

Iris Gigeux

**COMPARAISON DE LA DIÈTE PORTFOLIO ET D'UNE
STATINE SUR LE PHÉNOTYPE DE LA TAILLE DES
LIPOPROTEINES DE FAIBLE DENSITE CHEZ DES
SUJETS HYPERCHOLESTÉROLÉMIQUES**

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

2006

RÉSUMÉ

Les travaux présentés dans ce mémoire avaient pour but de comparer les effets de la diète Portfolio à ceux d'un traitement pharmacologique avec statine sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL chez des sujets hypercholestérolémiques. Les analyses ont été effectuées chez 34 sujets hypercholestérolémiques qui ont suivi 3 traitements d'une durée d'un mois chacun, assignés de façon aléatoire : 1) une diète témoin faible en gras saturés, 2) la même diète avec 20 mg de lovastatine et 3) la diète Portfolio. Aucun des trois traitements n'a eu d'effet significatif sur la taille des particules LDL. Par ailleurs, la diète Portfolio et le traitement avec statine ont réduit significativement les concentrations de cholestérol dans les petites particules LDL, comparativement à la diète témoin. De plus, les niveaux de protéines C-réactive au départ ont été un déterminant significatif des changements de taille des LDL en réponse à la diète Portfolio, mais non aux autres traitements.

AVANT-PROPOS

Ce mémoire constitue l'aboutissement de presque deux années de travail au sein d'une équipe très accueillante. La collaboration et l'aide de plusieurs personnes ont été très utiles et fortement appréciées lors de la réalisation de mes travaux de recherche, incluant l'article présenté dans ce mémoire. D'ailleurs, concernant cet article, j'ai effectué les analyses de laboratoire ainsi que les analyses statistiques, ce qui m'a ensuite permis de le rédiger. Je suis donc le premier auteur de cet article qui sera publié sous peu dans une revue scientifique internationale.

Tout au long de mes travaux de recherche, j'ai côtoyé des gens extraordinaires que je tiens à remercier particulièrement. Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche Dr Benoît Lamarche, professeur au Département des Sciences des Aliments et de Nutrition de l'Université Laval qui m'a accueilli dans son équipe et m'a fait confiance dans ce projet. Son enthousiasme constant, sa bonne humeur et sa disponibilité malgré un horaire chargé sont autant de qualités que j'ai pu apprécier durant ces années. Je veux aussi remercier mon co-directeur le Dr Patrick Couture, clinicien-chercheur au Centre de Recherche sur les Maladies Lipidiques.

Je tiens aussi à remercier le Dr David Jenkins, professeur au Département des Sciences de la Nutrition de l'Université de Toronto pour m'avoir donné accès aux différentes données relatives aux présents travaux de recherche.

Je tiens également à remercier toute l'équipe du Dr Benoît Lamarche : Amélie, Sophie, Josée, Annie, Johanne, Marie-Ève, Jean-François, Jean-Charles et André. Plus particulièrement, j'aimerais remercier Amélie pour son aide tout au long de ma maîtrise, pour sa gentillesse et la pertinence de ses réponses à mes nombreuses questions. Merci aussi à Sophie pour sa précieuse aide dans les analyses statistiques, ainsi que sa patience. Merci à Josée que je connais maintenant depuis plus de 5 ans, qui est plus qu'une collègue de l'INAF. Merci pour ton écoute, ta générosité et ta bonne humeur contagieuse. Merci aussi à Johanne qui m'a enseigné la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, et qui est une excellente professeure. Je voudrais aussi remercier la Dre Simone Lemieux et son équipe : Julie, Véronique, Annie, Andrée-Ann et Louise.

Particulièrement, je tiens à remercier Andrée-Ann, qui est aussi plus qu'une collègue de travail et que je connais maintenant depuis le début de notre baccalauréat. Merci pour ton support moral, pour ton humour boule de gomme inépuisable, et ta joie de vivre. Je voudrais également remercier Dr Charles Couillard et son équipe : Caroline, Aglaée, Sonia et Guillaume. Je me considère très chanceuse d'avoir pu partager chaque jour tous ces beaux moments en compagnie de vous tous. Je garderai de très bons souvenirs de mon passage à l'INAF.

Finalement, je tiens aussi à remercier mes amis et ma famille qui sont toujours là pour moi, pour m'encourager et me supporter dans tout ce que j'entreprends. Un merci particulier à mon amoureux Stéphane. Merci pour ta bonne humeur et ton humour, ta curiosité, ta capacité à dédramatiser les situations et tes encouragements constants. Merci de faire parti de ma vie.

Merci !!

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	II
AVANT-PROPOS	III
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES TABLEAUX	VII
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES ABBRÉVIATIONS	IX
CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE	10
CHAPITRE II : LA MALADIE CARDIOVASCULAIRE	13
2.1 L'ATHÉROSCLÉROSE	13
2.2 LES FACTEURS DE RISQUE DE LA MCV	14
2.2.1 Le phénotype de la taille des LDL	14
2.2.2 Formation des LDL petites et denses	15
2.2.3 Détermination des caractéristiques physiques des LDL	15
2.2.4 Caractéristiques athérogènes des particules LDL et MCV	18
2.2.5 La protéine C-réactive et les MCV	20
2.2.6 Les effets des statines sur la protéine C-réactive	21
2.2.7 Les effets de l'alimentation sur la protéine C-réactive	22
2.2.8 L'effet du statut inflammatoire sur la réponse au traitement nutritionnel	24
2.3 L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE	26
2.3.1 Les traitements pharmacologiques	26
2.3.1.1 Les effets des statines sur la taille des LDL	29
2.3.2 Le traitement nutritionnel de l'hypercholestérolémie	31
2.3.2.1 Les effets du traitement nutritionnel sur la taille des LDL	33
CHAPITRE III : LA DIÈTE PORTFOLIO	37
3.1 LES PROTÉINES DE SOYA	37
3.1.1 La forme d'administration et les principales sources	37
3.1.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes des protéines de soya	38
3.1.2.1 La dose	40
3.1.3 Les mécanismes d'action des protéines de soya	40
3.1.4 Les effets des protéines de soya sur la taille des LDL	42
3.1.5 La sécurité des protéines de soya	43
3.2 LES FIBRES SOLUBLES	45
3.2.1 La forme d'administration et les principales sources	45
3.2.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes des fibres solubles	46
3.2.2.1 La dose	47

3.2.3 Les mécanismes d'action des fibres solubles	48
3.2.4 Les effets des fibres solubles sur la taille des LDL	49
3.2.5 La sécurité des fibres solubles	50
3.3 LES PHYTOSTÉROLS	51
3.3.1 La forme d'administration et les principales sources	51
3.3.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes des phytostérols	54
3.3.2.1 La dose	55
3.3.3 Les mécanismes d'action des phytostérols	57
3.3.4 Les effets des phytostérols sur la taille des LDL	58
3.3.5 La sécurité des phytostérols	59
3.4 LES AMANDES	62
3.4.1 Les propriétés hypocholestérolémiantes des amandes	62
3.4.1.1 La dose	63
3.4.2 Les mécanismes d'action des amandes	63
3.4.3 Les effets des amandes sur la taille des LDL	65
3.4.4 La sécurité des amandes	65
3.5 LA DIÈTE PORTFOLIO	65
3.5.1 La composition de la diète Portfolio	66
3.5.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes de la diète Portfolio	67
3.5.3 Les effets de la diète Portfolio sur la taille des LDL	68
3.6 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES	68
 CHAPITRE IV : COMPARAISON DE LA DIÈTE PORTFOLIO ET D'UNE STATINE SUR LE PHÉNOTYPE DE LA TAILLE DES PARTICULES LDL CHEZ DES SUJETS HYPERCHOLESTÉROLÉMIQUES	 70
 CHAPITRE V : CONCLUSION GÉNÉRALE	 95
 RÉFÉRENCES DES CHAPITRES I, II, III ET V	 101

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Apports recommandés des principaux nutriments de l'alimentation basés sur les changements thérapeutiques des habitudes de vie.

Tableau 2 : Principales sources de protéines de soya.

Tableau 3 : Contenu en phytostérols de différents aliments.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Spectre densitométrique théorique représentant le diamètre majeur ainsi que différentes sous-classes de particules LDL.

Figure 2 : Mécanismes d'action de la protéine de soya.

Figure 3 : Mécanismes d'action des fibres solubles.

Figure 4 : Structure chimique du cholestérol et des principales formes de phytostérols et phytostanols.

Figure 5 : Mécanismes d'action des phytostérols et des phytostanols.

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

- ABC : *ATP-binding cassette*
- AHA : *American Heart Association*
- ARNm: Acide ribonucléique messenger
- ATP: *Adult Treatment Panel*
- CARE: Cholesterol and Recurrent Events
- CETP : Protéine de transfert de cholestérol estérifié (*Cholesteryl ester transport protein*)
- CRP : Protéine C-réactive (*C-reactive protein*).
- DASH: *Dietary Approach to Stop Hypertension*
- ECVQ : Étude Cardiovasculaire de Québec
- FDA : *Food and Drug Administration*
- HDL : Lipoprotéine de haute densité (*High density lipoprotein*)
- HMG-CoA : Hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A
- IDL : Lipoprotéines de densité intermédiaire (*Intermediate density lipoprotein*)
- IL-6 : Interleukine 6
- IM : Infarctus du myocarde
- IMC : Indice de masse corporelle
- LDL : Lipoprotéine de faible densité (*Low density lipoprotein*)
- LDL-C : Concentration de cholestérol dans les particules LDL
- LDL-C_{<255 Å} : Concentration de cholestérol dans les particules LDL ayant un diamètre < 255 Å
- LPL : Lipoprotéine lipase
- MCV : Maladie cardiovasculaire
- NCEP : *National Cholesterol Education Program*
- PAGGE : Électrophorèse sur gel non dénaturant de polyacrylamide avec gradient de densité (*Polyacrylamide gradient gel electrophoresis*)
- PPAR- α : Récepteur-alpha activé de la prolifération des peroxyzomes (*Peroxisome proliferator-activated receptors-alpha*)
- TG : Triglycérides
- VLDL : Lipoprotéines de très faible densité (*Very-low density lipoprotein*)

CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent la principale cause de mortalité dans les pays industrialisés (1). Elles constituent aussi une cause importante de morbidité et représentent un lourd fardeau pour la société et le système de santé (2). Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés, certains sont modifiables et d'autres non. Une concentration élevée de cholestérol dans les lipoprotéines de faibles densités (LDL-C) représente un des principaux facteurs de risque modifiables associés à la MCV (3). Par ailleurs, les particules LDL sont hétérogènes en terme de diamètre, de densité et de propriétés physico-chimiques (4). Ainsi, par diverses techniques, il est possible de déterminer différentes caractéristiques des particules LDL et ainsi établir le phénotype de la taille des particules LDL. D'autre part, les deux principales approches dans la prévention et le traitement des dyslipidémies pour réduire le risque de MCV sont la modification des habitudes de vie et le traitement pharmacologique.

Les changements alimentaires demeurent à la base des recommandations du *National Cholesterol Education Program* (NCEP) et de l'*American Heart Association* (AHA) dans le traitement de l'hypercholestérolémie (3,5). Dans le but de maximiser les effets de la diète faible en gras traditionnellement recommandée, l'AHA et le NCEP ont récemment recommandé l'ajout de certains aliments fonctionnels ou composés ayant un effet hypocholestérolémiant, dans le but d'atteindre une plus grande réduction des niveaux plasmatiques de cholestérol total et de LDL-C. Ces aliments ou ingrédients fonctionnels incluent les protéines de soya, les fibres solubles et les phytostérols. La *Food and Drug Administration* (FDA) a aussi permis des allégations santé sur les aliments contenant ces 3 composés (6-9) et sur les noix (10) à propos de la réduction du risque de MCV.

La diète Portfolio est une diète combinant ces composés, soit les protéines de soya, les fibres solubles, les phytostérols et les amandes, selon des quantités bien définies. Des études réalisées chez des sujets hypercholestérolémiques ont montré que la consommation de la diète Portfolio pouvait engendrer des réductions dans les

concentrations plasmatiques de LDL-C de l'ordre de 30 % (11-14). Par ailleurs, tout récemment, une étude sur la consommation de la diète Portfolio à long terme a été réalisée dans un contexte de vraie vie (15). Les résultats de cette étude indiquent qu'après un an, la diète Portfolio a engendré des réductions du LDL-C de 13 % et qu'environ le tiers des sujets ont montré des réductions supérieures à 20 % dans les concentrations de LDL-C (15). Quelques études ont été réalisées sur les effets individuels des composés de la diète Portfolio sur le phénotype de la taille des particules LDL (16-28). Par ailleurs, une seule étude a investigué les effets de la diète Portfolio sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL (29).

Parmi les traitements pharmacologiques de l'hypercholestérolémie, les statines, ou inhibiteurs de l'hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) réductase, sont les agents hypolipémiants les plus utilisés en clinique. De nombreuses études d'intervention ont démontré l'efficacité des statines dans la réduction du risque de MCV autant en prévention primaire (30,31) que secondaire (32,33). Une méta-analyse portant sur l'efficacité des statines en prévention secondaire a indiqué une réduction du LDL-C de 19 à 37 % à la suite d'un traitement avec statines, comparativement au groupe témoin recevant un placebo (34). Quelques études ont par ailleurs investigué les effets des statines sur le phénotype de la taille des particules LDL (35-43).

Dans le traitement des MCV, le LDL-C demeure un facteur de risque modifiable majeur. Par ailleurs, de nouveaux facteurs de risque sont en émergence, dont la taille des particules LDL et les marqueurs de l'inflammation telle que la protéine C-réactive (CRP). Plusieurs études rapportent un risque accru de MCV associé à une prédominance de petites particules LDL denses (44-47) et la CRP a été identifiée comme facteur de risque indépendant des MCV (48,49). De plus, le statut inflammatoire au départ pourrait avoir un effet sur la réponse au traitement nutritionnel (50-53).

Bien que les effets des statines sur la taille des particules LDL soient plus documentés, l'effet de la diète Portfolio sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL demeure peu connu. De plus, l'effet du statut inflammatoire au départ sur la réponse des caractéristiques électrophorétiques des particules LDL demeure inconnu.

Le premier objectif des présents travaux de recherches était donc de comparer les effets d'une intervention nutritionnelle, la diète Portfolio, à ceux d'un traitement pharmacologique avec une statine sur certaines caractéristiques électrophorétiques des particules LDL chez des sujets hypercholestérolémiques. Pour ce faire, nous avons comparé directement chez les mêmes individus l'effet de la diète Portfolio, comprenant des protéines de soya, des fibres solubles, des phytostérols et des amandes, avec l'effet d'un traitement pharmacologique de 20 mg de lovastatine par jour, sur différentes caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. Les effets d'une diète faible en gras saturés et en cholestérol, basée sur les recommandations du NCEP (phase 2) ont aussi été évalués (diète témoin). Par ailleurs, comme second objectif, les présents travaux de recherche avaient pour but d'investiguer l'impact du statut inflammatoire de départ sur les changements dans la taille des particules LDL. Pour ce faire, nous avons fait des analyses en sous-groupe selon les niveaux plasmatiques de CRP des sujets au départ pour chacune des interventions. Ainsi, nous avons pu évaluer les changements dans les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL, selon les niveaux de CRP plasmatiques de départ pour chaque intervention.

Ce présent mémoire comporte donc quatre principales parties. Les deux premières parties prennent la forme d'une revue de la littérature. Dans un premier temps, il sera question des facteurs de risque ainsi que de différents traitements des MCV, du phénotype de la taille des LDL et de la CRP. La deuxième partie porte sur différents aspects des quatre composantes individuelles de la diète Portfolio et sur la diète Portfolio dans son ensemble. La troisième partie présente un article original, qui sera éventuellement publié dans une revue scientifique internationale d'ici à la fin de 2006 ou au début de l'année 2007. Finalement, la dernière partie repose sur la discussion et la conclusion de ces travaux en lien avec les applications cliniques.

CHAPITRE II : LA MALADIE CARDIOVASCULAIRE

La MCV demeure la principale cause de mortalité et de morbidité dans les pays industrialisés (1). Au Canada, les coûts associés aux traitements des MCV ont un impact économique important et imposent un lourd fardeau à notre système de santé. Cette section porte sur l'athérosclérose, les principaux facteurs de risque des MCV ainsi que sur différents traitements de cette maladie.

2.1 L'ATHÉROSCLÉROSE

L'athérosclérose, une des causes les plus fréquentes de la MCV, est une maladie systémique affectant l'ensemble du réseau artériel. Elle se caractérise par le durcissement de la paroi artérielle suite à la déposition de plaques, ce qui conduit à un rétrécissement de la lumière vasculaire (54). La première étape dans le processus de développement de l'athérosclérose est la formation de stries lipidiques, qui se caractérise par une accumulation de cholestérol dans l'intima. Cette lésion initiale peut être suivie de la formation de la plaque fibreuse, caractérisée par un centre nécrotique, riche en lipides, par une prolifération et une migration des cellules musculaires lisses de la média vers l'intima et par l'accumulation de matériel extracellulaire fibreux (55). De plus, des taux élevés de LDL, le tabagisme et l'hypertension artérielle peuvent causer une dysfonction endothéliale, même en l'absence d'athérosclérose anatomique. Cette dysfonction facilite l'accès des LDL circulantes à l'espace sous-endothélial, où elles seraient oxydées (55). Les macrophages peuvent capter ces LDL modifiées et se transformer en cellule spumeuse. L'accumulation de cellules spumeuses peut d'ailleurs mener à la formation des stries lipidiques (55). Lors de la formation de la plaque, les cellules musculaires lisses captent des LDL et sécrètent du matériel extracellulaire constitué de collagène, d'élastine et de protéoglycans (55). La lésion est alors importante et fait obstruction dans la lumière de l'artère, ce qui mène à une réduction du flot sanguin. La rupture de la plaque mène à la formation d'un thrombus, lequel peut conduire à l'angine instable, l'infarctus du myocarde ou la mort subite (55).

2.2 LES FACTEURS DE RISQUE DE LA MCV

Plusieurs facteurs ont été identifiés comme des conditions pouvant prédisposer au développement de la MCV. Certains de ces facteurs sont modifiables, d'autres non. Parmi les facteurs de risque non modifiables, on retrouve l'âge, le sexe et l'hérédité tandis que les principaux facteurs de risque modifiables sont l'hypertension artérielle, les dyslipidémies, le diabète, le tabagisme, l'obésité et la sédentarité.

Par ailleurs, depuis plusieurs années, de nouveaux facteurs de risque ont été associés à la MCV. On retrouve notamment des marqueurs de l'inflammation telle que la protéine C-réactive, des marqueurs de l'infection, de la coagulation, du stress oxydatif, de la dysfonction endothéliale, de la fibrinolyse, du métabolisme de la vitamine B₁₂ ainsi que du métabolisme des lipides et des lipoprotéines, notamment, les particules LDL petites et denses (56).

2.2.1 Le phénotype de la taille des LDL

La relation entre le LDL-C et les taux de mortalité reliée aux MCV a été largement documentée dans plusieurs études de prévention primaire et secondaire (30-33). Par contre, un chevauchement considérable des niveaux de LDL-C entre des sujets sains et des sujets atteints de MCV a aussi été documenté (57,58), suggérant ainsi que d'autres facteurs sont impliqués.

Les LDL sont un groupe hétérogène de lipoprotéines, qui diffèrent par leur taille, leur densité et leur composition. Les caractéristiques électrophorétiques de ces particules peuvent être déterminées par diverses techniques, ce qui permet de déterminer le phénotype de la taille des particules LDL. Un nombre considérable d'évidences ont montré que les sous-classes des particules LDL caractérisées par des variations dans la densité, la taille et la composition chimique pouvaient aussi avoir un impact sur le risque de MCV.

2.2.2 Formation des LDL petites et denses

Les LDL sont issues des larges particules riches en triglycérides (TG) comme les lipoprotéines de très faibles densités (VLDL), qui sont sécrétées par le foie. La lipoprotéine lipase (LPL) hydrolyse progressivement les TG des VLDL pour former des lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) qui peuvent être soit dégradées par le foie ou métabolisées à nouveau par la LPL ou la lipase hépatique pour former des LDL. Le contenu en TG des précurseurs des LDL semble être le déterminant majeur de la taille des LDL formées par la lipolyse (59). Les larges VLDL seraient les principaux précurseurs des particules LDL petites et denses tandis que les plus petites sous-fractions de VLDL seraient précurseurs des larges particules LDL. La protéine de transfert de cholestérol estérifié (CETP) favorise le transfert des esters de cholestérol des particules LDL en échange de TG provenant des VLDL. Les LDL enrichies en TG sont ainsi de meilleurs substrats pour la lipase hépatique, ce qui favorise une réduction de la taille des particules LDL.

2.2.3 Détermination des caractéristiques physiques des LDL

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour la détermination des caractéristiques physiques des LDL. L'hétérogénéité des particules LDL peut être déterminée par ultracentrifugation analytique, ce qui permet de déterminer le taux de flottaison. Chez l'humain, le taux de flottaison des LDL (densité de 1.019 à 1.063 g/ml) varie de 0 à 12. Un taux de flottaison élevé indique de larges particules de faible densité ayant un ratio lipides/protéines élevé (60). Plusieurs méthodes d'ultracentrifugation de préparation ont aussi été développées pour caractériser les différentes sous-fractions des particules LDL selon leur densité. Parmi celles-ci, l'ultracentrifugation par gradient de densité permet de détecter jusqu'à quatre sous-classes de LDL (LDL-I à LDL-IV) chez des individus normaux (4). Généralement, la plupart des sujets normolipidémiques ont une prédominance de LDL-II et des concentrations plus faibles et variables de LDL-I (particules plus larges et moins denses) et LDL-III (particules petites et denses) (4). La présence de la sous-fraction LDL-VI est plus difficile à détecter et l'analyse peut être confondue avec la présence de lipoprotéine (a) ou de lipoprotéine de haute densité

(HDL) (61). Plus récemment, la résonance magnétique nucléaire a aussi été utilisée pour déterminer les niveaux plasmatiques ainsi que le diamètre moyen des différentes sous-classes de LDL selon l'amplitude du signal émis par les différentes sous-classes de LDL (62).

L'électrophorèse non dénaturante sur gradient de gel de polyacrylamide (PAGGE) est une technique qui a été largement utilisée pour caractériser les particules LDL selon leur taille (4,60,63). De petites quantités de plasma ou des fractions LDL isolées sont soumises à l'électrophorèse sur un gel de polyacrylamide avec gradient de densité de 2 à 16 % et sont ensuite colorées pour les lipides ou les protéines (60). Les LDL de petites tailles migreront plus loin dans le gel tandis que les plus grosses particules resteront bloquées plus haut dans le gel. Les différentes sous-classes sont définies avec un logiciel de densitométrie utilisant une longueur d'onde définie et le diamètre des LDL est extrapolé à partir de la migration relative de standards de diamètres connus (46). Il est possible d'identifier jusqu'à 7 pics par la méthode du PAGGE, mais la plupart des individus ne présentent que 2 ou 3 sous-classes (4) (Figure 1). Le diamètre majeur correspond au diamètre estimé de la sous-classe de LDL la plus abondante chez un individu, tandis que le diamètre moyen correspond à une moyenne relative de toutes les sous-classes de LDL chez un individu (46). Il est aussi possible de déterminer la proportion relative de chaque sous-classe de LDL selon l'aire sous la courbe fournie par le logiciel. La concentration en cholestérol de chaque sous-classe peut être estimée en multipliant la concentration plasmatique total de LDL-C par la proportion relative de chacune des sous-classes (46).

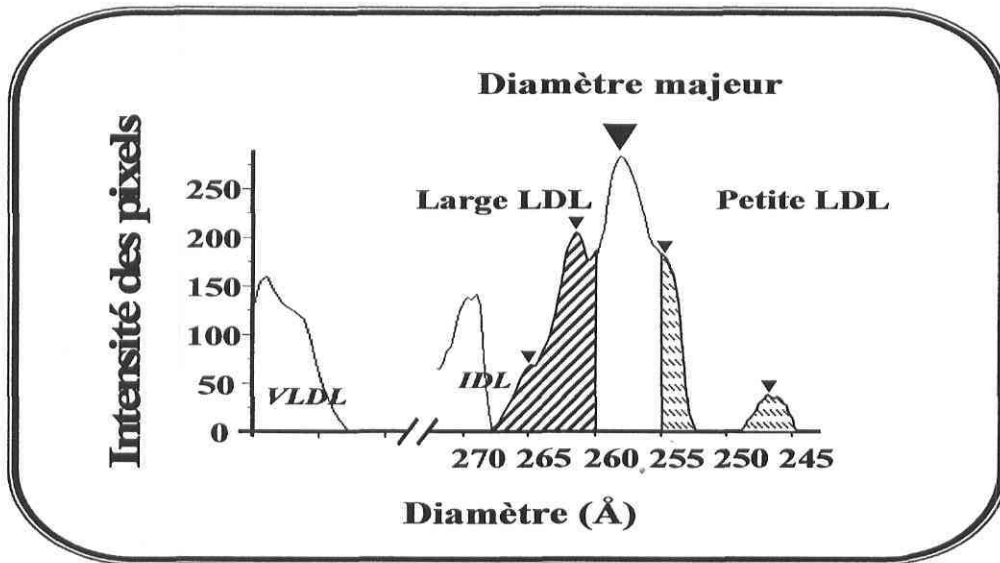


Figure 1. Spectre densitométrique théorique représentant le diamètre majeur ainsi que différentes sous-classes de particules LDL.

Selon le diamètre majeur de la sous-classe la plus abondante, les individus peuvent être classés selon le phénotype A ou B. Les individus présentant une prédominance de particules LDL larges (diamètre > 255 Å) sont classés selon le phénotype A tandis que les individus ayant une prédominance de petites particules LDL (diamètre < 255 Å) sont associés au phénotype B (63). Dans la population, le phénotype B se retrouverait chez environ 30 % des individus, tandis que 70 % de la population serait caractérisée par le phénotype A ou un phénotype intermédiaire (64).

La prévalence du phénotype des LDL petites et denses peut résulter de l'interaction entre plusieurs déterminants génétiques et environnementaux. Un bon nombre d'études ont aussi démontré une association entre les LDL petites et denses et d'autres lipides plasmatiques et des lipoprotéines, dont une association inverse avec les TG. Dans l'étude *Physicians' Health Study*, la corrélation entre la taille des LDL et les niveaux plasmatiques de TG était de -0.71 ($P < 0.01$) (65). Cette association peut en partie être expliquée par des mécanismes résultant soit d'une surproduction, soit d'une clairance diminuée des lipoprotéines riches en TG ou les deux. Les concentrations de TG sont donc un déterminant majeur dans le phénotype de la taille des particules LDL.

2.2.4 Caractéristiques athérogènes des particules LDL et MCV

Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour expliquer l'effet athérogène des particules LDL petites et denses. Tout d'abord, les particules LDL petites et denses ont une plus faible l'affinité pour les récepteurs des LDL (66,67). Ce manque d'affinité pourrait être causé par un changement de conformation de l'apolipoprotéine B, qui est un ligand essentiel pour la liaison de la particule LDL avec son récepteur (67). Elles seraient ainsi dégradées moins rapidement que les particules de densité intermédiaire (67), ce qui prolonge le temps de résidence dans le plasma. Les LDL petites et denses sont aussi plus susceptibles à l'oxydation (68-70). Ce mécanisme pourrait potentialiser leur captation par les récepteurs *scavengers* des macrophages et engendrer une accumulation de cholestérol et la formation de cellules spumeuses (71). Les petites LDL ont aussi une plus grande affinité avec les protéoglycans de la paroi artérielle (72). Ces processus pourraient contribuer à la formation de la plaque athérosclérotique et pourrait expliquer, du moins en partie, l'association entre la taille des particules LDL et le risque de MCV.

De nombreuses études transversales (44,73-75) et prospectives (45-47,65,76,77) ont montré une relation inverse entre la taille des particules LDL et le risque de MCV. Par contre certaines études n'ont pas observé cette relation (78-80).

Dans l'étude de Austin et collaborateurs (44) réalisée chez des hommes et des femmes, une prépondérance de petites particules LDL denses (phénotype B) était associée à un risque trois fois plus élevé de faire un infarctus du myocarde (IM), indépendamment de l'âge, du sexe et du poids comparativement au groupe ayant une majorité de grosses particules LDL (phénotype A). Griffin et collaborateurs (75) ont comparé les différentes sous-classes de particules LDL dans quatre groupes d'hommes, soit des hommes avec ou sans MCV, un autre groupe d'hommes composés de survivants suite à un IM et un groupe témoin. La présence de LDL petites et denses était associée avec un risque relatif (RR) de 4.5 pour la présence de MCV et 6.9 pour la présence d'IM (75). Dans le *Stanford Five-City Project*, Gardner et collaborateurs (45) ont montré que la taille des particules LDL était plus petite chez les sujets avec MCV comparativement aux témoins, et que cette différence demeurait significative après ajustement pour les variations dans les concentrations plasmatiques de TG et de HDL-C, mais non après ajustement pour le ratio cholestérol total/HDL-C. Dans l'étude *Physicians' Health Study*

regroupant 14 916 hommes, Stampfer et collaborateurs (65) ont montré que le diamètre des particules LDL était significativement plus petit dans les cas d'IM, comparativement au groupe témoin, mais que l'association entre le diamètre des particules LDL et le risque d'IM n'était plus significative après ajustement pour les concentrations de TG. En 2001, Lamarche et collaborateurs (77) ont publié les résultats provenant de l'Étude Cardiovasculaire de Québec (ECVQ). Dans cette cohorte de 2057 hommes sans antécédent de MCV au départ, 108 nouveaux cas de MCV ont été diagnostiqués sur période de suivi de 5 ans (77). Les hommes avec des particules LDL ayant une taille $< 256.0 \text{ \AA}$ avaient un risque 2.2 fois plus élevé de développer une MCV. Les LDL petites et denses demeuraient un facteur de risque indépendant des MCV, même après ajustement pour les concentrations plasmatiques de LDL-C, de HDL-C, de TG, d'apolipoprotéines B et pour le ratio de cholestérol total/HDL-C (77). Dans cette même cohorte, St-Pierre et collaborateurs (46) ont rapporté que la concentration de cholestérol dans les particules LDL ayant un diamètre $< 255 \text{ \AA}$ (LDL-C $_{<255 \text{ \AA}}$) était associée à un risque de MCV multivarié augmenté de 4.6, suggérant que le raffinement dans la caractérisation du phénotype de la taille des LDL pouvait améliorer l'habileté à identifier des individus à haut risque. Plus récemment, St-Pierre et collaborateurs (47) ont publié les résultats de l'ECVQ sur une période de suivi de 13 ans au cours de laquelle 262 cas de MCV ont été diagnostiqués. Les résultats confirment l'association indépendante entre le LDL-C $_{<255 \text{ \AA}}$ et le risque de MCV chez l'homme, particulièrement au cours des 7 premières années de suivi (47).

Par ailleurs, une controverse demeure au sujet de l'association entre les petites particules LDL denses et la MCV. En effet, Mykkänen et collaborateurs (78) ont montré que la taille des LDL ne prédisait pas l'apparition de MCV chez des sujets âgés et de race blanche après ajustement pour la présence de diabète. De plus, d'autres études suggèrent que les particules LDL de grandes tailles seraient associées à une augmentation du risque de MCV (79,80). En effet, Campos et collaborateurs (79) ont montré que le diamètre moyen des particules LDL était plus élevé chez les sujets présentant une MCV que dans le groupe témoin. De plus, dans une étude qui examinait la taille des particules LDL chez des survivants d'IM, Campos et collaborateurs (80) ont montré que la taille des particules LDL était identique chez les cas et dans le groupe témoin et que les survivants d'un IM qui avait des particules de grandes tailles avait un risque plus élevé de MCV par rapport au groupe de survivants d'un IM ayant des

particules LDL de petites tailles. Ainsi, bien que la controverse demeure toujours, un plus grand nombre d'études tendent à démontrer l'impact athérogène des particules LDL petites et denses.

