Mensink R.P. and Nestel P. Trans fatty acids and cardiovascular risk markers: does the source matter? *Curr.Opin.Lipidol.* 20[1] 1-2. **2009**.
42. Rajaratnam R.A., Gylling H., and Miettinen T.A. Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women. *J.Am.Coll.Cardiol.* 35[5] 1185-1191. **2000**.
43. Silbernagel G., Fauler G., Renner W. *et al.* The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *J.Lipid Res.* 50[2] 334-341. **2009**.
44. Matthan N.R., Pencina M., LaRocque J.M. *et al.* Alterations in cholesterol absorption/synthesis markers characterize Framingham offspring study participants with CHD. *J.Lipid Res.* 50[9] 1927-1935. **2009**.
45. Wilund K.R., Yu L., Xu F. *et al.* No association between plasma levels of plant sterols and atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 24[12] 2326-2332. **2004**.
46. Kempen H.J., Glatz J.F., Gevers Leuven J.A. *et al.* Serum lathosterol concentration is an indicator of whole-body cholesterol synthesis in humans. *J.Lipid Res.* 29[9] 1149-1155. **1988**.
47. Pfohl M., Schreiber I., Liebich H.M. *et al.* Upregulation of cholesterol synthesis after acute myocardial infarction--is cholesterol a positive acute phase reactant? *Atherosclerosis*. 142[2] 389-393. **1999**.
48. Matthan N.R., Giovanni A., Schaefer E.J. *et al.* Impact of simvastatin, niacin, and/or antioxidants on cholesterol metabolism in CAD patients with low HDL. *J.Lipid Res.* 44[4] 800-806. **2003**.

49. Dattilo A.M. and Kris-Etherton P.M. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am.J.Clin.Nutr.* 56[2] 320-328. **1992.**
50. Miettinen T.A. and Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. *Atherosclerosis.* 153[1] 241-248. **2000.**
51. Miettinen T.A., Strandberg T.E., and Gylling H. Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients: relation to basal serum cholestanol. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20[5] 1340-1346. **2000.**
52. Stahlberg D., Rudling M., Angelin B. *et al.* Hepatic cholesterol metabolism in human obesity. *Hepatology.* 25[6] 1447-1450. **1997.**
53. Di Buono M., Hannah J.S., Katzell L.I. *et al.* Weight loss due to energy restriction suppresses cholesterol biosynthesis in overweight, mildly hypercholesterolemic men. *J.Nutr.* 129[8] 1545-1548. **1999.**
54. Simonen P., Gylling H., and Miettinen T.A. Acute effects of weight reduction on cholesterol metabolism in obese type 2 diabetes. *Clin.Chim.Acta.* 316[1-2] 55-61. **2002.**
55. Pihlajamaki J., Gylling H., Miettinen T.A. *et al.* Insulin resistance is associated with increased cholesterol synthesis and decreased cholesterol absorption in normoglycemic men. *J.Lipid Res.* 45[3] 507-512. **2004.**
56. Mel'nikov S.M., Seijen ten Hoorn J.W., and Eijkelenboom A.P. Effect of phytosterols and phytostanols on the solubilization of cholesterol by dietary mixed micelles: an in vitro study. *Chem.Phys.Lipids.* 127[2] 121-141. **2004.**
57. Vanstone C.A., Raeini-Sarjaz M., Parsons W.E. *et al.* Unesterified plant sterols and stanols lower LDL-cholesterol concentrations equivalently in hypercholesterolemic persons. *Am.J.Clin.Nutr.* 76[6] 1272-1278. **2002.**
58. Nissinen M.J., Gylling H., and Miettinen T.A. Responses of surrogate markers of cholesterol absorption and synthesis to changes in cholesterol metabolism during various amounts of fat and cholesterol feeding among healthy men. *Br.J.Nutr.* 99[2] 370-378. **2008.**
59. Racette S.B., Lin X., Lefevre M. *et al.* Dose effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism: a controlled feeding study. *Am.J.Clin.Nutr.* 91[1] 32-38. **2010.**
60. Gylling H., Radhakrishnan R., and Miettinen T.A. Reduction of serum cholesterol in postmenopausal women with previous myocardial infarction and cholesterol

malabsorption induced by dietary sitostanol ester margarine: women and dietary sitostanol. *Circulation*. 96[12] 4226-4231. **1997**.