De plus, il est important de mentionner qu'un raffinement dans la caractérisation du phénotype des particules LDL tel que la mesure du contenu en cholestérol dans les différentes sous-classes de particules LDL pourrait permettre de mieux identifier les individus à haut risque de MCV. En effet, les données de l'ECVQ (46) ont montré que la mesure du contenu en cholestérol des particules LDL petites et denses représentait le meilleur facteur discriminant pour le risque de MCV. Par ailleurs, le phénotype des LDL petites et denses est rarement présent seul. Ainsi, les individus caractérisés par le phénotype des petites particules LDL denses présentent souvent des concentrations de TG élevées, des concentrations de HDL-C abaissées, la présence d'obésité abdominale et certaines caractéristiques du syndrome de résistance à l'insuline (81).

2.2.5 La protéine C-réactive et les MCV

Le processus inflammatoire est une composante majeure dans le développement et la progression de l'athérosclérose et des MCV (82). Ce processus est caractérisé par l'adhésion et la migration de cellules inflammatoires, principalement des monocytes/macrophages et des lymphocytes T, dans la paroi artérielle (83). De plus, les cytokines et des chimiokines inflammatoires, sécrétées par les cellules vasculaires, les macrophages et les lymphocytes, peuvent causer une dysfonction endothéliale et la prolifération de cellules musculaires lisses. L'élévation de la CRP sérique est un important marqueur de l'inflammation (84). La CRP est une protéine de phase aiguë sécrétée principalement par le foie en réponse à différentes cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 6 (IL-6). De récentes évidences suggèrent que la CRP pourrait aussi être produite dans les cellules musculaires lisses et exprimée de façon préférentielle dans les vaisseaux endommagés (85). La CRP hautement sensible fait référence à un dosage effectué afin de détecter de faibles concentrations sériques de CRP. C'est cette mesure qui est utilisée pour l'évaluation du risque cardiovasculaire et

donc l'utilisation du terme plus général CRP tout au long du présent travail fera référence à la CRP hautement sensible.

Dans plusieurs études épidémiologiques, la CRP a été identifiée comme un facteur de risque indépendant des MCV (48,49,86). Par exemple, dans l'étude *Women's Health Study* l'évaluation des marqueurs de prédiction du risque cardiovasculaire montre que la valeur de CRP plasmatique représentait le meilleur prédicteur du risque cardiovasculaire (48). Une méta-analyse de 14 études prospectives portant sur la CRP et le risque d'IM non fatal ou la mortalité coronarienne indiquait un risque relatif ajusté de 1.9 (intervalle de confiance 95 %, 1.5-2.3) pour les individus se trouvant dans le dernier tertile des valeurs de CRP au départ comparé à ceux dans le tertile le plus bas (87). Il semble aussi que la mesure de CRP améliore la capacité à prédire le risque de MCV au-delà de l'évaluation du profil lipidique standard. En effet, une étude réalisée chez tout près de 28 000 femmes indique que les femmes avec un niveau élevé de CRP au départ, mais une faible concentration de LDL-C sont à plus haut risque de MCV que les femmes ayant au départ une concentration élevée de LDL-C, mais une faible concentration de CRP (49). Selon les recommandations de l'AHA et du Centre pour la prévention et le contrôle des maladies (*Center for Disease Control and Prevention*), les différentes catégories de risque relatif sont : risque faible (valeur de CRP <1.0 mg/L), risque modéré (valeur de CRP entre 1-3 mg/L) et risque élevé (valeur de CRP >3.0 mg/L).

2.2.6 Les effets des statines sur la protéine C-réactive

De plus en plus d'évidences suggèrent que les statines pourraient réduire le risque de MCV au-delà de ce qui peut être expliqué par leurs effets sur le profil lipidique. Ainsi, les statines pourraient diminuer les niveaux de CRP d'une manière largement indépendante des niveaux de LDL-C (88,89). Une récente méta-analyse de Balk et collaborateurs sur les effets des statines sur différents marqueurs sériques non lipidique conclut que seulement la CRP semble être influencée par les statines et que toutes les classes de statines peuvent diminuer les niveaux de CRP (90). De plus, la réduction du nombre d'événements cardiovasculaires à l'aide d'un traitement pharmacologique avec

statine semble être plus importante chez des individus avec des niveaux de CRP plus élevés au départ (91). Dans l'étude CARE, la proportion d'événements récurrents prévenus par l'utilisation de la pravastatine était de 54 % dans le groupe d'individus avec des niveaux de CRP élevés au départ et de 25 % chez les individus avec un niveau de CRP faible au départ (92). Les études avec différentes statines ont montré des réductions des concentrations de CRP de 15 à 25 % chez de sujets sans histoire de MCV (89,93) et avec MCV stable (88).

Les mécanismes par lesquels les statines réduisent les concentrations plasmatiques de CRP demeurent peu connus. Dans une récente étude sur cultures cellulaires, Arnaud et collaborateurs ont montré que les statines réduisaient la production de CRP induite par IL-6 directement dans les hépatocytes via une protéine spécifique issue du métabolisme du mévalonate (94). De plus, les stimuli inflammatoires peuvent être induits par l'expression de différentes molécules d'adhésions impliquées dans le processus inflammatoire, qui recrutent des cellules immunitaires dans la paroi des vaisseaux. Les statines peuvent inhiber l'expression de ces molécules d'adhésions et réduire la propagation des diverses cellules immunitaires dans la paroi artérielle et ainsi réduire l'inflammation (95). Les études *in vitro* ont aussi démontré que les statines pouvaient réduire l'expression d'un important immuno-régulateur, un ligand soluble, le CD40 (96). Les statines pourraient donc agir via différents mécanismes dans la réduction des concentrations de CRP.

2.2.7 Les effets de l'alimentation sur la protéine C-réactive

Peu d'études ont évalué l'effet de la diète sur les concentrations de CRP. Il semble que quelques modèles d'alimentation ou différents composés de l'alimentation puissent être associés avec une élévation des concentrations de CRP. Ainsi, les diètes qui ont un impact minimal sur le glucose postprandial et l'insuline pourraient réduire les niveaux plasmatiques de CRP. En effet, dans l'étude de *Women's Health Study*, les femmes dans la catégorie la plus élevée de charge glycémique avait 9.4 fois plus de risque d'avoir des concentrations de CRP supérieures à la valeur médiane de la population (97). Par ailleurs, la diète Méditerranéenne, qui semble réduire le risque de MCV notamment via

des effets anti-inflammatoires, pourrait donc avoir des effets sur les concentrations de CRP. Une étude réalisée dans un contexte de vraie vie pendant deux ans indique que les sujets consommant une diète Méditerranéenne ont eu des réductions significatives des concentrations de CRP et de différentes interleukines (IL-6, IL-7, IL-8), comparativement au groupe consommant une diète de style prudent (50-60 % de glucides, <30 % de gras et 15-20 % de protéines) (98). Une autre étude réalisée chez des Grecs indique qu'une plus grande adhérence à la diète Méditerranéenne était associée avec de plus faibles concentrations de CRP et IL-6 (99). Par ailleurs, ces résultats demeurent contradictoires puisqu'une étude d'intervention n'a rapporté aucune diminution des concentrations de CRP après la consommation d'une diète Méditerranéenne pendant 3 mois (100).

L'effet des diètes faibles en gras sur les concentrations de CRP semble plus controversé. En effet, une étude rapporte qu'une diète faible en gras, contenant des phytostérols, des fibres solubles, des protéines de soya et des amandes (diète Portfolio) consommée pendant 1 mois a réduit les concentrations de CRP de 23.8 %, une réduction comparable à celle observée dans le groupe traité avec une statine, soit une réduction de 16.3 % (101). Dans cette même étude, il y a eu une augmentation non significative de 15.3 % des concentrations de CRP dans le groupe consommant la diète témoin faible en gras saturés et en cholestérol (101). Par ailleurs, une étude comparant les effets d'une diète faible en gras et riche en glucides complexes à une diète riche en gras monoinsaturés n'a trouvé aucun effet des différentes diètes sur les concentrations plasmatiques de CRP (50). Erlinger et collaborateurs ont aussi rapporté aucun effet sur les concentrations plasmatiques de CRP suite à la consommation d'une diète faible en gras saturés basée sur la diète DASH (*Dietary Approach to Stop Hypertension*), une approche alimentaire pour le traitement de l'hypertension, comparativement à une diète témoin riche en gras saturés (51). De plus, une récente étude évaluant l'impact d'une diète faible en gras avec ou sans protéine de soya ne rapporte aucun effet sur les concentrations de CRP (52). Finalement, une étude comparant les effets d'une diète faible en gras et riche en glucides à ceux d'une diète faible en glucides suivis pendant 6 mois indique une faible réduction non significative et comparable entre les diètes, dans les concentrations plasmatiques de CRP (102).

Les effets de l'alimentation sur différents marqueurs inflammatoires et particulièrement sur les concentrations de CRP semblent donc encore controversés. D'autres études seront nécessaires afin de mieux comprendre et caractériser les effets de différents modèles alimentaires ainsi que différentes composantes de l'alimentation sur les concentrations plasmatiques de CRP.

2.2.8 L'effet du statut inflammatoire sur la réponse au traitement nutritionnel

Il est de plus en plus reconnu que la réponse individuelle à un traitement, notamment une intervention nutritionnelle soit variable d'un individu à l'autre. Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dont la variabilité génétique (103). Le statut inflammatoire au départ pourrait aussi influencer la réponse au traitement nutritionnel. D'ailleurs, des d'évidences suggèrent que l'infection et l'inflammation pourraient avoir un effet délétère sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines (104). Jusqu'à ce jour, il semble que 4 études d'interventions nutritionnelles aient investigué l'effet des niveaux de CRP de départ sur la réponse des lipides et des lipoprotéines au traitement nutritionnel.

La première étude, réalisée par Zhao et collaborateurs, a rapporté que les sujets ayant un niveau élevé de CRP au départ avaient une réponse du LDL-C diminué de 29 % lorsqu'ils consommaient deux diètes riches en acides gras polyinsaturés comparativement aux sujets avec un niveau de CRP faible au départ (53). De façon similaire, les résultats de l'étude DASH indiquent que les sujets avec un niveau de CRP faible au départ ont eu des réductions significativement plus grande des concentrations de cholestérol total et de LDL-C comparativement à ceux qui avaient au départ des concentrations élevées de CRP (51). De plus, dans cette étude, les sujets avec des concentrations élevées de CRP au départ ont montré une augmentation des concentrations de TG de 19.8 % comparativement au groupe avec un niveau de CRP faible au départ, pour lequel aucun effet sur les concentrations de TG n'a été observé (51). Plus récemment, Hilpert et collaborateurs ont investigué la réponse lipidique à une intervention nutritionnelle faible en gras avec ou sans soya selon les niveaux de CRP au

départ (52). Les résultats indiquent qu'indépendamment de la source de protéine, les sujets avec une concentration de CRP faible au départ ont montré des réductions significatives du LDL-C et du ratio LDL-C/HDL-C tandis que les sujets avec une concentration élevée de CRP au départ ont montré une augmentation des valeurs pour ces deux paramètres ainsi que des concentrations d'apolipoprotéines B et de lipoprotéine(a) (52). Finalement, Desroches et collaborateurs ont aussi investigué l'influence des niveaux plasmatique de CRP au départ sur la réponse des lipides et des lipoprotéines à une diète faible en gras et riche en glucides et à une diète riche en acides gras monoinsaturés (50). Les résultats ont indiqué qu'après avoir consommé une diète faible en gras, les sujets qui avaient au départ des concentrations de CRP plus élevées ont eu une augmentation des concentrations de TG totaux et de TG des VLDL tandis que ces variables étaient diminuées chez les sujets ayant au départ des concentrations plus faibles de CRP (50). Pour les sujets consommant la diète riche en acide gras monoinsaturés, seulement les sujets avec des concentrations faibles de CRP au départ ont montré des réductions significatives des concentrations de TG totaux, de TG des VLDL et de cholestérol dans les VLDL (50). Par ailleurs, avec la diète riche en acides gras monoinsaturés, les sujets avec des concentrations plus élevées de CRP au départ ont eu des réductions significativement plus grandes des concentrations de cholestérol total et de LDL-C comparativement à ceux qui avaient au départ des niveaux plus faible de CRP (50).

Les mécanismes pouvant expliquer les variations dans la réponse au traitement nutritionnel selon les niveaux de CRP au départ demeurent inconnus et ceux qui ont été suggérés demeurent hypothétiques. Parmi les mécanismes possibles, il a été proposé que l'inflammation puisse être associée avec un stress psychologique ou environnemental augmenté (105). Donc, il est possible que dans le cas d'études strictement contrôlées, des modifications alimentaires majeures soient perçues comme un stress physiologique additionnel chez des individus qui ont au départ des concentrations élevées de CRP, ce qui pourrait expliquer leur moins bonne réponse à certaines interventions nutritionnelles (50).

Il semble donc que le statut inflammatoire au départ puisse être un déterminant de la réponse au traitement nutritionnel. Par ailleurs, bien que la majorité des études semblent montrer une meilleure réponse au traitement nutritionnel chez les sujets avec un niveau

de CRP plus faible au départ, particulièrement dans le cas du cholestérol total et du LDL-C, les résultats demeurent controversés. D'autres études seront donc nécessaires afin de mieux préciser les effets des niveaux plasmatiques de CRP au départ sur la réponse au traitement nutritionnel.

2.3 L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE

L'hypercholestérolémie est un facteur de risque bien établi de l'athérosclérose et de la MCV. Un niveau élevé de LDL-C a été fortement relié au développement de l'athérosclérose. Les résultats des études de *Framingham* (106) et *MRFIT* (107) ont montré qu'une augmentation du risque de MCV était directement proportionnel à une élévation des concentrations sériques de LDL-C. Au Canada, selon les *Enquêtes sur la santé cardiovasculaire* réalisées entre 1985 et 1990, 45 % des hommes et 43 % des femmes avaient un taux de cholestérol plasmatique total supérieur au taux recommandé de 5.2 mmol/L (2). De plus, selon cette enquête, la proportion d'hommes et femmes ayant un taux de cholestérol plasmatique élevé (>5.2 mmol/L) augmentait avec l'âge, doublant à 35 ans chez l'homme et à 45 ans chez la femme (2). Considérant le fait que la population est vieillissante, ces taux sont possiblement plus élevés à l'heure actuelle. Des interventions nutritionnelles et pharmacologiques s'avèrent donc essentielles pour réduire les concentrations de cholestérol chez ces individus. Les bénéfices associés à la réduction des taux de cholestérol sur l'incidence des MCV ont été clairement démontrés dans plusieurs études d'intervention primaire et secondaire (3). Selon les recommandations du NCEP Adult Treatment Panel (ATP) III, le LDL-C demeure la principale cible dans l'intervention visant à diminuer le risque cardiovasculaire (3).

2.3.1 Les traitements pharmacologiques

Le principe de base qui guide les interventions visant à réduire les niveaux de cholestérol est que l'intensité du traitement est directement reliée au niveau de risque de MCV (3). Lorsqu'un individu présente un risque élevé de MCV ou que l'intervention nutritionnelle n'a pas permis d'atteindre des concentrations optimales de cholestérol,

l'intervention pharmacologique peut devenir nécessaire. Les statines représentent la classe de médicaments habituellement utilisée, mais d'autres alternatives sont aussi possibles, tel que les résines, les fibrates, et les inhibiteurs de l'absorption du cholestérol.

Il existe deux classes de statines soit les statines naturelles ou semi synthétiques regroupant la lovastatine, la pravastatine et la simvastatine et les statines d'origines synthétiques (cerivastatine [retirée du marché en 2001], atorvastatine, fluvastatine et rosuvastatine). Les statines inhibent de façon compétitive et réversible la transformation de HMG-CoA en mévalonate par l'enzyme HMG-CoA réductase. Comme le mévalonate est un précurseur des stérols, cela entraîne une diminution dans la concentration du cholestérol. Au niveau du foie, la baisse de cholestérol intracellulaire entraîne une augmentation de l'expression des récepteurs hépatiques des LDL, ce qui permet une augmentation de la clairance plasmatique du cholestérol dans les LDL. Plusieurs études randomisées de grande envergure ont montré qu'une réduction du LDL-C de l'ordre de 25 à 35 % était associée avec une diminution du taux de mortalité cardiovasculaire de 27 à 34 % (30,33,108). Les effets lipidiques des statines incluent aussi en diminution des TG de 7 à 30 % ainsi qu'une légère augmentation du HDL-C de 5 à 10 % (109), bien qu'à forte dose certaines statines puissent engendrer une légère diminution du HDL-C. De plus, par leur effet hypocholestérolémiant les statines amènent une stabilisation de la plaque d'athérosclérose. D'autres effets bénéfiques des statines incluent entre autres des effets anti-inflammatoires, anti-thrombotiques ainsi qu'une restauration de la fonction endothéliale et une diminution de la prolifération des cellules musculaires lisses dans les artères (110). Les statines sont des agents généralement bien tolérés par la plupart des individus et peu d'effets secondaires sont rapportés. Une élévation des enzymes hépatiques peut se produire dans 0.5 à 2 % des cas et est dépendante de la dose (111,112). De plus, l'effet des statines sur les myopathies dans certaines circonstances est bien documenté (113). Des cas de rhabdomyolyse causant la mort ont aussi été rapportés, mais sont extrêmement rares (113), sauf pour la cerivastatine, retirée du marché en 2001, qui a été associée à plusieurs décès reliés à la rhabdomyolyse.

Les résines sont des agents pharmacologiques agissant comme séquestrant des acides biliaires. En se liant aux acides biliaires, les résines induisent une diminution au niveau

de la circulation entéro-hépatique des acides biliaires, ce qui provoque une baisse dans le contenu en cholestérol des hépatocytes. Cette diminution induit une augmentation dans l'expression des récepteurs LDL, ce qui en retour amène une diminution des concentrations plasmatiques de LDL-C de l'ordre de 15 à 30 % (109). Certains effets secondaires gastro-intestinaux sont associés à la prise de ces agents pharmacologiques, notamment de la constipation, des douleurs abdominales, des ballonnements, des nausées et des flatulences (114). Par ailleurs, comme les résines ne sont pas absorbées, elles sont sécuritaires à long terme et peuvent être utilisées chez les enfants.

Les fibrates sont une autre classe d'agents pharmacologiques actuellement utilisés dans le traitement de l'hypercholestérolémie, bien que ces agents ait été conçus initialement pour traiter l'hypertriglycéridémie. La diminution du LDL-C, de l'ordre de 5 à 20 % dépend des niveaux de LDL-C au départ et de la présence d'autres dyslipoprotéïnémies (109). En effet, il a été rapporté que l'utilisation d'un fibrate pouvait même faire augmenter les niveaux plasmatiques de LDL-C chez des individus ayant des niveaux élevés de TG (115). Les fibrates sont des agonistes pour le facteur de transcription nucléaire *peroxysome proliferator-activated receptors-alpha* (PPAR- α) (116). Par ce mécanisme, les fibrates régularaient à la baisse les gènes de l'apolipoprotéine C-III et régulerait à la hausse les gènes de l'apolipoprotéine A1, les protéines de transport des acides gras, l'oxydation des acides gras, et possiblement aussi la LPL (117). Ces effets sur la LPL et l'apolipoprotéine C-III favoriseraient le catabolisme des lipoprotéines riches en TG tandis que l'augmentation de l'oxydation des acides gras réduirait la formation des VLDL. La diminution des TG favorise aussi la transformation des LDL petites et denses en particules LDL plus grosses (118). Cette classe de médicament est généralement bien tolérée, bien que certains effets secondaires au niveau du système digestif, des reins et des muscles soient rapportés.

Depuis quelques années, on retrouve sur le marché l'ezetimibe, un nouvel agent agissant comme inhibiteur de l'absorption du cholestérol. L'ezetimibe agirait au niveau de la bordure en brosse du petit intestin en inhibant la captation du cholestérol alimentaire et biliaire par les entérocytes, sans toutefois affecter l'absorption des TG et des vitamines liposolubles (119). Des études cliniques chez l'humain révèlent des réductions de 17 à 20 % dans les concentrations de LDL-C avec une dose quotidienne de 10 mg d'ezetimibe (120,121). Par ailleurs, à ce jour aucune étude n'a démontré les

effets bénéfiques de l'ezetimibe sur les événements cardiovasculaires. L'effet hypocholestérolémiant serait augmenté lors d'un traitement en combinaison avec une statine (122). Bien que l'ezetimibe semble bien toléré, des effets secondaires tels que des infections respiratoires, des céphalées, des douleurs au dos, de l'arthralgie et des myalgies ont été rapportés dans moins de 10 % des individus traités.

2.3.1.1 Les effets des statines sur la taille des LDL

Comme mentionné précédemment, les statines ont aussi des effets bénéfiques au niveau cardiovasculaire qui vont au-delà de la baisse du cholestérol, notamment une diminution des concentrations plasmatiques de TG. L'effet des statines sur les concentrations plasmatiques des TG suggère que cette classe de médicaments pourrait avoir un effet positif sur la taille des particules LDL. Plusieurs études ont analysé l'impact d'un traitement avec statine sur les changements au niveau du phénotype de la taille des LDL. Par contre les résultats divergent étant donné les différents types de molécules et un large éventail de doses utilisées.

Tilly-Kiesi et collaborateurs (41) ont mesuré l'effet de la lovastatine chez 35 sujets hypercholestérolémiques à une dose de départ de 40 mg/jour pendant 8 semaines suivi d'une dose de 80 mg/jour pendant 4 semaines. Les résultats ont indiqué qu'il n'y avait aucun changement moyen dans la distribution des LDL selon leur densité, mais que les changements dans les concentrations de TG étaient des déterminants des changements dans les LDL (41). En effet, les sujets qui ont eu une diminution des concentrations plasmatiques de TG ont eu des réductions significativement plus grandes des petites particules LDL denses comparativement aux sujets ayant eu une augmentation des concentrations plasmatiques de TG après le traitement (41). Zambon et collaborateurs (42) ont mesuré l'effet de 20 mg/jour de pravastatine chez 24 sujets dans une étude contrôlée randomisée avec placebo. L'étude a indiqué une réduction de 23 % dans les concentrations de LDL-C, mais aucun effet sur la taille des LDL. Les auteurs suggèrent que l'absence de changement dans la taille des LDL pouvait être relié au faible impact non significatif du traitement sur les concentrations plasmatiques de TG. Superko et collaborateurs (40) ont examiné la réponse à un traitement avec statine (20 mg/jour de fluvastatine) selon le phénotype (A ou B) des sujets au départ. Ces auteurs

n'ont trouvé aucune différence significative dans le diamètre des particules LDL ni dans les concentrations plasmatiques de TG parmi les sujets, peu importe le phénotype au départ. Par ailleurs, dans une étude réalisée auprès de 52 femmes ménopausées, un traitement avec fluvastatine (40 mg/jour pour 12 semaines) a produit une réduction d'environ 40 % du cholestérol contenu dans les particules LDL petites et denses, mais aucun changement dans les concentrations plasmatiques de TG (38). Foster et collaborateurs (35) ont examiné l'impact de deux statines, soit la simvastatine et l'atorvastatine (40 mg/jour) selon un devis en chassé-croisé. Bien que l'atorvastatine ait induit une plus grande réduction dans les concentrations de LDL-C et de TG, comparativement à la simvastatine, les deux traitements ont induit des réductions significatives dans les proportions de petites particules LDL denses. Guerin et collaborateurs (36) ont évalué l'effet de 10 mg/jour d'atorvastatine chez 18 sujets (femmes ménopausées et hommes) pendant 6 semaines. Ils ont observé des réductions significatives par rapport aux valeurs de départ dans les concentrations de cholestérol total, de LDL-C, de TG et dans les concentrations de chaque sous-classes de particules LDL.

Par ailleurs, les résultats d'une étude réalisée par Zhao et collaborateurs (43) ont indiqué une augmentation du diamètre des particules LDL après un traitement de 15 semaines avec la simvastatine (20 mg/jour) chez 16 patients avec hyperlipoprotéïnémie type IIB. Dans une étude comparant les effets de l'atorvastatine (10 mg/j) et de la pravastatine (20 mg/j) chez des patients souffrant d'hyperlipidémie familiale combinée, Sirtori et collaborateurs (39) ont trouvé des effets opposés sur la taille des LDL avec ces deux traitements. En effet, les résultats indiquent une augmentation dans le diamètre des particules LDL avec le traitement à l'atorvastatine tandis que le traitement avec la pravastatine a induit une diminution du diamètre des particules LDL (39). Une autre étude réalisée chez des patients souffrant d'hypercholestérolémie familiale a montré une augmentation du diamètre des particules LDL et une diminution de la concentration de cholestérol dans les petites particules LDL et les grosses particules LDL après un traitement d'atorvastatine (10 à 80 mg/j) pendant 6 mois (37).

En résumé, les résultats semblent divergents d'une étude à l'autre et il est difficile de conclure quant à l'effet des statines sur la taille des particules LDL, étant donné le large éventail de dose et les différentes classes de médicaments utilisées. Les statines ayant

un effet plus marqué sur les concentrations de TG auraient par le fait même plus d'impact sur la taille des particules LDL. Par ailleurs, la baisse des concentrations de cholestérol dans les différentes sous-classes de LDL semble être un effet plus constant avec les différentes classes de statines.

2.3.2 Le traitement nutritionnel de l'hypercholestérolémie

Les changements dans l'alimentation demeure la pierre angulaire lors de la prise en charge de l'hypercholestérolémie, en prévention et lors du traitement des MCV. Le but du traitement nutritionnel est de réduire les concentrations élevées de cholestérol total et de LDL-C tout en assurant un apport alimentaire équilibré et en maintenant un état nutritionnel optimal. Dans certains cas, l'approche nutritionnelle seule parviendra à atteindre les cibles thérapeutiques souhaitées. Dans le cas contraire, l'approche pharmacologique peut être jumelée à l'approche nutritionnelle.

Des recommandations alimentaires concernant le traitement de l'hypercholestérolémie ont été émises par divers organismes dont le comité d'experts du NCEP. Initialement, les recommandations du NCEP étaient basées sur une approche en deux étapes. Les phases I et II de l'approche du NCEP étaient conçues pour réduire progressivement les apports en gras saturés et en cholestérol tout en promouvant une perte de poids. Une augmentation de la pratique régulière d'activité physique était aussi encouragée. Une méta-analyse portant sur l'effet des interventions nutritionnelles phases I et II du NCEP sur les facteurs de risque des MCV a été réalisée en 1999 (123). Les résultats de cette méta-analyse ont indiqué que l'intervention nutritionnelle phase I pouvait amener des réductions dans les concentrations de cholestérol total et de LDL-C de 10 % et 12 % respectivement tandis que des réductions de 13 % et 16 % dans les concentrations de cholestérol total et de LDL-C pouvaient être atteintes avec une intervention nutritionnelle selon la phase II.

Par ailleurs, dans les dernières recommandations du NCEP ATP III, il n'est plus question des phases I et II de l'intervention nutritionnelle. En effet, l'approche que suggère le NCEP ATP III fait plutôt référence à des changements thérapeutiques des

habitudes de vie. Le tableau 1 résume ces recommandations. De plus, il est mentionné que les gras *trans* sont des gras qui induisent une élévation du LDL-C et que leur consommation devrait donc être faible (109). L'ajout de 2 g/j de phytostérols (et/ou phytostanols), une augmentation de l'apport en fibres solubles (10 à 25 g/j) et la consommation de produits contenant des protéines de soya, plutôt que des produits animaux est aussi suggérée comme option thérapeutique afin d'optimiser la baisse des concentrations de LDL-C (109).

Tableau 1. Apports recommandés des principaux nutriments de l'alimentation basés sur les changements thérapeutiques des habitudes de vie.

Nutriments	Apports recommandés
Acides gras totaux	25 à 35 % des calories totales
Acides gras saturés	< 7 % des calories totales
Acides gras polyinsaturés	Jusqu'à 10 % des calories totales
Acides gras monoinsaturés	Jusqu'à 20 % des calories totales
Glucides	50 à 60 % des calories totales
Fibres alimentaires	20 à 30 g/j
Protéines	Environ 15 % des calories totales
Cholestérol	< 200 mg/j

L'AHA propose aussi des recommandations sur les habitudes de vie, incluant les habitudes alimentaires pour la réduction du risque de MCV (5). Les recommandations générales visent l'atteinte de quatre objectifs. Tout d'abord atteindre et conserver un mode d'alimentation santé en incluant une variété de fruits, légumes, produits céréaliers à grains entiers, produits laitiers faibles ou sans gras, poisson, poulet, légumineuses et viandes maigres. Ensuite, maintenir un poids santé en assurant une adéquation entre les apports en énergie et les besoins énergétiques. La troisième recommandation vise l'atteinte d'un niveau de cholestérol sanguin et d'un profile lipidique désirable en limitant les aliments riches en gras saturés et en cholestérol et en favorisant des gras insaturés provenant des poissons, des légumineuses et des noix. Finalement, la dernière ligne directrice repose sur l'atteinte d'une pression artérielle adéquate en limitant les

apports en sel et en alcool, en maintenant un poids santé et en mettant l'emphase dans l'alimentation sur les fruits, les légumes et les produits laitiers faibles ou sans gras.

Il existe aussi des recommandations canadiennes sur le traitement des dyslipidémies pour la prévention des MCV. Le groupe de travail canadien sur l'hypercholestérolémie et les autres dyslipidémies a apporté une mise à jour des recommandations en 2003 (124). Les principales recommandations visent entre autres l'augmentation de l'apport en fruits et légumes, l'augmentation de la proportion de gras insaturés et la réduction des gras saturés et *trans* à < 7 % des calories totales. Il est aussi suggéré d'augmenter l'apport en acides gras ω -3 provenant du poisson et de sources végétales. Les recommandations visent une diminution des apports énergétiques, plus précisément en réduisant les glucides simples, pour atteindre et maintenir un IMC < 25 kg/m². Finalement, l'augmentation de l'activité physique est aussi suggérée.

Il est important de noter que plusieurs facteurs peuvent influencer la réponse à une intervention nutritionnelle. Ces facteurs regroupent les concentrations de départ des lipoprotéines et des lipides sanguins, le statut inflammatoire au départ, la composition de l'alimentation habituelle et du régime thérapeutique, les facteurs génétiques, le niveau d'adhérence au traitement, la durée du traitement, les changements dans la masse adipeuse et d'autres mesures d'interventions telles que l'activité physique, la prise de médication, l'arrêt du tabac, etc. De plus, les effets d'une intervention nutritionnelle visant principalement une réduction des apports en gras totaux, saturés et en cholestérol peuvent aussi avoir des répercussions négatives sur d'autres paramètres pouvant influencer le risque cardiovasculaire. Ainsi, il a été rapporté que ce type d'intervention nutritionnelle pouvait entre autres faire diminuer les concentrations de HDL-C (125), augmenter les concentrations de TG (126) et diminuer le diamètre des particules LDL (127).

2.3.2.1 Les effets du traitement nutritionnel sur la taille des LDL

La réduction de l'apport en gras, particulièrement les gras saturés et *trans* demeure une composante importante des recommandations alimentaires dans le traitement et la

prévention des MCV. L'effet de ces recommandations sur le phénotype de la taille des LDL demeure au coeur d'une certaine controverse.

En effet, une réduction de l'apport en gras est souvent accompagnée par une augmentation de l'apport en glucides, qui a été associée à des effets potentiellement délétères sur le phénotype de la taille des LDL (127). Par ailleurs, l'effet d'une diète faible en gras est aussi influencé par le phénotype de départ. Ainsi, Krauss et collaborateurs (128) ont examiné l'effet d'une réduction de l'apport en gras sur les sous-classes de LDL dans une cohorte de 105 hommes en santé consommant une diète riche en gras (46 %) et une diète faible en gras (24 %) pour une durée de 6 semaines chacune selon un devis randomisé en chassé-croisé. Ainsi, avec la diète faible en gras, les hommes ayant une prédominance de petites particules LDL denses (phénotype B) ont montré des réductions plus importantes dans les concentrations de LDL-C, principalement dues à des réductions dans la masse des particules LDL de taille intermédiaire (LDL II) et des LDL petites et denses (LDL III), comparativement aux hommes avec une prédominance de larges particules LDL (phénotype A) (128). De plus, une proportion importante d'hommes avec le phénotype A présentaient le phénotype B à la suite de la diète faible en gras (128). L'augmentation des concentrations de TG suite à la consommation d'une diète riche en glucides (et faible en gras) (126) pourrait expliquer la diminution de la taille des LDL. Comme mentionné précédemment, un bon nombre d'études ont montré une corrélation inverse entre les concentrations de TG et les LDL petites et denses. Il a aussi été démontré qu'une diète faible en gras et riche en glucides (26 % de gras et 58 % de glucides) consommée à volonté, favorisait une perte de poids et induisait une légère réduction dans le diamètre des particules LDL, mais était associée avec une réduction significative des concentrations et du contenu en cholestérol des petites particules LDL denses (129). Une étude réalisée chez 80 hommes et femmes combinant une diète faible en gras et riche en glucides (< 10 % de gras et > 70 % de glucides complexes) à un programme d'exercice a induit une perte de poids ainsi qu'une diminution de la concentrations de TG, tout en augmentant le diamètre des particules LDL et en favorisant une redistribution du cholestérol des petites particules LDL vers les particules LDL plus larges (130). Par ailleurs, une étude réalisée chez 14 femmes ménopausées n'a montré aucun changement significatif dans la taille des particules LDL après une restriction en

gras et une augmentation en glucides, malgré une élévation des concentrations plasmatiques de TG (131).

Par ailleurs, l'impact des différents types de gras sur la taille des LDL alimente aussi la controverse. En effet, le traitement nutritionnel de l'hypercholestérolémie visent entre autres une réduction des gras saturés et *trans*, l'effet hypercholestérolémiant de ceux-ci étant bien établi (123,132). Par ailleurs, l'effet de ces gras sur la taille des particules LDL semble plus ambigu. En effet, dans une étude réalisée chez 103 hommes consommant soit une diète faible en gras (24 %), soit une diète riche en gras (46 %), il a été démontré qu'un apport élevé en gras saturés était associé avec une augmentation des concentrations de particules LDL larges et une diminution de l'activité de la lipase hépatique (133). De plus, une autre étude réalisée chez des hommes et femmes a montré que des diètes riches en gras monoinsaturés, en gras polyinsaturés ou une combinaison des deux réduisaient de façon significative et similaire la taille des particules LDL par rapport à une diète riche en gras saturés (134). À l'opposé, une étude portant sur différents types de gras hydrogénés a montré que l'augmentation de la consommation de gras *trans* était associée avec une diminution de la taille des particules LDL (135).

En résumé, bien qu'un type d'alimentation faible en gras puisse réduire la taille des particules LDL, particulièrement chez les individus avec une prédominance de particules LDL larges, le bénéfice associé à la réduction des concentrations et du contenu en cholestérol des particules LDL petites et denses pourrait compenser, puisque la concentration en cholestérol des particules LDL petites et denses semble plus fortement associée au risque de MCV que le diamètre des particules LDL. De plus, puisque l'effet des gras saturés sur le diamètre des particules LDL peut sembler positif, la restriction de ce type de gras dans la prévention et le traitement des MCV pourrait être questionné. Par contre, à long terme, l'apport en gras saturé augmente le LDL-C, donc possiblement aussi celui contenu dans les particules LDL petites et denses, ce qui serait plutôt néfaste.

Par ailleurs, afin de maximiser les effets de la diète faible en gras traditionnellement recommandée, l'AHA et le NCEP ont récemment recommandé l'ajout de certains aliments fonctionnels ou composés ayant un effet hypocholestérolémiant. Ces aliments ou ingrédients fonctionnels incluent les protéines de soya, les fibres solubles et les

phytostérols. D'ailleurs, la *Food and Drug Administration* (FDA) a aussi permis des allégations santé sur les aliments contenant ces 3 composés (6-9) et sur les noix (10), à propos de la réduction du risque de MCV. La diète Portfolio est une diète qui combine dans des proportions définies, ces composés; soit les protéines de soya, les fibres solubles, les phytostérols et les amandes. Cette nouvelle approche a récemment fait l'objet d'investigations chez des sujets hypercholestérolémiques.

CHAPITRE III : LA DIÈTE PORTFOLIO

La diète Portfolio correspond à une alimentation de type végétarienne faible en gras saturés et en cholestérol comprenant quatre composés spécifiques, soit des protéines de soya, des fibres solubles, des phytostérols et des amandes. Ce chapitre comporte une section sur divers aspects de chacun des composés de la diète Portfolio, puis une section sur la diète Portfolio proprement dite.

3.1 LES PROTÉINES DE SOYA

Le soya provient d'une plante annuelle originaire d'Asie. Le soya est riche en protéine (environ 40 %), comparativement aux autres légumineuses, qui contiennent habituellement 20 à 30 % de protéines (136). La protéine de soya est donc une protéine végétale, qui est maintenant reconnue comme une source de protéine de haute qualité, et certains auteurs considèrent même qu'elle pourrait être utilisée comme seule source de protéines dans l'alimentation (137).

3.1.1 La forme d'administration et les principales sources

La protéine de soya est isolée après un processus en plusieurs étapes qui permet d'enlever les lipides et les composés indigestes. Tout dépendant des étapes suivies durant le processus, la protéine de soya peut prendre plusieurs formes, soit l'isolat de protéines de soya, le concentré de protéines de soya ou encore la farine de soya. De plus, la protéine de soya peut provenir directement de la fève de soya, mais aussi des produits de soya dérivés comme le tofu, le tempeh, le lait de soya, les noix de soya, et les substituts de la viande renfermant des protéines de soya texturées. Par ailleurs, tous ces différents produits contenant des protéines de soya peuvent aussi contenir d'autres composés tels que des isoflavones, des phytostérols, des fibres, des saponines, des phytates et des inhibiteurs de protéase, dans des proportions variables selon le procédé

de fabrication. Les principales sources de protéines de soya sont énumérées dans le tableau 2.

Tableau 2. Principales sources de protéines de soya¹.

Aliments	Portions	Quantité de protéines/portion (g)
Isolat de protéines de soya	100g	80.7
Concentré de protéines de soya	100g	58.1
Farine de soya (dégraissée)	100g	47.0
Tempeh	100g	18.5
Fèves de soya (graines mures), grillées	65 ml	15.8
Fèves de soya verte, cuites	100g	12.3
Tofu ferme	100g	8.2
Lait de soya	250 ml	7.3
Tofu soyeux	100g	6.6

¹ Données tirées du *USDA Nutrient Database for Standard Reference* (138).

Les études ayant investigué l'impact du soya sur divers paramètres ont ainsi utilisé le soya sous différentes formes. Par ailleurs, les isoflavones sont des phytoestrogènes naturellement présentes dans le soya. Une portion de 25 g de protéines de soya contiendrait environ 50 mg d'isoflavones. Les isoflavones exerceraient à la fois des activités oestrogéniques et anti-oestrogéniques selon le tissu sur lequel elles agissent.

3.1.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes des protéines de soya

Les effets potentiellement bénéfiques de la protéine de soya sur la santé cardiovasculaire ont été investigués depuis plus de 60 ans (139). Quelques études d'observations suggèrent une association inverse entre la consommation de protéines de soya et le profil de risque de MCV. En effet, les résultats d'une étude transversale réalisée chez des hommes et femmes d'origine Japonaise suggèrent une association négative entre l'apport rapporté en soya et les niveaux de cholestérol total, après ajustement pour plusieurs variables dont l'âge, l'usage du tabac, l'indice de masse

corporelle (IMC), l'énergie, le type de gras et diverses variables alimentaires (140). Une autre étude réalisée dans une population chinoise rapporte une corrélation inverse faible mais significative entre l'apport en protéines de soya et les concentrations plasmatiques de cholestérol total, chez des hommes et des femmes ménopausées, après ajustement pour l'âge, le niveau d'éducation, l'usage de tabac, le cholestérol alimentaire et les niveaux d'apports en acides gras totaux et saturés (141). Bien que ces deux études d'observation suggèrent une association inverse entre la consommation de protéines de soya et le profil de risque de MCV, les études d'interventions demeurent plus controversées à ce sujet.

En 1995, une méta-analyse portant sur les effets du soya et les concentrations sériques de lipides conclut qu'un apport moyen de 47 g/jour de protéines de soya diminue de façon significative les niveaux plasmatiques de cholestérol total de 9.3 %, de LDL-C de 12.9 % et de TG de 10.5 %, comparé à la consommation de protéines animales, principalement la caséine (142). De plus, les auteurs soulignent que les changements observés dans les concentrations de cholestérol total et de LDL-C étaient directement reliés aux concentrations initiales de cholestérol plasmatique et qu'il n'y avait pas d'effet significatif de la protéine de soya sur les concentrations de cholestérol chez les individus ayant des concentrations plasmatiques de cholestérol < 5.2 mmol/L (142). Depuis 1995, de nombreuses études d'interventions ont rapporté des résultats similaires, bien que d'autres études aient rapporté une augmentation du cholestérol (non significative) avec des protéines de soya ou encore aucun effet. Récemment, Sacks et collaborateurs ont analysé 22 études randomisées comparant des isolats de protéines de soya (avec isoflavones) avec différents types de protéines, animales pour la plupart, et ont conclu que les concentrations de LDL-C ou de non HDL-C diminuaient dans la plupart des études avec un effet global d'approximativement 3 % (143). Comme les diètes à base de protéines de soya sont souvent faibles en gras saturés et en cholestérol et plus élevées en gras polyinsaturés et aussi parce qu'il est fréquent que les patients perdent du poids en suivant ce type d'alimentation, les résultats peuvent être confondus.

En résumé, les résultats des études antérieures indiquant que les protéines de soya avaient des effets cliniques important sur les concentrations de LDL-C semblent plus ou moins confirmés par les études plus récentes sur le sujet, qui dénotent plutôt un effet hypocholestérolémiant modeste de la protéine de soya. De plus, la réduction des

concentrations de cholestérol total et de LDL-C semble influencée par la concentration plasmatique de cholestérol au départ. Par ailleurs, le soja et les produits de soja seraient tout de même bénéfiques à la santé cardiovasculaire, puisqu'ils ont pour la plupart un contenu élevé en gras polyinsaturés, en fibres, en vitamines et minéraux et un faible contenu en gras saturé.

3.1.2.1 La dose

Des recherches ont été effectuées afin de déterminer la dose minimale de protéines de soja requise pour induire une réduction dans les concentrations de cholestérol. Une étude réalisée par Bakhit et collaborateurs a montré une diminution du cholestérol avec 25 g d'isolat de protéines de soja chez des sujets hypercholestérolémiques (144). Plus récemment, une étude dose-réponse réalisée chez des hommes hypercholestérolémiques a comparé les effets de diverses quantités de protéines de soja (20, 30, 40 et 50 g/jour) incorporées dans une diète faible en gras avec ceux d'une protéine animale, la caséine (145). Après 6 semaines, les quatre niveaux de protéines de soja ont induit des réductions significatives dans les concentrations de non HDL-C (1.5 à 4.5 %) par rapport à la caséine (145). En 1999, la *FDA* a autorisé une allégation santé sur la protéine de soja et la réduction des concentrations de cholestérol. Basées sur les évidences scientifiques, la *FDA* a déterminé qu'une quantité minimale de 25 g de protéines de soja par jour incorporée dans une alimentation faible en gras saturés et en cholestérol était requise pour observer une réduction des niveaux de cholestérol.

3.1.3 Les mécanismes d'action des protéines de soja

Plusieurs études chez l'animal et quelques unes aussi chez l'humain ont permis d'identifier des mécanismes possibles par lesquels la protéine de soja réduirait les concentrations plasmatiques de cholestérol (Figure 2). Ainsi, un des mécanismes proposés serait que la protéine de soja augmente l'excrétion fécale des acides biliaires. En effet, certaines études chez l'animal (146,147) et chez l'humain (148) ont rapporté une augmentation de l'excrétion d'acides biliaires après la consommation de protéines de soja, tandis qu'une autre étude chez l'humain n'a pas montré d'augmentation dans

l'excrétion fécale d'acides biliaires (149). Un autre mécanisme proposé implique l'inhibition de l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire par la protéine de soya. Des études chez l'animal ont montré que le lapin absorbait plus facilement le cholestérol lorsqu'il était nourri avec une protéine animale, la caséine, que lorsqu'il était nourri avec la protéine de soya (146,150). L'augmentation de l'activité des récepteurs LDL pourrait aussi expliquer, du moins en partie, l'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya. Une étude avec culture cellulaire a suggéré qu'une protéine d'entreposage dans la fève de soya, la 7S globuline, pourrait stimuler l'activité des récepteurs LDL (151).

Par ailleurs, plusieurs autres composantes associées à la protéine de soya ont aussi été impliquées dans l'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya. On retrouve notamment certains acides aminés, les saponines, les inhibiteurs de trypsines, l'acide phytique, le cuivre et les isoflavones. Ainsi, la protéine de soya contient un haut ratio arginine/lysine et arginine/méthionine, comparé aux protéines animales et des recherches chez l'animal ont indiqué que la lysine et la méthionine avaient tendance à augmenter les concentrations de cholestérol tandis que l'arginine montrait l'effet inverse (152). Les études portant sur les saponines et les inhibiteurs de trypsine demeurent controversées et il est difficile de conclure quand à l'effet hypocholestérolémiant de ces composés. L'acide phytique, qui est retrouvé dans tous les produits de soya non fermentés, forme un complexe avec le zinc au niveau de l'intestin. Il a par ailleurs été montré qu'une déficience en cuivre ou un ratio zinc/cuivre élevé pouvait induire une augmentation du cholestérol plasmatique (153). Le mécanisme suggéré serait que les produits de soya contenant du cuivre et de l'acide phytique pourrait faire diminuer le cholestérol en diminuant le ratio zinc/cuivre. Finalement en ce qui concerne les isoflavones, plusieurs études ont été réalisées selon différents protocoles. Certaines études ont comparé la protéine de soya avec ou sans isoflavones, tandis que d'autres ont comparé des capsules d'isoflavones à un placebo, et ce avec des doses très variables d'isoflavones. Certaines études ont rapporté une plus grande diminution dans les concentrations de lipides sanguins lorsque la protéine de soya était combinée avec des isoflavones (24,154-156). Par contre, l'effet hypolipémiant ne semble pas observé lorsque les isoflavones provenant du soya sont consommées sans la composante protéique (157). Une récente méta-analyse a d'ailleurs conclu que les isoflavones n'affectaient pas les concentrations de lipides sanguins (158). Il semble

donc que plusieurs mécanismes soient impliqués dans l'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya, et que ces mécanismes varient selon le modèle étudié et selon les composantes présentes ou non avec la protéine de soya.

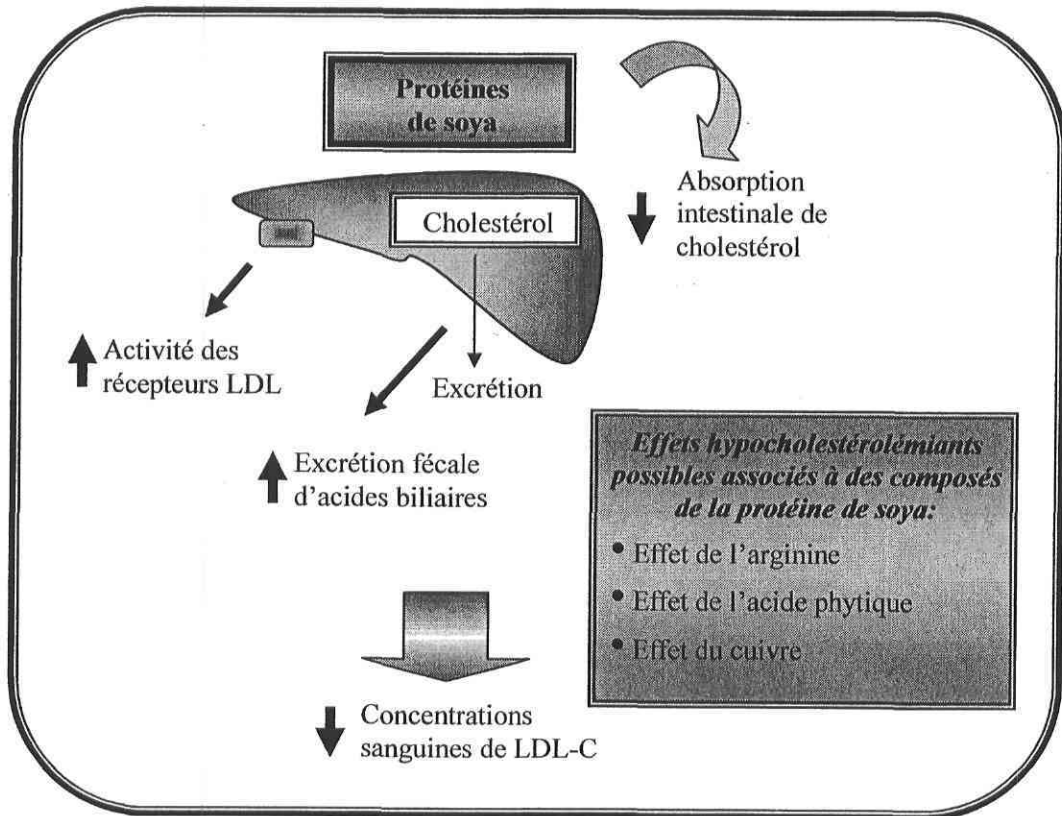


Figure 2. Mécanismes d'action de la protéine de soya

3.1.4 Les effets des protéines de soya sur la taille des LDL

Peu d'études ont évalué l'impact des protéines de soya sur le phénotype de la taille des particules LDL. La première étude a évalué l'effet de 3 poudres d'isolat de protéines de soya de différentes concentrations d'isoflavones chez des femmes ménopausées (normocholestérolémiques et hypercholestérolémiques) selon un protocole randomisé en chassé-croisé (28). Les résultats n'ont indiqué aucun effet significatif de la consommation d'isoflavones sur la taille des particules LDL (28). Une autre étude réalisée chez des femmes normocholestérolémiques non ménopausées, selon un protocole semblable au précédent, avec 3 poudres d'isolat de protéines de soya de

différentes concentrations d'isoflavones, arrive aussi aux mêmes résultats concernant le diamètre des particules LDL (24). Plus récemment, une étude a comparé les effets d'une diète contenant des protéines de soya, enrichie ou non en isoflavones avec une diète contenant des protéines animales enrichies ou non en isoflavones sur différentes caractéristiques électrophorétiques des particules LDL (22). Les résultats ont indiqué que la consommation des diètes riches en protéines de soya augmentait significativement le diamètre des particules LDL, mais que la consommation d'isoflavones n'avait pas d'effet (22). De plus, l'étude montre que la consommation de protéines de soya diminuait significativement la proportion des petites particules LDL < 255 Å et le cholestérol contenu dans les petites particules < 255 Å, tout en augmentant significativement la proportion et le cholestérol des grosses particules LDL > 260 Å (22). La divergence des résultats obtenus peut en partie être expliquée par le fait que les deux premières études ont été réalisées chez des individus consommant leur propre alimentation avec l'ajout de poudre de protéines de soya tandis que la dernière étude a été réalisée dans des conditions contrôlées dans lesquelles les aliments étaient fournis. De plus, les deux premières études n'ont observé aucun changement dans les concentrations de TG tandis que la dernière a observé une diminution des TG. Ainsi, ces résultats concordent avec le fait que les changements dans les concentrations en TG corrélaient fortement avec les changements dans la taille des particules LDL (81). Bien que ces résultats semblent indiquer que l'impact des protéines de soya sur la taille des particules LDL ne soit pas relié au contenu en isoflavones, d'autres études seront nécessaires afin de conclure avec certitude quand à l'effet des protéines de soya sur la taille des particules LDL.

3.1.5 La sécurité des protéines de soya

La préoccupation à l'égard de la sécurité des protéines de soya provient principalement des isoflavones contenues dans le soya. En effet, comme les isoflavones ont à la fois une activité oestrogénique et anti-oestrogénique, ces composés pourraient avoir un impact bénéfique ou nuisible sur certains tissus spécifiques. Le faible taux d'incidence de cancer de l'endomètre et du sein et la consommation élevée d'isoflavones provenant du soya suggère un rôle protecteur des substances dérivées du soya contre le cancer

(159,160). Ainsi, au niveau épidémiologique, certaines études ont trouvé qu'une consommation régulière de produits à base de soya était associée avec une diminution du risque de cancer du sein chez les femmes non ménopausées (161,162), mais non chez les femmes ménopausées (161) tandis que d'autres études n'ont trouvé aucune association (163). De plus, une étude réalisée à Shanghai a montré qu'un apport élevé en soya à l'adolescence était associé avec un faible risque de développer un cancer du sein à l'âge adulte (164). Ainsi, il semble qu'une exposition à long terme, dès le jeune âge puisse avoir un effet protecteur. Par ailleurs, chez les individus ayant survécus à un cancer de sein, la consommation de produit de soya demeure controversée (165). Une étude avec des cellules mammaires humaines cancéreuses a montré à la fois un effet stimulateur de la prolifération des cellules avec une faible dose d'isoflavones (génistéine) et un effet inhibiteur de la prolifération à plus haute dose (166). Chez l'animal, plusieurs études supportent l'hypothèse que la consommation d'isoflavones de soya inhiberait la promotion des tumeurs mammaires (167,168) tandis que d'autres ont montré que la génistéine pouvait favoriser la croissance tumorale (166,169). Finalement, des études cliniques ont suggéré que les phytoestrogènes du soya stimulaient la prolifération des cellules mammaires épithéliales chez des femmes non ménopausées (170,171). À la lumière de ces résultats, il semble impossible de conclure quant à l'effet protecteur ou dommageable des isoflavones sur le cancer de sein. Les effets semblent aussi dépendants à la fois de la dose, de la période de la vie influençant le cycle hormonal, du tissu impliqué et de la durée d'exposition.

Le cancer de l'endomètre étant un cancer hormono-dépendant, une considération à cet égard est aussi importante, bien que la littérature sur le sujet soit moins abondante. Plusieurs études ont montré qu'une consommation d'isoflavones ou de produits de soya était associée avec un faible risque de cancer de l'endomètre (172-174). Ces résultats suggèrent que les phytoestrogènes auraient un effet anti-œstrogénique sur l'utérus. Plusieurs études cliniques ont aussi trouvé que les isoflavones n'affectaient pas l'endomètre (175,176). Par ailleurs, plus récemment une étude a été réalisée chez 376 femmes ménopausées randomisées en deux groupes; soit le groupe traité qui devait prendre une capsule de 150 mg d'isoflavones par jour et un groupe témoin (177). Après 5 ans, 6 cas d'hyperplasie de l'endomètre (3.8 %) ont été détectés dans le groupe traité tandis qu'aucun n'a été observé dans le groupe témoin. Il semble donc que les résultats demeurent controversés aussi au sujet du cancer de l'endomètre et des isoflavones.

Ainsi, le manque d'évidence ne permet pas de conclure avec certitude quant à l'effet des isoflavones sur le cancer de l'endomètre.

En ce qui concerne le cancer de la prostate, des études indiquent que l'incidence de ce type de cancer est relativement faible dans les pays asiatiques, où les produits de soya sont couramment consommés, et certaines études épidémiologiques ont montré une association inverse entre les produits de soya, les niveaux sériques de phytoestrogènes et le cancer de la prostate (178,179). De plus, plusieurs études animales (180-182) et *in vitro* (183,184) ont montré un effet protecteur des phytoestrogènes contre le développement du cancer de la prostate. Par ailleurs, Urban et collaborateurs n'ont trouvé aucun effet protecteur de la consommation de breuvages de soya sur la diminution des concentrations sériques d'un marqueur du cancer de la prostate, l'antigène spécifique à la prostate, chez des hommes âgés (185). Par contre, dans cette étude, le temps d'exposition (6 semaines) était court, ce qui pourrait expliquer pourquoi aucune diminution significative du marqueur biochimique n'ait été observée. Ainsi, l'efficacité des isoflavones de soya dans la prévention et le traitement du cancer de la prostate chez l'humain demeure incertaine.

3.2 LES FIBRES SOLUBLES

Les fibres alimentaires sont des polysaccharides d'origine végétale et de la lignine qui ne sont pas hydrolysées par les enzymes digestives humaines. Elles peuvent être classées en deux groupes selon leur solubilité dans l'eau : les fibres solubles et insolubles. Les présents travaux de recherche portent sur les fibres solubles, l'intérêt sera donc principalement porté sur ce type de fibres. Les fibres solubles regroupent les gommes, les pectines, les mucilages et certains types d'hémicelluloses.

3.2.1 La forme d'administration et les principales sources

Les principales sources de fibres solubles utilisées dans les études sont la pectine, les graines de plants de *Plantago ovata*, appelées psyllium, les β -glucanes provenant de

l'avoine, de l'orge et de la levure ainsi que la gomme de guar. Les β -glucanes sont des polysaccharides qui se retrouvent dans la paroi cellulaire de l'endosperme de l'avoine et de l'orge principalement. La plupart des études sur les β -glucanes provenant de l'avoine ont utilisé le son d'avoine, le plus souvent incorporé dans différents aliments tels que des céréales, des biscuits ou des jus. Les études portant sur les β -glucanes provenant de l'orge utilisaient soit directement de l'orge, soit de la farine d'orge ou des flocons d'orge. La concentration de β -glucanes varie de 3.5 à 5.7 % (186) dans les graines d'avoine et de 3.5 à 5.9 % de la matière sèche dans l'orge (187). La pectine est le plus souvent administrée sous forme de supplément ou d'aliment et le psyllium est utilisé, soit sous forme de supplément (mucilage) ou incorporé dans des céréales. Il est à noter que plusieurs fruits, légumes et légumineuses contiennent aussi des fibres solubles, mais peu d'études ont investigué l'effet spécifique des fibres solubles dans ces aliments.

3.2.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes des fibres solubles

Plusieurs études d'observations ont rapporté un lien entre la consommation de grains entiers et le risque de MCV. Ainsi, les résultats de la *Nurses' Health Study* qui incluait plus de 75 000 femmes, ont indiqué une relation inverse entre l'apport en grains entiers et le risque de MCV, après ajustement pour plusieurs variables confondantes (entre autres : l'âge, l'usage du tabac, l'IMC, l'activité physique et le type de gras consommé) (188). Dans l'étude *Iowa Women's Health Study* qui incluait 34 492 femmes, le risque relatif de MCV était de 1.0, 0.96, 0.76, 0.71 et 0.64 ($p < 0.02$) pour les femmes qui consommaient respectivement 0.2, 0.9, 1.2, 1.9 et 3.2 portions de grains entiers par jour (189). Des résultats semblables ont aussi été obtenus dans une cohorte de plus de 42 000 hommes (190). Ces études indiquent une association inverse entre la consommation de grains entiers et le risque de MCV, sans toutefois spécifier le type de fibres.

Les fibres solubles pourraient jouer un rôle important dans cette association puisqu'il semble que ce soit les fibres solubles qui aient un effet hypocholestérolémiant. Ainsi, une méta-analyse de 67 études contrôlées conclut qu'un gramme de fibres solubles par jour produit une diminution des concentrations de cholestérol total et de LDL-C de -0.045 et -0.057 mmol/L (191). De plus, cette méta-analyse indique que l'effet sur les

lipides plasmatiques des fibres solubles provenant de l'avoine, du psyllium ou de la pectine n'est pas significativement différent. Une autre méta-analyse portant exclusivement sur les effets du psyllium conclut qu'une consommation de 10.2 g de psyllium par jour diminue significativement le cholestérol total et le LDL-C de 4 et 7 % respectivement (192). En 1992, une méta-analyse portant sur l'avoine conclut qu'un apport quotidien d'environ 3 g de fibres solubles provenant de produits de l'avoine engendrait une légère diminution dans la concentration plasmatique de cholestérol total de 0.13 mmol/L (193). Bien que de récentes études aient rapporté un effet positif de la consommation d'avoine sur la réduction des concentrations plasmatiques de cholestérol total et LDL-C (194,195), certaines études n'ont démontré aucun effet (196,197). Par ailleurs, des études cliniques ont démontré l'effet hypocholestérolémiant des β -glucanes provenant de l'orge (17,18) et de certaines levures (198).

En sommes, bien que certaines études n'aient observé aucun effet significatif des fibres solubles, principalement celles provenant de l'avoine, la plupart des études ont montré une réduction dans les concentrations plasmatiques de cholestérol. Ces résultats semblent indiquer que les fibres solubles pourraient avoir un effet hypocholestérolémiant modeste.

3.2.2.1 La dose

En 1997, la *FDA* a autorisé une allégation santé sur les fibres solubles provenant de l'avoine entière et le risque de MCV, lorsque consommée dans une diète faible en gras saturé et en cholestérol. La *FDA* a conclu qu'une dose minimale d'au moins 3 g de β -glucanes par jour devait être consommée pour atteindre une réduction significative des concentrations de cholestérol (9). De plus, pour satisfaire les critères de l'allégation, un aliment contenant de l'avoine entière doit contenir 0.75 g de fibres solubles par portion (9). Par la suite, la *FDA* approuvait une allégation santé sur les fibres solubles de psyllium et la réduction du risque de MCV, et spécifiait qu'un aliment doit contenir au minimum 1.7 g de fibres solubles provenant de la cosse des graines de psyllium, par portion de référence qui est habituellement consommée (7). Plus récemment, un amendement a été apporté afin d'inclure l'orge comme source appropriée de β -glucanes, en gardant la dose minimale à 3 g de β -glucanes par jour (199). Les recommandations

concernant l'apport en fibre alimentaire total sont variables. Par ailleurs, le NCEP ATP III recommande une quantité de 20 à 30 g de fibres par jour, et suggère un apport pouvant aller de 10 à 25 g par jour de fibres solubles (109).

3.2.3 Les mécanismes d'action des fibres solubles

L'effet hypocholestérolémiant des fibres solubles semble être lié à une série de processus altérant le métabolisme du cholestérol (Figure 3). Le principal mécanisme d'action impliquerait une augmentation de l'excrétion fécale ainsi qu'une perturbation de la réabsorption des acides biliaires (200). De façon spécifique, l'effet serait dû à la liaison des fibres avec les acides biliaires, entraînant une dilution du contenu en acide biliaire et une diminution du pH intestinal. Cette diminution aurait pour effet d'inhiber la conversion d'acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires, ce qui pourrait engendrer une réduction de l'absorption des acides gras et du cholestérol (201). De plus, l'excrétion d'acides biliaires pourrait entraîner une augmentation de la production d'acides biliaires pour remplacer ce qui a été excrété, ce qui augmenterait la captation du cholestérol de la circulation sanguine et par conséquent diminuerait la concentration plasmatique de cholestérol (202). Les fibres solubles induirait aussi une diminution des concentrations hépatiques de cholestérol entraînant une régulation à la hausse des récepteur des LDL (203). Une étude réalisée avec un modèle animal a aussi indiqué une réduction significative de l'activité de la CETP dans le groupe nourri avec de la pectine ayant un niveau de viscosité élevée (204), ce qui pourrait contribué au mécanisme hypocholestérolémiant. Finalement un autre mécanisme possible des fibres solubles est lié à la production d'acides gras à chaîne courte par la fermentation des fibres dans le colon, par la microflore intestinale. Ces acides gras à chaîne courte pourraient inhiber la synthèse hépatique d'acides gras (205). L'action principale des fibres solubles semble donc être liée à une diminution du *pool* de cholestérol hépatique via différents processus.