61. Smith J.L., Roach P.D., Wittenberg L.N. *et al.* Effects of simvastatin on hepatic cholesterol metabolism, bile lithogenicity and bile acid hydrophobicity in patients with gallstones. *J.Gastroenterol.Hepatol.* 15[8] 871-879. **2000**.
62. Lennernas H. and Fager G. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. Similarities and differences. *Clin.Pharmacokinet.* 32[5] 403-425. **1997**.
63. Ray K.K. and Cannon C.P. Intensive statin therapy in acute coronary syndromes: clinical benefits and vascular biology. *Curr.Opin.Lipidol.* 15[6] 637-643. **2004**.
64. Gylling H. and Miettinen T.A. Inheritance of cholesterol metabolism of probands with high or low cholesterol absorption. *J.Lipid Res.* 43[9] 1472-1476. **2002**.
65. Jeu L. and Cheng J.W. Pharmacology and therapeutics of ezetimibe (SCH 58235), a cholesterol-absorption inhibitor. *Clin.Ther.* 25[9] 2352-2387. **2003**.
66. Sudhop T., Lutjohann D., Kodal A. *et al.* Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation*. 106[15] 1943-1948. **2002**.
67. Scheen A.J. and Lefebvre P.J. Pharmacological treatment of obesity: present status. *Int.J.Obes.Relat Metab Disord.* 23 Suppl 1 47-53. **1999**.
68. Muls E., Kolanowski J., Scheen A. *et al.* The effects of orlistat on weight and on serum lipids in obese patients with hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicentre study. *Int.J.Obes.Relat Metab Disord.* 25[11] 1713-1721. **2001**.
69. Zavoral J.H. Treatment with orlistat reduces cardiovascular risk in obese patients. *J.Hypertens.* 16[12 Pt 2] 2013-2017. **1998**.
70. Gylling H., Kontula K., and Miettinen T.A. Cholesterol absorption and metabolism and LDL kinetics in healthy men with different apoprotein E phenotypes and apoprotein B Xba I and LDL receptor Pvu II genotypes. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 15[2] 208-213. **1995**.
71. Miettinen T.A., Gylling H., Vanhanen H. *et al.* Cholesterol absorption, elimination, and synthesis related to LDL kinetics during varying fat intake in men with different apoprotein E phenotypes. *Arterioscler.Thromb.* 12[9] 1044-1052. **1992**.
72. Berge K.E., von Bergmann K., Lutjohann D. *et al.* Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J.Lipid Res.* 43[3] 486-494. **2002**.

73. Jakulj L., Vissers M.N., Tanck M.W. *et al.* ABCG5/G8 polymorphisms and markers of cholesterol metabolism: systematic review and meta-analysis. *J.Lipid Res.* 51[10] 3016-3023. **2010.**
74. Cohen J.C., Pertsemlidis A., Fahmi S. *et al.* Multiple rare variants in NPC1L1 associated with reduced sterol absorption and plasma low-density lipoprotein levels. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 103[6] 1810-1815. **2006.**
75. Davis H.R., Jr., Zhu L.J., Hoos L.M. *et al.* Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J.Biol.Chem.* 279[32] 33586-33592. **2004.**
76. Shimano H., Shimomura I., Hammer R.E. *et al.* Elevated levels of SREBP-2 and cholesterol synthesis in livers of mice homozygous for a targeted disruption of the SREBP-1 gene. *J.Clin.Invest.* 100[8] 2115-2124. **1997.**
77. Buhman K.K., Accad M., Novak S. *et al.* Resistance to diet-induced hypercholesterolemia and gallstone formation in ACAT2-deficient mice. *Nat.Med.* 6[12] 1341-1347. **2000.**
78. Lambert G., Amar M.J., Guo G. *et al.* The farnesoid X-receptor is an essential regulator of cholesterol homeostasis. *J.Biol.Chem.* 278[4] 2563-2570. **2003.**
79. Mardones P., Quinones V., Amigo L. *et al.* Hepatic cholesterol and bile acid metabolism and intestinal cholesterol absorption in scavenger receptor class B type I-deficient mice. *J.Lipid Res.* 42[2] 170-180. **2001.**
80. Despres J.P., Couillard C., Gagnon J. *et al.* Race, visceral adipose tissue, plasma lipids, and lipoprotein lipase activity in men and women: the Health, Risk Factors, Exercise Training, and Genetics (HERITAGE) family study. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20[8] 1932-1938. **2000.**
81. Kanaley J.A., Giannopoulou I., Tillapaugh-Fay G. *et al.* Racial differences in subcutaneous and visceral fat distribution in postmenopausal black and white women. *Metabolism.* 52[2] 186-191. **2003.**
82. Freedman D.S., Strogatz D.S., Eaker E. *et al.* Differences between black and white men in correlates of high density lipoprotein cholesterol. *Am.J.Epidemiol.* 132[4] 656-669. **1990.**
83. Johnson J.L., Slentz C.A., Duscha B.D. *et al.* Gender and racial differences in lipoprotein subclass distributions: the STRRIDE study. *Atherosclerosis.* 176[2] 371-377. **2004.**