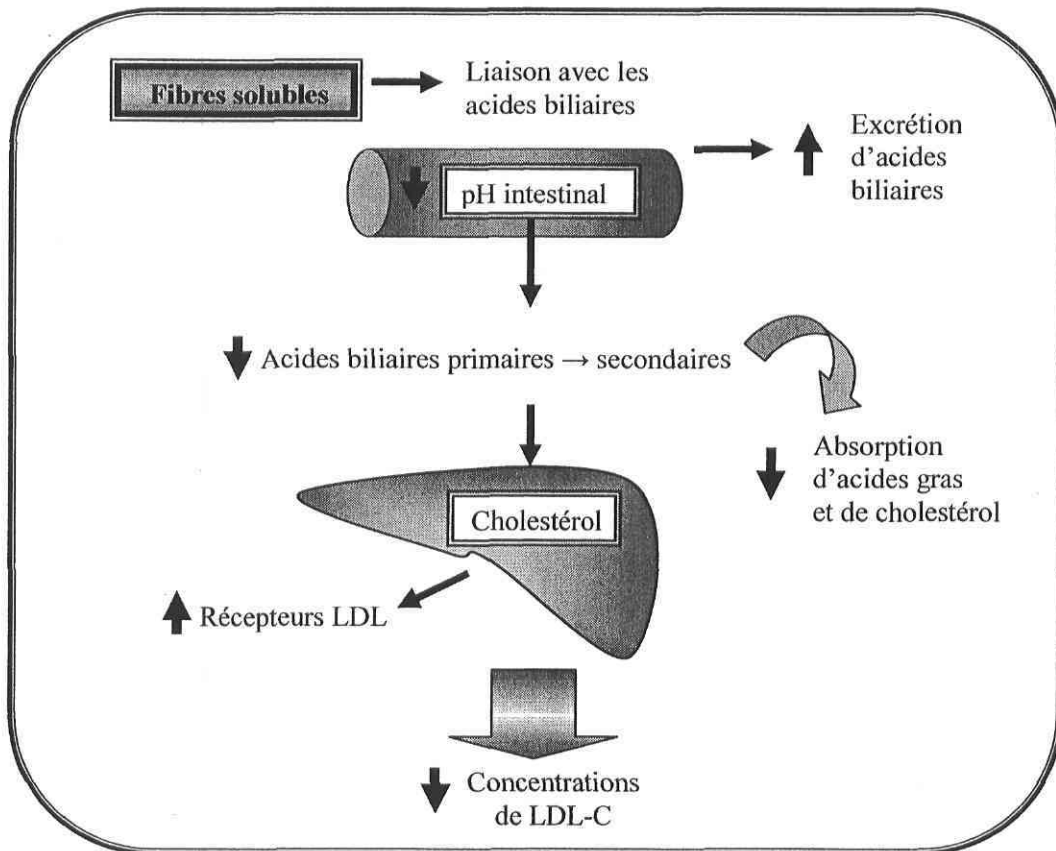


Figure 3. Mécanismes d'action des fibres solubles.

3.2.4 Les effets des fibres solubles sur la taille des LDL

Peu d'études ont évalué l'effet des fibres solubles sur le phénotype de la taille des LDL. À ce jour, il semble que 3 études, une portant sur l'avoine et deux portant sur l'orge, aient été publiées. La première étude a comparé l'effet de l'avoine et du blé sur les lipides plasmatiques ainsi que sur différentes caractéristiques électrophorétiques des particules LDL chez des hommes avec surpoids (21). Les résultats ont indiqué une diminution significative du cholestérol dans les petites particules LDL et dans le nombre de particules LDL dans le groupe ayant consommé de l'avoine (14 g de fibres/jour) comparativement au groupe ayant consommé du blé (14 g de fibres/jour) (21). De plus, aucun changement dans la taille des particules LDL n'a été observé (21). Une autre étude a examiné les effets de la consommation d'orge sur les facteurs de risque des MCV chez des hommes et femmes hypercholestérolémiques (17). Les

résultats montrent une diminution significative des concentrations de cholestérol dans les plus grosses particules LDL avec les trois diètes à base d'orge, contenant des quantités variables de β -glucanes, comparativement à la diète témoin (17). De plus, le diamètre moyen des particules LDL a diminué significativement dans le groupe d'hommes et de femmes ménopausées consommant la diète très riche en β -glucanes et chez les femmes non ménopausées consommant la diète faible ou modérée en β -glucanes (17). Finalement, une autre étude réalisée chez des hommes hypercholestérolémiques a montré une diminution du diamètre moyen des particules LDL après la consommation de trois diètes à base d'orge (contenant des quantités variables de β -glucanes) comparativement à la diète témoin (18). La divergence entre les résultats peut être en partie expliquée par les différents types et la quantité de fibres utilisés. Bien que l'avoine et l'orge contiennent toutes deux des β -glucanes, les quantités peuvent être légèrement différentes d'une céréale à l'autre. De plus, dans les deux dernières études, les sujets étaient hypercholestérolémiques, ce qui n'était pas le cas dans la première. La méthode d'analyse des caractéristiques électrophorétiques des LDL était aussi différente. En effet, dans la première étude, l'analyse a été réalisée par PAGGE tandis que les deux autres ont utilisé la résonance magnétique nucléaire. Devant la divergence des résultats, d'autres études seront donc nécessaires afin de mieux caractériser l'effet des différentes fibres solubles sur le phénotype de la taille des LDL.

3.2.5 La sécurité des fibres solubles

Chez des individus en santé, les fibres alimentaires ont généralement un impact bénéfique. Bien que les recommandations sur les fibres alimentaires varient, la recommandation pour la population en général est d'environ 20 à 30 g/jour. L'augmentation trop rapide de l'apport en fibres peut occasionner un certain inconfort gastro-intestinal et des ballonnements. De plus, il est important de maintenir un niveau d'hydratation adéquat avec un régime riche en fibres. Il est à noter que les fibres peuvent être contre-indiquées dans le cas de certaines pathologies gastro-intestinales. Par ailleurs, les fibres alimentaires sont souvent associées à d'autres substances dans les aliments, comme les phytates, qui peuvent former des complexes insolubles avec

plusieurs minéraux, altérant ainsi leur biodisponibilité. Des études suggèrent que les phytates et/ou les fibres pourraient diminuer l'absorption du calcium, du fer, du zinc et du magnésium (206-208) bien que ces résultats demeurent controversés. En effet, une étude indiquait que certaines fibres pourraient avoir un effet positif sur l'absorption du calcium et n'affectaient pas l'absorption du fer, du zinc ni du magnésium (209). Il semble aussi que certaines fibres solubles auraient moins d'effets sur l'absorption de différents minéraux. Ainsi, des études ont montré que l'ajout de pectine à la diète n'affectait pratiquement pas l'absorption de certains minéraux (210,211). Ces résultats semblent plutôt suggérer que l'effet négatif sur l'absorption de certains minéraux serait attribuable aux phytates. Une méta-analyse portant sur les effets du psyllium a aussi conclu que le psyllium était bien toléré et n'était pas associé avec des événements indésirables sévères (192). En somme, une augmentation graduelle de la consommation de fibres, dans un régime alimentaire équilibré avec un état nutritionnel adéquat, ne semble pas nuisible à la santé.

3.3 LES PHYTOSTÉROLS

Les stérols représentent un groupe de composés caractérisés par un noyau cyclopentanophénanthrène, et sont des constituants essentiels des membranes cellulaires chez les animaux et les plantes. Le cholestérol fait parti des cellules des mammifères tandis que les phytostérols représentent un groupe de composés similaires au cholestérol, mais non synthétisés par le corps humain. En effet, les phytostérols sont produits par les plantes. Les propriétés hypocholestérolémiantes des phytostérols ont été démontrées au début des années 1950 chez l'animal (212). Depuis ce temps de nombreuses études réalisées chez l'humain ont confirmé ces observations.

3.3.1 La forme d'administration et les principales sources

Il existe plus de 40 stérols végétaux, les plus abondants étant le sitostérol, le campistérol et le stigmastérol. L'hydrogénation des phytostérols produits des stanols

végétaux ou phytostanols. La figure 4 représente la structure chimique du cholestérol et des principales formes de phytostérols et phytostanols.

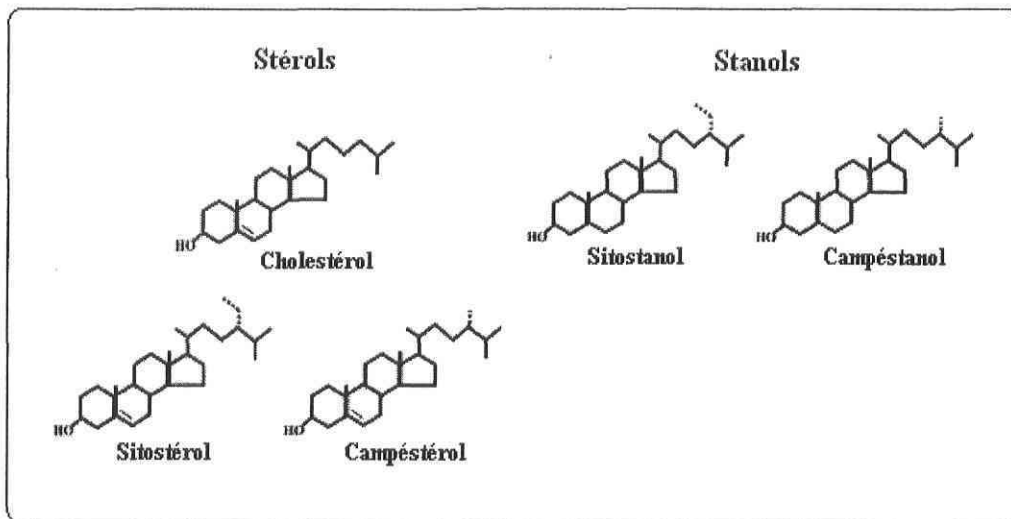


Figure 4. Structure chimique du cholestérol et des principales formes de phytostérols et phytostanols.

Les principales sources de phytostérols sont les huiles végétales. Le sitostanol, qui est le phytostanol le plus abondant, se retrouve principalement dans la pulpe de bois, le tallöl et en moins grande quantité dans l'huile de soya. Le tallöl est une résine obtenue à partir du bois de pin principalement durant le processus de fabrication des pâtes chimiques. Dans la diète occidentale, l'apport alimentaire varie quotidiennement entre 100-300 mg pour les phytostérols et entre 20-50 mg pour les phytostanols, bien que ces apports puissent être plus élevés chez les végétariens (213,214). Le contenu en phytostérols de différents aliments est présenté dans le tableau 3.

Tableau 3. Contenu en phytostérols de différents aliments.

Aliments	Phytostérols (mg / 100 g de portion comestible)
Huile de maïs	952
Huile de tournesol	725
Huile se carthame	444
Huile de soya	221
Huile d'olive	176
Amandes	143
Fèves	76
Maïs	70
Blé	69
Huile de palme	49
Laitue	38
Banane	16
Pomme	12
Tomate	7

Tableau adapté de Weihrauch et collaborateurs (215).

Les stérols et les stanols végétaux peuvent être présents sous formes libres ou estérifiés à un acide gras. Au départ, les phytostérols étaient administrés sous forme de poudre, et les quantités nécessaires pour avoir un effet étaient relativement élevées (216). L'estérification des stérols et des stanols avec des acides gras a permis d'augmenter leur solubilité dans les matières grasses, facilitant ainsi leur incorporation dans divers aliments. Ainsi, en augmentant la solubilité l'effet hypocholestérolémiant des phytostérols et des phytostanols estérifiés pourrait être plus marqué. Par ailleurs, il semble que la forme libre serait aussi efficace que la forme estérifiée, dans la mesure où les phytostérols et les phytostanols sont bien solubilisés dans l'aliment (217). La forme semble donc avoir un impact plus ou moins important dans l'efficacité de ces composés.

Traditionnellement, les stérols et les stanols végétaux étaient plutôt incorporés dans des aliments tels que les margarines et les vinaigrettes. Plus récemment, d'autres techniques ont été développées afin d'augmenter l'efficacité des phytostérols. Ainsi, l'administration des phytostérols émulsifiés avec de la lécithine semble augmenter l'inhibition de l'absorption du cholestérol (218). Cette technique a aussi permis l'incorporation de phytostérols dans des aliments à faible teneur en gras, comme les

boissons et les yogourts. Ainsi, plusieurs études ont démontré l'efficacité des aliments faibles en gras et enrichis en stérols ou en stanols végétaux sur la réduction des concentrations plasmatiques de cholestérol total et de LDL-C (219-221). Cependant, ces résultats demeurent controversés (222). De plus, la solubilisation des phytostérols avec des diacylglycérols plutôt qu'avec des TG semble plus efficace au niveau des changements dans les concentrations de cholestérol total (223). D'autres formes d'administrations, telle que la solubilisation des phytostérols sous forme de microcristaux paraît aussi efficace pour diminuer les concentrations de LDL-C (224).

Les différents stérols et stanols végétaux diffèrent du cholestérol par l'addition d'un groupe méthyl ou éthyl sur la chaîne latérale, ce qui résulte en un faible taux d'absorption intestinale. Ainsi, comparativement au cholestérol qui a un taux d'absorption variant entre 35 et 70 %, les phytostérols et les phytostanols sont faiblement absorbés dans l'intestin avec des taux respectifs de 0.4 à 3.5 % et de 0.02 à 0.3 % (225). Les différents taux d'absorption seraient reliés à la longueur de la chaîne latérale. Ainsi, plus la longueur de la chaîne augmente, moins le stérol serait absorbé, dû à l'augmentation de l'hydrophobicité (226).

3.3.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes des phytostérols

En 1951, Perterson et collaborateurs ont démontré les propriétés hypocholestérolémiantes des phytostérols chez l'animal (212). Peu de temps après, une étude indiquait qu'une dose de 5 à 10 g par jour de phytostérols pouvait engendrer un effet similaire chez l'humain (216). Par la suite, plusieurs études ont confirmé ces résultats, bien que les doses utilisées étaient plus faibles (227). De plus récentes évidences ont montré que l'estérification de ces phytostérols augmentait leur solubilité dans les corps gras et possiblement leur efficacité dans la réduction des concentrations sériques LDL-C (228). Dans une méta-analyse de 14 études randomisées, l'auteur conclut qu'un apport de 2 g par jour de stérols ou stanols diminuait les concentrations plasmatiques de LDL-C de 9 à 14 %, entraînant une réduction du risque de MCV de 25 %, mais n'avait pas d'effet sur les concentrations de HDL-C ou de TG (229).

De plus, certaines études ont comparé les effets des stérols à ceux des stanols. Il semble que l'efficacité diffère selon la durée de consommation. En effet, à court terme deux études concluent à une efficacité similaire des stérols et des stanols dans la réduction du LDL-C (230,231), tandis qu'une étude indiquait une plus grande efficacité des stérols (232). Par ailleurs, à plus long terme (de 6 à 13 semaines), l'efficacité des stérols semble diminuer à la longue tandis que celle des stanols serait maintenue (233). De plus, deux études récentes ont évalué l'effet d'une margarine enrichie en stérols ou en stanols estérifiés sur une période d'un an (234,235). La comparaison de ces deux études indiquait que le pourcentage de réduction du cholestérol après 39 et 52 semaines, lorsque les sujets consommaient des quantités similaires de stérols ou de stanols, était deux fois plus élevé chez les sujets consommant la margarine enrichie en stanols (233). Les auteurs suggèrent que l'atténuation des effets des stérols à long terme pourrait être le reflet d'une diminution de la synthèse d'acides biliaires causée par une absorption de phytostérols provenant de l'alimentation (233).

3.3.2.1 La dose

Les premières études portant sur l'effet hypocholestérolémiant des phytostérols utilisaient des doses élevées (5 à 10 g/jour) de phytostérols, sous forme cristalline et non estérifiée (216). Deux études ont examiné les effets de moins d'un gramme par jour de stanols estérifiés et aucune n'a trouvé d'effet significatif sur le LDL-C comparé au groupe témoin (236,237). De plus, la première de ces deux études représente une des seules études dose-réponse publiées jusqu'à maintenant, dans laquelle les participants devaient consommer aléatoirement soit 0.8, 1.6, 2.3 et 3.2 g de stanols estérifiés par jour (236). Les résultats de cette étude indiquent qu'une diminution significative dans les concentrations de LDL-C était observée seulement à des doses ≥ 1.6 g/jour comparé avec le groupe témoin et qu'il n'y avait pas de différence significative entre les doses de 2.3 et 3.2 g/jour par rapport à la dose de 1.6 g/jour (236). Ainsi, il semble que l'effet des phytostérols et phytostanols soit maximal avec une dose d'environ 2 g/jour, et qu'il n'y ait pas de bénéfice à en consommer plus, puisque qu'il y aurait un effet de plateau au-delà de cette dose. Le NCEP ATP III recommande d'ailleurs un apport quotidien de 2 g/jour de stérols ou de stanols estérifiés comme option thérapeutique dans le traitement

de l'hypercholestérolémie (109). De plus, en 2000 la *FDA* a permis une allégation santé concernant les produits contenant des stérols ou des stanols estérifiés et la réduction du risque de MCV, lorsque ces produits sont consommés avec une alimentation faible en gras saturés et en cholestérol (6). Par ailleurs, les recommandations canadiennes sur le traitement des dyslipidémies pour la prévention des MCV ne discutent pas de l'apport en phytostérols (124). Ainsi, l'approche canadienne semble beaucoup plus prudente que l'approche américaine à cet égard.

D'autre part, dans la plupart des études l'apport total en phytostanols et en phytostérols était divisé en 2 ou 3 doses. Cette mesure était basée sur l'hypothèse que les stanols devaient être présents dans la lumière intestinale pour agir. Par ailleurs, une récente étude montrait que 2.5 g de phytostanols consommés au cours d'un seul repas produisait la même baisse des concentrations de LDL-C que 2.5 g de phytostanols répartis en trois repas (238). Ce résultat suggère que la fréquence de consommation pendant la journée ne semble pas être un déterminant important de l'efficacité des stérols et des stanols et que des mécanismes, autres que la compétition avec le cholestérol pour la solubilisation dans les micelles, seraient impliqués.

Un autre facteur pouvant avoir un impact sur l'efficacité des stérols et des stanols concerne l'alimentation. Ainsi, une étude indiquait que les phytostérols exerçaient un effet bénéfique plus important lorsqu'ils étaient administrés chez des sujets consommant une diète plus riche en gras et en cholestérol (239). De plus, dans plusieurs études portant sur l'effets des phytostérols et des phytostanols, les apports en gras saturés et en cholestérol étaient élevés (234). Par contre, une étude a indiqué que l'addition de 2.3 g/jour de stanols estérifiés doublait les effets d'une diète faible en gras basée sur les recommandations du NCEP et produisait une diminution des concentrations plasmatiques de LDL-C de 23 % (240). De plus, des effets similaires ont été obtenus avec des stérols et des stanols libres (241). Ainsi, il semble que la diète n'ait qu'un faible impact sur les effets de la supplémentation en stérols ou en stanols végétaux et qu'il est possible d'observer des effets significatifs, même en présence d'une diète faible en gras.

3.3.3 Les mécanismes d'action des phytostérols

Différents mécanismes ont été suggérés afin d'expliquer l'effet hypocholestérolémiant des stérols et stanols végétaux (Figure 5). L'effet principal des stérols et des stanols végétaux se situe au niveau de l'absorption du cholestérol alimentaire et biliaire au niveau de l'intestin. En effet, pour être absorbé dans l'intestin, le cholestérol doit être incorporé dans une micelle, qui est une structure permettant de solubiliser les lipides. Les micelles sont composées de cholestérol libre, de mono- et di-acylglycérols, d'acides gras, de phospholipides et de sels biliaires (242). Comme les stérols et les stanols végétaux ont des structures similaires à celle du cholestérol, ils peuvent entrer en compétition avec ce dernier lors de l'incorporation dans les micelles. L'effet hypocholestérolémiant des stérols et des stanols végétaux serait causé en partie par le déplacement du cholestérol dans la micelle (243). Ce déplacement cause une réduction de la concentration de cholestérol dans les micelles, ce qui engendre une réduction de l'absorption du cholestérol de 30 à 50 % (218,244). Par ailleurs, le cholestérol libre dans l'entérocyte peut être retourné dans l'intestin via différents transporteurs, tel que les transporteurs ABCA1 (*ATP-binding cassette A1*), ABCG5 (*ATP-binding cassette G5*) et ABCG8 (*ATP-binding cassette G8*). Il a été montré que les stanols pouvaient augmenter l'expression des transporteurs ABC dans les cellules intestinales, ce qui pourrait augmenter l'excrétion de cholestérol de l'entérocyte vers la lumière intestinale (245).

D'autre part, en réponse à une absorption diminuée, la synthèse de cholestérol est augmentée (246) et l'expression de la protéine et de l'ARNm (acide ribonucléique messenger) pour le récepteur LDL augmente aussi (247). De plus, il n'y a pas de consensus par rapport à l'effet des stérols et des stanols végétaux sur le métabolisme des acides biliaires. Bien que récemment une étude ait rapporté qu'un apport élevé en stérols pouvait inhiber la synthèse d'acides biliaires (233), des études n'ont rapporté aucun effet sur l'excrétion biliaire (248). Finalement, des études chez l'animal ont indiqué une diminution dans la formation de la plaque après la consommation de stérols ou de stanols (233,249).

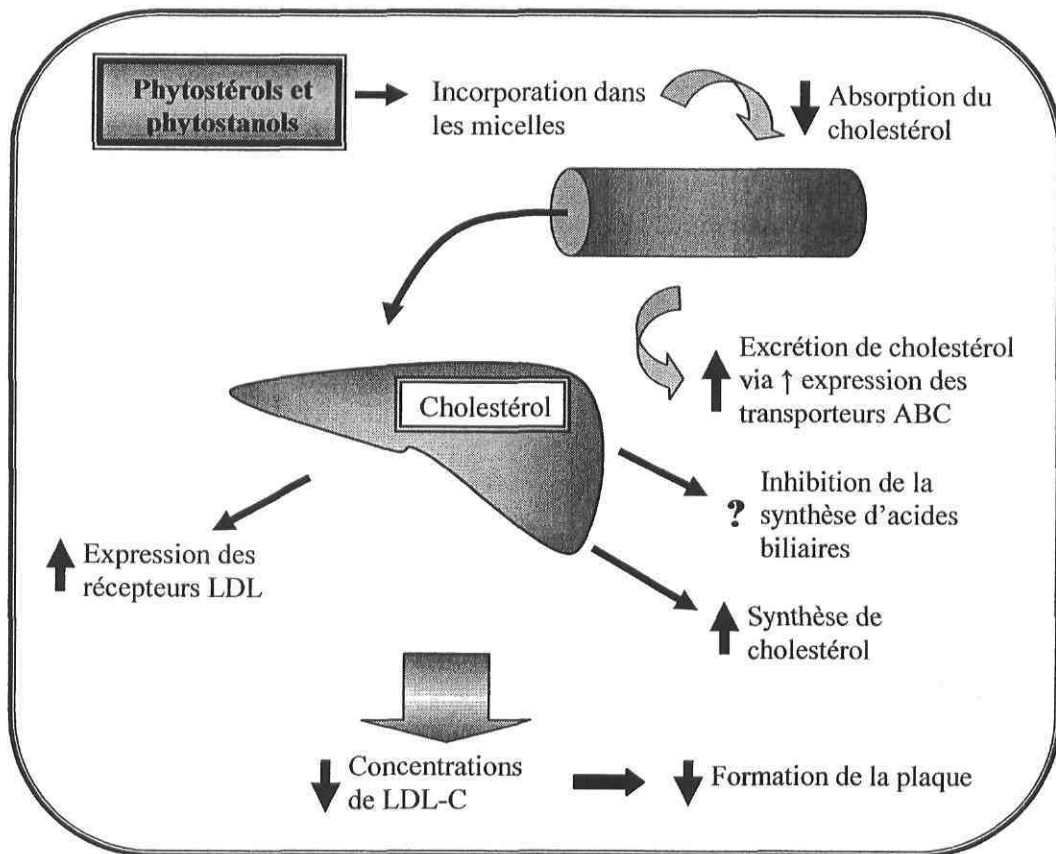


Figure 5. Mécanismes d'action des phytostérols et des phytostanols.

3.3.4 Les effets des phytostérols sur la taille des LDL

À ce jour, quelques études ont évalué l'impact des phytostérols et des phytostanols sur la taille des LDL. Ainsi, en 2000, une étude rapporte que les huiles de colza et de tournesol ont des effets plus favorables sur les lipides sanguins, le nombre et le contenu lipidique des différentes sous-classes de LDL comparativement à l'huile d'olive, et que cette différence pourrait être en partie attribuée au contenu plus élevé en phytostérols de ces deux huiles (25). Une autre étude a montré que la consommation d'une huile fonctionnelle riche en TG à chaîne moyenne, en phytostérols et en huile de graine de lin avait un impact bénéfique sur le profil lipidique et sur la taille des particules LDL, comparativement à la consommation d'huile d'olive chez des hommes hypercholestérolémiques (26). Par contre, dans cette étude le changement de poids est un facteur pouvant expliquer en partie les changements au niveau des concentrations de

lipides plasmatiques. De plus, la combinaison des différents composés de l'huile fonctionnelle ne permet pas de conclure que l'effet bénéfique est seulement dû à la présence de phytostérols. Par ailleurs, une étude réalisée chez des jeunes hommes hypercholestérolémiques a montré qu'une dose de 2.7 g de phytostérols incorporés dans du bœuf haché n'avait pas d'effet sur la taille des particules LDL (23). Plus récemment, Charest et collaborateurs ont montré que l'incorporation de 1.8 g de phytostérols non estérifiés, de phytostanols non estérifiés ou une combinaison des deux dans du beurre, ne produisait aucun effet sur les différentes caractéristiques électrophorétiques des particules LDL (19). Ces auteurs ont obtenu des résultats similaires suite à la consommation de breuvages faibles ou sans gras, fournissant 1.8 g de phytostérols par jour (20). Par ailleurs, Varady et collaborateurs ont montré que la consommation de 1.8 g/jour de phytostérols n'avait pas d'effet sur la taille des particules LDL, mais entraînait des réductions significatives dans les concentrations de cholestérol estimées dans chaque sous-classe de particules LDL (27). Ainsi, l'ensemble de ces résultats semble indiquer que les phytostérols exerceraient un impact mineur sur le phénotype de la taille des LDL, mais d'autres études seront nécessaires afin de confirmer ces résultats.

3.3.5 La sécurité des phytostérols

En plus de l'impact sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines, les phytostérols et les phytostanols pourraient affecter d'autres processus métaboliques. Ainsi, comme ces composés diminuent l'absorption du cholestérol en diminuant la solubilité du cholestérol dans les micelles, il est raisonnable de penser que ces composés pourraient aussi avoir un effet sur d'autres substances lipophiles telles que les vitamines liposolubles. Raieni-Sarjaz et collaborateurs n'ont observé aucun effet significatif d'un apport d'environ 2 g de phytostérols et phytostanols estérifiés sur les concentrations de différentes vitamines liposolubles après ajustement pour la réduction sur les concentrations de cholestérol total (250). Par ailleurs, plusieurs études ont montré des réductions significatives de différentes vitamines liposolubles à la suite d'une consommation de stérols ou de stanols végétaux (251-253). Deux de ces études indiquent qu'après ajustement pour les concentrations de cholestérol, seulement les réductions dans les concentrations de certains caroténoïdes tels que le β -carotène

demeuraient significatives (251,252). De plus, les concentrations de vitamine A, D et K ne seraient pas affectées par les phytostérols et les phytostanols (230,251,253,254). Il semble aussi que la baisse dans les concentrations de β -carotène serait due principalement à une réduction des particules LDL et que les concentrations demeureraient dans les valeurs de référence (238). De plus, cette diminution pourrait être prévenue en ajoutant suffisamment de fruits et légumes à l'alimentation (255).

D'autre part, les phytostérols et les phytostanols sont incorporés dans les membranes cellulaires (256,257) et pourrait donc en influencer les propriétés. Ainsi, Ratnayake et collaborateurs ont montré que la consommation de différentes huiles naturellement riches ou enrichies en phytostérols diminuait la durée de vie de rats hypertendus et rendait leurs érythrocytes moins déformables et donc plus fragiles (257). Par contre, ces résultats n'ont pas été démontrés chez l'humain. Récemment, une étude avec des patients suivant un traitement avec statine a démontré que malgré une augmentation de la concentration sérique des stérols végétaux, la fragilité des érythrocytes n'était pas affectée suite à la consommation de stérols et de stanols végétaux (258). De plus, d'autres études ont indiqué que de la consommation d'une diète contenant des phytostérols à court terme (11,259) et même à long terme (260) n'affectait pas la fragilité des érythrocytes chez l'humain.

Un autre aspect à considérer dans la sécurité des phytostérols concerne les effets au niveau des hormones et des organes génitaux, puisque les hormones sexuelles telles que l'oestrogène, la progestérone et la testostérone sont produites à partir du cholestérol. Ainsi, des études chez l'animal ont indiqué qu'une injection de phytostérols pouvait diminuer le poids des testicules et la concentration de spermatozoïdes chez des rats males (261) et augmenter le poids de l'utérus chez des rats femelles (262). Par ailleurs, des études *in vivo* et *in vitro* n'ont indiqué aucun effet oestrogénique des stérols et des stanols (263,264). De plus, chez l'humain, la consommation de phytostérols pendant 3 à 4 semaines n'a eu aucun effet sur les concentrations d'hormones sexuelles (265). Bien que d'autres études soient nécessaires afin de clarifier les effets de ces composés sur différentes hormones, des effets positifs au niveau de certains cancers ont été démontrés. En effet, des évidences épidémiologiques et expérimentales suggèrent que les stérols et les stanols végétaux pourraient avoir des effets protecteurs sur le cancer du sein, de la prostate et du colon (266). De plus, la prise de phytostérols a engendré une

amélioration des symptômes urologiques chez des hommes avec une hyperplasie bénigne de la prostate, suggérant ainsi l'efficacité potentiel des phytostérols dans le traitement de cette condition (267). Des études effectuées avec des lignées cellulaires cancéreuses humaines du colon indiquent aussi que les phytostérols pourraient retarder la croissance de cellules cancéreuses du colon (268).

Finalement, un dernier effet à considérer par rapport à la sécurité des stérols et des stanols végétaux concerne l'effet potentiellement athérogène. En général, les stérols et les stanols végétaux ne sont que très faiblement absorbés (225), ce qui réduit considérablement leur pouvoir athérogène. Par contre, de rares individus présentent des concentrations plasmatiques anormalement élevées de phytostérols. Ces individus absorbent des quantités substantielles de stérols végétaux, ce qui peut amener la présence d'hypercholestérolémie et le développement de xanthomes (269). Par contre, l'état homozygote pour cette pathologie est très rare (environ 1 personne sur 5 millions) (213).

En résumé, les phytostérols et les phytostanols sont reconnus comme sécuritaires pour la consommation dans la population en général (270). Jusqu'à ce jour, aucun effet secondaire significatif n'a été rapporté. Le principal effet indésirable concerne la réduction possible des concentrations de certains caroténoïdes et semble pouvoir être contourner en s'alimentant de façon équilibrée, avec des quantités adéquates de fruits et de légumes. En Finlande, les stérols et les stanols sont sur le marché depuis plusieurs années et aucune évidence de risque n'a été rapportée. Bien que dans certains pays d'Europe ainsi qu'aux États-Unis et en Australie l'utilisation de stérols et de stanols végétaux soit approuvée, ce n'est pas le cas au Canada. En effet, Santé Canada n'autorise pas la vente de produits tels que des margarines enrichies en phytostérols, considérant que ces produits présentent un risque pour certains groupes dans la population comme les femmes enceintes, les enfants et les personnes vulnérables aux accidents cérébrovasculaires. Bien que les évidences actuelles semblent suffisantes pour encourager l'utilisation de stérols et de stanols végétaux dans l'optique d'une option thérapeutique dans le traitement de l'hypercholestérolémie, d'autres études seront nécessaires pour évaluer l'efficacité et la sécurité de ces composés à plus long terme.

3.4 LES AMANDES

Les amandes font partie d'une famille regroupant divers fruits à écales possédant une coque dure. Le terme général de noix sera utilisé dans le présent mémoire pour désigner cette famille de fruits à écales. Les amandes proviennent de l'amandier et se divisent en deux groupes, soit les amandes amères et les amandes douces. L'amande douce (appelée communément amande) est celle que l'on consomme. L'amande contient peu de gras saturés, mais plus de 60 % de gras monoinsaturés (271). C'est aussi une excellente source de vitamine E (α -tocophérols), de manganèse, de cuivre et une bonne source de magnésium (138).

3.4.1 Les propriétés hypocholestérolémiantes des amandes

Dans la recherche constante de composés bioactifs présents dans les aliments, qui pourraient affecter favorablement le risque de MCV, les noix retiennent l'attention depuis quelques années (271). En effet, le profil d'acides gras favorable des noix ainsi que les nombreux composés bioactifs retrouvés dans les noix pourraient leur conférer un rôle dans une alimentation hypocholestérolémiante. Ainsi, des études épidémiologiques ont démontré une association entre la consommation de noix et la mortalité ainsi que la morbidité reliées aux MCV (272). Les individus consommant des noix 5 fois par semaine ou plus auraient une réduction du risque de MCV d'environ 50 % comparativement aux individus consommant des noix moins d'une fois par semaine (273).

Plus spécifiquement, les études portant sur les amandes ont indiqué qu'une diète contenant entre 50 et 100 g d'amandes par jour diminuait significativement les concentrations de cholestérol total (entre 4 et 16 %) et de LDL-C (entre 7 et 19 %) chez des sujets hypercholestérolémiques (274,275) et des sujets normocholestérolémiques (276), comparativement à des sujets consommant une diète témoin (généralement faible en gras). L'effet des amandes sur le HDL-C semble plus controversé. En effet, une étude a montré une augmentation significative des concentrations de HDL-C après la consommation de 50 à 100 g d'amandes par jour comparativement à des sujets

consommant une diète faible en gras (274), tandis qu'une autre étude a montré une diminution significative des concentrations de HDL-C (277). Finalement, dans les études mentionnées ci haut, la concentration en TG ne semble pas être affectée par la consommation d'amandes comparativement au groupe témoin des différentes études (274-277).

3.4.1.1 La dose

Une étude a évalué l'effet de deux doses d'amandes fournies en suppléments de l'alimentation habituelle de sujets hypercholestérolémiques (274). Les résultats indiquent que les amandes tendent à réduire les lipides sanguins de façon proportionnelle à la quantité d'amandes consommées (274). En effet, les réductions dans les concentrations en cholestérol total et en LDL-C étaient respectivement de 3.1 et 4.4 % pour les sujets consommant 25 à 50 g d'amandes/j et de 5.6 et 9.4 % pour les sujets consommant 50 à 100 g d'amandes/j comparativement aux valeurs de départ (274). Par ailleurs, la FDA permet l'allégation suivante sur les noix en général : des évidences scientifiques suggèrent, mais ne prouvent pas que la consommation de 1.5 once par jour de la plupart des noix, dans une alimentation faible en gras saturé et en cholestérol pourrait réduire le risque de MCV (10).

3.4.2 Les mécanismes d'action des amandes

Les amandes ont un contenu particulièrement élevé en gras monoinsaturés, mais contiennent également d'autres nutriments tels que des protéines végétales, riche en arginine, des fibres et des phytostérols (271). Tous ces composés pourraient avoir un impact sur l'effet hypocholestérolémiant des amandes. Récemment, Kris-Etherton et collaborateurs ont comparé les effets de 3 diètes enrichies en gras monoinsaturés et une diète faible en gras saturés et en cholestérol à une diète américaine standard, sur plusieurs facteurs de risque cardiovasculaire (278). Les résultats de cette étude indiquent que les diètes riches en gras monoinsaturés ont diminué les concentrations en cholestérol total et en LDL-C de 10 et 14 %, une réduction comparable à la diète faible

en gras saturé et en cholestérol (278). Par ailleurs, une étude de Spiller et collaborateurs a examiné les effets de 3 diètes différentes : une diète enrichie en amandes, une seconde enrichie en huile d'olive (toutes deux riches en gras monoinsaturés) et une diète riche en gras saturés (275). Les résultats de ces études indiquent une réduction significative des concentrations de cholestérol total et de LDL-C avec la diète enrichie en amandes, mais non avec celle contenant de l'huile d'olive (275), suggérant ainsi que d'autres composés dans les amandes pourraient avoir un effet bénéfique sur les concentrations de cholestérol et de LDL-C. De plus, Kris-Etherton et collaborateurs ont comparé les équations de prédiction pour le cholestérol permettant d'estimer les effets des changements alimentaires sur les lipides et les lipoprotéines avec les résultats observés dans différentes études portant sur les noix (271). Les résultats indiquent que les effets observés sur la réduction du cholestérol était de plus de 25 % supérieurs à ce qui était prédit avec les équations, basées sur le profil d'acides gras (271), renforçant l'idée de la présence d'autres composés bioactifs ayant des propriétés hypocholestérolémiantes dans les noix.

Parmi ces composés, les fibres alimentaires pourraient jouer un rôle. En effet, les amandes contiennent environ 11 g de fibres par 100 g, dont approximativement 23 % de fibres solubles (279). Comme mentionné précédemment, une méta-analyse de 67 études contrôlées rapporte qu'un gramme de fibres solubles par jour entraîne une diminution des concentrations de cholestérol total et de LDL-C de -0.045 et -0.057 mmol/L (191). De plus, les amandes contiennent des protéines végétales avec un ratio élevé en arginine (138) et des évidences suggèrent que l'arginine pourrait avoir un effet hypocholestérolémiant (152). Les amandes contiennent aussi une petite quantité de phytostérols, et une étude a montré qu'un apport de 2 g de stérols ou stanols par jour diminuait les concentrations plasmatiques de LDL-C de 9 à 14 % (229). Par contre, l'effet des phytostérols dans les noix est peu connu et les quantités contenues dans les noix sont faibles, donc l'effet de ces composés sur les concentrations de cholestérol plasmatiques demeure incertain.

3.4.3 Les effets des amandes sur la taille des LDL

À ce jour, il semble qu'aucune étude n'ait investigué l'impact des amandes sur les diverses caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. Par ailleurs, une étude a comparé les effets d'une alimentation habituelle enrichie ou non en noix de Grenoble et d'une alimentation faible en gras enrichie ou non en noix de Grenoble (16). Les résultats de cette étude indiquent que malgré une augmentation de l'apport énergétique, il y avait une diminution dans les concentrations de cholestérol dans la sous-classe de petites particules LDL avec l'alimentation habituelle enrichie en noix de Grenoble, comparativement à l'alimentation habituelle sans noix de Grenoble (16). Par contre, aucun changement dans la taille des particules LDL n'a été observé (16). D'autres études sont donc nécessaires afin d'évaluer l'impact direct des amandes sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL.

3.4.4 La sécurité des amandes

La principale préoccupation à l'égard des amandes est reliée aux allergies alimentaires. En effet, les individus allergiques aux arachides, ou à diverses noix incluant les amandes devraient éviter les amandes, puisque ces dernières peuvent avoir été en contact avec l'allergène. De plus, comme les amandes contiennent des fibres, leur consommation pourrait être déconseillée dans le cas de certaines pathologies gastro-intestinales comme des sténoses intestinales, des états subocclusifs et des pathologies aiguës du colon. Par contre, chez des sujets ne présentant pas ces pathologies et ayant un régime alimentaire équilibré avec un état nutritionnel adéquat, les amandes ne semblent pas nuisibles à la santé, et pourraient au contraire être bénéfiques.

3.5 LA DIÈTE PORTFOLIO

Comme mentionné précédemment, la diète Portfolio contient les quatre composés dont il a été question jusqu'à maintenant soit les protéines de soya, les fibres solubles, les phytostérols et les amandes. Cette section ne portera donc pas sur les mécanismes

d'action ainsi que la sécurité de la diète Portfolio. En effet, ces points ont déjà été abordés dans chacune des parties portant sur les différentes composantes de la diète Portfolio. Il importe de souligner que le mécanisme d'action de la diète Portfolio est une combinaison de l'action des différentes composantes de la diète, qui agissent chacun à différents niveaux. Il en est de même pour la sécurité de cette diète. En effet, les effets secondaires ou les effets potentiellement néfastes sont reliés aux effets des différentes composantes de la diète. Il sera donc question ici de la composition de la diète Portfolio et de ces effets sur divers facteurs de risque des MCV.

3.5.1 La composition de la diète Portfolio

La diète Portfolio est une alimentation de type végétarienne, faible en gras saturés (< 7 % d'acides gras saturés) et en cholestérol (< 200 mg) (13). La diète Portfolio contient les quatre composés mentionnés précédemment dans des quantités bien définies (13), soit :

- 22.5 g/1000 kcal de protéines de soya
- 10.0 g/1000 kcal de fibres solubles
- 1.0 g/1000 kcal de phytostérols
- 14.0 g/1000 kcal d'amandes

Les protéines de soya proviennent principalement du lait de soya, du tofu et de divers produits à base de soya. Les fibres solubles proviennent essentiellement de l'avoine, de l'orge et du psyllium. Deux légumes riches en fibres solubles sont aussi ajoutés à la diète, soit le gombo et l'aubergine. Les phytostérols sont fournis via une margarine enrichie en phytostérols et les amandes sont principalement consommées sous forme d'amandes entières.

3.5.2 Les propriétés hypocholestérolémiantes de la diète Portfolio

À ce jour, seulement quelques études ont été réalisées sur la diète Portfolio. La première étude, réalisée sur 13 sujets avec hypercholestérolémie modérée ayant suivis la diète Portfolio pendant 1 mois, indique des réductions du LDL-C de 29 % et du ratio LDL-C/HDL-C de 27 % (11). Dans la deuxième étude, 25 participants ont suivi soit une diète faible en gras saturés et en cholestérol, basée sur les recommandations du NCEP phase 2, soit la diète Portfolio pour un mois (12). Les résultats de cette étude indiquent des réductions de 27 % et de 35 % dans les concentrations de cholestérol total et de LDL-C respectivement avec la diète Portfolio et ces réductions étaient significativement plus grande qu'avec la diète témoin (12). Finalement la dernière intervention contrôlée a été réalisée avec 46 sujets hypercholestérolémiques qui étaient assignés de façon aléatoire à un des trois traitements suivant pour une durée d'un mois chacun : une diète témoin faible en gras saturés et en cholestérol basée sur les recommandations du NCEP phase 2, la même diète avec 20 mg de lovastatine et la diète Portfolio (14). Dans cette étude, les réductions dans les concentrations de LDL-C étaient respectivement de 8.0 %, 28.6 % et 30.9 % pour la diète témoin, la diète Portfolio et le traitement avec statine (14). Au cours de cette intervention, il y a aussi eu des réductions significatives dans les concentrations plasmatiques de CRP de 33.3 % et 28.2 % lors du traitement avec statine et avec la diète Portfolio respectivement (14). Ces études ont aussi investigué l'impact de la diète Portfolio sur la réduction du risque de MCV. Selon le calcul du risque basé sur le score de Framingham, la diète Portfolio réduirait le risque de MCV de 26 à 30% (11,12,14).

Par ailleurs, une étude à long terme a aussi été réalisée avec la diète Portfolio dans laquelle 55 participants hypercholestérolémiques ont suivi la diète Portfolio pendant un an dans un contexte de vraie vie (15). À la fin de cette étude, la réduction dans les concentrations de LDL-C était de 13 % et près du tiers des participants ont eu des réductions de plus de 20 % dans les concentrations de LDL-C (15). Les résultats de cette étude indiquent qu'à long terme, l'efficacité de la diète Portfolio pourrait être moins grande que celle observée lors des études d'interventions contrôlées.

En considérant l'ensemble de ces études, il semble que la diète Portfolio soit efficace dans la réduction du LDL-C, avec des réductions de l'ordre de 30 % lors d'interventions

contrôlées. Par ailleurs, les effets à long terme de cette intervention sur les concentrations du LDL-C semblent plus modérés. D'autres études à long terme seront nécessaires afin de mieux caractériser l'efficacité de ce type d'intervention sur différents facteurs de risque des MCV.

3.5.3 Les effets de la diète Portfolio sur la taille des LDL

Très peu d'études ont investigué l'impact de la diète Portfolio sur le phénotype de la taille des particules LDL. En fait, une seule étude à ce jour a examiné les effets de la diète Portfolio chez 12 sujets avec hypercholestérolémie modérée, qui ont suivi la diète pendant 1 mois (29). Les résultats de cette étude indiquent que la diète Portfolio a induit une réduction de la proportion des particules LDL larges et une augmentation relative de la proportion des petites particules LDL, correspondant à une diminution du diamètre moyen des particules LDL (29). Par ailleurs, la concentration de cholestérol compris dans chacune des sous-classes de particules LDL a été réduite de façon significative par rapport au début de l'intervention (29). Cette étude rapporte aussi que les individus à haut risque selon le phénotype de la taille des particules LDL montrent une réponse plus favorable à la diète Portfolio comparativement aux individus à plus faible risque (29).

3.6 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

D'une part, l'effet de la diète Portfolio sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL a été évalué dans une seule étude ne comportant pas de diète témoin ni d'autre traitement. Ainsi, aucune étude n'a comparé directement chez les mêmes sujets les effets de la diète Portfolio avec ceux d'un traitement pharmacologique ou avec une diète témoin sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. Le premier objectif de ce mémoire est donc de comparer directement chez les mêmes individus l'effet d'une intervention nutritionnelle, la diète Portfolio, avec l'effet d'un traitement pharmacologique avec statine sur différentes caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. L'hypothèse associée à cet objectif est que la diète Portfolio a des effets

bénéfiques sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL qui sont comparables au traitement avec statine chez des sujets hypercholestérolémiques.

D'autre part, certaines évidences suggèrent que le statut inflammatoire au départ pourrait influencer la réponse aux interventions nutritionnelles. Cependant, aucune étude n'a évalué l'effet du statut inflammatoire de départ sur les changements dans la taille des particules LDL. Ainsi, le deuxième objectif de ce mémoire est d'investiguer l'impact du statut inflammatoire au départ sur les changements dans les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. Nous supposons que les niveaux plasmatiques de CRP au départ modulent l'impact de la diète Portfolio sur le phénotype de la taille des particules LDL.

**CHAPITRE IV : COMPARAISON DE LA DIÈTE PORTFOLIO ET
D'UNE STATINE SUR LE PHÉNOTYPE DE LA TAILLE DES
PARTICULES LDL CHEZ DES SUJETS
HYPERCHOLESTÉROLÉMIQUES**

**Comparison of a dietary Portfolio diet of cholesterol-lowering foods and a statin on
LDL particle size phenotype in hypercholesterolemic participants.**

Iris Giguère, RD¹, David JA Jenkins², MD, Cyril W Kendall², PhD, Augustine Marchie², BSc, Dorothea A Faulkner², PhD, Julia MW Wong², RD, Russell de Souza², RD, Azadeh Emam², BSc, Tina L Parker², RD, Elke A Trautwein³, PhD, Karen G Lapsley⁴, DSc, Phillip W Connelly⁵, PhD and Benoît Lamarche¹, PhD

¹Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Quebec,

²Clinical Nutrition and Risk Factor Modification Center, Toronto,

³the Unilever Health Institute, Unilever R&D, Vlaardingen, Netherlands,

⁴Almond Board of California, Modesto, CA,

⁵Laboratory of Medicine and Pathobiology, Faculty of Medicine, University of Toronto.

Résumé

L'objectif de l'étude est de comparer chez les mêmes sujets l'impact de la diète Portfolio et d'une statine sur les caractéristiques électrophorétiques des LDL. Les analyses ont été effectuées chez 34 sujets hypercholestérolémiques qui ont suivi 3 traitements d'une durée d'un mois chacun. Les 3 traitements, assignés de façon aléatoire, étaient : 1) une diète très faible en gras (diète témoin), 2) la même diète avec 20 mg de lovastatine et 3) et la diète Portfolio. La taille des particules LDL a été déterminée par électrophorèse sur gradient de gel de polyacrylamide non-dénaturant. Aucun des trois traitements n'a eu d'effet significatif sur la taille des particules. Par ailleurs, la diète Portfolio et le traitement avec statine ont réduit significativement les concentrations de cholestérol dans les petites particules LDL, comparativement à la diète témoin. De plus, les niveaux de protéines C-réactive au départ ont été un déterminant significatif des changements de taille des LDL en réponse à la diète Portfolio, mais non aux autres traitements. La diète Portfolio semble avoir des effets mineurs sur différentes caractéristiques du phénotype de la taille des LDL, mais l'importante réduction dans les concentrations de cholestérol dans la sous-classe de petites particules LDL denses pourrait fournir un bénéfice additionnel à la diète Portfolio par rapport à la diète faible en gras du NCEP (phase 2).

Comparison of a dietary portfolio diet of cholesterol-lowering foods and a statin on LDL particle size phenotype in hypercholesterolemic participants.

Sort Title: Dietary portfolio, Statin and LDL particle size

Iris Giguëux¹, David JA Jenkins^{2*}, Cyril W Kendall^{*}, Augustine Marchie^{*}, Dorothea A Faulkner^{*}, Julia MW Wong^{*}, Russell de Souza^{*}, Azadeh Emam^{*}, Tina L Parker^{*}, Elke A Trautwein^{**}, Karen G Lapsley^{***}, Phillip W Connelly^{****}, and Benoît Lamarche³.

From Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Quebec,^{*} Clinical Nutrition and Risk Factor Modification Center, Toronto,^{**} the Unilever Health Institute, Unilever R&D, Vlaardingen, Netherlands,^{***} Almond Board of California, Modesto, CA,^{****} Laboratory of Medicine and Pathobiology, Faculty of Medicine, University of Toronto.

Address of correspondence:

Benoît Lamarche, PhD.

Institute on Nutraceuticals and Functional Foods

Pavillon des services, Laval University, Québec

2440 Hochelaga Blvd

Québec, Canada, G1K 7P4

Tel.: (418) 656-3527

Fax: (418) 656-5877

E-mail: Benoit.Lamarche@inaf.ulaval.ca

Key words: **nutrition, drugs, lipids, lipoproteins**

Article soumis pour publication dans la revue scientifique *British Journal of Nutrition*.

¹ I.G. is the recipient of a Studentship from Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ).

² D.J.A.J. is Canada Research Chair in Nutrition and Metabolism, University of Toronto.

³ B.L. is Chair Professor in Nutrition and Cardiovascular Health from the Canada Research Chair Program.

Abstract

Background: The effect of diet versus statins on LDL particle size as a risk factor for cardiovascular disease has not been examined. We compared, in the same subjects, the impact of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods and a statin on LDL size electrophoretic characteristics. **Methods and results:** Thirty-four hyperlipidemic subjects completed three one-month treatments as outpatients in random order: a very-low saturated fat (control diet), the same diet with 20 mg lovastatin, and a dietary portfolio high in plant sterols (1g/4.2 MJ), soy proteins (21.4 g/4.2 MJ), soluble fibers (9.8g/4.2 MJ) and almonds (14g/4.2 MJ). LDL electrophoretic characteristics were measured by non-denaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis of fasting plasma at 0, 2 and 4 weeks of each treatment. The reduction in plasma LDL-C levels following the dietary portfolio (29.6 (SD1.3)%) and statin treatment (33.3 (SD1.9)%) were largely attributable to a reduction of estimated cholesterol levels in LDL with a diameter < 25.5 nm (dietary portfolio: -0.69 (SD 0.10) mmol/L, statin treatment: -0.99 (SD 0.10) mmol/L, $P < 0.001$ for both) and larger than in the control diet (-0.17 (SD 0.08) mmol/L, $P < 0.01$ for the between-treatment comparison). Finally, baseline C-reactive protein (CRP) levels were a significant predictor of the LDL size responsiveness to the dietary portfolio but not to the other treatments. **Conclusion:** The dietary portfolio had only minor effects on features of the LDL size phenotype, but the pronounced reduction in cholesterol levels within the small LDL fraction may provide additional benefit over the traditional low-fat diet of National Cholesterol Education Program Step II.

LDL⁴ particles are heterogeneous in terms of size, density and physical properties (Krauss & Burke, 1982) and it is now being increasingly recognized that small dense LDL particles are associated with an increased risk of CHD (Lamarche *et al*, 1997) even in the presence of a relatively normal LDL-C concentration (St Pierre *et al*, 2001).

3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors (statins) have been shown to be effective in reducing CHD risk and mortality (1994;2002) and have been identified as the primary pharmacological tool in the treatment of elevated LDL-C concentration (Grundy, 1988). While some studies have shown small but significant benefits of statins on LDL particle diameter (Zhao *et al*, 1991), LDL subclass distribution (Yuan *et al*, 1991) and on the reduction of cholesterol within the smallest LDL subfractions (Forster *et al*, 2002;Guerin *et al*, 2002;Marz *et al*, 2001), other studies have indicated that statins had only marginal or even no effect on LDL particle size (Superko *et al*, 1997;Tilly-Kiesi, 1991).

Although the traditional dietary approach currently recommended by the American Heart Association (AHA) has been relatively efficacious in decreasing total cholesterol (C) and LDL-C levels (Yu-Poth *et al*, 1999), the magnitude of these benefits are generally modest. For that reason, the National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (2001) and the AHA (Krauss *et al*, 2000) have recently recommended an increased use of functional foods with more potent effects on reducing cholesterol levels for optimal CHD risk reduction. There is now evidence that incorporating soluble fibers, soy protein, plant sterols and nuts into a low fat metabolic diet may be as effective in lowering LDL-C as first-generation statins (Jenkins *et al*, 2005b). However few studies have examined the impact of these dietary components taken individually on the LDL particle size phenotype (Almario *et al*, 2001;Charest *et al*, 2004;Charest *et al*, 2005;Davy *et al*, 2002;Desroches *et al*, 2004;Matvienko *et al*, 2002;Merz-Demlow *et al*, 2000;Wangen *et al*, 2001;Varady *et al*, 2005;Behall *et al*,

⁴ Abbreviations used :AHA, American Heart Association; BMI, body mass index; C, cholesterol; CHD, coronary heart disease; CRP, C-reactive protein; LDL-C, cholesterol in low-density-lipoprotein; LDL-C <25.5 nm, absolute concentration of cholesterol among LDL < 25.5 nm; LDL-C 25.5-26.0 nm, absolute concentration of cholesterol among LDL 25.5-26.0 nm; LDL-C >26.0 nm, absolute concentration of cholesterol among LDL > 26.0 nm; LDL%<25.5 nm, proportion of LDL with a diameter <25.5 nm; LDL%_{25.5-26.0 nm}, proportion of LDL with a diameter between 25.5 and 26.0 nm; LDL%>26.0 nm, proportion of LDL with a diameter > 26.0 nm; LDL-PPD, low-density-lipoprotein peak particle diameter; TG, triglyceride;

2004) and only one study has documented the combined effect of this portfolio of cholesterol-lowering foods on the LDL size phenotype (Lamarche *et al*, 2004). The purpose of this study was to directly compare the effect of a statin treatment with that of a combination of cholesterol-lowering food (dietary portfolio) on LDL size electrophoretic characteristics. Previous studies have shown that the inflammatory state may influence the responsiveness to dietary changes (Desroches *et al*, 2006; Erlinger *et al*, 2003; Hilpert *et al*, 2005). As part of the present study, we have also investigated the extent to which the inflammatory status modulated the LDL size responsiveness to the treatments.

Subjects and Methods

Subjects

In the present analysis, LDL size phenotype was measured in 34 hyperlipidemic participants (n=20 men and 14 postmenopausal women) who completed all 3 phases of a previous study devised to directly compare the effect of statin therapy and the combination of cholesterol-lowering foods on plasma LDL-C levels and other cardiovascular risk factors (Jenkins *et al*, 2005b; Jenkins *et al*, 2005a). The mean (SD) age of the subjects was 58 (SD 8.6) y and the body mass index (BMI) was 27.3 (SD 3.3) kg/m². The participants' characteristics at baseline are shown in **Table 1**. Briefly, participants were recruited from patients attending the Risk Factor Modification Center, St Michael's Hospital, Toronto and from newspaper advertisements as previously described (Jenkins *et al*, 2005b). All participants had previously elevated LDL-C concentrations (>4.1 mmol/L). None of the participants had a history of cardiovascular disease, untreated hypertension (blood pressure > 140/90 mm Hg), diabetes, renal or liver disease and none were taking medications known to influence serum lipid concentrations, apart from 3 women who were taking stable doses of thyroxine. One of these 3 women was also receiving estrogen replacement therapy. The study was approved by the Ethics Committees of the University of Toronto and St Michael's Hospital and written informed consent was obtained from all participants.

Study Protocol

The study was performed as a randomized crossover design and participants completed all 1-month treatments. Subjects were randomly assigned to start with either a very-low-saturated fat dairy and whole-wheat cereal diet (control), this same diet with a statin (statin diet) or a very low saturated fat diet containing viscous fibers, plant sterols, soy foods and almonds (dietary portfolio). All foods were provided except for fresh fruit and vegetables. Blood samples were obtained after 12-h overnight fasts at 2-wk intervals and fasting body weights were measured weekly. Weighed diet histories (7 days) were obtained for the week before the 1-month treatment period.

Diets

The diets eaten by participants 4 weeks prior to beginning the study and during the 2-6 week washout periods between treatments were their routine therapeutic low-fat diets, which followed the National Cholesterol Education Program step 2 guidelines ($\leq 7\%$ of energy from saturated fat and $< 200\text{mg}$ of dietary cholesterol) (2001). The subjects were asked to weigh all food items consumed during the study period and during the week before treatments as previously described (Jenkins *et al*, 2005b).

The dietary portfolio has already been described (Jenkins *et al*, 2005b). Plant sterol esters incorporated in margarine provided 1.0 g plant sterols/4.2 MJ. Soluble fibers (≈ 10 g/4.2 MJ diet) came from oats (4.24 g), barley (1.36 g), and psyllium (4.15 g). Vegetable sources of soluble fibers were also included with emphasis on okra (0.39 g) and eggplant (0.24 g). Soy proteins were provided (21.4 g/4.2 MJ) with soy milk, tofu and soy meat analogues together with 14 g whole almonds/4.2 MJ.

The control diet contained skim milk, free-fat cheese and yogurt, egg substitute and liquid egg white to achieve low intakes of saturated fat. This diet provided high intakes of fiber from whole-wheat breakfast cereals [2.0 g total dietary fiber (TDF)/ 4.2 MJ], bread (2.5 g TDF/4.2 MJ), and wheat bran added to muffins containing a high amount of dairy protein (7.25 g TDF/4.2 MJ diet). To balance the fatty acid profile of the dietary portfolio, monounsaturated fatty acids were also incorporated into the control diet (eg, muffins) via sunflower oil (9 g/4.2 MJ) and safflower oil (5 g/4.2 MJ). **Table 2** shows the macronutrient profiles of the weight maintaining diets as documented at week 4 of each treatment. Diets were analysed using a program based on US Department of Agriculture data (Jenkins *et al*, 2002).

Lovastatin (20 mg) and placebo capsules containing lactose, with one capsule to be taken in the evening for 28 days, were dispensed by hospital pharmacy in identical containers according to the randomization determined by the statistician.

Analyses

Data on plasma lipids and CRP levels in this study have already been reported (Jenkins *et al*, 2005b; Jenkins *et al*, 2005a). LDL electrophoretic characteristics were obtained by non-denaturing polyacrylamide gradient (2–16 %) gel electrophoresis from serum stored at -70°C as described previously (St Pierre *et al*, 2001). The estimated diameter for the major peak in each scan was identified as the LDL-PPD. An integrated (or mean) LDL diameter was also computed (St Pierre *et al*, 2001). Analysis of pooled plasma standards revealed that measurements of LDL-PPD and LDL integrated particle size were highly reproducible, with inter-assay CV <1%. The relative proportion of LDL having a diameter <25.5 nm (LDL %_{<25.5 nm}) was ascertained by computing the relative area of the densitometric scan <25.5 nm. The absolute concentration of cholesterol in the LDL subfraction with a diameter <25.5 nm (LDL-C_{<25.5 nm}) was estimated by multiplying the total plasma LDL-C levels by the relative proportion of LDL with a diameter <25.5 nm as described previously (St Pierre *et al*, 2001). A similar approach was used to estimate the relative and absolute concentration of cholesterol in the LDL subfraction with a diameter >26.0 nm (LDL %_{>26.0 nm} and LDL-C_{>26.0nm} respectively). The CV for the measurements of LDL %_{<25.5 nm} and LDL %_{>26.0 nm} were 12.0 and 9.3 % respectively.

Statistical analysis

All data are expressed as means \pm SD unless stated otherwise. The significance of the differences between baseline periods (week 0) and treatment periods with different diets (week 4) were assessed by the least square mean test for repeated measures with the Tukey multi-comparison adjustment using the PROC MIXED procedure (version 8.1; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). There was no interaction between sex and treatment. Association between diet-induced changes (week 4 vs. 0) in metabolic variables and changes in the various LDL electrophoretic characteristics were tested with Spearman rank correlation analysis. Differences in nutritional profiles between treatments were investigated using paired comparisons and least-square-mean procedure with Tukey's adjustment after establishment of a significant *F* test by

ANOVA. For analyses based on CRP subgroups, LDL-C_{<25.5 nm} values of subjects with CRP levels > 10 mg/L at any time point were excluded from analysis. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

Results

As reported previously, compliance to the dietary regimens was good, with a mean value of 93 % of all calories provided recorded as consumed (Jenkins *et al*, 2005b). There was no significant difference in participants' body weight at week 4 of each treatment (control diet: 75.9 (SD 2.2) kg; statin treatment: 76.2 (SD 2.2) kg; dietary portfolio: 76.4 (SD 2.3) kg).

Blood lipids

As indicated in a previous report (Jenkins *et al*, 2005b), significant reductions in blood lipids were seen during the treatment periods (**Table 3**), including reductions from baseline in LDL-C levels of -8.5 (SD 1.9)%, -33.3 (SD 1.9)%, and -29.6 (SD 1.3)% with the control diet, the statin treatment, and the dietary portfolio, respectively.

LDL size phenotype

None of the 3 treatments had a significant effect on LDL peak particle diameter (LDL-PPD) or LDL integrated size (Table 3). Also, as shown in Table 3, there was no significant change in the relative proportion of LDL subclasses after any treatments. Change in plasma triglyceride (TG) concentrations were correlated with variation in LDL-PPD within the statin and control phases ($r = -0.39$, $P = 0.02$; $r = -0.61$, $P < 0.001$) but not within the dietary portfolio period ($r = -0.06$, $P = 0.76$). However, the dietary portfolio and the statin treatment significantly reduced the estimated cholesterol concentrations among all three LDL subclasses, LDL-C_{<25.5 nm} showing the greatest reduction (Table 3). As shown in **Figure 1**, the reduction in LDL-C_{<25.5 nm} levels after the dietary portfolio (-0.69 (SE 0.10) mmol/L) and the statin treatment (-0.99 (SE 0.10) mmol/L) were significantly greater than after the control diet (-0.17 (SE 0.08) mmol/L). However, changes in LDL-C_{<25.5 nm} levels were not significantly different between the dietary portfolio and the statin treatment. The reduction in LDL-C_{>26.0 nm} levels were not different between all 3 treatments. Subgroup analysis using the

median distribution of LDL-PPD (25.25 nm) indicated that the reduction in LDL-C $<_{25.5}$ nm levels after 4-wk of treatment on the dietary portfolio was 2-fold greater in the group with LDL-PPD below the median at baseline than in the group with LDL-PPD above the median (-1.06 (SE 0.16) vs. -0.42 (SE 0.13) mmol/L, $P = 0.01$) (not shown). As indicated in the methods' section, there was no significant interaction between gender and treatment effects.