84. Anand S.S., Yusuf S., Vuksan V. *et al.* Differences in risk factors, atherosclerosis, and cardiovascular disease between ethnic groups in Canada: the Study of Health Assessment and Risk in Ethnic groups (SHARE). *Lancet.* 356[9226] 279-284. **2000.**
85. Chen Y.C., Chen Y.D., Li X. *et al.* The HMG-CoA reductase gene and lipid and lipoprotein levels: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Lipids.* 44[8] 733-743. **2009.**
86. Pandit B., Ahn G.S., Hazard S.E. *et al.* A detailed Hapmap of the Sitosterolemia locus spanning 69 kb; differences between Caucasians and African-Americans. *BMC.Med.Genet.* 7 13. **2006.**
87. Blair S.N. and Jackson A.S. Physical fitness and activity as separate heart disease risk factors: a meta-analysis. *Med.Sci.Sports Exerc.* 33[5] 762-764. **2001.**
88. Lee I.M., Paffenbarger R.S., Jr., and Hennekens C.H. Physical activity, physical fitness and longevity. *Aging (Milano).* 9[1-2] 2-11. **1997.**
89. Powell K.E., Thompson P.D., Caspersen C.J. *et al.* Physical activity and the incidence of coronary heart disease. *Annu.Rev.Public Health.* 8 253-287. **1987.**
90. Thompson P.D. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 23[8] 1319-1321. **2003.**
91. Stefanick M.L., Mackey S., Sheehan M. *et al.* Effects of diet and exercise in men and postmenopausal women with low levels of HDL cholesterol and high levels of LDL cholesterol. *N.Engl.J.Med.* 339[1] 12-20. **1998.**
92. Leon A.S. and Sanchez O.A. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. *Med.Sci.Sports Exerc.* 33[6 Suppl] S502-S515. **2001.**
93. Couillard C., Despres J.P., Lamarche B. *et al.* Effects of endurance exercise training on plasma HDL cholesterol levels depend on levels of triglycerides: evidence from men of the Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 21[7] 1226-1232. **2001.**
94. Leon A.S., Rice T., Mandel S. *et al.* Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. *Metabolism.* 49[4] 513-520. **2000.**
95. Bergeron J., Couillard C., Despres J.P. *et al.* Race differences in the response of postheparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase activities to endurance

- exercise training in men: results from the HERITAGE Family Study. *Atherosclerosis*. 159[2] 399-406. **2001**.
96. Halverstadt A., Phares D.A., Wilund K.R. *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*. 56[4] 444-450. **2007**.
 97. Braith R.W. and Stewart K.J. Resistance exercise training: its role in the prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 113[22] 2642-2650. **2006**.
 98. Varady K.A., Houweling A.H., and Jones P.J. Effect of plant sterols and exercise training on cholesterol absorption and synthesis in previously sedentary hypercholesterolemic subjects. *Transl.Res.* 149[1] 22-30. **2007**.
 99. Wilund K.R., Feeney L.A., Tomayko E.J. *et al.* Effects of endurance exercise training on markers of cholesterol absorption and synthesis. *Physiol Res*. 58[4] 545-552. **2009**.
 100. Vinagre C.G., Ficker E.S., Finazzo C. *et al.* Enhanced removal from the plasma of LDL-like nanoemulsion cholesteryl ester in trained men compared with sedentary healthy men. *J.Appl.Physiol*. 103[4] 1166-1171. **2007**.
 101. Ficker E.S., Maranhao R.C., Chacra A.P. *et al.* Exercise training accelerates the removal from plasma of LDL-like nanoemulsion in moderately hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis*. 212[1] 230-236. **2010**.
 102. Stolinski M., Alam S., Jackson N.C. *et al.* Effect of 6-month supervised exercise on low-density lipoprotein apolipoprotein B kinetics in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 57[11] 1608-1614. **2008**.
 103. Despres J.P. and Lamarche B. Low-intensity endurance exercise training, plasma lipoproteins and the risk of coronary heart disease. *J.Intern.Med*. 236[1] 7-22. **1994**.
 104. Gylling H., Strandberg T., Tilvis R. *et al.* Regulation of serum cholesterol level in middle-aged and elderly men. Relation of cholesterol absorption and synthesis to lipoprotein metabolism. *Arterioscler.Thromb*. 14[5] 694-700. **1994**.
 105. Miettinen T.A. and Kesaniemi Y.A. Cholesterol absorption: regulation of cholesterol synthesis and elimination and within-population variations of serum cholesterol levels. *Am.J.Clin.Nutr*. 49[4] 629-635. **1989**.
 106. Chan D.C., Watts G.F., Barrett P.H. *et al.* Plasma markers of cholesterol homeostasis and apolipoprotein B-100 kinetics in the metabolic syndrome. *Obes.Res*. 11[4] 591-596. **2003**.