Particle size change and CRP

Additional subgroup analyses were also undertaken to assess the impact of the pro-inflammatory status at baseline on the responsiveness to treatment. Subjects were categorized into three subgroups on the basis of their plasma CRP levels at baseline for each treatment, which were defined as low (< 1 mg/L), moderate (1-3 mg/L) or high (> 3 mg/L) (Pearson *et al*, 2003). As shown in **Figure 2**, on the dietary portfolio, subjects with plasma CRP levels < 3 mg/L at baseline showed significant reduction in LDL-C $<_{25.5}$ nm concentrations after 4-wk while there was no significant change in the group with plasma CRP levels > 3 mg/L (-0.27 (SE 0.20) mg/L). Similar results were obtained when subjects were categorized into two groups (CPR $>$ or < 3 mg/L) rather than 3 groups (not shown). The impact of the statin treatment and the control diet on LDL-C $<_{25.5}$ nm was virtually unaltered by plasma CRP level at baseline.

Discussion

The significant reduction in LDL-C concentrations with the combination diet containing phytosterols, soluble fibers, soy proteins and almonds has been previously described in this same sample of subjects (Jenkins *et al*, 2005b). The objective of the present study was to directly compare the effect of this dietary portfolio with the effect of statin treatment on other atherogenic characteristics of LDL particles, specifically LDL-PPD and the estimated cholesterol levels among the various LDL subclasses. Our data indicated that the dietary portfolio, like the statin treatment, despite having virtually no impact on the predominant LDL subfraction in these subjects, led to a preferential reduction in the estimated cholesterol concentration among the small LDL particles. Results from the Quebec Cardiovascular Study have indicated that LDL-C $<_{25.5}$ nm concentrations were strongly and independently associated with an increased risk of CHD in a cohort of more than 2000 men followed for 13 years (St Pierre *et al*, 2001).

Based on the Quebec Cardiovascular study data, the 0.69 mmol/L reduction in estimated cholesterol levels within the small LDL subfraction attributable to the dietary portfolio would translate into a clinically meaningful 19% reduction in the 13-year risk of CHD. Our data also suggested that baseline inflammatory status may partly influence the responsiveness of the LDL size phenotype to the dietary portfolio.

In a previous report, we have shown that the dietary portfolio was associated with a reduction in the proportion of larger LDL particles and an increase in the proportion of small particles with a corresponding diminution in the LDL integrated size (Lamarche *et al*, 2004). There was also a significant reduction in LDL-C <25.5 nm levels (Lamarche *et al*, 2004). In the present study, subjects had higher plasma TG levels at baseline than participants in our previous report. Because plasma TG levels have been shown to modulate LDL size phenotype, differences in plasma TG levels may partly explain the inconsistencies noted between these two studies.

Only limited data existed on the individual impact of components on the dietary portfolio and the LDL particles size phenotype. To our knowledge, four studies have investigated the impact of phytosterols on LDL particle size phenotype. Consumption of phytosterol and stanol in various forms has generally been associated with no change in features of the LDL size phenotype (Charest *et al*, 2004;Charest *et al*, 2005;Matvienko *et al*, 2002) but a recent study has shown a significant reduction in estimated cholesterol levels in all LDL particle subclasses with the consumption of 1.8 g of phytosterols daily (Varady *et al*, 2005). Based on these inconsistent results, we hypothesize that phytosterols may exert only limited effects on LDL size.

To the best of our knowledge, three studies have examined the impact of soybean proteins on LDL particle phenotype. Two studies conducted in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic women consuming their habitual diets reported that supplementation with isolated soy protein powder (low or high in isoflavones) had no impact on LDL-PPD (Merz-Demlow *et al*, 2000;Wangen *et al*, 2001) . We have shown in a more recent controlled study, that consumption of soy protein produced an important redistribution of LDL from small towards larger particles and a significant reduction in the proportion of LDL with a diameter <25.5 nm (LDL $\%_{<25.5\text{ nm}}$) (Desroches *et al*, 2004).

Two studies have examined the effect of soluble fibers on the LDL size phenotype. The first study found that consumption of high-fiber oat cereals lowered cholesterol concentration among the small LDL subclass while wheat cereals increased

cholesterol among this LDL subclass (Davy *et al*, 2002). Another study conducted in hypercholesterolemic subjects has shown that consumption of diets containing barley significantly reduced LDL-C_{>26.0 nm} compared with a Step 1 diet of the American Heart Association, but had no significant effect on LDL-C_{<25.5 nm} (Behall *et al*, 2004).

The impact of almonds on LDL particle size has not been clearly established. One study has compared the impact of a usual diet with or without walnut and a low-fat diet with or without walnut on LDL size characteristics (Almario *et al*, 2001). Results of this study indicated that there was a decrease in the cholesterol concentration of the small LDL subfraction on the usual diet with walnut, compared with the usual diet solely.

The literature on the different components of the dietary portfolio suggests that each component has either beneficial effects or simply no impact on LDL size phenotype. The phytosterol component of the dietary portfolio tends to have a very minor impact on the LDL size phenotype. However, soy protein, soluble fibers and nuts are most likely responsible for the beneficial change in the estimated cholesterol levels in small LDL particles seen with the dietary portfolio.

Statins are effective LDL-C lowering agents (Grundy, 1988). In the present study, 20 mg lovastatin daily produced no change in LDL-PPD or LDL integrated size. However, lovastatin produced significant reduction in estimated cholesterol levels among all LDL particle subclasses. Tilly-Kiesi *et al*. have shown that lovastatin treatment for 12-wk at a starting dose of 40 mg produced no mean change in LDL density distribution (Tilly-Kiesi, 1991). Several other studies have examined the effects of statins on LDL size phenotype, but few have tested lovastatin. A majority of studies have shown that the principal benefits from statin treatment (principally atorvastatin and fluvastatin) on LDL size phenotype were reduction in cholesterol within the denser LDL particles fraction (Forster *et al*, 2002;Guerin *et al*, 2002;Marz *et al*, 2001), as seen in the present study. The dietary portfolio and the statin treatment had a comparable impact on LDL-C_{<25.5 nm}.

Data from the present study are consistent with previous observations from our group in showing that subjects with smaller LDL-PPD at baseline (LDL-PPD < 25.25 nm) had a greater reduction in estimated cholesterol levels within the small LDL subfraction with the portfolio treatment (Lamarche *et al*, 2004). This was also seen with the statin treatment (not shown).

There is an increasing body of evidence indicating that the inflammatory status at baseline may predict the response to dietary changes. In the present study, additional subgroup analysis revealed that baseline CRP levels modulated the LDL-C $<_{25.5}$ nm response to the dietary portfolio. Subjects with low or moderate baseline CRP levels (<3.0 mg/L) showed significantly greater reduction in LDL-C $<_{25.5}$ nm levels after the dietary portfolio than subjects with high baseline CRP levels (> 3.0 mg/L). Hilpert *et al.* (Hilpert *et al.*, 2005) have recently shown that subjects with low CRP exhibited significant reductions in LDL-C levels with a low-fat diet whereas subjects with high CRP showed increased LDL-C concentrations. Subanalyses of the DASH diet study also indicated that LDL-C levels were significantly reduced only in subjects with baseline CRP below the median (<2.37 mg/L) (Erlinger *et al.*, 2003). Furthermore, we have recently shown that plasma total and VLDL-TG levels were significantly increased in subjects with high baseline CRP levels after a low fat diet, but remained unchanged in the subgroup with low CRP concentration at baseline (Desroches *et al.*, 2006). Taken together, these results suggest that baseline CRP level, a non specific marker of low grade inflammation, might predict individual variation in the response to dietary changes including change in the LDL size phenotype in response to the dietary portfolio. Mechanisms inherent to this phenomenon remain theoretical. It has been suggested that a pro-inflammatory state may be associated with an increased psychological or environmental «stress» (Yudkin *et al.*, 2000). We have also hypothesized that major dietary modifications within a rigorously controlled study may be perceived as further physiological stress in subjects who already have elevated CRP levels at baseline and this may partly explain why these individuals display an attenuated or even a undesirable response to dietary interventions (Desroches *et al.*, 2006). Whether a high baseline CRP also identifies a group in need of statin therapy i.e. those who would not benefit from diet in terms of small dense particle reduction will have to be determined by further studies.

In conclusion, the present study has shown that the dietary portfolio has minor impact on several features of the small dense LDL phenotype. However, the preferential reduction in the estimated concentration of cholesterol within the smallest subclass of LDL particles after the dietary portfolio, compared to the low fat National Cholesterol Education Program Step II diet is likely to confer additional cardiovascular benefits. Our findings also provide further support to the thesis that baseline inflammatory status

may partly influence the responsiveness of lipid risk factors to the dietary manipulations. Additional research is required to test long term effect of the dietary portfolio on plasma lipids and LDL size phenotype.

Acknowledgment

This study was supported financially or through the donation of food by Canada Research Chair Endowment of the Federal Government of Canada, the Canadian Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, Loblaw Brands Ltd (Toronto), Unilever Canada (Toronto), the Almond Board of California (Modesto, CA), the Hain-Celestial Group (Melville, NY), Kraft Foods (Glenview, IL), Procter & Gamble Inc (Toronto), Pepsico Foods Canada-Quaker Peterborough Plant (Peterborough, Canada), Nestlé Canada Inc (Pickering, Canada), Bartlett Farms, Barwell Food Sales Inc (London, Canada), and Burnbrae Farms (Upton, Canada). DJAJ has served on the Scientific Advisory Board of Unilever and Solae. DJAJ and CWCK have been on the speaker's panel for the Almond Board of California (Modesto, CA). CWCK, DAF and TLP received partial salary funding from research grant provided by Unilever, Loblaw Brands Ltd, and the Almond Board of California. EAT is employed by Unilever Health Institute, Unilever R&D Vlaardingen, Netherlands. KGL is employed by the Almond Board of California. DJAJ, CWCK, and DAF were responsible for the study concept and design. DJAJ, CWCK, AM, DAF, JMWW, RdS, AE, TLP, PWC, BL and IG were responsible for the analysis and interpretation of the data. BL and IG drafted the manuscript. All authors were responsible for the critical revision of the manuscript for important intellectual content. DJAJ, CWCK and BL obtained funding. CWCK, AM, DAF, JMWW, RdS, AE, TLP, EAT, KGL, and PWC provided administrative, technical, or material support. DJAJ, CWCK, and DAF supervised the conduct of the study.

References

- (1994) Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* **344**, 1383-1389.
- (2001) Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Journal of the American Medical Association* **285**, 2486-2497.
- (2002) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **360**, 7-22.
- Almario,R.U., Vonghavaravat,V., Wong,R., & Kasim-Karakas,S.E. (2001) Effects of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr* **74**, 72-79.
- Behall,K.M., Scholfield,D.J., & Hallfrisch,J. (2004) Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *Am J Clin Nutr* **80**, 1185-1193.
- Charest,A., Desroches,S., Vanstone,C.A., Jones,P.J., & Lamarche,B. (2004) Unesterified plant sterols and stanols do not affect LDL electrophoretic characteristics in hypercholesterolemic subjects. *J Nutr* **134**, 592-595.
- Charest,A., Vanstone,C., St-Onge,M.P., Parson,W., Jones,P.J., & Lamarche,B. (2005) Phytosterols in nonfat and low-fat beverages have no impact on the LDL size phenotype. *Eur J Clin Nutr* **59**, 801-804.
- Davy,B.M., Davy,K.P., Ho,R.C., Beske,S.D., Davrath,L.R., & Melby,C.L. (2002) High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men. *Am J Clin Nutr* **76**, 351-358.
- Desroches,S., Archer,W.R., Paradis,M.E., Dériaz,O., Couture,P., Bergeron,J., Bergeron,N., & Lamarche,B. (2006) Baseline plasma C-reactive protein concentrations influence lipid and lipoprotein responses to low-fat and high monounsaturated fatty acid diets in healthy men. *J Nutr* **136**, 1005-1011.
- Desroches,S., Mauger,J.F., Ausman,L.M., Lichtenstein,A.H., & Lamarche,B. (2004) Soy protein favorably affects LDL size independently of isoflavones in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr* **134**, 574-579.
- Erlinger,T.P., Miller,E.R., III, Charleston,J., & Appel,L.J. (2003) Inflammation modifies the effects of a reduced-fat low-cholesterol diet on lipids: results from the DASH-sodium trial. *Circulation* **108**, 150-154.
- Forster,L.F., Stewart,G., Bedford,D., Stewart,J.P., Rogers,E., Shepherd,J., Packard,C.J., & Caslake,M.J. (2002) Influence of atorvastatin and simvastatin on

- apolipoprotein B metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis* **164**, 129-145.
- Grundy, S.M. (1988) HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med* **319**, 24-33.
- Guerin, M., Egger, P., Soudant, C., Le Goff, W., van Tol, A., Dupuis, R., & Chapman, M.J. (2002) Dose-dependent action of atorvastatin in type IIB hyperlipidemia: preferential and progressive reduction of atherogenic apoB-containing lipoprotein subclasses (VLDL-2, IDL, small dense LDL) and stimulation of cellular cholesterol efflux. *Atherosclerosis* **163**, 287-296.
- Hilpert, K.F., Kris-Etherton, P.M., & West, S.G. (2005) Lipid response to a low-fat diet with or without soy is modified by C-reactive protein status in moderately hypercholesterolemic adults. *J Nutr* **135**, 1075-1079.
- Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Faulkner, D., Vidgen, E., Trautwein, E.A., Parker, T.L., Marchie, A., Koumbridis, G., Lapsley, K.G., Josse, R.G., Leiter, L.A., & Connelly, P.W. (2002) A dietary portfolio approach to cholesterol reduction: combined effects of plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers in hypercholesterolemia. *Metabolism* **51**, 1596-1604.
- Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Marchie, A., Faulkner, D.A., Josse, A.R., Wong, J.M., de Souza, R., Emam, A., Parker, T.L., Li, T.J., Josse, R.G., Leiter, L.A., Singer, W., & Connelly, P.W. (2005a) Direct comparison of dietary portfolio vs statin on C-reactive protein. *Eur J Clin Nutr* **59**, 851-860.
- Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Marchie, A., Faulkner, D.A., Wong, J.M., de Souza, R., Emam, A., Parker, T.L., Vidgen, E., Trautwein, E.A., Lapsley, K.G., Josse, R.G., Leiter, L.A., Singer, W., & Connelly, P.W. (2005b) Direct comparison of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods with a statin in hypercholesterolemic participants. *Am J Clin Nutr* **81**, 380-387.
- Krauss, R.M. & Burke, D.J. (1982) Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* **23**, 97-104.
- Krauss, R.M., Eckel, R.H., Howard, B., Appel, L.J., Daniels, S.R., Deckelbaum, R.J., Erdman, J.W., Jr., Kris-Etherton, P., Goldberg, I.J., Kotchen, T.A., Lichtenstein, A.H., Mitch, W.E., Mullis, R., Robinson, K., Wylie-Rosett, J., St Jeor, S., Suttie, J., Tribble, D.L., & Bazzarre, T.L. (2000) AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation* **102**, 2284-2299.
- Lamarche, B., Desroches, S., Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Marchie, A., Faulkner, D., Vidgen, E., Lapsley, K.G., Trautwein, E.A., Parker, T.L., Josse, R.G., Leiter, L.A., & Connelly, P.W. (2004) Combined effects of a dietary portfolio of plant sterols, vegetable protein, viscous fibre and almonds on LDL particle size. *Br J Nutr* **92**, 657-663.

- Lamarche,B., Tchernof,A., Moorjani,S., Cantin,B., Dagenais,G.R., Lupien,P.J., & Després,J.P. (1997) Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* **95**, 69-75.
- Marz,W., Scharnagl,H., Abletshauer,C., Hoffmann,M.M., Berg,A., Keul,J., Wieland,H., & Baumstark,M.W. (2001) Fluvastatin lowers atherogenic dense low-density lipoproteins in postmenopausal women with the atherogenic lipoprotein phenotype. *Circulation* **103**, 1942-1948.
- Matvienko,O.A., Lewis,D.S., Swanson,M., Arndt,B., Rainwater,D.L., Stewart,J., & Alekel,D.L. (2002) A single daily dose of soybean phytosterols in ground beef decreases serum total cholesterol and LDL cholesterol in young, mildly hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* **76**, 57-64.
- Merz-Demlow,B.E., Duncan,A.M., Wangen,K.E., Xu,X., Carr,T.P., Phipps,W.R., & Kurzer,M.S. (2000) Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women. *Am J Clin Nutr* **71**, 1462-1469.
- Pearson,T.A., Mensah,G.A., Alexander,R.W., Anderson,J.L., Cannon,R.O., III, Criqui,M., Fadl,Y.Y., Fortmann,S.P., Hong,Y., Myers,G.L., Rifai,N., Smith,S.C., Jr., Taubert,K., Tracy,R.P., & Vinicor,F. (2003) Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* **107**, 499-511.
- St-Pierre,A.C., Ruel,I.L., Cantin,B., Dagenais,G.R., Bernard,P.M., Després,J.P., & Lamarche,B. (2001) Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* **104**, 2295-2299.
- Superko,H.R., Krauss,R.M., & DiRicco,C. (1997) Effect of fluvastatin on low-density lipoprotein peak particle diameter. *Am J Cardiol* **80**, 78-81.
- Tilly-Kiesi,M. (1991) The effect of lovastatin treatment on low-density lipoprotein hydrated density distribution and composition in patients with intermittent claudication and primary hypercholesterolemia. *Metabolism* **40**, 623-628.
- Varady,K.A., St-Pierre,A.C., Lamarche,B., & Jones,P.J. (2005) Effect of plant sterols and endurance training on LDL particle size and distribution in previously sedentary hypercholesterolemic adults. *Eur J Clin Nutr* **59**, 518-525.
- Wangen,K.E., Duncan,A.M., Xu,X., & Kurzer,M.S. (2001) Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* **73**, 225-231.
- Yu-Poth,S., Zhao,G., Etherton,T., Naglak,M., Jonnalagadda,S., & Kris-Etherton,P.M. (1999) Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* **69**, 632-646.

- Yuan, J.N., Tsai, M.Y., Hegland, J., & Hunninghake, D.B. (1991) Effects of fluvastatin (XU 62-320), an HMG-CoA reductase inhibitor, on the distribution and composition of low density lipoprotein subspecies in humans. *Atherosclerosis* **87**, 147-157.
- Yudkin, J.S., Kumari, M., Humphries, S.E., & Mohamed-Ali, V. (2000) Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* **148**, 209-214.
- Zhao, S.P., Hollaar, L., 't Hooft, F.M., Smelt, A.H., Gevers Leuven, J.A., & van der, L.A. (1991) Effect of simvastatin on the apparent size of LDL particles in patients with type IIB hyperlipoproteinemia. *Clin Chim Acta* **203**, 109-117.

Figure 1

Change from baseline in plasma cholesterol concentration of (A) the small LDL subfraction (LDL-C <25.5 nm) and (B) the large LDL subfraction (LDL-C >26.0 nm) in hyperlipidemic subjects during the control diet (●; n = 34), dietary portfolio (▲; n = 32), and statin treatment (■; n = 34). The « diet » effect was significant ($P < 0.001$). Values are means \pm SE. Means at any given point in time without a common letter are statistically different, $P < 0.001$.

Figure 2

Change from baseline in plasma cholesterol concentration among the small LDL particles (LDL-C <25.5 nm) according to baseline plasma CRP levels (< 1 mg/L (●), 1-3 mg/L (■), > 3 mg/L (▲)) in hyperlipidemic subjects after the dietary portfolio (A), statin treatment (B) or the control diet (C) The interaction of « group of CRP by time » was tested using absolute values. Values are means \pm SE. Values with * are significantly different from baseline, $P < 0.05$.

TABLE 1. Characteristics of study participants at baseline*.

Characteristics	Men (n = 20)		Women (n = 14)		P [†]
	Number of subjects				
European	16		13		
Indian subcontinent	2		0		
Chinese	1		0		
Black	0		1		
Hispanic	1		0		
	Mean	SD	Mean	SD	
Age (years)	55.4	8.6	62.7	6.9	0.013
Body weight (kg)	82.4	10.9	67.8	10.5	0.001
BMI (kg/m ²)	27.3	3.2	27.3	3.7	0.990
Blood pressure (mm Hg)					
Systolic	120.0	12.4	121.6	11.5	0.703
Diastolic	77.3	6.8	76.0	7.3	0.574
Plasma cholesterol [‡] (mmol/L)					
Total	6.58	1.02	6.75	0.83	0.610
LDL	4.38	0.82	4.49	0.77	0.683
HDL	1.12	0.16	1.32	0.39	0.091
Plasma triacylglycerols [‡] (mmol/L)	2.40	1.11	2.07	0.94	0.384

BMI, body mass index; LDL, low density lipoproteins; HDL, high density lipoproteins

* Adapted from Jenkins et al (Jenkins *et al*, 2005b).

† Two-sample *t* test.

‡ To convert cholesterol and triacylglycerols to mg/dL, multiply by 38.67 and 88.57 respectively.

TABLE 2. Nutritional profile of the control, statin, and portfolio diets provided to the 34 hyperlipidemics subjects and recorded as eaten at week 4 of each intervention*.

	Control diet (n = 34)		Statin diet (n = 34)		Dietary portfolio (n = 34)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Energy (MJ/d)	9.81	2.12	9.80	2.24	9.94	2.32
Total protein (% of energy)	22.1	1.2	22.3	1.2	21.9	1.7
Vegetable protein (% of energy)	4.3 ^a	0.6	4.5 ^a	1.2	21.6 ^b	1.7
Available carbohydrate (% of energy)	52.6 ^a	2.3	52.1 ^a	2.9	48.7 ^b	3.5
Total dietary fiber (g/4.2 MJ)	23.1 ^a	2.3	23.2 ^a	2.9	32.8 ^b	2.9
Total fat (% of energy)	24.9 ^a	1.7	25.1 ^a	1.7	29.2 ^b	2.9
SFA (% of energy)	4.6 ^a	0.6	4.7 ^a	0.6	6.3 ^b	0.6
MUFA (% of energy)	10.3 ^a	1.2	10.2 ^a	1.2	12.1 ^b	2.3
PUFA (% of energy)	8.8 ^a	1.2	9.1 ^a	0.6	10.0 ^b	1.2
Dietary cholesterol (mg/4.2 MJ)	12.2 ^a	2.9	14.4 ^a	7.0	24.0 ^b	6.4
Alcohol (% of energy)	0.1	0.6	0.3	0.6	0.1	0.6

SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid;

* Adapted from Jenkins et al (Jenkins *et al*, 2005b).

^{a, b} Values in the same row with different superscript letters are significantly different, $P < 0.05$ (paired comparison by least-squares-means procedure with Tukey's adjustment after establishment of a significant F test by ANOVA).

TABLE 3. Effect of control diet, dietary portfolio and statin treatment on plasma lipids*, C-reactive proteins† and electrophoretic characteristics of 34 hyperlipidemics subjects.

Variables	Control diet				Dietary portfolio				Statin treatment				P for interaction
	Week 0		Week 4		Week 0		Week 4		Week 0		Week 4		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Total cholesterol (mmol/L)‡	6.79	0.16	6.23	0.15 ^a	6.76	0.15	5.25	0.12 ^b	6.84	0.15	4.97	0.17 ^b	<0.001
LDL-C (mmol/L)	4.56	0.14	4.13	0.13 ^a	4.51	0.12	3.17	0.09 ^b	4.49	0.12	2.91	0.10 ^b	<0.001
HDL-C (mmol/L)	1.24	0.05	1.11	0.04	1.23	0.05	1.15	0.05	1.24	0.06	1.17	0.06	0.16
Triacylglycerol (mmol/L)	2.17	0.16	2.18	0.16	2.24	0.18	2.04	0.18	2.45	0.19	1.96	0.18	0.001 [§]
Apo B (g/L) ‡	1.45	0.04	1.34	0.03 ^a	1.43	0.04	1.09	0.03 ^b	1.46	0.03	1.02	0.04 ^b	<0.001
C-reactive protein (mg/L)	1.94	0.30	1.76	0.28	2.28	0.48	1.97	0.55	2.61	0.45	2.84	1.30	0.19
<i>LDL particle size phenotype</i>													
LDL-peak particle diameter (Å)	253.0	0.4	252.8	0.4	253.0	0.4	253.0	0.4	252.7	0.5	253.0	0.5	0.42
LDL-integrated size (Å)	254.0	0.4	253.8	0.4	253.6	0.3	253.8	0.4	253.5	0.4	254.0	0.4	0.24
LDL >26.0 nm (%)	21.8	1.4	20.7	1.3	21.1	1.2	20.5	1.3	19.6	1.5	20.4	1.3	0.65
LDL 25.5–26.0 nm (%)	24.4	0.9	23.5	0.9	24.3	1.1	23.3	1.0	23.2	1.0	25.7	2.1	0.10
LDL <25.5 nm (%)	53.8	2.1	55.7	2.1	54.6	2.2	56.1	2.0	57.2	2.1	54.0	2.7	0.11
LDL-C >26.0 nm (mmol/L) ‡	1.00	0.10	0.88	0.07	0.96	0.06	0.68	0.06	0.89	0.08	0.60	0.05	0.013 [§]
LDL-C 25.5–26.0 nm (mmol/L) ‡	1.11	0.05	0.97	0.05 ^a	1.10	0.06	0.74	0.03 ^b	1.05	0.06	0.76	0.07 ^b	0.001
LDL-C <25.5 nm (mmol/L) ‡	2.44	1.13	2.27	0.12 ^a	2.48	0.12	1.79	0.09 ^b	2.55	0.12	1.56	0.11 ^b	<0.001

LDL-C, cholesterol in low density lipoproteins; HDL-C, cholesterol in high density lipoproteins; Apo B, apolipoprotein B;

* Adapted from Jenkins et al (Jenkins *et al*, 2005b).

† Adapted from Jenkins et al (Jenkins *et al*, 2005a).

‡ The main effect of the diet was significant ($P < 0.05$).

^{a, b, c} Means for a given time point with different superscript letters are significantly different, $P < 0.05$ (assessed by the least square mean test with the Tukey multi-comparison adjustment using the PROC MIXED procedure).

§ For TG and LDL-C _{>26.0 nm}, only week 2 showed significant time differences between treatments. They are not shown on this table.

Figure 1

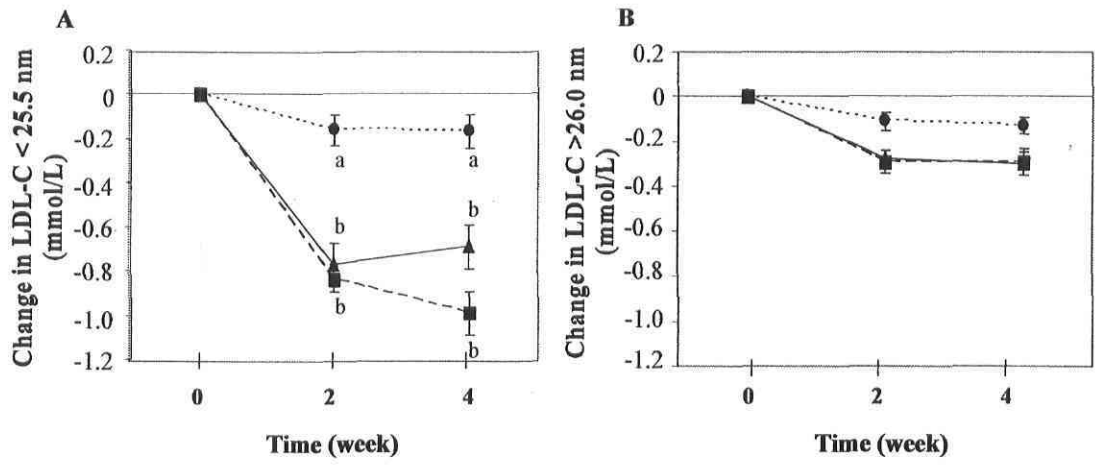
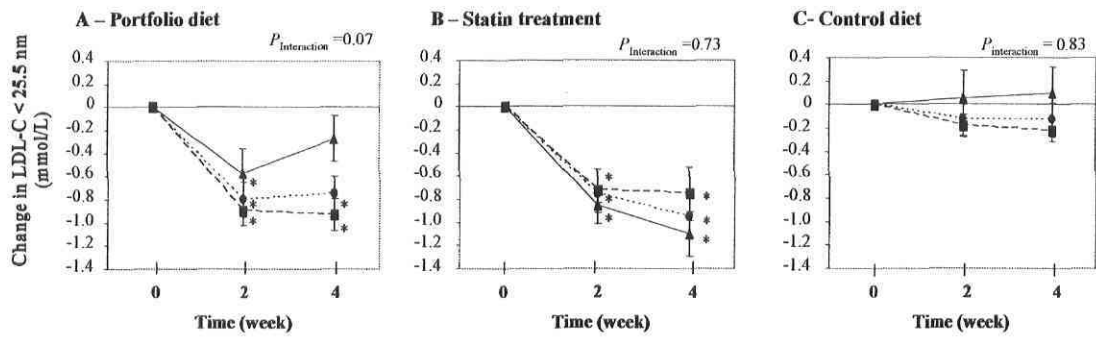


Figure 2



CHAPITRE V : CONCLUSION GÉNÉRALE

Les MCV demeurent toujours la principale cause de mortalité dans les pays industrialisés (1). Au Canada, elles représentent un lourd fardeau pour la société et le système de santé (2). Lorsqu'on considère que 80 % de la population canadienne présente au moins un facteur de risque modifiable des MCV (280), la réduction de la prévalence de ces facteurs de risque pourrait avoir un impact majeur sur la diminution des coûts de santé associés aux MCV. Les changements dans les habitudes de vie, particulièrement dans les habitudes alimentaires, constituent la principale approche dans la prévention et le traitement de l'hypercholestérolémie. La diète Portfolio représente une nouvelle alternative pour le traitement nutritionnel de l'hypercholestérolémie. Les présents travaux de recherche suggèrent que cette diète pourrait avoir des effets cardioprotecteurs qui pourraient surpasser son impact hypocholestérolémiant en contribuant à un phénotype de la taille des LDL généralement moins pro-athérogène (spécifique à la taille des LDL), comparativement à une diète faible en gras du NCEP (phase 2), qui représente une approche traditionnelle dans le traitement de l'hypercholestérolémie.

Le premier objectif des présents travaux était de comparer directement chez les mêmes individus l'effet d'une intervention nutritionnelle, la diète Portfolio, à l'effet d'un traitement pharmacologique avec statine sur différentes caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. Les résultats obtenus indiquent que malgré l'absence d'effet sur la taille de la principale sous-classe des particules LDL et sur les proportions des différentes sous-classes de particules LDL, la diète Portfolio a réduit de façon significative les concentrations de cholestérol estimées dans la sous-classes de petites particules LDL. Cette réduction était significativement plus grande que celle observée suite à la consommation de la diète témoin et comparable à celle engendrée par le traitement avec statine. Des réductions dans les concentrations de cholestérol estimées dans les petites particules LDL ont aussi été observé dans une autre étude, dans laquelle 12 sujets avec hypercholestérolémie modérée avaient consommé la diète Portfolio pendant 1 mois (29). Par ailleurs, dans cette étude la diète Portfolio était associée à une réduction de la proportion des particules LDL de grande taille et à une augmentation relative de la proportion des petites particules LDL, correspondant à une

diminution du diamètre moyen des particules LDL (29). Dans cette étude, les sujets avaient des concentrations de TG inférieures à celle des sujets dans les présents travaux de recherche. Comme les concentrations plasmatiques de TG sont considérées comme un déterminant majeur de la taille des particules LDL, la différence entre les deux études dans les niveaux plasmatiques de TG pourrait expliquer en partie la divergence dans les résultats obtenus.

La première hypothèse, qui était que la diète Portfolio a des effets bénéfiques sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL qui sont comparables au traitement avec statine chez des sujets hypercholestérolémiques est donc confirmée. Considérant le fait que la concentration de cholestérol estimée dans la sous-classe de petites particules LDL constitue la variable la plus fortement associée au risque de MCV (46), les résultats obtenus suggèrent que la diète Portfolio pourrait avoir un impact important au niveau de la réduction du risque de MCV, au delà de son effet sur le cholestérol (total et LDL-C). En effet selon les résultats de l'ECVQ, la réduction dans les concentrations de cholestérol dans les petites particules LDL attribuable à la diète Portfolio, pourrait se traduire par une réduction du risque de MCV de 19 % sur 13 ans. Bien que cette réduction soit importante, plusieurs facteurs sont à considérer par rapport à ces résultats.

Tout d'abord, le phénotype de la taille des particules LDL peut être caractérisé selon différentes approches. Par exemple, la taille des particules LDL comme facteur de risque peut être vue de façon dichotomique, selon le diamètre majeur de la sous-classe la plus abondante. Les individus présentant une prédominance de particules LDL larges (diamètre $> 255 \text{ \AA}$) peuvent être caractérisés comme ayant le phénotype A tandis que les individus avec une prédominance de petites particules LDL (diamètre $< 255 \text{ \AA}$) peuvent être caractérisés comme ayant le phénotype B (44). La taille des particules LDL peut aussi être établit en utilisant des valeurs seuils arbitraires définissant des catégories : petites, moyennes ou grosses particules LDL ou encore comme une variable continue. Ainsi, à l'heure actuelle, les différentes méthodes de caractérisation de la taille des particules LDL constituent en quelque sorte un obstacle à l'utilisation de cette mesure en pratique clinique.

De plus, diverses techniques sont utilisées pour la mesure de la taille des LDL, ce qui contribue au manque d'uniformité entourant cette mesure. Pour les présents travaux de recherche, la technique utilisée pour déterminer le phénotype de la taille des particules LDL était l'électrophorèse sur gradient de gel de polyacrylamide non dénaturant. Il importe de souligner que cette technique demeure laborieuse, non standardisée et coûteuse. Donc à l'heure actuelle, il n'est pas envisageable d'utiliser cette technique directement en clinique. Néanmoins, dans un contexte de recherche, la mesure du phénotype de la taille des LDL peut être très utile, car elle permet un raffinement dans la caractérisation du risque de MCV. Considérant le fait qu'il y a une étendue considérable des niveaux de LDL-C entre des individus sains et des patients atteints de MCV (57), il est pertinent d'avoir une meilleure estimation du risque de MCV par l'ajout d'autres facteurs de risque. Ainsi, la caractérisation du phénotype de la taille des LDL pourrait permettre d'identifier des individus à risque plus élevé de MCV malgré un niveau de LDL-C normal, dû par exemple, à la présence de petites particules LDL denses. Par ailleurs, bien que la majorité des études indiquent une association inverse entre la taille des particules LDL et le risque de MCV, une certaine controverse demeure à ce sujet, puisque quelques études montrent plutôt une augmentation du risque de MCV associée avec la présence de grosses particules LDL (79,80).

Par ailleurs, la diète Portfolio, qui est une alimentation végétarienne, peut être perçue comme une approche difficile à adopter, à tout le moins dans un contexte de vraie vie. En effet, une récente étude portant sur les effets de la diète Portfolio à long terme, indiquait une adhérence relativement faible à deux composés de la diète soit les fibres solubles et les protéines de soya (15). De plus, les résultats de cette étude indiquent qu'après un an, seulement 2 participants suivaient toujours une alimentation végétarienne, tandis que 9 % des sujets avaient une alimentation lacto-ovo-végétarienne et 87 % avaient une alimentation omnivore (15). Finalement, à la fin de cette étude, la réduction dans les concentrations de LDL-C était de 13 % et près du tiers des participants ont montré des réductions des concentrations de LDL-C > 20 %. Ainsi, bien que l'effet sur les réductions des concentrations de LDL-C dans un contexte d'étude contrôlée soit important, de l'ordre de 30 % (12,13), l'efficacité de la diète Portfolio à plus long terme et dans un contexte de vraie vie semble plus modérée. D'autres études à long terme, avec une diète témoin faible en gras saturés et en cholestérol seront nécessaires afin de comparer l'effet à long terme de ces deux types d'interventions

nutritionnelles et de mieux caractériser l'applicabilité, l'acceptabilité et l'efficacité de ce type d'intervention sur différents facteurs de risque des MCV, dont la taille des particules LDL.

D'autre part, le deuxième objectif des présents travaux de recherches était d'investiguer l'impact du statut pro-inflammatoire au départ sur les changements dans les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. Nous supposons que les niveaux plasmatiques de CRP au départ modulent l'impact de la diète Portfolio sur le phénotype de la taille des particules LDL. Les résultats de l'étude présentée ici indiquent qu'avec la diète Portfolio, les sujets avec des niveaux plasmatiques de CRP < 3.0 mg/L au départ montraient des réductions dans les concentrations de cholestérol contenu dans les petites particules LDL significativement plus grande à la fin du traitement que les sujets avec des niveaux plasmatiques de CRP > 3.0 mg/L au départ. De plus, les niveaux plasmatiques de CRP au départ ne semblaient pas influencer l'impact du traitement avec statine et de la diète témoin sur les concentrations de cholestérol contenues dans les petites particules LDL. Ainsi, le statut pro-inflammatoire au départ semble influencer la réponse des caractéristiques électrophorétiques des particules LDL à la diète Portfolio, ce qui confirme la deuxième hypothèse. Il est important de considérer que ces sous-analyses ont été réalisées *a posteriori* avec un plus petit nombre de sujets dans chaque groupe, affectant ainsi la portée de ces résultats. De plus, les résultats obtenus doivent être interprétés avec prudence puisque d'autres statines plus puissantes (ex : atorvastatine, rosuvastatine et simvastatine) sont maintenant disponibles et leurs effets au niveau des marqueurs inflammatoires en particulier ne sont pas nécessairement équivalents.

Par ailleurs, d'autres études ont obtenu des résultats similaires par rapport à l'effet du statut inflammatoire de départ sur les concentrations de LDL-C en réponse à un traitement nutritionnel. En effet, trois études ont observé une réponse diminuée dans les concentrations de LDL-C en réponse à diverses interventions nutritionnelles (51-53). Par contre, une étude a plutôt observé l'effet contraire pour ce qui est des réductions du LDL-C, qui étaient plus importantes dans le groupe avec un niveau de CRP plasmatique plus élevé, comparativement avec le groupe ayant un niveau de CRP plus faible au départ (50). Cette étude indique par ailleurs des réductions plus importantes des TG totaux et des TG des VLDL dans le groupe avec un niveau de CRP plus faible au départ

(50). La divergence des résultats entre cette étude et les autres par rapport aux réductions des concentrations de LDL-C pourrait être expliqué en partie par les différences de valeurs seuils utilisées pour définir les groupes de CRP. En effet, cette dernière étude (50) utilise la valeur de 1 mg/L pour définir les groupes ayant des concentrations plasmatiques de CRP faibles ou élevées au départ, tandis que dans les présents travaux les valeurs utilisées sont <1 mg/L, entre 1 et 3 mg/L et >3 mg/L pour les groupes avec des concentrations respectives de CRP au départ faibles, modérées ou élevées. D'autres études seront donc nécessaires afin de préciser les effets du statut inflammatoire au départ dans la réponse aux diverses interventions nutritionnelles. Ces études permettront de valider l'information qui pourrait possiblement être utilisée en clinique lors d'interventions portant sur la modification des habitudes alimentaires. Ces informations permettraient d'une part de déterminer si certaines interventions nutritionnelles ont un impact plus important sur le statut inflammatoire et d'autre part, si un type d'alimentation serait plus appropriée en présence d'inflammation.

Dans un autre ordre d'idée, il pourrait être intéressant d'ajouter certains composés à la diète Portfolio, comme par exemple des acides gras oméga-3. Cela pourrait possiblement amener une meilleure adhérence au traitement nutritionnel en augmentant la variété dans les aliments, en intégrant par exemple du poisson dans la diète. De plus, les acides gras oméga-3 sont reconnus comme ayant un effet bénéfique sur les concentrations de TG (281). Comme la concentration de TG est un déterminant important du phénotype de la taille des LDL, l'ajout d'acides gras oméga-3 à la diète Portfolio pourrait potentialiser son effet sur les caractéristiques électrophorétiques des particules LDL. D'ailleurs, quelques études ont montré un effet positif sur la taille des particules LDL avec de l'huile de poisson, riche en acide gras oméga-3 (282,283).

Par ailleurs, dans une optique d'évolution, le cholestérol est un composé essentiel chez l'humain au niveau des membranes cellulaires, comme composante pour le transport des lipoprotéines et pour la synthèse d'acides biliaires et d'hormones stéroïdiennes. Il a été suggéré qu'il y a plusieurs milliers d'années, l'homme consommait une alimentation principalement végétarienne, pratiquement sans acides gras saturés ni cholestérol, mais riche en aliments favorisant l'élimination du cholestérol (284). La physiologie de l'homme a donc dû être adaptée afin de préserver son *pool* de cholestérol (284). Par contre, l'alimentation nord-américaine actuelle est plus riche en sucres raffinés et en

acides gras. Elle est aussi composée en grande partie d'aliments transformés et contient peu de composés favorisant l'élimination du cholestérol ou réduisant la synthèse hépatique de cholestérol, tel que les fibres solubles, les phytostérols et les protéines végétales. Ainsi, il semble que l'addition de ces composés dans une alimentation faible en gras saturés et en cholestérol (diète Portfolio), se rapproche plus de l'alimentation consommée par nos ancêtres. Dans le contexte de sédentarisation et de surconsommation qui caractérise notre société actuelle, l'adoption d'une telle alimentation pourrait avoir des effets bénéfiques non seulement au niveau des MCV, mais aussi possiblement au niveau de l'obésité et du cancer.

Les présents travaux de recherche suggèrent donc que bien que la diète Portfolio semble avoir des effets mineurs sur différentes caractéristiques du phénotype de la taille des LDL, l'importante réduction dans les concentrations de cholestérol dans la sous-classe de petites particules LDL denses pourrait fournir un effet cardioprotecteur additionnel à la diète Portfolio, par rapport à la diète faible en gras du NCEP (phase 2). De plus, le statut inflammatoire de départ semble influencer la réponse des caractéristiques électrophorétiques des particules LDL à la diète Portfolio. Cette diète constitue donc une nouvelle approche à considérer dans le traitement de l'hypercholestérolémie. Par ailleurs, étant donné son caractère particulier, elle n'est peut-être pas tout à fait adaptée au contexte Nord-Américain. En effet, dans notre société l'alimentation de type végétarienne n'est pas très répandue. Dans un contexte de vraie vie, l'adhérence à la diète Portfolio dépendrait donc de la motivation des individus à entreprendre des changements significatifs dans leur alimentation. Les individus ne pouvant bénéficier d'un traitement pharmacologique, par exemple dû aux effets secondaires de la médication, ou ne souhaitant pas utiliser de médicaments, pourraient bénéficier plus particulièrement d'une approche nutritionnelle telle que la diète Portfolio. D'autres recherches seront donc nécessaires afin de valider l'acceptabilité, l'efficacité et l'applicabilité de cette diète dans un contexte de vraie vie. De plus, afin d'améliorer l'adhérence au traitement et possiblement aussi augmenter l'efficacité dans la réduction du risque de MCV, l'ajout d'acide gras oméga-3 pourrait être une option à envisager. Des recherches dans ce sens seraient donc nécessaires aussi.

RÉFÉRENCES DES CHAPITRES I, II, III ET V

1. Slater J, Rill V. Coronary artery disease: new insights into the pathophysiology, prevalence, and early detection of a monster menace. *Semin Ultrasound CT MR*. 2004 Apr;25:113-21.
2. The Changing Face of Heart Disease and Stroke in Canada. 2000.
3. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285:2486-97.
4. Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res*. 1982;23:97-104.
5. Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, Erdman JW, Jr., Kris-Etherton P, Goldberg IJ, et al. AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*. 2000 Oct 31;102:2284-99.
6. US Food and Drug Administration. FDA authorizes new coronary heart diseases health claim for plant sterol and plant stanol esters. Washington, DC: USD FDA; 2000. Report No.: 001-1275, OPP-1276.
7. US Food and Drug Administration. Food labeling health claim:soluble fiber from certain foods and coronary heart disease. Washington, DC: US FDA; 1998. Report No.: 96P-0338.
8. US Food and Drug Administration. FDA final rule for labeling health claims: soy protein and coronary heart disease. 1999. Report No.: Fed Regist 64, 57699-57733.
9. US Food and Drug Administration. Food labeling health claim:soluble fiber from whole oats and risk of coronary heart disease. Washington, DC: US FDA; 1997. Report No.: 95P-0197.
10. US Food and Drug Administration. Food labeling health claim:nuts and heart disease. 2003. Report No.: 02P-0505.
11. Jenkins DJ, Kendall CW, Faulkner D, Vidgen E, Trautwein EA, Parker TL, Marchie A, Koumbridis G, Lapsley KG, et al. A dietary portfolio approach to cholesterol reduction: combined effects of plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers in hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2002 Dec;51:1596-604.
12. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner D, Vidgen E, Lapsley KG, Trautwein EA, Parker TL, Josse RG, et al. The effect of combining plant sterols,

soy protein, viscous fibers, and almonds in treating hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2003 Nov;52:1478-83.

13. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner DA, Wong JM, de Souza R, Emam A, Parker TL, Vidgen E, et al. Direct comparison of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods with a statin in hypercholesterolemic participants. *Am J Clin Nutr*. 2005 Feb;81:380-7.
14. Jenkins DJA, Kendall CWC, Marchie A, Faulkner DA, Wong JMW, de Souza R, Emam A, Parker TL, Vidgen E, et al. Effects of a Dietary Portfolio of Cholesterol-Lowering Foods vs Lovastatin on Serum Lipids and C-Reactive Protein. *JAMA*. 2003 Jul 23;290:502-10.
15. Jenkins DJ, Kendall CW, Faulkner DA, Nguyen T, Kemp T, Marchie A, Wong JM, de Souza R, Emam A, et al. Assessment of the longer-term effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods in hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*. 2006 Mar;83:582-91.
16. Almario RU, Vonghavaravat V, Wong R, Kasim-Karakas SE. Effects of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr*. 2001 Jul;74:72-9.
17. Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch J. Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *Am J Clin Nutr*. 2004 Nov;80:1185-93.
18. Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch J. Lipids significantly reduced by diets containing barley in moderately hypercholesterolemic men. *J Am Coll Nutr*. 2004 Feb;23:55-62.
19. Charest A, Desroches S, Vanstone CA, Jones PJ, Lamarche B. Unesterified plant sterols and stanols do not affect LDL electrophoretic characteristics in hypercholesterolemic subjects. *J Nutr*. 2004 Mar;134:592-5.
20. Charest A, Vanstone C, St-Onge MP, Parson W, Jones PJ, Lamarche B. Phytosterols in nonfat and low-fat beverages have no impact on the LDL size phenotype. *Eur J Clin Nutr*. 2005 Jun;59:801-4.
21. Davy BM, Davy KP, Ho RC, Beske SD, Davrath LR, Melby CL. High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men. *Am J Clin Nutr*. 2002 Aug;76:351-8.
22. Desroches S, Mauger JF, Ausman LM, Lichtenstein AH, Lamarche B. Soy protein favorably affects LDL size independently of isoflavones in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr*. 2004 Mar;134:574-9.
23. Matvienko OA, Lewis DS, Swanson M, Arndt B, Rainwater DL, Stewart J, Alekel DL. A single daily dose of soybean phytosterols in ground beef decreases serum total cholesterol and LDL cholesterol in young, mildly hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr*. 2002 Jul;76:57-64.

24. Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP, Phipps WR, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2000 Jun;71:1462-9.
25. Pedersen A, Baumstark MW, Marckmann P, Gylling H, Sandstrom B. An olive oil-rich diet results in higher concentrations of LDL cholesterol and a higher number of LDL subfraction particles than rapeseed oil and sunflower oil diets. *J Lipid Res.* 2000 Dec;41:1901-11.
26. St-Onge MP, Lamarche B, Mauger JF, Jones PJ. Consumption of a functional oil rich in phytosterols and medium-chain triglyceride oil improves plasma lipid profiles in men. *J Nutr.* 2003 Jun;133:1815-20.
27. Varady KA, St Pierre AC, Lamarche B, Jones PJ. Effect of plant sterols and endurance training on LDL particle size and distribution in previously sedentary hypercholesterolemic adults. *Eur J Clin Nutr.* 2005 Apr;59:518-25.
28. Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2001 Feb;73:225-31.
29. Lamarche B, Desroches S, Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner D, Vidgen E, Lapsley KG, Trautwein EA, et al. Combined effects of a dietary portfolio of plant sterols, vegetable protein, viscous fibre and almonds on LDL particle size. *Br J Nutr.* 2004 Oct;92:657-63.
30. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, Langendorfer A, Stein EA, Kruyer W, Gotto AM, Jr. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA.* 1998 May 27;279:1615-22.
31. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Nov 16;333:1301-7.
32. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet.* 1994 Nov 19;344:1383-9.
33. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med.* 1998 Nov 5;339:1349-57.
34. Wilt TJ, Bloomfield HE, MacDonald R, Nelson D, Rutks I, Ho M, Larsen G, McCall A, Pineros S, Sales A. Effectiveness of statin therapy in adults with coronary heart disease. *Arch Intern Med.* 2004 Jul 12;164:1427-36.
35. Forster LF, Stewart G, Bedford D, Stewart JP, Rogers E, Shepherd J, Packard CJ, Caslake MJ. Influence of atorvastatin and simvastatin on apolipoprotein B

metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis*. 2002 Sep;164:129-45.

36. Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia : preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jan;20:189-97.
37. Larivière M, Lamarche B, Pirro M, Hogue JC, Bergeron J, Gagné C, Couture P. Effects of atorvastatin on electrophoretic characteristics of LDL particles among subjects with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2003 Mar;167:97-104.
38. Marz W, Scharnagl H, Abletshauer C, Hoffmann MM, Berg A, Keul J, Wieland H, Baumstark MW. Fluvastatin lowers atherogenic dense low-density lipoproteins in postmenopausal women with the atherogenic lipoprotein phenotype. *Circulation*. 2001 Apr 17;103:1942-8.
39. Sirtori CR, Calabresi L, Pisciotto L, Cattin L, Pauciullo P, Montagnani M, Manzato E, Bittolo BG, Fellin R. Effect of statins on LDL particle size in patients with familial combined hyperlipidemia: a comparison between atorvastatin and pravastatin. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005 Feb;15:47-55.
40. Superko HR, Krauss RM, DiRicco C. Effect of fluvastatin on low-density lipoprotein peak particle diameter. *Am J Cardiol*. 1997 Jul 1;80:78-81.
41. Tilly-Kiesi M. The effect of lovastatin treatment on low-density lipoprotein hydrated density distribution and composition in patients with intermittent claudication and primary hypercholesterolemia. *Metabolism*. 1991 Jun;40:623-8.
42. Zambon S, Cortella A, Sartore G, Baldo-Enzi G, Manzato E, Crepaldi G. Pravastatin treatment in combined hyperlipidaemia. Effect on plasma lipoprotein levels and size. *Eur J Clin Pharmacol*. 1994;46:221-4.
43. Zhao SP, Hollaar L, 't Hooft FM, Smelt AH, Gevers Leuven JA, van der LA. Effect of simvastatin on the apparent size of LDL particles in patients with type IIB hyperlipoproteinemia. *Clin Chim Acta*. 1991 Dec 16;203:109-17.
44. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willet WC, Krauss RM. Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988;260:1917-21.
45. Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA*. 1996 Sep 18;276:875-81.
46. St-Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Després JP, Lamarche B. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation*. 2001 Nov 6;104:2295-9.

47. St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Mauriège P, Bernard PM, Després JP, Lamarche B. Low-density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Mar;25:553-9.
48. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000 Mar 23;342:836-43.
49. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002 Nov 14;347:1557-65.
50. Desroches S, Archer WR, Paradis ME, Dériaz O, Couture P, Bergeron J, Bergeron N, Lamarche B. Baseline plasma C-reactive protein concentrations influence lipid and lipoprotein responses to low-fat and high monounsaturated fatty acid diets in healthy men. *J Nutr.* 2006 Apr;136:1005-11.
51. Erlinger TP, Miller ER, III, Charleston J, Appel LJ. Inflammation modifies the effects of a reduced-fat low-cholesterol diet on lipids: results from the DASH-sodium trial. *Circulation.* 2003 Jul 15;108:150-4.
52. Hilpert KF, Kris-Etherton PM, West SG. Lipid response to a low-fat diet with or without soy is modified by C-reactive protein status in moderately hypercholesterolemic adults. *J Nutr.* 2005 May;135:1075-9.
53. Zhao G, Etherton TD, Martin KR, West SG, Gillies PJ, Kris-Etherton PM. Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr.* 2004 Nov;134:2991-7.
54. Choy PC, Siow YL, Mymin D, O K. Lipids and atherosclerosis. *Biochem Cell Biol.* 2004 Feb;82:212-24.
55. Gagné C, Gaudet D. Les dyslipoprotéïnémies : l'approche clinique. 2e ed. 1997.
56. Pahor M, Elam MB, Garrison RJ, Kritchevsky SB, Applegate WB. Emerging noninvasive biochemical measures to predict cardiovascular risk. *Arch Intern Med.* 1999 Feb 8;159:237-45.
57. Ginsburg GS, Safran C, Pasternak RC. Frequency of low serum high-density lipoprotein cholesterol levels in hospitalized patients with "desirable" total cholesterol levels. *Am J Cardiol.* 1991 Jul 15;68:187-92.
58. Genest JJ, McNamara JR, Salem DN, Schaefer EJ. Prevalence of risk factors in men with premature coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1991 Jun 1;67:1185-9.
59. Krauss RM. Relationship of intermediate and low-density lipoprotein subspecies to risk of coronary artery disease. *Am Heart J.* 1987 Feb;113:578-82.
60. Krauss RM, Blanche PJ. Detection and quantitation of LDL subfractions. *Curr Opin Lipidol.* 1992;3:377-83.

61. Albers JJ, Chen CH, Aladjem F. Human serum lipoproteins. Evidence for three classes of lipoproteins in Sf 0-2. *Biochemistry*. 1972 Jan 4;11:57-63.
62. Blake GJ, Otvos JD, Rifai N, Ridker PM. Low-density lipoprotein particle concentration and size as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy as predictors of cardiovascular disease in women. *Circulation*. 2002 Oct 8;106:1930-7.
63. Austin MA, Hokanson JE, Brunzell JD. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance. *Curr Opin Lipidol*. 1994;5:395-403.
64. Austin MA, Edwards KL. Small, dense low density lipoproteins, the insulin resistance syndrome and noninsulin-dependent diabetes. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7:167-71.
65. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, Hennekens CH. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1996;276:882-8.
66. Galeano NF, Milne R, Marcel YL, Walsh MT, Levy E, Ngu'yen TD, Gleeson A, Arad Y, Witte L, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem*. 1994 Jan 7;269:511-9.
67. Nigon F, Lesnik P, Rouis M, Chapman MJ. Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res*. 1991 Nov;32:1741-53.
68. de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb*. 1991 Mar;11:298-306.
69. de Graaf J, Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF. Identification of multiple dense LDL subfractions with enhanced susceptibility to in vitro oxidation among hypertriglyceridemic subjects. Normalization after clofibrate treatment. *Arterioscler Thromb*. 1993 May;13:712-9.
70. DeJager S, Bruckert E, Chapman MJ. Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominate in combined hyperlipidemia. *J Lipid Res*. 1993 Feb;34:295-308.
71. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*. 1989 Apr 6;320:915-24.
72. Galeano NF, al Haideri M, Keyserman F, Rumsey SC, Deckelbaum RJ. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity. *J Lipid Res*. 1998 Jun;39:1263-73.

73. Campos H, Genest JJ, Blijlevens E, McNamara JR, Jenner JL, Ordovas JM, Wilson PWF, Schaefer EJ. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1992;12:187-95.
74. Coresh J, Kwiterovich PO, Jr., Smith HH, Bachorik PS. Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res.* 1993 Oct;34:1687-97.
75. Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, Thomson J, Caslake MJ, Packard CJ, Shepherd J. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis.* 1994;106:241-53.
76. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Després JP. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation.* 1997 Jan 7;95:69-75.
77. Lamarche B, St-Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Després JP. A prospective, population-based study of low density lipoprotein particle size as a risk factor for ischemic heart disease in men. *Can J Cardiol.* 2001 Aug;17:859-65.
78. Mykkanen L, Kuusisto J, Haffner SM, Laakso M, Austin MA. LDL size and risk of coronary heart disease in elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Nov;19:2742-8.
79. Campos H, Roederer GO, Lussier-Cacan S, Davignon J, Krauss RM. Predominance of large LDL and reduced HDL2 cholesterol in normolipidemic men with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995 Aug;15:1043-8.
80. Campos H, Moye LA, Glasser SP, Stampfer MJ, Sacks FM. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. *JAMA.* 2001 Sep 26;286:1468-74.
81. Lamarche B, Lemieux I, Després JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab.* 1999 Sep;25:199-211.
82. Libby P, Ridker PM. Inflammation and atherosclerosis: role of C-reactive protein in risk assessment. *Am J Med.* 2004 Mar 22;116 Suppl 6A:9S-16S.
83. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture. *Circulation.* 1994 Aug;90:775-8.
84. Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Curr Probl Cardiol.* 2004 Aug;29:439-93.

85. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*. 2003 Oct 21;108:1930-2.
86. Rifai N, Buring JE, Lee IM, Manson JE, Ridker PM. Is C-reactive protein specific for vascular disease in women? *Ann Intern Med*. 2002 Apr 2;136:529-33.
87. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Gallimore JR, Pepys MB. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ*. 2000 Jul 22;321:199-204.
88. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA*. 2001 Jul 4;286:64-70.
89. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, Gotto AM, Jr. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med*. 2001 Jun 28;344:1959-65.
90. Balk EM, Lau J, Goudas LC, Jordan HS, Kupelnick B, Kim LU, Karas RH. Effects of statins on nonlipid serum markers associated with cardiovascular disease: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2003 Oct 21;139:670-82.
91. Bickel C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Schlitt A, Rippin G, Hafner G, Treude R, Othman H, et al. Relation of markers of inflammation (C-reactive protein, fibrinogen, von Willebrand factor, and leukocyte count) and statin therapy to long-term mortality in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2002 Apr 15;89:901-8.
92. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moya LA, Goldman S, Flaker GC, Braunwald E. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1998 Sep 1;98:839-44.
93. Bays HE, Stein EA, Shah AK, Maccubbin DL, Mitchel YB, Mercuri M. Effects of simvastatin on C-reactive protein in mixed hyperlipidemic and hypertriglyceridemic patients. *Am J Cardiol*. 2002 Nov 1;90:942-6.
94. Arnaud C, Burger F, Steffens S, Veillard NR, Nguyen TH, Trono D, Mach F. Statins reduce interleukin-6-induced C-reactive protein in human hepatocytes: new evidence for direct antiinflammatory effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jun;25:1231-6.
95. Weber C, Erl W, Weber KS, Weber PC. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Nov 1;30:1212-7.

96. Mulhaupt F, Matter CM, Kwak BR, Pelli G, Veillard NR, Burger F, Graber P, Luscher TF, Mach F. Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) reduce CD40 expression in human vascular cells. *Cardiovasc Res.* 2003 Sep 1;59:755-66.
97. Liu S, Manson JE, Buring JE, Stampfer MJ, Willett WC, Ridker PM. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-aged women. *Am J Clin Nutr.* 2002 Mar;75:492-8.
98. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA.* 2004 Sep 22;292:1440-6.
99. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Jul 7;44:152-8.
100. Mezzano D, Leighton F, Martinez C, Marshall G, Cuevas A, Castillo O, Panes O, Munoz B, Perez DD, et al. Complementary effects of Mediterranean diet and moderate red wine intake on haemostatic cardiovascular risk factors. *Eur J Clin Nutr.* 2001 Jun;55:444-51.
101. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner DA, Josse AR, Wong JM, de Souza R, Emam A, Parker TL, et al. Direct comparison of dietary portfolio vs statin on C-reactive protein. *Eur J Clin Nutr.* 2005 Jul;59:851-60.
102. Seshadri P, Iqbal N, Stern L, Williams M, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, Gracely EJ, Rader DJ, Samaha FF. A randomized study comparing the effects of a low-carbohydrate diet and a conventional diet on lipoprotein subfractions and C-reactive protein levels in patients with severe obesity. *Am J Med.* 2004 Sep 15;117:398-405.
103. Rantala M, Rantala TT, Savolainen MJ, Friedlander Y, Kesaniemi YA. Apolipoprotein B gene polymorphisms and serum lipids: meta-analysis of the role of genetic variation in responsiveness to diet. *Am J Clin Nutr.* 2000 Mar;71:713-24.
104. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res.* 2004 Jul;45:1169-96.
105. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis.* 2000 Feb;148:209-14.
106. Anderson KM, Castelli WP, Levy D. Cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham study. *JAMA.* 1987 Apr 24;257:2176-80.

107. Martin MJ, Hulley SB, Browner WS, Kuller LH, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men. *Lancet*. 1986;2:933-6.
108. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med*. 1996;335:1001-9.
109. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation*. 2002 Dec 17;106:3143-421.
110. Calabro P, Yeh ET. The pleiotropic effects of statins. *Curr Opin Cardiol*. 2005 Nov;20:541-6.
111. Bradford RH, Shear CL, Chremos AN, Dujovne C, Downton M, Franklin FA, Gould AL, Hesney M, Higgins J, et al. Expanded Clinical Evaluation of Lovastatin (EXCEL) study results. I. Efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia. *Arch Intern Med*. 1991 Jan;151:43-9.
112. Hsu I, Spinler SA, Johnson NE. Comparative evaluation of the safety and efficacy of HMG-CoA reductase inhibitor monotherapy in the treatment of primary hypercholesterolemia. *Ann Pharmacother*. 1995 Jul;29:743-59.
113. Pasternak RC, Smith SC, Jr., Bairey-Merz CN, Grundy SM, Cleeman JI, Lenfant C. ACC/AHA/NHLBI Clinical Advisory on the Use and Safety of Statins. *Circulation*. 2002 Aug 20;106:1024-8.
114. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA*. 1984 Jan 20;251:351-64.
115. Pauciuillo P, Marotta G, Rubba P, Cortese C, Caruso MG, Gnasso A, Fischetti A, Motti C, Mancini M. Serum lipoproteins, apolipoproteins and very low density lipoprotein subfractions during 6-month fibrate treatment in primary hypertriglyceridaemia. *J Intern Med*. 1990 Nov;228:425-30.
116. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res*. 1996 May;37:907-25.
117. Fruchart JC, Brewer HB, Jr., Leitersdorf E. Consensus for the use of fibrates in the treatment of dyslipoproteinemia and coronary heart disease. Fibrate Consensus Group. *Am J Cardiol*. 1998 Apr 1;81:912-7.
118. Eisenberg S, Gavish D, Oschry Y, Fainaru M, Deckelbaum RJ. Abnormalities in very low, low and high density lipoproteins in hypertriglyceridemia. Reversal toward normal with bezafibrate treatment. *J Clin Invest*. 1984 Aug;74:470-82.