107. Simonen P., Gylling H., Howard A.N. *et al.* Introducing a new component of the metabolic syndrome: low cholesterol absorption. *Am.J.Clin.Nutr.* 72[1] 82-88. **2000.**
108. Sutherland W.H., Scott R.S., Lintott C.J. *et al.* Plasma non-cholesterol sterols in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Horm.Metab Res.* 24[4] 172-175. **1992.**
109. Skinner J.S., Wilmore K.M., Krasnoff J.B. *et al.* Adaptation to a standardized training program and changes in fitness in a large, heterogeneous population: the HERITAGE Family Study. *Med.Sci.Sports Exerc.* 32[1] 157-161. **2000.**
110. Wilmore J.H., Stanforth P.R., Domenick M.A. *et al.* Reproducibility of anthropometric and body composition measurements: the HERITAGE Family Study. *Int.J.Obes.Relat Metab Disord.* 21[4] 297-303. **1997.**
111. Lohman T.G. Applicability of body composition techniques and constants for children and youths. *Exerc.Sport Sci.Rev.* 14 325-357. **1986.**
112. Ortiz O., Russell M., Daley T.L. *et al.* Differences in skeletal muscle and bone mineral mass between black and white females and their relevance to estimates of body composition. *Am.J.Clin.Nutr.* 55[1] 8-13. **1992.**
113. Schutte J.E., Townsend E.J., Hugg J. *et al.* Density of lean body mass is greater in blacks than in whites. *J.Appl.Physiol.* 56[6] 1647-1649. **1984.**
114. Siri W.E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. 1961. *Nutrition.* 9[5] 480-491. **1993.**
115. BURSTEIN M. and SAMAILLE J. [On a rapid determination of the cholesterol bound to the serum alpha- and beta-lipoproteins]. *Clin.Chim.Acta.* 5 609. **1960.**
116. HAVEL R.J., EDER H.A., and BRAGDON J.H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J.Clin.Invest.* 34[9] 1345-1353. **1955.**
117. Ntanios F.Y. and Jones P.J. Effects of variable dietary sitostanol concentrations on plasma lipid profile and phytosterol metabolism in hamsters. *Biochim.Biophys.Acta.* 1390[3] 237-244. **1998.**
118. Hong K., Li Z., Wang H.J. *et al.* Analysis of weight loss outcomes using VLCD in black and white overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Int.J.Obes.(Lond).* 29[4] 436-442. **2005.**

119. Rideout T.C., Harding S.V., Mackay D. *et al.* High basal fractional cholesterol synthesis is associated with nonresponse of plasma LDL cholesterol to plant sterol therapy. *Am.J.Clin.Nutr.* 92[1] 41-46. **2010.**
120. Maeda T., Honda A., Ishikawa T. *et al.* A SNP of NPC1L1 affects cholesterol absorption in Japanese. *J.Atheroscler.Thromb.* 17[4] 356-360. **2010.**
121. Miettinen T.A., Gylling H., Raitakari O.T. *et al.* Adolescent cholesterol metabolism predicts coronary risk factors at middle age: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Transl.Res.* 151[5] 260-266. **2008.**
122. Miettinen T.A. and Gylling H. Cholesterol synthesis and absorption in coronary patients with lipid triad and isolated high LDL cholesterol in a 4S subgroup. *Atherosclerosis.* 168[2] 343-349. **2003.**
123. Noto D., Cefalu A.B., Barraco G. *et al.* Plasma non-cholesterol sterols: a useful diagnostic tool in pediatric hypercholesterolemia. *Pediatr.Res.* 67[2] 200-204. **2010.**
124. Smahelova A., Hyspler R., Haas T. *et al.* Effect of atorvastatin on non-cholesterol sterols in patients with type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Pharmacol.Res.* 51[1] 31-36. **2005.**
125. Miettinen T.A., Gylling H., Tuominen J. *et al.* Low synthesis and high absorption of cholesterol characterize type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 27[1] 53-58. **2004.**
126. Gylling H. and Miettinen T.A. Baseline intestinal absorption and synthesis of cholesterol regulate its response to hypolipidaemic treatments in coronary patients. *Atherosclerosis.* 160[2] 477-481. **2002.**
127. Marian A.J. PCSK9 as a therapeutic target in atherosclerosis. *Curr.Atheroscler.Rep.* 12[3] 151-154. **2010.**
128. Mousavi S.A., Berge K.E., and Leren T.P. The unique role of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 in cholesterol homeostasis. *J.Intern.Med.* 266[6] 507-519. **2009.**