119. van Heek M, Farley C, Compton DS, Hoos L, Alton KB, Sybertz EJ, Davis HR, Jr. Comparison of the activity and disposition of the novel cholesterol absorption inhibitor, SCH58235, and its glucuronide, SCH60663. *Br J Pharmacol.* 2000 Apr;129:1748-54.
120. Ezzet F, Wexler D, Statkevich P, Kosoglou T, Patrick J, Lipka L, Mellars L, Veltri E, Batra V. The plasma concentration and LDL-C relationship in patients receiving ezetimibe. *J Clin Pharmacol.* 2001 Sep;41:943-9.
121. Knopp RH, Gitter H, Truitt T, Bays H, Manion CV, Lipka LJ, LeBeaut AP, Suresh R, Yang B, Veltri EP. Effects of ezetimibe, a new cholesterol absorption inhibitor, on plasma lipids in patients with primary hypercholesterolemia. *Eur Heart J.* 2003 Apr;24:729-41.
122. Gagné C, Gaudet D, Bruckert E. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation.* 2002 May 28;105:2469-75.
123. Yu-Poth S, Zhao G, Etherton T, Naglak M, Jonnalagadda S, Kris-Etherton PM. Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1999 Apr;69:632-46.
124. Genest J, Frohlich J, Fodor G, McPherson R. Recommendations for the management of dyslipidemia and the prevention of cardiovascular disease: summary of the 2003 update. *CMAJ.* 2003 Oct 28;169:921-4.
125. Lichtenstein AH, Ausman LM, Jalbert SM, Vilella-Bach M, Jauhiainen M, McGladdery S, Erkkila AT, Ehnholm C, Frohlich J, Schaefer EJ. Efficacy of a Therapeutic Lifestyle Change/Step 2 diet in moderately hypercholesterolemic middle-aged and elderly female and male subjects. *J Lipid Res.* 2002 Feb;43:264-73.
126. Schaefer EJ, Lichtenstein AH, Lamon-Fava S, McNamara JR, Schaefer MM, Rasmussen H, Ordovas JM. Body weight and low-density lipoprotein cholesterol changes after consumption of a low-fat ad libitum diet. *JAMA.* 1995 Nov 8;274:1450-5.
127. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annual Review of Nutrition.* 2001;21:283-95.
128. Krauss RM, Dreon DM. Low-density-lipoprotein subclasses and response to a low-fat diet in healthy men. *Am J Clin Nutr.* 1995 Aug;62:478S-87S.
129. Archer WR, Lamarche B, St-Pierre AC, Mauger JF, Dériaz O, Landry N, Corneau L, Després JP, Bergeron J, et al. High carbohydrate and high monounsaturated fatty acid diets similarly affect LDL electrophoretic characteristics in men who are losing weight. *J Nutr.* 2003 Oct;133:3124-9.
130. Beard CM, Barnard RJ, Robbins DC, Ordovas JM, Schaefer EJ. Effects of diet and exercise on qualitative and quantitative measures of LDL and its susceptibility to oxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Feb;16:201-7.

131. Kasim-Karakas SE, Lane E, Almario R, Mueller W, Walzem R. Effects of dietary fat restriction on particle size of plasma lipoproteins in postmenopausal women. *Metabolism*. 1997 Apr;46:431-6.
132. Lichtenstein AH, Ausman LM, Jalbert SM, Schaefer EJ. Effects of Different Forms of Dietary Hydrogenated Fats on Serum Lipoprotein Cholesterol Levels. *The New England Journal of Medicine*. 1999 Jun 24;340:1933-40.
133. Dreon DM, Fernstrom HA, Campos H, Blanche P, Williams PT, Krauss RM. Change in dietary saturated fat intake is correlated with change in mass of large low-density-lipoprotein particles in men. *Am J Clin Nutr*. 1998 May;67:828-36.
134. Kratz M, Gulbahce E, von Eckardstein A, Cullen P, Cignarella A, Assmann G, Wahrburg U. Dietary mono- and polyunsaturated fatty acids similarly affect LDL size in healthy men and women. *J Nutr*. 2002 Apr;132:715-8.
135. Mauger JF, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jalbert SM, Jauhiainen M, Ehnholm C, Lamarche B. Effect of different forms of dietary hydrogenated fats on LDL particle size. *Am J Clin Nutr*. 2003 Sep 1;78:370-5.
136. Hasler CM. The cardiovascular effects of soy products. *J Cardiovasc Nurs*. 2002 Jul;16:50-63.
137. Young VR. Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *J Am Diet Assoc*. 1991 Jul;91:828-35.
138. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. United States Department of Agriculture Agricultural Research Service 2005 October 17 Available from: URL: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
139. Meeker DR, Kesten HD. Effect of high protein diets on experimental atherosclerosis of rabbits. *Arch Pathol*. 1941;31:147-62.
140. Nagata C, Takatsuka N, Kurisu Y, Shimizu H. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. *J Nutr*. 1998 Feb;128:209-13.
141. Ho SC, Woo JL, Leung SS, Sham AL, Lam TH, Janus ED. Intake of soy products is associated with better plasma lipid profiles in the Hong Kong Chinese population. *J Nutr*. 2000 Oct;130:2590-3.
142. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med*. 1995 Aug 3;333:276-82.
143. Sacks FM, Lichtenstein A, Van Horn L, Harris W, Kris-Etherton P, Winston M. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for professionals from the Nutrition Committee. *Circulation*. 2006 Feb 21;113:1034-44.
144. Bakhit RM, Klein BP, Essex-Sorlie D, Ham JO, Erdman JW, Jr., Potter SM. Intake of 25 g of soybean protein with or without soybean fiber alters plasma

- lipids in men with elevated cholesterol concentrations. *J Nutr.* 1994 Feb;124:213-22.
145. Teixeira SR, Potter SM, Weigel R, Hannum S, Erdman JW, Jr., Hasler CM. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr.* 2000 May;71:1077-84.
 146. Huff MW, Carroll KK. Effects of dietary protein on turnover, oxidation, and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. *J Lipid Res.* 1980 Jul;21:546-8.
 147. Tanaka K, Aso B, Sugano M. Biliary steroid excretion in rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J Nutr.* 1984 Jan;114:26-32.
 148. Duane WC. Effects of soybean protein and very low dietary cholesterol on serum lipids, biliary lipids, and fecal sterols in humans. *Metabolism.* 1999 Apr;48:489-94.
 149. Fumagalli R, Soleri L, Farina R, Musanti R, Mantero O, Nosedà G, Gatti E, Sirtori CR. Fecal cholesterol excretion studies in type II hypercholesterolemic patients treated with the soybean protein diet. *Atherosclerosis.* 1982 Jun;43:341-53.
 150. Carroll KK. Hypercholesterolemia and atherosclerosis: effects of dietary protein. *Fed Proc.* 1982 Sep;41:2792-6.
 151. Lovati MR, Manzoni C, Corsini A, Granata A, Frattini R, Fumagalli R, Sirtori CR. Low density lipoprotein receptor activity is modulated by soybean globulins in cell culture. *J Nutr.* 1992 Oct;122:1971-8.
 152. Kurowska EM, Carroll KK. Hypercholesterolemic responses in rabbits to selected groups of dietary essential amino acids. *J Nutr.* 1994 Mar;124:364-70.
 153. Klevay LM. Coronary heart disease: the zinc/copper hypothesis. *Am J Clin Nutr.* 1975 Jul;28:764-74.
 154. Baum JA, Teng H, Erdman JW, Jr., Weigel RM, Klein BP, Persky VW, Freels S, Surya P, Bakhit RM, et al. Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1998 Sep;68:545-51.
 155. Crouse JR, III, Morgan T, Terry JG, Ellis J, Vitolins M, Burke GL. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Arch Intern Med.* 1999 Sep 27;159:2070-6.
 156. Gardner CD, Newell KA, Cherin R, Haskell WL. The effect of soy protein with or without isoflavones relative to milk protein on plasma lipids in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2001 Apr;73:728-35.

157. Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T, Pomeroy S, Dart A, Komesaroff P, Owen A, Abbey M. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Dec;17:3392-8.
158. Weggemans RM, Trautwein EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2003 Aug;57:940-6.
159. Adlercreutz CH, Goldin BR, Gorbach SL, Hockerstedt KA, Watanabe S, Hamalainen EK, Markkanen MH, Makela TH, Wahala KT, Adlercreutz T. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J Nutr.* 1995 Mar;125:757S-70S.
160. Peeters PH, Keinan-Boker L, van der Schouw YT, Grobbee DE. Phytoestrogens and breast cancer risk. Review of the epidemiological evidence. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Jan;77:171-83.
161. Hirose K, Tajima K, Hamajima N, Inoue M, Takezaki T, Kuroishi T, Yoshida M, Tokudome S. A large-scale, hospital-based case-control study of risk factors of breast cancer according to menopausal status. *Jpn J Cancer Res.* 1995 Feb;86:146-54.
162. Lee HP, Gourley L, Duffy SW, Esteve J, Lee J, Day NE. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. *Lancet.* 1991 May 18;337:1197-200.
163. Yuan JM, Wang QS, Ross RK, Henderson BE, Yu MC. Diet and breast cancer in Shanghai and Tianjin, China. *Br J Cancer.* 1995 Jun;71:1353-8.
164. Shu XO, Jin F, Dai Q, Wen W, Potter JD, Kushi LH, Ruan Z, Gao YT, Zheng W. Soyfood intake during adolescence and subsequent risk of breast cancer among Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001 May;10:483-8.
165. Maskarinec G. Soy foods for breast cancer survivors and women at high risk for breast cancer? *J Am Diet Assoc.* 2005 Oct;105:1524-8.
166. Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helferich WG. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 1998 Sep 1;58:3833-8.
167. Barnes S. The chemopreventive properties of soy isoflavonoids in animal models of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1997 Nov;46:169-79.
168. Shao ZM, Wu J, Shen ZZ, Barsky SH. Genistein exerts multiple suppressive effects on human breast carcinoma cells. *Cancer Res.* 1998 Nov 1;58:4851-7.
169. Day JK, Besch-Williford C, McMann TR, Hufford MG, Lubahn DB, MacDonald RS. Dietary genistein increased DMBA-induced mammary adenocarcinoma in wild-type, but not ER alpha KO, mice. *Nutr Cancer.* 2001;39:226-32.

170. McMichael-Phillips DF, Harding C, Morton M, Roberts SA, Howell A, Potten CS, Bundred NJ. Effects of soy-protein supplementation on epithelial proliferation in the histologically normal human breast. *Am J Clin Nutr.* 1998 Dec;68:1431S-5S.
171. Petrakis NL, Barnes S, King EB, Lowenstein J, Wiencke J, Lee MM, Miike R, Kirk M, Coward L. Stimulatory influence of soy protein isolate on breast secretion in pre- and postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996 Oct;5:785-94.
172. Horn-Ross PL, John EM, Canchola AJ, Stewart SL, Lee MM. Phytoestrogen intake and endometrial cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2003 Aug 6;95:1158-64.
173. Xu WH, Zheng W, Xiang YB, Ruan ZX, Cheng JR, Dai Q, Gao YT, Shu XO. Soya food intake and risk of endometrial cancer among Chinese women in Shanghai: population based case-control study. *BMJ.* 2004 May 29;328:1285.
174. Goodman MT, Wilkens LR, Hankin JH, Lyu LC, Wu AH, Kolonel LN. Association of soy and fiber consumption with the risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiol.* 1997 Aug 15;146:294-306.
175. Baber RJ, Templeman C, Morton T, Kelly GE, West L. Randomized placebo-controlled trial of an isoflavone supplement and menopausal symptoms in women. *Climacteric.* 1999 Jun;2:85-92.
176. Duncan AM, Merz BE, Xu X, Nagel TC, Phipps WR, Kurzer MS. Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Jan;84:192-7.
177. Unfer V, Casini ML, Costabile L, Mignosa M, Gerli S, Di Renzo GC. Endometrial effects of long-term treatment with phytoestrogens: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Fertil Steril.* 2004 Jul;82:145-8, quiz.
178. Messina MJ. Emerging evidence on the role of soy in reducing prostate cancer risk. *Nutr Rev.* 2003 Apr;61:117-31.
179. Ozasa K, Nakao M, Watanabe Y, Hayashi K, Miki T, Mikami K, Mori M, Sakauchi F, Washio M, et al. Serum phytoestrogens and prostate cancer risk in a nested case-control study among Japanese men. *Cancer Sci.* 2004 Jan;95:65-71.
180. Kato K, Takahashi S, Cui L, Toda T, Suzuki S, Futakuchi M, Sugiura S, Shirai T. Suppressive effects of dietary genistin and daidzin on rat prostate carcinogenesis. *Jpn J Cancer Res.* 2000 Aug;91:786-91.
181. Onozawa M, Kawamori T, Baba M, Fukuda K, Toda T, Sato H, Ohtani M, Akaza H, Sugimura T, Wakabayashi K. Effects of a soybean isoflavone mixture on carcinogenesis in prostate and seminal vesicles of F344 rats. *Jpn J Cancer Res.* 1999 Apr;90:393-8.
182. Pollard M, Wolter W. Prevention of spontaneous prostate-related cancer in Lobund-Wistar rats by a soy protein isolate/isoflavone diet. *Prostate.* 2000 Oct 1;45:101-5.

183. Kyle E, Neckers L, Takimoto C, Curt G, Bergan R. Genistein-induced apoptosis of prostate cancer cells is preceded by a specific decrease in focal adhesion kinase activity. *Mol Pharmacol.* 1997 Feb;51:193-200.
184. Mitchell JH, Duthie SJ, Collins AR. Effects of phytoestrogens on growth and DNA integrity in human prostate tumor cell lines: PC-3 and LNCaP. *Nutr Cancer.* 2000;38:223-8.
185. Urban D, Irwin W, Kirk M, Markiewicz MA, Myers R, Smith M, Weiss H, Grizzle WE, Barnes S. The effect of isolated soy protein on plasma biomarkers in elderly men with elevated serum prostate specific antigen. *J Urol.* 2001 Jan;165:294-300.
186. Asp NG, Mattsson B, Onning G. Variation in dietary fibre, beta-glucan, starch, protein, fat and hull content of oats grown in Sweden 1987-1989. *Eur J Clin Nutr.* 1992 Jan;46:31-7.
187. Oscarsson M, Andersson R, Olofsson S, Jonsson A. Effects of cultivar, nitrogen fertilization rate and environment on yield and grain quality of barley. *J Sci Food Agric.* 1998;78:359-66.
188. Liu S, Stampfer MJ, Hu FB, Giovannucci E, Rimm E, Manson JE, Hennekens CH, Willett WC. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *Am J Clin Nutr.* 1999 Sep;70:412-9.
189. Jacobs DR, Jr., Meyer KA, Kushi LH, Folsom AR. Whole-grain intake may reduce the risk of ischemic heart disease death in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr.* 1998 Aug;68:248-57.
190. Jensen MK, Koh-Banerjee P, Hu FB, Franz M, Sampson L, Gronbaek M, Rimm EB. Intakes of whole grains, bran, and germ and the risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr.* 2004 Dec;80:1492-9.
191. Brown L, Rosner B, Willett WW, Sacks FM. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1999 Jan;69:30-42.
192. Anderson JW, Allgood LD, Lawrence A, Altringer LA, Jerdack GR, Hengehold DA, Morel JG. Cholesterol-lowering effects of psyllium intake adjunctive to diet therapy in men and women with hypercholesterolemia: meta-analysis of 8 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2000 Feb;71:472-9.
193. Ripsin CM, Keenan JM, Jacobs DR, Jr., Elmer PJ, Welch RR, Van Horn L, Liu K, Turnbull WH, Thye FW, et al. Oat products and lipid lowering. A meta-analysis. *JAMA.* 1992 Jun 24;267:3317-25.
194. Karmally W, Montez MG, Palmas W, Martinez W, Branstetter A, Ramakrishnan R, Holleran SF, Haffner SM, Ginsberg HN. Cholesterol-lowering benefits of oat-containing cereal in Hispanic americans. *J Am Diet Assoc.* 2005 Jun;105:967-70.

195. Naumann E, van Rees AB, Onning G, Oste R, Wydra M, Mensink RP. Beta-glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2006 Mar;83:601-5.
196. Lovegrove JA, Clohessy A, Milon H, Williams CM. Modest doses of beta-glucan do not reduce concentrations of potentially atherogenic lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 2000 Jul;72:49-55.
197. Torronen R, Kansanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Myllymaki O, Harkonen H, Malkki Y. Effects of an oat bran concentrate on serum lipids in free-living men with mild to moderate hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Nutr.* 1992 Sep;46:621-7.
198. Nicolosi R, Bell SJ, Bistrrian BR, Greenberg I, Forse RA, Blackburn GL. Plasma lipid changes after supplementation with beta-glucan fiber from yeast. *Am J Clin Nutr.* 1999 Aug;70:208-12.
199. US Food and Drug Administration. Food labeling health claim:soluble fiber from whole oats and risk of coronary heart disease. Washington, DC: US FDA; 2005.
200. Marlett JA. Sites and mechanisms for the hypocholesterolemic actions of soluble dietary fiber sources. *Adv Exp Med Biol.* 1997;427:109-21.
201. McIntyre A, Gibson PR, Young GP. Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. *Gut.* 1993 Mar;34:386-91.
202. Andersson M, Ellegard L, Andersson H. Oat bran stimulates bile acid synthesis within 8 h as measured by 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one. *Am J Clin Nutr.* 2002 Nov;76:1111-6.
203. Fernandez ML. Distinct mechanisms of plasma LDL lowering by dietary fiber in the guinea pig: specific effects of pectin, guar gum, and psyllium. *J Lipid Res.* 1995 Nov;36:2394-404.
204. Terpstra AH, Lapre JA, de Vries HT, Beynen AC. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein activity in hamsters. *J Nutr.* 1998 Nov;128:1944-9.
205. Anderson JW. Short-chain fatty acids and lipid metabolism. In: Cummings JH., editor. *Physiological and clinical aspects of short chain fatty acids.* New York: Cambridge University Press; 1995. p. 509-23.
206. Donangelo CM, Eggum BO. Comparative effects of wheat bran and barley husk on nutrient utilization in rats. 2. Zinc, calcium and phosphorus. *Br J Nutr.* 1986 Jul;56:269-80.
207. Hallberg L, Brune M, Rossander L. Iron absorption in man: ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate. *Am J Clin Nutr.* 1989 Jan;49:140-4.

208. Reinhold JG, Faradji B, Abadi P, Ismail-Beigi F. Decreased absorption of calcium, magnesium, zinc and phosphorus by humans due to increased fiber and phosphorus consumption as wheat bread. *J Nutr.* 1976 Apr;106:493-503.
209. Coudray C, Bellanger J, Castiglia-Delavaud C, Remesy C, Vermorel M, Rayssiguier Y. Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur J Clin Nutr.* 1997 Jun;51:375-80.
210. Baig MM, Burgin CW, Cerda JJ. Effect of dietary pectin on iron absorption and turnover in the rat. *J Nutr.* 1983 Dec;113:2385-9.
211. van der Aar PJ, Fahey GC, Jr., Ricke SC, Allen SE, Berger LL. Effects of dietary fibers on mineral status of chicks. *J Nutr.* 1983 Mar;113:653-61.
212. Peterson DW. Effect of soybean sterols in the diet on plasma and liver cholesterol in chicks. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1951 Oct;78:143-7.
213. Katan MB, Grundy SM, Jones P, Law M, Miettinen T, Paoletti R. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin Proc.* 2003 Aug;78:965-78.
214. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesaniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol.* 1990 Jan;131:20-31.
215. Weihrauch JL, Gardner JM. Sterol content of foods of plant origin. *J Am Diet Assoc.* 1978 Jul;73:39-47.
216. Pollack OJ. Reduction of blood cholesterol in man. *Circulation.* 1953 May;7:702-6.
217. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M. Plant sterols and their derivatives: the current spread of results. *Nutr Rev.* 2001 Jan;59:21-4.
218. Ostlund RE, Jr., Spilburg CA, Stenson WF. Sitostanol administered in lecithin micelles potently reduces cholesterol absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1999 Nov;70:826-31.
219. Mensink RP, Ebbing S, Lindhout M, Plat J, van Heugten MM. Effects of plant stanol esters supplied in low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterol sterols and fat soluble antioxidant concentrations. *Atherosclerosis.* 2002 Jan;160:205-13.
220. Nestel P, Cehun M, Pomeroy S, Abbey M, Weldon G. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters and non-esterified stanols in margarine, butter and low-fat foods. *Eur J Clin Nutr.* 2001 Dec;55:1084-90.
221. Tikkanen MJ, Hogstrom P, Tuomilehto J, Keinanen-Kiukaanniemi S, Sundvall J, Karppanen H. Effect of a diet based on low-fat foods enriched with nonesterified plant sterols and mineral nutrients on serum cholesterol. *Am J Cardiol.* 2001 Nov 15;88:1157-62.

222. Jones PJ, Vanstone CA, Raeini-Sarjaz M, St-Onge MP. Phytosterols in low- and nonfat beverages as part of a controlled diet fail to lower plasma lipid levels. *J Lipid Res.* 2003 Sep;44:1713-9.
223. Meguro S, Higashi K, Hase T, Honda Y, Otsuka A, Tokimitsu I, Itakura H. Solubilization of phytosterols in diacylglycerol versus triacylglycerol improves the serum cholesterol-lowering effect. *Eur J Clin Nutr.* 2001 Jul;55:513-7.
224. Christiansen LI, Lahteenmaki PL, Mannelin MR, Seppanen-Laakso TE, Hiltunen RV, Yliruusi JK. Cholesterol-lowering effect of spreads enriched with microcrystalline plant sterols in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr.* 2001 Apr;40:66-73.
225. Ostlund RE, Jr., McGill JB, Zeng CM, Covey DF, Stearns J, Stenson WF, Spilburg CA. Gastrointestinal absorption and plasma kinetics of soy Delta(5)-phytosterols and phytostanols in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002 Apr;282:E911-E916.
226. Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest.* 1993 Dec;23:827-31.
227. Lees AM, Mok HY, Lees RS, McCluskey MA, Grundy SM. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. *Atherosclerosis.* 1977 Nov;28:325-38.
228. Miettinen TA, Vanhanen H. Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis.* 1994 Feb;105:217-26.
229. Law M. Plant sterol and stanol margarines and health. *BMJ.* 2000 Mar 25;320:861-4.
230. Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Gylling H, Erkkila AT, Uusitupa MI. Comparison of the effects of plant sterol ester and plant stanol ester-enriched margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet. *Eur J Clin Nutr.* 2000 Sep;54:715-25.
231. Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1998 May;52:334-43.
232. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Ntanos FY, Vanstone CA, Feng JY, Parsons WE. Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J Lipid Res.* 2000 May;41:697-705.
233. O'Neill FH, Sanders TA, Thompson GR. Comparison of efficacy of plant stanol ester and sterol ester: short-term and longer-term studies. *Am J Cardiol.* 2005 Jul 4;96:29D-36D.

234. Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen H, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med.* 1995 Nov 16;333:1308-12.
235. Brink E, Hendriks H. *Long-Term Follow-up Study on the Use of a Spread Enriched with Plant Sterols.* TNO report V. Zeist, Netherlands: TNO Nutrition and Food Research Institute.; 2000.
236. Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Uusitupa MI. Plant stanol esters affect serum cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men and women in a dose-dependent manner. *J Nutr.* 2000 Apr;130:767-76.
237. Vanhanen HT, Kajander J, Lehtovirta H, Miettinen TA. Serum levels, absorption efficiency, faecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolaemic subjects. *Clin Sci (Lond).* 1994 Jul;87:61-7.
238. Plat J, van Onselen EN, van Heugten MM, Mensink RP. Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *Eur J Clin Nutr.* 2000 Sep;54:671-7.
239. Mussner MJ, Parhofer KG, von Bergmann K, Schwandt P, Broedl U, Otto C. Effects of phytosterol ester-enriched margarine on plasma lipoproteins in mild to moderate hypercholesterolemia are related to basal cholesterol and fat intake. *Metabolism.* 2002 Feb;51:189-94.
240. Hallikainen MA, Uusitupa MI. Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999 Mar;69:403-10.
241. Jones PJ, Ntanos FY, Raeini-Sarjaz M, Vanstone CA. Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *Am J Clin Nutr.* 1999 Jun;69:1144-50.
242. de Jong A, Plat J, Mensink RP. Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review). *J Nutr Biochem.* 2003 Jul;14:362-9.
243. Child P, Kuksis A. Investigation of the role of micellar phospholipid in the preferential uptake of cholesterol over sitosterol by dispersed rat jejunal villus cells. *Biochem Cell Biol.* 1986 Aug;64:847-53.
244. Mattson FH, Volpenhein RA, Erickson BA. Effect of plant sterol esters on the absorption of dietary cholesterol. *J Nutr.* 1977 Jul;107:1139-46.
245. Plat J, Mensink RP. Increased intestinal ABCA1 expression contributes to the decrease in cholesterol absorption after plant stanol consumption. *FASEB J.* 2002 Aug;16:1248-53.
246. Gylling H, Miettinen TA. Serum cholesterol and cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolaemic NIDDM patients before and during sitostanol ester-margarine treatment. *Diabetologia.* 1994 Aug;37:773-80.

247. Plat J, Mensink RP. Effects of plant stanol esters on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase mRNA expression in mononuclear blood cells of healthy men and women. *FASEB J.* 2002 Feb;16:258-60.
248. Weststrate JA, Ayesch R, Bauer-Plank C, Drewitt PN. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 4. Faecal concentrations of bile acids and neutral sterols in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine. *Food Chem Toxicol.* 1999 Nov;37:1063-71.
249. Moghadasian MH, McManus BM, Pritchard PH, Frohlich JJ. "Tall oil"-derived phytosterols reduce atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Jan;17:119-26.
250. Raeini-Sarjaz M, Ntanios FY, Vanstone CA, Jones PJ. No changes in serum fat-soluble vitamin and carotenoid concentrations with the intake of plant sterol/stanol esters in the context of a controlled diet. *Metabolism.* 2002 May;51:652-6.
251. Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Retinol, vitamin D, carotenes and alpha-tocopherol in serum of a moderately hypercholesterolemic population consuming sitostanol ester margarine. *Atherosclerosis.* 1999 Aug;145:279-85.
252. Maki KC, Davidson MH, Umporowicz DM, Schaefer EJ, Dicklin MR, Ingram KA, Chen S, McNamara JR, Gebhart BW, et al. Lipid responses to plant-sterol-enriched reduced-fat spreads incorporated into a National Cholesterol Education Program Step I diet. *Am J Clin Nutr.* 2001 Jul;74:33-43.
253. Plat J, Mensink RP. Effects of diets enriched with two different plant stanol ester mixtures on plasma ubiquinol-10 and fat-soluble antioxidant concentrations. *Metabolism.* 2001 May;50:520-9.
254. Hendriks HF, Weststrate JA, van Vliet T, Meijer GW. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1999 Apr;53:319-27.
255. Noakes M, Clifton P, Ntanios F, Shrapnel W, Record I, McInerney J. An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2002 Jan;75:79-86.
256. Child P, Kuksis A. Differential uptake of cholesterol and plant sterols by rat erythrocytes in vitro. *Lipids.* 1982 Oct;17:748-54.
257. Ratnayake WM, L'Abbe MR, Mueller R, Hayward S, Plouffe L, Hollywood R, Trick K. Vegetable oils high in phytosterols make erythrocytes less deformable and shorten the life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr.* 2000 May;130:1166-78.

258. de Jong A, Plat J, Mensink RP. Plant sterol or stanol consumption does not affect erythrocyte osmotic fragility in patients on statin treatment. *Eur J Clin Nutr*. 2006 Feb 15.
259. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Jenkins DJ, Kendall CW, Vidgen E, Trautwein EA, Lapsley KG, Marchie A, Cunnane SC, Connelly PW. Effects of a diet high in plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers (dietary portfolio) on circulating sterol levels and red cell fragility in hypercholesterolemic subjects. *Lipids*. 2005 Feb;40:169-74.
260. Hendriks HF, Brink EJ, Meijer GW, Princen HM, Ntanios FY. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur J Clin Nutr*. 2003 May;57:681-92.
261. Malini T, Vanithakumari G. Antifertility effects of beta-sitosterol in male albino rats. *J Ethnopharmacol*. 1991 Dec;35:149-53.
262. Malini T, Vanithakumari G. Effect of beta-sitosterol on uterine biochemistry: a comparative study with estradiol and progesterone. *Biochem Mol Biol Int*. 1993 Nov;31:659-68.
263. Baker VA, Hepburn PA, Kennedy SJ, Jones PA, Lea LJ, Sumpter JP, Ashby J. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 1. Assessment of oestrogenicity using a combination of in vivo and in vitro assays. *Food Chem Toxicol*. 1999 Jan;37:13-22.
264. Turnbull D, Frankos VH, Leeman WR, Jonker D. Short-term tests of estrogenic potential of plant stanols and plant stanol esters. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1999 Apr;29:211-5.
265. Ayesh R, Weststrate JA, Drewitt PN, Hepburn PA. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 5. Faecal short-chain fatty acid and microflora content, faecal bacterial enzyme activity and serum female sex hormones in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine. *Food Chem Toxicol*. 1999 Dec;37:1127-38.
266. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr*. 2000 Sep;130:2127-30.
267. Berges RR, Windeler J, Trampisch HJ, Senge T. Randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial of beta-sitosterol in patients with benign prostatic hyperplasia. Beta-sitosterol Study Group. *Lancet*. 1995 Jun 17;345:1529-32.
268. Awad AB, von Holtz RL, Cone JP, Fink CS, Chen YC. beta-Sitosterol inhibits growth of HT-29 human colon cancer cells by activating the sphingomyelin cycle. *Anticancer Res*. 1998 Jan;18:471-3.
269. Belamarich PF, Deckelbaum RJ, Starc TJ, Dobrin BE, Tint GS, Salen G. Response to diet and cholestyramine in a patient with sitosterolemia. *Pediatrics*. 1990 Dec;86:977-81.

270. Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res.* 2002 Nov;41:457-500.
271. Kris-Etherton PM, Yu-Poth S, Sabate J, Ratcliffe HE, Zhao G, Etherton TD. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. *Am J Clin Nutr.* 1999 Sep;70:504S-11S.
272. Kris-Etherton PM, Zhao G, Binkoski AE, Coval SM, Etherton TD. The effects of nuts on coronary heart disease risk. *Nutr Rev.* 2001 Apr;59:103-11.
273. Dreher ML, Maher CV, Kearney P. The traditional and emerging role of nuts in healthful diets. *Nutr Rev.* 1996 Aug;54:241-5.
274. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Parker TL, Connelly PW, Qian W, Haight JS, Faulkner D, Vidgen E, et al. Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized low-density lipoproteins, lipoprotein(a), homocysteine, and pulmonary nitric oxide: a randomized, controlled, crossover trial. *Circulation.* 2002 Sep 10;106:1327-32.
275. Spiller GA, Jenkins DA, Bosello O, Gates JE, Cragen LN, Bruce B. Nuts and plasma lipids: an almond-based diet lowers LDL-C while preserving HDL-C. *J Am Coll Nutr.* 1998 Jun;17:285-90.
276. Sabate J, Haddad E, Tanzman JS, Jambazian P, Rajaram S. Serum lipid response to the graduated enrichment of a Step I diet with almonds: a randomized feeding trial. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jun;77:1379-84.
277. Lovejoy JC, Most MM, Lefevre M, Greenway FL, Rood JC. Effect of diets enriched in almonds on insulin action and serum lipids in adults with normal glucose tolerance or type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2002 Nov;76:1000-6.
278. Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, Etherton TD. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr.* 1999 Dec;70:1009-15.
279. Brault Dubuc M, Caron Lahaie L. *Valeur nutritive des aliments.* 8e ed. St-Lambert, Québec: 1998.
280. *Le fardeau croissant des maladies cardiovasculaires et des accidents vasculaires cérébraux au Canada, 2003.* Ottawa, Canada; 2003.
281. Leigh-Firbank EC, Minihane AM, Leake DS, Wright JW, Murphy MC, Griffin BA, Williams CM. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oils: differential associations with lipid responses. *Br J Nutr.* 2002 May;87:435-45.
282. Contacos C, Barter PJ, Sullivan DR. Effect of pravastatin and omega-3 fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in patients with combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb.* 1993 Dec;13:1755-62.

283. Suzukawa M, Abbey M, Howe PR, Nestel PJ. Effects of fish oil fatty acids on low density lipoprotein size, oxidizability, and uptake by macrophages. *J Lipid Res.* 1995 Mar;36:473-84.
284. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Jenkins AL, Connelly PW, Jones PJ, Vuksan V. The Garden of Eden--plant based diets, the genetic drive to conserve cholesterol and its implications for heart disease in the 21st century. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2003 Sep;136:141-51.